

イソニコチン酸ヒドラチドとその誘導体の代謝

第1報 肝臓灌流実験

中園 郁郎
平田 一

九州大学医学部医化学教室（指導 山村雄一教授）
九州大学医学部第2外科教室（指導 友田正信教授）

受付 昭和55年10月25日

I 緒言

イソニコチン酸ヒドラチド (INAH と略) の定量法については現今まで多くの報告がなされている。それらの定量法を大別すると、次の2つに分けられる。すなわち、比色法とガスマトリーアである。比色法には、Kelly, Poet¹⁾ の p-Dimethylaminobenzaldehyde 法、Rubin²⁾ らの Cyanogen bromide 法、青木ら³⁾、掛見ら⁴⁾、白井ら⁵⁾、Short⁶⁾ の β -Naphthoquinone sulfonate 法、Jacobs⁷⁾ のフェリチアンカリ法、Scott⁸⁾ の Chlorodinitrobenzen 法、Cuthbertson⁹⁾、Hunter¹⁰⁾ のピクリン酸法、Prescott ら¹¹⁾ の Pyridyl 法等があり、ガスマトリーアとしては、Harting ら¹²⁾ のフェリチアンカリ法、Strickland ら¹³⁾ のヨード酸法、松田¹⁴⁾、¹⁵⁾ のフェリチアンカリ、重クロム酸カリ併用法がある。

これらの定量法を用いる INAH の生体内運命についてもすでに多数の業績^{1)~15)}が発表されている。Hughes¹⁶⁾、堂野前¹⁷⁾、伊藤¹⁸⁾、および那須¹⁹⁾らは INAH のアセチル化物を主として人尿中から証明し、小沢ら²⁰⁾および伊藤ら²¹⁾は、INAH-グルコース、ヒドラゾンを血中ならびに尿中に証明している。また Cuthbertson²²⁾はイソニコチニール・グリシンを人尿中に証明している。上述のごとく、INAH はなんらかの形で体外に排泄されるのであるが、現在の定量法ではそれら個々の結合型の分別定量は困難である。しかし INAH は生体の解毒機転によつて、すなわちアセチル化、抱合グルクロン酸形成、アミノ酸との結合ならびにイソニコチン酸への分解等により、尿から排泄されることは確実なことである。この解毒機能であるアセチル化、抱合グルクロン酸形成等は主として肝臓において行われるものと考えられる。那須²³⁾は四塩化炭素によつて肝障害を惹起せしめた家兔について実験を行い、尿中のアセチル INAH の排泄減少、INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゾンの高率の排泄を認めている。

そこでわれわれは、肝臓における INAH および INAH 誘導体の代謝を追求するために犬の剥出肝臓を用い

閉鎖循環式灌流装置による灌流実験を行つた。なお定量法は白井⁵⁾の β -Naphthoquinone sulfonate 法に準拠して、これを血液材料についても測定しうるように改め、遊離型、ヒドラゾン型、アセチル INAH をそれぞれ分別定量した。この第1報においては、主として定量法、ならびに灌流実験法について述べ一部実験成績について言及する。

II 実験材料

実験動物は体重 10~14 kg 程度の健康成熟犬を用い、1週間前後普通食を与えたのち実験に供した。なお実験に用いた INAH およびその誘導体は次の通りである。

- 1) INAH (Nc1ccc(C(=O)N)cc1)
Isonicotinic acid hydrazid
商品名: Iscotin (第一製薬)
- 2) INHG (Nc1ccc(C(=O)N=CHCOONa)cc1)
COONa. 2H₂O
Sodium glucuronate isonicotinyl hydrazone
商品名: Hydronsan (中外製薬)
- 3) IHMS (Nc1ccc(C(=O)NHC2=CC(SO3Na)=C(C)C=C2)cc1)
1-Isonicotinyl-2-sodium methansulfonyl hydrazine
商品名: Neoiscotin (第一製薬)
- 4) INAH-Ac (Nc1ccc(C(=O)NHC(=O)C)cc1)
1-Isonicotinyl-2-acetyl hydrazine

