

## DL-8280 の一般薬理作用

小島 浩・広橋正章・桜井武男・笠井義男・明石 章

第一製薬株式会社中央研究所

DL-8280 の薬理的性状を知るため、諸種動物を用いて一般薬理作用を検討した。

1. 中枢神経系；300 mg/kg, p.o. 以上の投与量で行動および症状観察ならびに自発運動において抑制作用を、3 mg/kg, i.v. 以上の投与量で脳波の徐波化を、1,000 mg/kg, p.o. で hexobarbital 麻酔の増強を、100~1,000 mg/kg, p.o. の投与量で鎮痛抗炎症作用を示した。一方、抗痙攣作用はなく、条件回避反応、体温ならびに脊髄反射に対し影響を与えなかった。

2. 呼吸循環器系；無麻酔ラットの血圧、心拍数に作用しなかったが、麻酔イヌにおいて 10 mg/kg, i.v. 以上の投与量で、呼吸数の増加、呼吸振幅の低下、血圧下降、心拍数および左心室内圧は減少し、股動脈血管抵抗は減少したが心筋収縮力は変化しなかった。

3. 自律神経系；瞳孔に対しては無作用であった。10~30 mg/kg, i.v. の投与量で norepinephrine および acetylcholine による血圧反応を抑制したが、交感神経節遮断作用は認められなかった。

4. 平滑筋；摘出回腸ではほとんど作用がなく、 $10^{-3}$  g/ml の濃度で摘出輸精管の norepinephrine による収縮を増強し、摘出気管を収縮させ、非妊娠摘出子宮の自動運動を一過性に亢進させたが、妊娠子宮に対しては無作用であった。腸管輸送能、胃粘膜に対し作用を示さなかったが、3 mg/kg, i.v. 以上の投与量で生体位胃腸管運動を抑制した。胃内容物排出速度は 300 mg/kg, p.o. 以上の投与量で、胃液分泌は 300 mg/kg, i.p. の投与量で抑制された。

5. その他；前脛骨筋の収縮を 30 mg/kg, i.v. の投与量で軽度増強し、300 mg/kg, p.o. 以上の投与量で抗利尿効果を示したが、局所麻酔作用を示さなかった。

DL-8280 は第一製薬研究所において新規に合成されたオキサジン系の合成抗菌剤である。

その化学名は (±)-9-fluoro-2, 3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperaziny)-7-oxo-7H-pyrido [1, 2, 3-de] [1, 4] benzoxazine-6-carboxylic acid であり、グラム陰性のみならず陽性の好気性菌に対しても強い抗菌力を示し<sup>1)</sup>、経口吸収は良好である<sup>2)</sup>。われわれは本剤の薬理的性状を明らかにする目的で以下の実験を行ったので、その成績を報告する。

## I. 実験材料および方法

DL-8280 は静脈内投与、*in vitro* および局所適用の実験では 1/10 N NaOH に溶解し、1/10 N HCl で pH=10 に調整して用いた。経口投与の場合は 0.5% carboxymethylcellulose Na (以下 CMC と略す) に懸濁させて投与した。投与量はマウスでは 0.1 ml/10 g, ラットでは 0.2~0.5 ml/100 g, ウサギでは 1.0~5.0 ml/kg, ネコでは 1.0~2.0 ml/kg, イヌでは 1.0 ml/kg とし、*in vitro* の実験では 0.5 ml/50 ml とした。

## 1. 中枢神経系に対する作用

## 1) 行動および一般症状

体重 22~26 g の STD-ddY 系雄マウスを 1 群 3 匹ずつ用い、検体を経口投与後、IRWIN<sup>3)</sup> の多次元観察法に

従って認知力、気分、運動性、中枢興奮、運動協調性、筋緊張度、反射および自律神経性徴候について観察した。

## 2) 脳波に対する作用

体重 2.5~3.4 kg の雌雄ネコ 4 匹を用いた。Ether で麻酔後、*d*-tubocurarine chloride (1 mg/kg, i.v.) で不動化し、人工呼吸下に、REINOSO<sup>4)</sup> の脳坐標図に従って、前 S 状回 (AS)、シルビウス上回 (SS)、扁桃核 (AMY)、海馬 (HIP) から脳波を誘導記録した (1 A 52 A, 三栄測器)。検体は股静脈内に投与した。

## 3) 自発運動に対する作用

体重 21~26 g の STD-ddY 系雄マウスを wheel cage (岸本医科産業) に入れ、30 分間における回転数が 350 以上 600 未満のものを選別し、1 群 10 匹ずつ用いた。検体を経口投与 1 時間後に、マウスを wheel cage に入れ、10 分間隔で 1 時間後まで累積回転数を記録した。

## 4) 抗痙攣作用

体重 22~27 g の STD-ddY 系雄マウスを 1 群 10 匹ずつ用い、以下の方法で実験した。

## a) 最大電撃痙攣

検体の経口投与 1 時間後にマウスの両眼に銀双極電極

を接触させ、30 mA, 0.2 秒の maximal electroshock (マルコム技研) によって生じる後肢の強直性伸展の発現を観察した。

#### b) 薬物痙攣

検体を経口投与1時間後に strychnine nitrate 2 mg/kg あるいは pentylenetetrazole 150 mg/kg を腹腔内に投与し、痙攣の発現および死亡率を観察した。

#### 5) Hexobarbital 睡眠増強作用

体重 23~26 g の STD-ddY 系雄マウスを1群 10 匹ずつ用い、検体を経口投与1時間後に hexobarbital 70 mg/kg を腹腔内に投与し、正向反射の消失時間を測定した。

#### 6) 痛覚

体重 18~24 g の STD-ddY 系雄マウスを用いた。

#### a) 酢酸 writhing 法

1群 10 匹のマウスを用い、検体を経口投与 30 分後に 0.6% 酢酸水溶液を腹腔内に投与 (0.1 mg/kg) し、その後 5~20 分の 15 分間の writhing 数を測定した。対照群の writhing 数と比較し、その抑制率から  $ED_{50}$  を LITCHFIELD-WILCOXON 法<sup>5)</sup>により算出した。

#### b) 圧刺激法

マウスの尾根部に 10 mmHg/sec の圧を 15 分間隔で 2 回加え、疼痛閾値が 40~100 mmHg の範囲のものを選別し 1群 10 匹ずつ用いた。検体を経口投与後経時的に疼痛閾値を測定した。薬物投与後と投与前の疼痛閾値の比率を鎮痛係数とした。

#### 7) 抗炎症作用

体重 172~180 g の HOS-Donryu 系雄ラットを 1群 7 匹ずつ用い、実験前約 16 時間絶食させ検体および蒸留水 (4 ml/rat) を経口投与1時間後に 1% carrageenan 懸濁生理食塩液 0.1 ml を左足趾皮下に注射し、炎症を惹起させた。足容積は VAN ARMAN 法<sup>6)</sup>の方法により測定し、carrageenan 注射後と注射前との比率から、腫脹率を求めた。

#### 8) 体温

体重 2.1~3.1 kg の日本白色在来種の雄ウサギを 1群 5 匹ずつ用い、首枷式固定器に保定し直腸温をサーミスタ温度計 (MGA 3-219, 日本光電) を用いて測定した。検体は経口ゾンデにより投与した。

#### 9) 条件回避反応

体重 240~276 g の STD-Wistar 系雄ラットを 2 室からなる shuttle box (竹井機器工業) の 1 室に入れ、条件刺激としてブザー音を 3 秒間与えた時、ラットが他室に移動しなければ、無条件刺激として交流 100 V 電撃を床の grid から約 7 秒間与えることによって条件回避訓練を行った。1 日 30 回連続 2 週間の試行において回

