

## Isonicotinic Acid Hydrazid (INH)의 不活性化에 관한 研究

金 在 百

圓光大學校 藥學大學

### The Inactivation of Isonicotinic Acid Hydrazid (INH)

Jae Baek Kim\*

(Received Aug. 20, 1979)

The main route of metabolism of isonicotinic acid hydrazid (INH) in man is its conjugation with acetyl coenzyme A to form acetyl-INH. The reaction is catalyzed by an N-acetyl transferase in the liver. The acetylated drug can be excreted by the kidney more efficiently than INH, and the biological half-life of the drug in the body depends upon how rapidly the drug can be acetylated.

This report measured the concentration of INH in the blood of 147 individuals 6 hours after they received a standard dose (9.8mg/kg) and plotted the data as a frequency distribution histogram. There was bimodality, with a mean for one subpopulation at approximately 0.6~0.8 mcg/ml., and a mean for the other subpopulation between 2.8 and 4.0mcg/ml.

As might be expected slow acetylators of INH are more likely to develop a cumulative toxicity to the drug. The principle toxicity to INH is a peripheral neuritis but this adverse effect can be prevented by given extra pyridoxin to the patients, and the vitamin does not alter the antitubercular activity of INH. This report carried out that pyridoxine does not alter the ratio of free INH to the total INH in blood.

Isonicotinic acid hydrazid(以下 INH로 略記함)는 體內에서 acetyl 誘導體를 비롯하여 isonicotinic acid로 加水分解하여 glycine抱合體, isonicotinuric acid를 生成하며 少量의  $\alpha$ -keto酸의 hydrazine과 INH의 N-methyl抱合體도 生成한다.<sup>1,2)</sup>

INH를 사람에게 投與한다음 尿의 分析에서는 被檢者에 따라 약간의 變動은 있으나 多數의

\* College of Pharmacy, Wongkwang University

尿代謝物이 밝혀졌는데<sup>9)</sup> INH의 迅速型不活性化者에게서는 不變化 INH를 平均 4%,  $\alpha$ -ketoglutaric acid 및 pynuvic acid의 isonicotinoyl hydrazone을 합쳐서 4%, acetyl INH로서 44%, isonicotinic acid 및 isonicotinuric acid로서 48%가 回收되었으며, 緩徐型不活性化者에게서는 이들 값이 각각 13, 21, 34 및 32%이었다.

사람에 있어서 INH의 주된 代謝經路는 Acetyl Co enzyme A에 의한 acetyl INH로의 抱合反應인데 이 反應은 肝 N-acetyltransferase에 의하여 촉매되며 acetyl INH의 腎으로 부더의 排泄은 INH보다 빠르고, INH의 生體內에서의 半減期는 INH가 어느 정도의 速度로 acetyl化되느냐에 따라서 決定된다.

Evans등<sup>4)</sup>은 INH를 投與한 다음 6時間째의 INH의 血中농도를 測定하여 迅速不活型(rapid inactivator)가 遲延不活型(slow inactivator)으로 代表되는 두 集團이 있음을 報告하고 家系 調査實驗에서 合理的인 遺傳的假說을 세워 확인한바 있다.

著者등<sup>5)</sup>도 사람의 肝 N-acetyltransferase가 INH 뿐만 아니라 他藥物의 acetyl化도 觸媒하므로, sulfamethiyol의 acetyl化速度와 血中농도를 測定하여, 韓國人의 sulfamethizol에 대한 acetyl化速度는 Nelson등<sup>6)</sup>의 값보다 4.82배가 됨을 확인하였고 投藥後 5時間째의 血中濃度を 測定하므로써 그래프에 二頂性을 나타냄을 확인한바 있다.

아울러 著者등<sup>7)</sup>은 家兔를 使用한 실험에서 INH의 不活性化는 個體差는 현저하나 유리 INH와 總一 INH의 比는 거의 一定하고, 또 Ethambutol이 INH의 不活性化를 抑制한다는 事實을 확인한바 있다.

