

NC-1200の中樞薬理作用

鳥取大学医学部薬理学教室 (主任 君島健次郎教授)

徳吉公司, 田辺恭子, 木下ゆか子

祝部大輔, 君島健次郎

Effects of NC-1200 on the central nervous system

Kooji TOKUYOSHI, Kyoko TANABE, Yukako KINOSHITA,

Daisuke HOURI and Kenjiro KIMISHIMA

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Tottori University,
Yonago 683, Japan*

ABSTRACT

Effect of NC-1200, a potent glutamate blocker, on the central nervous system were analyzed behaviorally and electroencephalographically in mice, rats, guinea pigs and rabbits. NC-1200 produced excitatory behavior slightly, but did not affect on rotarod test, traction test, sleeping time induced by pentobarbital, anticonvulsant test (MES and pentetrazol test) and body temperature. Following i.v. injection of NC-1200 to rabbits with chronically implanted electrodes, electroencephalographic properties in spontaneous EEGs such as fast waves with low voltages in the neocortex became distinguished in early period, but after that slow waves with high voltages became predominant. Seizure discharges produced by stimulation of the dorsal hippocampus were slightly inhibited in some cases, but in another cases were prolonged. Furthermore, general pharmacological effects of NC-1200 were analyzed.

Based on these results obtained, NC-1200 was considered an agent with few central nervous action.

(Accepted on September 5, 1991)

緒 言

中枢神経系における興奮性および抑制性神経のアンバランスに起因する諸症状の改善に役立つと考えられる新しいタイプの中樞作用薬として, oxazolidine 誘導体である (4S,5R)-4-(2-methyl-propyl)-3-(3-(perhydroazepin-1-yl)propyl)-5-phenyl-1,3-oxazolidin-2-one (NC-1200, 図1) が

開発され, その強力な除脳固縮モデル動物に対する固縮緩解作用 (Masaki, M. and Shinozaki, H.¹¹⁾, 1986) や自律神経系の抑制作用 (Kimura ら¹⁰⁾, 1988) などが報告されている。

本薬はこのような中枢抑制作用のほかに, 強いグルタミン酸遮断作用 (Shinozaki¹⁵⁾, 1988) や Ca 遮断作用 (Takayanagi ら¹⁷⁾, 1988) を持つことも知られており, これらの作用を臨床面に結び付け

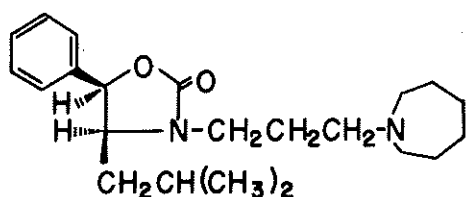


図1. NC-1200の化学構造式

るための種々の動物実験が進められ(吉田²⁰⁾, 1987; Izumiyama and Kogure²¹⁾, 1988), 脳卒中後遺症である痙縮, 老人性疾患特有の肩こり, めまい, ふるえ, 膀胱障害, さらに各種神経疾患(症候性痴呆その他)などへの応用が期待されている。

今回我々は本薬入手の機会(日本ケミファ株式会社)を得たので, 主としてその中枢作用を調べ, 併せて一般薬理作用についても検討を加えた。

実験方法

実験動物:

雄性のICR系マウス(5~10週齢), Wistar系ラット, Hartley系モルモットおよび雌雄の成熟日本白色種ウサギを使用した。これらの実験動物は室温 $22 \pm 3^\circ\text{C}$ で飼育及び実験を行い, 飼料は日本クレア製飼育用固形飼料(CR-2, CE-2)を水道水とともに自由に摂取させ, 明暗期の設定は行わなかった。

実験方法:

1. 中枢神経系に対する作用

1) 一般症状

マウス, ラット, モルモット, ウサギを用い, その全身症状を4時間後まで観察記録した。

2) 自発運動量の測定

感応コイルの共鳴回路を利用した自発運動量記録装置(Animex activity meter, Farad Electronics, Sweden)を用い, 1群6匹の雄性マウスをプラスチック製ケージに入れ被験薬を経口投与後, 自発運動量を経時的に6時間後までカウントさせた。

3) 回転棒試験(rotarod test)

直径3 cm, 毎分16回転する回転棒(rotarod)を用い, 実験前日までの3回の試行で毎回3分間以上落下しなかったマウスだけを選んでおき, このマウスを1群10匹として薬物投与5時間後までの落下例数を調べた。

4) 懸垂試験(traction test)

Courvoisierら¹¹⁾の方法に従い, 水平に張った針金に1群10匹の雄性マウスの計4群を, 前肢だけで懸垂させ10秒以内に少なくとも1側の後肢を針金にかけた場合を正常として判定を行った。各被験薬を経口投与し30分, 1, 2, 3および5時間後に実験を行った。

5) 睡眠増強作用

川崎⁹⁾の方法に準じて1群10匹の雄性マウスを5群用い, 被験薬の経口投与30分後にpentobarbital Na 40mg/kgを腹腔内に注射し, 正向反射の消失を指標として睡眠の開始および持続時間に対する影響を調べた。

6) 最大電撃けいれん法

1群10~20匹の雄性マウスを使用し, 角膜電極とWoodbury & Davenport¹⁹⁾の装置を用いて50 mA, 0.2秒の頭部通電を行い, その際の強直性伸展けいれん(tonic extensor, TE)の消失を指標として各被験薬の種々用量を経口投与し, 30分後に実験を行った。

7) pentetrazol けいれん法

pentetrazol 95mg/kgをマウスに皮下注射すると, 5~15分後に最小けいれん(minimal full seizure, MF)を起こすが, ときにけいれんをくり返したり, 続いて飛び上がった(jumping), ビーカー内を動き回ったり, もがくなどの興奮状態となり, 短時間の間代性けいれん(clonic convulsion, CL)を起こすものもあるが, 7~50分後までに強直性屈曲けいれん(tonic flexor, TF)から強直性伸展けいれん(TE)を起こしてほぼ全例死亡する。抗けいれん作用の判定はMF以上のけいれん消失を指標とした。1群10~20匹の雄性マウスを用い, 被験薬の各種用量を経口投与し30分後に実験を行った。

