

## Sulfamethoxazole と Trimethoprim の研究 Sulfamethoxazole, Trimethoprim およびその混合物の薬理作用について (第1報)

山本研一・広瀬勝己・永業正美・城山博邦・内藤行雄  
塩野義製薬株式会社研究所

### はじめに

Trimethoprim (2, 4-diamino-5-(3, 4, 5-trimethoxybenzyl)-pyrimidine) はバクテリアの dihydrofolate reductase に対する阻害作用により, それ自身抗菌作用を示す化合物であるが, さらに sulfonamide potentiator と呼ばれるようにサルファ剤と併用するとその効果は著しく増強される (BUSHBY & HITCHINGS, 1968; BÖHNI, 1969; ALLISON *et al.* 1969)。すなわち, trimethoprim (以下 TMP と略記) は臨的に sulfamethoxazole (5-methyl-3-sulfanilamido-isoxazole, 以下 SMX と略記) と 1:5 の割合で混合 (以下 SMX-TMP と略記) 経口投与されるが, 各種の細菌感染症の治療効果では両者の相乗作用が認められている (HUGHES, 1969; GARROD, 1971)。

一方, TMP あるいは SMX に関する薬理作用は毒性試験 (BUSHBY & HITCHINGS, 1968; AVIADO *et al.* 1969), 呼吸一循環系への影響 (MATSUO *et al.* 1970), 吸収, 排泄, 代謝を主とした生化学, あるいはまれに現われる頭痛, めまい, 無気力感など副作用的立場からみた中枢作用 (GARROD, 1971) が報告されているにすぎない。

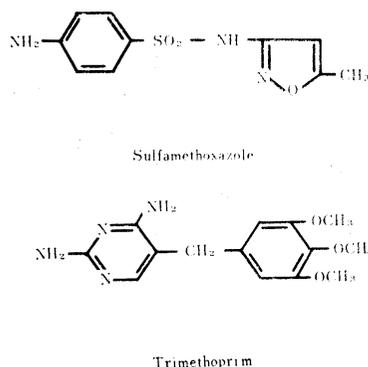
本論文は SMX, TMP および SMX-TMP の中枢作用を動物の行動ならびに脳波により検討したものであり, 第2報では循環一呼吸系におよぼす影響, 第3報ではその他の薬理作用について報告する。

### 実験化合物

Trimethoprim (TMP) は化学名を 2, 4-diamino-5-(3, 4, 5-trimethoxybenzyl)-pyrimidine と呼ぶ白色の結晶性粉末で融点 199~203°C, 25°C における溶解度は水 (0.04 g/100 ml, pH 7.5~8.5), 無水エタノール (0.35 g/100 ml), エーテル (0.003 g/100 ml), クロロフォルム (1.82 g/ml), メタノール (1.21 g/100 ml) である。

Sulfamethoxazole (SMX) は化学名を 5-methyl-3-sulfanilamido-isoxazole と呼ぶ白色単斜晶形の微粉末で融点 168~172°C, 溶解度は水 (0.03 g/100 ml, pH 4.9), 無水エタノール (2.0 g/100 ml), エーテル (0.1 g/100 ml), クロロフォルム (<0.1 g/100 ml) である。化学構造式を図1に示す。

図1 Chemical structure of sulfamethoxazole and trimethoprim



### 実験方法

1. 一般作用: 体重 16~21 g の DS 系雄性マウスならびに体重 2.7~3.8 kg の雌雄のネコに各薬物を経口投与, 以後 24 時間までの一般症状をマウスは IRWIN の check list (IRWIN, 1964) に, ネコは山本らの方法 (1969) にしたがって観察をおこなった。なお以下に述べるマウスの実験では, すべてこの規格の動物を使用した。
2. 急性毒性: 1 群 10 匹のマウスに各薬物を経口投与し 72 時間後の致死率を求め Bliss 法 (Bliss, 1938) により LD<sub>50</sub> を算出した。
3. 懸垂: COURVOISIOR *et al.* (1957) の方法にしたがい直径 1 mm の針金を高さ 30 cm の空間に水平に張り渡した装置を使用した。マウスに両前肢で針金を把握懸垂せしめると正常動物では直ちに後肢を針金に掛け四肢で針金をしっかりと握つてしまう。薬物が投与され懸垂力の減退をきたした動物は前肢で針金を握りぶら下つたまま後肢を針金に掛けることができない。1 群 10 匹のマウスに薬物を経口投与 30 分後に 1 分間隔で懸垂を 3 回おこなわせ 3 回とも 10 秒以内に後肢を針金に掛けることができなかったら有効, 1 回でも後肢が針金をとらえた場合は無効と判定, up and down 法 (BROWNLEE *et al.* 1953) により ED<sub>50</sub> を算出した。
4. 回転棒: DUNHAM & MIYA (1957) の装置を使用した。マウスを毎分 5 回の速度で回転している直径 3

cm の木製円筒上に回転方向と逆向きにのせ、5分間訓練をおこない3分以上棒上にとどまることのできた動物を選び1群10匹とした。薬物を経口投与し30分後に各動物を回転棒上へのせ、2分以内に落下したものを有効と判定、up and down 法により ED<sub>50</sub> を算出した。

5. 立直り反射：マウスの頸部と尾の基部をつかみ腹部を上にして水平仰臥の体位をとらせ30cmの高さから実験台上に落下させる。正常マウスは空中で反転して着床するが(立直り反射 righting reflex, TURNER, 1965), 薬物により反射機能が低下ないし消失すると異常な体姿(on side, on back, sluggish righting, no righting)で着床するようになる。これを有効と判定した。1群10匹のマウスに薬物を経口投与、30分後に実験をおこない up and down 法により ED<sub>50</sub> を算出した。

6. 自発運動：Photocell technique (WINTER & FLATAKER, 1951; DEWS, 1953) を用いて実験をおこなった。本装置は直径 32 cm, 高さ 30 cm の円筒形容器の底に赤外フィルターを通過した6本の光束が格子状に通るように配置され、その光束はそれぞれ受光部の phototransister に接受されている。

