

## BRL 28500 の一般薬理作用

西岡佳隆・北村 裕・石井隆太郎・幸嶋 祥亘

ビーチャム薬品株式会社

西森司雄・小林文夫・西村敬治・土山道雄・森野久弥

株式会社環境保健生物研究センター薬効薬理学研究室

JOHN D. FLACK

Beecham Pharmaceuticals Research Division

BRL 28500 およびその配合成分である CVA-K と TIPC の一般薬理作用を静脈内投与により検討した。マウスおよびラットの一般行動観察では、ラットにおいて、CVA-K の 120 mg/kg で軽度な一過性の呼吸促進が認められた以外は、いずれの検体においても異常は認められなかった。また、麻酔時間の延長が TIPC の 1,800 mg/kg および CVA-K の 120 mg/kg で認められたが、BRL 28500 では認められなかった。このほかには中枢神経系に影響は認められなかった。ネコの呼吸循環器系において、BRL 28500 の 480 mg/kg 以上で呼吸数の軽度減少あるいはT波の下降する例が見られ、960 mg/kg 以上では血圧下降がみられたが、血圧反応には影響は認められなかった。摘出心臓および末梢血管灌流に影響は認められなかった。平滑筋および自律神経系においては、生体位子宮運動の軽度亢進が BRL 28500 の 960 mg/kg 以上、TIPC の 900 mg/kg 以上で、瞬膜収縮の軽度抑制が、BRL 28500 の 1,920 mg/kg および TIPC の 1,800 mg/kg でみられた以外に影響は認められなかった。また、末梢神経系に関する試験では、いずれの検体でも影響は認められなかった。消化器系において、生体位胃運動の軽度亢進が BRL 28500 の 480 mg/kg 以上、TIPC の 450 mg/kg 以上で認められたが、炭末輸送能に影響は認められなかった。胃液分泌の抑制が BRL 28500 の 1,920 mg/kg および TIPC の 1,800 mg/kg で認められ、胆汁分泌の増加が BRL 28500 の 480 mg/kg 以上、TIPC の 450 mg/kg 以上で認められた。また、ICG 試験において、BRL 28500 の 120 mg/kg 以上、TIPC の 112.5 mg/kg 以上および CVA-K の 30 mg/kg 以上で ICG 排泄能の低下がみられた。BRL 28500 および TIPC による胆汁分泌の増加、ICG 排泄能の低下は、TIPC が胆汁中へ排泄されることによるものと考えられる。血液系に関しては、極く軽度な PT の延長が BRL 28500 の 1,920 mg/kg で、軽度な溶血性が BRL 28500 および TIPC の 200 mg/ml 溶液でみられた以外に影響は認められなかった。腎機能では、尿量の増加および尿中電解質の増加が BRL 28500 の 960 mg/kg 以上、TIPC の 900 mg/kg 以上および CVA-K の 120 mg/kg でみられたが、いずれも検体に含まれる Na および K 塩の影響と考えられる。その他、血糖、FFA、TG および感覚器には影響は認められなかった。

BRL 28500 は、 $\beta$ -lactamase 阻害作用を有する clavulanic acid (CVA) のカリウム塩 (CVA-K) と ticarcillin (TIPC) を遊離酸重量として 1:15 に配合した配合剤である。

BRL 28500 の配合成分である TIPC の一般薬理作用については報告されているが<sup>1)</sup>、今回我々は、薬物安全性研究の一環として、BRL 28500 およびその配合成分である CVA-K と TIPC の一般薬理作用の検索を行ったので報告する。

## I. 実験材料

## 1. 使用薬物

本実験には BRL 28500、TIPC および CVA-K を生理食塩水で用時溶解して使用した。投与量は、*in vivo* の実験においては、BRL 28500 は 480, 960, 1,920 mg/kg (一部 120, 240 mg/kg も実施)、TIPC は、450, 900, 1,800 mg/kg (一部 112.5, 225 mg/kg も実施)、CVA-K は 30, 60, 120 mg/kg (一部 7.5, 15 mg/kg も実施) とした。また、投与量は 4~8 ml/kg とし、投与速度 0.025 ml/sec で静脈内に投与した。*in vitro* の実験は、 $10^{-7}$ ~ $10^{-4}$  g/ml の濃度で行った。ただし、摘出心臓では 0.01~5 mg/ml 濃度の溶液をカニューレ側管より注入、溶血試験では 10~200 mg/ml の濃度で行った。その他

に使用した薬物は Pentetrazol (和光純薬), Thiopental-Na (田辺製薬), Tremorine dihydrochloride (和光純薬), Acetylcholine chloride (第一製薬), Adrenaline (第一製薬), Noradrenaline (三共), Histamine dihydrochloride (和光純薬), Arachidonic acid (東京化成), Collagen (Hormon Chemie), ICG (Indocyanine green: 第一製薬), Phenobarbital-Na (東京化成), Pentobarbital-Na (ピットマン・ムーア) を使用した。検体の濃度および重量は遊離酸として、標準薬物については塩となっているものについては塩としての濃度あるいは重量で表示した。

## 2. 使用動物

本実験には 5~6 週齢の ddY 系雄性マウス, 5~8 週齢の SD 系雄性および雌性ラット (子宮実験のみ使用), 5~8 週齢の Wistar 系雄性ラット (条件回避反応のみ使用), 3~6 週齢の Hartley 系雄性モルモット, 12~15 週齢の日本白色雄性ウサギおよび 2~3 年齢のネコを使用した。動物は温度 20~26°C, 湿度 40~70% の条件下で 1 週間以上予備飼育し、一般状態の良好なものを使用した。

## II. 実験方法

### 1. 中枢神経系におよぼす影響

#### 1) 一般行動観察

マウスおよびラットを 1 群 10 匹として使用した。渋谷<sup>2)</sup>の方法に準じて動物の行動および一般症状を検体投与後 2 時間まで観察した。

#### 2) 自発運動量

マウスを 1 群 10 匹として使用した。自発運動量は Automex (東海医理科) を用い、検体投与前、投与後 15, 30 分, 1 および 3 時間に各 3 分間の自発運動量を測定した。

#### 3) 麻酔増強作用

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与後 15 分に Thiopental-Na 30 mg/kg を尾静脈内投与し、麻酔時間を測定した。なお、麻酔時間は側臥姿勢から自発的に腹臥位にもどるまでとした。

#### 4) 抗痙攣作用

##### i) 抗 Pentetrazol 痙攣作用

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与後 15 分に Pentetrazol 115 mg/kg を皮下投与し、30 分以内に発現する間代性痙攣および強直性伸展性痙攣を観察した。痙攣の程度は SCHREIBER ら<sup>3)</sup>および SCHECHTER ら<sup>4)</sup>の方法を参考にスコア化して比較した。

##### ii) 抗電撃痙攣作用

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与後 15 分にマウスの角膜に電気刺激 (電流 40 mA, パルス幅

0.4 msec, 周波数 50 Hz) を、0.5 秒間バイオ・コンパルシブユニット (バイオメディカ) で通電し、その時生じる強直性伸展性痙攣の持続時間を測定した。

#### 5) 抗 Tremorine 作用

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与後 15 分に Tremorine 10 mg/kg を腹腔内投与し、誘発される振戦を Tremorine 投与後 15, 30 および 60 分に観察した。また、同時に流涎、流涙、下痢の症状についても観察した。

#### 6) 懸垂試験

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与前、投与後 15, 30 および 60 分に COURVOISIER<sup>5)</sup>の方法に従い試験を行った。

#### 7) 回転棒試験

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与前、投与後 15, 30 および 60 分に既報<sup>6)</sup>の方法に従い試験を行った。

#### 8) 鎮痛作用

##### i) 酢酸 writhing 法

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与後 15 分に、0.6% 酢酸の 0.1 ml/10 g を腹腔内投与し、その 10 分後から 10 分間の writhing 数を測定した。

##### ii) ハフナー法

マウスを 1 群 10 匹として使用した。検体投与前、投与後 15, 30 および 60 分に動脈クレンメを用いて疼痛反応の有無を観察した。

#### 9) 体温

ラットを 1 群 10 匹として使用した。検体投与前、投与後 15, 30 分, 1, 2 および 3 時間に直腸温をサーミスタ温度計 (TF-DN テルモ) で測定した。

#### 10) 脳波

##### i) 急性脳波

ウサギを 1 群 3 匹として使用した。エーテル麻酔下に気管カニューレを挿入した後、Gallamine 2 mg/kg を静脈内投与し、以後人工呼吸下の実験を行った。ウサギを脳固定装置 (東大脳研型) に固定し、SAWYER ら<sup>7)</sup>の脳図譜に従って、運動領、知覚領、海馬および扁桃核にステレンス製双極針電極を植え込んだ。脳波計 (EEG-4214 日本光電) を用いて脳波を検体投与後 2 時間まで記録した。また、音刺激には、光音刺激装置 (MS-2 PS 日本光電) を用いて 2,000 Hz の monotone 刺激を 5 秒間行い、それに対する反応を記録した。

##### ii) 慢性脳波

ウサギを 1 群 3 匹として使用した。電極を前述の脳内各部位に植え込み、シールドルーム内で無麻酔、無拘束下におき、検体投与後 2 時間まで自発脳波を行動観察と

平行して記録した。

#### 11) 条件回避反応

条件回避反応は two-compartment の shuttle box (7500 Ugo Basile) を用いた。条件刺激としてブザー音を、無条件刺激として電撃 (50~100 V) を与えて条件付けを行い、条件回避率が 80% 以上のラットを選別した。

1 群 6 匹のラットを用い、検体投与前、投与後 30 および 60 分に条件回避反応の測定を行った。

#### 2. 呼吸および心血管系におよぼす影響

##### 1) 呼吸, 血圧, 心拍数および心電図

ネコを 1 群 3 匹として使用した。Urethane (1.5 g/kg s. c.) 麻酔下に気管および右大腿動脈にカニューレを挿入し、呼吸はサーミスタ型呼吸ピックアップ (SR-115 S 日本光電) を、血圧は標準型圧トランスデューサー (MPU-0.5 A 日本光電) を介して、心拍数は瞬時心拍計ユニット (AT-600 G 日本光電) を介して、心電図 (第 II 誘導) は心電図用アンプ (AC-600 G 日本光電) に接続し、ポリグラフ (RM-6000 日本光電) に同時記録した。測定は、検体投与前より投与後 2 時間まで行った。

##### 2) 血圧反応

ネコを 1 群 3 匹として使用した。Urethane (1.5 g/kg s. c.) 麻酔下に大腿動脈圧を記録した。Adrenaline (Ad), Noradrenaline (NA), Acetylcholine (Ach) および Histamine (Hist) 静脈内投与時の血圧反応に対する検体の作用を投与後 2 時間まで観察した。

