

新しいCa拮抗薬 (+)-1, 4-dihydro-5-isopropoxy-2-methyl-4-(2-trifluoromethylphenyl)-1, 6-naphthyridine-3-carboxylic acid ethyl ester (NC-1500) の中枢薬理作用

鳥取大学医学部薬理学教室 (前主任 君島健次郎名誉教授)

田辺恭子, 木下ゆか子, 徳吉公司, 祝部大輔, 君島健次郎

Effects of (+)-1, 4-dihydro-5-isopropoxy-2-methyl-4-(2-trifluoromethylphenyl)-1, 6-naphthyridine-3-carboxylic acid ethyl ester (NC-1500) on the central nervous system.

Kyoko TANABE, Yukako KINOSHITA, Kooji TOKUYOSHI,

Daisuke HOURI and Kenjiro KIMISHIMA

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

ABSTRACT

The Effects of NC-1500, a new calcium-antagonist, on the central nervous system were analyzed behaviorally and electroencephalographically in mice, rats and rabbits. NC-1500 showed slight inhibitory effects of spontaneous locomotor activity, sleeping time induced by pentobarbital, traction test, analgesic test by phenylquinone method and body temperature, but no effects on spontaneous electroencephalograph and analgesic test by Haffner's method. Moreover, NC-1500 gave no influences on blood coagulation, hemolytic response, platelet coagulation activity and blood sugar, but showed slight inhibitory effects on the renal functions and biliary secretion. Based on these obtained, NC-1500 was considered to be a calcium-antagonist with few central nervous actions.

(Accepted on August 31, 1992)

1964年Fleckensteinによりprenyramine, verapamilなどのCa拮抗作用が報告され, 1969年これらの薬物はCa拮抗剤と命名されたが, その後数多くの薬物が次々と開発され, 狭心症, 不整脈, 高血圧などの治療に用いられてきた⁵⁾. さらに近年はこのような循環器疾患に止まらず, 偏頭痛, めまい, 動脈硬化, 脳血管障害, 膠原病に伴うレ

イノ-症状, 気管支喘息, 悪性腫瘍など多方面への適応が行われている.

Ca拮抗薬の中枢神経系への作用については, 従来他の血管拡張薬や β 遮断薬と比べ, 抑うつ, 悪夢, 不眠, 反射調整機構の障害などの副作用の少ない点が特徴的であり, 神経系への作用は少ないと考えられていたが, Ehlertら⁴⁾によりCa拮抗

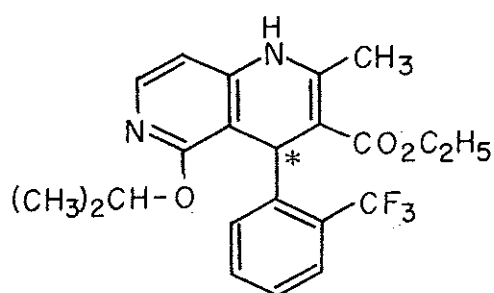


図1. NC-1500の化学構造

薬が神経細胞それ自体にも結合することが明らかにされて以来その中枢作用への関心が高まってきた。さらに最近ではてんかん、躁うつ病などの神経精神科領域における有効例の報告もみられるようになってきたが (Dubovskyら³⁾, 1986; Pollackら¹⁵⁾, 1987; Gianniniら⁷⁾, 1985; Lewisら¹¹⁾, 1984; Overwegら¹⁴⁾, 1984), 中でも特にnimodipine, nicardipineやmanidipineに代表されるようなジヒドロピリジン系薬物が新しいCa拮抗薬として注目されている。

今回われわれはジヒドロピリジン系のCa拮抗作用を持つといわれる新しい合成化合物 (+) - 1, 4-dihydro-5-isopropoxy-2-methyl-4-(2-trifluoromethylphenyl)-1, 6-naphthyridine-3-carboxylic acid ethyl ester (NC-1500, 日本ケミファ, 図1) の入手の機会を得たので, その中枢神経系に対する作用と一般薬理作用について検討を加えた。

実験方法

実験動物:

ICR系雄性マウス (5~10週齢), SD系雄性ラット (5.5~7週齢) および体重2.5~3.5kgの雌雄の成熟ウサギ (日本白色種) を使用した。これらの実験動物は室温 22 ± 3 °Cで飼育及び実験を行った。飼料は日本クレア製飼育用固型飼料 (CE-2, CR-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

1) 一般症状

マウス, ラット, ウサギを用いて一般症状に対する作用を観察した。マウスは1群5~10匹を4群 (計45匹) 用意し, 被験薬の50~300mg/kgを経口投与して, 6時間後までと翌日24時間後の一般

症状の変化を観察した。また1群20匹のマウス2群を用意し, 50, 100mg/kgの経口投与後, 32×23×11cmのアルミ製ケージに1群ずつ入れて集団での一般症状を観察した。

ラットは1群3匹として4群用い, 被験薬の50~300mg/kgを経口投与し6時間後までと, 24および48時間後の一般症状を観察した。またウサギは8匹を用い, 被験薬50~200mg/kg経口投与後6時間までと, 24および48時間後の一般症状を観察した。

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匹の雄性マウスを計21群使用し, プラスチック製ケージ (35×22×21cm) に入れて90分間馴れさせたのち, 被験薬は10, 20, 50, 100mg/kg経口投与して, 6時間後までの自発運動量を経時的にカウントさせた。

3) 回転棒試験 (rotarod test)