8) 鎮痛作用

a) phenylquinone 法

Siegmundら¹⁶⁾の方法に従い, 1群10匹の雄性マウスを用い, 被験薬の経口投与30分後に0.02% phenylquinone水溶液20ml/kgを腹腔内に注射し, 直後から15分間の特異なstretching姿勢の発現例数とその回数を観察記録した。

b) Haffner 法

1群10匹のマウスを使用し, 実中研型の圧刺激装置により尾根部に水圧刺激(mm Hg)を加えた際の, 仮性疼痛反射(head turning, biting, vocal-

ization) の閾値を指標とする Haffner 法⁵⁾を用いて薬物応用前の対照の閾値と比較検討した。

9) 正常体温に及ぼす影響

1群10匹のマウスを用い、マウス用サーミスター温度計を使用して直腸温を6時間後までと24時間後に測定したが、薬物投与前は15分ごとに4回計測し、4回目を投与前の直腸温とした。

10) 脳波測定法

成熟ウサギを雌雄の別なく使用し、pentobarbital Na 30mg/kg腹腔内投与による麻酔下で脳定位固定装置に固定し、直径0.25mmの絶縁ステンレス線を2本より合わせた双極電極をGangloff and Monnier³⁾(皮質)およびSawyerら¹³⁾(皮質下)のmapを基準として、皮質3ヵ所(前頭部、頭頂部、後頭部)および皮質下4ヵ所(視床正中核、後部視床下部、中脳網様体、背側海馬)に植え込み、手術後約1週間たち全身状態の回復するのを待って実験に供した。

脳内各部の電気活動はこれらの電極よりペン書き8誘導脳波計(日本光電製, ME95D)に導き、毎秒1.5cmの紙送り速度で記録した。

また海馬後放電の実験では、背側海馬を100Hz, 0.5~2.0Vの矩形波で5~7秒間刺激すると、海馬誘導にspike & waveなど種々の形の特有な海馬発作放電が出現し他の誘導にも波及する。この海馬後放電に対する薬物の影響を調べた。

2. 腎機能に対する作用

1) 尿量, 電解質

1群3匹の雄性ラットを7群用い、両側の副腎を摘出後4日間は飲料水を1%食塩水とし、固形飼料と共に自由に摂取させた。18時間絶食後精製水25ml/kgを経口投与し、その2時間後に生理食塩液3.0ml/kgを経口投与すると共に被験薬を経口投与し、採尿ケージに入れて5時間の尿量を測定し、尿中のNa⁺, K⁺は炎光光度法(日本分光メデイカル, Flame-30)により、Cl⁻は電量滴定法(銀電極CL-12使用)により測定した。

2) クレアチニン測定

生後6~8週齢の雄性ラットを1群3匹として7群用いた。尿量, 電解質測定の場合と同様の前処置を行った後被験薬を経口投与し、採尿ケージに入れて5時間の採尿を行い、クレアチニン-HRキット(和光純薬製, Jaffé法)を用いて測定した。

3) pH及び浸透圧

pHの測定はプレテスト8A(和光純薬)により、浸透圧はオスモチックプレッシャー(京都第一科学)により測定した。

4) PSP排泄試験

1群3~4匹のウサギ(20時間絶食)を用い、被験薬の各量を経口投与した1時間後に0.6w/v% phenolsulfonphthalein (PSP) 3mg/kgを静注し、30分後に採血しヘパリン添加のもとに3000rpmで15分間遠沈し、その血漿0.5mlを用い柴田¹⁴⁾の方法(1971)でPSPを測定した。

3. 血液に対する作用

1) 血液凝固時間

6~8週齢の雄性ラットを1群3匹とし、被験薬の各量を経口投与30分後pentobarbital Na 40ml/kg腹腔内注射による麻酔下に開腹し、腹部大動脈より3.8%クエン酸Na存在下に2ml採血した。3000rpm, 10分間の遠心分離により血漿を採取し、金井ら⁸⁾の方法(1978)によりPT-test Wako(トロンプラスチン法)を用いてプロトロンビン時間を測定した。

2) 溶血作用

被験薬をラットに経口投与1時間後、pentobarbital Na麻酔下で直接心臓より1/10容の3.8%クエン酸Na採血し、1500G, 10分間室温で遠沈し、その赤血球を実験に用いた。測定はCPC(coil planet centrifuge)法により行った。まず食塩液による150~30mOsMの浸透圧勾配液をつめた内径0.3mm, 全長300cmのポリエチレンチューブのcoil内の150mOsM側にクエン酸Na処理血を入れ10分間インキュベートし、CPC型遠心器(三鬼エンジニアリング製, CPC-ST型)で300~500G, 1600rpm, 37±1℃で10分間遠沈し、生じた遠心力で赤血球を低張側に移動させて溶血させた(coil内を等速で移動する赤血球は漸次低張NaCl溶液に接し、その脆弱性に応じて浸透圧抵抗値を越えた点で溶血を起こすものであるが、溶血は遠心力によって移動することはない)。遠心後coilは走査型自記光電光度計(三鬼エンジニアリング製, SSP-H型)で溶血パターンを記録し、比例式により浸透圧最大抵抗値(溶血終末点: hemolysis end point, HEP)および最小抵抗値(溶血開始点: hemolysis start point, HSP)を算出した。

3) 血小板凝集能

a) ADP(adenosine diphosphate)による凝集

被験薬をラットに経口投与1時間後, pentobarbital 麻醉下に直接心臓より1/10容の3.8%クエン酸Na採血し, 160G, 10分間室温で遠沈し, その上清を採って多血小板血漿 (PRP) を得る. また血液を1500G, 10分間室温で遠沈することによって乏血小板血漿 (PPP) を得る. 実験に際し PRP の血小板数は PPP で 10^6 個/mm³に調整した. 凝集試験は血小板凝集能測定装置 (Aggrecorder II, 京都第一科学) を用い, 円筒セルに PRP 0.25 ml を入れ 25°C, 900rpm 定速攪拌下 1 分後 220 μ M ADP 溶液 0.05ml を添加して凝集を惹起させた.

b) collagen による凝集

上記と同様に PRP を得て, collagen 220 μ g/ml 溶液 0.05ml を添加して凝集を惹起させた.