INH의 遲延不活性化型이 藥物에 대하여 蓄積毒性을 나타내기 쉬운데<sup>8), 9)</sup> Hugyes등<sup>10)</sup>과 Devadatta등<sup>11)</sup>은 INH의 주된 毒性은 末梢神經炎이라 하고, 이 副作用은 pyridoxin으로 防止할 수 있으며 비타민은 INH의 抗結核作用에는 별 영향을 미치지 않다고 하였다. 이에 著者는 INH의 Acetyl化(不活性化)에 있어서 迅速不活性化型과 遲延不活性化型으로 代表되는 두 集團이 있음을 再確認하고 兩集團에 pyridoxin을 投與한 다음 INH의 不活화에 pyridoxin이 어떠한 영향을 미치는가를 追求하기 위하여 실험한 결과 若干의 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

## 實 驗 方 法

試藥 및 器機—Ammonium sulfate (GR), borax (GR), methanol (GR),  $KMnO_4$  (GR), Ceric sulfate (GR), trichloro acetic acid (GR), ascorfic acid (GR), Isoamyl alcohol (GR), Ethyl ether (GR), 1-chloro- 2,4-dinitrobenzene (GR) 및 ammonia 완충액(정제수 약 400ml에  $K_2HPO_4$  87gm와  $NH_4Cl$  107gm를 용해시키고 여기에 濃암모니아(28%) 6.7ml를 가하여 전량을 500ml로 하였다.) spectrophotometer(Shimadzu MPS 5000)

材 料—isonicotinic acid hydrazid (USP XIX), pyridoxin HCl (USP XIX)

血장중의 遊離 및 總 INH의 실험—被檢人 143人에게 INH 投與前 48時間內에는 他藥物의 服用을 兼하고 標準用量(9.8mg/kg)의 INH를 經口投與한 다음 6時間후에 採血하여 다음의 實驗方法에 따라 遊離 및 總 INH를 測定하였다.

Pyridoxin의 영향에 관한 실험—遲延不活性化型으로 表現되는 被檢者 人과 迅速不活性化型으로 表現되는 被檢者 人에 대하여 pyridoxin HCl 100mg와 INH 500mg를 同時에 投與하고 INH 單獨投與時와 같이 다음의 實驗方法에 따라 遊離 및 總 INH를 測定하였다.

不活성에 대한 一律性실험—被檢者 人에 대하여 INH 500mg를 投與하고 24時間尿를 採

取한데 2~4時間마다 一定量의 尿中에서 遊離 및 總 INH를 다음의 實驗方法으로 測定하고 總 INH에 대한 遊離 INH의 百分率을 3~4日間격으로 3회실험한 결과를 平均하여 표시한다.

**遊離 INH의 定量**—Kelly와 Poet<sup>12)</sup>의 方法으로 isoamylalcohol-ether로 plasma에서 遊離 INH를 抽出하고 Scott<sup>13)</sup>의 方法으로 1-chloro-2,4-dinitrobenzene을 써서 呈色시켜 定量하는데 acetyl-INH, isonicotinic acid, isonicotinuric acid 및 diisonicotinoyl hydrazine과는 呈色反應을 이르지 않는다.

即 共栓 플라스크에 ammonium sulfate 3.2gm를 취하고 여기에 血漿 5ml, N-NaOH 0.5 ml와 isoamylalcohol-ether (1:4) 30ml를 加한다. 이 混合物를 30分間 진탕하고 遠心分離한다. 여기서 ether 20ml를 除去한 다음, 여기에 0.1N HCl 1.3ml를 加하여 3分間 진탕한다. 이 용액 1.0ml를 시험관에 취하고 여기에 0.1N alcohol性 KOH 1ml, 붕사 100mg 및 1-chloro-2,4-dinitrobenzene용액(新製한 1.25% 무수 ethanol용액) 8ml를 加하고, 이 시험관을 20分間 비등수욕중에서 ethanol을 완전히 증발 제거시킨 다음, 냉각시키고 이 殘渣에 methanol 3ml를 가하여 잘 흔들고 다음에 여과한다. 이 여액을 530nm에서 吸光度를 測定하여 定量하는데 空試驗液은 INH投藥前의 血漿으로 調製하며, 檢量標準曲線은 INH를 각각의 농도로 一定量溶解하여 위와 같은 方法으로 처리하여 作成한다.

