

Carumonam sodium の一般薬理作用

鬼頭 剛・北吉正人・奥田裕子・佐治美昭・菊地健三

武田薬品工業株式会社中央研究所

Carumonam sodium (CRMN) の一般薬理作用を各種動物を用いて検討した。

CRMN は高用量(300~1,000 mg/kg)の静脈内投与でも、マウスの一般症状、協調運動およびラットの正常体温に無影響であり、マウスにおいて睡眠増強あるいは鎮痛作用も示さなかった。また、ネコの自発脳波(300 mg/kg, i.v.) および脊髄反射(300 mg/kg, i.v.), ラットの摘出神経・筋接合部(10^{-3} g/ml) に対して無影響であり、局所麻酔作用(10%溶液)も示さなかった。

麻酔ネコおよびイヌの呼吸・循環器系および麻酔ネコの自律神経系に対して、300 mg/kg, i.v. の用量でも作用を示さなかった。

モルモットの摘出灌流心に対して、0.3~10 mg/分(最終濃度:約 3×10^{-5} ~ 10^{-3} g/ml) の2分間持続注入では、心収縮力および心拍数に対し無影響であった。冠流量は、3および10 mg/分の用量でごく軽度増加した。

ラットの尿量および電解質排泄量に対してCRMN(30~300 mg/kg, i.v.) は有意な影響を及ぼさなかった。マウスの炭末輸送および幽門結紮ラットの胃液分泌に対しても無影響であった。さらに、各種摘出平滑筋に対し、高濃度(10^{-3} g/ml) でも影響を及ぼさなかった。

緒 言

Carumonam sodium [disodium (+)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-thiazolyl)-2-[[[(2S, 3S)-2-(carbamoyloxymethyl)-4-oxo-1-sulfonato-3-azetidiny] amino]-2-oxoethylidene] amino] oxy] acetate] (CRMN) は下記の化学構造式を有する monocyclic- β -lactam 系抗生物質である。本報告は、CRMN の中枢神経、自律神経、呼吸・循環、平滑筋などに対する一般薬理作用を検討したもので、さらに、主要代謝物である類縁物質 I [trisodium (+)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-thiazolyl)-2-[[[(1S, 2S)-3-carbamoyloxy-1-carboxylato-2-sulfonatoamino-propyl] amino]-2-oxoethylidene] amino] oxy] acetate] (開環体) および CRMN 強制劣化品の一般薬理作

用を一部検討した。

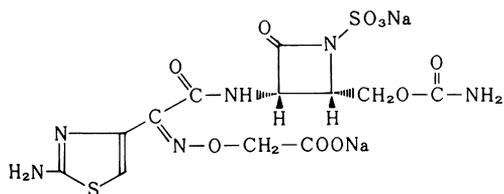
実験材料および一般的方法

実験動物として雄性 Jcl: ICR マウス, 雄性および雌性 Jcl: SD ラット, 雄性 Hartley 系白色モルモット, 雄性日本白色ウサギ, 雌雄雑種ネコおよびイヌを用いた。これらの動物の体重およびマウス, ラットの週齢は各実験方法の項に記載した。

CRMN (分子量: 510.36) は白色または淡黄色の粉末または結晶性の粉末で、水に易溶の化合物のため、所要濃度に応じて蒸留水を用いて溶解した。開環体および CRMN 強制劣化品も水に易溶のため、同じように溶解して用いた。

マウスおよびラットに検体を静脈内投与する場合は、投与液容量を、マウスでは 0.2 ml/10 g 体重, ラットでは 0.5 ml/100 g 体重になるように濃度を調製して用いた。In vivo における検討用量は、既存のセファロsporin 製剤の臨床用量を参考にして、1,000~2,000 mg/man/day と考えられることから、その 2.5~5 倍量である 100 mg/kg を標準用量として、必要に応じて適宜増減した。

Carumonam の構造式



In vitro の平滑筋標本を用いた organ bath による実験では特記しない限り、標本を 37°C に保温した 20 ml の krebs 液を含む Magnus 管中に懸垂し、97% O₂ + 3% CO₂ 混合ガスを通じ、1.0 g の負荷をかけた。標本の張力は、isotonic transducer (MEC, ME-4014) を介し、ペン書き oscillograph (三栄測器, Recti-Horiz-8k-23) 上に記録した。検体は液量 0.2 ml として bath 内に適用した。使用した Krebs 液の組成は次のとおりである。(mM)・NaCl 121.9, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, KH₂PO₄ 1.2, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 15.5, glucose 11.5 (pH 7.2~7.3)。

実験成績は必要に応じて平均値±標準誤差で示した。平均値間の有意差検定は特記しない限り一元配置の分散分析を用い、F 値が有意なときに Dunnett test により検定した。

他の使用薬物は次のとおりである：acetylcholine chloride (Ovisot[®], 第一), aminopyrine (武田薬品, 化学研究所で合成), diethyl-ether (Ether Squibb, 三栄オーシャン), α -chloralose (Merck), histamine dihydrochloride (和光), gallamine triethiodide (Sigma), lidocaine hydrochloride (Xylocaine[®], 藤沢), l-nor-epinephrine bitartrate (Sigma), pentobarbital sodium (田辺), d-tubocurarine (Amelizol[®], 吉富), urethane (和光)。

実験方法および成績

1. マウスの一般症状および行動

〔方法〕体重 18~28 g の雄性マウス (4 週齢) を 1 群 4 匹として使用した。検体投与の 2 時間前に動物を観察装置内に入れ、環境に馴化させた後、検体を静脈内投与し、以後 30 分毎に 2 時間にわたって Irwin 法¹⁾ を一部改良した方法に従って症状を観察した。

〔成績〕CRMN の 1,000 mg/kg, i.v. では全例対照群に比較して一般症状および行動に変化がみられなかった。

開環体および、CRMN 強制劣化品の 100 mg/kg, i.v. では、一般症状および行動に変化を認めなかった。

2. 中枢および体性神経系

2.1. 協調運動

〔方法〕体重 18~20 g の雄性マウス (4 週齢) を 1

群 10 匹とし、検体を静脈内に投与後 30 分間隔で 2 時間まで次の 3 種の試験を実施した。a) 傾斜板法, b) 懸垂法, c) 回転棒法。

〔成績〕CRMN の 100 および 300 mg/kg, i.v. では 3 種の試験法のいずれにおいても作用を示さなかった。

2.2. ペントバルビタール睡眠時間

〔方法〕体重 21~34 g の雄性マウス (4~5 週齢) を 1 群 10 匹とし、検体を静脈内投与し、その 1 時間後に pentobarbital-Na 50 mg/kg を腹腔内投与し、正向反射の消失を指標として睡眠時間を測定した。

〔成績〕CRMN の 30, 100 および 300 mg/kg, i.v. 群の平均睡眠時間 (63.1±6.3 分, 59.4±3.9 分および 59.4±4.6 分) はいずれも対照群のそれ (64.5±4.1 分) との間に差を示さなかった。