避成功率が 80% 以上を示すラット (1 群 6 匹) を選び使用した。検体は経口投与した。

#### 10) 脊髓反射

体重 2.6~3.5 kg 雌雄ネコを 5 匹使用した。Urethane (250 mg/kg, i.p.) および  $\alpha$ -chloralose (50 mg/kg, i.p.) により麻酔後、人工呼吸下に gallamine triethiodide (6 mg/kg, i.v.) により不動化した。L<sub>1</sub>~L<sub>2</sub> の間で脊髓を切断し、L<sub>5</sub>~S<sub>1</sub> にわたる部分に椎弓切除術を施し、L<sub>7</sub> あるいは S<sub>1</sub> の後根を白金双極電極により電気刺激 (矩形波 0.1 Hz, 0.2 msec, supramaximal voltage) し、同側の前根から記録用白金双極電極を介し、単および多シナプス電位を導出記録した。反射性電位はデータ処理用電子計算機 (ATAC-501-10, 日本光電) により 5 回の加算を行い、その波形をレクテコーダー (RJG 3004, 日本光電) 上に頸動脈圧とともに記録した。検体は前腕頭静脈内に投与した。

#### 2. 呼吸循環系に対する作用

##### 1) 無麻酔ラットの血圧、心拍数

体重 164~182 g の STD-Wistar 系雄ラットを計 12 匹用いた。検体を経口投与前および投与後に、W+W 血圧測定器 (8002, W+W Electronic) を用いて非観血的に収縮期血圧および心拍数を測定した。

##### 2) 麻酔イヌにおける呼吸および一般循環動態

体重 8.5~24 kg の雑犬を雌雄の別なく 17 匹用い、pentobarbital Na (30 mg/kg, i.v.) および phenobarbital Na (80 mg/kg, s.c.) で麻酔した。呼吸 (振幅および頻度) は呼吸流量計 (MFP-1 T, 日本光電) により、血圧 (収縮期血圧 SBP, 拡張期血圧 DBP, および平均血圧 MBP) は右股動脈圧を圧トランスジューサー (MPU-05, 日本光電) を介して、心拍数 (HR) は血圧により tachometer (RT-5, 日本光電) を駆動させて、左心室内圧 (LVP) は金属カテーテルを左頸動脈から左心室へ挿入することにより、また左心室内圧最大収縮速度 (LV dp/dt max. syst.) は左心室内圧を微分回路 (RPD-5, 日本光電) を介し、股動脈血流量 (FeBF) は血流計 (RT-500, Narco) を用い、さらに心電図は第 II 誘導によりそれぞれ測定し、これらのパラメーターをポリグラフ (RM-6000, 日本光電) 上に同時記録した。

心筋収縮力 (CC) は左心室内圧および dp/dt 曲線から instantaneous developed pressure (IP) を求め、次式によって算出した。

$$CC [\text{sec}^{-1}] = dp/dt_{\text{max. syst.}}/IP$$

また股動脈血管抵抗 (FeAR) は股動脈血流量と平均血圧の比率から算出した。薬物は股静脈内に投与した。各種拮抗薬に対する相互作用をみる場合、拮抗薬は検体投与前 15 分に静脈内投与した。

## 3. 自律神経系に対する作用

## 1) 瞳孔

体温測定実験〔1-8〕に用いたウサギにおいて同時に瞳孔径を測定した。

## 2) 血圧

体重 10~15 kg の雑犬 8 匹を雌雄の別なく用い、2-2) の場合と同様に麻酔し、人工呼吸下に両側の頸部迷走神経を切断した。検体投与前後における norepinephrine (NE, 1  $\mu$ g/kg, i.v.) および acetylcholine (Ach, 3  $\mu$ g/kg, i.v.) による血圧反応をしらべた。

## 3) 瞬膜

体重 2.0~4.5 kg の雌雄ネコ 7 匹を〔1-10〕の場合と同様に麻酔した。上頸部交感神経の節前および節後線維に白金双極電極をそれぞれ装着し、2 分間隔で 5 秒間交互に電気刺激 (矩形波, 20 Hz, 2 msec, 1~4 V) し生ずる瞬膜の収縮を FD トランスジューサー (BS-1T, 日本光電) を介して股動脈圧とともにポリグラフ (RM-150, 日本光電) 上に記録した。検体は股静脈内に投与した。

## 4. 平滑筋に対する作用

## 1) 摘出回腸

体重 360~425 g の Hartley 系雄モルモット 24 匹を用いた。撲殺後回腸を摘出し、空気の導通下に Magnus 法 (Tyrode 液, 50 ml, 37°C) で実験した。回腸の収縮は等張性トランスジューサーにより、レコーダー (ME-4012, エム・イー・コマーシャル) に記録した。各種 spasmogen に対する拮抗作用をしらべる場合の検体の前処置時間は 1 分とした。

## 2) 摘出輸精管

体重 380~410 g の Hartley 系雄モルモット 6 匹を用い、輸精管を摘出後、〔4-1〕と同様の条件で実験した。

## 3) 摘出気管

体重 316~380 g の Hartley 系雄モルモット 26 匹を用い、気管を摘出し、螺旋標本を作成し、〔4-1〕と同様の条件で実験した。ただし空気の代わりに 95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub> の混合 gas の導通下に実験した。

## 4) 摘出子宮

## a) 非妊娠子宮

体重 230~280 g の Wistar-Imamichi 系雌ラットを用いた。予め陰脂膏像をしらべ、発情期と発情間期の区別をしてから子宮を摘出し、Magnus 法により〔4-1〕と同様の条件で実験した。

## b) 妊娠子宮

体重 390~500 g の Wistar-Imamichi 系雌ラットの妊娠 15~20 日目の子宮を摘出し、自動運動および oxytocin による律動亢進に対する作用を a) と同様の方法で

しらべた。ただし oxytocin による律動亢進に対する実験では、32°C の De Jalone 液を栄養液として用いた。

## 5) 腸管輸送能

体重 20~25 g の STD-ddY 系雄マウスを 1 群 10 匹ずつ使用した。実験前約 18 時間絶食させた。検体を経口投与 1 時間後に charcoal meal (アラビアゴム 5% および活性炭 5% を含有する水性乳剤) を経口投与し、20 分間における腸管内移動率を求めた。

## 6) 胃粘膜

体重 188~280 g の Donryū 系雄ラットを 1 群 10 匹ずつ用いた。ラットは実験前約 24 時間絶食させ、検体を経口投与し、5 時間後に屠殺し胃を摘出した。約 10% のホルマリン溶液に摘出胃を 10~30 分間浸した後、OKABE ら<sup>7)</sup> の判定方法に従って胃内に発生した損傷の長さを計測し、その総和を求めた。

## 7) 胃内容物排出速度

体重 212~266 g の Donryū 系雄ラットを 1 群 8 匹ずつ用いた。ラットを約 24 時間絶食させ、検体を経口投与 1 時間後に phenol red 2 mg/0.4 ml/rat を経口投与し、30 分後に胃内に残存する phenol red を KATO ら<sup>8)</sup> の方法に従って測定し、胃内容物排出速度 (G.E.R.) は次式から求めた。

G.E.R.(%) =

$$\left\{ 1 - \frac{\text{投与 30 分後の胃内の phenol red 量 (mg)}}{\text{投与直後の胃内の phenol red 量 (mg)}} \right\} \times 100$$

## 8) 胃液分泌

体重 202~230 g の HOS-Donryū 系雄ラットを 1 群 8 匹ずつ用いた。ラットは実験前約 24 時間絶食させ、検体を腹腔内投与し、SHAY ら<sup>9)</sup> の方法により幽門結紮ラットを作成した。検体投与後 5 時間に貯留した胃液を採取し、遠心分離後、上澄液の液量、pH、酸度および pepsin 活性 (ANSON ら<sup>10)</sup> の方法) をそれぞれ測定した。