尿中의 遊離 INH의 定量은 물론 實驗코저 하는 尿를 1:10 또는 1:20으로 稀釋한 것을 1ml取하여 抽出操作을 하지 않고 여기에 붕사와 chlorodinitrobenzene을 가하고 다음 操作은 위와 같은 方法으로 실시한다. 呈色物은 methanol 5ml로 抽出하여 吸光度를 測定하며 檢量標準曲線은 INH 投與前의 尿에 INH를 각각의 농도로 一定量溶解하여 위와 같은 方法으로 처리하여 作成한다.

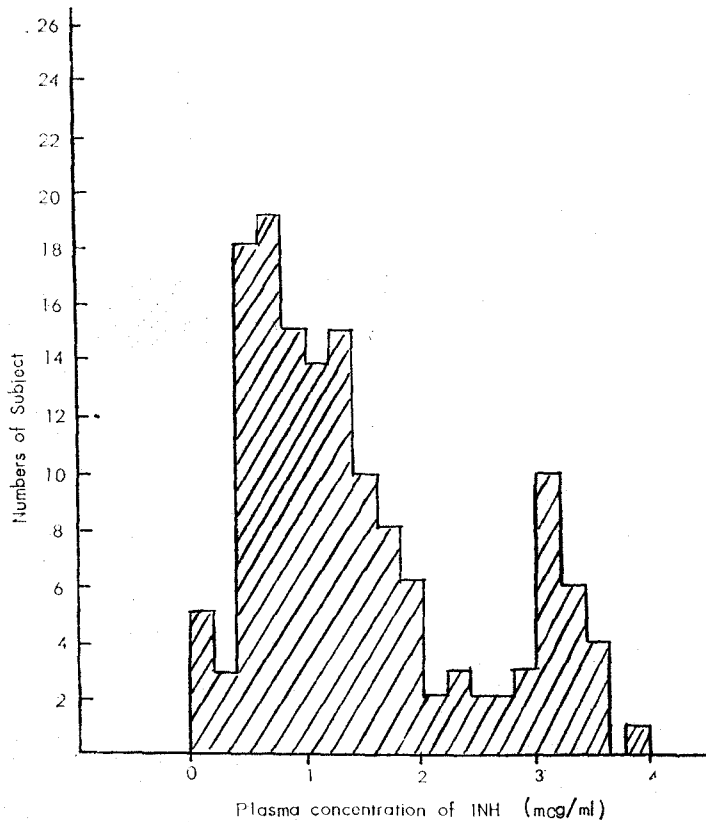
**總 INH의 定量**—INH, acetyl INH 및 isonicotinic acid등을  $KMnO_4$  또는 ceric sulfate로 酸化하여 isonicotinic acid로 變化시키고 이를 Rubin등<sup>14)</sup>의 方法으로 定量한다. 即, 遠心分離用 시험관에 血漿 2ml, 정제수 2ml 및 10% trichloroacetic acid 2ml를 加하여 混合하고 遠心分離한다. 透明한 上澄液을 共栓試驗管에 따라 넣고 ether 8ml를 加하여 5分間 진탕 혼화한다. 정지한 다음 ether層을 완전히 吸引除去하고 나머지 抽出된 溶液 4ml를 눈금이 있는 시험관에 옮긴다. 여기에 20%  $H_2SO_4$  1ml를 加하고 20分間 비등수욕중에서 가열하면서 ceric sulfate용액 (15% in 0.5N  $H_2SO_4$ )을 黃色이 나타날 때까지 滴加한다. 파잉의 ceric sulfate는 1% ascorbic acid로 除去한다. 이 무색용액에 phenolphthalein을 滴加하여 분홍색이 나타날 때까지 4N-NaOH를 滴加한다. 여기에 ammonia 緩衝液 10ml를 加하여 생긴 沈澱物을 濾過하여 除去하고 이 透明한 濾液 5ml를 10% BrCN용액 1ml와 混和하고 이 呈色된 黃色溶液을 437nm에서 3分以內에 定量하여야 한다. 空試驗은 INH를 投與하기 前에 採取한 血漿으로 위와 같은 操作으로 調製한다.