開環体および CRMN 強制劣化品の各々 100 mg/kg 静脈内投与群の平均睡眠時間 (44.5±3.0 分および 44.8±1.9 分) はいずれも対照群のそれ (45.2±3.3 分) との間に差を示さなかった。

2.3. 鎮痛作用

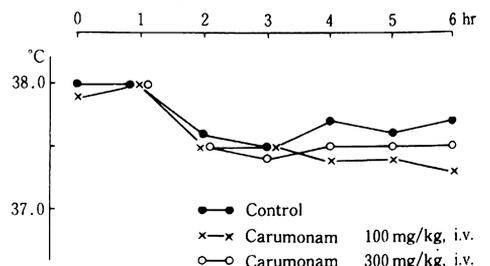
〔方法〕体重 20~26 g の雄性マウス (4 週齢) を 1 群 10 匹とし、検体を静脈内投与し、その 1 時間後に 0.6% 酢酸溶液を 0.1 ml/10 g 腹腔内投与し、その後 20 分間に誘発される writhing ならびに stretching の回数を計測し、検体投与群と対照群の平均回数から抑制率を求めた。

〔成績〕CRMN の 30, 100 および 300 mg/kg 静脈内投与群の平均回数 (17.1±3.4, 20.3±1.7 および 16.8±2.2) はいずれも対照群のそれ (17.3±3.1) との間に有意差を示さなかった。比較対照薬に用いた aminopyrine 50 mg/kg 経口投与群の平均回数は 2.0±0.5 (p<0.01) で著明な鎮痛作用を示した。

2.4. 正常体温

〔方法〕体重 200~270 g の雄性ラット (7 週齢) を

Fig. 1 Effect of carumonam on body temperature in normal rats



1群6匹として使用した。安定な体温を示すものを選別した後、検体を静脈内投与した。その後1時間毎に6時間後まで経時的にデジタル温度計(宝工業, D221)を用いて直腸温を測定し、検体投与群と対照群を比較した。

[成績] Fig. 1 に示すように、CRMN の100および300 mg/kg 静脈内投与ではラットの正常体温に明らかな作用を示さなかった。

一方、開環体およびCRMN 強制劣化品の30および100 mg/kg 静脈内投与でもラットの正常体温に有意な影響を及ぼさなかった。

2.5. ガラミン不動化ネコの自発脳波

[方法] 体重2.7~3.9 kg のネコを3匹使用した。Gallamine triethiodide (3.0 mg/kg, i.v.) により不動化後、人工呼吸下に脳定位固定装置に固定した。大脳皮質の前頭葉(FC)、頭頂葉(TC)および後頭

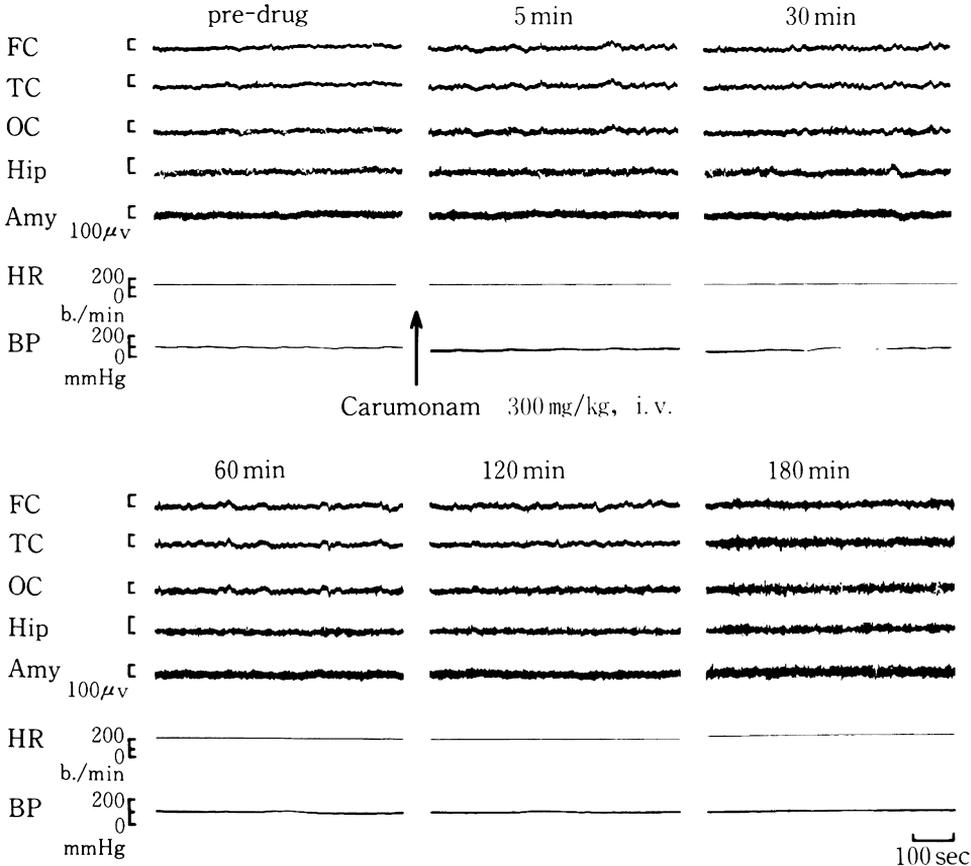
葉(OC)の硬膜上に鋼鉄製ネジ電極を、さらに不関電極として同ネジ電極を前頭骨に埋込んだ。また、SNIDERら²⁾の脳座標図に従って背側海馬(Hip)および扁桃核外側基底核(Amy)にエナメル絶縁の直径0.2 mm のステンレス鋼鉄製双極電極(極間0.5 mm)を挿入した。誘導した脳波は全身血圧および心拍数とともにpolygraph(三栄測器)を用いて記録測定した。術後2時間以上経て、脳波が安定した後、検体を橈側皮静脈内に投与した。

[成績] CRMN の300 mg/kg (n=3) 静脈内投与では、3時間後までの観察で自発脳波に変化がみられなかった(Fig. 2)。

2.6. 脊髄反射

[方法] 体重3.0~3.2 kg のネコ3匹を用いた。 α -chloralose (45 mg/kg, i.p.) 麻酔後、脳定位固定装置に固定し、気管カニューレを挿入後、人工呼吸

Fig. 2 Effect of carumonam on spontaneous EEGs in a gallamine-immobilized cat. FC: frontal cortex; TC: temporal cortex; OC: occipital cortex; Hip: dorsal hippocampus; Amy: basolateral amygdala; HR: heart rate; BP: blood pressure of the femoral artery



下, gallamine 不動化した。T₁₃-S₂ の脊椎を切除したのち, T₁₃-L₁ の間で脊髄を切断した。L₄~S₂ までの脊髄を露出し, L₆-S₁ の前根を切断して γ -環の影響を断ち, L₇ または S₁ 前根の断端を糸で結紮し, 白金電極上においた。L₇ または S₁ の後根の断端を白金双極電極に装着し, 電子管刺激装置に接続し, 0.1 msec, 0.1 Hz の矩形波パルスを与えた。得られた反射電位は生体用前置増幅器 (日本光電, AVB-2) を通して, cathode ray oscilloscope (日本光電, VC-7A) 上に掃引し, Polaroid camera (キング CRT カメラ M75D) を用いて記録した。検体は橈側皮静脈内に投与した。