4. その他の作用

1) 血糖の測定

前日より絶食させたウサギ (1群3匹) を用い, 被験薬を経口投与する. 投与前, 1時間後, 3時間後の3回耳静脈より採血し (ヘパリン添加), 直ちに血清を分離し, その0.02ml を用い Glucose B-test Wako により測定した.

2) 局所麻酔作用

1群4匹の雄性モルモットを6群用い, 下眼瞼をポケット状にして, 各被験薬の0.25及び0.5%液を滴下した. 1分間保持した後除去し, 5分ごとに30分まで角膜を0.3gの刺激毛 (ウサギのひげ) で刺激し, 角膜反射の消失を調べた.

3) 浸潤麻酔作用 (皮膚収縮反応)

1群3匹の雄性モルモットの背部を刈毛と脱毛クリームにより除毛した皮膚を用いる丘疹法により調べた. NC-1200は0.05及び0.1%液, 対照は0.9% NaCl を0.1ml 皮内注射し, 生じた丘疹を注射針を用いて5分ごと30分後まで各6回刺激し, 皮膚収縮反応の消失回数を調べた.

4) 胆汁分泌の測定

1群3匹の生後6~8週齢の雄性ラットを4群用い pentobarbital Na 麻醉下に胆管に cannula を挿入し, 被験薬を経口投与4時間後まで1時間ごとに胆汁分泌量を測定した. またその1ml を取り, 70°C で加熱乾燥により固形成分の重量を秤量した.

5. 使用薬物と投与方法

被験薬 NC-1200 は水溶液として経口投与し, 最大作用時間は30分~1時間とした. ウサギの脳波実験では静注した. 対照群はときに応じて生食, 0.5% CMC または 1% metolose を用いた. その

他 pentobarbital Na (ダイナボット), phenylquinone (シグマ), pentetrazol (東京化成工業), phenolsulfonphthalein (第一製薬), クエン酸ナトリウム, クレアチニンテスト用キット, PT-test Wako, Glucose B-test Wako (以上和光純薬) などを用いた.

6. 統計学的処理

有意差検定は student t-検定を用いた.

実験成績

1. 中枢神経系に及ぼす影響

1) 一般症状

a) マウス

経口投与: 1群10匹のマウスに50, 100及び200 mg/kg を経口投与して一般症状を観察した. 50mg/kg では10~20分にかけて2~3匹がやや活発に動きまわるが, 他はほとんど変化がない. 100mg/kg 投与では全例5分後よりやや動き廻り, もがいたり, ジャンプしたりするが, 7匹は短い間代性けいれん (CL) 様のけいれんを起し, うち2匹が10~15分までに死亡した. 200mg/kg 投与では CL けいれんで15分までに10匹の全てが死亡した.

静脈内投与: 5, 7, 10mg/kg をマウスに静注したが, 5 mg/kg ではわずかに興奮状態を示すが10分後にはほぼ正常となる. 7 および 10mg/kg では CL 様けいれんが起り, 10mg/kg では死亡した. この量でもゆっくり静注すると CL 様けいれんは見られなかった.

b) モルモット

200mg/kg を2匹に経口投与した. 1匹は全く変化なく, 残りの1匹は最小けいれん (MF) を起し, 4時間後に一旦回復したが, 3日目に死亡した.

c) ウサギ

3匹のウサギに100mg/kg を経口投与したが, 6時間後まで全く変化が見られなかった.

2) 自発運動量

対照の CMC 投与群では30分後より自発運動量がやや減少し, 毎分50カウント前後となるが, 時には10カウント以下の少ない運動量も記録された.

NC-1200の30mg/kg 経口投与により, 40~50分頃までは対照群に比して自発運動量の増加が認められ, その後2時間頃まで自発運動量の減少が認められたが, その後は6時間後まで対照とほとんど変わらなかった.

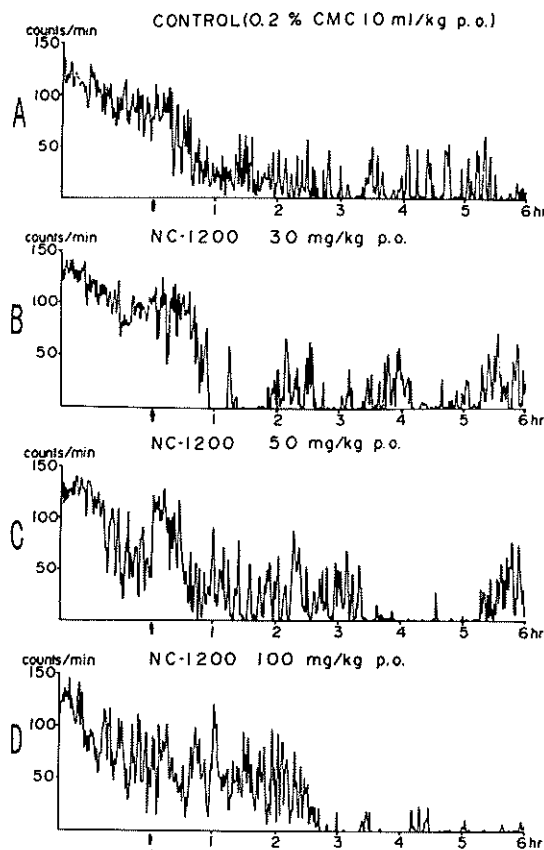


図2. マウスの自発運動量に及ぼすNC-1200の影響
 A: 対照(0.2%CMC 10ml/kg経口投与),
 B: NC-1200 30mg/kg経口投与,
 C: 同50mg/kg,
 D: 同100mg/kg,
 縦軸は毎分のカウント数, 横軸は時間.