マウスが容器内を移動することにより光束が遮断されると phototransister に電位差を生じ、この電気的变化は変換増幅されてマウスが各光束を遮断することに数字として自動的に印字記録される。マウスに薬物を投与、30分経過後に1匹ずつ装置内に入れ、以後10分間の光束遮断回数を測定し6例についての遮断回数をあらかじめ求められた管理限界(3シグマ法)に照合、その下方限界値より低い場合を有効、高い場合を無効と判定し up and down 法により ED<sub>50</sub> を求めた。

7. 強化麻酔作用：マウスに thiopental-Na 35 mg/kg を静脈注射すると GIRNDT (1932) の麻酔深度測定法における深度4度以上の深麻酔体姿を2~4分間とる。この時角膜反射は減少ないし消失、動物は頸部を正常に保持できず側位をとる。

深麻酔時間はこの側位の体位から反転して腹位にもどるまでの時間を示す。1群10匹の動物に薬物を経口投与、30分後に thiopental-Na を静脈注射して深麻酔時間の延長効果を測定し、これが10分以上持続した場合を有効と判定した。

#### 8. 鎮痛作用

a. Stretching 法：1群10匹のマウスを使用、SIEGMUND *et al.* (1957) の writhing test にもとずいて実験をおこなった。薬物を経口投与、30分後に0.02% phenylquinone 溶液を0.2 ml/10 g の割合で腹腔内に投与、以後15分間観察をおこない stretching をまったく示さなかつた場合を鎮痛作用有効、1回でも認めら

れた場合を無効と判定、up and down 法により ED<sub>50</sub> を算出した。

b. HAFNER 変法：1群10匹のマウスを使用 HAFNER の方法(HAFNER, 1929)を多少変えて実験をおこなった。動物に薬物を経口投与し、同時に morphine 3.5 mg/kg (ED<sub>0-10</sub> に相当)を皮下注射した。30分後に動物の尾の基部を鉗子で挟み一定の強さの圧刺激を与え、反応(鳴叫、鉗子の方をふりむく、鉗子に噛みつく)がまったく現われない場合を有効、現われた場合を無効と判定、BLISS法により ED<sub>50</sub> を求めた。

9. 体温に対する作用：23±1°C に調整された恒温室でマウスの直腸温をサーミスター検温計で測定した。動物は1群8匹とし薬物の経口投与後時間を追って測定をおこない生理食塩水を投与した対照群との差を求めた。

#### 10. 抗痙攣作用

a. 抗電撃痙攣作用：WOODBURY & DAVENPORT (1952) の装置を用い荒木、田中(1967)の方法を参照して実験をおこなった。2つの円形棒状金属を両眼の距離だけ離して絶縁材料により固定した角膜電極の先端はマウスの眼球大で表面が多少凹んでいる。左手でマウスを保持し、生理食塩水を両眼にたらした後、固定してある電極に近づけてこれに密着させ50 mA, 0.2秒の最大電撃痙攣を与えた。これにより正常動物では屈曲強直痙攣、伸展痙攣、間代性痙攣の順序に痙攣が進行するが薬物投与30分後に強直伸展性痙攣 tonic extensor を示さなかつた例を有効と判定した。

b. 抗 pentetrazol 痙攣作用：pentetrazol (pentylentetrazol, metrazol) 125 mg/kg をマウスに皮下注射すると投与30分経過後に強直伸展性痙攣を発現、死亡する。1群10匹の動物に薬物を経口投与、30分後に pentetrazol を注射、以後3時間の観察において死亡しなかつた場合を有効と判定した (GOODMAN *et al.* 1953)。

11. 条件反射：体重 300~400g の Wistar 系雄性ラットを用い SIDMAN avoidance の実験 (SIDMAN, 1953, 1955) をおこなった。SKINNER 型実験箱は床格子から一定条件の電撃 (70-100 V, DC, 持続 0.2 秒, 間隔 15 秒) が与えられるように設定されているがラットは箱内側壁にとりつけられた一本のペダルを押すことにより、その後 15 秒間電撃を回避することができる。本装置により 1 日 3 時間ずつ約 10 日間連続学習をおこない電撃回避率が 80% 以上に達したラットを選び薬物投与前 2~3 時間の回避率を対照に薬物投与後の作用と比較、回避抑制率を求めた。

#### 12. 脳波

a. 慢性電極うえこみネコ：体重 2.6~3.5kg の雌

雄のネコ12匹を使用、山本らの方法(1969)にしたがい慢性電極うえこみ手術をおこなった。すなわち、pento-barbital-Na 40 mg/kg 腹腔内注射麻酔下にネコを東大脳研型脳定位固定装置に固定、新皮質感覚運動野(Ant. Sig.)には先端直径1 mmの銀玉電極を極間距離3 mmとして硬脳膜上におき、視床正中核(CM)、外側膝状体(GL)、扁桃核(AMY)、海馬(HIP)には先端を残してカシュー塗料により絶縁した直径0.22 mmの不銹鋼針金を極間距離0.4 mmの双極電極として定位的に挿入、CANNON plugにハンダづけしたあと歯科用セメントにより頭蓋骨に固定した。脳波を主とするポリグラムは脳波、心電図、頸部筋電図および呼吸運動曲線により構成される。

b. 脳波的睡眠図：実験は少なくとも術後2週間以上を経過し手術侵襲からの回復をまつておこなった。ポリグラフの記録は時間を定めて1日8時間(10~18時)連続的におこなう。静穏な環境下で自由に行動できる無麻酔、無拘束ネコは覚醒期(wakefulness, 以下AW)、徐波睡眠(slow wave sleep, 以下SWS)および速波睡眠(fast wave sleep, 以下FWS)の主な3つの脳波水準を周期的にくり返す。これを連続的にグラフ化したものが脳波的睡眠図である。これに対する薬物の作用を検討した。

13. 薬物の投与方法：TMP, SMX および SMX-TMPの小動物における投与量は250~1000 mg/kgとした。またヒトにおけるSMX-TMPの1回の投与量(SMX800 mg+TMP 160 mg)は成人の体重を50~60 kgとして換算すると(SMX 15 mg+TMX 3 mg)/kgとなるので、ネコにおける投与量をヒトのその約3, 10, 25, 50倍量と定めた。またTMP および SMX 単独の投与量はSMX-TMPの示した実験結果から、その25倍量中に含まれる用量を用いた(表1)。各薬物は半量のアラビアゴムと水を加えて乳剤とし経口的に投与した。また同一量のアラビアゴムを同様の方法で乳剤として投与したものを対照とした。ネコは経口投与に先立ち18時間以上