## 9) 胃腸管運動

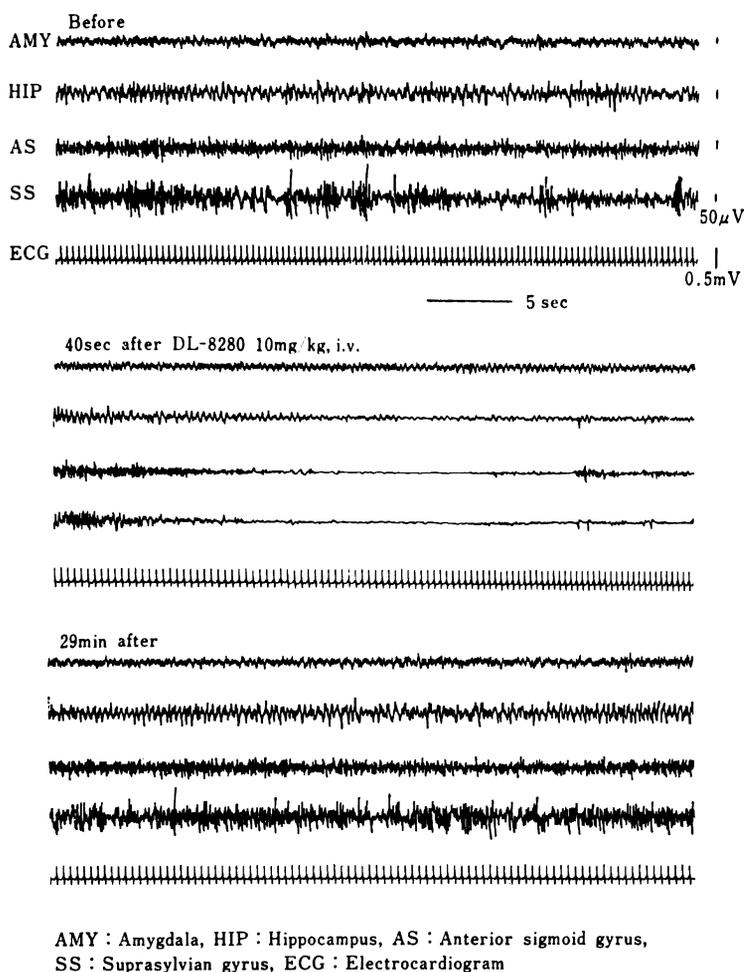
体重 10~11 kg の雌雄雑犬を 5 匹用い、pentobarbital Na (30 mg/kg, i.v.) で麻酔し、人工呼吸下で実験した。胃幽門部および空腸部にそれぞれ水を充滿した balloon を挿入し、自動運動によって生じる balloon 内圧の変化を低圧型トランスジューサー (LPU-0.1, 日本光電) を介して頸動脈圧とともにポリグラフ (RM-6000, 日本光電) 上に記録した。検体は股静脈内に投与した。

## 5. その他の作用

## 1) 前脛骨筋

体重 2.3~3.2 kg の日本白色在来種の雄ウサギ 6 匹を用いた。Urethane (1.5 g/kg, s.c.) により麻酔後、腓骨神経および前脛骨筋を露出後、腓骨神経を電気刺激 (矩型波, 0.1 Hz, 1 msec, supramaximal voltage) あるいは

Fig. 1 Effect of DL-8280 on spontaneous EEG in the cat



前脛骨筋を直接電気刺激（矩型波，0.1 Hz，50 msec，supramaximal voltage）し，それによって生じる前脛骨筋の収縮をFDトランスジューサーを介して頸動脈圧とともにポリグラフ（RM-85，日本光電）上に記録した。検体は股静脈内に投与した。

## 2) 腎機能に対する作用

体重186~207 gのSTD-Wistar系雄ラットを1群10匹ずつ使用し，ラットは実験前約18時間絶食させ，また2時間前から絶水させた。ラットに生理食塩液25 ml/kgを経口負荷し，直ちに検体を経口投与した。検体投与後5時間までの排尿量を累積測定し，尿中のNa<sup>+</sup>およびK<sup>+</sup>はatomic absorption spectrophotometer（Coming Flame Photometer 430）によって，Cl<sup>-</sup>はchloride counter（Hiranuma CL-5 S）によってそれぞれ定量した。

## 3) 局所麻酔

体重390~502 gのHartley系雄モルモットを1群6匹ずつ用いた。予め角膜中央部を1/4注射針用マンドリン線で刺激し，瞬目反射を常に起こすモルモットを選んで使用した。検液を1/4注射針を用いて左目に3滴点眼し，右目には溶媒のみを同様に点眼し，点眼後，経時的に瞬目反射をしらべた。

## 6. 統計的処理

STUDENTのt-testあるいは一元配置およびDUNNETTの多量比較<sup>11)</sup>により行った。

## II. 実験結果

### 1. 中枢神経系に対する作用

#### 1) 行動および一般症状

DL-8280の100 mg/kg, p. o. 以下の投与量では，マウスの行動および一般症状にまったく変化を生じなかった

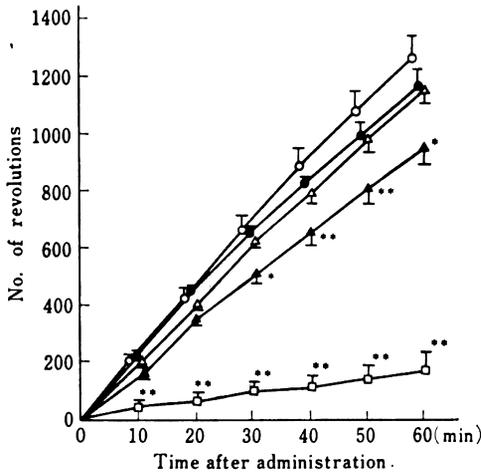
Table 1 Effect of DL-8280 on hexobarbital-induced sleeping time in mice

Drug	Dose (mg/kg, p. o.)	Sleeping time (min)
Control	0	33.81 ± 1.60 <sup>a)</sup>
DL-8280	100	36.88 ± 2.10
	300	34.84 ± 2.33
	1000	51.89 ± 4.42 <sup>**</sup>

<sup>a)</sup> Mean ± standard error of 10 animals

<sup>\*\*</sup> p < 0.01 : Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

Fig. 2 Effect of DL-8280 on spontaneous motor activity in mice



Each point is the mean of individual groups of 10 animals and vertical lines represent the standard error.

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01 : Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

○—○ Control, ●—● 30 mg/kg, p. o.,  
 ▲—▲ 100 mg/kg, p. o., ■—■ 300 mg/kg, p. o.,  
 □—□ 1,000 mg/kg, p. o.

が、300 mg/kg では軽度の身づくろいおよび自発運動の低下が、1,000 mg/kg では意識、身づくろい、運動活性ならびに姿勢などの抑制がみられ、軽度のトレマーおよび体温下降がみられた。これらの症状は投与後20分以内に発現し、約2時間持続した。

## 2) 脳波に対する作用

DL-8280 の 3 mg/kg 以下の静脈内投与によっては脳波はほとんど影響を受けなかった。10 mg/kg の投与では、Fig. 1 に示すように投与後約 40 秒から全誘導脳波とくに新皮質脳波の振幅は低下し、周波数も低下という

中枢抑制のパターンを示した。血圧はこの変化とほぼ同期して約 60 mmHg 下降した。30 mg/kg の静脈内投与では上記と同様の変化がより強くみられた。

## 3) 自発運動

Fig. 2 に示すように、DL-8280 の 100 mg/kg の経口投与では自発運動にまったく影響を与えなかったが、300 mg/kg 投与では 30 分から 60 分後まで対照群にくらべて有意の減少を示した。また 1,000 mg/kg では投与後 10 分から著明な抑制を示した。

## 4) 抗痙攣作用

DL-8280 は 1,000 mg/kg, p. o. の投与で最大電撃痙攣および pentylenetetrazole ならびに strychnine による痙攣に対し、まったく作用を示さなかった。

## 5) Hexobarbital 睡眠増強作用

DL-8280 は 300 mg/kg, p. o. の用量まで作用を示さなかったが、1,000 mg/kg 投与で麻酔時間の有意の延長を示した (Table 1)。

## 6) 痛覚

### a) 酢酸 writhing 法

DL-8280 の 100 mg/kg, p. o. 以上の投与で用量依存性の writhing 数の抑制がみられ、その ED<sub>50</sub> 値は 138 mg/kg であった (Table 2)。