50および100mg/kg投与群では, 図2に示すごとく NC-1200投与直後から150分頃までは両群とも対照群に比べて明らかに運動量の増加が認められるが, それ以後は両群とも著明な自発運動量の減少を示した. 50mg/kg投与群では5時間半頃から回復の傾向を示した.

3) 回転棒試験 (rotarod test)

1群10匹のマウスを用い, 20, 50および100mg/kgの経口投与を行ったが, 表1に示すように5時間後に至るまで全ての群で落下例はなく影響は認められなかった.

4) 懸垂試験 (traction test)

1群10匹のマウス4群を用い, NC-1200の20, 50および100mg/kgを経口投与したが, 結果は表2に見られるように5時間後に至るまで落下例は全く認められなかった.

表1. 回転棒試験(rotarod test)に及ぼすNC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	落下例数				
		0.5	1	2	3	5時間
対照	10	0	0	0	0	0
20	10	0	0	0	0	0
50	10	0	0	0	0	0
100	10	0	0	0	0	0

表2. 懸垂試験(traction test)に及ぼすNC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	落下例数				
		0.5	1	2	3	5時間
対照	10	0	0	0	0	0
20	10	0	0	0	0	0
50	10	0	0	0	0	0
100	10	0	0	0	0	0

表3. pentobarbital睡眠に及ぼすNC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	睡眠時間(分, 平均±S.E.)	
		開始	持続
対照	10	2.70±0.34	51.0±5.22
10	10	2.50±0.27	41.2±3.58
20	10	2.70±0.30	38.8±3.76
50	10	2.22±0.44	63.7±3.87
100	10	1.89±0.26	60.6±6.48

(有意差なし)

5) 睡眠増強作用

1群10匹のマウスに NC-1200の10, 20, 50および100mg/kgを経口投与し, 30分後に pentobarbital 40mg/kgを腹腔内投与して睡眠の開始および持続時間を対照群と比べると, 表3に示すごとくばらつきは大きいものの, 対照と比べて各群の間に有意の差は認められなかった.

6) けいれんに対する作用

a) 最大電撃けいれん

1群10~20匹のマウスに NC-1200の30, 50および100mg/kgを経口投与し30分後に通電したが, 表4に示すごとく全群の全例に TF 以上のけいれんが出現し, TE の消失例も全く見られず, 抗けいれん作用は認められなかった. また100mg/kg投与群で死亡例が増加する傾向がみられた.

b) pentetrazol けいれん

NC-1200の20, 50, 100mg/kg経口投与30分後に pentetrazol 95mg/kgを皮下注射し, けいれんの発現状態を対照と比較した.

結果は表5に示すごとく, MF 以上のけいれんが全例に出現し, pentetrazol けいれんに対する抗けいれん作用は全く認められなかった.

7) 鎮痛作用

1群10匹のマウスを用い, NC-1200各量の経口

投与30分後に phenylquinone 法と Haffner 法で検討した.

結果は表6に示すごとく, phenylquinone 法での stretching 姿勢の1匹当りの回数は有意に増加したが発現率には影響がなく, また Haffner 法でも薬物投与前後の閾値の変化には有意差が認められなかった.

8) 正常体温に対する作用

1群10匹のマウス5群を用い, 15分ごとに4回直腸温を測定し, 4回目を対照の体温とした. NC-1200の10, 20, 50および100mg/kgを経口投与し経時的に直腸温を測定したが, 表7に示すように6時間後に至るまで対照と比べて各群とも有意差は全く認められなかった.

9) 脳波実験

a) 自発脳波

NC-1200の5および10mg/kgをそれぞれ2例の

表4. 最大電撃けいれんに対する NC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	けいれん発現例				計 (%)	死亡例
		TF	TE	CL			
対 照	20	20	20	16	20(100)	4	
30	10	10	10	8	10(100)	2	
50	10	10	10	7	10(100)	3	
100	14	14	14	5	14(100)	9	

TF: 強直性屈曲けいれん (tonic flexor),
TE: 強直性伸展けいれん (tonic extensor),
CL: 間代性けいれん (clonic convulsion),
(表5も同じ).

表5. pentetrazol けいれんに対する NC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	けいれん発現例					計 (%)	死亡例
		MF	CL	TF	TE			
対 照	20	20	11	19	19	20(100)	19	
20	12	12	5	9	9	12(100)	9	
50	11	11	4	10	10	11(100)	10	
100	10	10	4	10	10	10(100)	10	

MF: 最小けいれん (minimal full seizure).

表6. NC-1200の鎮痛作用

用量 (mg/kg)	例数	phenylquinone 法		Haffner 法
		st.回数/1匹当り	st.発現率 (%)	閾値(後/前)×100
対 照 (0.2% CMC)	10	14.9±3.8	87.5	95.2±4.65
50	10	32.4±9.8*	80.0	
100	10	38.1±8.6*	90.0	102.4±11.10

st.: stretching 姿勢.

* p<0.05

表7. マウス正常体温に及ぼす NC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	平均体温 (°C, 平均)							
		投与前	0.5	1	2	3	4	6	24時間
対照	10	36.7	37.3	37.3	37.0	35.9	35.6	36.5	37.3
10	10	36.9	37.5	37.1	36.6	36.9	36.7	37.0	36.6
20	10	36.8	36.7	36.4	36.0	36.2	36.4	36.8	36.4
50	10	37.0	37.0	36.4	35.4	35.9	36.2	36.7	36.6
100	10	37.2	36.8	36.1	35.7	36.5	36.3	37.1	36.8

(有意差なし)

ウサギに静注したが、60分後に至るまで自発脳波にはほとんど変化は認められなかった。15mg/kg静注の2例中1例は、注射直後から低振幅速波が全誘導に出現するが、2～3分後にはこの速波成分

は少なくなりむしろ徐波成分が目立つようになり、30分後にはほぼ対照脳波と同様の脳波パターンに戻った。残りの1例は図3に示すごとく、直後から著明な低振幅速波となり、それに続いてほぼ全