表1 The dosage of sulfamethoxazole (SMX), trimethoprim (TMP) and their mixture (SMX-TMP) in cat

| SMX-TMP (mg/kg) | SMX (mg/kg) | TMP (mg/kg) | Against human dosage |
|-----------------|-------------|-------------|----------------------|
| 60              | 50          | 10          | × 3                  |
| 180             | 150         | 30          | × 10                 |
| 420             | 350         | 70          | × 25                 |
| 900             | 750         | 150         | × 50                 |
|                 | 350         |             | × 25                 |
|                 |             | 70          | × 25                 |

の絶食をおこなった。また薬物の投与は実験日の違いや個体差を少なくするため実験日間隔10日の交叉実験計画にもとづいておこなった。

#### 1. 一般症状

a. マウス：SMX-TMP 3000 mg/kgの投与では自発運動の減少、姿勢異常、筋緊張の増大などがわずかに認められた。6000~9000 mg/kgの投与では15分経過後までは軽度の姿勢異常、自発運動の減少が認められるにすぎないが、投与後30~60分になると中等度の自発運動抑制、敏捷性の低下、姿勢異常、軽度の筋緊張増大および体温下降作用が認められ、さらに投与後60分を過ぎると敏捷性の低下、自発運動抑制、姿勢異常はさらに著しくなり強い歩行異常、体温下降作用を来とし、つづいて振顫、間代性痙攣を発現、投与後90~180分には痙攣発作下に死亡した。

TMP 3000~6000 mg/kgの投与では敏捷性低下、自発運動の減少、姿勢異常、歩行障害、体温下降および筋弛緩様症状が現われた。しかし、これらの症状は投与後60~150分頃を頂点に回復に向い、筋緊張は逆に上昇し散瞳作用が認められた。また歩行時には軽度の振顫を伴うことがある。9000 mg/kgの投与では10分経過後より著明な筋弛緩作用が現われ、その結果運動不能におち入り呼吸抑制が著しくなり120分後には死亡した。

SMXは2000 mg/kgの投与において軽度の自発運動減少、敏捷性低下および歩行障害を招来する。4000~6000 mg/kgでは投与30~60分後に著明な敏捷性低下、自発運動の減少、姿勢異常、歩行異常、体温下降作用が現われた。これらの症状に加えて次第に筋緊張が高まり軽度ではあるが間代性痙攣が現われた。投与後70~90分になると間代性痙攣について強直性痙攣が現われ死亡した。

b. ネコ：SMX-TMP 180~420 mg/kgでは投与直後から数分間泡状の流涎が認められ、その後2~3時間のあいだ主として坐位ないし腹位をとり、眼を開いたまま鎮静状態を示す。8時間の観察中食欲は全例でまったく抑制され5例中1例では24時間後にも回復しなかつた。その他の行動には著変が認められなかつた。900 mg/kgでは投与後数分間同様の流涎が認められた。投与後40~50分頃から各例に嘔吐が発現し、1例では24時間後にも現われた。ネコは8時間の観察中主として腹位をとり覚醒ないしまどろみの状態にあるが深睡眠体姿をとるには至らない。鎮静状態は2~3日後までつづいた。

食欲の抑制も2~3日間持続し、また呼吸運動の促進を認めた例もあるが、その他の行動には著変が認められなかつた。

TMP 70mg/kgを投与すると直後から著明な泡状の

流涎が認められ、その後ネコは主として腹位をとり眼を開いたまま鎮静状態を示した。投与当日の食欲は1例を除きまったく消失した。また4例中2例に心搏動と呼吸運動の軽度の促進が現われたが他の行動には著変が認められなかった。

SMX 350 mg/kg の投与後ネコは対照と同様に睡眠体姿をとり安定した睡眠を続けた。しかし、食欲は投与当日まったく抑制された。その他の行動には著変が認められなかった。

## 2. 急性毒性

各薬物をマウスに経口投与し、72時間後における致死率から急性毒性 (LD<sub>50</sub>) を求めると、SMX-TMP 5513 mg/kg, TMP 7000 mg/kg, SMX 3662 mg/kg となり SMX の毒性が最も大であり TMP のそれは最も小さい。

## 3. 懸垂

マウスの懸垂作用に対して SMX-TMP, TMP および SMX は 1000 mg/kg の投与によつても抑制作用が認められなかった。

## 4. 回転棒

マウスの回転棒による協調運動に対して SMX-TMP, TMP および SMX は 1000 mg/kg の投与によつても抑制作用が認められなかった。

## 5. 立直り反射

マウスの立直り反射に対して SMX-TMP, TMP および SMX は 1000 mg/kg の投与によつても抑制作用が認められなかった。

## 6. 自発運動

マウスの自発運動に対して、SMX-TMP および SMX は 1000 mg/kg の投与量において生理食塩水を投与した対照群と同傾向の作用を示し、両者の間に差は認められない。一方、TMP 1000 mg/kg を投与すると自発運動は明らかに抑制された。しかし、TMP の投与量を

500 mg/kg に減じると対照との間に差は認められなくなる (図2)。

## 7. 強化麻酔作用

マウスに SMX-TMP, SMX および TMP 各 250 mg/kg を前処置し、30分後に thiopental-Na 35 mg/kg の静脈注射をおこなつたが深麻酔時間に有意の延長は認められなかった。次に各薬物の投与量を 500 mg/kg に増量すると SMX のみが有意 ( $p < 0.01$ ) の強化麻酔作用を示した。各薬物の投与量を 1000 mg/kg に増量すると3薬物ともに有意の強化麻酔作用を示した (表2)。