これは無水酢酸法で合成し²⁴⁾、再結晶を繰返し、融点を 162°C として使用した。

III 実験方法

(A) 比色定量法

比色定量は白井⁵⁾の 1,2-Naphthoquinone-4-sulfonate を用いる遊離型、ヒドラゾン型、アセチル型の分別定量法に準拠して行つた。比色には、E P O - B 型

立光電光度計を用いて波長 $470 \text{ m}\mu$ において行つた。しかし試料は灌流液であり、血液および蛋白を含有しているので、当然除蛋白が必要となる。そこで INAH ならびに INHG, IHMS および INAH-Ac の除蛋白操作による影響の有無を検討した。

a) INAH, INHG, IHMS ならびに INAH-Ac 値の除蛋白操作による影響

最終濃度 $2 \times 10^{-3}\text{M}$ となるように INAH, IHMS, INHG および INAH-Ac を添加した % 容の割に脱線維血液を含む Krebs Henseleit 溶液を調製し、各溶液一定量宛を取り、Brodie²⁴⁾ らの硫酸亜鉛法 (pH 6.8) により除蛋白操作を行つたのち比色定量を行つた。結果は表 1 に示してあるごとくで、INAH および IHMS は

表 1 INAH, IHMS, INHG および INAH-Ac の除蛋白後の影響

	INAH $2 \times 10^{-3}\text{M}$	IHMS $2 \times 10^{-3}\text{M}$	INHG $2 \times 10^{-3}\text{M}$	INAH-Ac $2 \times 10^{-3}\text{M}$
処理法	除蛋白 ↓ 未処理 ↓ 比色	除蛋白 ↓ 未処理 ↓ 比色	除蛋白 0.01N-HCl 室温60分 水解 ↓ 比色	除蛋白 0.5N-HCl 100°C, 30分 水解 ↓ 比色
吸光度 (理論値)	0.494	0.494	0.494	0.494
吸光度 (実測値)	0.493	0.494	0.252	0.44
比率(%)	99.7	100.0	51.0	9.9

なんらの影響を蒙らないが、INHG および INAH-Ac はそれぞれ 51.0 %, 91.9 % の発色率で著明な影響を受けていることがわかる。以上のことから INAH および IHMS は除蛋白を行つても変化のないことが確認されたので、今度は INHG, INAH-Ac をともに除蛋白前にそれぞれ塩酸酸性で水解を行い、遊離の INAH に分解したのち除蛋白を行えば影響を受けないことが想像され

表 2 除蛋白前水解処理施行

	INAH $2 \times 10^{-3}\text{M}$	IHMS $2 \times 10^{-3}\text{M}$	INHG $2 \times 10^{-3}\text{M}$	INAH-Ac $2 \times 10^{-3}\text{M}$
処理法	除蛋白 ↓ 未処理 ↓ 比色	除蛋白 ↓ 未処理 ↓ 比色	0.01N-HCl 60分 室温水解 ↓ 除蛋白 ↓ 比色	0.5N-HCl 100°C, 30分 水解 ↓ 除蛋白 ↓ 比色
吸光度 (理論値)	0.94	0.494	0.494	0.494
吸光度 (実測値)	0.494	0.494	0.491	0.490
比率(%)	100.0	100.0	99.5	99.4