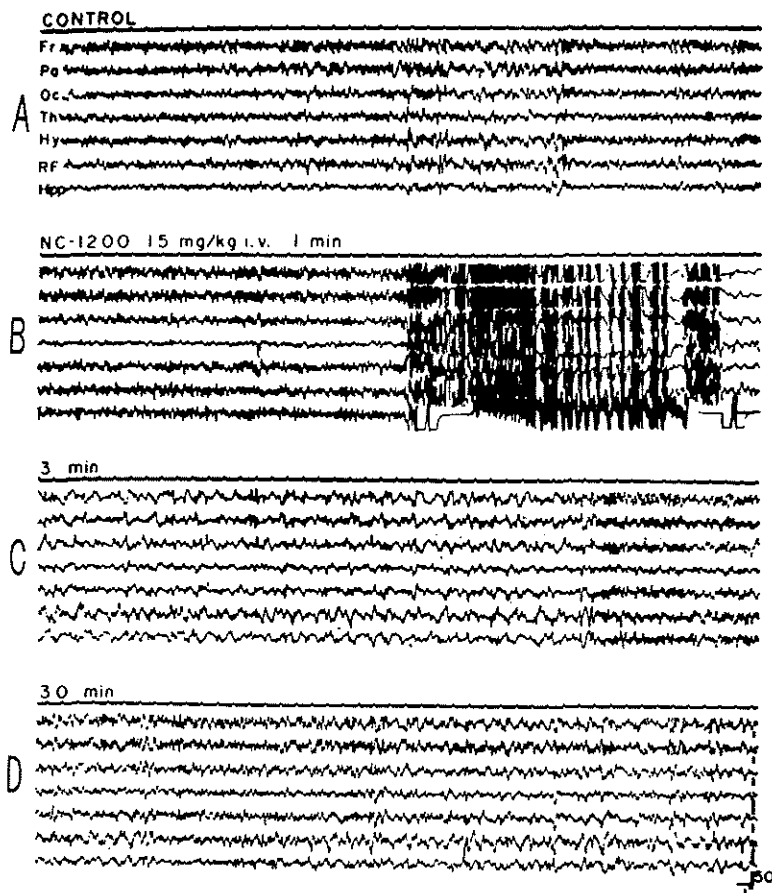


図3. ウサギの自発脳波に対するNC-1200の影響

A: 対照脳波, B: NC-1200 15mg/kg静脈内投与,
C: 3分後, D: 30分後.

脳波は上から 皮質3カ所 (前頭部, 側頭部, 後頭部) と視床, 視床下部, 中脳網様体, 背側海馬からの誘導 (図4も同じ).

誘導に同時に spike, spike & wave, multiple spikes などの発作波が約20秒出現し, その際ウサギは軽度の間代性けいれんを示すが, その後はこの発作波は急に消失して平坦な脳波となり, さらに3分後には速波成分は少なく, むしろ徐波成分が優勢となり, その後次第に回復に向った. 20mg/kgを静注した2例は, いずれも注射直後に死亡し脳波記録はできなかった.

b) 海馬後放電

10mg/kgを4例に静注したが, 1例は直後に後放電の短縮が見られた以外は2時間後まで影響が見られず, 他の1例は投与直後から30分後まで後放電の消失および短縮が認められたが, 40分以後2時間までは対照と同様な後放電の出現が見られた. 残りの2例はいずれも注射直後から後放電の延長

が20~60分頃まで続いた. その1例を図4に示す.

2. 腎機能に及ぼす影響

1) 尿量, pH, 浸透圧, 電解質, その他

1群3匹のラットを使用し, NC-1200の50, 100, 200mg/kgの1回投与の影響と, 50, 100mg/kgを5日間連続投与の影響について調べた.

結果は表8に示すごとく, 1回投与の場合100mg/kg投与群でCl⁻の有意な増加が見られたが, 200mg/kg投与群では変化がなかった.

また5日間連続投与の際には, 50mg/kg投与群で浸透圧の軽度低下が認められたものの, 他は全て有意の差は認められなかった.