表2 The potentiated effects of SMX-TMP, SMX and TMP on thiopental-Na anaesthesia in mice

| Compounds | Dose (mg/kg) | No. of animals | Anaesthesia time (sec.)  |
|-----------|--------------|----------------|--------------------------|
| SMX-TMP   | 250          | 10             | 230 ± 21                 |
|           | 500          | 10             | 352 ± 96                 |
|           | 1000         | 10             | 779 ± 125 ( $p < 0.01$ ) |
| SMX       | 250          | 10             | 313 ± 62                 |
|           | 500          | 10             | 507 ± 73 ( $p < 0.01$ )  |
|           | 1000         | 10             | 973 ± 158 ( $p < 0.01$ ) |
| TMP       | 250          | 10             | 178 ± 23.5               |
|           | 500          | 10             | 362 ± 56                 |
|           | 1000         | 10             | 640 ± 116 ( $p < 0.01$ ) |

## 8. 鎮痛作用

a. Stretching 法: マウスに phenylquinone 溶液を投与した際に現われる stretching (腹部伸展運動) に対して、SMX-TMP, SMX および TMP は 1000 mg/kg の投与によつても抑制作用を示さなかつた。

b. HAFFNER 変法: SMX-TMP, SMX および TMP は 1000 mg/kg の投与によつても痛覚反応に対する抑制作用を示さなかつた。

## 9. 体温に対する作用

SMX-TMP は 1000 mg/kg の投与量においては有意の体温下降作用を示さないが、2500 mg/kg の投与では持続的かつ有意の下降作用を示した。

一方、SMX は 1500 mg/kg, TMP は 500 mg/kg の投与によりそれぞれ有意の体温下降作用を示した (表3)。

## 10. 抗痙攣作用

a. 抗電撃痙攣作用: 最大電撃痙攣により惹起されたマウスの強直伸展性痙攣に対して SMX-TMP, SMX および TMP はそれぞれ 1000 mg/kg の投与量においてまったく抑制作用を示さなかつた。

b. 抗 pentetrazol 痙攣作用: Pentetrazol の注射により惹起される強直伸展性痙攣に対して SMX-TMP,

図2 The effects of SMX-TMP, SMX and TMP on spontaneous motor activities in aggregated mice

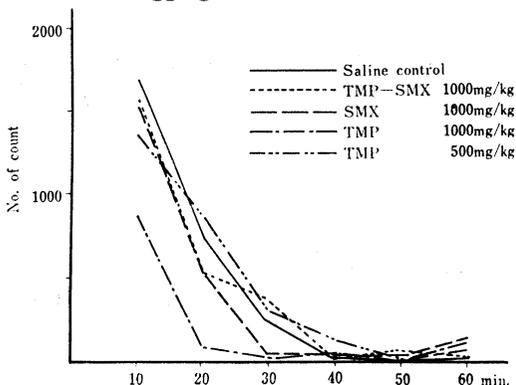


表3 Hypothermic activities of SMX-TMP, SMX and TMP in mice

| Compounds | Dose (mg/kg) | No. of animals | Rectal temperature (°C) |       |       |       |       |
|-----------|--------------|----------------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|
|           |              |                | 30'                     | 60'   | 120'  | 180'  | 240'  |
| SMX-TMP   | 1000         | 8              | -0.57                   | -0.23 | +0.08 | -0.15 |       |
|           | 2500         | 8              | -0.95                   | -1.21 | -1.74 | -1.75 | -1.19 |
| SMX       | 1000         | 8              | -0.51                   | -0.44 | -0.48 | -0.45 |       |
|           | 1500         | 8              | -0.36                   | -0.60 | -1.90 | -0.70 | -1.05 |
| TMP       | 500          | 8              | -1.01                   | -0.38 | -0.21 | +0.37 |       |
|           | 1000         | 8              | -2.06                   | -0.95 | -0.49 | -0.32 |       |

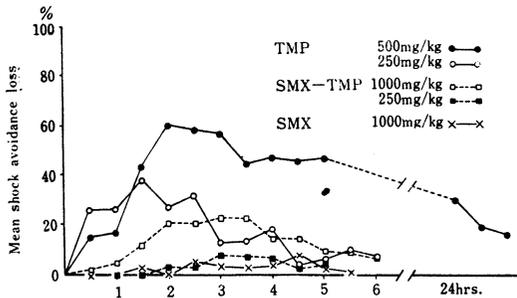
': min.

SMX および TMP は 1000 mg/kg の投与量においてもまったく抑制作用を示さなかつた。

#### 11. 条件反射

SMX-TMP は 250 mg/kg の投与量において条件反応をまったく抑制しない。1000 mg/kg の投与例では軽度の抑制作用が認められ 5~6 時間後に回復した。SMX は 1000 mg/kg の投与によつても条件反応にまったく影響が認められなかつた。TMP は 250 mg/kg の投与量において軽度ないし中等度の条件反応抑制作用を示し 5 時間後にはほぼ回復した。500 mg/kg の投与では中等度ないし強度の条件反応抑制作用が認められ、作用は投与 5 時間後にも著明であり、24 時間後においても多少残存した。TMP 投与動物の行動は鎮静的であり終始ペダルにしがみついていた。運動失調は認められないが電撃に対する感受性は著しく低下した (図 3)。

図 3 The effects of SMX-TMP, SMX and TMP on the nondiscriminated avoidance response in rats



#### 12. 脳波

a. 脳波パターンにおよぼす影響：SMX-TMP (60~900 mg/kg) は投与量が増えるにつれて安静波が多く現われるようになり 900 mg/kg の投与下では数時間持続するがその後は次第に徐波睡眠 (SWS) および速波睡眠 (FWS) が回復した。この間 SMX-TMP 900 mg/kg 投与下の SWS では海馬や扁桃核で徐波成分の減少が認

められたがそれ以下の投与量ではいずれの脳波水準においても脳波パターンに著変が認められなかつた (図 4)。

SMX (350 mg/kg) ではどの脳波水準においても脳波パターンに著変が認められなかつた。

TMP (70 mg/kg) では投与後行動の鎮静作用に対応して安静波が安定して現われた。その後 SWS および FWS の回復をみたがいずれの脳波水準においても脳波パターンに本質的な変化は認められなかつた (図 5)。

b. 脳波的睡眠図におよぼす影響：連続 8 時間記録をおこなった対照脳波を覚醒期 (Aw), SWS および FWS の 3 脳波水準に大別し、使用した全例の平均値を求め 8 時間記録に対する百分率 (pooled control) で現わすと Aw : 40.8 ± 7.9 %, SWS : 44.1 ± 5.0 %, FWS : 15.1 ± 3.6 % となる。