이때 INH의 標準檢量曲線은 위에서 실시한 方法으로 作成한다.

尿中의 總 INH의 定量은 정제수로 1:10으로 稀釋시킨 尿 2ml를 共栓試驗管에 넣고 여기에 0.1NHCl 2ml와 ether 8ml를 혼합液을 加하고 5分間진탕 混和한다. 다음 ether를 完全히 吸引除去하고 이 용액 2ml를 눈금이 있는 시험관에 옮기고 여기에 정제수 2ml와 20%  $H_2SO_4$  1ml를 혼합液을 加한다. 이 混合液을 비등 水浴中에서 20分間 加熱한 다음 以下操作은 血漿操作때와 같이 操作하여 總 INH를 定量한다.

### 實驗結果 및 考察

被驗者 143人에 대하여 標準用量(9.8mg/kg)의 INH를 經口投與한 다음 6時間제의 血中



**Figure 1.** — Plasma concentration of INH 6 hours after oral administration of INH (9.8mg/kg) to 143 volunteers.

INH의 濃度를 測定한 測定值를 histogram, Fig. 1에 圖示하였다. 그래프는 二頂性을 나타내며 0.6~0.8mcg/ml에서 頂點을 나타내는 群과 3.0~3.2mcg/ml에서 頂點을 나타내는 群으로 表現할 수 있었다.

Evans등<sup>4)</sup>은 그의 實驗結果에서 迅速不活性化型(rapid inactivator)과 遲延不活性化型(slow inactivator)으로 表現되는 二頂性을 家系調査結果로서 確認하고 合理的인 遺傳的假說을 立證한바 있다. 二頂性을 나타내는 結果는 類似하나 Evans등<sup>4)</sup>이 報告한 血中濃度보다 훨씬 낮았다. Acetyl化率에 대한 一律性を 實驗하기 위하여 被驗者 7人에게 500mg의 INH를 投與하고 24時間尿를 採取하고 2~4時間마다 一定量의 尿를 取하여 遊離 및 總 INH의 量을 測定하고 總 INH에 대한 유리 INH의 百分率을 平均하여 표시하면 Table 1과 같다.

이 실험결과를 被驗者에 대하여 3~4日 간격으로 3回 實驗한 結果를 표시한 것이다. 被驗者 各 個人間에는 不活化率이 현저한 差가 있으나 同一被驗者에게서는 總 INH에 대한 遊離 INH의 百分率이 거의 一定한 有意性 있는 結果를 얻었다. H. Lauener와 G. Fave<sup>15)</sup>는 PAS와 Benzoyl PAS에 의한 INH의 不活性化억제 실험에서도 acetyl化率에 대한 一律性を 확인하였고, 著者도<sup>7)</sup> 動物(家兔)深驗에서 확인한바 있다.

INH의 血中濃도가 0.6~0.8mcg/ml인 被驗者와 2.8~4.0mcg/ml인 被驗者 各各 14人에 대하여 처음에는 INH單獨으로 500mg를 經口投與하고, 3日후 다시 INH 500mg와 pyridoxin HCl 100mg을 같이 投與한 다음 6時間째의 血漿中의 遊離 및 總 INH를 測定하고 總 INH에

