

Cefodizime sodium (THR-221) の一般薬理作用 (第1報) — 中枢神経系に対する作用 —

山本潤二・村上 齊・砥出勝雄・味岡廣房・三宅秀和
大鵬薬品工業株式会社研究開発本部
開発研究所・薬理研究室

新しいセフェム系抗生物質である THR-221 の中枢神経系への影響をマウス、ラット、ウサギ、ネコおよびイヌを用いて検討した。

THR-221 1500 mg/kg, i.v. までの投与において、マウスの自発運動量、hexobarbital 睡眠、電撃・pentylene tetrazol けいれん、協調運動、酢酸 stretching およびラットの正常体温、条件回避反応に対して影響は認められなかった。また同用量の投与において、ウサギの自発脳波、音・光刺激反応およびネコの脊髄反射に対しても影響は認められず、イヌにおいて 1500 mg/kg, i.v. でのみ軽度の嘔吐が観察されただけであった。

以上の結果から、THR-221 の中枢作用は弱いことが分り、THR-221 は中枢神経系への影響が少ない抗生物質であると考えられる。

THR-221 はヘキスト社(西独)とルセル社(仏)で合成、開発された新しい注射用セフェム系抗生物質である。

本剤はセフェム骨格の 7 位に Cefotaxime と同様の *syn*-methoxyimino-amino-thiazolyl 基を有し、その優れた特性を保持している¹⁻³⁾。同時に 3 位には mercapto-thiazolyl 基を配した為、代謝を受けず長い半減期を示す⁴⁾。また、本剤は一部の第三世代系抗生物質にみられる disulfiram 様作用、血液凝固系への影響はみられていない。

今回、THR-221 の一般薬理試験として中枢神経系に対する作用を検討したので報告する。本実験は 1985 年 8 月から 1986 年 3 月の期間に行った。

I. 実験材料

1. 実験動物

実験動物としてマウス(ddY, 雄), ラット(Wistar, 雄), ウサギ(日本白色種, 雄), イヌ(ビーグル, 雄)およびネコ(雑種, 雌雄)を使用した。動物はすべて恒温(室温: マウス, ラット 24±1℃, ウサギ, イヌ, ネコ 23±1℃), 恒湿(湿度: マウス, ラット 55±5%, ウサギ, イヌ, ネコ 55±10%), 定時照明(6:00 a.m.~6:00 p.m.)の条件下で一定期間予備飼育し、薬物投与前約 18 時間絶食後実験に供した。

2. 使用薬物

THR-221 は化学名 disodium (-)-(6*R*, 7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyimino-acetamido]-3-[[[5-(carboxylatomethyl)-4-methyl-2-thiazolyl]thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-

2-carboxylate であり、Fig. 1 に示した構造を有する。本化合物は分子量 628.64、白色～淡黄白色の結晶性粉末においてはなにか又はわずかに特異なおいがあり、水に極めて溶けやすく、メタノールに溶けやすく、エタノール、アセトン、酢酸エチル、エーテルおよびクロロホルムにほとんど溶けない。

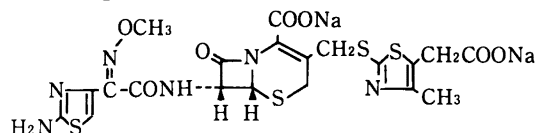
その他使用した薬物は aminopyrine (Sigma), chlorpromazine (塩野義), diphenylhydantoin (大日本製薬), ether (半井), hexobarbital-Na (Sigma), mephenesin (Sigma), phenobarbital (三共), pentobarbital-Na (Pitman-Moore), pentylene tetrazol (Sigma) および酢酸 (和光) である。

すべての薬物は生理食塩液で溶解し、イヌ, ネコ, ウサギは 4 ml/kg に調整して注入速度 10 ml/min で静脈内投与し、ラットおよびマウスはそれぞれ 0.4 ml/100g, 1 ml/20 秒および 0.1 ml/10g, 0.1 ml/10 秒で静脈内投与した。

3. 統計処理

有意差検定は Student's t-test および Wilcoxon の 2-sample test により行った。

Fig. 1 Chemical structure of THR-221



II. 実験方法

1. 自発運動量

マウス(ddY, 26.1~31.4 g, 雄)を1群16匹として用いた。薬物を静脈内投与し、投与後1時間の間10分毎に、自発運動測定装置(平林ら⁶⁾)により各マウスの自発運動量を測定した。

2. Hexobarbital 睡眠

マウス(ddY, 24.2~26.9 g, 雄)を1群10匹として用いた。薬物を静脈内投与し、10分後に hexobarbital-Na 70 mg/kg を腹腔内投与した。正向反射が消失して回復するまでの時間を睡眠時間とした。