次に SMX-TMP (60~900 mg/kg) を投与したあとの 8 時間記録脳波を同様の方法により解析すると、投与量が増加するにつれて Aw の値が次第に大きくなり 180 mg/kg : 62.1 %, 420 mg/kg : 78.2 %, 900 mg/kg : 80.2 % となった。逆に SWS は投与量の増加に伴い次第に減少し 180 mg/kg : 37.9 %, 420 mg/kg : 21.8 %, 900 mg/kg : 19.8 % となった。ことに FWS は 60 mg/kg の投与ですでに 8.8 % と減少、180 mg/kg 以上の投与では投与当日のそれはまったく抑制されてしまった (図 6)。

睡眠-覚醒周期に有意の変換をもたらした SMX-TMP の投与量 420 mg/kg をえらび、これを構成する SMX : 350 mg/kg, TMP : 70 mg/kg を別々に投与をおこない対照と比較すると SMX 350 mg/kg の投与では Aw : 36.6 %, SWS : 51.1 %, FWS : 12.3 % となり対照とあまり変わらない。ところが TMP 70 mg/kg の投与では Aw : 63.1 %, SWS : 36.3 %, FWS : 0.6 % となり Aw の増加、SWS および FWS の減少が著しくなつた (図 7)。このことから SMX-TMP 投与後にみられる睡眠-覚醒周期の変換は主として TMP に依存するものと推

図4 EEG patterns before and after oral administration of 900 mg/kg of SMX-TMP in a chronic cat

Note a decrease of slow wave components in the Amygdala and the Hippocampus at 9 H 25 M.

L. ANY : Amygdala, L.HIP : Hippocampus,  
L.ANT.SIG. : Anterior sigmoid gyrus, L.GL : Lateral geniculate body  
ECG : EKG(11), EMG : Electromyogram at the posterior neck muscle,  
RESP : Respiratory movement

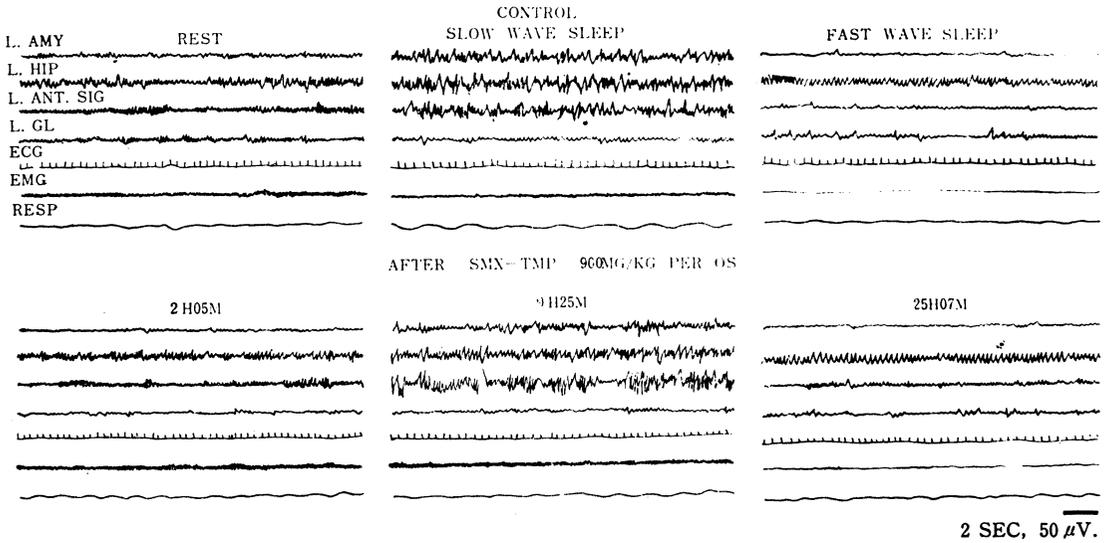
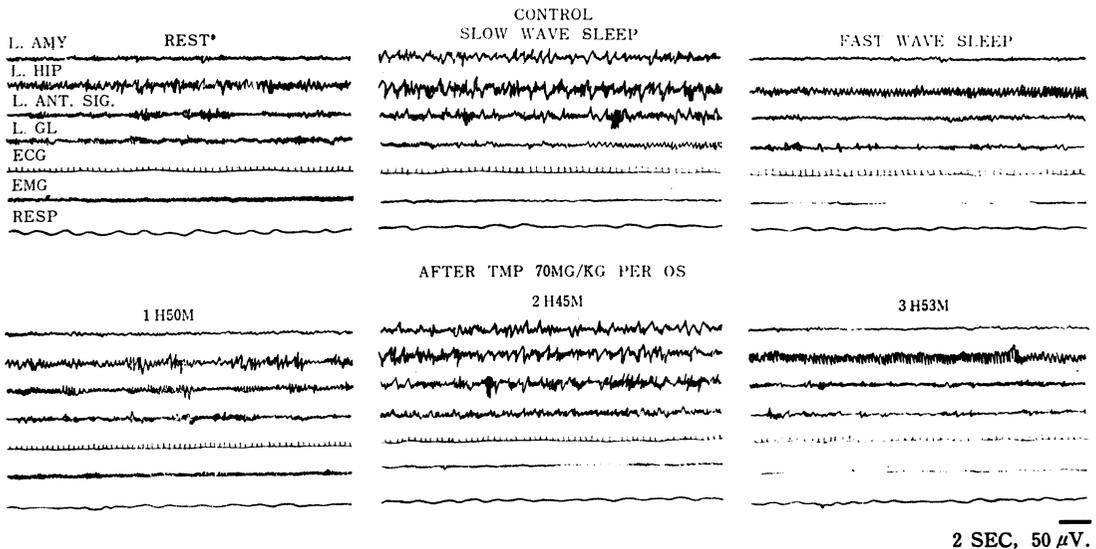


図5 EEG patterns before and after oral administration of 70 mg/kg of TMP in a chronic cat  
No essential differences of EEG patterns are observed after the administration.