〔成績〕 CRMN の 300 mg/kg (n=3) 静脈内投与では, 単シナプスおよび多シナプス反射電位に対して影響を及ぼさなかった (Fig. 3)。

2.7. 神経・筋接合部

〔方法〕 体重 190~205 g の雄性ラット (6 週齢) を使用した。放血致死させ, 横隔膜を横隔神経とともに摘出し, 神経-筋標本³⁾ を作製した。標本はただちに 37°C に保温した 100 ml の Krebs 液を含む Magnus 管中に懸垂し, 97% O₂+3% CO₂ 混合ガスを通じた。一方横隔神経に白金双極電極を装着し, 電子管刺激装置 (日本光電, MSE-3R) を用いて刺激し, 刺激によって生じる筋の攣縮反応は FD-transducer (新興通信, UL-2-230) を介し, ペン書き oscillograph (三栄測器, Rectigraph-8k) 上に記録した。検体は低濃度より高濃度へ累積的に適用した。

〔成績〕 Fig. 4 に示すように, CRMN の 10⁻⁴ (n=3) および 10⁻³ (n=3) g/ml のいずれの濃度でも

Fig. 3 Effect of carumonam on the spinal reflex potentials in an anesthetized cat. Reflex potentials were recorded from L₇ ventral root after stimulation of L₇ dorsal root

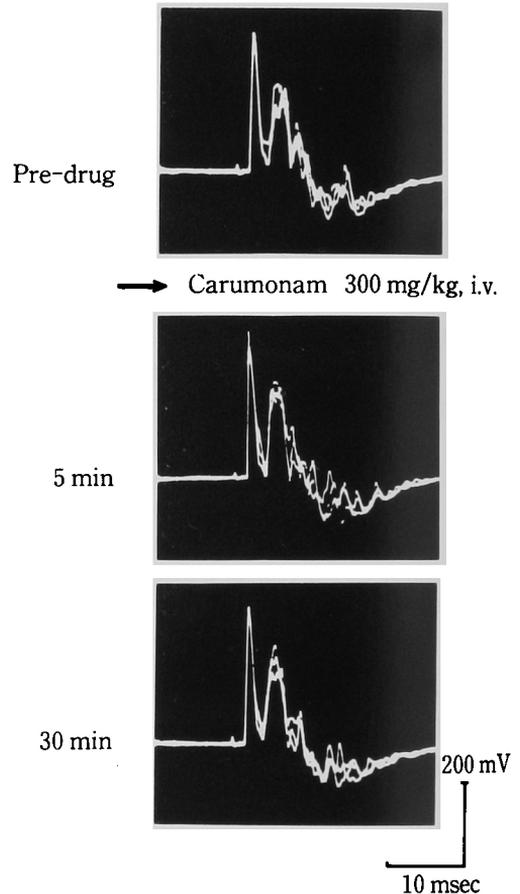


Fig. 4 Effects of carumonam (1×10⁻⁴ and 1×10⁻³ g/ml) and d-tubocurarine (3×10⁻⁶ M) on nerve-stimulated contraction of the isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparation

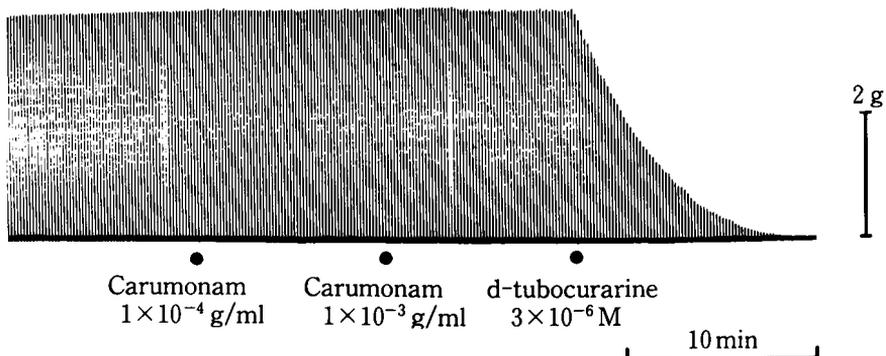
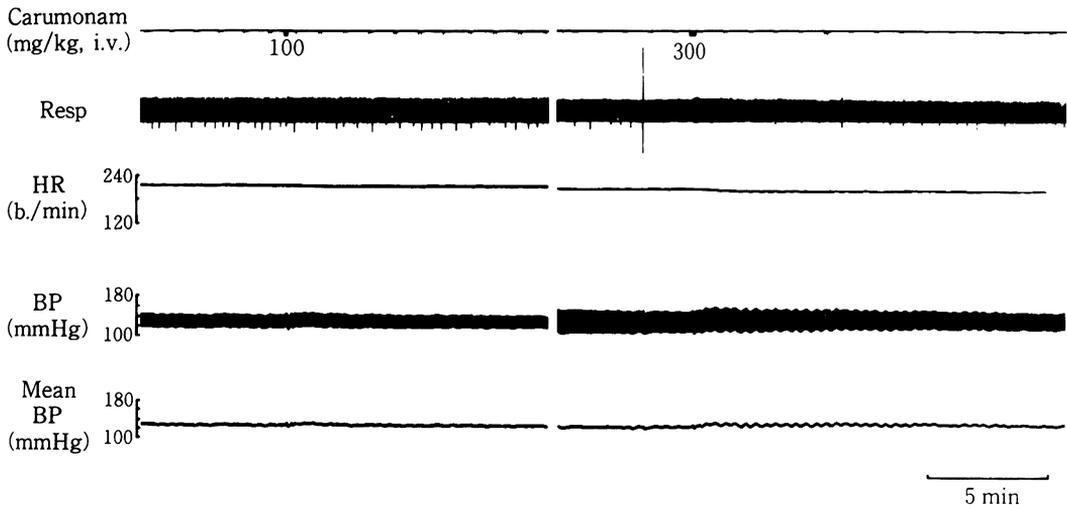


Fig. 5 Effect of carumonam (100 and 300 mg/kg, i.v.) on respiration (Resp), heart rate (HR) and pulsatile and mean blood pressure (BP) of the femoral artery in an anesthetized cat



筋の攣縮反応に対して無影響であった。一方 d-tubocurarine (3×10^{-6} M, $n=3$) は筋の攣縮反応を完全に抑制した。

2.8. 局所麻酔作用

〔方法〕雄性モルモットを1群6匹用い、CHANCE and LOBSTEINの方法⁴⁾に従って表面麻酔作用を調べた。モルモットの角膜上に検体を1滴適用後、1, 3, 5, 10, 15, 30, 45および60分後に1/4注射針マンドリン線で角膜を3回刺激し、反射の有無を調べた。

〔成績〕CRMNの10%溶液では、全く表面麻酔作用を示さなかった。一方、lidocaine 1%溶液では、適用直後から5分後まで反射が完全に消失し、30分後に回復した。