直径3cm, 毎分16回転する回転棒を用い, 実験前日までの3回の試行で毎回1分間以上落下しなかったマウスを選んでおく。このマウスを1群10匹として4群用い, 対照群と被験薬の20, 50および100mg/kg経口投与の影響を6時間後までと, 大量投与群では24時間後まで調べた。

4) 懸垂試験 (traction test)

Courvoisierら²⁾の方法に従い, 水平に張った針金にマウスの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落下例を調べた。マウスは1群10匹として4群使用し, 対照群と被験薬の20, 50および100mg/kg経口投与の影響を6時間後までと, 大量投与群では24時間後まで調べた。

5) 睡眠増強作用

川崎¹⁰⁾の方法に準じて1群10匹 (対照群は22匹) のマウス計4群を用い, 被験薬の各用量を経口投与して60分後にpentobarbital sodium 40mg/kg腹腔内注射し, 正向反射の消失を指標として睡眠の開始時間及び持続時間に対する影響を調べた。またthiopental sodiumによる睡眠増強作用についても調べた。すなわち1群7~10匹のマウスを4群使用し, 対照群と被験薬の5, 10および20mg/kgを経口投与し, 60分後にthiopental sodium 60mg/kg腹腔内投与して, pentobarbital sodiumと同様に睡眠持続時間に対する影響を調べた。

6) 抗けいれん作用

a) 最大電撃けいれん法 (maximal electroshock seizure test, MES)

マウスを1群10~22匹として計77匹を用い、角膜電極とWoodbury and Davenport¹⁹⁾の装置により50mA, 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、対照群および被験薬の各量を経口投与60分後に実験を行った。

b) 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)を起し、ときにくり返したり続いて飛び上がった (jumping)、ピ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TEを起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。なお本薬の最大作用時は60分とし、マウスは1群10~16匹として計50匹用いた。

7) 鎮痛作用

a) Haffner法

1群10匹のマウス (計30匹) 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を加えた際の仮性疼痛反射 (head turning, bite, vocalization)の閾値を指標とするHaffner法⁸⁾を用いて、対照群および被験薬の20, 50mg/kg応用60分後に実験を行った。なお得られた仮性疼痛閾値は投与後疼痛閾値/投与前疼痛閾値×100 (%)で表した。

b) phenylquinone法

Siegmundら¹⁸⁾の方法に従い、1群10匹のマウス4群を用い、対照群および被験薬の10, 20および50mg/kgを投与した群に、60分後0.02%phenylquinone水溶液を20ml/kg腹腔内注射し、直後から15分間の特異なストレッチング姿勢 (stretching posture)の発現率 (%)と1匹当たりの回数を観察記録した。

8) 正常体温の測定

マウスを1群10匹として6群を用いた。対照群および被験薬2, 5, 10, 20および50mg/kgを経口投与し、マウス用サーミスター温度計を使用して直腸温を3時間後までと、6および24時間後に

測定した。

9) 自発脳波記録法

成熟ウサギを用い、pentobarbital sodium 35~40mg/kg腹腔内投与による麻酔を行い、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 Monnier⁹⁾(皮質) およびSawyerら¹⁶⁾(皮質下)の脳図譜を基準として、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, 視床下部, 中脳網様体, 背側海馬) に植込み、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誘導脳波計に導き、毎秒1.5cmの速度で記録した。ウサギは1群3匹用い、被験薬は50および100mg/kg経口投与した。

2. 腎機能の測定

1) 尿量, pH, 浸透圧および電解質

1群3~5匹の雄性ラットを6群用い、対照群および被験薬0.1, 1, 10, 15および20mg/kgを経口投与した群をそれぞれ採尿ケージに入れて5時間採尿した。

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。また尿中の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) PSP排泄試験

1群3~4匹のウサギ (20時間絶食) 計14匹を用い、対照群および被験薬の20, 50, 100mg/kg経口投与した群に60分後に0.6w/v% phenolsulfonphthalein (PSP) 3 mg/kg静注し、30分後に採血 (ヘパリン添加) し、3000 rpmで15分間遠沈後、その血漿0.5mlを用い、柴田¹⁷⁾の方法で残留PSP量を測定した。

3. 血液の測定

1) 血液凝固時間

6~7週齢の雄性ラットを1群3匹として4群用意し、被験薬の20, 50および100mg/kg経口投与し、60分後にpentobarbital sodium 50mg/kg腹腔内注射による麻酔下に開腹し、腹部大動脈より2ml採血 (3.8%クエン酸ナトリウム添加) した。3000 rpm, 10分間の遠心分離により血漿を採り、金井ら⁹⁾の方法によりPT-test Wako (トロンボプラスチン法) を用いてプロトロンビン時間を測定

した。

2) 溶血作用

被験薬の20, 50, 100mg/kg投与群および対照群の計4群(1群3匹)のラットに経口投与して60分後, pentobarbital sodium麻酔下で採血(3.8%クエン酸ナトリウム添加)し, 室温で1500G, 10分間遠沈後, その赤血球を実験に用い, 測定はCPC(coil planet centrifuge)法により行った。まず食塩液による150~30 mOsM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150 mOsM側にクエン酸ナトリウム処理血を入れ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, 1600 rpm, 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。遠沈後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20, 50, 100mg/kg投与群および対照群の計4群(それぞれ1群3匹)のラットを用い, 経口投与60分後pentobarbital sodium麻酔下に直接心臓より採血(3.8%クエン酸ナトリウム添加)し, 室温で160G, 10分間遠沈後, 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/mlに調整した。凝集試験は血小板凝集能測定装置(Aggregometer, 京都第一科学)を用い, 円筒セルにPRP 0.25mlを入れ25℃, 900 rpmにて定速攪拌による1分後, 220 μ Mの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

