

## パラアミノサリチル酸の人体内變化について

平 本 実, 伊 藤 芳 美

(衛生化学教室)

### The Metabolic Fate of p-Aminosalicylic Acid in the Human Subjects.

By Minoru Hiramoto and Yoshimi Ito.

パラアミノサリチル酸(以下PASと記す)は現在治療剤として広く用いられているが, その生体内變化の研究報告は比較的少ない。1948年 E. Leony Weiss<sup>1)</sup>等は PAS-Na を人, 犬, 鼠に経口投与したところ吸収並びに排泄は速かであり, 投与量の85%が10時間内の尿中に現われ尿中のものを精査したところ unchanged PAS の他 Acetylated PAS 及び p-Aminosalicylic acid の存在を報じている。しかしその際 PAS の glucuronide の存在を否定している。また Venkataraman<sup>2)</sup>も同様の実験を行い尿中に 40~60%の unchanged PAS 及び Acetylated PAS を検出したが, グルクロン酸の排出増加を認めない。

以上の結果は PAS と近縁のサリチル酸や p-aminobenzoic acid が明らかに一部グルクロン酸と結合して排泄される<sup>3), 4)</sup>のに比べて全く対照的である。九大薬学科塚元教授の最近の報告<sup>5)</sup>

によると鼠についてはあるが, 尿中に unchanged PAS 23~60%, Acetylated PAS 17~42%の外 2~3%の glucuronide を確認した。この結果から先の E. Leong Weiss 或いは Venkataraman は glucuronide 量が僅少なため看落したのか或いは鼠と人体内との相異によるものか何れなるか判定出来ない。吾々はこの点を明瞭にすべくまた仮に glucuronide の存在を知つたならさらにその PAS との結合位置の決定を試み薬物とグルクロン酸の抱合機構解明に資すべく本研究を進めた。吾々の場合詳細は実験の部に譲るが, 投与量の約40%が unchanged PAS, 約13%が Acetylated PAS 及び約8%の PAS-glucuronate を検定し, glucuronate はペーパークロマトグラフィーにより分離し反応その他より PAS との結合位置は COOH 基であることを知つた。

### 実 験 の 部

実験は毎日 PAS-Ca 8g 宛を連続服用せる成年女子の24時間全排尿を混合せるものを試料として行つた。

#### 〔I〕 Free amine の定量 : 津田試薬による方法<sup>6)</sup>

試薬 0.1%津田試薬水溶液

津田試薬 1 ( $\beta$  Diethyl-amino-ethylamino)

-naphthalin-dihydrochloride

検液 : 尿稀釈液及び PAS-Na 標準液(1.0~0.2mg%)

方法 検液 3cc に 2N-HCl 0.5cc を加え 0.1% NaNO<sub>2</sub> 液 0.1cc を加え 3 分間放置後, 10%尿素 1cc を加え過剰の HNO<sub>2</sub> を分解 20 分後にナフタリン試薬 1cc を加えて振ると赤

紫色を呈する。5～6分後に 550m $\mu$  で比色する。

(結果) 1日量 PAS-Na として 3780mg 服用量に対し47.3%である。この量は後記の如く不変化 PAS と PAS-glucuronate の和にあたる。

#### 〔II〕 Free Phenol の定量

過クロール鉄による方法<sup>7)</sup>

検液：尿稀釈液及び PAS-Na 標準液 (10～200p pm)

方法 検液 5cc に 0.5% の HNO<sub>3</sub> を 0.15 cc 加え次に 0.3% FeCl<sub>3</sub> を加え直ちに 490m $\mu$  で比色する

(結果) 1日量 PAS-Na として 5,282mg 服用量に対し66.0% Free Phenol これは不変化PAS 及び Acetylated PAS の他後記によりPAS-glucuronate をも含む。

#### 〔III〕 Total amine (Free and combined amine) の定量

尿の加水分解法として N-HCl, N/2CH<sub>3</sub>COOH, 8% のトルエンスルホン酸<sup>8)</sup> 及び N/10, N/100 蟻酸を使つて加熱してみたが、何れも尿中にて phenol 及び Amine の反応を呈しない部分を生じ実用し難い。

E. Leong Weiss<sup>1)</sup> 等の方法即ち尿に 2N-HCl 同量を加え 38° で18時間放置後 NaOH 液で中和し以下〔I〕の方法による。

(結果) 1日量 PAS-Na として 4,800mg 服用量の60%に相当する。

#### 〔IV〕 Total phenol の定量

〔III〕の水解尿に対し〔II〕と同様に試みたが、phenol の増加は認められなかつた。これは PAS の OH 基にグルクロン酸、硫酸或いはその他が結合していないことを示す。

#### 〔V〕 グルクロン酸の定量

須藤法<sup>8)</sup>, Carbazol による方法<sup>9) 10)</sup>を試みたが、良結果が得られなかつたので Fishman の方法<sup>11)</sup>によつた。