3. 呼吸・循環器系および自律神経系

3.1. 麻酔ネコの呼吸・循環系

〔方法〕体重2.7~4.8 kgのネコを5匹用いた。 α -chloralose (50 mg/kg, i.p.) および urethane (700 mg/kg, s.c.) により麻酔後、動物を背位に固定した。呼吸運動は気管に挿入したカニューレを pneumotachometer (Hewlett Packard, Model 210698) に連結し、流量の変化として、全身血圧は大腿動脈に挿入したポリエチレンカテーテルより圧 transducer (日本光電, MPU-0.5) を介し、心電図は第II誘導で、さらに心拍数は血圧の脈波で駆動させた tachometer (三栄測器) により、それぞれ

polygraph (三栄測器, 142-8) を用いて記録測定した。検体は予め橈側皮静脈内に挿入したポリエチレンカテーテルを介して、低用量から高用量へ30分間隔で累積的に5 ml/分(検体の濃度: 20~30%)の速度で投与した。

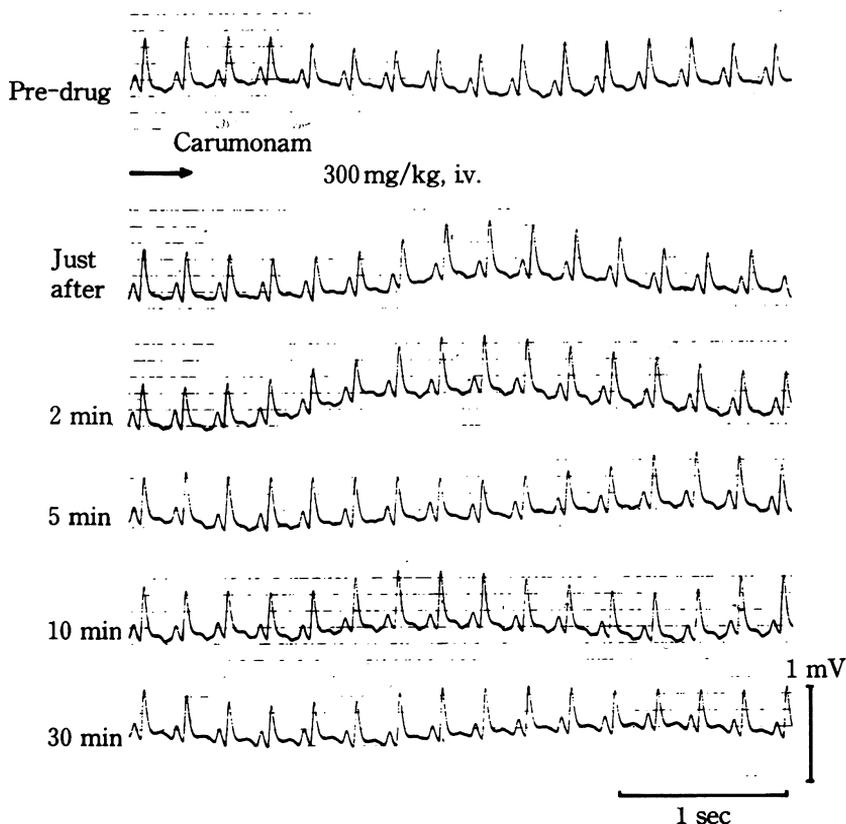
〔成績〕CRMNの30, 100および300 mg/kg (各々 $n=3$) では、呼吸運動、心拍数、血圧および心電図に対して作用を示さなかった (Fig. 5, 6)。

開環体および、CRMN 強制劣化品の100 mg/kg (各々 $n=2$) では、呼吸運動、心拍数および血圧に対して影響を及ぼさなかった。

3.2. 麻酔イヌの呼吸、血圧、心拍数および末梢血流量

〔方法〕体重9.5~13 kgのイヌを4匹使用した。pentobarbital-Na 20 mg/kg, i.v. で軽麻酔後、 α -chloralose (70 mg/kg, i.v.) で麻酔を持続させた。動物を背位に固定後、右総頸動脈および右大腿動脈に電磁血流計 (Narco, Model RT-500) プローブを装着した。呼吸運動は気管に挿入したカニューレを pneumotachometer (Hewlett Packard, Model 210698) に連結し、流量の変化として、全身血圧は左大腿動脈に挿入したポリエチレンカニューレから圧 transducer (日本光電, MPU-0.5) を介し、心拍数は血圧の脈波で駆動させた tachometer (三栄測器) によりそれぞれ polygraph (三栄測器, 142-8) を用いて記録した。検体(濃度 20~30%)は大腿静

Fig. 6 Effect of carumonam (300 mg/kg, i.v.) on lead II electrocardiograms in an anesthetized cat



脈内あるいは大腿動脈内に 5 ml/分の速度で投与した。

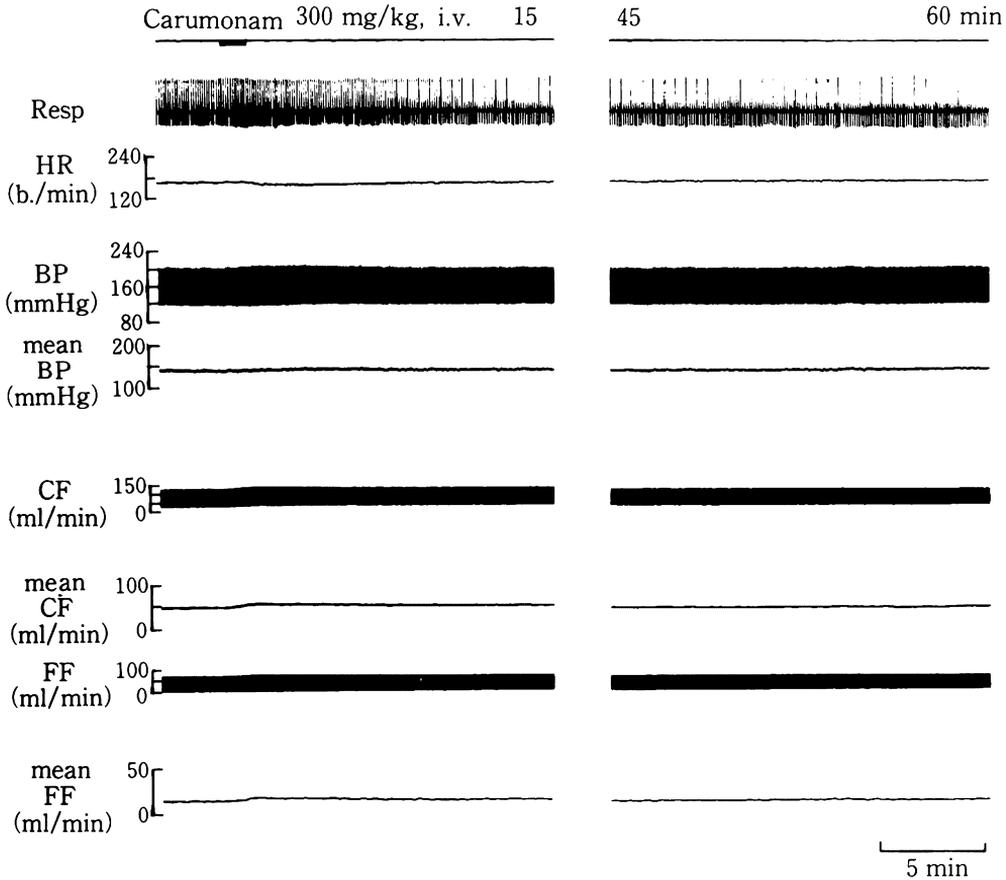
〔成績〕 静脈内投与において、CRMN の 100 ($n=4$) および 300 mg/kg ($n=4$) の用量では、呼吸、心拍数および血圧に対して明らかな作用を及ぼさなかった。総頸動脈および大腿動脈の血流量に対して、300 mg/kg で投与直後きわめて軽度な一過性の増加がみられた (Fig. 7)。大腿動脈内投与 ($n=1$) においては、CRMN の 0.1~3.0 mg/kg では大腿動脈血流量に影響を及ぼさなかった。一方、papaverine の 0.03 mg/kg では著明な血流量の増加を示した。