上記で得たPRPにcollagen 220 μ g/ml溶液の0.05mlを添加して凝集を惹起させた。

4. その他

1) 血糖値の測定

前日より絶食させたウサギ(1群3匹)を用い, 被験薬20, 50および100mg/kg経口投与した。投与前, 1時間後および3時間後の計3回耳静脈より採血(ヘパリン添加)し, 直ちに血漿を分離して,

その0.02mlをとりGlucose B-test Wakoを用いて血糖値を測定した。

2) 胆汁分泌量の測定

1群3匹(対照群は9匹)の生後6~7週齢のラットを4群用いpentobarbital sodium麻酔下で総胆管にカニューレを挿入し, 対照および被験薬20, 50, 100mg/kg経口投与して, 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を採り, 70℃で加熱乾燥により固形成分の重量を秤量した。

5. 使用薬物および投与方法

被験薬のNC-1500は水に溶けないため0.5% methylcellulose(0.5% MC)液に懸濁液とし, マウス, ラットは体重kg当たり10ml, ウサギには体重kg当たり1~2mlを経口投与した。最大作用時は60分とし, 対照群には0.5% MC液を被験薬と同量経口投与した。

その他, pentobarbital sodium(ダイナボット), thiopental sodium(田辺), 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, 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

得られた実験値は平均値±標準誤差で表し, 有意差の検定にはStudent t-検定を用いた。

実験結果

1. 中枢神経系に対する作用

1) 一般症状に及ぼす影響

a) マウス

1群10匹のマウスを1匹ずつ1 ℓ のビーカーに入れて観察した。50mg/kg経口投与群では全く変化は認められなかった。100mg/kg応用群では, 30分後より2時間位までわずかにおとなしくなった。200mg/kg投与群では, 40分後よりほとんど動かなくなりじっとしており, 80分後には3匹に流涎を認めたが, 6時間後には動き回っていた。300mg/kgに増量すると, 30分後より腹を床につけて動かなくなり, 半数に流涎が認められた。呼吸はやや大きくなり体の小さなふるえもみられ, 3時間後1匹, 6時間後に8匹, 翌朝までに残りの1匹が死亡したが, その他の変化は観察されなかった。

また32×23×11cmのアルミ製ケージに20匹ずつ入れた集団群では, NC-1500の50mg/kgおよび100

mg/kgを経口投与すると、いずれも10分後よりマウスはよろよろと動き回り、ピーカー内で一匹ずつ観察した300mg/kg投与群に比べて体のふるえは大きく強くて、100mg/kg経口投与群では60分までに2匹が死亡したが、残りは昏睡状態となったマウスが約半数にみられたものの、翌朝には回復に向かった。

b) ラット

1群3匹についてマウスと同量を投与してラット用飼育ケージに入れて観察したが、50mg/kg経口投与群では変化は見られず、100、200mg/kg投与群では数時間後までややおとなしくほとんど動かない。300mg/kg応用群は30分後より鎮静状態となり腹を床につけてじっとしていたが、8時間後より流涎が少しあり、30~38時間後2匹死亡した。残り1匹は48時間後には回復に向かった。

c) ウサギ

50mg/kgを経口投与した2匹では変化はなく、100mg/kg投与した3匹は数時間にわたっておとなしくじっとしていたが翌日にはほぼ回復した。200mg/kgに増量すると、2例中1匹は全身症状にはほとんど著変がないまま48時間後までに死亡し、他の1匹は動きが少なくなり、翌日には呼吸がやゝ早くなりほぼ同時刻に死亡した。

2) 自発運動量に及ぼす影響

Animexによるマウスの自発運動量の測定はNC-1500の各用量ごとに2~7群(1群6匹)の計21群を用いた。図2にその1例を示したが、被験薬の経口投与による変化はほとんど認められなかった。すなわち、対照として0.5% MC液の経口投与を3群に行ったが、内服による刺激で一時的に自発運動量の増加を示した後、休息と時々1分間当たり100カウント近い運動量を6時間後まで繰り返した(図2 A)。NC-1500の20mg/kgを4群に投与したが、図2 Bに示すように時々100カウント位の運動と休息が交互に現れ、対照群と比べて特に変化は認められず、図には示していないが、小量の10mg/kg経口投与群と比べても変化は認められなかった。50mg/kgを5群に投与したが、内服30分後までの活発な運動の後、常にグループ内の何匹かが動いているが、100カウント以上の運動量は示さなかった(図2 C)。さらに100mg/kg経口投与を7群に行ったが、自発運動量は50mg/kg応用群よりもわずかに減少していたが、著しい運動量の減少は示さなかった(図2 D)。