##### 3) 摘出心臓

LANGENDORFF の方法<sup>8)</sup> に準じてモルモット摘出心臓標本を作製し、混合ガス (95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>) で飽和した 36°C の Krebs-Hanseleit 液を灌流圧約 20 mmHg で灌流した。検体は 0.2 ml の容量でカニューレ側管より注入し、心筋の運動は FD-ピックアップ (TB-611 日本光電) を、心拍数の測定は瞬時心拍計ユニットを介して記録した。

##### 4) 末梢血管灌流

ウサギを 1 群 3 匹として使用した。KRAWKOW-PISEMSKI の方法に準じて、ウサギ耳介血管灌流標本を作製し、Ringel 液を灌流圧約 40 cm H<sub>2</sub>O で灌流した。検体処置前と処置後の灌流液の滴数を比較した。

#### 3. 平滑筋および自律神経系におよぼす影響

##### 1) 摘出気管

モルモットの気管連鎖標本を作製して、空気を通じた Locke-Ringer 液 (20 ml, 37°C) 中に懸垂し、収縮は Isotonic transducer (TD-112 S 日本光電) を介して記録した。BRL 28500 および TIPC の単独作用と Hist による収縮におよぼす影響を検討した。

##### 2) 摘出回腸

##### i) 自動運動

ウサギより摘出した回腸切片を空気を通じた Tyrode 液 (20 ml, 37°C) 中に懸垂し、自動運動を Isotonic transducer を介して記録した。BRL 28500 および TIPC の回腸自動運動におよぼす影響を検討した。

##### ii) 各 agonist に対する作用

モルモットより摘出した回腸切片を空気を通じた Tyrode 液 (20 ml, 32°C) 中に懸垂し、摘出回腸の反応を前述の方法で記録した。BRL 28500 および TIPC の Ach, Hist および BaCl<sub>2</sub> による収縮におよぼす影響を検討した。

##### 3) 摘出子宮

##### i) 非妊娠子宮

発情後期のラットより摘出した子宮切片を空気を通じた Locke-Ringer 液 (20 ml, 37°C) 中に懸垂し、自動運動を Isotonic transducer を介して記録した。BRL 28500 および TIPC の非妊娠子宮自動運動におよぼす影響を検討した。

##### ii) 妊娠子宮

妊娠 17~19 日目のラットより摘出した子宮切片を用い、前述の方法により BRL 28500 および TIPC の妊娠子宮自動運動におよぼす影響を検討した。

##### 4) 生体位子宮

##### i) 非妊娠子宮

ラットを 1 群 6 匹として使用した。発情期のラットを Urethane (500 mg/kg s. c.) および Pentobarbital-Na (30 mg/kg s. c.) 麻酔下に背位に固定し、開腹後子宮の収縮運動を FD-ピックアップを介して、検体投与後 2 時間まで観察記録した。

##### ii) 妊娠子宮

ラットを 1 群 6 匹として使用した。妊娠 17~19 日目のラットを用いて、前述の方法で収縮運動を検体投与後 2 時間まで観察記録した。

##### 5) 摘出精管

ラットより摘出した精管切片を空気を通じた Tyrode 液 (20 ml, 32°C) 中に懸垂し、収縮は Isotonic transducer を介して記録した。BRL 28500 および TIPC の単独作用ならびに NA による収縮におよぼす影響を検討した。

##### 6) 瞬膜

ネコを 1 群 3 匹として使用し、2.1) 項の呼吸、血圧等の測定と同時にを行った。上頸部交感神経を露出した後、神経節前線維に双極電極を装着した。電子管刺激装置 (SEN-7103 日本光電) を用いて、矩形波刺激 (パルス幅 1 msec, 頻度 10 Hz, 間隔 2 分おきに 5 秒, 電圧 3~6 V) を与え、瞬膜の収縮を FD-ピックアップを介して記

録した。測定は投与前より検体投与後2時間まで行った。

#### 4. 末梢神経系におよぼす影響

##### 1) 横隔膜神経筋標本

BULBRINGの方法<sup>9)</sup>に準じて、横隔膜を横隔膜神経と共に摘出した。扇状の横隔膜を混合ガス(95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>)を通じたKrebs Bicarbonate液(50 ml, 37°C)中に懸垂し、神経刺激は電子管刺激装置を用いて矩形波(パルス幅 1 msec, 頻度 0.2 Hz, 電圧 5 V)により行った。筋収縮はFD-ピックアップを介して記録し検体の影響を検討した。

##### 2) 座骨神経腓腹筋標本

ラットを1群6匹として使用した。Urethane (1.5 g/kg s.c.)麻酔下にラットを背位に固定し座骨神経腓腹筋標本を作製した。腓腹筋の収縮は坐骨神経に電子管刺激装置を用いて、矩形波刺激(パルス幅 1 msec, 頻度 0.35 Hz, 電圧 5~7 V)を与え、FD-ピックアップを介して検体投与後2時間まで筋収縮を記録した。

##### 3) 脊髄反射

ネコを1群3匹として使用した。エーテル麻酔下にANDERSON/SHIBUYA<sup>10)</sup>の方法に準じ脊髄標本を作製し、双極電極(UM 2-5050 ユニークメディカ)を使用して第7腰髄(L7)あるいは第1仙髄(S1)の後根を刺激した。すなわち、電子管刺激装置により矩形波刺激(パルス幅 0.1 msec, 刺激電圧 2~4 V)を与え、同側の前根より単シナプス反射(MSR)および多シナプス反射(PSR)の活動電位を記録した。活動電位は、検体投与後1時間まで測定し、データ処理装置(ATAC-350 日本光電)により処理した。

##### 4) 局所麻酔作用

モルモットを1群6匹として使用した。右眼に検体を0.1 ml点眼し、刺激毛を用いて角膜を刺激した。検体の投与前、投与後1, 3, 5, 10 および 20 分に角膜反射の有無を検討した。

#### 5. 消化器系におよぼす影響

##### 1) 生体位胃運動

ウサギを1群6匹として使用した。Urethane (1.5 g/kg s.c.)麻酔下で背位に固定し、開腹後TRENDLENBURG法<sup>11)</sup>に準じて胃の幽門前庭部をセルフィンの下に懸垂し、FD-ピックアップを介して、検体投与後2時間まで胃運動を記録した。

##### 2) 炭末輸送能

マウスを1群10匹として使用した。検体投与後15分に炭末乳剤を0.1 ml/animal経口投与した。炭末投与後30分にマウスを屠殺し、小腸全長に対する炭末の移行率を求めた。

##### 3) 胃液分泌

ラットを1群6匹として使用した。エーテル麻酔下にSHAY<sup>12)</sup>の方法に従い幽門を結紮し、直ちに検体を尾静脈内に投与した。4時間後、再びエーテル麻酔下に開腹して胃液を採取し、遠心分離した上清の液量、pH、総酸度、Na<sup>+</sup>およびK<sup>+</sup>濃度を測定した。pHおよび総酸度の測定にはレポーティングタイトレーター(COMTITE 7 平沼)を、胃液中のNa<sup>+</sup>およびK<sup>+</sup>濃度の測定にはオートイオンセラ 300(堀場)を使用した。

##### 4) 胆汁分泌

ラットを1群6匹として使用した。Urethane (1.5 g/kg s.c.)麻酔下に開腹してポリエチレンチューブ(PE 10)を総胆管に挿入し、30分ごとの胆汁液を採取した。胆汁液は、検体投与前および投与後2時間まで採取し、30分ごとの胆汁量を測定した。

#### 6. 血液におよぼす影響

##### 1) 血液凝固

ラットを1群6匹として使用した。検体投与後15分にエーテル麻酔下で腹部大静脈より採血し、プロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)をフィブrometer (60415 ベクトン・ディキンソン)で測定した。

##### 2) 溶血試験

ウサギの耳静脈より採血し、2%赤血球浮遊液を調製した。各濃度の検体溶液5 mlに赤血球浮遊液0.25 mlを加え、37°Cで2時間incubateした後、遠心分離して得られた上清を分光光度計(UV-210 A 島津)を用いて吸光度(540 nm)を測定した。同時に0.9% NaCl溶液と蒸留水でも同様の操作を行い、検体の溶血度を蒸留水を指標として算出した。

##### 3) 赤血球浸透圧脆弱性試験

ラットを1群6匹として使用した。検体投与後15分にエーテル麻酔下で腹部大静脈より採血し、クエン酸加血液とした。このクエン酸加血液0.05 mlを、各濃度のNaCl溶液5 mlに加え軽く混和し、常温に30分放置した。再び軽く混和後に遠心分離し、その上清を分光光度計を用いて540 nmの吸光度を測定し、溶血度を求めた。

##### 4) 血小板凝集

Pentobarbital-Na (30 mg/kg i.v.)麻酔したウサギの頸動脈よりカテーテルを用いて得たクエン酸加血液より、血小板を約30×10<sup>4</sup>/mm<sup>3</sup>含む多血小板血漿(PRP)を血小板測定装置(PL-100 トーア)を用いて調製した。血小板凝集の測定は、アグリコメーター(Model 440 クロノログ)を用い、凝集惹起物質としてArachidonic acid (6 mM)およびCollagen (10 μg/ml)を使用して行

った。

## 7. その他におよぼす影響

### 1) 尿量および尿中電解質

ラットを1群 10 匹として使用した。生理食塩液 2.5 ml/100 g を経口投与し、直後に検体を投与した。6 時間後まで尿量を経時的に測定し、さらに 0~6 時間の総尿量および尿中電解質 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) の排泄量を測定した。電解質量の測定には、オートイオンセラ 300 を使用した。

### 2) 血清 Glucose, FFA (Free fatty acid) および Triglyceride

ラットを1群 6 匹として使用した。検体を 10 日間連続投与し、11 日目にエーテル麻酔下で腹部大静脈より採血した。血清 Glucose は GOD-POD 法, FFA は ACOD 法 (NEFA C-TEST wako 使用), Triglyceride は酵素法 (CII-TEST wako 使用) で測定した。

### 3) ICG 排泄試験

ラットを1群 10 匹として使用した。検体投与後 15 分に、ICG 4 mg/kg を尾静脈内に投与した。ICG 投与後 15 分にエーテル麻酔下で腹部大静脈より採血し、遠心分離後に血清中の ICG 濃度を分光光度計を用いて 805 nm の吸光度より求めた。

