UDC 612.398.194 : 547.233.3 : 547.993

263. 岩本多喜男：腐敗アミンの生理化学的研究（第9報*）

トリメチルアミンの腹腔内注射による猫体内分布と変化

Takio Iwamoto : Biochemical Studies of Putrefaction Amines. IX. Distribution and Change of Trimethylamine in Cat Organs after its Parenteral Administration.

(Hokkaido Institute of Public Health)

Biological distribution of trimethylamine and its change were examined using a cat, and variation of trimethylamine and its metabolic product, trimethylamine N-oxide, was examined with cat liver homogenate. After intraperitoneal injection of 0.5~1.0 g./kg. of trimethylamine into a cat, the organs were taken out from the dead animal or the cat sacrificed after 1 hour, and the amount of the amine was determined by Dyer's method. Trimethylamine was found to transit and be distributed in various organs but it accumulates in the largest amount in the liver, and gradually moves to the kidney. Trimethylamine N-oxide was not found in the case of death from acute poisoning but was found in a small amount in the kidneys, spleen, and blood when sacrificed 1 hour after the injection.

When trimethylamine was added to the liver homogenate, the amount decreased rapidly by 1 hour later but there was little change thereafter for 24 hours. Trimethylamine N-oxide appeared in 3 hours and about one-half of the amount of trimethylamine added was found to be oxidized into N-oxide during 24 hours.

(Received June 24, 1957)

イカをはじめ各種魚類に含有されるトリメチルアミン-N-オキシドは、大腸菌や腐敗菌群によつて還元されトリメチルアミンを生ずること¹⁾、トリメチルアミンが血清コリンエステラーゼを強く阻害し²⁾また家兎摘出腸管に対して強い蠕動亢進作用があること³⁾がわかつたので、今回はこのトリメチルアミンが生体内でどのように分布され且つ変化するかについて猫を用いて検討した。

トリメチルアミンの生体内変化については Müller⁴⁾、清水等⁵⁾の報告があるが、これらによると犬に於いては経口投与されたトリメチルアミンは、その半量がアンモニアとして、残部はトリメチルアミン-N-オキシドと未変化のトリメチルアミン及びジメチルアミン(?)として排泄され、人間の場合も尿中にオキシドが著明に排泄されるという。著者は猫を用いてトリメチルアミンを腹腔内に注射し、臓器内への分布及び肝ホモジネートによる代謝実験を行い興味ある成績を得た。

実験方法 哺乳動物に対するトリメチルアミンの致死量は 1.0~2.0 g/kg と云われている⁶⁾ので、トリメチルアミン塩酸塩又は遊離アミンの生理食塩水溶液を、アミンとして 0.5~1.0 g/kg ずつ猫（仔猫 2 匹、親猫 2 匹）に腹腔内注射した。

いずれの場合も注射後 1~2 分で嘔吐をはじめ、次第にはげしくなると共に苦悶、流涎、失禁、下痢、四肢のけいれん症状をおこし約 20 分後に呼吸麻痺によつて致死した。ただ 1 匹のみは 30 分後には上記症状が治まり平静となつたので、1 時間後に屠殺した。

直ちに開腹して放血し、各臓器を摘出し生理食塩水で表面を洗い、同量の蒸留水を加えてホモジネートとなし、これと同量の 20%トリクロル酢酸を加えて除蛋白後その滲液を用いてトリメチルアミン及び N-オキシドの定量を行った。

次に健康猫肝臓をとり出し同量の蒸留水を加えてホモジネートとなし、この 10 g ずつをとりこれにトリメチルアミンを肝臓 1 g 当り 0, 1, 2, 4 mg となるように加え、更に pH 7.0 の磷酸緩衝液 10 cc 及び 0.2 M NaF 水溶液 10 cc を加えて全量を 35 g となし、37° の恒温槽に放置し、1, 3, 5, 10, 24 時間後に一部をとり出してそれぞれに含まれるトリメチルアミン及び 4 mg/g の場合の N-オキシドを定量した。トリメチルアミン及

* 日本薬学会関東支部 6 月第 2 例会発表 (1957).

1) 岩本：本誌 77, 879(1957).

2) 岩本：本誌 77, 1183(1957).

3) 岩本：医学と生物学 42, 193(1957).

4) Müller：Z. Physiol. Chem.(Hoppe-Seyler's) 266, 205(1940). 5) 清水，他：アレルギー 1, 86(1952).

6) 池田：“薬物致死量集”(南山堂) 128(1953).

びオキシサイドは次の方法で定量した。

トリメチルアミンは Dyer の原法⁷⁾ を佐々木が改変した方法⁸⁾ に準じて行つた。検体 (この場合は除蛋白汙液) 2 cc を分液漏斗にとり、12%ホルマリン水 1 cc, トルエン 10 cc, 飽和炭酸カリ液 3 cc (N-オキシサイドの場合は 5 cc) を加えてはげしく振盪し 5 分後トルエン層を分取して脱水芒硝で乾燥し、この 5 cc をとつて 0.02%ピクリン酸トルエン溶液 5 cc に加えて生じたトリメチルアミンピクレートの黄色を分光光度計で比色定量する (420 mμ)。別に純トリメチルアミンを用いて同様処理した検体から標準検量曲線をつくつておく。器械は島津製 QB-50 型分光光度計を使用した。