### b) 圧刺激法

Fig. 3 に示すように、DL-8280 の 300 および 1,000 mg/kg, p. o. 投与により鎮痛係数は軽度であるが有意の上昇を示した。

## 7) 抗炎症作用

DL-8280 の 300 mg/kg, p. o. 以下の投与量では作用はなかったが、1,000 mg/kg, p. o. により軽度であるが有意の浮腫抑制作用を示した (Fig. 4)。

## 8) 体温

DL-8280 の 100, 300 ならびに 1,000 mg/kg を経口投与したが、体温の変化は溶媒投与対照群のそれと有意の差を示さなかった。

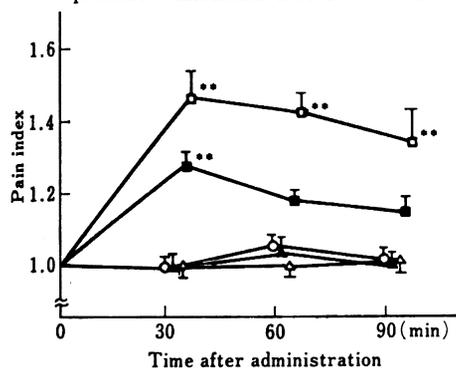
Table 2 Effect of DL-8280 on writhing syndrome induced by acetic acid in mice

Drug	Dose (mg/kg, p. o.)	No. of writhing	% Inhibition	Analgesic effect (%)	ED <sub>50</sub> (mg/kg) (95% fiducial limit)
Control	0	43.7 ± 2.3 <sup>1)</sup>			
DL-8280	30	36.6 ± 2.8	16.3 ± 6.42	10	138 (78.4~242.9)
	100	32.8 ± 2.8*	24.9 ± 6.36	20	
	300	17.1 ± 4.4**	60.9 ± 10.08	70	
	1,000	0.1 ± 0.10**	99.8 ± 0.23	100	

<sup>1)</sup> Mean ± standard error of 10 animals

\*p<0.05, \*\*p<0.01: Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

Fig. 3 Analgesic effect of DL-8280 by means of pressure stimulation method in mice



Each point and vertical bar represent the mean ± standard error of 10 animals.

\*\*p<0.01: Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

○—○ Control, ▲—▲ 30 mg/kg, p. o.,  
△—△ 100 mg/kg, p. o., ■—■ 300 mg/kg, p. o.,  
□—□ 1,000 mg/kg, p. o.

#### 9) 条件回避反応

DL-8280 の 1,000 mg/kg, p. o. 投与においても、その回避率は 80~90% と高く、条件回避反応に対する作用は認められなかった。

#### 10) 脊髓反射

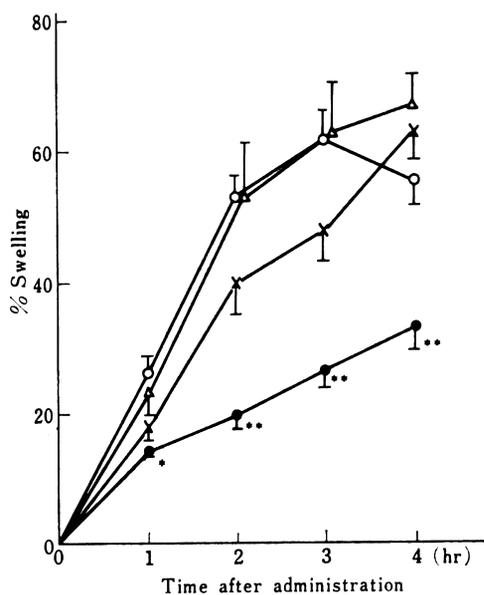
DL-8280 の 3 mg/kg, i. v. 投与では単および多シナップス反射に対し、ほとんど影響をおよぼさなかった。10 mg/kg, i. v. では 5 例中 2 例が投与直後から著しい血圧下降の後死亡した。残りの 3 例では、血圧の下降に伴い、反射性電位は若干減少の傾向を示したが (Fig. 5)、溶媒投与対照群と有意差を示さなかった。

#### 2. 呼吸循環器系に対する作用

##### 1) 無麻酔ラットの血圧、心拍数

DL-8280 の 1,000 mg/kg の経口投与によっても、収

Fig. 4 Effect of DL-8280 on carrageenan-induced hind paw edema in rats



Each point and vertical bar represent the mean ± standard error of 7 animals.

\*p<0.05, \*\*p<0.01: Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

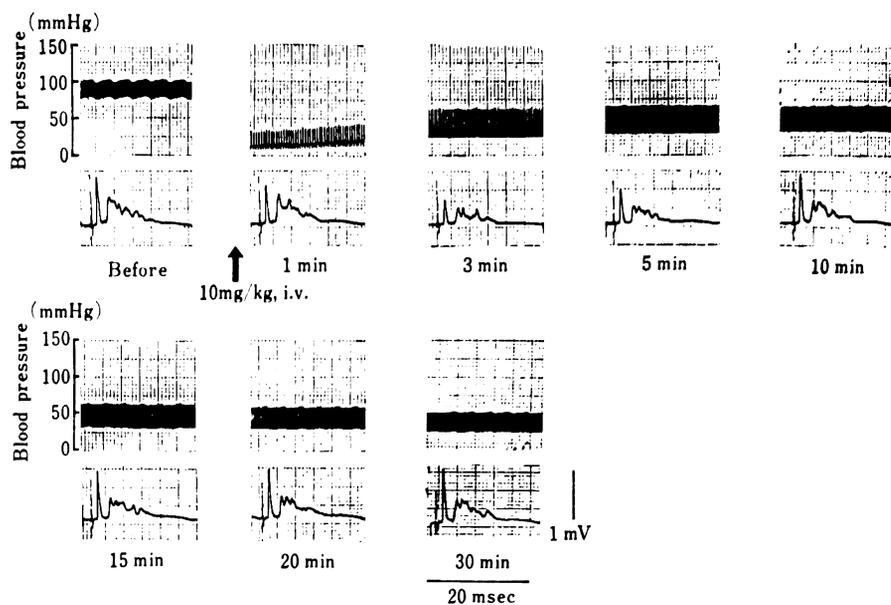
○—○ Control, △—△ 100 mg/kg, p. o.,  
×—× 300 mg/kg, p. o., ●—● 1,000 mg/kg, p. o.

縮期血圧および心拍数は投与後 6 時間まで、まったく変化はみられなかった。

##### 2) 麻酔イヌにおける呼吸および一般循環動態

DL-8280 を 3, 10 および 30 mg/kg を静脈内投与した時の各測定諸項目の経時的変化を Fig. 6 に示す。すなわち、3 mg/kg 投与においては、一過性の股動脈血流量の増加および軽度の呼吸数の増加以外とくに大きな変化

Fig. 5 Effect of DL-8280 on spinal reflex in the cat



はみられなかった。しかし 10 mg/kg では呼吸数の増加、呼吸振幅の軽度低下および収縮期、拡張期ならびに平均血圧の有意の下降がみられたが、30分後には回復した。また左心室内圧は軽度だが有意に減少し、末梢抵抗も有意に減少した。さらに 30 mg/kg では、これらの変化はさらに強くなり、上記の変化のほか、心拍数および LV dp/dt max. syst. の低下がみられたが、心筋収縮力には変化はみられなかった。心電図は 10 mg/kg までは変化はなく、30 mg/kg で 3/6 例に T 波の増高が、2/6 例で T 波の減高がみられ、一定の傾向を示さなかった。

また DL-8280 10 mg/kg を静脈内に急速に投与したところ、約 110 mmHg の血圧下降がみられ、2/5 例が死亡した。また 10 mg/kg の静脈内投与を 1 時間以上の間隔を置いて繰り返すと血圧下降は減弱し、tachyphraxis 現象が観察された。この 10 mg/kg 投与時の血圧下降は atropine 1 mg/kg, i.v. の前処置によってはまったく影響されず、抗 histamine 剤 tripeleminamine の 5 mg/kg, i.v. 前処置によって 35~79 mmHg の下降に減弱し拮抗されることがわかった。