方法 検液 2cc に 0.2% ナフトレゾルシン (アルコール液) 2cc を加え濃 HCl 2cc を混

じて 100° の水浴中にて1時間加熱する。

冷後 5cc のアルコールを加え振盪し、更に 8cc のトルエンで抽出トルエン層を分離して 560m $\mu$  で比色する。混濁を生ずるときは3000回転で7分遠心分離を行う。

標準液 グルクロン酸を夫々 90 $\gamma$ , 60 $\gamma$ , 45 $\gamma$ , 30 $\gamma$ , 15 $\gamma$  を含むようにする。

(結果) 検尿 (1日量) 中のグルクロン酸量平均 1,089mg である。これを PAS を服用せざるべきの対照尿の平均量 396mg に比し服用によつてその差 693mg が増加した。これは分子量から計算して 624mg の PASCa がグルクロン酸と結合していることになる。これは服用量の7.8%に相当する。

#### 〔VI〕 ペーパークロマトグラフィーによる PAS-glucuronate の確認試験

東洋濾紙 NO 50 を使用し展開液 Buthanol 60cc Ethanol 20cc H<sub>2</sub>O 30cc を使用して検尿についてペーパークロマトグラフィーを試みる

展開時17～19間時間。〔一次元上昇法〕

発色剤 (1) 5% FeCl<sub>3</sub> 溶液

(2) Ehlich 試薬

(3) Aldose 試薬<sup>12)</sup>

96%エタノール 10cc

サリチル酸 0.4g

O-トルイジン 0.5cc

粉霧後 100～105°C 5分間加熱により発色す

Ehlich 試薬による尿の呈色

Rf 値

1. 0,000

2. 0,077

3. 0,208

4. 0,310

5. 0,393

6. 0,443

以上のうち Rf 0,443 のスポットは FeCl<sub>3</sub> 液にて呈色し、且つN-HClを粉霧加熱後 Aldose 試薬により呈色するのでPASの glucuronate で

ある。この物質は反応により明らかな如く OH 及び NH<sub>2</sub> 基が free であるのでグルクロン酸は COOH 基に結合していると考えられる。Rf

0,208 のものは free の PAS であり Rf 0.310 のものは PAS を服用せざる健康人尿にも現われる。

### 総括及び結論

以上の結果 PAS は人体内で約13%がアセチル化され約8%がグルクロン酸と結合し約40%がそのままの形で尿中に排泄される。E. Leong Weiss 等及び Venkataraman は PAS がグルクロン酸と結合しないと述べているが、明らかに PAS 服用者の尿中のグルクロン酸量が増加している。しかしサリチル酸ソーダが人体内で約25%グルクロン酸と結合することや<sup>4)</sup>、安息香酸ソーダが犬の体内で70% glucuronide される

ことと<sup>13)</sup>比較すれば非常に少ない。

PAS とグルクロン酸の結合位置を吾々の実験の結果 COOH 基であると断定したのであるが、これは前記の安息香酸、サリチル酸及び P-Aminobenzoic acid<sup>14)</sup> が同様に COOH 基と結合していることと同系列に考えられる。Total-amine の量が Free phenol の量に比しいくらか少ないが測定誤差によるものと考えられる。

### 文

- 1) E. Leong Weiss, Paul K. Smith : The Journal of pharmacolog Experimental therapeutics 93, 368~82 (1948).
- 2) A. Venkataraman P. R : J. Biol. Chem. 173, 641~51 (1948).
- 3) Federation proceeding 7, 258 (1948).
- 4) Eleanor M. Kapp : J. Biol. Chem. 145, 549 (1942).
- 5) 塚元 : Pharm. Bull 3, 427 (1955).
- 6) 東京医学会誌, 57, 493~503 (1943).
- 7) 日本薬学会協定衛生試験法, 13版, 470.

### 献

- 8) 須藤憲三 : 医化学的微量測定法
- 9) Folia pharmacol, Japan 49, No.4 186(1953).
- 10) J. Biol. Chem. 167, 189 (1947).
- 11) Fishman : Chem. Abst. 45, 8 128 (1951).
- 12) A. N. Bozarkin :  $\phi$  uzuodozung dacme Hun Vol 12 (3) : 298~302 (1955).
- 13) Smith : Biochemical Jourual of London 42, 351~358 (1948).
- 14) Quick : J. Biolog. Chem. 70, 59, 397 (1926).

### Summary

About 60% of P-aminosalicylic acid (PAS) administrated orally was detected in the urine, 40% as unchanged, 13% as acetylated compound and 8% as PAS-glucuronide. PAS-glucuronide was identified by mean of paper-chromatography.

After examine of its colour reactions and of the other properties, it was assumed to be 4-amino, 2 oxybenzoyl glucuronide.

昭和31年6月30日受理