る。そこで除蛋白前に INHG は 0.01 N 塩酸酸性で室温 60 分、INAH-Ac は 0.5 N 塩酸酸性で 100 °C

30 分それぞれ水解処理を施し定量したところ、表 2 に示すごとく理論値に近い値を得た。

以上のことから除蛋白前にそれぞれ処理を行えば、除蛋白の影響を除くことができるを見出した。

b) 水解条件に関する検討

INHG の定量については、白井らの方法によると 0.01 N 塩酸酸性、60 分、室温水解処理後定量するのであるが、室温が 15°C 前後であると正確に定量できるが、冬、夏等の温度に相当の開きのある場合では若干の影響を受けるおそれがあり、これを防ぐには常に一定の温度で処理をする必要がある。この意味において、37°C の孵卵器中に入れて常に温度を一定にすることを考案し次の実験を行つた。すなわち、INAH, IHMS, INHG および INAH-Ac の $2 \times 10^{-3}\text{M}$ 溶液を調製し、0.01 N 塩酸酸性で、37°C, 60 分水解を行い時間の経過とともに比色定量を行い、影響の有無を検討した。結果は表 3 に示すごとく、INAH および IHMS には変化なく、INHG は 60 分で 100 % INAH に変化し、INAH-Ac はこの条件下では遊離の INAH に水解されないことが

表 3 INAH, IHMS, INHG, INAH-Ac 37°C, 0.01 N-HCl 酸性水解の影響

被検物質 および濃度	0.01-NHCl 作用時間(分)	吸光度 (実測値)	比率(%)
INAH $2 \times 10^{-3}\text{M}$	0	0.494	100.0
	5	0.497	100.1
	15	0.493	99.8
	30	0.494	100.0
	45	0.494	100.0
	60	0.494	100.0
	90	0.494	100.0
IHMS $2 \times 10^{-3}\text{M}$	0	0.493	99.8
	5	0.493	99.8
	15	0.494	100.0
	30	0.494	100.0
	45	0.497	100.0
	60	0.494	100.0
	90	0.493	99.8
INHG $2 \times 10^{-3}\text{M}$	0	0.063	12.7
	5	0.148	30.3
	15	0.204	41.3
	30	0.356	72.1
	45	0.458	88.6
	60	0.493	99.8
	90	0.497	100.1
INAH-Ac $2 \times 10^{-3}\text{M}$	0	0.000	0.0
	5	0.000	0.0
	15	0.000	0.0
	30	0.000	0.0
	45	0.000	0.0
	60	0.000	0.0
	90	0.000	0.0

わかつた。すなわち、37°Cで60分間処理するとINH Gのみが100%水解されることが明らかとなつた。

上述のことから蛋白を含んだ試験材料、たとえば、血液、脊髄液および灌流実験のさいの灌流液等からも比較的中性で行いうる硫酸亜鉛法(pH 6.8)で除蛋白を行えば、遅離型、ヒドラゾン型、アセチル INAH 3 者の分別定量を行いうることが実証された。表 4 は確立した比色定量法を総括略記したものである。なお測定範囲は、検量曲線において $1\gamma/cc \sim 80\gamma/cc$ の間が直線となることから試料 1 ml 中に INAH として $1\sim 80\gamma$ が測定可能な範囲と考えられる。