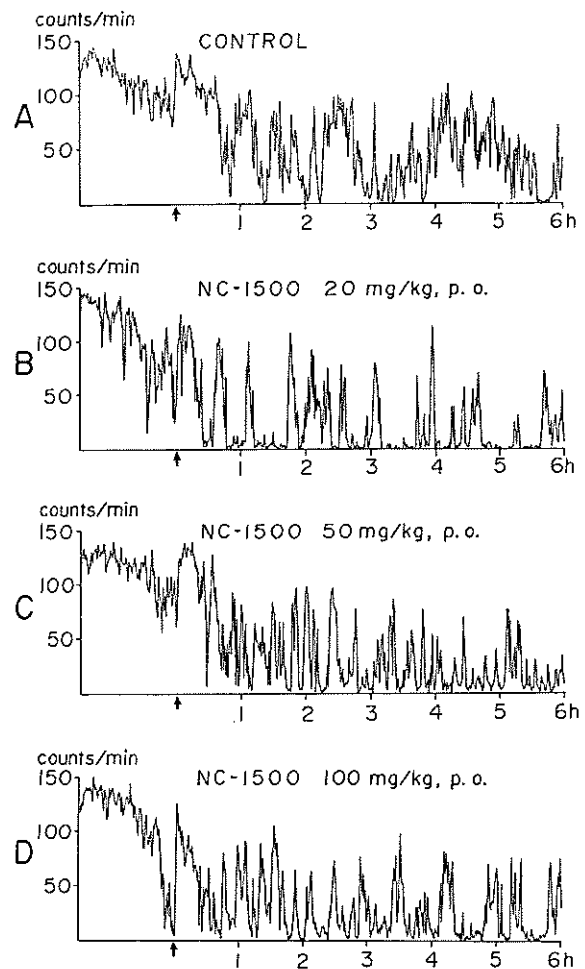


図2. マウスの自発運動量に及ぼすNC-1500の影響

- A : 対照 (0.5% MC 10ml/kg経口投与),
- B : NC-1500 20mg/kg経口投与,
- C : NC-1500 50mg/kg経口投与,
- D : NC-1500 100mg/kg経口投与.

縦軸は毎分のカウント数, 横軸は時間.

3) 回転棒試験に及ぼす影響

NC-1500の20、50および100mg/kgを経口投与し、6時間後まで経時的に1分間の回転棒試験を行い対照群と比較した。大量投与群については24時間後にも試験した。

20mg/kg投与群は、対照群と同様に全例とも6時間までの落下例はなく影響は認められなかったが、50mg/kg投与群では4時間後に2例、5時間後と6時間後に各1例の落下例があり、100mg/kg投与群ではテストした6時間後まで全てのテスト時間に落下例が観察され、とくに4時間後には全

例が落下したが、24時間後には落下例は認められなかった(表1)。

4) 懸垂試験に及ぼす影響

NC-1500の20, 50および100mg/kgを経口投与し、6時間後まで経時的にテストしたが、大量投与群については24時間後にも試験した。20mg/kg投与群は対照群と同様に全例6時間までの落下例はなかったが、50mg/kg投与群の3, 5, 6時間後にそれぞれ2, 1, 1例が、また100mg/kg経口投与では全てのテスト時間で落下例があり、とくに3~5時間には各6例が落下していたが、24時間後の落下例は認められなかった(表2)。

5) 睡眠増強作用

NC-1500の2, 5および10mg/kgを経口投与し、60分後にpentobarbital sodium 40mg/kg腹腔内投与すると、睡眠の開始時間に対しては対照群と比べ有意な影響は認められなかったが、持続時間は対照群の平均46.0分に対して2mg/kg投与群で57.1分、5mg/kg応用群で70.1分、10mg/kgでは73.4分となり、全ての投与群で有意($p < 0.01$)に延長し睡眠増強作用が認められた(表3)。

また同様にNC-1500の5, 10および20mg/kgを経口投与し、60分後にthiopental sodium 60mg/kg腹腔内投与すると、睡眠は各群とも2分以内に始まったものの睡眠持続中の60分から120分の間の死亡例が2mg/kg投与群で1例、5mg/kg投与群で2例、10mg/kg投与群で3例あったため、平均持続時間はそれらを除いた例数で計算したが、大量の20mg/kg投与群では対照群の261.6分に対し、305.0分とやゝ延長したが有意差は認められなかった(表4)。

6) 抗けいれん作用

a) 最大電撃けいれんに対する作用

NC-1500の20, 50, 100および200mg/kg経口投与60分後に通電刺激したが、表5に示すごとくTEの消失は100mg/kg以下の投与では認められず、200mg/kg投与で27%に認められた。また各群のTE持続時間を比べてみると、対照群の平均16.8秒に対して20mg/kg投与群で16.3秒、50mg/kg投与群で13.4秒、100mg/kg投与群で12.3秒、200mg/kg投与群で7.4秒となり、50mg/kg以上の投与で有意($p < 0.01$)な短縮を認めた。TEによる死亡例は用量増加と共に増加する傾向を示し、対照群と20mg/kg投与群では各2および1匹(10%)であるが、50mg/kg投与群では2匹(20%)、100mg/kg投

表1. マウスの回転棒試験に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	落下例数						24時間
		1	2	3	4	5	6	
対照	10	0	0	0	0	0	0	0
20	10	0	0	0	0	0	0	—
50	10	0	0	0	2	1	1	0
100	10	2	4	8	10	9	6	0

—: 試験せず(表2, 9も同じ)。

表2. マウスの懸垂試験に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	落下例数						24時間
		1	2	3	4	5	6	
対照	10	0	0	0	0	0	0	0
20	10	0	0	0	0	0	0	—
50	10	0	0	2	0	1	1	0
100	10	3	2	6	6	6	5	0

表3. pentobarbital sodium 40mg/kg, i.p.によるマウスの睡眠作用に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	睡眠時間(分, 平均±S.E.)	
		開始	持続
対照	22	3.0±0.3	46.0±2.1
2	10	2.7±0.3	57.1±3.1**
5	10	2.2±0.2	70.1±5.9**
10	10	3.6±0.3	73.4±4.6**