定される。

考 察

臨床的に SMX と TMP の合剤(SMX-TMP)は 5:1 の重量比で混合投与され、各種の細菌感染症に相乗的な治療効果を発揮する。すでに抗マラリア作用を含む各

種の感染症に対する作用機序、作用スペクトルについては多くの報告が寄せられている (AVIADO *et al.* 1969; BÖHNI, 1969)。他方ではその急性毒性、慢性毒性、血液像所見あるいは呼吸一循環系、吸収—代謝—排泄を中心にした薬理作用についてもそれぞれ報告をみるが (

図6 Modification of electroencephalographic sleep-wakefulness cycles caused by SMX-TMP, SMX and TMP in cat

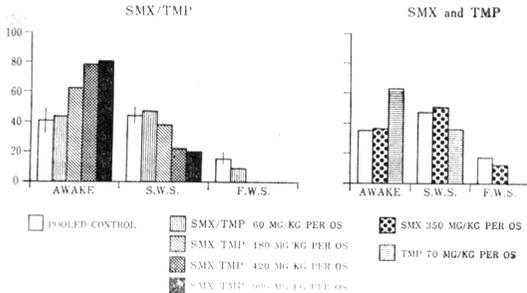
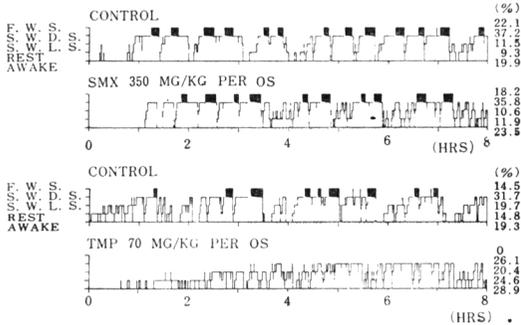


図7 Modification of sleep-wakefulness cycles caused by SMX(above), and TMP(below) in chronic cat.

Note the complete suppression of FWS after TMP.

SWLS : Slow wave light sleep  
SMDS : Slow wave deep sleep



BUSHBY & HITCHINGS, 1968 ; MATSUO *et al.* 1970 ; GARROD, 1971) いずれも主作用と直接的な関係は少ないために大きな注意は払われていない。

かねてから我々は中枢神経系に作用する薬物の作用スペクトルの特徴を動物実験により解析するためにいくつかの screening 法を所持しているが、これは動物の各種の自発性行動を対象にする方法と、動物の中枢神経系に電極を挿入してその活動状態を電気的現象に変換して直接観察する方法の2つに大別することができる。例えば chlorpromazine 型の向精神薬は自発運動、回転棒、懸垂などの動物の体性機能を強く抑制し体温下降作用、制吐作用、抗 adrenaline 作用、条件反射抑制作用などをあわせ有する。また脳学的には中脳網様体、視床下部一大脳辺縁系に強い抑制作用を有することが知られている。一方、benzodiazepine 型の向精神薬は筋弛緩作用、抗痙攣作用および馴化作用を有するが、条件反射については特殊な実験方法(例えば実験神経症、山本ら, 1971)によらないとその特徴を見出しにくいようである。これらの薬物では脳学的に視床下部一海馬と新皮

質に特徴ある作用像がみつめられる(山本ら, 1969)。

さて、これらの screening 法を SMX-TMP に応用するとまず行動では 6000~9000 mg/kg の投与によりマウスの自発運動は抑制され、姿勢異常、敏捷性低下、軽度の筋緊張増大、体温下降などが認められ最終的には痙攣発作を惹起して死亡する。これらの作用像は SMX と TMP を別個に投与して調べた結果、痙攣発作は SMX に由来し、TMP ではむしろ筋弛緩作用による呼吸麻痺が死因と直接的な関係を有することが判明した。一般に SMX-TMP の作用像は SMX のそれと共通点が多いが、SMX-TMP に含まれる SMX の混合比率が TMP よりはるかに多いことから当然であろう。各薬物ともに大量投与下では鎮静作用が現われるが 1000 mg/kg 以下の投与量では自発運動(TMPを除き)、懸垂、回転棒その他の体性機能に有意の抑制作用を来さなかつた。鎮痛作用や抗痙攣作用もまた 1000mg/kg 以下の投与ではみつめられなかつた。morphine に対する強化鎮痛作用、あるいは電撃痙攣および pentetrazol 痙攣に対する作用態度は云うまでもなく中枢神経作用薬の作用型を推定するための有力な手段である(GOODMAN *et al.* 1953 ; 川崎, 1957)。一方、SMX は 1500 mg/kg、SMX-TMP は 2500 mg/kg 以上の大量投与により有意の体温下降作用を示すが、それぞれの 1000 mg/kg 以下の投与量では有意の作用が認められない。もちろん体温下降作用を来すこれらの投与量と臨床的に使用される投与量との間に大きな距りがあることは言うまでもない。体温下降作用や条件反応抑制作用については TMP が SMX あるいは SMX-TMP よりすぐれた作用を示し殊に条件反応抑制作用において著しい。反面、強化麻酔作用については SMX が TMP を上まわる効果を示した。したがって SMX あるいは TMP はこれらの限られた中枢作用に関しては有意の抑制効果を有することがうかがわれる。実際に TMP をヒトに投与すると副作用的中枢作用ではあるが頭痛、目まい、無気力感、感覚異常、精神一神経的障害、悪心、嘔吐などがまれにはあるがみつめられている(GARROD, 1971)。ネコに SMX-TMP 900 mg/kg を投与した際に現われた嘔吐もこの故であろう。

ネコに各薬物を投与すると投与量が増えるにつれて鎮静作用が著しくなるが向精神薬投与時にみられるような特徴のある脳波パタンの変化はみつめられない。わずかに SMX-TMP 900 mg/kg 投与時の徐波睡眠期(SWS)に扁桃核ならびに海馬パタンで棘波ないし徐波成分が減少した程度である。一方、SMX-TMP の投与量が増えるにつれて覚醒期(安静波を主とする)が増加し逆に SWS および FWS は著しく減少する。SMX と TMP を別々に投与するとこれらの脳波水準の変化は主として