### 3. 自律神経系に対する作用

#### 1) 瞳孔

DL-8280 の 100, 300 ならびに 1,000 mg/kg, p.o. の投与によっても、瞳孔径にはまったく変化はみられなかった。

#### 2) 血圧

結果は Fig. 7 に示すように、NE による昇圧反応に関

し、DL-8280 は 30 mg/kg, i.v. の投与で有意に抑制した。また Ach による降圧反応は 10 mg/kg, i.v. 以上の投与で抑制された。

#### 3) 瞬膜

DL-8280 の 1 mg/kg, i.v. 投与によっては頸部交感神経の節前線維の刺激による瞬膜の収縮に対し、まったく影響を与えなかったが、3 mg/kg, i.v. 以上の投与では抑制がみられた。しかし 10 mg/kg, i.v. 投与の場合は Fig. 8 に示すように、節前および節後線維の刺激による収縮は同程度抑制された。6 例の平均値では節前線維刺激による収縮は  $66.3 \pm 7.5\%$  (平均値  $\pm$  S.E.)、節後線維刺激によるそれは  $64.4 \pm 8.9\%$  抑制され、両抑制率間に有意差は認められなかった。

#### 4. 平滑筋に対する作用

##### 1) 摘出回腸

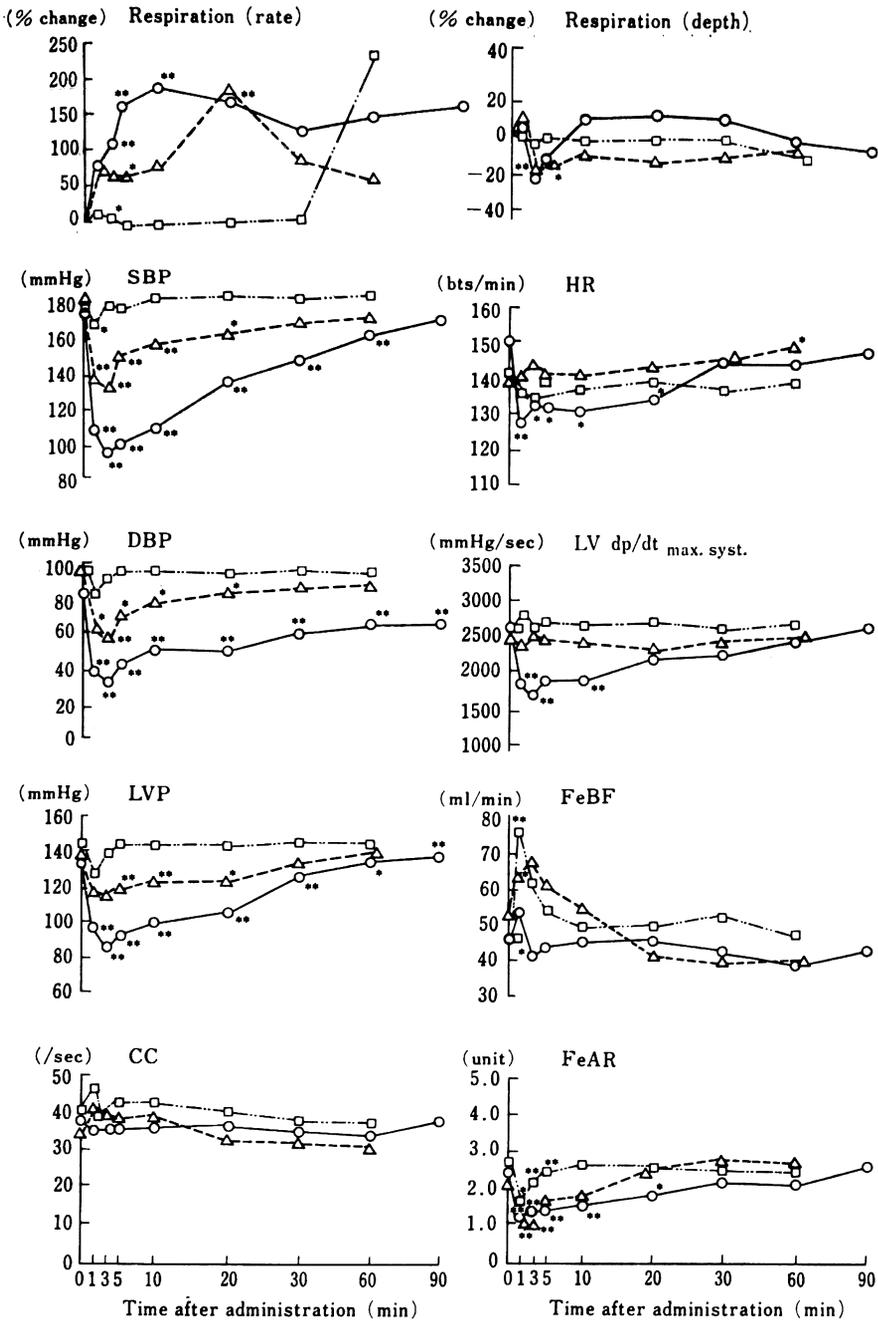
$10^{-3}$  g/ml の濃度では溶媒単独でも抑制作用が出現するため、 $10^{-4}$  g/ml 以下の濃度で検討した。

すなわち、DL-8280 の  $10^{-5}$  g/ml 以下の濃度では作用がなく、 $10^{-4}$  g/ml で acetylcholine ( $10^{-7}$  g/ml)、histamine ( $10^{-7}$  g/ml)、serotonin ( $10^{-6}$  g/ml) による収縮に対して作用がなく、nicotine ( $5 \times 10^{-6}$  g/ml) および BaCl<sub>2</sub> ( $10^{-4}$  g/ml) による収縮を 26~28% 抑制した程度であった。

##### 2) 摘出輸精管

DL-8280 の  $10^{-4}$  g/ml 以下の濃度では作用はなかったが、 $10^{-3}$  g/ml の濃度では単独作用はなかったが、norepi-

Fig. 6 Respiratory and cardiovascular effects of DL-8280 in anesthetized dogs

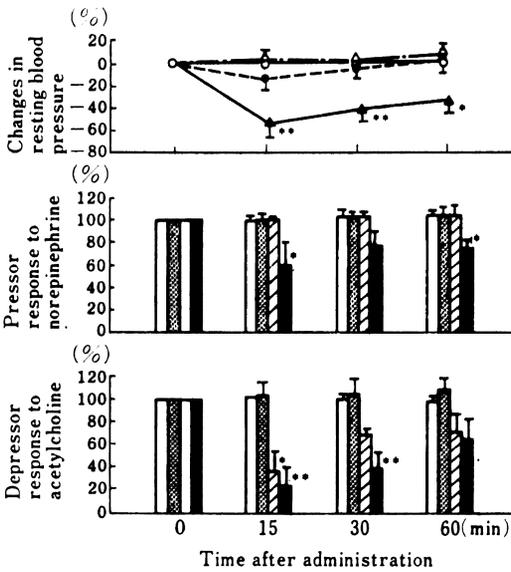


SBP : Systolic blood pressure, DBP : Diastolic blood pressure,  
 LVP : Left ventricular pressure, CC : Cardiac contractility,  
 HR : Heart rate, FeBF : Femoral blood flow,  
 FeAR : Femoral arterial resistance

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01 : Significantly different from initial value (paired t-test)

□—□ 3mg/kg, i. v., △—△ 10mg/kg, i. v., ○—○ 30mg/kg, i. v.