** $p < 0.01$

表4. thiopental sodium 60mg/kg, i.p.によるマウスの睡眠作用に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	持続睡眠時間 (分, 平均±S.E.)
対照	10	261.6±23.1
5	9	223.4±13.9
10	8	241.8±29.2
20	7	305.0±25.9

(有意差なし)

表5. マウスの最大電撃けいれん法に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	TE 消失例 (%)	TE 持続時間 (秒, 平均±S. E.)	死亡例
対 照	20	0	16.8±0.6	2
20	10	0	16.3±0.7	1
50	10	0	13.4±0.6**	2
100	15	0	12.3±0.5**	7
200	22	6 (27)	7.4±1.2**	9

**p<0.01

TE : tonic extensor, 強直性伸展けいれん (表6も同じ).

表6. マウスのペンテトラゾールけいれん法に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	けいれん発現例				死亡例
		MF	CL	TF	TE	
対 照	10	10	6	10	10	10
50	10	10	4	9	7	9
100	14	14	10	13	3(6)	13
200	16	13	15	13	3(7)	16

TE()は前肢のみ伸展

MF : minimal full seizure, 最小けいれん,
 CL : clonic convulsion, 間代性けいれん,
 TF : tonic flexor, 強直性屈曲けいれん.

与すると7匹 (47%), 200mg/kg投与群では9匹 (41%) が死亡した.

b) pentetrazolけいれんに及ぼす影響

NC-1500の各量の経口投与60分後にpentetrazol 95mg/kg皮下注射し, けいれんの発現状態を調べたが, 表6に示すごとく50および100mg/kgの応用ではMFの発現は対照群と同様全例にみられたが, 大量の200mg/kg投与群では16例中13例に発現し3例には発現しなかった. CLは50mg/kg投与群では10例中4例に発現し, 対照群とほぼ同数にみられたが, 100および200mg/kg投与群では各々14例中10例, 16例中15例に発現しこのけいれんでの死亡例もみられた. またTF後にCLを起こして死亡するマウスもあった. TEは対照群では全例に発現したのに対し, NC-1500の投与群では用量増加と共に前肢のみの伸展に止まるものもあり発現例は減少した. 以上の様に用いたマウスの全てにいずれかのけいれん発現が認められ抗けいれん作

用は全く認められなかった. 死亡例については対照群はすべてTEの発現後にみられたが, 被験薬の投与群ではTEのほかTFやCLを起こした後の死亡例もあった.

7) 鎮痛作用に及ぼす影響

a) Haffner法

Haffner法によりあらかじめ仮性疼痛反応の閾値を測定したマウスを用い, NC-1500の20および50mg/kg経口投与60分後に再び仮性疼痛閾値を測定してその比を求めたが, 表7左側に示すごとく20mg/kg投与群では, 対照群の100.1%に対して102.0%とわずかに閾値の上昇傾向を示し, 50mg/kg投与群は82.3%と逆に閾値低下を示したが, いずれも有意差はなく鎮痛作用は全く認められなかった.

b) phenylquinone法

NC-1500の10, 20および50mg/kgの各量をマウスに経口投与し, 60分後にphenylquinoneの腹腔内投与によるストレッチング姿勢の消失を指標として鎮痛作用を調べた. 結果は表7右側に示すごとく, 対照群と50mg/kg投与群の1, 3匹にストレッチング姿勢が発現しなかったが, 1匹当たりのストレッチング回数は, 対照群の22.5±5.5回に比べて10および20mg/kg投与群では有意差はなかったもののそれぞれ30.5±5.8および38.4±8.6とやや増加傾向を示した. 50mg/kg応用群では8.7±3.3回と対照群に比べ有意に減少し鎮痛作用が認められた.

8) 体温に及ぼす影響

1群10匹のマウス6群を用い, 被験薬の2, 5, 10, 20および50mg/kgを経口投与し, 3時間までと6および24時間後の直腸温を経時的に測定した. 被験薬の投与群の平均体温を対照群と比べて

表7. マウスの鎮痛作用に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	Haffner 法	phenylquinone 法	
		疼痛閾値 (%, 平均±S. E.)	st. 発現率 (%)	1匹当りのst. 回数 (平均±S. E.)
対 照	10	100.1±7.2	90	22.5±5.5
10	10		100	30.5±5.8
20	10	102.0±4.8	100	38.4±8.6
50	10	82.3±7.8	70	8.7±3.3*

* p<0.05

st. : stretching posture ストレッチング姿勢.

表8. マウスの正常体温に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	体 温 (°C, 平均±S. E.)						
		投与前	30分	1時間	2時間	3時間	6時間	24時間
対 照	10	38.2±0.11	38.0±0.10	37.3±0.16	36.8±0.10	36.1±0.16	36.1±0.63	37.9±0.13
2	10	38.3±0.07	37.5±0.13	36.9±0.15	36.5±0.14	36.2±0.16	36.1±0.20	38.2±0.10
5	10	38.4±0.06	37.6±0.14	37.0±0.18	36.5±0.19	36.4±0.17	36.6±0.19	38.2±0.07
10	10	38.3±0.12	37.6±0.10	37.4±0.12	36.6±0.14	36.7±0.16	36.8±0.12	38.3±0.07
20	10	38.0±0.09	37.1±0.10**	36.3±0.10**	36.6±0.12	36.1±0.08	36.2±0.15	38.0±0.08
50	10	38.2±0.06	37.3±0.11**	36.6±0.14**	36.1±0.11**	36.2±0.11	36.2±0.12	38.3±0.04