3. 3. 摘出灌流心の収縮力、拍動数および冠流量

〔方法〕 体重 335~346 g の雄性モルモットを 3 匹用いた。ヘパリン投与 20 分後に頭部を殴打し、速やかに胸部を切開して心臓を摘出し、ただちに氷冷した栄養液 (Krebs Henseleit 液) 中に浸して拍動を停

止させた。次いで冠灌流用カニューレを上行大動脈に逆行性に挿入し、また左心耳に切開を加え、そこから左室内圧を測定するために生理食塩水を満たしたポリウレタン製バルーンを左室内に挿入し、固定した。その後、37°C に保温した 2 重壁管内に懸垂し、37°C の栄養液にて 65 cm H₂O の灌流圧で冠灌流を行った。栄養液は 97% O₂+3% CO₂ の混合ガスで飽和させた。冠流量は、大動脈カニューレの上流部に電磁流量計用プローブを装着し、流量を測定した。左室内圧 (LVP) は等容積的に測定した。その際、左心室拡張期圧が 10 mmHg 以下で、しかも pulse pressure が最大値を示すようにバルーン内の圧を調節した。左室内圧信号は微分回路 (時定数 0.5 msec) を介し、LV dp/dt を記録した。心拍数は左心室内圧脈波により cardi tachometer (日本光電, AT-600G) を駆動して測定した。検体は標本の灌流開始後、約 30 分間の安定期間において投与した。低

Fig. 7 Effect of carumonam (300 mg/kg, i.v.) on respiration (Resp), heart rate (HR), pulsatile and mean blood pressure (BP) of the femoral artery and pulsatile and mean blood flow in the common carotid (CF) and femoral (FF) arteries in an anesthetized dog



用量から高用量へと20分間隔をおいて、それぞれ2分間持続注入(0.1 ml/min)した。

〔成績〕モルモット摘出灌流心に対して、CRMNの0.3~10 mg/min (約 3×10^{-5} ~ 10^{-3} g/ml) 2分間持続注入では左室収縮期圧(LVSP)および拡張期圧(LVDP), LV dp/dt および拍動数(BR)に影響を及ぼさなかった。冠流量(CAF)には、3および10 mg/minで、用量依存的に一過性、ごく軽度な増加がみられたにすぎなかった(Table 1)。

3.4. 麻酔ネコの自律神経系

〔方法〕体重2.5~4.8 kgのネコを7匹使用した。 α -chloralose (50 mg/kg, i.p.) および urethane (700 mg/kg, s.c.) により麻酔し、呼吸、血圧および

心拍数は“3, 1”の項記載の方法で、瞬膜の収縮はFD transducer (日本光電, SB-1T) を介して polygraph (三栄測器, 142-8) を用いて記録測定した。

自律神経機能に対する作用を調べるため1) 右迷走神経の末梢側断端の電気刺激による徐脈反応, 2) 両側頸部迷走神経切断後, 両側総頸動脈閉塞(30秒間)による反射性昇圧, 3) 頸部交感神経節前線維の電気刺激による瞬膜収縮, 4) 各種自律神経作働薬による血圧反応をそれぞれ指標とした。自律神経作働薬として norepinephrine (5 μ g/kg, i.v.), acetylcholine (0.1 μ g/kg, i.v.) および histamine (0.3 μ g/kg, i.v.) を用いた。検体は大腿静脈内に投

Table 1 Effect of carumonam on left ventricular pressure and its maximum dp/dt, beating rate and coronary artery flow in isolated, perfused guinea-pig hearts.

	Time, min	Carumonam, mg/min for 2 min				
		0	0.3	1.0	3.0	10.0
LVSP	0 (mmHg)	99±1.9	92±2.0	85±2.9	81±2.9	77±2.5
	2 (% change)	-1.3±0.3	-2.2±1.1	-1.6±0.3	-0.8±0.8	3.0±2.1
	5	0.4±1.2	-0.4±0.4	0.4±0.5	0.8±0.8	1.7±1.9
	10	-2.0±1.5	-2.2±0.7	-2.3±0.6	-1.2±0.0	-0.5±1.2
LVDP	0 (mmHg)	6.7±0.7	0.0±1.2	-1.0±1.5	-2.3±1.9	-3.7±2.9
	2 (Δ mmHg)	0.0±0.0	0.3±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0	-0.3±0.3
	5	-1.3±0.3	-0.3±0.3	-1.0±0.0	-0.3±0.3	-0.3±0.3
	10	-2.3±0.3	-1.0±0.0	-1.0±0.0	-0.3±0.3	-1.0±0.0
LVdp/dt, max.	0 (mmHg/sec)	1343±207	1330±214	1188±161	1113±175	1063±172
	2 (% change)	-1.1±1.1	-5.3±1.7	-2.5±1.3	-1.2±1.4	-2.6±2.1
	5	1.7±1.5	-1.9±3.3	0.6±1.6	1.3±1.0	-0.1±2.4
	10	2.7±0.8	-5.4±2.6	-2.8±0.9	-1.6±0.5	-3.0±1.7
BR	0 (beats/min)	197±2.7	199±1.0	193±1.8	189±4.3	-184±7.6
	2 (% change)	-0.7±0.3	-0.3±1.4	-1.4±1.2	-1.1±0.4	-0.5±0.3
	5	-0.3±0.7	-1.5±0.5	-0.8±0.3	-0.6±0.6	-1.0±0.6
	10	1.2±2.0	-1.8±0.3	-1.9±0.5	-1.6±0.8	-1.0±0.6
CAF	0 (ml/min)	9.4±0.4	9.0±0.2	8.7±0.3	8.4±0.1	8.9±0.2
	2 (% change)	-1.1±1.1	2.2±2.5	-0.6±2.7	3.6±2.4	12.4±2.5**
	5	0.4±0.9	1.8±2.9	3.2±2.1	5.5±1.4*	3.4±1.8
	10	-2.1±1.1	-0.4±2.3	1.3±2.1	3.6±2.7	1.9±2.0

LVSP: left ventricular systolic pressure; LVDP: left ventricular diastolic pressure; BR: beating rate; CAF: coronary artery flow.