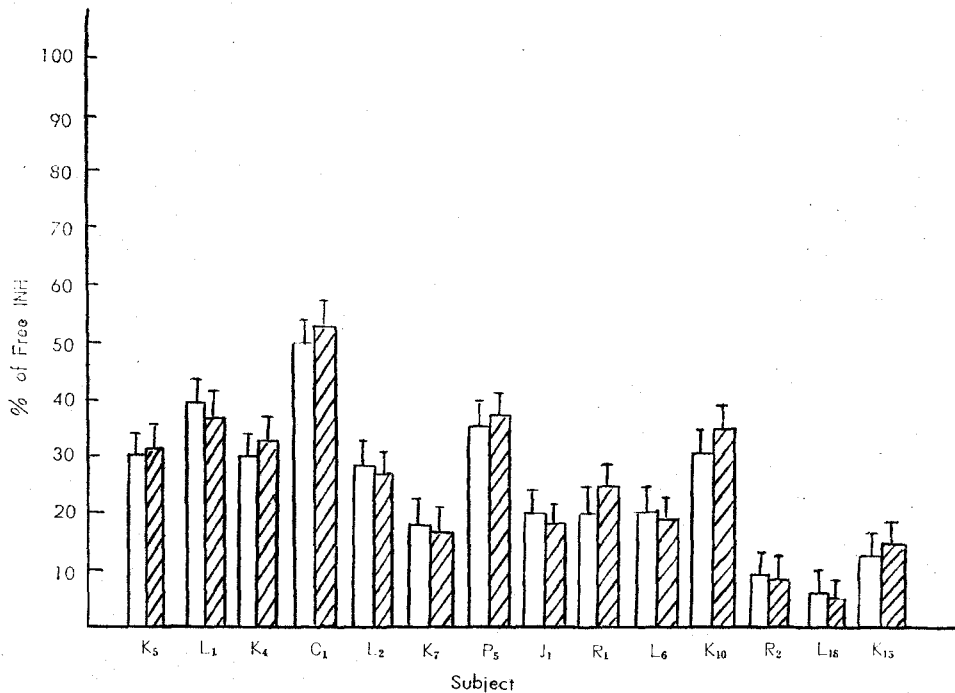
**Table I**—Excretion of Free INH and Total Isonicotinic Acid Derivatives (in INH equivalents), after Oral Administration of 500mg of INH, at Intervals of Three or Four Days in Volunteers(triple test)

Subject	mg of Free INH	mg of Total INH	% of Free INH
P <sub>1</sub>	93	373	24.9
	88	365	24.0
	107	422	25.3
K <sub>3</sub>	70	461	15.2
	54	357	15.1
	79	496	15.9
L <sub>2</sub>	34	470	7.2
	27	385	7.0
	30	365	8.2
C <sub>1</sub>	33	390	8.5
	38	480	7.9
	34	450	7.6
K <sub>4</sub>	31	300	10.3
	43	475	9.0
	34	350	9.7
L <sub>1</sub>	35	470	7.4
	34	490	6.9
	23	360	6.3
K <sub>5</sub>	25	380	6.5
	31	480	6.5
	27	490	5.5

대한 遊離 INH의 百分率은 計算하여 圖示하면 Fig. 2 및 Fig. 3과 같다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 比較的 代謝가 빠른 被驗者나 Fig. 2에서 보는 바와 같이 比較的 代謝가 느린 被驗者인데 INH 單獨投與時나 INH와 pyridoxin을 같이 投與한 경우도 總 INH에 대한 遊離 INH의 百分率은 有意性 있는 差가 없었다.

H. Hope<sup>19)</sup>에 의하면 pyridoxin에 의한 INH의 活性阻害는 INH의 試驗管內最少阻止濃度(0.025mcg/ml)에서 最高이고, 이 活性阻害作用은 INH의 濃도가 0.08mcg/ml以上으로 上昇함에 따라서 급격히 減弱하였다고 報告하였으며, 따라서 사람 血液中の INH의 濃도는 보통 0.2~0.8mcg/ml<sup>20)</sup>이므로 INH의 抗結核作用에 대하여 議論<sup>19), 21), 22), 23)</sup>은 있으나 큰 문제가 되지 않은 것으로 思料된다. Biehl<sup>28)</sup>은 高用量的 INH 投與는 Pyridoxin결핍 증상을 야기한다고 報告하였는데 Goodman등<sup>20)</sup>과 Rokson<sup>24)</sup>은 1日 50~100mg의 Pyridoxin을 INH投藥中에 患者에게 豫防的으로 投與할 것을 勸告하고 있다. J. M. Robson과 F. M. Sullivan<sup>24)</sup>, R. R. Ross<sup>25)</sup>, H. C. Lichstein<sup>26)</sup> 및 L. Levy<sup>27)</sup>는 INH의 不活性化가 느린 患者에게서 末梢神經炎이 야기되기 쉬운것은 INH와 pyridoxin이 酵素의 競合에 의한 것이라 推測하고 있는데, 遲延不活化型 被驗者의 INH의 不活化率에 pyridoxin이 어떠한 影響도 주지 않은 것은 L. Levy<sup>27)</sup> 등의 主張을 뒷받침하는 것으로 思料된다.