### 4) 感覚器

ラットを1群 6 匹として使用した。耳介反射、角膜反射、瞳孔反射および瞳孔径について、検体投与前、投与後 30 分、1 および 2 時間に観察した。耳介反射はガルトンホイッスル(約 8,000 Hz), 角膜反射は刺激毛, 瞳孔反射はペンシルライトによる反応を観察し、瞳孔径は PULEWKA の方法<sup>13)</sup>に準じてミニマスターレーベで測定した。

## 8. 統計学的処理方法

有意差検定法として、平均値の差の検定には Student の t 検定 (分散比の大きい時は Cochran-Cox 検定), 百分率の差の検定には  $\chi^2$  検定 (1×m 分割表) および FISHER の直接確率計算法を使用した。

## III. 実験結果

### 1. 中枢神経系におよぼす影響

#### 1) 一般行動観察

マウスにおいて、各検体の各用量とも行動および一般症状に投与後 2 時間まで何ら異常は認められなかった。

ラットにおいても BRL 28500, TIPC および 60 mg/kg までの CVA-K では行動および一般症状に投与後 2 時間まで何ら異常は認められなかった。一方、CVA-K の 120 mg/kg では 10 例中 8 例で、投与後 15 分に軽度な呼吸促進を認めたが、投与後 30 分には回復していた。

#### 2) 自発運動量

各検体の各用量とも対照群との間に有意差は認められなかった。

#### 3) 麻酔増強作用

BRL 28500 は 1,920 mg/kg まで、TIPC は 900 mg/kg まで、CVA-K は 60 mg/kg まで Thiopental-Na による麻酔時間の延長作用は認められなかったが、TIPC の 1,800 mg/kg および CVA-K の 120 mg/kg では軽度な麻酔時間の延長が認められた (Table 1)。

#### 4) 抗痙攣作用

##### i) 抗 Pentetrazol 痙攣作用

各検体の各用量とも Pentetrazol 誘発痙攣に対する拮抗作用は認められなかった。

##### ii) 抗電撃痙攣作用

各検体の各用量とも抗電撃痙攣作用は認められなかつ

Table 1 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K on thiopental-Na (30mg/kg i.v.) induced anesthesia in mice

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	Sleeping time (sec.)
Control (saline)	—	195.4±27.8
BRL28500	480	210.7±78.4
	960	254.8±91.2
	1,920	230.0±66.9
TIPC	450	169.5±34.9
	900	198.3±65.6
	1,800	273.9±89.8*
CVA-K	30	200.0±71.6
	60	187.2±46.4
	120	278.1±78.6*

Each value is the mean±S.D.

Significant difference from control(\*P<0.05)

Number of animals=10

た。

5) 抗 Tremorine 作用

各検体の各用量とも Tremorine 誘発振戦に対する拮抗作用は認められなかった。しかし、TIPC の 900 mg/kg では投与後 30 分に下痢の出現頻度が増加した。

6) 懸垂試験

各検体の各用量とも懸垂試験で陽性を示すものは 1 例も認められなかった。

7) 回転棒試験

各検体の各用量とも回転棒試験で陽性を示すものは 1 例も認められなかった。

8) 鎮痛作用

i) 酢酸 writhing 法

各検体の各用量とも酢酸 writhing に対する抑制作用は認められなかった。

ii) ハフナー法

各検体の各用量とも鎮痛作用は認められなかった。

9) 体温

BRL 28500 の中間投与量の 900 mg/kg で投与後 3 時間間に有意差が認められたが、その値 ( $37.46^{\circ}\text{C}$ ) は生理的変動の範囲内であった。BRL 28500 の他の投与量および TIPC, CVA-K には対照群と比較し、有意差は認められなかった。

10) 脳波

i) 急性脳波

各検体の各用量とも急性脳波に著しい変化は認められず、音刺激に対する覚醒反応も正常であった (Fig. 1)。

ii) 慢性脳波

各検体の各用量とも自発脳波に著しい変化は認められなかった (Fig. 2)。

11) 条件回避反応

各検体の各用量とも条件回避反応におよぼす影響は認められなかった。

2. 呼吸および心血管系におよぼす影響

1) 呼吸, 血圧, 心拍数および心電図

BRL 28500 の 240 mg/kg, TIPC の 225 mg/kg および CVA-K は 120 mg/kg まで、検体の影響と考えられる変化は認められなかった。BRL 28500 の 480 mg/kg 以上で、投与中より呼吸数の軽度減少あるいは心電図上 T 波の下降する例がみられ、960 mg/kg では軽度な血圧下降が、1,920 mg/kg ではこの血圧下降はより著明となったがこれらの変化はいずれも一過性のものであった (Fig. 3)。また、TIPC の 450 mg/kg 以上で主に投与中に Cheyne-Stokes 様呼吸が 3 例中 1 ないし 3 例に認められ、それに伴った血圧下降、心拍数の変化が認められたがこれらの変化はいずれも一過性のものであった。

2) 血圧反応

各検体の各用量とも Ad, NA, Ach および Hist の血圧反応に対する作用は認められなかった (Fig. 4)。

3) 摘出心臓

BRL 28500 および TIPC の 0.01~5 mg/ml 溶液の 0.2 ml 注入では、変力作用・変時作用に変化はみられなかった。

4) 末梢血管灌流

各検体とも  $10^{-4}$  g/ml までの各濃度の 0.2 ml 注入では灌流量に影響を与えなかった。一方、Ad  $10^{-7}$  g/ml の 0.2 ml 注入では耳介血管の収縮により著明な灌流量の低下が認められた。

3. 平滑筋および自律神経系におよぼす影響

1) 摘出気管

BRL 28500 および TIPC は  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで摘出気管の緊張に影響を与えず、Hist ( $10^{-5}$  g/ml) による収縮に対しても影響を与えなかった。

2) 摘出回腸

i) 自動運動

BRL 28500 および TIPC は  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで摘出回腸の自動運動に影響を与えなかった。

ii) 各 agonist に対する作用

BRL 28500 および TIPC は  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで摘出回腸の Ach ( $10^{-8}$  g/ml), Hist ( $10^{-7}$  g/ml) および  $\text{BaCl}_2$  ( $10^{-4}$  g/ml) による収縮に対して影響を与えなかった (Fig. 5)。

3) 摘出子宮

i) 非妊娠子宮

BRL 28500 および TIPC は  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで摘出非妊娠子宮の自動運動に影響を与えなかった。

ii) 妊娠子宮

BRL 28500 および TIPC は  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで摘出妊娠子宮の自動運動に影響を与えなかった。

4) 生体位子宮

i) 非妊娠子宮

BRL 28500 の 480 mg/kg, TIPC の 450 mg/kg および CVA-K の 30 mg/kg では、非妊娠子宮の自動運動に影響を与えなかった。BRL 28500 の 960 mg/kg 以上および TIPC の 900 mg/kg 以上では、自動運動の軽度亢進が投与直後または 15 分よりみられたが、投与後 1 ないし 2 時間には回復傾向を示した (Fig. 6)。一方、CVA-K の 60 mg/kg 以上では軽度の亢進がみられた例と逆に軽度の抑制がみられた例が各群 2 例ずつあったが、これらの作用は投与後 30 分から 1 時間には回復する傾向がみられた。

ii) 妊娠子宮

Fig. 1 Effects of BRL 28500 on arousal response induced by auditory stimulation in rabbit's EEG (acute preparation)

M. C.; Motor cortex

S. C.; Sensory cortex

HIP.; Dorsal hippocampus

AMY.; Amygdaloid complex

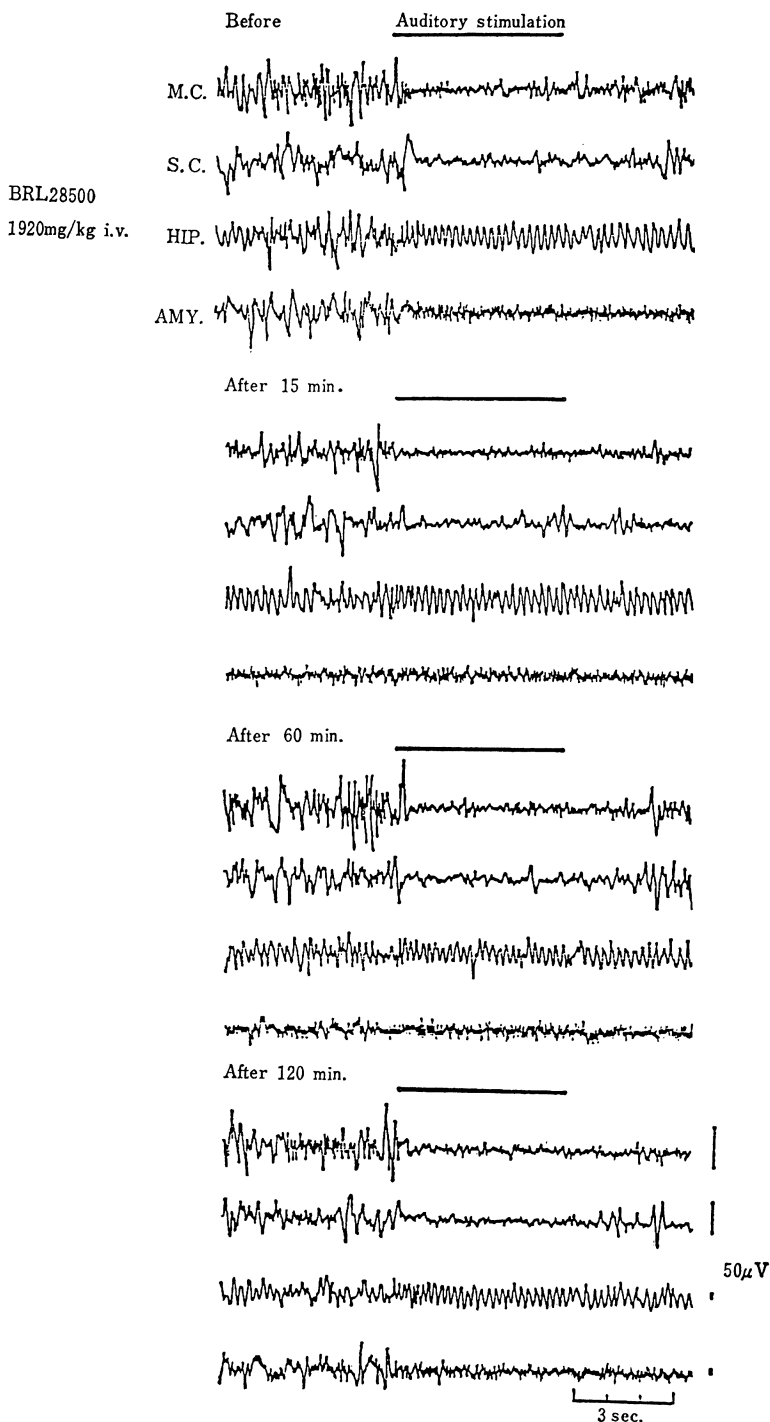


Fig. 2 Effects of BRL 28500 on spontaneous EEG in rabbits (chronic preparation)  
M. C.; Motor cortex      HIP.; Dorsal hippocampus  
S. C.; Sensory cortex    AMY.; Amygdaloid complex

