

2-(2,4-dinitrophenylthio)-3-acetylamino-5-chloropyridine (VII) の合成とその転位.

(VI) 0.5 g に無水酢酸 10cc を加え, 2 時間還流し, 冷後減圧下無水酢酸を留去すると結晶析出する. 酢酸エチル・ベンゼンの混液より再結晶し, mp. 162~164° の淡黄色針状晶 (VII) を得る. $C_{13}H_9N_4O_5S$, 理論値 C=44.62, H=2.95, 実験値 C=44.38, H=2.75.

粒状 NaOH 0.1 g を水 2cc に溶解し, 更にメタノール 5cc を加えた溶液にアセチル体 (VII) 0.1 g を懸濁させ, 振盪する. 結晶は溶解し, 濃赤色澄明な溶液となる. 過剰のヨウ化メチルを加えて放置すれば結晶析出する. 濾取し, 酢酸エチルより再結晶すれば mp. 224° の橙黄色針晶 (X) 0.1 g を得る. 本品は先に (VII) からの転位で得た (X) と混融して融点降下を認めない.

2-(2,4-dinitrophenylsulfonyl)-3-acetylamino-5-chloropyridine (XI) の合成とその転位.

(VII) 0.3 g を少量の水酢酸に懸濁させ, 攪拌下に $KMnO_4$ -酢酸溶液を脱色しなくなるまで加える. 過剰の $KMnO_4$ および MnO_2 を H_2O_2 にて分解した後, これに水を加えると無色の結晶析出する. エタノールより再結晶すると mp. 200~202° の無色針状晶 (XI) 0.2 g を得る. $C_{13}H_9N_4O_7S$, 理論値 C=38.96, H=2.26, 実験値 C=39.37, H=2.46.

粒状 NaOH 0.1 g を水 2cc に溶解し, 更にメタノール 5cc を加えた溶液にスルホン体 (XI) 0.1 g を懸濁させ, 振盪すると濃赤色澄明な液となる. ヨウ化メチルを加えて放置すれば, 結晶析出する. 濾取し, 酢酸エチルより再結晶すると mp. 211~213° の (XI) を得る. $C_{12}H_9N_4O_6S$, 理論値 C=38.66, H=2.43, 実験値 C=38.77, H=2.49. この際構造不明の高融点物質を得た.

(XI) はまた次のようにしても得られる. (X) 60mg を水酢酸に溶解し, 攪拌下に $KMnO_4$ -酢酸溶液を脱色しなくなるまで加え, 過剰の $KMnO_4$ および MnO_2 を H_2O_2 にて分解し, 更に 1 時間攪拌を続ける. これに Na_2CO_3 飽和溶液を加えて中和し, 酢酸エチルにて抽出し, 乾燥し, 酢酸エチルを留去し, 残渣を酢酸エチルより再結晶する.

3-chloro-8-nitro-5H-benzo [b] pyrido[3,2-e]-1,4-thiazine (XIII) の合成.

メタノール 25cc およびアセトン 25cc の混液に (VII) 0.3 g を溶解し, 還流下に 10% NaOH を溶液が青黒色になるまで滴下する. この際加熱時間を延長すると溶液は黒化して目的物の収量が著しく悪くなる. 溶媒を留去すると黒褐色結晶析出する. 水洗して濾取し, 酢酸エチルで抽出し, 酢酸エチルより再結晶する. mp. 290~295°, 収量 0.12 g, $C_{11}H_6N_3O_2S$, 理論値 C=47.23, H=2.16, 実験値 C=47.02, H=2.33.

杉浦 衛, 脇田敬子: 急性イソニコチン酸ヒドラジド中毒に関する研究 (第2報),

疾走痙攣時の脳内アンモニアの消長について.

Mamoru Sugiura, Keiko Wakida: Studies on the Acute INAH Poisoning. II.

The Fate of Ammonia in the Brain during the Running Fit.

The change in the substances related to energy source of the brain during the running fit incited by INAH was investigated. There was no change in the blood sugar with the running fit but brain glucose was decreased.