** p<0.01

みると、30分後には対照群の38.0±0.10°Cに対し20mg/kg投与群では37.1±0.10°C、50mg/kg投与群では37.3±0.11°Cとなりいずれも有意な体温低下が認められた。また1時間後には同じく37.3±0.16°Cに対し20mg/kg投与群で36.3±0.10°C、50mg/kg投与群で36.6±0.14°C、2時間後には同じく36.8±0.10°Cに対して50mg/kg投与群で36.1±0.11°Cとそれぞれ有意な体温低下があり、NC-1500の影響が認められた(表8)。

9) 自発脳波に及ぼす影響

NC-1500の50および100mg/kgを経口投与し、自発脳波に対する影響を各3匹のウサギを用いて投与直後より3時間後まで検討した。図3に100mg/kg投与の1例を示したが、3時間後まではほとんど変化がなく影響は認められなかった。

2. 腎機能に及ぼす影響

1) 尿量, pH, 浸透圧, 電解質

1群3~5匹のラットを使用し、NC-1500の0.1, 1, 10, 15および20mg/kg経口投与の影響を調べた。

結果は表9に示したが、体重kg当たり5時間の尿量は対照群の32.3±1.2mlに対し、0.1mg/kg応用群で44.6±1.6mlと有意に増加したが、10, 15, および20mg/kg投与群ではそれぞれ22.3±4.1, 8.0±1.6, 1.3±0.8mlと用量増加に伴って有意に減少した。20mg/kg投与群では採尿量が少なすぎて電解質, pHなどは測定できなかったが、15mg/kg投与によりNa⁺の有意な減少が認められた。また浸透圧の測定では10mg/kg以上の応用群で有意な上昇を認めた。その他の電解質およびpHについては有意の差はなく影響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、被験薬の経口投与60分後に残留PSP量の測定を行った。結果は表10に示すごとく、NC-1500の20および50mg/kg投与後の残留PSP量は、対照群に比べて有意差はなく影響は認められなかったが、100mg/kg経口投与群では対照群の0.46±0.11mg/dlに比べて1.58±0.18mg/dlと有意(P<0.01)な残留PSP量の増加を認めた。

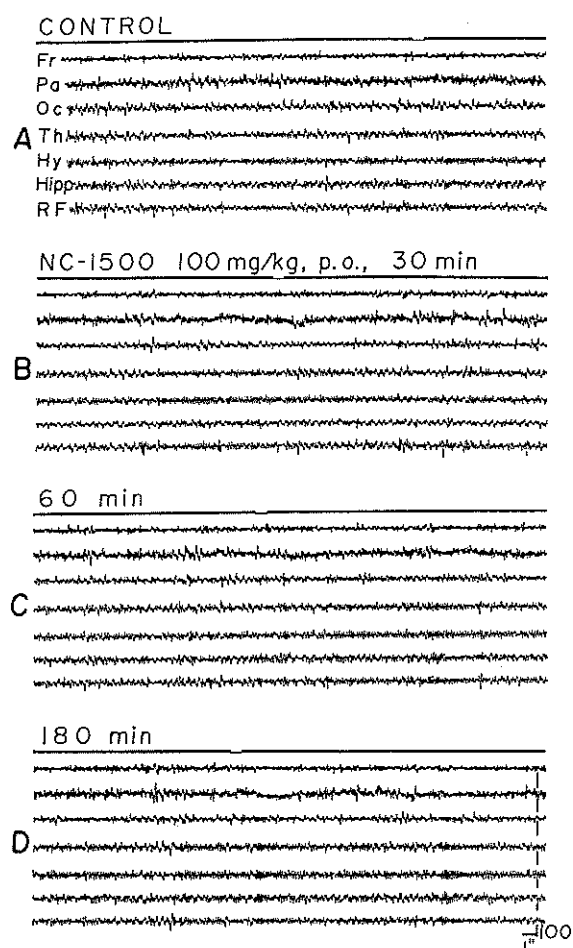


図3. ウサギの自発脳波に及ぼすNC-1500の影響

- A : 対照脳波,
- B : NC-1500 100mg/kg経口投与, 30分後,
- C : 60分後,
- D : 180分後.

誘導は上から皮質3ヵ所(前頭部, 側頭部, 後頭部)と視床, 視床下部, 海馬, 中脳網様体.

3. 血液に対する作用

1) 血液凝固時間に及ぼす影響

1群3匹のラットを用い, NC-1500の20, 50および100mg/kg経口投与して, 60分後の血液のプロトロンビン時間を測定した. 結果は表11に示すとおりで, 対照群との間に有意の差はなく影響は全く認められなかった.

2) 溶血作用に及ぼす影響

1群3匹のラットにNC-1500の20, 50および100mg/kg経口投与し, その溶血作用を調べた. 結果は表12に示すように, 溶血開始点も終末点も対照群と比べてほとんど差がなく影響は認められなかった.

3) 血小板凝集能に及ぼす影響

1群3匹のラットを用い, NC-1500の20, 50, 100mg/kg経口投与して60分後の血小板凝集能に対する影響を調べた.

結果は表13に示すごとく, ADPによる凝集もcollagenによる凝集も対照群に比べ有意差はなく影響は認められなかった.