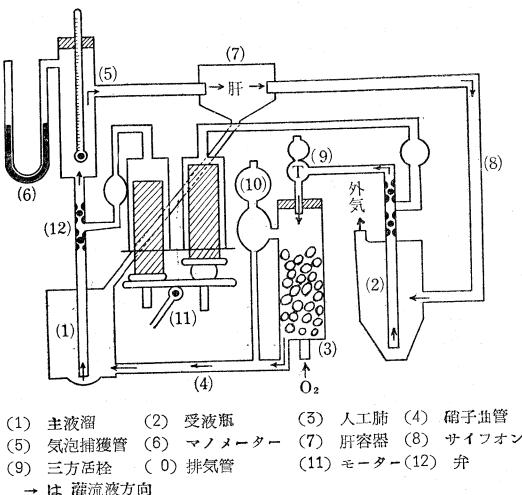
表 4 比色法

1) 比色法		
灌流液		
2 ml	2 ml	2 ml
4 ml の水を加える	3.8 ml の水を加え, さらに N-HCl 0.1 ml を加える。37°C, 60分 水解	N-HCl 2 ml を 加え, 100°C, 30分 沸騰水中 で水解
ZnSO ₄ 液 3 ml (0.75N-NaOH 3 ml) pH 6.8	N-NaOH 0.1 ml で中和	N-NaOH 2 ml で中和
(A)	(B)	(C)
濾液 (A)(B)(C) それぞれ 1 ml 9 ml の水を加える		
N-NaOH 0.2 ml を加え, よく振盪し, 氷冷水中で冷却		
0.2% β -Naphthoquinone sulfonate 0.1 ml を加え振盪 冷暗所で30分放置		
EPO-B型 日立光電光度計 470 m μ で吸光度測定		
盲検		
(A)(B)(C) それぞれ 1 ml ↓ 0.6 ml の水を加え, N-HCl 0.1 ml をさらに加え, 次に, 0.01M 亜硝酸ソーダ 2 ml を加え 3分振盪 ↓ N-NaOH 0.1 ml を加え中和		
比色吸光度測定		
2) 計算法		
(A)(B)(C) 液の吸光度をそれぞれ E_A , E_B , E_C とし, 盲検の吸光度を, それぞれ $E_{A'}$, $E_{B'}$, $E_{C'}$ とする		
$E_{A'} - E_{A'} = E_A$: INAH または IHMS の吸光度 $E_{B'} - E_{B'} = E_B$: INAH または IHMS + ヒドラゾン型の吸光度		
$E_{C'} - E_{C'} = E_C$: INAH または IHMS + ヒドラゾン型 + アセチル型の吸光度		
$E_B - E_A$ ヒドラゾン型のみの吸光度 $E_C - E_B$ アセチル型のみの吸光度		
以上の吸光度で, 既成の検量曲線から INAH, IHMS, ヒドラゾン型, アセチル型 INAH のそれぞれの量を計算する		

(B) 灌流実験

ある特定器官の機能を明らかにするためには、その臓器固有の生理的機能をなるべく自然のままで他の器官の機能因子の影響外で検索することが必要である。この意味から灌流実験はある程度その目的を満足せしめる実験方法である。灌流実験法に関しては古くから研究せられ、現在用いられる方法としては、Mosso のいわゆる開放式と Frey らの閉鎖循環式の 2 法がある。この実験においては、大橋²⁵⁾の考案した閉鎖循環式灌流装置にならひ、これを犬の肝臓灌流に適するよう拡大した装置を作製し灌流実験を行つた。図 1 は用いた灌流装置模式図である。

図 1 灌流装置模式図



(1) 主液溜 (2) 受液瓶 (3) 人工肺 (4) 硝子曲管
(5) 気泡捕獲管 (6) マノメーター (7) 肝容器 (8) サイフォン
(9) 三方活栓 (10) 排気管 (11) モーター (12) 弁
→ は 灌流液方向

a) 犬の肝臓剥出手技ならびに灌流液

肝臓を剥出手するにあたりもつとも注意を要する点は、肝の酵素活性その他の消耗を防止することと、灌流液の漏出を促すような損傷を与えないことである。それゆえに、できるだけ迅速に手技を行い、かつ細心の注意のもとに肝臓自身ならびに血管に損傷を与えないよう努力せねばならない。以上の意味から、麻酔を避け撲殺後ただちに正中切開をもつて開腹し（このさい胸腔の開放は避け）下大静脈より約 150 ml 採血する。これはのちに灌流のさいの脱線維血に供する。次に門脈を剝離し、肝動脈、総輸胆管等腹部下大静脈のみを残して他はすべて結紮し、近接臓器を肝から切離する。しかしる後カニューレを門脈に挿入し、Krebs Henseleit 液で肝内を洗う。門脈にカニューレ挿入後ただちに開胸し、胸部下大静脈を切断しカニューレを挿入する。さらに腹部下大静脈を右副腎静脈の上方で結紮切断し肝臓を他の組織から分離して肝内の血液を完全に洗滌したのち、気泡の入らないよう注意しつつ灌流器に連絡せしめる。灌流液は開腹直後、採血脱線維した血液 600 ml を用いた。