Glutamic dehydrogenase activity was not altered.

Measurement of the free ammonia of the brain showed that there was an increase during

the running fit. Therefore the cause of the running fit is free ammonia in the brain.

イソニコチン酸ヒドラジド (以下 INAH) がマウスやシロネズミにおいて、極めて顕著な疾走痙攣をおこすことはすでに報告されているが、その原因については明らかでない。先に著者らは急性 INAH 中毒に対する各種薬物の影響を観察し、その結果 INAH 中毒の痙攣症状は INAH が体組織内で変化を受けて生ずる。有毒物質恐らくはアンモニアに起因するのではないかと推察したが、INAH が疾走痙攣をおこしてくる以上、必然的に脳代謝にも一定の変動のひき起されていることが予想される。そこで著者らは疾走痙攣と呼ばれる特殊な痙攣の原因を脳代謝の面から追求すべく以下の実験を行った。

I 脳中および血中ブドウ糖

動物は体重 20 g 前後の雄マウスを用いて INAH の中毒量 220mg/kg を脊部皮下注射した。血中ブドウ糖の測定は注射前に行ったものを対照とし、痙攣時に採血したものと比較した。脳中ブドウ糖は対照、実験群、何れも断頭法にて、できるだけ速に大脳を取出し、冷却しながら海砂 0.3 g、蒸留水 1ml を加えて磨砕後、遠沈し、上清 0.1ml を採る。これらについて Somogyi-Nelson 法⁴⁾で真糖を定量した。

その結果 Table I. に示す如く、脳ブドウ糖は対照に比して減少しているが、血糖は対照に比し増大した。しかし脳ブドウ糖と血糖の比は痙攣を起した例では小さくなっていることを認めた。

Table I. Control: Glucose in brain and blood

Condition No.	Body weight (g)	Brain weight (mg)	Blood sugar (mg%)	Glucose in brain (mg%)	Glucose in brain	
					Blood sugar	
1	20.5	356	97	17.5	0.18	
2	19.5	390	82	19.0	0.23	
3	21.6	412	106	18.8	0.18	
4	22.0	370	80	20.3	0.25	
5	24.2	408	85	17.2	0.20	
Average	21.6	387	90	18.6	0.21	

Convulsion: Glucose in brain and blood

Condition No.	Body weight (g)	Brain weight (mg)	Blood sugar (mg%)	Glucose in brain (mg%)	Glucose in brain	
					Blood Sugar	
1	20.0	367	95	16.3	0.17	
2	17.7	313	103	15.3	0.15	
3	22.6	320	111	19.0	0.17	
4	21.4	311	95	14.0	0.15	
5	21.0	368	100	17.5	0.18	
Average	20.5	336	101	16.4	0.16	

5) 以上の実験結果は Klein らの報告とほぼ同一であり、種々の原因による痙攣時には脳ブドウ糖の代謝が亢進しているのであるから、著者らの得た結果は当然のことと考えられる。従って脳ブドウ糖の減少は痙攣そのものと直接のつながりをもつものと考えられる。

更に INAH 痙攣ではブドウ糖、その他高エネルギー源物質の変動も、他の一般の痙攣の場合と同様であって、特異的なものは見られないのではないかと考えられる。

そこで著者らは重要な脳の栄養素であるグルタミン酸 (GIA) の酸化機転における INAH の影響をみようと考えた。GIA は脳で酸化される唯一のアミノ酸であるが、種々の原因による痙攣の際に脳 GIA は減少する場合⁶⁾とそうでない場合⁶⁾がある。

このような理由から INAH による疾走痙攣時の脳 GIA の酸化酵素としての GIA-dehydrogenase の変動を追求した。

II 脳グルタミン酸デヒドロゲナーゼ

体重 20~25 g 前後の雄マウスを使用し INAH の中毒量 220mg/kg を脊部皮下に注射し、活性の測定は対照群と注射後痙攣群とにつき断頭屠殺して行った。屠殺後できるだけ速に、かつ冷却しながら大脳を取出し、氷冷した20倍量の pH7.4, 1/10M 燐酸緩衝液でホモゼナイズし、Thumberg 法で活性を測定した。