2) PSP 排泄試験

1群3~4匹のウサギを用い, 残留PSPの測定を行った. 結果は表9に示すごとく, NC-1200の

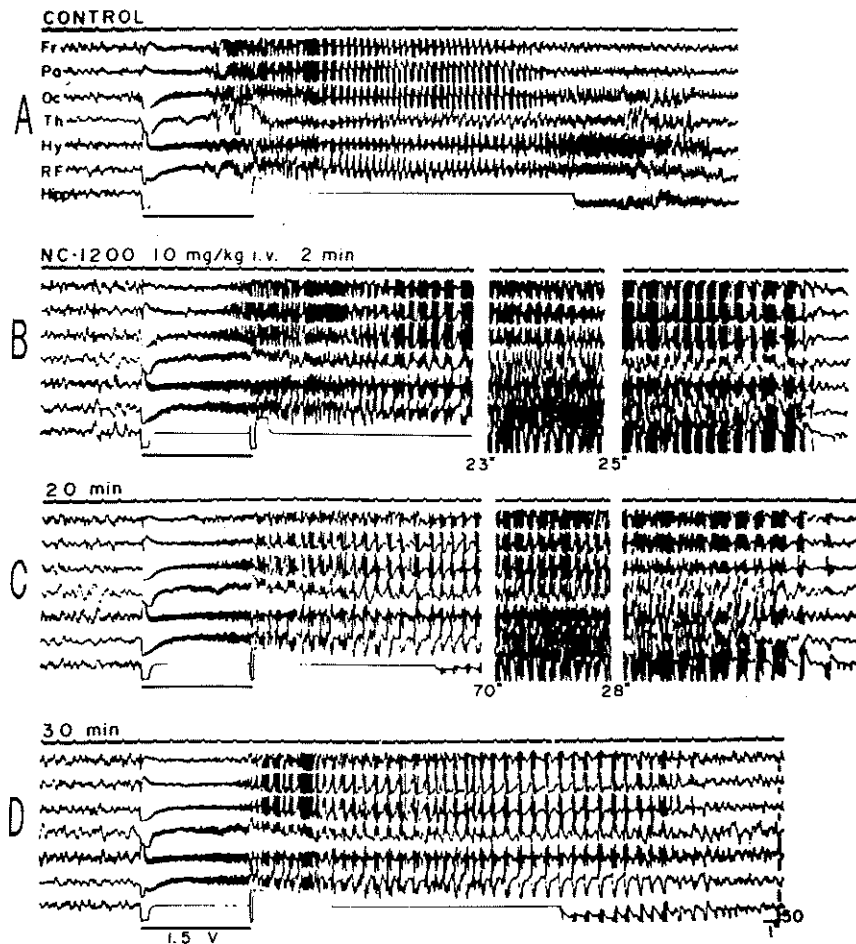


図4. 海馬後放電に対するNC-1200の影響

- A: 対照 (下線のところで1.5Vの刺激),
- B: NC-1200 10mg/kg静脈内投与2分後,
- C: 20分後,
- D: 30分後.

表8. 腎機能(尿量, 尿pH, 浸透圧, 電解質)に及ぼすNC-1200の影響

用量 (mg/kg)	尿量† ml/kg/5h	pH†	浸透圧† (mOsm/l)	クレアチニン† (mg/dl/5h)	電解質(mEq/ml/kg/5h)†		
					Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
1回投与							
対照 (1% metolose)	40.2 ±1.07	6.7 ±0.85	476.7 ±18.8	13.5 ±2.12	3.33 ±0.13	1.28 ±0.24	3.59 ±0.21
50	44.7 ±4.13	6.6 ±0.33	417.6 ±35.4	12.3 ±1.05	4.01 ±0.61	1.71 ±0.76	4.27 ±0.56
100	56.1 ±6.66	7.0 ±0.33	362.0 ±9.60	8.9 ±0.41	5.81 ±0.57	0.91 ±0.09	5.35* ±0.42
200	50.9 ±3.90	7.0 ±0.01	395.6 ±15.1	9.6 ±1.03	5.27 ±1.01	0.92 ±0.09	4.63 ±0.85
5日間連投							
対照 (1% metolose)	34.9 ±3.99	7.0 ±0.57	447.3 ±31.8	12.1 ±3.16	2.92 ±0.25	1.42 ±0.49	2.49 ±0.45
50	39.3 ±6.10	7.6 ±0.33	346.0 ±19.0	8.7 ±1.99	3.30 ±0.72	0.78 ±0.19	2.87 ±0.75
100	47.7 ±4.69	7.0 ±0.00	387.3 ±7.8	9.8 ±1.40	4.58 ±0.56	1.11 ±0.16	4.37 ±0.83

†: 平均±S.E. * p<0.05

表9. PSP排泄試験に及ぼすNC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	PSP量† (mg/dl)	排泄量 (%, 平均)
対照 (0.2% CMC)	4	0.45±0.11	92.5
10	3	0.29±0.12	95.2
20	3	0.32±0.09	94.7

†: 平均±S.E.(有意差なし)

表10. 血液凝固作用に及ぼすNC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	プロトロンビン時間 (秒, 平均±S.E.)
対照 (1% metolose)	3	26.5±0.9
50	3	25.2±0.2
100	3	26.7±0.5

(有意差なし)

10, 20mg/kg経口投与後のPSP量は対照に比べて有意差はなく, 影響は認められなかった。

3. 血液に対する作用

1) 血液凝固時間

1群3匹のモルモットを用い, NC-1200 50及び100mg/kg経口投与30分後の血液のプロトロンビ

ン時間を測定した。

結果は表10に示すとおりで, 対照と比べて有意差は全く認められなかった。

2) 溶血作用

1群3匹のラットにNC-1200の50および100mg/kgを経口投与し, その溶血作用を調べた。結果

表11. NC-1200の溶血作用

用量 (mg/kg)	例数	溶血開始点† (HSP,mOsm)	溶血終末点† (HEP,mOsm)
対照 (1% metolose)	3	116.6±1.45	64.6±2.19
50	3	113.3±0.88	66.6±2.03
100	3	111.6±1.20	66.0±1.53

†: 平均±S.E. (有意差なし)

表12. 血小板凝集能に対する NC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	凝集能 (% , 平均±S.E.)	
		ADP	collagen
対照 (1% metolose)	3	47.83±2.85	61.83±2.03
50	3	42.40±4.75	41.67±17.75
100	3	26.67±2.35*	36.00±5.29**

* p<0.05, ** p<0.01

は表11に示すように、溶血開始点も終末点も対照の値と比べて有意差は認められなかった。

3) 血小板凝集能

1群3匹のラットを用い、NC-1200の50及び100mg/kgの影響を調べた。

結果は表12に示すごとく、50mg/kg投与群ではADPによる凝集もcollagenによる凝集も対照に比べ有意差はなかったが、100mg/kg投与群では両者による凝集能はいずれも有意に低下した。

4. その他の作用

1) 血糖値

1群3匹のウサギを用い血糖値に及ぼす影響を検討したが、結果は表13に示すごとく、薬物投与1時間および3時間後の血糖値は、投与前および対照の値と比べて有意の差は認められなかった。

2) 表面麻酔および局所刺激作用

表13. 血糖値に対する NC-1200の影響

用量 (mg/kg)	例数	血糖値 (mg/kg, 平均±S.E.)		
		投与前	1時間	3時間
対照 (1% metolose)	3	119.4±9.0	156.5±10.6	137.9±9.2
10	3	127.1±9.3	128.1±13.7	138.0±14.1
20	3	127.7±3.2	127.6±14.7	135.2±12.0

(有意差なし)

ウサギを用い、NC-1200 0.1%溶液を点眼し、5分ごとに30分後まで角膜を0.3gの刺激毛で刺激したが、表面麻酔作用は全く認められず、また

表14. モルモット皮膚収縮反応に対する NC-1200の影響

濃度 (%)	例数	皮膚収縮反応率 (% , 平均±S.E.)					
		5	10	15	20	25	30分
対照 (0.9% NaCl)	3	0	0	0	0	0	0
0.05	3	50.0 ±9.6	50.0 ±9.6	44.4 ±5.6	33.3 ±5.3	44.4 ±5.6	22.2 ±11.2
0.1	3	66.7 ±11.1	55.6 ±5.6	55.6 ±5.6	44.4 ±5.6	55.6 ±5.6	33.3 ±9.6