b) 本閉鎖循環式灌流装置の概略ならびに特色

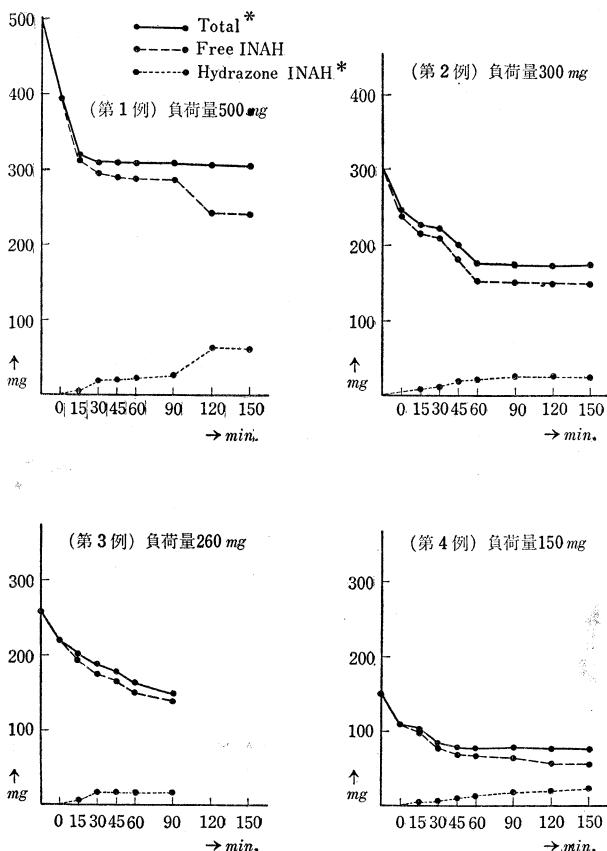
剔出肝臓は灌流装置の肝容器(図1, ⑦)に入れられ、門脈に挿入したカニューレを輸入脚(図1, ⑥～⑦)に連結し、下大静脈を輸出脚(図1, ⑧)に連絡する。モーターを動かすことにより主液溜(図1, ①)の灌流液は吸い上げられて輸入脚を通して肝へ送られる。一方肝からの流出液は、ポンプの陰圧作用によって受液瓶(図1, ②)に入り、さらに三方活栓(図1, ⑨)を経て人工肺(図1, ⑩)に送られここで酸素の供給を受けて新鮮液となり、

表5 INAH, IHMS ならびに INHG の血液に対する態度

時間(分)	被検物質	INAH(γ)	IHMS(γ)	INHG*(γ)
0		45.7	45.6	45.6
30		45.7	45.7	45.7
60		45.7	45.7	45.7
120		45.7	45.5	45.6

* INHG はヒドラゾン型であるから、0.01N-HCl, 37°C, 60分間水解後定量した

図2 INAHを負荷したさいの成績



* Total, Hydrazine INAH 値はいずれも INAH 換算量

硝子曲管(図1, ④)を経て再びもとの主液溜に帰る。すなわち本灌流装置は、このように閉鎖的に繰返すことにおいて特色があるわけであるが、この灌流実験のさいの門脈圧は、(図1, ⑥)のマノメーターによつて測定)12～15 mm Hg であり、1分間の搏出回数は約70、流出量は1回約5 ml、したがつて1分間における循環灌流液量は約350 mlである。なお本灌流実験においては、灌流用いる液総量は600 mlである。これら肝臓の灌流速度ならびに肝内循環灌流液量値は、諸家の生体におけるそれとほぼ一致している。なお試料は三方活栓の操作によつて隨時に任意量採取が可能である。