**Figure 2**—Percentage ratio of the free INH to total isonicotinic derivatives in plasma (six hours after oral administration of INH and INH-Pyridoxin) on administration of INH (500 mg) and INH (500mg)-Pyridoxin (100mg, to a group of rapid activators at intervals of three days. Key: ■■■, 500mg of INH; □, 500mg of INH and 100mg of Pyridoxin.

Kutt등<sup>16)</sup>은 diphenyl hydantoin과 INH를 普通量投與한 患者중에서 兩藥劑를 同時에 投藥할 경우 diphenyl hydantoin의 過量投與의 徵候(眠振, 運動失調, 眠氣)가 나타난 것을 보고 INH가 diphenyl hydantoin에 대하여 忍容性を 減弱시킨 것으로 보고 있다. 特히 이들은<sup>18)</sup> 忍容성이 가장 나쁜 경우는 acetyl化速度가 가장 느린 型의 患者인 것을 確認한 바 있다. Kutt등<sup>17)</sup>은 쥐肝미크로솜을 使用한 *in vitro*실험에서 INH가 diphenyl hydantoin의 代謝(水酸化)阻害劑임을 확인하였으며 患者에 있어서도 INH가 diphenyl hydantoin의 肝미크로솜에 의한 水酸化의 阻害劑로서 作用하지 않나 推測하고 있다.

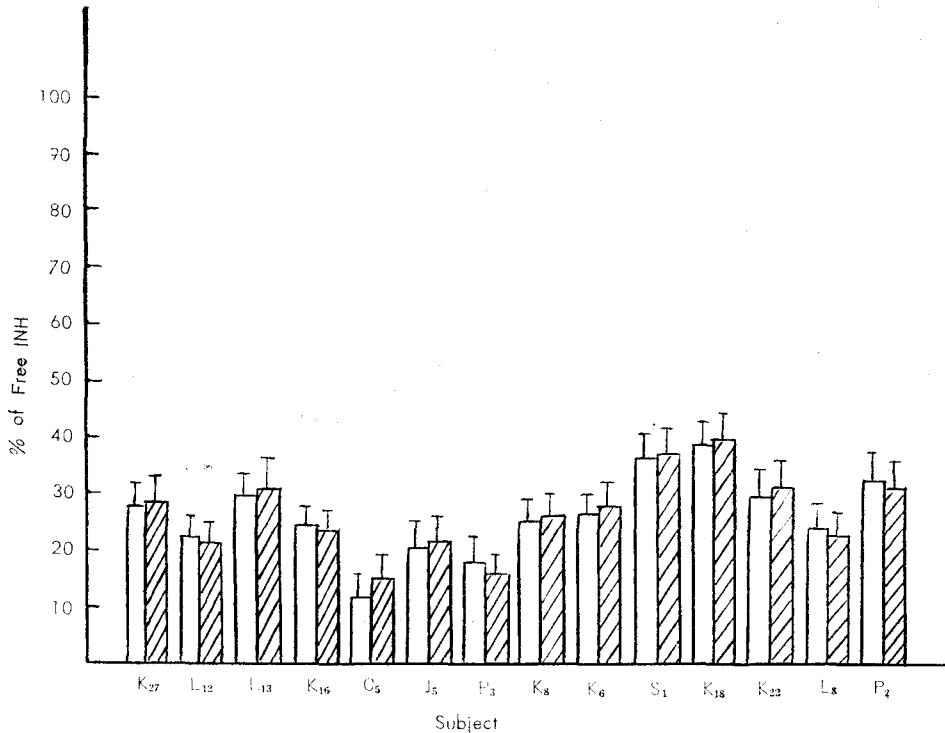
Pyridoxin이 INH의 不活化(acetyl化)에 영향을 주지 않는다 하더라도 兩藥物을 同時에 投與할 경우 遲延 acetyl化型의 特性은 藥物間의 흥미 있는 相互作用을 惹起할 것으로 推測된다.

## 結 論

이상의 實驗結果에서 다음과 같은 結論을 얻었다.