Fig. 7 Effects of DL-8280 on blood pressure responses produced by norepinephrine and acetylcholine in anesthetized dogs



Each column is the mean of 4 animals and vertical lines represent the standard error.  
 \*p<0.05, \*\*p<0.01 : Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)



nephrine ( $10^{-5}$  g/ml) による収縮を約 60% 増強した。

3) 摘出気管

DL-8280 の  $10^{-4}$  g/ml 以下の濃度では単独作用はなく、また histamine ( $3 \times 10^{-6}$  g/ml) および acetylcholine ( $10^{-5}$  g/ml) による収縮に対し作用を示さなかったが、 $10^{-3}$  g/ml では単独で histamine ( $3 \times 10^{-6}$  g/ml) による最大収縮の 20% 程度の収縮を生じた。この収縮は diphenhydramine ( $10^{-6}$  g/ml) によってはほとんど影響を受けなかったが、栄養液中の  $Ca^{++}$  を除去すると消失した。また  $10^{-3}$  g/ml の濃度で histamine および acetylcholine による収縮を軽度増強した。

4) 摘出子宮

非妊娠ラットの摘出子宮に対し、DL-8280 は  $10^{-4}$  g/ml 以下の濃度ではまったく作用を示さなかったが、 $10^{-3}$  g/ml の濃度で一過性の振幅の抑制と持続的頻度の亢進を示した。摘出妊娠子宮に関しては、 $10^{-3}$  g/ml の濃度に相当する溶媒単独で亢進作用がみられたので、 $10^{-4}$  g/ml の濃度で検討したが、自動運動ならびに oxytocin による律動亢進に対しては、まったく作用を示さなかった。

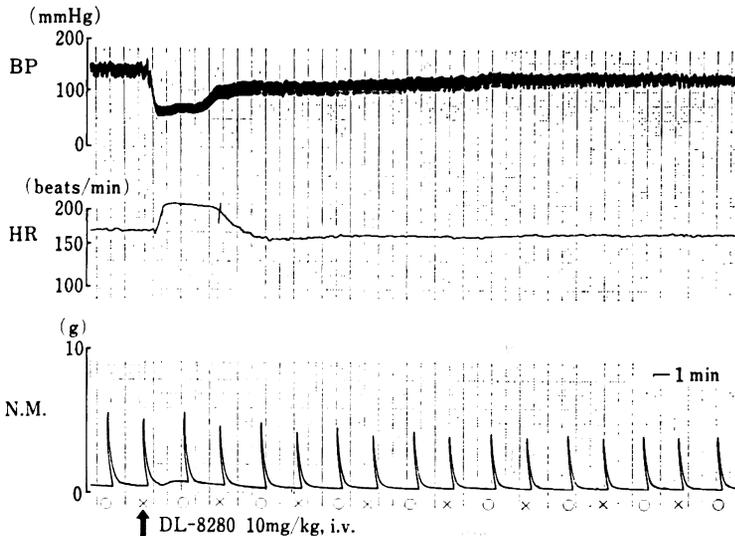
5) 腸管輸送能

DL-8280 を 100, 300 および 1,000 mg/kg 経口投与したが、腸管輸送能にはまったく影響はみられなかった。

6) 胃粘膜

DL-8280 の 100, 300 および 1,000 mg/kg の経口投与によっては胃粘膜の障害はまったく認められなかった

Fig. 8 Effect of DL-8280 on the nictitating membrane in the cat



BP : Blood pressure, HR : Heart rate, N.M. : Contraction of the nictitating membrane  
 O : Preganglionic stimulation, X : Postganglionic stimulation

Table 3 Effect of DL-8280 on gastric emptying rate (GER) in rats

Drug	Dose (mg/kg, p. o.)	GER (%)	% Inhibition
Control	0	44.3 ± 4.65 <sup>a)</sup>	
DL-8280	100	29.8 ± 3.92	32.7
	300	19.0 ± 6.13 <sup>**</sup>	57.1
	1,000	13.7 ± 5.81 <sup>**</sup>	69.1

<sup>a)</sup> Mean ± stand error of 8 animals

<sup>\*\*</sup> p < 0.01 : Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

Table 4 Effect of DL-8280 on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Drug	Dose (mg/kg, i. p.)	Volume (ml)	pH	Acidity (mEq/L)	Acid output (mEq/5hr)	Pepsin activity (mg tyrosine/ml)	Pepsin output (mg tyrosine/5hr)
Control	0	4.6 ± 0.3 <sup>a)</sup>	1.95 ± 0.15	46.3 ± 6.0	208.1 ± 25.9	15.67 ± 0.66	70.48 ± 2.52
DL-8280	30	4.3 ± 0.9	1.93 ± 0.23	48.3 ± 4.4	199.5 ± 42.8	16.32 ± 0.89	67.00 ± 12.92
	100	4.8 ± 0.6	1.71 ± 0.13	45.4 ± 1.5	213.2 ± 21.3	13.76 ± 1.00	64.43 ± 7.20
	300	1.3 ± 0.5 <sup>**</sup>	2.83 ± 0.29 <sup>*</sup>	29.2 ± 4.8 <sup>*</sup>	41.6 ± 16.8 <sup>**</sup>	13.38 ± 1.03	19.24 ± 7.13 <sup>**</sup>

<sup>a)</sup> Mean ± standard error of 8 animals

<sup>\*</sup> p < 0.05, <sup>\*\*</sup> p < 0.01 : Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

が, 1,000 mg/kg 投与では 10 例中 3 例が死亡した。

#### 7) 胃内容物排出速度

結果は Table 3 に示すように, DL-8280 の 100 mg/kg, p. o. では作用は認められなかったが, 300 および 1,000 mg/kg では有意の胃内容物排出速度の抑制が認められた。

#### 8) 胃液分泌

Table 4 に示すように, DL-8280 の 30 および 100 mg/kg, i. p. 投与では各測定パラメーターに変化を示さなかったが, 300 mg/kg, i. p. では胃液量および酸度の低下, pH の上昇, 総酸度ならびに総 pepsin 活性の有意の抑制がみられた。

#### 9) 胃腸管運動

DL-8280 の 1 mg/kg の静脈内投与ではまったく作用を示さなかったが, 3 mg/kg では胃運動は 4 例中 1 例に一過性の亢進が, 2 例に腸管運動の抑制が, それぞれみられ, 10 mg/kg, i. v. では胃運動は 4 例中 2 例が一過性の亢進を, 2 例が一過性亢進後抑制が, 腸管運動は全例で 30 分以上にわたる抑制パターンがみられた。その代表的 1 例を Fig. 9 に示した。

#### 5. その他の作用

##### 1) 前脛骨筋

結果は Fig. 10 に示すように, DL-8280 の 3 および 10 mg/kg の静脈内投与では間接および直接刺激による

収縮に対し, まったく作用はみられなかった。しかし 30 mg/kg 投与では間接および直接両刺激による収縮を極く軽度であるが, 有意に増加させた。血圧は一過性に軽度下降したが, 心拍数には変化はみられなかった。

##### 2) 腎機能に対する作用

DL-8280 の 100 mg/kg, p. o. の投与では尿量および尿中電解質排泄に対し, まったく作用を示さなかったが, 300 および 1,000 mg/kg の投与では尿量の有意の減少および Na<sup>+</sup>, ならびに Cl<sup>-</sup> の排泄を有意に減少させた (Table 5)。