皮膚収縮反応率 = (収縮反応消失回数 / 刺激回数) × 100

表15. 胆汁分泌に対するNC-1200の影響

用量 (mg/kg)	胆汁分泌量 (ml/100g 体重, 平均±S.E.)					計	乾燥重量 (mg/kg)
	投与前	1	2	3	4時間		
対 照 (1% metolose)	0.34 ±0.03	0.36 ±0.03	0.29 ±0.01	0.27 ±0.03	0.27 ±0.03	1.57 ±0.10	30.1 ±1.9
20	0.35 ±0.03	0.31 ±0.02	0.26 ±0.02	0.29 ±0.03	0.31 ±0.02	1.53 ±0.07	29.0 ±1.1
50	0.42 ±0.05	0.39 ±0.02	0.36 ±0.04	0.32 ±0.02	0.30 ±0.01	1.79 ±0.13	30.0 ±2.6
100	0.45 ±0.03	0.42 ±0.04	0.40 ±0.03	0.24 ±0.07	0.25 ±0.03	1.76 ±0.04	23.1 ±3.7

(有意差なし)

薬物刺激による充血や眼脂もみられなかった。

3) 浸潤麻酔

1群3匹のモルモットを使用し、丘疹法により浸潤麻酔作用を調べたが、対照に比べてNC-1200投与群では30分後に至るまで収縮反応の消失が22~67%に認められた(表14)。

4) 胆汁分泌

1群3匹のラットを用い、NC-1200の20, 50および100mg/kg経口投与後1~4時間までの胆汁分泌量に対する影響を調べた。

表15にその結果を示すが、全ての群で有意差は認められなかった。

考察および結論

動物の神経系には多くの遊離型アミノ酸が存在し、種々の代謝過程に関与すると共に細胞内外の水分やイオン分布の調節に関与していることは古くからよく知られている。脳内に存在するアミノ酸は循環血液により供給されているか、または主としてブドウ糖から脳内において生成されるものであるが、ある種のアミノ酸、例えばγ-アミノ酪酸(GABA)、グルタミン酸(glutamate)、プロリン(proline)などは、血液脳関門の存在のために成熟動物では末梢に与えてもほとんど脳内に移行しないので、専ら脳における産生により供給されるものと考えられている。

神経組織内に存在するアミノ酸のうちで、あるものは上述のような代謝的意義、細胞の生理機能

維持のための意義を持つが、そのほかに神経伝達物質(neurotransmitter)あるいは神経調節物質(neuromodulator)としての役割を持つものがあると考えられるものの、現在神経伝達物質としての機能、あるいはその可能性を有すると思われるものは、GABA、L-グルタミン酸(glutamate)、グリシン(glycine)、L-アスパラギン酸(aspartic acid)などであり、その他にアラニン(alanine)、タウリン(taurine)なども注目されているが、これらのうち抑制性伝達物質としてのGABAのみが現在広く認知されたものといえよう。

一方、脳内の遊離アミノ酸のうちグルタミン酸とアスパラギン酸は中枢神経細胞に対し興奮を示すことが古くから知られているが(Curtisら²⁾, 1965), 脊椎動物の中枢神経系においてはL-グルタミン酸の応用により神経細胞の脱分極がみられるものの、内在性の興奮性伝達物質の作用とは異なることや(Curtisら²⁾, 1965), グルタミン酸は大脳皮質のいわゆる“spreading cortical depression”を惹起すること(Van Harreveld¹⁸⁾, 1959), また脊髄の後根および後根の灰白質での含有量は、前根または前根灰白質のものより高く、一次知覚ニューロンの終末部においてグルタミン酸が興奮性伝達物質として作用する可能性のあること(Graham⁴⁾ら, 1967), さらにまたてんかんのkindlingモデルで、その発現過程の促進にグルタミン酸が関与している可能性(佐藤ら¹²⁾, 1986)などが報告されてはいるものの、グルタミン酸の生

理的意義についてはなお不明な点が多い。

上述のごとく、中枢神経系におけるグルタミン酸の生理的意義については不明な点が多いことから、強い抗グルタメート作用を持つ本薬 (Ishida ら⁹⁾, 1980; Kimura ら¹⁰⁾, 1988) がどのような中枢作用を持つのかということは極めて興味のあるところであるが、今回の実験結果からはこの点についてなお明らかにすることはできなかった。

すなわち、行動学的並びに脳波学的な検討により、一般症状および自発運動量に対しては興奮後抑制を示し、自発脳波でも同様な傾向がみられたほかは、抗けいれん作用、睡眠増強作用、鎮痛作用などに関しては全く作用がみられず、また回転棒試験、懸垂試験や正常体温などに対しても影響は全くみられなかった。

このような今回の急性実験の結果は、本薬が少なくとも正常動物に対しては目立った作用を示さないことを物語るものといえよう。すなわち、harmaline 振戦に対する抑制作用や decerebrate 動物では有効であること (Masaki ら¹¹⁾, 1986)、などと考え合わせてみると、本薬は正常動物では無効であったとしても、グルタミン酸の機能が亢進している状態に対しては十分に抑制効果を示すことが考えられ、Shinozaki¹²⁾ (1988) のいう open channel blocker としての use dependent action が期待される。

またラット脳内 (大脳皮質、線条体、海馬) の各種アミンおよびその代謝産物の含量に対する影響を調べた渡辺²¹⁾ (1990) の結果では、NC-1200 の単回投与ではモノアミン類の含量には全く変化がなかったが、100mg/kg の 8 日間連続投与では線条体および辺縁系の dopamine (DA) 神経系における DA の代謝回転がある程度上昇しており、また測定した全ての脳部位において noradrenaline の含量が有意に減少、もしくは減少傾向を示したが、このことが本薬の中枢作用にどのように関係しているのかは、なお明らかではない。