4. その他の作用

1) 血糖値に及ぼす影響

1群3匹, 計12匹のウサギを用い血糖値におよぼす影響を検討した. 結果は表14に示すごとく, NC-1500の20, 50および100mg/kgを経口投与した全ての群で対照群との間に有意の差はなく, 被験薬の影響は認められなかった.

2) 胆汁分泌に及ぼす影響

1群3匹(対照群は9匹)のラットを用い, 被験薬の投与前1時間とNC-1500の20, 50および100mg/kg経口投与後の1~4時間までの胆汁分泌量に対する影響を調べた.

表9. ラットの尿量, 電解質, 尿pH, 浸透圧に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	尿量 (ml/kg) (平均±S.E.)	電解質 (mEq/ℓ) (平均±S.E.)			pH	尿浸透圧 (mOsM/ℓ) (平均±S.E.)
			Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻		
対 照	5	32.3±1.2	86.8±10.1	16.5±3.7	86.2± 9.2	5.9±0.4	392.6±31.4
0.1	3	44.6±1.6*	97.0± 4.0	13.8±2.2	95.0± 5.2	6.3±0.2	455.7± 5.4
1	3	31.8±4.8	82.0±14.2	9.1±1.7	79.7± 7.5	5.8±0.3	334.3±26.1
10	5	22.3±4.1*	87.8±16.5	21.7±4.7	97.4±14.4	5.5±0	611.4±75.6*
15	3	8.0±1.6**	38.3± 6.4*	28.3±6.9	54.7±24.2	5.3±0.2	622.7±98.4*
20	3	1.3±0.8**	—	—	—	—	—

*p<0.05

**p<0.01

表10. ウサギ PSP排泄に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	残留PSP量 (mg/dl) (平均±S.E.)
対照	4	0.46±0.11
20	3	0.63±0.11
50	4	0.80±0.22
100	3	1.58±0.18**

** p<0.01

表12. ラットの溶血作用に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	溶血反応 (mOsM, 平均±S.E.)	
		開始点	終末点
対照	3	102.3±3.84	61.7±1.45
20	3	106.3±1.20	65.0±3.0
50	3	106.7±2.40	66.0±0.58
100	3	104.0±1.16	64.0±1.16

(有意差なし)

表11. ラットの血液凝固時間に及ぼすNC-1500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	3	12.5±0.12
20	3	13.4±0.39
50	3	12.4±0.22
100	3	11.8±0.12

(有意差なし)

表13. ラットの血小板凝集能に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	凝集能 (% , 平均±S.E.)	
		ADP	collagen
対照	3	49.7±2.7	52.7±2.9
20	3	46.7±2.2	49.7±3.3
50	3	49.0±3.2	53.0±2.7
100	3	40.7±5.8	41.0±9.1

(有意差なし)

表14. ウサギの血糖値に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	血糖値 (mg/dl, 平均±S.E.)		
		投与前	1時間	3時間
対照	3	103.5±3.1	94.3±6.9	90.0±4.2
20	3	88.8±9.8	95.9±3.4	101.5±5.6
50	3	91.0±1.3	91.4±8.9	95.4±7.0
100	3	92.2±6.7	90.3±6.2	84.9±4.4

(有意差なし)

表15. ラットの胆汁分泌に及ぼすNC-1500の影響

用量 (mg/kg)	例数	胆汁分泌量 (ml/kg体重, 平均±S.E.)						乾燥重量 (mg/ml)
		投与前	1時間	2時間	3時間	4時間	計	
対照	9	3.3±0.4	2.8±0.3	2.4±0.3	2.5±0.3	2.4±0.2	13.5±1.1	30.6±1.1
20	3	3.8±0.7	2.7±0.1	2.3±0.6	2.1±0.1	1.7±0.4	12.6±1.3	29.3±1.5
50	3	3.7±0.2	2.9±0.1	2.0±0.1	1.7±0.3	2.0±0.1	12.3±0.6	28.3±1.8
100	3	3.8±0.5	2.8±0.4	1.7±0.1	1.6±0.1	1.3±0.1*	11.3±0.7	28.7±0.9

*p<0.05

表15にその結果を示すが、胆汁分泌量は対照群の体重kg当たり 2.4 ± 0.2 mlに比べて100mg/kg経口投与4時間後に、 1.3 ± 0.1 mlとなり有意な分泌量の減少を示したが、他は全ての投与群で有意の差はなく影響は認められなかった。また乾燥重量に対しても対照群と被験薬の投与群との間に有意差はなく影響は認められなかった。

考 察

NC-1500の中樞神経系に対する作用を検討した今回の実験結果は、マウス、ラットなどの一般症状に対する大量投与での鎮静作用、自発運動量の軽度抑制、協調運動に対する大量での抑制などが目立ったもので、その他pentobarbital睡眠時間の延長作用、phenylquinone法による弱い鎮痛作用、最大電撃けいれんに対する軽度抑制、正常体温に対する有意の低下作用なども認められたもののHaffner法では鎮痛作用が認められず、pentetrazolけいれん法では抗けいれん作用もなく、自発脳波に対して全く影響を示さず、しかもこれらの作用は大量投与によってのみ発現するものが多いことから、本薬の中樞神経系に対する作用はわずかな抑制と考えられ、本薬を狭心症、不整脈、高血圧症などの循環器疾患の治療薬と考えるならば、その副作用としての中樞作用は極めて弱いものと考えられよう。