TMP に依存することが明らかになった。静穏な環境下で無麻酔、無拘束ネコは覚醒—睡眠の周期を自発性にくりかえすが (circadian rhythm), 24 時間記録脳波中に含まれる Aw, SWS, FWS など主な脳波水準の割合はネコについてほぼ一定の値を示すことが知られている (STERMAN, 1965)。ことに脳内に存在する各種の神経ホルモンの影響を有する薬物に対して SWS ことに FWS は鋭敏に反応して抑制を受ける (HEINEMANN, *et al.* 1968; 山本, 1971)。したがって TMP が本睡眠に対して抑制作用を有することは前述の体温下降作用, 条件反応抑制作用と並んでその明らかな中枢神経抑制作用とみなされる。また同様の作用は SMX ではかなり弱いことがうかがわれる。

### む す び

Trimethoprim [2, 4-diamino-5-(3, 4, 5-trimethoxybenzyl) pyrimidine] <TMP>, sulfamethoxazole (5-methyl-3-sulfanilamido-isoxazole) <SMX> および両者を 1:5 の割合で混合した sulfamethoxazoles-trimethoprim mixture (SMX-TMP) について行動と脳波を指標に中枢作用の解析をおこなった。各薬物はアラビアゴム乳剤として経口的に投与した。

1. SMX-TMP 6000~9000 mg/kg はマウスにおいて自発運動抑制, 敏捷性低下, 運動失調, 姿勢異常などを惹起し動物は間代性痙攣につづく強直性痙攣下に死亡した。SMX は 4000~6000 mg/kg の投与により SMX-TMP とほぼ同様の行動経過を示した。一方, TMP 3000~9000 mg/kg の投与では自発運動抑制, 歩行障害が現われ筋弛緩作用著しく動物は呼吸抑制により死亡した。ネコでは各薬物ともに, ヒトの 25~50 倍量で鎮静作用と食欲抑制が現われ SMX-TMP 900 mg/kg の投与では嘔吐が発現した。

2. 投与後 72 時間におけるマウスの急性毒性 (LD<sub>50</sub>) は SMX-TMP : 5513 mg/kg, TMP : 7000 mg/kg, SMX : 3662 mg/kg である。

3. マウスにおける懸垂, 回転棒, 立直り反射に対していずれの薬物も 1000 mg/kg の投与量においてまったく作用がみとめられない。

4. マウスにおける stretching 法および HAFFNER 変法による鎮痛作用, 電撃痙攣 および pentetrazol 痙攣に対していずれの薬物も 1000 mg/kg の投与量においてまったく作用がみとめられない。

5. いずれの薬物もマウスにおいて体温下降作用がみとめられ TMP が最も著しく SMX および SMX-TMP がこれにつぐ。

6. Thiopental-Na に対する強化麻酔作用は SMX が最も強く SMX-TMP および TMP はほぼ同程度の

作用を示す。

7. ラットにおける非弁別性条件回避反応に対して抑制作用の最も著しいのは TMP で SMX-TMP は軽度, SMX にはほとんど抑制作用がみとめられない。

8. SMX-TMP および TMP は慢性電極うえこみネコの行動を鎮静化せしめ安静波を増加させる。いずれの薬物も本質的パタン変化を招来しないが SMX-TMP 900 mg/kg の投与により徐波睡眠期における海馬および扁桃核の徐波成分は減少する。

9. ネコの睡眠—覚醒周期は SMX-TMP および TMP の投与により著しく変化する。すなわち, 覚醒期の増加, 徐波睡眠期とくに速波睡眠期の著しい抑制がみとめられ, これらの変化は主として TMP に依存するものと推定される。

(本研究はシオノギ, 田辺, 日本ロシュ 3 社共同企画に基づいて実施されたものである。)

### 文 献

- 1) ALLISON, M. E. M.; A. C. KENNEDY, J. MCGEACHIE & G. A. McDONALD: Sulphamethoxazole-trimethoprim therapy in urinary tract infection with reference to its haematological effects. *Scot. Med. J.* 14 : 355~360, 1968
- 2) 荒木泰典, 田中 潔: Nitrazepam の抗痙攣作用。福岡医誌 58 : 1092~1097, 1967
- 3) AVIADO, D. M.; G. SINGH & R. BERKLEY: Pharmacology of new antimalarial drugs sulfonamides and trimethoprim. *Chemotherapy* 14 : 37~53, 1969
- 4) BLISS, C. I.: The determination of the dosage-mortality curve from small numbers. *Quarterly J. and Year Book of Pharmacology* 11 : 192~216, 1938
- 5) BÖHNI, E.: Chemotherapeutic activity of the combination of trimethoprim and sulphamethoxazole in infections of mice. *Postgrad. Med. J.* 45 : 18~21, Suppl., 1969
- 6) BROWNLEE, K. A.; J. L. HODGES, Jr. & M. ROSENBLATT: The up and down method with small samples. *J. Am. Stat. Assoc.* 48 : 262~277, 1953
- 7) BUSHBY, S. R. M. & G. H. HITCHINGS: Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. *Br. J. Pharmac. Chemother.* 33 : 72~90, 1968
- 8) COURVOISIER, S.; R. DUCROT & L. JULOU: Nouveaux aspects expérimentaux de l'activité centrale des dérivés de la phénothiazine.