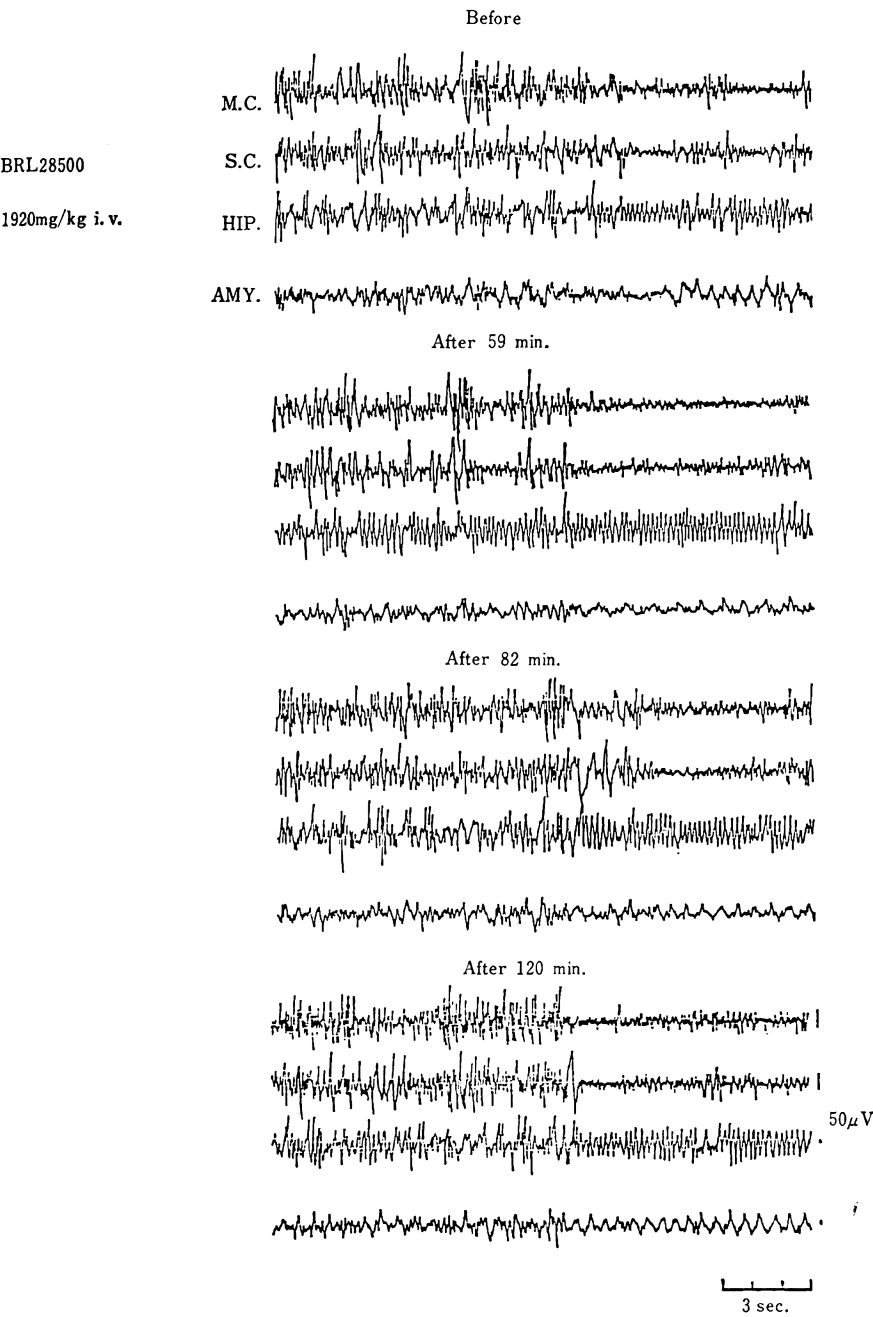




Fig 3 Effects of BRL 28500 on respiration (Resp.), blood pressure (B.P.), heart rate (H.R.),  
ECG and nictitating membrane (M.M.) in the cats

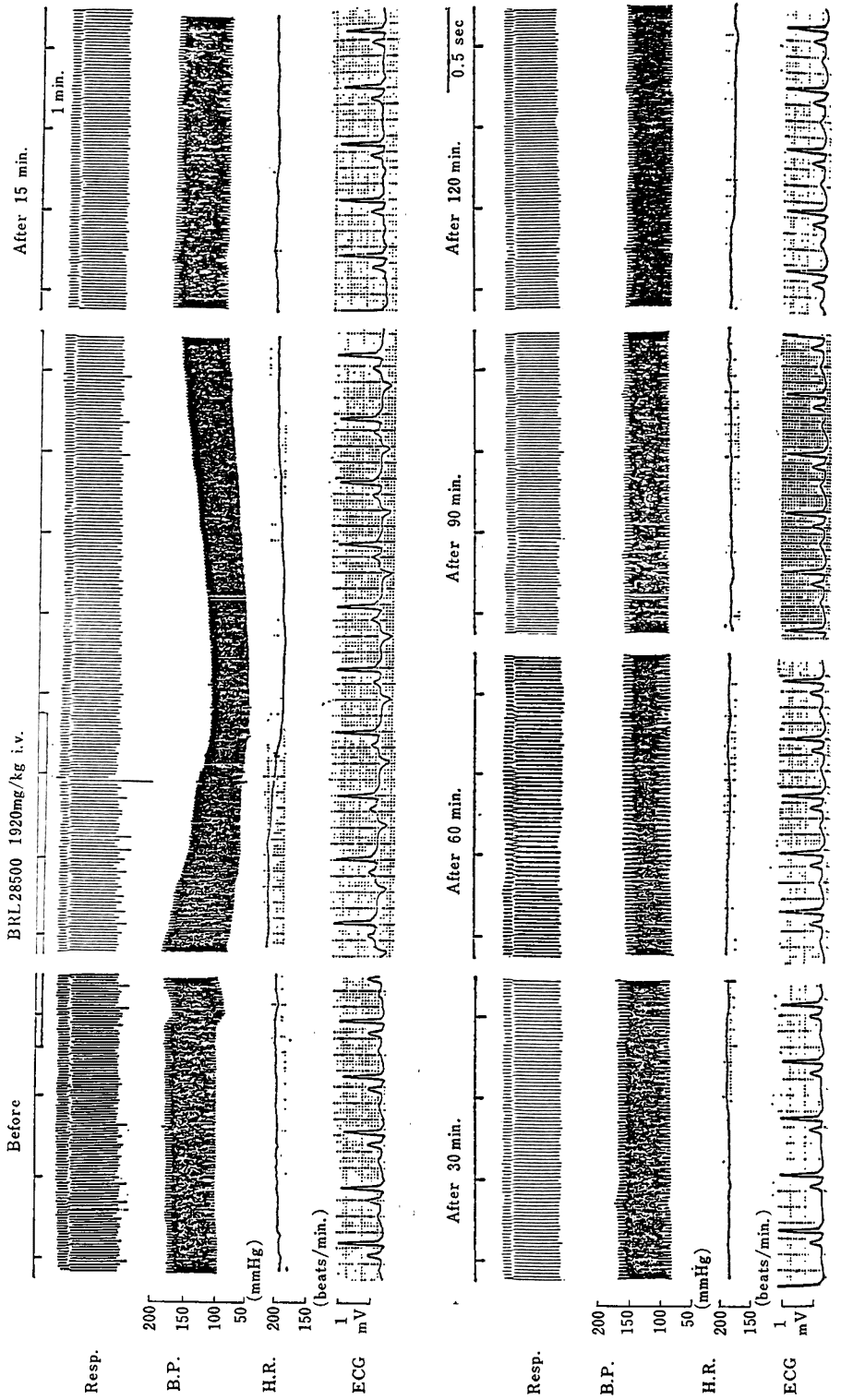
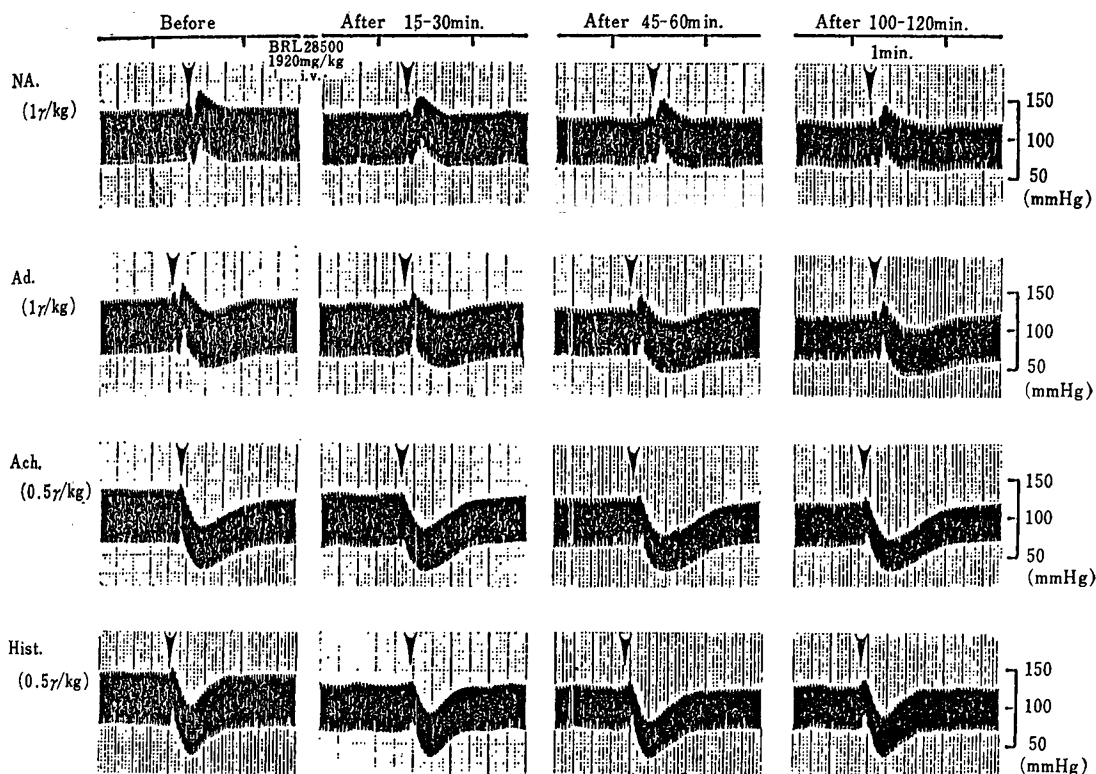