Carumonam dissolved in deionized water was infused (0.1 ml/min) to the perfusate by an infusion pump in increasing concentrations for 2 min at 20 min intervals; the perfusate concentrations of carumonam were approximately $3 \times 10^{-5} - 10^{-3}$ g/ml.

values are means ± s.e. of 3 guinea-pig hearts.

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, as compared with the values of 0 time in each group.

与した。

〔成績〕 CRMN の 300 mg/kg 静脈内投与では迷走神経刺激による徐脈反応、頸動脈洞反射、瞬膜収縮および各種自律神経作働薬による血圧反応に対して影響を及ぼさなかった (Table 2, 3)。

4. 尿量および電解質排泄

〔方法〕 飼料および水自由摂取下の体重 190~205 g の雄性ラット (6 週齢) を 1 群 6 匹として用いた。対照群には生理食塩水 1 ml/kg 体重を尾静脈内に注射後、ただちに 25 ml/kg 体重の生理食塩水を経口負荷した。検体投与群には同容量の生理食塩水中

に検体を溶解して静脈内注射 (1 ml/kg 体重) 後、ただちに 25 ml/kg 体重の生理食塩水を経口負荷した。投与直後よりラットを個別に代謝ケージに入れ、絶食、絶水下に、5 時間尿を摂取し、尿量 (V) および Na^+ および K^+ 排泄量 ($U_{\text{Na}}V$ および $U_{\text{K}}V$) を測定した。尿中 Na^+ および K^+ 濃度は炎光光度計 (日立, 205DT) を用いて測定した。V, $U_{\text{Na}}V$ および $U_{\text{K}}V$ は体重 100 g 当りに換算して表示した。実験値は means ± S.E. により示し、差の有意性は student's t-test により検定した。

〔成績〕 CRMN (30~300 mg/kg, i.v.) はいずれ

Table 2 Effect of carumonam(300mg/kg, i. v.) on bradycardic response to stimulation of the right cervical vagus nerve(VS), pressure response to bilateral carotid occlusion(CO) and contraction of the nictitating membrane(NM) to preganglionic stimulation of the cervical sympathetic nerve in anesthetized, vagotomized cats

	N	pre-drug	After administration (min)		
			5~10	30~35	60~65
VS HR	3	-113.3 ± 14.5 (191.6 ± 7.3) ^{a)}	-116.7 ± 14.5 (188.3 ± 7.3)	-125.0 ± 15.3 (193.3 ± 8.8)	-121.7 ± 16.4 (193.3 ± 6.0)
CO BP	4	+76.3 ± 11.8 (133.8 ± 3.8)	+76.3 ± 8.0 (137.5 ± 1.4)	+75.0 ± 8.9 (132.5 ± 3.2)	+73.8 ± 5.5 (130.0 ± 4.6)
NM (g)	4	5.3 ± 0.5	5.3 ± 0.7	5.1 ± 0.6	5.3 ± 0.5

N: number of animals.

a): heart rate(HR, beats/min) or mean blood pressure(BP, mmHg) immediately before stimulation of the vagus nerve and bilateral carotid occlusion.

Each value represents the mean ± S. E.

Table 3 Effect of carumonam(300mg/kg, i. v.) on blood pressure responses to acetylcholine, histamine and norepinephrine in anesthetized cats

Agonist (μ g/kg, i. v.)	N	pre-drug	After administration (min)		
			5~10	30~35	60~65
Acetylcholine (0.1)	3	-31.7 ± 4.4 (148.3 ± 1.7) ^{a)}	-38.3 ± 6.0 (151.7 ± 1.7)	-33.3 ± 7.3 (151.7 ± 1.7)	-35.0 ± 5.8 (155.0 ± 5.0)
Histamine (0.3)	3	-23.3 ± 3.3 (148.3 ± 1.7)	-25.0 ± 2.9 (151.7 ± 1.7)	-25.0 ± 2.9 (153.3 ± 3.3)	-26.7 ± 6.0 (155.0 ± 5.0)
Norepinephrine (5.0)	3	+30.0 ± 5.8 (146.7 ± 1.7)	+31.7 ± 6.0 (151.7 ± 1.7)	+33.3 ± 6.7 (153.3 ± 3.3)	+31.7 ± 6.0 (155.0 ± 5.0)

N: number of animals. Each value represents the mean ± S. E.

a): mean blood pressure(mmHg) immediately before challenging with each agonist.

Table 4 Effects of carumonam and hydrochlorothiazide on volume and electrolytes in 5-hr urine of rats

Compound	Dose (mg/kg)	Route	N	V	U _{Na} V	U _K V
				ml/100gBW/5hr	μ eq/100gBW/5hr	
Control	—	—	6	2.66 ± 0.22	384 ± 32	317 ± 26
Carumonam	30	i. v.	6	2.39 ± 0.13	327 ± 40	290 ± 23
	100	i. v.	6	2.22 ± 0.33	284 ± 44	230 ± 28
	300	i. v.	6	2.29 ± 0.26	387 ± 39	284 ± 21
Hydrochlorothiazide	10	p. o.	6	4.85 ± 0.27***	647 ± 44***	428 ± 16***

N: number of animals. Each value represents the mean ± S. E.

Significantly different from control: ***p<0.001.

の測定値にも有意な影響を及ぼさなかった。対照薬のhydrochlorothiazide (10 mg/kg, p.o.) は著明な利尿作用を示した (Table 4)。

5. 消化器系

5. 1. 腸管内容輸送能

(方法) 体重 21~31 g の雄性マウス (5 週齢) を 1 群 10 匹として用いた。16 時間絶食させたのち、検体を静脈内投与した。その 30 分後に 10%炭末懸濁の 5

Table 5 Effect of carumonam on intestinal transport of charcoal meal in mice

Compound	Dose (mg/kg, i. v.)	N	Transfer rate (%) (mean \pm S. E.)
Control	—	10	48.2 \pm 2.0
Carumonam	100	10	43.0 \pm 4.4
	300	10	42.8 \pm 2.5

N: number of animals.

Table 6 Effect of carumonam on volume, pH and acidity of gastric juice in pylorus-ligated rats

Compound	Dose (mg/kg, i. v.)	N	Volume(ml) (mean \pm S. E.)	pH (mean \pm S. E.)	Acidity (μ eq/ml) (mean \pm S. E.)
Control	—	6	2.7 \pm 0.5	2.06 \pm 0.04	91.6 \pm 4.4
Carumonam	100	6	2.9 \pm 0.3	2.07 \pm 0.03	81.9 \pm 3.7
	300	6	3.9 \pm 0.7	2.00 \pm 0.04	93.5 \pm 4.5

N: number of animals.