- Psychotropic Drugs 373~391, 1957 Elsevier Pub. Co., Amsterdam
- 9) D'AMOUR, F. E. & D. L. SMITH: A method for determining loss of pain sensation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 72 : 74~79, 1941
  - 10) DEWS, P. B.: The measurement of the influence of drugs on voluntary activity in mice. *Brit. J. Pharmacol.* 8 : 46~48, 1953
  - 11) DUNHAM, N. W. & T. S. MIYA: A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J. Amer. Pharm. Ass.* 46 : 208~209, 1957
  - 12) GARROD, L. P.: Trimethoprim : Its possible place in antibacterial therapy. *Drugs* 1 : 3~53, 1971
  - 13) GIRNDT, O.: Die Ermittlung der Wirkungsstärke von Schlafmitteln mit Hilfe der Körperstell und Labyrinthreflexe. *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.* 164 : 118~157, 1932
  - 14) GOODMAN, L. S.; M. S. GREWAL, W. C. BROWN, & E. A. SWINYARD: Comparison of maximal seizures evoked by pentylenetetrazole (metrazol) and electroshock in mice, and their modification by anticonvulsants. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 108 : 168~176, 1953
  - 15) HAFFNER, F.: Experimentelle Prüfung schmerzstillender Mittel. *Dtsch. Med. Wschr.* 55 : 731, 1929
  - 16) HEINEMANN, H.; A. HARTMANN & V. STRUM: Der Einfluss von Medazepam auf die Schlaf-Wach-Regulation von wachen, un-narkotisierten Katzen. *Arzneimittel-Forsch.* 18 : 1557~1559, 1968
  - 17) HUGHES, D. T. D.: Single-blind comparative trial of trimethoprim-sulphamethoxazole and ampicillin in the treatment of exacerbations of chronic bronchitis. *Brit. med. J. No* 5681 : 470~473, 1969
  - 18) IRWIN, S.: Drug screening and evaluation of new compounds in animals. *Animal and clinical Pharmacologic Techniques in Drug Evaluation*, 36~54, 1964, Year Book Medical Publishers, Chicago.
  - 19) 川崎洋助: 電撃痙攣による抗てんかん薬の研究。米子医誌 8 : 234~258, 1957
  - 20) MATSUO, S.; R. RUIZ, J. SMITH, Jr. & D. M. AVIADO: Cardiopulmonary effects of antimalarial drugs. III. Diaminopyrimidines : trimethoprim (WR 5949) and 5-piperonyl-2, 4-diaminopyrimidine (WR 40, 070). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17 : 130~150, 1970
  - 21) SIDMAN, M.: Avoidance conditioning with brief shock and no exteroceptive warning signal. *Science* 118 : 157~158, 1953
  - 22) SIDMAN, M.: Technique for assessing the effects of drugs on timing behavior. *Science* 122 : 925~926, 1955
  - 23) SIEGMUND, E.; R. CADMUS & G. LU: A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)* 95 : 729~731, 1957
  - 24) STERMAN, M. B.; T. KNAUSS, D. LEHMANN & C. D. CLEMENTE: Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 19 : 509~517, 1965
  - 25) TURNER, R. A.: Screening methods in pharmacology, Academic Press, N.
  - 26) WINTER, C. A. & L. FLATAKER: The effect of cortison, desoxycorticosterone and adrenocorticotrophic hormone upon the responses of animals to analgesic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 103 : 93~105, 1951
  - 27) WOODBURY, L. A. & V. D. DAVENPORT: Design and use of a new electroshock seizure apparatus and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. *Arch. Int. Pharmacodyn.* XC11 : 97-107, 1952
  - 28) 山本研一, 沢田 亨, 内藤行雄, 城戸良之助: Nitrazepam の中枢作用に関する神経薬理学的研究。脳と神経 21 : 488~502, 1969
  - 29) 山本研一: 睡眠の神経薬理。最新医学 26 : 16~34, 1971
  - 30) 山本研一, 木村 易, 内藤行雄, 城戸良之助: ネコにおける conflict-induced behavior の研究。神経進歩 15 : 33~50, 1971

## STUDIES ON SULFAMETHOXAZOLE AND TRIMETHOPRIM

Pharmacological Studies on Sulfamethoxazole,  
Trimethoprim and Their Mixture (I)

KENICHI YAMAMOTO, KATSUMI HIROSE, MASAMI EIGYO,  
HIROKUNI JYOYAMA and YUKIO NAITO  
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Behavioral and electroencephalographic analyses of the central effects of sulfamethoxazole (5-methyl 1-3-sulphanilamido-isoxazole) (SMX), trimethoprim [2, 4-diamino-5-(3, 4, 5-trimethoxy benzyl) pyrimidine] (TMP), and their mixture in a ratio of 5:1 (SMX-TMP) were carried out in animal experiments. Each drug was orally administered in a gum-emulsion.

1. SMX-TMP (6000-9000 mg/kg) caused suppression of somatic behavior in mice *viz*; inhibition of spontaneous locomotor activity, slowing down of movement, and abnormal posture. The animals died under tonic extensor. The behavioral changes caused by 4000-6000 mg/kg of SMX were almost the same as those by SMX-TMP. With 3000-9000 mg/kg of TMP, marked muscle relaxation accompanied by slowing down of movement and abnormal posture was observed. The animals died in respiratory paralysis. In cats, each drug, at doses of 25-50 times the human dosage, caused sedative behavior and inhibition of appetite. Vomiting appeared with 900 mg/kg of SMX-TMP.

2. The LD<sub>50</sub> in mice was as follows: SMX-TMP: 5513 mg/kg, TMP: 7000 mg/kg, SMX: 3662 mg/kg.

3. The grip strength test, rotarod performance test and righting reflex in mice were not influenced by 1000 mg/kg of each drug.

4. Neither drug at a dose of 1000 mg/kg possessed analgesic activity when evaluated by the stretching method and the modified HAFFNER's method, nor anti-convulsive activity on evaluation by the maximal electroshock method and the pentetrazol seizure method in mice.

5. Each drug showed hypothermic activity in mice, the effect of TMP being the most marked.

6. The nondiscriminated avoidance response in rats was remarkably suppressed by TMP and slightly suppressed by SMX-TMP. The effect of SMX on the response was negligibly small.

7. The potentiation of thiopental-Na anaesthesia was the most evident with SMX; the lesser effects of SMX-TMP and TMP were almost the same as each other.

8. SMX-TMP and TMP caused sedate behavior in chronically electrodes-implanted cats and increased the resting pattern for several hours. Even with a large dose of SMX-TMP, no essential changes of EEG pattern were observed in any EEG-leads, except for a slight inhibition of the slow wave components at the amygdala and the hippocampus in the slow wave sleeping state.

9. The sleep-wakefulness cycles of cats were remarkably altered by SMX-TMP and/or TMP, an increase in the waking state, and decrease in the slow and fast wave sleeping states, being observed. These effects were considered to be primarily caused by TMP.