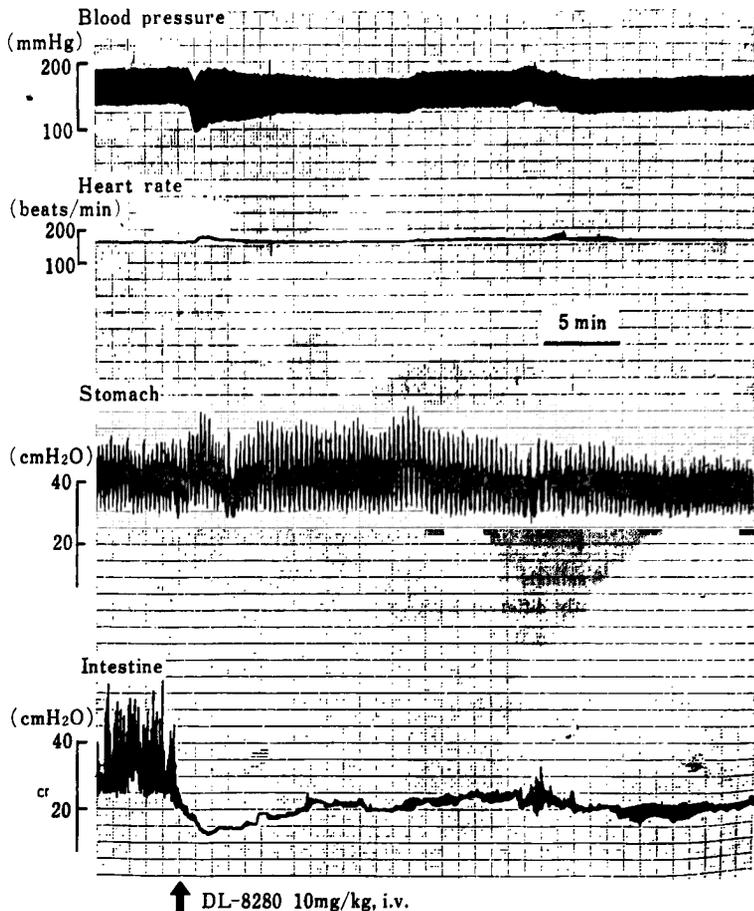
##### 3) 局所麻酔

DL-8280 の 0.1, 0.3 および 1.0% の濃度の適用では瞬目反射に対して, 何ら影響を及ぼさなかった。

### III. 総括および考察

DL-8280 の一般薬理作用を検討した。中枢神経系においては, マウスの行動観察で 300 mg/kg, p. o. 以上の投与で意識の低下などの軽度の中枢抑制症状が観察され, ネコの急性脳波実験においても, 10 mg/kg, i. v. の投与で脳波の低振幅徐波化がみられ, この時脳波の変化と血圧の変化とはほぼ同期してみられたので, 脳波の変化は循環器系の変化にもとづく二次的な作用である可能性も考えられた。また 300 mg/kg, p. o. 以上の投与量でマウスの自発運動を抑制し, 1,000 mg/kg, p. o. 投与で hexobarbital 睡眠時間を延長させたが, マウスにおける

Fig. 9 Effect of DL-8280 on gastrointestinal motility in the anesthetized dog (balloon method)



抗痙攣作用はまったくみられなかった。山本ら<sup>12)</sup>は本剤と類似した化学構造をもつ nalidixic acid は 50~200 mg/kg, p.o. 投与でマウス自発運動量を増加させ、500~1,000 mg/kg, p.o. では減少し、thiopental 麻酔を 200 mg/kg, p.o. 以上の用量で増強すると報告しているのので、DL-8280 の中枢作用は nalidixic acid のそれより弱いものと推定される。一方ラットの条件回避反応ならびにウサギの体温に対し、1,000 mg/kg, p.o. の最高投与量においてもまったく作用を示さず、ネコの脊髄反射に対しても 10 mg/kg, i.v. の投与量で著明な作用を示さなかった。しかしマウスの酢酸 writhing ならびに圧刺刺激法において 100~300 mg/kg, p.o. 以上の投与量で痛覚閾値を上昇させ、ラットの carrageenan 浮腫を抑制したことから、軽度の鎮痛抗炎症作用をもつものと思われる。しかし本剤の臨床用量(約 4 mg/kg, p.o.)と比較すれば、その作用は軽微なものといえよう。

DL-8280 の循環器系に対する作用を無麻酔ラットでしらべたところ、1,000 mg/kg, p.o. 投与でも血圧および心拍数に影響を与えなかった。しかし麻酔イヌにおいては 10 mg/kg, i.v. 以上の投与で呼吸数の増加、呼吸振幅の低下および血圧の著明な下降がみられた。また股動脈血管抵抗は低下し、投与後 5 分以後はほぼ用量依存性に低下したので、DL-8280 は末梢血管拡張作用をもつものと考えられ、降圧作用の一部に関与している可能性が示唆された。心拍数は低下したが、心筋収縮力には変化はみられなかった。DL-8280 を静脈内投与した時の降圧作用は atropine によっては影響されず、抗 histamine 剤 (tripelennamine) によって、ある程度阻害され、また降圧作用に tachyphraxis 現象のみられたことから、DL-8280 の降圧作用には histamine を介する作用が関与していることが考えられた。DL-8280 と類似構造をもつ norfloxacin についても類似した成績が報告されており<sup>13)</sup>,

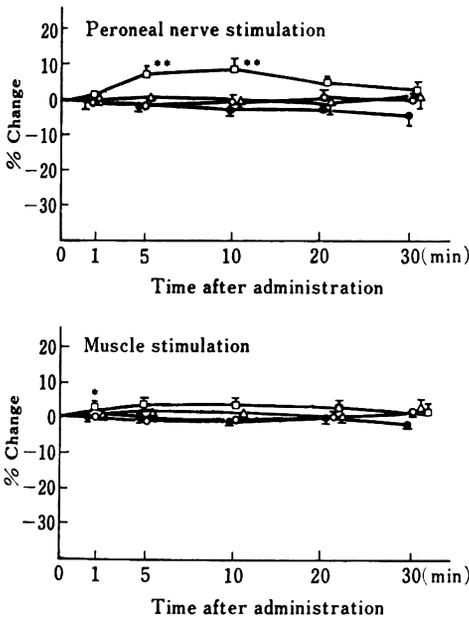
Table 5 Effect of DL-8280 on urine volume and urinary electrolyte excretion in rats

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	% Excretion saline load/5hr	$\mu\text{Eq}$ Excreted/5hr			$\text{Na}^+/\text{K}^+$ ratio
			$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{Cl}^-$	
Control	0	$43.1 \pm 4.8^{\text{a}}$	$369 \pm 33$	$209 \pm 25$	$414 \pm 33$	$1.89 \pm 0.20$
DL-8280	100	$36.0 \pm 3.9$	$346 \pm 32$	$241 \pm 14$	$395 \pm 29$	$1.44 \pm 0.10^*$
	300	$20.0 \pm 2.2^{**}$	$196 \pm 29^{**}$	$200 \pm 14$	$229 \pm 29^{**}$	$0.94 \pm 0.09^{**}$
	1,000	$7.0 \pm 0.9$	$48 \pm 10^{**}$	$68 \pm 12^{**}$	$47 \pm 9^{**}$	$0.69 \pm 0.06^{**}$

<sup>a)</sup> Mean  $\pm$  standard error of 10 animals

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ : Significantly different from control (one-way layout and multiple comparison by DUNNETT)

Fig. 10 Effect of DL-8280 on twitch response of tibialis anterior muscle induced by electrical stimulation in rabbits



Each point is the mean of 5 animals and vertical lines represent the standard error.

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ : Significantly different from control (paired t-test)

●—● Control, ○—○ 3 mg/kg, i. v.,  
▲—▲ 10 mg/kg, i. v., □—□ 30 mg/kg, i. v.

pipemidic acid のイヌにおける降圧作用も atropine 前処置によって影響を受けないことも報告されている<sup>14)</sup>。

DL-8280 の自律神経系に対する作用に関しては、ウサギの瞳孔径に対してはまったく作用を示さなかったが、麻酔イヌにおいて norepinephrine による昇圧反応は、30 mg/kg, i.v. 前処置により抑制されたので、軽度ながら  $\alpha$  遮断作用をもつと推定されたが、非特異的血管拡

張作用による可能性も否定できない。一方 acetylcholine による降圧反応も一過性に抑制されたが、この抑制のみられた時点で、DL-8280 による血圧下降が顕著であったので特異的抗 choline 作用をもっているかどうかは疑問がある。ネコにおける頸部交感神経刺激による瞬膜の収縮は 3 mg/kg, i.v. 以上の投与で抑制されたが、神経節前線維および節後線維の刺激による収縮が同程度抑制されたので、DL-8280 には交感神経節遮断作用は欠如しているものと考えられた。