Fig. 4 Effects of BRL 28500 on blood pressure response by noradrenaline (NA.), adrenaline (Ad.), acetylcholine (Ach.) and histamine (Hist.) in cats



妊娠子宮の自動運動に対する各検体の影響は、非妊娠子宮とはほぼ同様であった。

#### 5) 摘出精管

BRL 28500 および TIPC は  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで摘出精管に直接作用せず、NA ( $10^{-5}$  g/ml) による収縮に対しても影響を与えなかった。

#### 6) 瞬膜

BRL 28500 の 1,920 mg/kg, TIPC の 1,800 mg/kg では投与直後より 1 ないし 2 時間後まで軽度な瞬膜収縮の抑制を示したが、CVA-K では 120 mg/kg まで影響を与えなかった。

#### 4. 末梢神経系におよぼす影響

##### 1) 横隔膜神経筋標本

BRL 28500 および TIPC は  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで、摘出横隔膜神経筋標本に対して影響を与えなかった。

##### 2) 坐骨神経腓腹筋標本

各検体の各用量とも坐骨神経腓腹筋標本に影響を与えなかった。

##### 3) 脊髓反射

各検体の各用量とも脊髓反射に影響を与えなかった。

##### 4) 局所麻酔作用

BRL 28500 および TIPC の 5~20%, CVA-K の 1~4% 溶液ではいずれも角膜反射の消失は認められなかった。

#### 5. 消化器系におよぼす影響

##### 1) 生体位胃運動

BRL 28500 の 480 mg/kg 以上および TIPC の 450 mg/kg 以上で、投与直後または 15 分より胃運動の軽度亢進がほぼ用量に依存してみられた。これらの作用は、高用量の数例を除いて投与後 60~90 分より回復傾向を示した (Fig. 7)。一方、CVA-K では 120 mg/kg で数例に軽度な亢進が投与後 15~30 分に認められたのみであった。

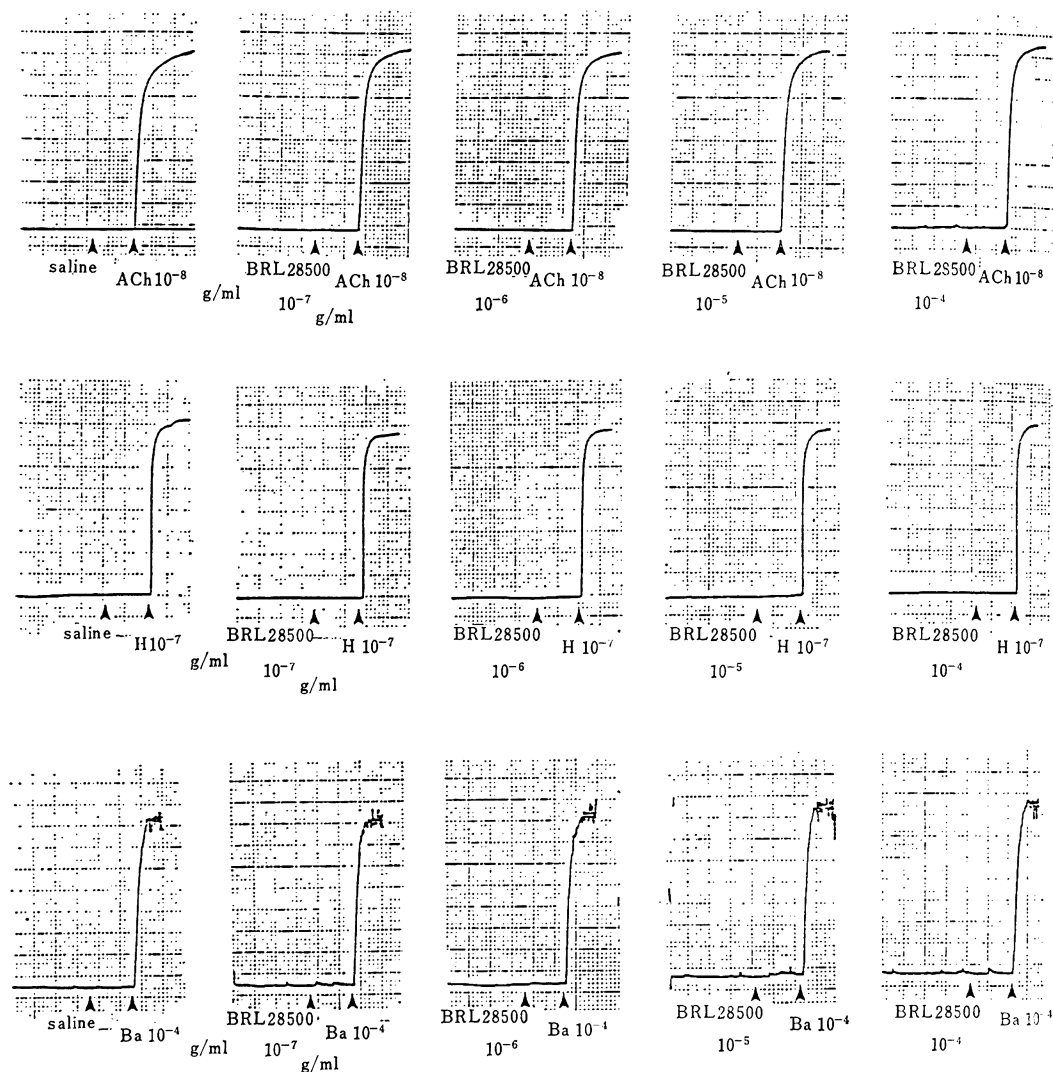
##### 2) 炭末輸送能

各検体の各用量とも消化管の炭末輸送能に対する作用は認められなかった。

##### 3) 胃液分泌

BRL 28500 の 480 mg/kg 以上では胃液の pH に有意な上昇が、さらに 1,920 mg/kg では胃液量と総酸度の有意な減少がみられた。TIPC では、1,800 mg/kg で胃液量と総酸度の有意な減少が、CVA-K では 120 mg/kg で総酸度の有意な減少がみられた (Table 2)。

Fig. 5 Effects of BRL 28500 on agonists-induced contraction in isolated ileum of guinea pigs



## 4) 胆汁分泌

BRL 28500 の 480 mg/kg 以上および TIPC の 450 mg/kg 以上では、投与後 30~120 分にかけてほぼ用量に依存して胆汁分泌の増加が認められた。一方、CVA-K では 120 mg/kg まで有意な変化は認められなかった (Table 3)。

## 6. 血液におよぼす影響

## 1) 血液凝固

BRL 28500 は 960 mg/kg まで、TIPC は 1,800 mg/kg まで、CVA-K は 120 mg/kg まで PT および APTT に変化は認められなかった。BRL 28500 の 1,920 mg/kg では PT に軽度の延長が認められたが、APTT に変

化は認められなかった (Table 4)。

## 2) 溶血試験

BRL 28500 および TIPC は 100 mg/ml まで、CVA-K は 40 mg/ml まで溶血性はみられず、BRL 28500 および TIPC の 200 mg/ml では軽度の溶血が認められた。

## 3) 赤血球浸透圧脆弱性試験

各検体の各用量とも赤血球浸透圧脆弱性に影響を与えなかった。

## 4) 血小板凝集

各検体とも  $10^{-4}$  g/ml の濃度まで Arachidonic acid および Collagen 凝集に対し影響を与えなかった。

## 7. その他におよぼす影響

Fig. 6 Effects of BRL 28500 on spontaneous motility of non-pregnant rats uterus in situ

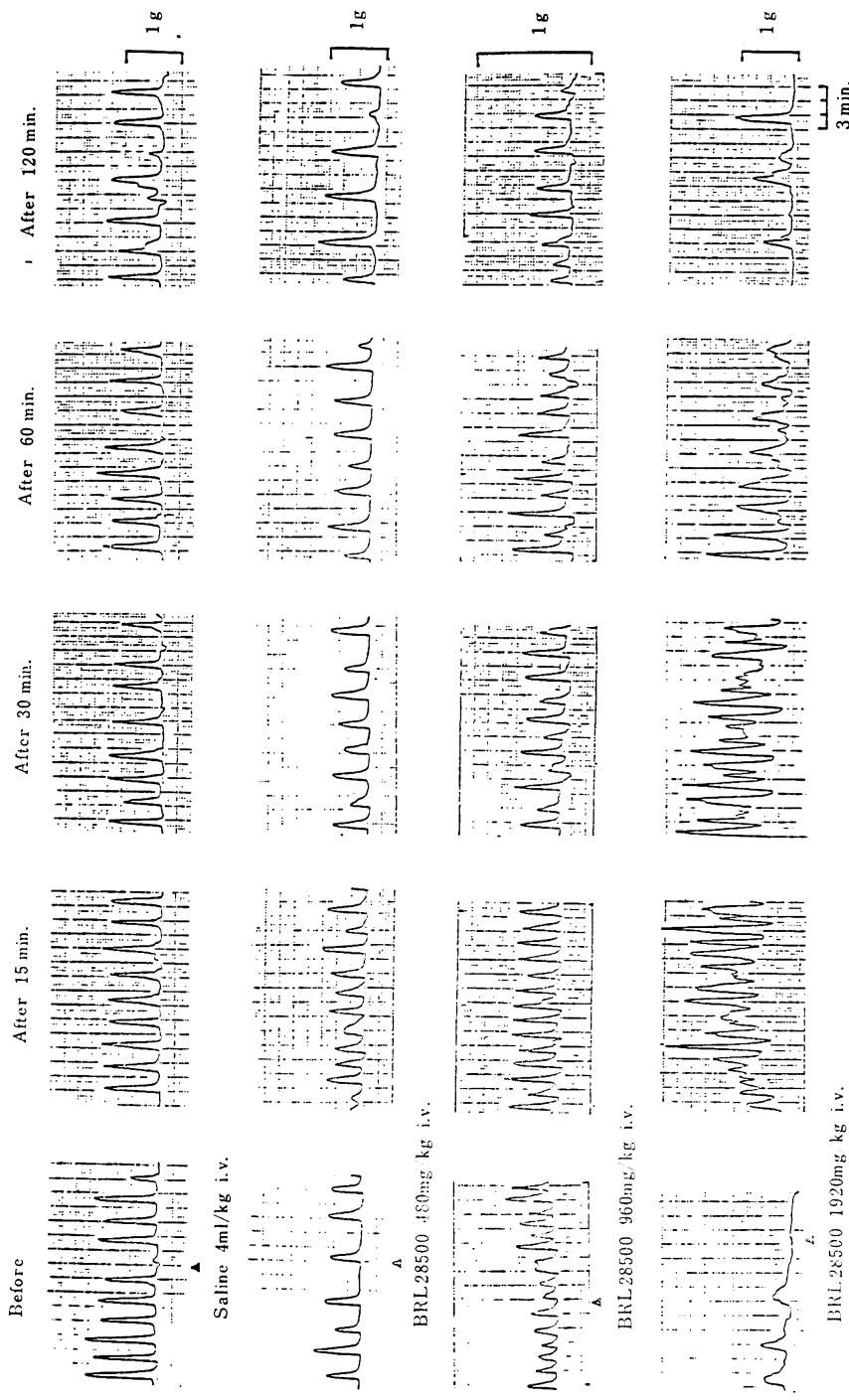


Fig. 7 Effects of BRL 28500 on spontaneous gastric motility in situ in the anesthetized rabbits