反応条件はホモゼネート 1.0ml, 1/10M, 燐酸緩衝液 (pH7.4) 1.0ml, 1 MGIA-Na 0.2ml, 蒸溜水 1.6ml, 0.1%MB. 0.2ml で Thumberg 管の空気を排除した後, 37°C に保温し, MB の褪色時間を測定する。活性は脳 1g につき 1 時間に還元される MB 量で表した。

その結果 Table II. に示す如く脳 glutamic-dehydrogenase は疾走痙攣時にも対照にも大した変動はなく、したがって GIA の酸化的脱アミノを通じてのアンモニア生成も正常と同様に行われていると考えられる。

Table II. Control: Activity of glutamic acid-dehydrogenase in brain

Condition No.	Body weight (g)	Brain weight (mg)	Discharge time of M.B. (min)	Activity M.B. quantity reduced 1g of brain Per hr.
1	26.0	285	38	6.32
2	28.0	420	38	6.32
3	22.5	400	44	5.45
4	25.0	431	30	7.98
5	25.2	445	24	10.00
6	21.4	300	27	10.37
7	20.5	260	30	8.00
Average	24.1	363	33	7.78

Convulsion: Activity of glutamic acid dehydrogenase in brain

Condition No.	Body weight (g)	Brain weight (mg)	Discharge time of M.B. (min)	Activity M.B. quantity reduced 1g of brain per hr.
1	23.0	410	35	6.85
2	22.5	367	31	7.74
3	23.0	313	31	7.74
4	20.0	280	31	7.74
5	21.0	320	28	8.62
6	21.0	311	27	8.89
7	23.7	368	28	8.62
Average	22.0	338	30	8.03

この反応がアンモニア生成の有力な原因と考えられているが、なお他にも不明の点があ⁷⁾って、痙攣には脳に爆発的な遊離アンモニアの生成を伴うのが普通である。⁸⁾そこで疾走痙攣時の脳内アンモニアの生成を追求した。

III 脳中アンモニア

体重 20 g 前後の雄マウスに INAH 中毒量 220mg/kg を脊部皮下注射し、対照群と痙攣開始直後断頭屠殺し、ただちに 0.5 N HCl 4.0ml 中に入れ、脳重量を測定する。次に氷冷しながら磨碎して、その上清についてアンモニアをネスラー法にて測定した。

アンモニア濃度測定法は Seligson⁹⁾ および Bessman¹⁰⁾ の方法に準じた。すなわち Seligson の拡散装置を用い、上記磨碎した 1.0ml を直接装置に注入後直ちに 1.0ml の飽和炭酸カリウム溶液を重畳して密封した。操作開始から装置に注入を終るまでの時間は 5 分以内とする。その後毎分 40 回転で 30 分間回転した後 10 倍希釈 Nessler 液 1.5ml で発色させ、コールマン分光光度計により、420m μ で吸光度を測定し、既知硫酸基準液を用いた検量曲線よりアンモニア濃度を測定した。

結果は予想どおり Table III. に示すごとく対照に比し疾走痙攣時、明らかに脳内に遊離アンモニアの増加が認められた。

Table III. Control: Ammonia in brain

Condition No.	Body weight (g)	Brain weight (mg)	Ammonia in brain (mg%)
1	18.0	272	0.60
2	19.5	270	0.44
3	25.5	331	0.48
4	19.0	196	0.36
5	21.5	205	0.45
Average	20.7	255	0.47

Convulsion: Ammonia in brain

Condition No.	Body weight (g)	Brain weight (mg)	Ammonia in brain (mg%)
1	16.2	419	1.80
2	23.5	278	1.84
3	24.7	313	1.64
4	20.0	295	1.64
5	24.2	249	1.28
Average	21.7	311	1.64