なお今回行った一般薬理作用 (腎機能、血液、その他) や中枢薬理作用の結果、さらに循環器系その他に対する極めて軽度な影響 (NC-1200 研究会) などを考え合わせると、本薬は極めて安全性の高い薬物であると思われる。

総 括

ICR 系雄性マウス, Wistar 系雄性ラット, Hart-

ley 系雄性モルモットおよび成熟ウサギを用い、NC-1200 の中枢作用並びに一般薬理作用について検討を加えた。

1. マウスの一般症状は、NC-1200 の 100mg/kg 以上の経口投与により、自発運動の増加、ジャンプなどが起こり、間代性けいれん様のけいれんを起こして死亡するものがある。

2. マウスの自発運動量は NC-1200 の 50~100mg/kg の経口投与により、直後から 150 分頃までは運動量の増加を示すが、その後は運動量の著明な低下を示した。

3. 回転棒試験および懸垂試験に対して 20~100 mg/kg 応用では 5 時間まで落下例は全くみられなかった。

4. pentobarbital 睡眠に対しては NC-1200 の 10~100mg/kg は全く影響を与えなかった。

5. 最大電撃けいれんおよび pentetrazol けいれんに対し、NC-1200 は全く抗けいれん作用を示さず、100mg/kg 投与群では最大電撃けいれんの際の死亡例の増加傾向が認められた。

6. マウスの正常体温に対して NC-1200 は全く影響を及ぼさなかった。

7. 慢性電極植え込みウサギを用いた自発脳波に対し、15mg/kg の静注で一時的な覚醒パターンを示し、ときに発作波を起こすこともあるが、その後はむしろ徐波成分が優位となる。

また海馬後放電に対しては、短縮ないし消失を示す場合と、逆に後放電の延長を来たす場合とがある。

8. 一般薬理試験として、腎機能、血液に対する影響、その他を検討した。

以上の実験結果に基づき、NC-1200 の中枢作用および一般薬理作用について考察を加えた。

文 献

- 1) Courvoisier, S., Ducrot, R. and Julou, I. (1957) : Psychotropic Drugs, Edited by Garattini, S. and Ghetti, V., pp. 371-391, Elsevier, Amsterdam.
- 2) Curtis, D. R. and Watkins, J. C. (1965) : The pharmacology of amino acids related to gamma-amino butyric acid. Pharmacol Rev 17, 347-391.
- 3) Gangloff, H. and Monnier, M. (1957) : The action of anticonvulsant drugs tested

- by electrical stimulation of the cortex, diencephalon and rhinencephalon in the unanesthetized rabbit. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **9**, 43-58.
- 4) Graham, L. T., Slank, R. P., Werman, R. and Aprison, M. H. (1967) : Distribution of some synaptic transmitter suspects in cat spinal cord; glutamic acid, asparatic acid, gamma-butyric acid, glycine and glutamine. *J Neurochem* **14**, 465-472.
 - 5) Haffner, F. (1929) : Experimentelle Prüfung schmerzstellender Mittel. *Dsch Med Wochenschr* **55**, 731-733.
 - 6) Ishida, M. and Shinozaki, H. (1980) : Differential effects of diltiazem on glutamate potentials and excitatory junctional potentials at the cryfish neuromuscular junction. *J Physiol (London)* **298**, 301-319.
 - 7) Izumiyama, K. and Kogure, K. (1988) : Prevention of delayed neuronal death in gerbil hippocampus by ion channel blockers. *Stroke* **19**, 1003-1007.
 - 8) 金井 泉, 金井正光 (1978) : 血液一般検査法, 臨床検査法提要, P, VI 83, 金原出版, 東京.
 - 9) 川崎洋助 (1957) : 電撃けいれんによる抗てんかん薬の研究. *米子医誌* **8**, 234-258.
 - 10) Kimura, A., Sato, A. and Suzuki, H. (1988) : Inhibitory effects of a new centrally acting muscle relaxant, (4S,5R)-4-(2-methyl-propyl)-3-{3-(perhydroazepin-1-yl)propyl}-5-phenyl-1,3-oxazolidin-2-one hydrochloride (NC-1200) on micturition contractions of the bladder in rats. *Eur J Pharmacol* **152**, 55-62.
 - 11) Masaki, M. and Shinozaki, H. (1986) : A new class of potent centrally acting muscle relaxants; pharmacology of oxazolidiones in rat decerebrate rigidity. *Br J Pharmacol* **89**, 219-228.
 - 12) 佐藤光源, 秋山一文 (1986) : てんかんの難治化予防と発作抑制に関する実験的研究. 第15回薬物活性シンポジウム講演要旨集 pp. 23-26, 米子.
 - 13) Sawyer, C. H., Everett, J. W. and Green, J. D. (1954) : The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J Comp Neurol* **101**, 801-824.
 - 14) 柴田 進 (1971) : 6章 BSP. 臨床化学の実技 (定量編), pp. 345-346, 金原出版, 東京.
 - 15) Shinozaki, H. (1988) : Pharmacology of glutamate receptor. *Progress in Neurobiology* **30**, 399-435.
 - 16) Siegmund, E., Cadmus, R. and Lu, G. (1957) : A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc Soc Exp Biol Med* **95**, 729-731.
 - 17) Takayanagi, I., Konno, F., Sato, Y. and Uno, H. (1988) : Pharmacological properties of a new centrally acting muscle relaxant (NC-1200) in isolated muscle preparations. *Gen Pharmacol* **19**, 117-121.
 - 18) Van Harreveld, A. (1959) : Compound in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle. *J Neurochem (London)* **3**, 300-315.
 - 19) Woodbury, L. A. and Davenport, V. D. (1952) : Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. *Arch Int Pharmacodyn Ther* **92**, 97-107.
 - 20) 吉田充男 (1987) : NC-1200研究会, 東京.
 - 21) 渡辺裕司 (1990) : 私信による.