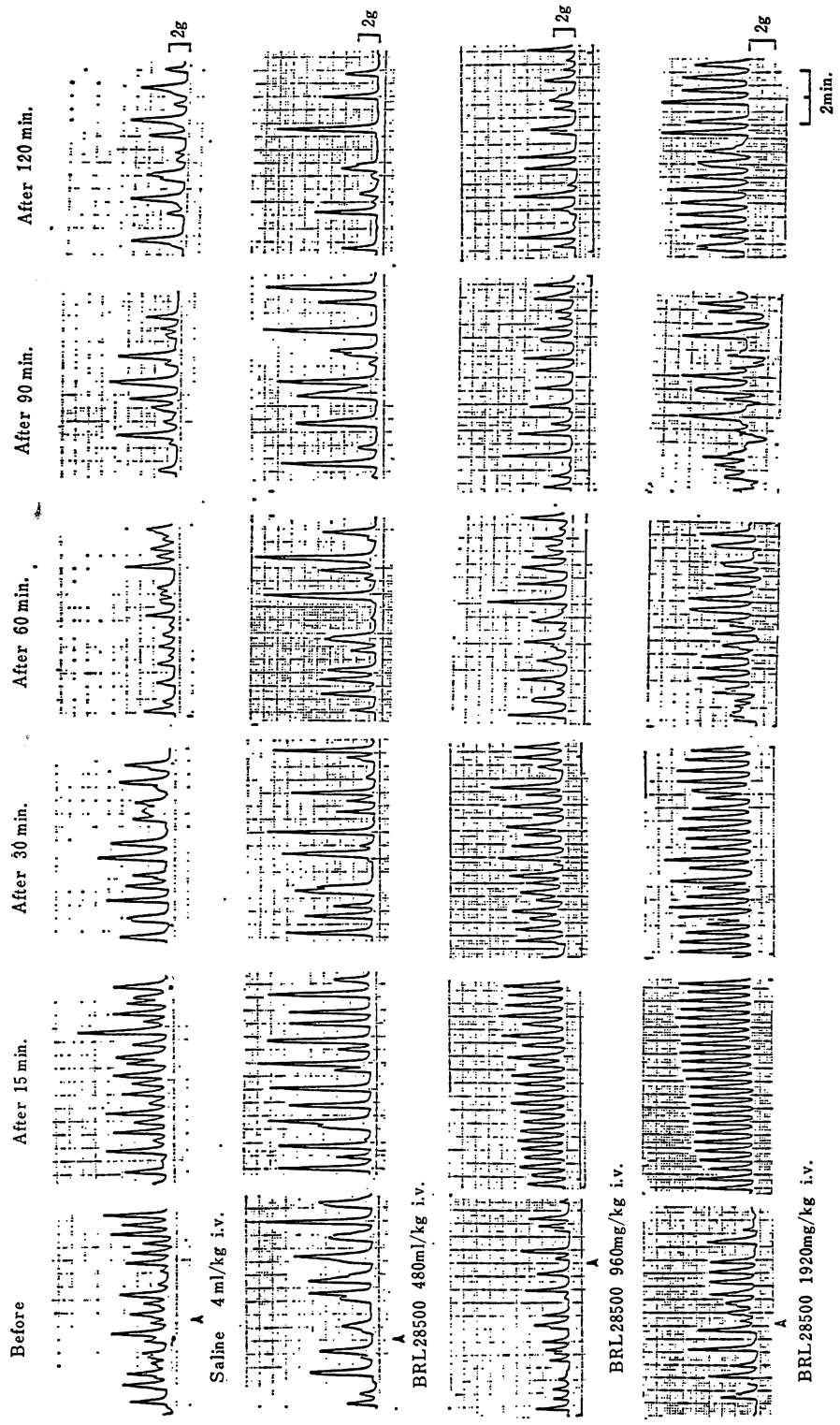


Table 2 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	Volume (ml)	Total acidity (mEq/l)	PH	Na <sup>+</sup> (mEq/l)	K <sup>+</sup> (mEq/l)
Control (saline)	—	6.98±3.06	94.0±16.2	1.54±0.11	61.2± 7.3	10.3± 2.1
BRL28500	480	7.28±2.97	89.1±29.3	1.72±0.13*	63.7±11.9	16.1± 4.9*
	960	6.08±2.34	82.2±16.1	1.83±0.24*	67.0±24.8	11.6± 4.2
	1,920	3.45±1.02*	59.9±18.9**	2.81±1.05*	71.3±19.3	19.6±12.5
TIPC	450	6.15±1.13	75.1±15.2	1.73±0.20	62.5±13.4	12.0± 7.0
	900	5.03±2.06	74.5±23.6	2.29±1.27	58.0±26.8	11.5± 7.2
	1,800	3.50±0.83*	59.9±21.5*	2.46±0.91	62.5±30.7	9.8± 5.4
CVA-K	30	6.55±1.05	89.4±17.4	1.53±0.12	56.2±16.6	15.1± 5.5
	60	6.22±0.69	90.3±11.2	1.56±0.25	60.3±14.5	12.5± 1.9
	120	5.12±1.17	59.9±24.1*	2.57±1.66	68.7±17.6	19.4± 8.9

Each value is the mean±S.D.

Significant difference from control (\*P<0.05,\*\*P<0.01)

Number of animals=6

Rats were sacrificed at 4hr after ligation to remove the stomach

Table 3 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K on excretion of Bile in rats

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	Before	Time after administration (min)			
			30	60	90	120
Control (saline)	—	0.446±0.120	0.341±0.055	0.310±0.049	0.313±0.058	0.314±0.046
BRL28500	480	0.573±0.047	0.903±0.144**	0.856±0.081**	0.750±0.092**	0.620±0.059
	960	0.369±0.223	0.606±0.349	0.629±0.388	0.548±0.285	0.475±0.245
	1,920	0.450±0.169	0.792±0.213**	0.908±0.381*	0.826±0.231**	0.632±0.233
TIPC	450	0.535±0.152	0.848±0.225**	0.800±0.159**	0.675±0.173	0.639±0.151
	900	0.479±0.132	0.904±0.275**	0.852±0.297**	0.715±0.144**	0.646±0.161
	1,800	0.480±0.113	0.789±0.217**	0.864±0.288**	0.781±0.103**	0.704±0.069**
CVA-K	30	0.429±0.104	0.348±0.066	0.342±0.058	0.320±0.054	0.315±0.050
	60	0.418±0.120	0.405±0.089	0.350±0.047	0.354±0.037	0.363±0.038
	120	0.524±0.152	0.488±0.108	0.469±0.083	0.433±0.062	0.425±0.038

Each value is the mean±S.D.(g)

Number of animals=6

Significant difference from before and control(\*P<0.05,\*\*P<0.01)

Table 4 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K on the blood coagulation in rats

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	P.T. (sec)	A.P.T.T. (sec)
Control (saline)	—	14.7±0.6	19.9±1.2
BRL28500	480	14.8±0.2	20.3±0.5
	960	14.7±0.2	20.5±1.0
	1,920	15.5±0.6*	21.4±2.2
TIPC	450	14.6±0.4	19.9±0.7
	900	15.0±0.6	20.9±1.5
	1,800	14.4±0.2	20.2±1.0
CVA-K	30	14.2±0.2	19.3±1.0
	60	14.4±0.3	20.0±0.5
	120	14.7±0.4	19.3±0.7

Each value is the mean±S.D.

Number of animals=6

Significant difference from  
control (\*P<0.05)

P.T. : Prothrombin time

A.P.T.T. : Activated partiel thrombo-  
plastin time

Table 5 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K on urine excretion and its electrolyte levels in rats

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	Urine Volume (ml/100g)	Na <sup>+</sup> ( $\mu$ Eq/100g)	K <sup>+</sup> ( $\mu$ Eq/100g)	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup> ( $\mu$ Eq/100g)
Control (saline)	—	1.48 $\pm$ 0.59	227 $\pm$ 60	184 $\pm$ 36	1.24 $\pm$ 0.31	304 $\pm$ 59
BRL28500	480	1.30 $\pm$ 0.59	308 $\pm$ 132	210 $\pm$ 66	1.48 $\pm$ 0.31	282 $\pm$ 119
	960	1.52 $\pm$ 0.53	406 $\pm$ 126**	231 $\pm$ 39*	1.74 $\pm$ 0.35**	268 $\pm$ 80
	1,920	1.99 $\pm$ 0.55	674 $\pm$ 181**	258 $\pm$ 77*	2.72 $\pm$ 0.51**	308 $\pm$ 103
TIPC	450	1.25 $\pm$ 0.57	298 $\pm$ 112	203 $\pm$ 66	1.50 $\pm$ 0.41	247 $\pm$ 96
	900	1.09 $\pm$ 0.28	305 $\pm$ 66*	175 $\pm$ 49	1.80 $\pm$ 0.41**	191 $\pm$ 62**
	1,800	2.15 $\pm$ 0.32**	713 $\pm$ 83**	230 $\pm$ 46*	3.19 $\pm$ 0.61**	314 $\pm$ 76
CVA-K	30	1.37 $\pm$ 0.58	206 $\pm$ 81	200 $\pm$ 103	1.12 $\pm$ 0.35	269 $\pm$ 94
	60	1.82 $\pm$ 0.94	259 $\pm$ 78	226 $\pm$ 68	1.15 $\pm$ 0.20	341 $\pm$ 107
	120	2.53 $\pm$ 0.82**	356 $\pm$ 107**	247 $\pm$ 27**	1.45 $\pm$ 0.46	420 $\pm$ 55**

Each value is the mean $\pm$ S.D.