トリメチルアミン-N-オキシサイドは Dyer, Snow の方法⁹⁾ に準じて行つた。即ち検体 2~5 cc をとりこれに 0.5 g の Devarda 合金と濃塩酸 1 cc を加えて沸騰水浴中 30 分間加熱し、放冷後汙過して残渣を水で洗浄、洗液と汙液を合した液を前記の方法でトリメチルアミンの定量を行う。この時のトリメチルアミンの量を a 、還元前のトリメチルアミンの量を b とすると、オキシサイドの量は $(a-b) \times 69/53$ から計算される。この際、還元後の汙液に含まれる金属塩類がアルカリを加えると水酸化物となつて析出してくるので抽出にやや困難があり、トリメチルアミンの回収率に変化を生ずるので、あらかじめ回収率をしらべておく必要がある。

実験結果 急性中毒死の場合に於けるトリメチルアミン及び N-オキシサイドの体内分布は Table I に示した通りである。即ち No. 1, 2, 3 の場合は何れも 20 分後に斃死した例であるが、肝における濃度が最も大であり、次いで肺、脾、腎に多く、大脳及び血液中の濃度は小さい。但し No. 2 は遊離アミンの場合であるが、他の塩酸塩の場合に比べて全体に分布濃度が大きかつた。トリメチルアミン-N-オキシサイドは何れの場合も認められなかつた。

Table I. Biological Distribution of Trimethylamine and N-Oxide in Cat Organ

No.	1	2	3	4					
Injected trimethylamine	1.0 g./kg. HCl salt	0.5g./kg. Free Base	0.5 g./kg. HCl salt	0.5 g./kg. HCl salt					
Fatal time	20 mins.	20 mins.	20 mins.	1 hr.					
Weight(kg.)	0.5	3.1	2.7	0.47					
Concn.									
Organ	TMA* mg./g.	Total TMA mg.	TMA mg./g.	Total TMA mg.	TMA mg./g.	Total TMA mg.	TMA mg./g.	Total TMA mg.	TMAO** mg./g.
Brain	0.59	10.0	1.1	20.9	0.15	2.85	0.97	13.5	0
Lung	1.78	12.4	2.1	35.7	1.25	20.0	3.27	16.3	0
Liver	3.03	109.0	6.7	661.5	2.7	297.0	1.27	31.7	0
Spleen	—	—	1.1	3.3	7.1	56.8	3.73	7.4	0.51
Kidney	1.46	11.6	3.8	99.8	2.0	56.0	4.48	22.4	0.99
Blood	0.32	11.4	1.7	365.6	0.75	135.0	0.32	10.0	0.13

* Trimethylamine, ** Trimethylamine N-oxide.

No. 4, 即ち注射後 1 時間の場合は、腎が最も濃度高く、脾、肺がこれに次いでいる。トリメチルアミン-N-オキシサイドはこの場合に微量ながら血液、腎及び脾に認められた。

次に肝ホモジネートに於ける代謝実験の成績は Fig. 1 に示した通りであるが、トリメチルアミン濃度の如

Fig. 1. Trimethylamine Metabolism in Liver Homogenates

7) W. J. Dyer : J. Fisheries Research Board Can. 6, 356(1945).

8) 佐々木 : 農化 27, 420(1953).

9) Dyer, Snow : J. Fisheries Research Board Can. 8, 309(1952).

何に拘らずトリメチルアミン添加後 1 時間でアミンは急激に減少し添加量の約半量となり、その後の変化は僅かであつた。N-オキサイドはトリメチルアミン添加後 3 時間で出現したが、その量は添加アミンの略々 $\frac{1}{4}$ であり 24 時間では略々 $\frac{1}{2}$ となつた。

考察及び結論 以上の実験結果から見ると、トリメチルアミンの猫に於ける急性中毒の場合には、各臓器に速やかに分布し特に肝臓に多量捕捉されるが漸次他の排泄臓器に移行し、また同時にトリメチルアミン-N-オキサイドの形に変化して行くことが推定される。その時間的経過は、少なくとも 1 時間以内には殆んど $(\text{CH}_3)_3\text{N} \rightarrow (\text{CH}_3)_3\text{N}:\text{O}$ の変化が起らず、かなりの時間経過後にこの変化が進行し、また他の変化が起つて分解や抱合が行われるものと推測される。1 時間後に腎に於いて N-オキサイドが出現したことは、この酸化反応が肝に於いてよりも寧ろ腎に於いて行われることを予測せしめるが、肝ホモジネートに於ける実験でも 3 時間後に初めてオキサイドが認められたことと考え合わせて興味ある現象である。また投与アミンの $\frac{1}{4} \sim \frac{1}{2}$ が N-オキサイドに酸化されることは Müller の報告と同様であり、次のような代謝型式が存在することを推定せしめるものである。

さてこの酸化に与かる酵素は何であるかについては未だ解明されていないが、魚の筋肉中には一種の trimethylamine oxidase が存在するという¹⁰⁾。この酵素の存在は恐らくトリメチルアミンの解毒機構のためであろうといわれるが、人体や哺乳動物に於いてもこれが見られることは興味深い点である。N-オキサイドは勿論アミンに比べて毒性低く、著者の実験ではその血清コリンエステラーゼ阻害作用も弱い¹¹⁾ 所から見てもこのことが考えられるのである。

終りに御鞭撻を賜つた北海道大学赤木教授、御校閲を賜つた東京大学伊藤教授に深謝の意を表する。

北海道立衛生研究所

10) Baldwin: 邦訳“動的生化学”(岩波書店) 141, 285(1954).

11) 岩本: 本誌 77, 1183(1957).