しかしながら、Ca拮抗薬としてのNC-1500の神経精神疾患への対応を考えた場合、まずその抗けいれん作用は最大電撃けいれんを軽度抑制するのみで、pentetrazolけいれん法に対しては全く影響を示さないという極めて弱いもので、同じCa拮抗薬であるflunarizine¹⁾よりさらに弱いものであろう。

また、本薬の躁うつ病あるいは分裂病などへの応用については、本実験の結果だけから何らかの結論へ導くことは極めて困難であり、さらに多くの検討が必要である。

さらに、本薬は特異的な強い椎骨動脈血流増加作用を持つことが知られており(Meyerら¹²⁾、NC-1500の概要¹³⁾、このことは脳循環改善作用あるいは脳保護作用を持つ可能性を示唆するものであるが、これらの点についてもより詳細な検討が加えられなければならない。

ま と め

新しいCa拮抗薬NC-1500の中樞および一般薬理作用について検討した。

1) マウス、ラット、ウサギの一般症状に対し、100mg/kg以上の経口投与でわずかに鎮静作用を示し、200~300mg/kgの投与では死亡例があった。

2) マウスのAnimexによる自発運動量の測定で、100mg/kgの投与によりわずかに減少したが、協調運動に対し、50mg/kg以上の経口投与により落下例があった。さらにpentobarbital睡眠作用に対し、2mg/kg以上の投与により有意の睡眠増強作用を示した。

3) マウスのphenylquinone法による鎮痛実験で、50mg/kg投与により有意な鎮痛作用を認めたが、Haffner法による鎮痛作用は認められなかった。またマウスの最大電撃けいれん法により、200mg/kgの経口投与で、弱い抗けいれん作用を認めたが、pentetrazolけいれんは抑制しなかった。

4) マウスの正常体温に対し、20および50mg/kgの経口投与により有意な体温下降作用を示した。

5) 腎機能に対して、ラットに10mg/kg以上の経口投与により尿量は有意に減少したが、尿浸透圧は有意に上昇した。またウサギの残留PSP量は、100mg/kgの経口投与により有意に増加した。

6) ラットの胆汁分泌量に対し、100mg/kgの経口投与により4時間後有意に減少した。

7) ラットの血液や、ウサギの血糖値に対して影響はなく、ウサギの自発脳波に対しても、振幅、周波数に影響を認めなかった。

文 献

- 1) Bussche, G. V., Wauquier, A., Ashton, D. and de Beukelaar, F. (1986). 9 Flunarizine. Current problems in epilepsy 4: New anti-convulsant drugs, Ed. Meldrum, B.S. and Porter, R.J., pp. 125-133, John Libbey, London.
- 2) Courvoisier, S., Ducrot, R. and Julou, I. (1957) : Psychotropic Drugs, Ed. Garattini, S. and Ghetti, V., pp. 371, Elsevier, Amsterdam.
- 3) Dubovsky, S.L., Franks, R.D., Allen, S. and Murphy, J. (1986). Calcium antagonists in mania : a double-blind study of

- verapamil. *Psychiatry Res* 18, 309-320.
- 4) Ehlert, F. J., Itoga, E., Roeske, W. R. and Yamaura, H. I. (1982). The interaction of [³H] nitrendipine with receptors for calcium antagonists in the cerebral cortex and heart of rats. *Biochem Biophys Res Commun* 104, 937-943.
 - 5) Fleckenstein, A. (1983). History of calcium antagonists. *Circulation Res Suppl I* 52, 3-16.
 - 6) Gangloff, H. and Monnier, M. (1957). The action of anticonvulsant drugs tested by electrical stimulation of the cortex, diencephalon and rhiencephalon in the unanesthetized rabbit. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 9, 43-58.
 - 7) Giannini, A. J., Loiselle, R. H., Price, W. A. and Giannini, M. C. (1985). Comparison of antimanic efficacy of clonidine and verapamil. *J Clin Pharmacol* 25, 307-308.
 - 8) Haffner, F. (1929) : Experimentelle Prüfung schmerzstellender Mittel. *Dtsch Med Wochenschr* 55, 731-733.
 - 9) 金井 泉, 金井正光 (1978) : 血液一般検査法, 臨床検査法提要Ⅵ. p. 83. 金原出版, 東京.
 - 10) 川崎洋助 (1957) : 電撃けいれんによる抗てんかん薬の研究. *米子医学雑誌* 8, 234-258.
 - 11) Lewis, H. A. and Bacher, N. M. (1984). Verapamil and depression. *Am J Psychiatry* 141, 613.
 - 12) Meyer, F. B., Anderson, R. E. and Sundt Jr., T. M. (1990). The novel dihydropyridine Ca²⁺ channel blocker CI-951 improves CBF, brain pHi, and EEG recovery in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 10, 97-103.
 - 13) 日本ケミファ資料 (1988), NC-1500の概要.
 - 14) Overweg, J., Binnie, C. D., Meijer, J. W. A., Meinardi, H., Nuijten, S. T. M., Schmaltz, S. and Wauquier, A. (1984). Double-blind placebo-controlled trial of flunarizine as add-on therapy in epilepsy. *Epilepsia* 25, 217-222.
 - 15) Pollack, M. H. and Rosenbaum, J. F. (1987). Verapamil in the treatment of recurrent unipolar depression. *Biol Psychiatry* 22, 779-782.
 - 16) Sawyer, C. H., Everett, J. W. and Green, J. D. (1954). The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J Comp Neurol* 101, 801-824.
 - 17) 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.
 - 18) 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.
 - 19) Woodbury, L. A. and Davenport, V. D. (1929) : 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.