平滑筋に関しては、モルモット摘出回腸において  $10^{-3}$  g/ml の高濃度でも顕著な鎮痙作用を示さず、摘出輸精管に対しては、高濃度で norepinephrine による収縮が増強する作用がみられたが、この機作については不明である。また摘出気管で  $10^{-3}$  g/ml の高濃度で軽度の収縮を示したが、抗 histamine 剤で拮抗されず、栄養液中の  $\text{Ca}^{++}$  を除去すると消失したので、恐らく細胞内への  $\text{Ca}^{++}$  の流入を促進した結果であろうと推定された。非妊娠ラットの摘出子宮の自動運動に対し、 $10^{-3}$  g/ml の濃度で一過性の亢進作用を示したが、妊娠ラットのそれには影響を示さなかった。またマウスの腸管輸送能に対しては影響がなく、ラットの胃粘膜に対しても、1,000 mg/kg, p.o. の投与量で作用を示さなかった。この際若干の死亡例がみられたが、長時間絶食させたための影響と推定される。DL-8280 はラットの胃内容物排出速度ならびに胃液分泌を 300 mg/kg, p.o. および 300 mg/kg, i.p. という高用量において、それぞれ抑制した。また麻酔イヌにおいて、10 mg/kg, i.v. 以上の投与量で胃運動の一過性の亢進後抑制が、また腸管運動の抑制がみられ、マウスにおける腸管輸送能の結果と一致しなかった。この不一致の原因は種差による可能性も否定し得ないが、摘出回腸の成績および麻酔イヌにおける循環器系に対する実験で末梢血管拡張作用がみられている事実などを併せ考えると、この生体位胃腸管の変化は末梢循環動態の変

化によるものと考えの方が妥当のようである。麻酔ウサギの前脛骨筋の収縮に対し、DL-8280 は 30 mg/kg, i.v. の投与で極く軽度、増強したのみで、骨格筋に対する本剤の作用は軽微なものと推定された。また DL-8280 はラットの尿量および尿中電解質に対し、300~1,000 mg/kg, p.o. の投与で尿量および尿中電解質の排泄を抑制した。類似薬物 norfloxacin においてもこのような抗利尿作用が報告されている<sup>13)</sup>。そのほか DL-8280 はモルモットの角膜において 1.0% の濃度まで局所麻酔作用を示さなかった。

以上のように DL-8280 は種々の薬理作用を示したが、その発現用量と臨床用量および有効血中濃度とを比較すれば、臨床面でこれらの作用が副作用として発現する可能性は低いものと思われる。

なお、本研究は昭和 55 年 9 月から昭和 57 年 9 月に実施した。

#### 文 献

- 1) SATO, K.; Y. MATSUURA, M. INOUE, T. UNE, Y. OSADA, H. OGAWA & S. MITSUHASHI: *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 22: 548~553, 1982
- 2) 岡崎 治, 倉田忠司, 橋本浩一, 須藤賢一, 津村光義, 立沢晴男: DL-8280 の体内動態 第 2 報 <sup>14</sup>C-DL-8280 の各種動物における吸収, 分布, 排泄。 *Chemotherapy* 32 (S-1): 1185~1202, 1984
- 3) IRWIN, S.: Animal and clinical pharmacology techniques in drug evaluation. *In Year Book* (J.H. NODINE & P.E. SIEGLER, Eds.), Medical Publishers Inc., Chicago, pp. 36~54, 1964
- 4) REINOSO, S.F.: *Topographischer Hirnatlas der Katze für experimentelle physiologische Untersuchungen*, E. Merck A.G., Darmstadt, 1961
- 5) LITCHFIELD, J.T. & F. WILCOXON: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. & Exp. Ther.* 96: 99~113, 1949
- 6) VAN ARMAN, C.G.; A.J. BEGANY, L.M. MILLER & H.H. PLESS: Some details of the inflammations caused by yeast and carrageenin. *J. Pharmacol. & Exp. Ther.* 150: 328~334, 1965
- 7) OKABE, S.; K. TAKEUCHI, T. URUSHIDANI & K. TAKAGI: Effects of cimetidine, a histamine H<sub>2</sub>-receptor antagonist, on various experimental gastric and duodenal ulcers. *Amer. J. Digest. Dis.* 22: 677~684, 1977
- 8) KATO, R.; A. TAKANAKA, K. ONODA & Y. OMORI: Effect of syrup on the absorption of drugs from gastrointestinal tract. *Jap. J. Pharmacol.* 19: 331~342, 1969
- 9) SHAY, H.; S.A. KOMAROV, S.S. FELS, D. MERRANZE, M. GRUENSTEIN & H. SIPLET: A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology* 5: 43~61, 1945
- 10) ANSON, M.L. & A.E. MIRSKY: The estimation of pepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 16: 59~63, 1932
- 11) DUNNETT, C.W.: New tables for multiple comparison with a control. *Biometrics* 20: 482~491, 1964
- 12) 山本研一, 吉村弘二, 松下 享: Cinoxacin の一般薬理作用 (I) 中枢神経系に対する作用。 *Chemotherapy* 28 (S-4): 530~548, 1980
- 13) 大久保秀夫, 瀬川 満, 平山隆士, 西納啓吾: 新しい合成抗菌薬 1-Ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid の一般薬理作用 (II) 呼吸・循環系に対する作用。 *Chemotherapy* 29 (S-4): 985~1000, 1981
- 14) 松野幸男, 荘司行伸, 清水当尚: Pipemidic acid の一般薬理作用。 *Chemotherapy* 23: 2671~2684, 1975

## GENERAL PHARMACOLOGY OF DL-8280

HIROSHI KOJIMA, MASAOKI HIROHASHI, TAKBO SAKURAI,  
YOSHIO KASAI and AKIRA AKASHI  
Research Institute, Daiichi Seiyaku Co., Ltd.

General pharmacological properties of DL-8280 were studied in various animals by using standard tests.

1. Central nervous system; DL-8280 at doses above 300 mg/kg, p.o. suppressed general behavior and spontaneous motor activity in mice. It also produced an EEG slowing in curarized cats at 3 mg/kg, i.v. and more, a mild analgesia in mice at doses of 100~1,000 mg/kg, p.o. as well as a prolongation of hexobarbital-induced sleeping time in mice and an antiinflammatory effect in rats at a dose of 1,000 mg/kg, p.o.. DL-8280, however, had no effect on electro- and chemo-convulsions in mice, conditioned avoidance response in rats, body temperature in rabbits and spinal reflex in anesthetized cats.

2. Respiratory and cardiovascular system; The antibacterial drug showed no effect on systolic blood pressure and heart rate in conscious rats even at a dose as high as 1,000 mg/kg, p.o.. However, in anesthetized dogs, it increased respiratory rate and decreased respiratory depth, blood pressure, heart rate, left ventricular pressure and femoral arterial resistance without affecting cardiac contractility at doses of 10 mg/kg, i.v. and more.

3. Autonomic nervous system; DL-8280 was without effect on pupillary size in rabbits but at 10~30 mg/kg, i.v. inhibited both norepinephrine-induced pressor and acetylcholine-induced depressor responses in anesthetized dogs. It exerted no ganglion-blocking effect in anesthetized cats.

4. Smooth muscles; DL-8280 had little effect on the contractile response of the isolated guinea-pig ileum to various spasmogens, while it slightly enhanced norepinephrine-induced contraction of the guinea-pig vas deferens and spontaneous motility of the isolated nonpregnant rat uterus only at a concentration of  $10^{-3}$  g/ml. The drug failed to affect the spontaneous motility of the isolated pregnant rat uterus at concentrations up to  $10^{-4}$  g/ml, gastrointestinal propulsion in mice and gastric mucosa in rats at 1,000 mg/kg, p.o.. However, it inhibited gastrointestinal motility in anesthetized dogs at 3 mg/kg, i.v. and more. Gastric emptying rate and gastric secretion in rats were inhibited at doses of 300 mg/kg, p.o. and 300 mg/kg, i.p., respectively.

5. Miscellaneous; DL-8280 at a dose of 30 mg/kg, i.v. slightly enhanced twitch response of the anterior tibial muscle in anesthetized rabbits. It decreased urine volume and excretion of urinary electrolytes in rats at doses above 300 mg/kg, p.o.. No local anesthetic effect was observed in the guinea-pig cornea after topical application of DL-8280 (1.0%).

Since these pharmacological effects of DL-8280 were observed at dose much greater than those in clinical use (approximately 4 mg/kg, p.o.), it is likely that this drug may be relatively free of undesirable effects in clinical practice.