%アラビアゴム溶液を0.2 ml/マウス経口投与し、30分後に頸椎脱臼により殺し、ただちに開腹し、小腸を胃ごと摘出し、胃幽門部から回盲部までを全長とし、幽門部から炭末移行部までの長さをそれぞれ計測し、検体投与群と対照群の輸送率を比較した。

〔成績〕CRMNの100および300 mg/kg 静脈内投与では、腸管内容輸送能に対して影響を及ぼさなかった (Table 5)。

さらに、開環体および、CRMN 強制劣化品のそれぞれ30および100 mg/kg 静脈内投与では平均輸送率が、対照群のそれと有意差を示さなかった (Table 5)。

5.2. 胃液分泌

〔方法〕体重160~190 gの雄性ラット (7週齢) を1群6匹として用い、SHAYらの方法⁵⁾に従って実験した。18時間絶食させたのち、検体を静脈内投与し、その30分後にエーテル麻酔下で開腹し、幽門部を結紮した。術後3時間目に胃をとり出し、胃液の容量、pHおよび酸度を測定した。

〔成績〕CRMNの100および300 mg/kg 静脈内投与では、胃液の分泌量、pHおよび酸度に対して有意な影響を及ぼさなかった (Table 6)。

6. 摘出平滑筋

下記の organ bath の実験方法のなかで、それぞれ共通の部分は「一般的方法」の項に一括記載した。

6.1. ウサギ回腸の自動運動

〔方法〕体重2.0~2.3 kgのウサギの回腸切片 (長さ1.5 cm) を用いた。標本の自動運動が安定したのち検体を適用し、その作用を20分間観察した。

〔成績〕CRMNの 10^{-5} 、 10^{-4} および 10^{-3} g/ml (各々n=3)の濃度では、回腸の自動運動に対して無影響であった (Fig. 8)。

また、開環体およびCRMN 強制劣化品の各々 10^{-4} および 10^{-3} g/ml (各々n=3)では、回腸の自動運動に対して無影響であった。

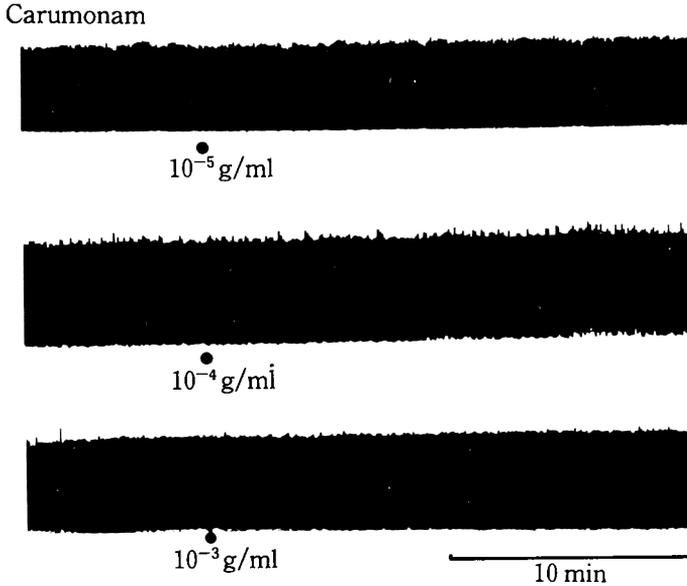
6.2. 非妊娠ラット子宮の自動運動

〔方法〕体重180~190 gの未経産発情間期のラット子宮を用いた。検体は標本の自動運動が安定したのち bath 内に適用し、その作用を20分間観察した。

〔成績〕CRMNの 10^{-5} 、 10^{-4} および 10^{-3} g/ml (各々n=4)では、いずれの濃度においても、子宮の自動運動に対して無影響であった (Fig. 9)。

また、開環体およびCRMN 強制劣化品の 10^{-4} (各々n=4)および 10^{-3} (各々n=5) g/mlでは、子宮の自動運動に対して明らかな影響を及ぼさなかつ

Fig. 8 Effect of carumonam (10^{-5} ~ 10^{-3} g/ml) on spontaneous motility of isolated rabbit ileum



た。

6.3. 妊娠ラット子宮の自動運動

〔方法〕妊娠後期（15~17日目）のラットを用いた。両側の子宮角を摘出し、胎仔が入っていない部分を輪状筋方向に切り取って実験に用いた。標本の自動運動が安定したのち検体を適用し、その作用を20分間観察した。

〔成績〕CRMNの 10^{-4} および 10^{-3} g/ml（各々n=3）では、子宮の自動運動に影響を及ぼさなかった（Fig. 10）。

6.4. モルモット回腸における鎮痙作用

〔方法〕体重300~340 gの雄性モルモットの回腸切片（1.5 cm）を用いて検討した。Agonistとしてhistamine, acetylcholineおよびBaCl₂を用いた。各agonistの用量-作用曲線を調べたのち、検体をbath内に適用し、その5分後に再びagonistの用量-作用曲線を調べ、検体適用前後の用量-作用曲線から検討した。なおモルモット回腸の自動運動の発現を抑制する目的でorgan bathの温度は28°Cとした。栄養液はTyrode液（mM: NaCl 137.0, KCl 1.5, CaCl₂ 1.8, NaHCO₃ 12.0, NaH₂PO₄ 0.4, MgCl₂ 1.0, glucose 5.0）を用いた。

〔成績〕CRMNの 10^{-4} および 10^{-3} g/ml（各々n=3）の濃度では、回腸における各agonistによる用

量-作用曲線に対して無影響であった。

6.4. モルモット気管筋

〔方法〕体重260~300 gの雄性モルモットを用いた。TAKAGIらの方法⁹⁾を一部改良して気管筋のstrip-chain標本を作製した。標本が安定したのち検体を適用し、気管筋のbasal toneに対する作用を20分間観察した。

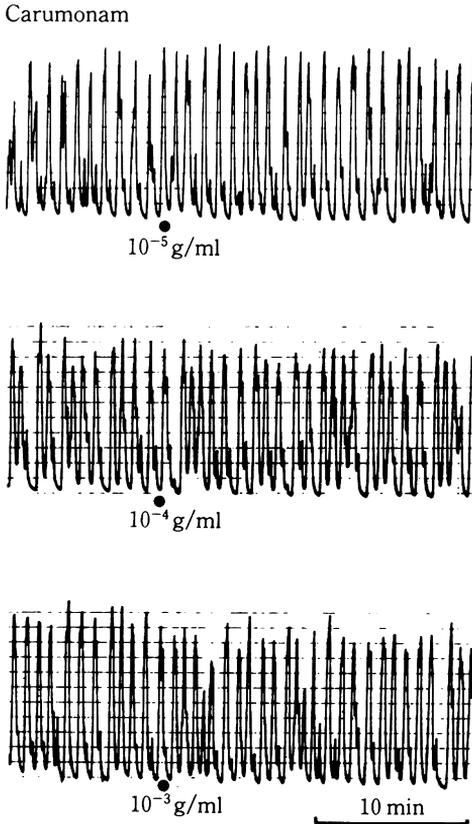
〔成績〕CRMNの 10^{-5} 、 10^{-4} および 10^{-3} g/ml（各々n=3）の累積的な適用では、気管筋のbasal toneに対して無影響であった。