c) INAH, IHMS ならびに INHG の肝臓灌流実験

4匹の健康成熟犬の肝臓を用い、INAHを灌流液600 mlに対し、それぞれ500, 300, 260, 160 mg負荷し、他方2匹の犬についてIHMSを300, 200 mg負荷し、また3匹についてINHGをそれぞれ400, 300, 300 mg負荷して上記の要領で灌流実験を行つた。なお全例とも灌流液量は600 mlとし、灌流開始2分をもつて0値とし、その後15, 30, 45, 60, 90, 120, 150分値を測定した。

d) INAH, IHMS ならびに INHG の血液に対する態度

本灌流実験の灌流液は1/6容の脱線維血液を含むKrebs Henseleit液であるから、この灌流液がINAH, IHMSならびにINHGに影響を及ぼさないかという問題が生ずる。そこでINAH, IHMSおよびINHGの 2×10^{-3} Mの灌流液溶液を作り、37°C、恒温槽中で振盪し時間的の変化の有無を検討した。結果は表5に示してあるごとく、いずれにも影響は認められなかつた。このことから本灌流実験における変化はすべて肝臓における代謝の結果であると考えられる。

IV 実験成績

(A) INAHを負荷した場合

INAHを負荷した場合の成績は図2に示してある。INAHは時間の経過とともに漸次減少の傾向を示している。一方代謝産物であるヒドラゾン型INAHはINAHとほぼ逆行的に増加を示している。なおアセチルINAHの生成は認められなかつた。

(B) IHMSを負荷した場合

IHMSを負荷した場合の成績は図3に示してあるごとく、時間の経過にもかかわらずヒドラゾン型およびアセチルINAHの生成は全く認められず、0値から150分値にいたる間ほとんどなんらの変化を認めない。0値において総量

図3 IHMSを負荷したさいの成績

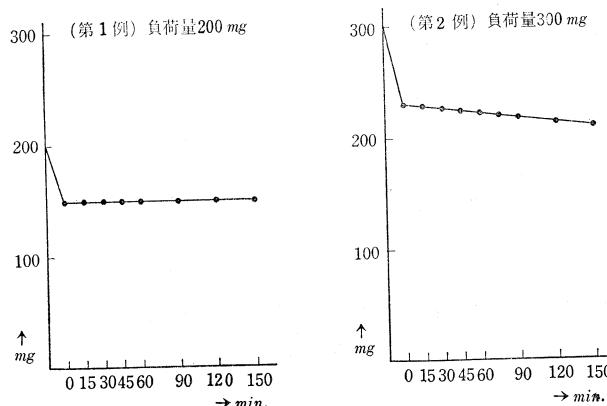
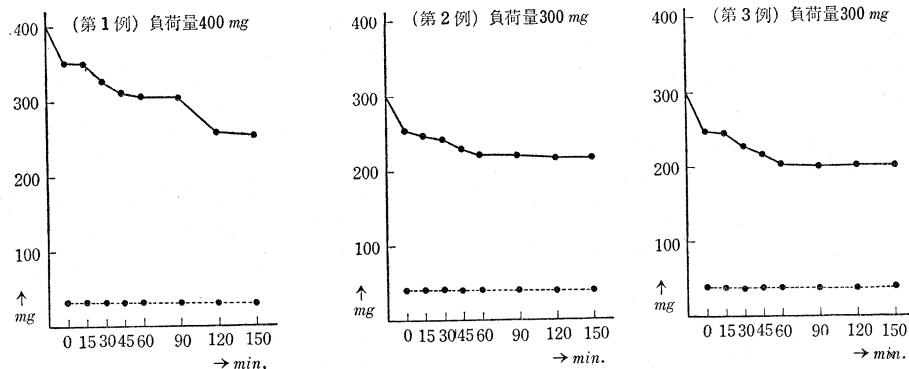