Number of animals=10

Significant difference from control(\*P&lt;0.05,\*\*P&lt;0.01)

Table 6 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K on urine excretion in rats

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	Urine Volume(ml)				
		Total	0-1hr.	1-2hr.	2-4hr.	4-6hr.
Control (saline)	—	2.34 $\pm$ 1.01	0.47 $\pm$ 0.59	0.29 $\pm$ 0.27	0.81 $\pm$ 0.82	0.77 $\pm$ 0.43
BRL28500	480	2.03 $\pm$ 0.91	0.30 $\pm$ 0.27	0.59 $\pm$ 0.44	0.57 $\pm$ 0.48	0.57 $\pm$ 0.44
	960	2.42 $\pm$ 0.71	0.93 $\pm$ 0.49	0.39 $\pm$ 0.34	0.58 $\pm$ 0.42	0.52 $\pm$ 0.39
	1,920	3.03 $\pm$ 0.88	1.66 $\pm$ 0.71**	0.54 $\pm$ 0.57	0.58 $\pm$ 0.37	0.25 $\pm$ 0.27**
TIPC	450	1.87 $\pm$ 0.84	0.14 $\pm$ 0.25	0.48 $\pm$ 0.61	0.51 $\pm$ 0.66	0.74 $\pm$ 0.63
	900	1.69 $\pm$ 0.48	0.60 $\pm$ 0.51	0.38 $\pm$ 0.53	0.50 $\pm$ 0.31	0.21 $\pm$ 0.33**
	1,800	3.37 $\pm$ 0.51**	1.99 $\pm$ 0.21**	0.77 $\pm$ 0.32**	0.51 $\pm$ 0.19	0.10 $\pm$ 0.14**
CVA-K	30	2.15 $\pm$ 0.94	0.38 $\pm$ 0.49	0.36 $\pm$ 0.53	1.09 $\pm$ 0.81	0.32 $\pm$ 0.33*
	60	2.91 $\pm$ 1.73	0.63 $\pm$ 0.75	0.60 $\pm$ 0.69	0.97 $\pm$ 0.60	0.71 $\pm$ 0.74
	120	3.88 $\pm$ 1.20**	0.65 $\pm$ 0.49	1.40 $\pm$ 1.00**	1.04 $\pm$ 0.42	0.79 $\pm$ 0.53

Each value is the mean $\pm$ S.D.

Number of animals=10

Significant difference from control(\*P&lt;0.05,\*\*P&lt;0.01)

Table 7 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K on serum glucose, free fatty acid and triglyceride in rats

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	Serum Glucose (mg/dl)	Free Fatty Acid (mEq/l)	Triglyceride (mg/dl)
Control (saline)	—	106.8 $\pm$ 9.4	0.650 $\pm$ 0.090	93.4 $\pm$ 21.7
BRL28500	480	107.7 $\pm$ 9.7	0.687 $\pm$ 0.057	100.4 $\pm$ 23.7
	960	107.7 $\pm$ 10.8	0.792 $\pm$ 0.124*	105.2 $\pm$ 20.0
	1,920	108.3 $\pm$ 6.3	0.675 $\pm$ 0.068	97.7 $\pm$ 15.9
TIPC	450	104.1 $\pm$ 8.2	0.875 $\pm$ 0.050**	93.9 $\pm$ 14.5
	900	100.0 $\pm$ 8.5	0.695 $\pm$ 0.087	114.7 $\pm$ 16.5
	1,800	113.6 $\pm$ 16.0	0.750 $\pm$ 0.143	108.5 $\pm$ 14.7
CVA-K	30	95.6 $\pm$ 12.6	0.830 $\pm$ 0.129*	121.6 $\pm$ 11.9*
	60	102.8 $\pm$ 2.9	0.740 $\pm$ 0.085	113.9 $\pm$ 22.0
	120	102.5 $\pm$ 6.6	0.637 $\pm$ 0.112	106.4 $\pm$ 15.1

Each value is the mean $\pm$ S.D.

Significant difference from control(\*P&lt;0.05,\*\*P&lt;0.01)

Number of animals=6

Table 8 Effects of BRL 28500, TIPC and CVA-K in the ICG excretion test in rats

Drugs	Doses (mg/kg i.v.)	Serum ICG (mg/dl)
Control (saline)	—	0.247±0.034
BRL28500	120	0.299±0.050*
	240	0.324±0.037**
TIPC	112.5	0.292±0.045*
	225	0.530±0.150**
CVA-K	7.5	0.252±0.026
	15	0.306±0.079
Control (saline)	—	0.241±0.031
BRL28500	480	0.341±0.036**
	960	0.427±0.054**
	1,920	0.470±0.059**
TIPC	450	0.362±0.041**
	900	0.495±0.067**
	1,800	0.613±0.127**
CVA-K	30	0.377±0.060**
	60	0.382±0.083**
	120	0.389±0.068**

Each value is the mean±S.D.

Significant difference from control(\*P&lt;0.05,\*\*P&lt;0.01)

Number of animals=10

## 1) 尿量および尿中電解質

BRL 28500 の 480 mg/kg, TIPC の 450 mg/kg および CVA-K の 60 mg/kg までは尿量および尿中電解質に有意な変化は認められなかった。BRL 28500 の 960 および 1,920 mg/kg では  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  および  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比に有意な増加が認められた。TIPC の 900 mg/kg では  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比に有意な増加が, 1,800 mg/kg ではさらに尿量および  $\text{K}^+$  に有意な増加が認められた。また, CVA-K の 120 mg/kg では尿量,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  および  $\text{Cl}^-$  に有意な増加が認められた。一方, 尿量排泄の経時変化をみると, BRL 28500 の 1,920 mg/kg では 0~1 時間尿で有意な増加が, 4~6 時間尿で有意な減少がみられた。TIPC の 900 mg/kg では 4~6 時間尿で有意な増加が, 1,800 mg/kg では 0~1 時間尿および 1~2 時間尿で有意な増加が, 4~6 時間尿で有意な減少がみられた。また, CVA-K の 120 mg/kg では 1~2 時間尿で有意な増加がみられた (Table 5, 6)。

## 2) 血清 Glucose, FFA および Triglyceride

BRL 28500 の 480, 1,920 mg/kg, TIPC の 900, 1,800 mg/kg および CVA-K の 60, 120 mg/kg では, 血清 Glucose, FFA および Triglyceride に対照群と有意差は認められなかった。BRL 28500 の 960 mg/kg および TIPC の 450 mg/kg では FFA に有意な増加が,

CVA-K の 30 mg/kg では FFA および Triglyceride に有意な増加がみられたが, いずれも軽度で正常範囲内であった (Table 7)。

## 3) ICG 排泄試験

血清 ICG 濃度は, BRL 28500 の 120 mg/kg 以上, TIPC の 112.5 mg/kg 以上および CVA-K の 30 mg/kg 以上で, ほぼ用量に依存して高値を示し, ICG の排泄遅延がみられた (Table 8)。

## 4) 感覚器

各検体の各用量とも耳介反射, 角膜反射, 瞳孔反射および瞳孔径におよぼす影響は認められなかった。

## IV. 総括ならびに考察

BRL 28500 とその配合成分である CVA-K および TIPC についてマウス, ラット, モルモット, ウサギおよびネコを用い一般薬理作用を検討した。

中枢神経系において, マウスおよびラットの一般行動観察では, ラットにおいて, CVA-K の 120 mg/kg で軽度な一過性の呼吸促進が認められた以外は, いずれの検体においても異常は認められなかった。麻酔増強作用では, TIPC の 1,800 mg/kg および CVA-K の 120 mg/kg で麻酔時間の軽度延長が認められたが, BRL 28500 では 1,920 mg/kg まで作用は認められなかった。自発運動量, 抗痙攣作用 (抗 Pentetrazol 作用, 抗電撃痙攣



作用), 抗 Tremorine 作用, 懸垂試験, 回転棒試験, 鎮痛作用 (酢酸 writhing 法, ハフナー法), 体温, 脳波 (急性, 慢性脳波), 条件回避反応の各試験において, いずれの検体とも作用および影響は認められなかった。

呼吸および心血管系において, ネコの呼吸, 血圧, 心拍数および心電図に対して, BRL 28500 の 240 mg/kg では作用を示さなかったが, 480 mg/kg 以上より呼吸数の軽度減少あるいは心電図上 T 波の下降する例がみられ, 960 mg/kg 以上では軽度な血圧下降がみられた。TIPC では, 450 mg/kg 以上で主に投与中に Cheyne-Stokes 様呼吸およびそれに伴う血圧下降を示す例がみられたが, CVA-K では 120 mg/kg まで呼吸, 循環器系に作用を示さなかった。血圧反応 (Ad, NA, Ach, Hist), 摘出心臓および末梢血管灌流においては, 三検体とも作用および影響は認められなかったことより, BRL 28500 投与による血圧下降は心仕事量の減少あるいは末梢血管の拡張等によるものとは考えられない。また, TIPC で観察された呼吸器系の症状は, マウス, ラットの一般症状の観察時およびウサギの慢性脳波の実験ではいずれも観察されていない。さらに, 本多ら<sup>1)</sup>は TIPC の 1,000 mg/kg をビーグル犬に静脈内投与した場合, 呼吸になんら影響を与えなかったと報告しており, 今回観察された症状はネコ特有の現象とも考えられる。

平滑筋および自律神経系について, BRL 28500 および TIPC は摘出気管 (単独, 抗 Hist 作用), 摘出回腸 (単独, 抗 Ach, 抗 Hist, 抗 BaCl<sub>2</sub> 作用), 摘出子宮 (非妊娠, 妊娠) および摘出精管 (単独, 抗 NA 作用) に対する作用はいずれも認められなかった。さらに, CVA-K について著者らは今回実施したと同様の *in vitro* の試験系において, 何ら作用を示さないことを報告している<sup>6)</sup>。一方, 生体位子宮については, 自動運動の軽度亢進が BRL 28500 の 960 mg/kg 以上および TIPC の 900 mg/kg 以上でみられ, CVA-K では 60 mg/kg 以上でみられた。また, 瞬膜収縮の軽度抑制が, BRL 28500 の 1,920 mg/kg および TIPC の 1,800 mg/kg でみられたが, CVA-K では 120 mg/kg まで瞬膜収縮に影響を与えなかった。

末梢神経系において, BRL 28500 および TIPC は横隔膜神経筋標本に対して作用はなく, さらに坐骨神経腓腹筋標本, 脊髄反射および局所麻酔作用では, 三検体とも作用は認められなかった。