考 察

INAH の中毒量 220mg/kg を注射して起る疾走痙攣の場合脳ブドウ糖は減少し、一般の痙攣の場合にみられる脳ブドウ糖の変動⁵⁾ と同一の結果がえられた。アンモニア生成の有力な原因として考えられる glutamic dehydrogenase の活性は正常と大差ないから、この酵素系を通じての GIA の減少は考えられない。

つぎに脳内遊離アンモニアを見ると疾走痙攣では異常な増加がみられる。このことは痙攣時、脳に爆発的な遊離アンモニアの生成が行われ、このアンモニア処理のため、GIA が使用されグルタミン (GIN*) を生成すると考えられる。著者ら³⁾ が報告したようにグルタミン酸、ATP 併用で好結果を得たのもその一因と思われるが、この異常な遊離アンモニアの生成機作については今後の研究に待たねばならない。

いずれにしても疾走痙攣は脳内遊離アンモニア濃度の増加によるものであることは明らかである。

結 論

1) INAH の中毒量 220mg/kg を雄マウスに脊部皮下注射した場合, 脳ブドウ糖は対照に比し減少したが, 血糖は対照に比し増大した。

2) 脳Glutamic dehydrogenase は, 活性の変動を示さなかった。

3) 脳内遊離アンモニアは疾走痙攣時明らかに増加した。したがって疾走痙攣は脳内遊離アンモニアの増加に基因するものと考えられる。

終りに本研究にあたり Seligson の拡散装置をお貸しいただいた岐阜医大乾教授ならびに終始御激励を賜った宮道学長並びに御便宜を与えられた加藤教授に深甚の謝意を表す。

文 献

- 1) Benson: Am. Rev. Tuberc. **65**, 376 (1952).
- 2) Rubin, Thomas et Burke: ditto **65**, 332 (1952).
- 3) 杉浦, 山本: 薬学研究**31**, 607 (1959).
- 4) Nelson, N: J. Biol. Chem. **153**, 375 (1944).
- 5) Klein, J. R., Olsen, N. S.: J. Biol. Chem. **167**, 747 (1947).
- 6) 堀田, 桜井, 岡本: 日本生理誌**15**, 124 (1953).
- 7) 塚田, 高垣: 科学**24**, 572 (1945).
- 8) Benitez, D., Pscheidt, G. Stone, W. E.: Am. J. Physiol. **176**, 488 (1954).
- 9) Seligson, D., and Seligson, H.: J. Lab. and Clin. Med. **38**, 324 (1951).
- 10) Bessman, S. P. and Bessman, A. N.: J. Clin. Invest. **34**, 622 (1955).

杉浦 衛, 牧田浩和, 倉野紗知子: トリプトファン代謝に及ぼすPASの影響 (第2報)

PAS連続投与時におけるトリプトファン代謝産物の変動について

Mamoru Sugiura, Hirokazu Makita and Sachiko Kurano:

Studies on the Effect of PAS on the Tryptophane Metabolism. II.

Excretion of the Tryptophane Metabolites by Continuous Administration of PAS.

In the rat's urine after continuous administration of PAS, there was an increase of xanthurenic acid (XA) and anthranilic acid (AnA) and a decrease of N-methylnicotin amide (MNA) on tryptophane metabolites.

Besides there was some change of β -cell in the rat's langerhans islands.

¹⁾ 前報において著者らは PAS 糖尿の本体を究明する手がかりとして PAS 連続投与時, 尿中に発現する蛍光物質について検索を行った。その結果キサントレン酸 Xanthrenic acid (XA) の排泄を認め, PAS 長期投与による XA の排泄と血糖値低下がほぼ平衡関係にあることを見出し, PAS 投与時の副作用としての糖尿病発現に対しその一因になるのではないかと推察した。今回は, シロネズミに PAS を連続投与し, その尿中に排泄されるトリプトファン代謝産物, 即ちキヌレニン (Kyn), アントラニル酸 (AnA), キサントレン酸 (XA) および