図4 INHGを負荷したさいの成績



定の値をもつて存在する。これは灌流開始時に存在している遊離の INAH がそのまま変化をうけていないことを示している。なおアセチル化は上記 2 つの場合と同様認められなかつた。

V 考 察

INAH 抱合体の分別定量法に関しては、古くから研究が行われている。しかしいずれも一長一短があつてまだ確固たる分別定量法は考案されていない。われわれは比較的簡便な方法で、しかも遊離型、ヒドラゾン型、アセチル型の 3 者を明確に分別定量しうる白井らの β -Naphthoquinone sulfonate を用いる法に準拠し、これを血液材料についても測定しうるように改めた。ただし本法は各型の INAH 誘導体に属する化合物の分別は不能であり、これにクロマトグラフィー、さらに Beckmann のスペクトロホトメーターを組合わせることによつてさらに明確な定量を行うことができる。この方法を利用して阿部²⁶⁾は家兎の体液ならびに各組織器官の INAH、INAH-Ac、INHG、1-Isonicotinyl-2-pyruvyl hydrazone、Isonicotinic acid を分別定量している。

他方 INAH の生体内運動に關しては、すでに伊藤²⁷⁾および那須らは人間において INAH の代謝産物のほと

が負荷量よりも減少の値を示しているのは、灌流開始から 0 値までの 2 分間に肝に吸着せられるためと、計算にさいして一応灌流液全量を 600 ml としているが、肝中に相当量の灌流液が存在しているための稀釈によるものとの 2 つが考えられる。これは INAH ならびに INHG についても同様である。上記のことから IHMS は肝灌流実験においては、大部分不变でありますらの抱合体をも作らないと考えられる。

(C) INHG を負荷した場合

図 4 に示してあるごとく、INHG はほとんど INHG そのままの形であり、少量の遊離型 INAH が 0 値から 150 分にいたる間大体一

んどがアセチル INAH であるとしており、五味²⁸⁾も各種動物のアセチル化率を研究し、人間においてはほとんどが、アセチル化されるが、マウスではアセチル化率はきわめて少であり、モルモット、兎はマウスよりもアセチル化率の高いことを認めている。一方得津²⁹⁾は家兎について INAH の代謝を白井らの法で追求し、INAH の投与にさいしてはヒドラゾン型 INAH の排泄がもつとも多く、INHG および IHMS の注射による投与では一般にその排泄は速やかであるが、経口投与では INAH の場合とほぼ同じ排泄傾向を示すと報告している。犬における INAH の代謝については多くの文献をみるとがきづ、ただ Rubin³⁰⁾が犬における INAH の吸収、分布および排泄を追跡し、INAH の 44~86% がそのままの INAH ならびに Isonicotinic acid の形として尿から排泄されることを認めている。本灌流実験においては、犬の肝臓における解毒機転の見地から INAH、IHMS および INHG の代謝を検索したわけであるが、INAH は犬の肝ではアセチル化は行われず、ヒドラゾン型の形成ならびにイソニコチン酸への分解が主として行われているものと思われる。一方 IHMS はほとんど変化をうけないままである。INHG も IHMS と同様ほとんど未変化であり得津²⁹⁾、下村³¹⁾の報告による INH

Gの静脈内注射時の成績とよく一致している。那須²¹⁾は肝機能障害時や極端に大量の INAH を投与した場合にはその代謝状況は一変し、アセチル化物の排泄が極端に少くなり、INAH と焦性葡萄糖とのヒドラゾンが高率に排泄されることを報告している。本実験においてはこの点についての検討を行っていないので今後検討したい。また、INAH、INHG を負荷したときに INAH と INHG との総和が次第に減少していくつており、このことはこれら2つの化合物以外の物質への変化が考えられるが将来検討したい。