消化器系においては, 生体位胃運動では BRL 28500 は 480 mg/kg 以上, TIPC は 450 mg/kg 以上で運動の亢進する傾向が認められたが, CVA-K では 120 mg/kg まで影響は認められなかった。また, BRL 28500 の 480

mg/kg および TIPC の 450 mg/kg で認められた胃運動の亢進は軽度であり, 対照群でも同程度亢進する例がみられていることから, 生理的変動の範囲内と考えられた。胃液分泌については, BRL 28500 は 480 mg/kg 以上で胃液 pH の上昇がみられ, さらに 1,920 mg/kg で胃液分泌の抑制がみられた。この胃液 pH の上昇は, 検体に含まれる Na および K 塩の影響が大きいと考えられる。また, TIPC においても 1,800 mg/kg で同様に胃液分泌の抑制が, CVA-K では 120 mg/kg で総酸度の減少が認められた。胆汁分泌に対して, BRL 28500 の 480 mg/kg 以上および TIPC の 450 mg/kg 以上では用量に依存して分泌の増加が認められたが, CVA-K では 120 mg/kg まで分泌の増加は認められなかった。この BRL 28500 および TIPC による胆汁分泌の増加は, TIPC が胆汁中に分泌されること<sup>15)</sup>によるものと考えられる。炭末輸送能については, 三検体とも作用は認められなかった。

血液に関しては, 凝固系において BRL 28500 の 1,920 mg/kg で PT の有意な延長が認められたが, その延長は極めて軽度であり出血傾向を示唆するものではなかった。溶血試験においては, BRL 28500, TIPC とも 200 mg/ml (20%) で軽度な溶血がみられたが, 100 mg/ml 以下ではともに溶血性はみられなかった。また, CVA-K は 40 mg/ml まで溶血性はみられなかった。赤血球浸透圧脆弱性試験では, 三検体とも影響は認められなかった。さらに, Arachidonic acid および Collagen による血小板凝集反応に対して, 三検体とも影響を与えなかった。

腎機能に関して, BRL 28500 の 960 mg/kg 以上で Na<sup>+</sup> および K<sup>+</sup> 排泄量が増加した。TIPC では 900 mg/kg で Na<sup>+</sup> 排泄量の増加, 1,800 mg/kg では尿量, Na<sup>+</sup> および K<sup>+</sup> 排泄量の増加がみられた。また, CVA-K では 120 mg/kg で尿量, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> および Cl<sup>-</sup> 排泄量の増加がみられた。TIPC 投与による Na<sup>+</sup> 排泄量の増加は, TIPC が 2 Na 塩であるためと考えられ, CVA-K では生体にとって過剰に投与された K<sup>+</sup> が排泄された時に, Na<sup>+</sup> および Cl<sup>-</sup> の移動を誘発したのと考えられる。また, 尿量の経時的変化をみると BRL 28500 および TIPC では投与 0~1 時間に増加が著明であり, CVA-K では投与 1~2 時間に増加がみられた。これら尿量の増加は, Na<sup>+</sup> および K<sup>+</sup> 排泄量の増加に伴って生じたものと考えられる。

その他に, 血清 Glucose, FFA および Triglyceride の測定では, FFA および Triglyceride に有意な増加がみられた群があったが, それらの値は正常範囲内に入り, また用量依存性もみられないことから, 検体の影響

とは考えられない。ICG 排泄試験では、BRL 28500 は 120 mg/kg 以上で、TIPC は 112.5 mg/kg 以上で有意に ICG 排泄能を抑制した。また、CVA-K では 30 mg/kg 以上で ICG 排泄能を抑制したが、その程度は他の 2 剤に比較して軽度であった。ICG や BSP (Sulfobromophthalein) のような物質は、そのほとんどが循環血液の中から胆汁中に速やかに移行することを利用して肝機能の検査に使用されるが、Probenecid や Rifampicin のような胆汁中に排泄される薬物によって阻害されることが知られている<sup>14)</sup>。TIPC は、BRL 28500 の静脈内投与後 24 時間で胆汁中に約 30% 排泄される<sup>15)</sup>ため、ICG の排泄において競合的な排泄阻害が起きたものと考えられる。感覚器については、三検体とも影響は認められなかった。

今回の試験において BRL 28500 で認められた作用は、いずれも TIPC あるいは CVA-K においても認められており、しかもその発現程度も近似していたことから、配合することにより作用の増強もしくは新たな作用の発現等はないものと判断した。

#### 文 献

- 1) 本多文夫, 小野隆治, 森 襄, 大塚 実: Ticarcillin の一般薬理作用。Chemotherapy 25 : 2477~2483, 1977
- 2) 渋谷 健: Naive behavior の肉眼観察による行動。日医師会誌, 58 : 1217~1226, 1968
- 3) SCHREIBER, R. A. & K. SCHLESINGER : Circadian rhythms and seizure susceptibility : Relation to 5-Hydroxy-tryptamine and norepinephrine in brain. Physiolog. and Behavior. 6 : 635~640, 1971
- 4) SCHECHTER, P. J. : Y. TRANIER, M. J. JUNG & A. SJOERDSMA : Antiseizure activity of  $\gamma$ -acetylenic  $\gamma$ -aminobutyric acid : a catalytic irreversible inhibitor of  $\gamma$ -aminobutylic acid transaminase. J. Pharmacol. Exp. Ther. 201 : 606~712, 1977
- 5) COURVOISIER, S. : R. DUCROT & L. JULON : Psychotropic Drugs, Edited by GARATTINI. S. and GHETTI, V. p. 373~391, Elsevier, Amsterdam, 1957
- 6) 西森司雄, 小林文夫, 西村敬治, 若林啓子, 太田誠, 土山道夫, 中川 修, 浅野まゆみ : BRL 14151 K および BRL 25000 の一般薬理作用。Chemotherapy 31 (S-2) : 280~296, 1983
- 7) SAWYER, C. H. : J. W. EVERETT & J. D. GREEN : The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. J. Comp. Neurol. 101 : 801~824, 1954
- 8) KATZUNG, B. : Medical Research Series. Vol. 3, (Selected Pharmacological Testing Methods) Edited by BURGER, A. p. 187, Marcel Dekker, Inc. 1968
- 9) BÜLBRING, E. : Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. Brit. J. Pharmacol. 1 : 38~61, 1946
- 10) SHIBUYA, T. & E. G. ANDERSON : The influence of chronic cord transection on the effects of 5-Hydroxytryptophan, 1-tryptophan and pargyline on spinal neuronal activity. J. Pharmacol. Exp. Ther. 164 : 185~190, 1968
- 11) TRENDLENBURG, P. : Eine neue Methode zur Registrierung der Darmtätigkeit. Z. Biol. 61 : 67~72, 1913
- 12) SHAY, H. ; S. A. KOMAROV, S. S. FELS, D. MERANZE, M. GRUENSTEIN & H. SIPLER : A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. Gastroenterology 5 : 43~61, 1945
- 13) PULEWKA, P. : Das Auge der weißen Maus als pharmakologisches Testobjekt. I. Mitteilung : Eine Methode zur quantitativen Bestimmung kleinster Mengen Atropin und anderer Mydriatika. Arch. Exp. Path. Pharmacol. 168 : 307~318, 1932
- 14) 花野 学 : 薬物併用, 加藤隆一, 清水直容編, p. 121, 中外医学社, 東京, 1979
- 15) 熊倉博之, 他 : Clavulanic acid および BRL 28500 のラットおよびマウスにおける体内動態。Chemotherapy 34(S-4) : 187~201, 1986

## GENERAL PHARMACOLOGICAL STUDY OF BRL 28500

YOSHITAKA NISHIOKA, YUTAKA KITAMURA,  
RYUTARO ISHII and YOSHINOBU KOSHIMA  
Beecham Yakuhin K. K.

TSUKAO NISHIMORI, FUMIO KOBAYASHI, TAKAHARU NISHIMURA,  
MICHIO TSUCHIYAMA and KYUYA MORINO  
Department of Pharmacology, Biological Research Center for Protection of Environment

JOHN D. FLACK  
Beecham Pharmaceuticals Research Division

General pharmacological properties of BRL 28500 and its components CVA-K and TIPC were studied by administering these compounds intravenously.

With regard to the central nervous system, gross observations on mice and rats revealed no abnormal findings other than a slight and transient effect on the respiratory system of rats at 120 mg/kg of CVA-K. Prolongation of thiopental hypnosis was noted in animals treated with TIPC at 1,800 mg/kg and CVA-K at 120 mg/kg, but not with BRL 28500. Otherwise, no effects on the central nervous system were noted. Studies on the respiratory and cardiovascular systems of cats showed that BRL 28500 at 480 mg/kg and above tended to reduce mildly the respiratory rate and depressed the T-wave in some animals, and at 960 mg/kg and above caused a decrease in blood pressure, though no effects were observed on the blood pressure responses to sympathetic and parasympathetic agents. No effects were observed on the isolated heart nor on the peripheral blood vessel circulation. With regard to the smooth muscle and the autonomic nervous system, slight acceleration of the spontaneous movement of uterus in situ was noted with BRL 28500 at 960 mg/kg and above and TIPC at 900 mg/kg and above. A small decrease of the contraction of the nictitating membrane was noted with BRL 28500 at 1,920 mg/kg and TIPC at 1,800 mg/kg. Otherwise, no effects were observed. In the tests on the peripheral nervous system, all three compounds showed no effects. With regard to the digestive system, mild acceleration of the spontaneous gastric motility was noted with BRL 28500 at 480 mg/kg and above and TIPC at 450 mg/kg and above, though the charcoal propulsive movement was unaffected. Inhibition of gastric secretion was noted with BRL 28500 at 1,920 mg/kg and TIPC at 1,800 mg/kg, while biliary secretion was enhanced with BRL 28500 at 480 mg/kg and above and TIPC at 450 mg/kg and above. In the ICG test, an inhibitory effect on clearance of ICG was noted with BRL 28500 at 120 mg/kg and above, TIPC at 112.5 mg/kg and above and CVA-K at 30 mg/kg and above. The enhanced biliary secretion and the inhibition of ICG excretion seem to have been due to TIPC being excreted into bile. With regard to blood, slight prolongation of PT was noted with BRL 28500 at 1,920 mg/kg and mild hemolysis was noted in 200 mg/ml solutions of BRL 28500 and TIPC. Otherwise, no effects were observed. With regard to the renal functions, increases in the urine volume and urinary electrolytes were noted with BRL 28500 at 960 mg/kg and above, TIPC at 900 mg/kg and above and CVA-K at 120 mg/kg. All these changes seem to have been due to sodium and potassium salt contained in the test compounds. Serum glucose, FFA, TG and the sensory organs were not affected by the test compounds.