考 察

CRMNはヒト臨床推定用量（2 g/day, i.v.）の10または30倍量（300または1,000 mg/kg, i.v.）の用量でも、マウスの一般症状、協調運動、ラットの正常体温に無影響であり、睡眠増強あるいは鎮痛作用も認められなかった。さらにgallamine不動化ネコの自発脳波および麻酔ネコの脊髄反射電位にも全く影響を及ぼさず、ラットの摘出横隔神経-筋標本における神経刺激による筋の攣縮に対しても作用を示さなかった。このことは、CRMNが中枢および体性神経系に対し、何ら薬理作用を有していないことを示している。

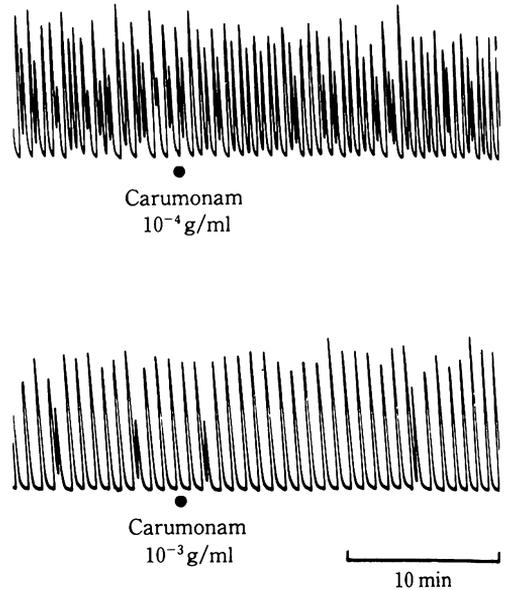
CRMNは麻酔ネコおよび麻酔（300 mg/kg, i.v.）

Fig. 9 Effect of carumonam (10^{-5} ~ 10^{-3} g/ml) on spontaneous motility of isolated non-pregnant rat uterus



の呼吸・血圧・心拍数および心電図に対して無影響であった。この用量においても麻酔イヌの末梢血流量はごく軽度、一過性に増加したにすぎなかった。大腿動脈内への直接投与 ($0.1\sim 3.0$ mg/kg) では、同動脈血流量の増加は認められなかった。また、モルモットの摘出灌流心に対しても、CRMN (最終濃度、約 3×10^{-4} および 10^{-3} g/ml) は冠流量をごく軽度増加させたのみで、心収縮力および心拍数には全く作用しなかった。さらに CRMN は麻酔ネコの迷走神経刺激による徐脈反応、頸動脈洞反射による昇圧反応、交感神経節前線維刺激による瞬膜収縮および自律神経作働薬 (norepinephrine, acetylcholine, histamine) による血圧反応に対して全く影響を及ぼさなかった。すなわち、CRMN は循環器系あるいは自律神経系に対して影響を及ぼさないものと考えられる。

Fig. 10 Effect of carumonam on spontaneous motility of isolated pregnant rat uterus



さらに、CRMN はラットの尿量およびナトリウム・カリウム排泄量にも作用を示さなかった。マウスの腸管内容輸送、幽門結紮ラットの胃液分泌にも作用せず、摘出平滑筋の機能に対しても影響を及ぼさなかった。

以上、CRMN は大量投与においても、中枢、体性および自律神経系、循環器系、腎機能、消化器系、さらに摘出平滑筋に対して、薬理作用を示さなかったことから、本抗生物質は、臨床使用時にこれらの系に対してとくに問題となる急性の薬理作用を発現させないものと考えられる。

研究期間：昭和 57 年 11 月～昭和 58 年 2 月
昭和 60 年 7 月～昭和 60 年 11 月

文 献

- 1) IRWIN, S.: Comparative observational assessment: Ia. A systemic quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia* 13: 222~257, 1968
- 2) SNIDER, R.S. & W.T. NIEMER: A stereotaxic atlas of the cat brain. The University of Chicago Press, 1964
- 3) BÜLBRING, E.: Observation on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat.

- Br. J. Pharmac. 1 : 38~61, 1946
- 4) CHANCE, M.R.A. & H. LOBSTEIN: The value of the guinea-pig corneal reflex for tests of surface anesthesia. J. Pharmacol. Exp. Ther. 82 : 203~210, 1944
- 5) SHAY, H.; S.A. KAMEROV, S.S. FELES, D. MERANGE, M. GRUENSTEIN & H. SIPLET: A simple method for uniform production of gastric ulceration in the rat. Gastroenterology 5 : 43~61, 1945
- 6) TAKAGI, K.; I. TAKAYANAGI & K. FUJIE: Chemicopharmacological studies on spasmodic action. XV. Nonspecific antispasmodic action on tracheal muscle. Chem. Pharm. Bull. 6 : 716~720, 1958

PHARMACOLOGICAL STUDIES ON CARUMONAM SODIUM

GO KITO, TAKAHITO KITAYOSHI, HIROKO OKUDA,
YOSHIAKI SAJI and KENZO KIKUCHI
Central Research Division,
Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka

Pharmacological studies on carumonam sodium (CRMN) produced the following results.

1. CRMN, even at high doses of 300 or 1,000 mg/kg i.v. in mice or rats, did not affect gross behavior, skeletal muscle coordination or body temperature, and had no hypnosis-potentiating or analgesic activities. Nor was there any effect on the spontaneous EEG in gallamine-immobilized cats (300 mg/kg, i.v.), on the spinal reflex potentials in anesthetized cats (300 mg/kg, i.v.), or on the neuromuscular junction in the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat (10^{-4} ~ 10^{-3} g/ml). CRMN had no local anesthetic activity on the guinea-pig cornea (10% solution).

2. CRMN had little effect on respiration, heart rate, blood pressure, peripheral blood flow or EKG at i. v. doses of 100 and 300 mg/kg in anesthetized cats or dogs.

3. In isolated guinea-pig heart preparations, CRMN, at an infusion rate of 0.3~10.0 mg/min for 2 min (final concentrations, a 3×10^{-5} ~ 10^{-3} g/ml), had no effect on contractile force or beating rate; though it caused a very slight increase in the coronary flow in a dose-dependent manner at 3 and 10 mg/min for 2 min.

4. CRMN had no effect on the autonomic nervous system of the anesthetized cats (300 mg/kg, i. v.).

5. No significant effect on urinary volume or excretion of sodium and potassium in rats was observed up to 300 mg/kg i.v. of CRMN.

6. CRMN had no effect on the intestinal transport of charcoal meal in mice or gastric secretion in pylorus-ligated rats at i. v. doses of 100 and 300 mg/kg.

7. In isolated smooth muscle preparations, CRMN even at a high concentration of 10^{-3} g/ml, had no effect on the spontaneous motility of rabbit ileum and non-pregnant rat uterus, acetylcholine-, histamine- and Ba^{++} - induced contractions of guinea-pig ileum or basal tone of guinea-pig tracheal muscle.

These results suggest that CRMN exerts no pharmacological effect on the central, somatic or autonomic nervous system, cardiovascular system, renal function, gastrointestinal function or isolated smooth muscle.