VI 結 語

INAH および INAH 誘導体の肝臓における代謝の状況を追求するために、

- 1) 犬の剥出肝臓を用いて灌流実験を行つた。
- 2) 血液をふくむ灌流液中の INAH、ヒドラゾン型 INAH、アセチル INAH の 1,2-ナフトキノン-4-スルフォン酸ソーダによる分別定量法を考案した。
- 3) INAH 投与にさいしては、犬肝臓にてアセチル化は行われず、ヒドラゾン型 INAH の形成が認められた。
- 4) IHMS 投与の場合は、ほとんど未変化のままであつた。
- 5) INHG 投与では、ほとんどがそのままの形であり、少量の遊離型が認められる。

稿を終るに臨み、終始御懇意なる御指導ならびに御校閲を賜わつた恩師山村教授、友田教授に心から感謝の意を捧げるとともに、種々の御指導を賜わつた教室員一同に深謝する。

本論文の要旨は第 12 回日本生化学会九州支部大会において発表した。

文 献

- 1) J.M. Kelly & R.B. Poet. : Am. Rev. Tbc., 65 : 484, 1952.
- 2) S.H. Rubin, L. Drektor, J. Scheiner & E. De-Ritter : Dis. of Chest, 21 : 439, 1952.
- 3) 堂野前維摩郷・河盛勇造・伊藤文雄・青木隆一 : 最新医学, 7 : 955, 昭27.
- 4) 掛見喜一郎・宇野豊三・有田隆一 : 治療薬報, No 496, 2, 昭27.
- 5) 白井陽一・大石勝久・末広要・本池一・安達隆一郎 : 生化学, 29 : 557, 昭32.
- 6) E.I. Short : Lancet, -6813, 656, 1954.
- 7) M.B. Jacobs : Science, 118, No 3057, 142, 1953.
- 8) P.G.W. Scott : J. Pharm. Pharmacol. 6 : 681, 1952.
- 9) W.F.J. Cuthbertson, D.M. Ireland & W. Wolf : Brit. Med. J., No 4862, 609, 1954.
- 10) G. Hunter : Brit. Med. J., No 4913, 585, 1955.
- 11) B. Prescott, G. Kaufmann & W.D. James : Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 84 : 704, 1953.
- 12) H. Harting und P.V. Gerzautz : Acta Medica et Biologica, 2 : 643, 1954.
- 13) R.D. Strickland & W. Heutel : Am. J. Clin. Path., 24 : 988, 1954.
- 14) 松田漸 : 生化学, 26 : 420, 昭29.
- 15) 松田漸 : 生化学, 27 : 366, 昭30.
- 16) H.B. Hughes : J. Pharm. Exp. Therap., 109 : 444, 1952.
- 17) 堂野前維摩郷 : 最新医学, 80 : 108, 昭27.
- 18) 伊藤剛 : 生化学, 25 : 338, 昭28.
- 19) 那須義則 : 結核, 32 : 12, 昭32.
- 20) 小沢光・清水昭夫 : 医学と生物学, 27 : 110, 昭28.
- 21) 伊藤剛 : 生化学, 26 : 446, 昭29.
- 22) W.R. Cuthbertson, D.M. Ireland & W. Wolf : Biochem. J., 55 : 669, 1953.
- 23) 那須義則 : 結核, 32 : 63, 昭32.
- 24) B.B. Brodie, J. Axelrod & B.B. Levy : J. Biol. Chem., 179 : 25, 1949.
- 25) 大橋員恵 : 実験消化器病学, 8 : 683, 昭8.
- 26) M. Abe : The Science Reports of the Research Institutes Tohoku University, 8(1) : 1, 1958.
- 27) 伊藤文雄・青木隆一 : 最新医学, 12 : 1434, 昭32.
- 28) 五味二郎 : 最新医学, 12 : 141, 昭32.
- 29) 得津雄司 : 生化学, 30 : 190, 昭33.
- 30) B. Rubin & J.C. Burke : J. Pharm. Exp. Therap., 107 : 219, 1953.
- 31) 下村康夫 : 結核, 32 : 481, 昭32.