被驗者 143人에 대하여 標準用量(9.8mg/kg)의 INH를 經口投與한 다음 6時間제의 血中 INH濃度를 測定하여 histogram에 圖示하면 0.6~0.8mcg/ml 및 2.8~4.0mcg/ml에서 二頂性を 나타내었다.

INH의 不活化에 대한 一律性實驗에서 被驗者 7人에 대한 實驗結果는 個體差는 甚하였으나 各人의 3回實驗結果는 거의 有意性있게 一定하였다. INH의 血中濃도가 0.6~0.8mcg/ml 및 2.8~3.2mcg/ml인 被驗者 各各 14人에게 INH 및 INH와 pyridoxin을 各各 投與實驗한 바



**Figure 3**—Percentage ratio of the free INH to total isonicotinic derivatives in plasma (six hours after oral administration of INH and INH-pyridoxin) on administration of INH (500mg) and INH (500mg)-pyridoxin (100mg) to a group of slow activators at intervals of three days.

Key: ■■■, 500mg of INH; □, 500mg of INH and 100mg of pyridoxin.

總 INH에 대한 遊離 INH의 百分率은 거의 變化가 없었다.

## 文 獻

- 1) H.B. Hugher et al., *Army and Navy*, 217 (1955)
- 2) Krüger-Thiemer E., *Beitr. Klin. Tuberk.*, **117**, 179 (1957)
- 3) J.H. Peters, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **150**, 298 (1965)
- 4) D.A.P. Evans, et al., *Brit. Med. J.*, **2**, 485 (1960)
- 5) Y.S. Kang *J. Korean Pharm. Sci.*, **5**, 51 (1995)
- 6) E. Nelson et al., *J. Pharm. Exptl. Therap.*, **129**, 368 (1960)
- 7) K.H. Koo and J.B. Kim, *J. Korean. Pharm. Sci.*, **8**, 26 (1978)
- 8) D.A.P. Evans, et al., *Clin. Pharmacol. Therap.*, **6**, 430 (1965)
- 9) H.M. Perry, et al., *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 1020 (1967)
- 10) H.B. Hughes, et al., *Amer. Rev. Tuberc.*, **70**, 266 (1954)
- 11) S. Davadatta, et al., *Bull. WHO*, **23**, 587 (1960)
- 12) J.R. Kelly, and R.P. Poet, *Am. Rev. Tuberc.*, **65**, 484 (1952)
- 13) P.G.W., Scott, *J. Pharm. Pharmacol.*, **4**, 681 (1952)
- 14) S.H. Rubin, et al., *Dis. Chest*, **21**, 439 (1952)

- 15) H. Lauener and G. Favez, *Am. Rev. Resp. Dis.*, **80**, 26 (1959)
- 16) H. Kutt, et al., *Neurol.*, **16**, 594 (1966)
- 17) H. Kutt, et al., *Ibid.*, **18**, 706 (1968)
- 18) H. Kutt, et al., *Am. Rev. Resp. Dis.*, **101**, 377 (1970)
- 19) H. Hope, *Am. Rev. Tuberc.*, **73**, 735 (1956)
- 20) L.S. Goodman & A. Gilman, Eds. "*The Pharmacological Basis of Therapeutics*" 5th ed., Macmillan, New York, NY 10022
- 21) R. McCunne et al., *Am. Rev. Tuberc.*, **76**, 1100 (1957)
- 22) W.H. Beggs and J.W. Jenne, *J. Bacteriol.*, **94**, 793 (1967)
- 23) I.V. Boone, et al., *Am. Rev. Tuberc.*, **76**, 568 (1952)
- 24) J.M. Robson and F.M. Sullivan, *Pharmacol. Rev.*, **15**, 169 (1963)
- 25) R.R. Rose, *J. Am. Med. Ass.*, **168**, 273 (1968)
- 26) H.C. Lcihstein, *Proc. Sci. Exp. Biol. Med.*, **85**, 389 (1955)
- 27) L. Levy, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **166**, 184 (1969)
- 28) J.P. Biehl and R.W. Vilter, *J. Am. Med. Ass.*, **156**, 1549 (1954)