3. 抗けいれん

1) 最大電撃

マウス(ddY, 25.2~27.9 g, 雄)を1群10匹として用いた。薬物を静脈内投与し、10分後に電撃装置(新栄電機製作所, ESA 102型)を用いて、マウスの両眼球に頭部通電(15 mA, 0.2 sec)を行った。強直性伸展けいれん(T.E.)の消失を抗けいれん作用の指標とした。

2) Pentylentetrazol

マウス(ddY, 24.1~27.0 g, 雄)を1群10匹として用いた。薬物を静脈内投与し、10分後に pentylentetrazol 120 mg/kg を腹腔内投与した。強直性伸展けいれん(T.E.)の消失を抗けいれん作用の指標とした。

4. 協調運動

マウス(ddY, 24.3~27.9 g, 雄)を1群10匹として用いた。薬物を静脈内投与し、0.5, 1, 2 および4時間後に、毎分15回回転している直径3.0 cm の回転棒上にマウスを乗せ、1分以内に落下した場合を作用陽性と判定した。

5. 酢酸 stretching

マウス(ddY, 23.3~29.9 g, 雄)を1群10匹として用いた。薬物を静脈内投与し、10分後に0.6%酢酸(0.1 ml/10 g)を腹腔内投与し、その後10分より10分間にわたって stretching(苦悶症状)数を測定した。

6. 正常体温

ラット(Wistar, 170~213 g, 雄)を1群10匹として用いた。薬物を静脈内投与し、0.5, 1, 2 および4時間後に直腸温度計を用いて体温を測定した。

7 条件回避反応

Shuttle box (LVE 社製, 20×45×20 cm)を使用し、2.8 KHzの純音を条件刺激として5秒間提示する間に、ラットが他の部屋に移動しなければ無条件刺激として床のグリッドから電撃ショック(DC 110 V, 0.5秒)を与えた。試行間隔は変時の25秒とし、1 session を20試行とした。良好な条件回避反応(75%以上)を示すラット(Wistar, 205~302 g, 雄)を1群6匹として用いた。薬

物を静脈内投与し、0.5, 1, 2 および4時間後に条件回避反応を測定した。

8. 脳波

ウサギ(日本白色種, 2.9~3.7 kg, 雄)を pentobarbital-Na 30 mg/kg, i.v. で麻酔して東大脳定位固定装置に固定した。SAWYER, et al.⁶⁾の脳図譜に従い、絶縁したステンレススチール線(直径0.25 mm)製双極電極を扁桃核(A:2, L:6, H:-6)および海馬(A:-4, L:4, H:5)に植え込んだ。双極電極は先端部を0.5 mmの長さだけ絶縁を除去し、両極間の距離は0.5~1.0 mmとした。皮質電極は銀メッキしたネジ釘(直径1.0 mm)を用い、運動野(A:2, L:2), 感覚野(A:-3, L:6.5)および視覚野(A:-8, L:5)の皮質表面に植え込んだ。不関電極は皮質電極と同様のネジ釘を用い、前頭骨上に設置した。各電極は頭蓋骨の穿孔部に歯科用セメントで固定し、それぞれコネクタースocketにハンダ付けた。さらに、socket およびハンダ付部分の露出部はすべてセメントで被った。扁桃核および海馬脳波は双極誘導で、皮質脳波は単極誘導でそれぞれポリグラフ(日本電気三栄社製, 361型)にて測定記録した。ウサギは術後10日以上経過して安定した脳波が記録できるようになった後、実験に使用した。

1) 自発脳波

慢性電極植込みウサギを1群2~4羽として用いた。ウサギを防音室内に設置した透明なプラスチック製の箱(21×36×33 cm)に入れ、無麻酔・無拘束状態で脳波を測定した。また、実験中はウサギの背部と不関電極から心電図を同時に記録し、さらにTVカメラにて別室より一般症状観察も行った。自発脳波、心電図および一般症状の観察は、薬物静脈内投与後4時間の間行った。

2) 音・光刺激反応

慢性電極植込みウサギを1群2~3羽として用いた。ウサギを防音シールド室内に設置した脳波測定用固定箱に固定し、音・光刺激装置(日本電気三栄, 3G11)にて音刺激(2000 Hz, monotone, 5秒)あるいは光刺激(5 Hz, 閃光刺激, 5秒)を与えると、音刺激脳波覚醒反応、光刺激脳波誘発反応が惹起される。薬物静脈内投与後10, 30分, 1, 2 および4時間に各反応を測定した。

9. 嘔吐

イヌ(ビーグル, 8.9~11.1 kg, 雄)を1群3匹として用いた。薬物静脈内投与後4時間の間嘔吐症状の有無を観察した。

10. 脊髄反射

ネコ(雑種, 2.5~4.3 kg, 雌雄)を1群4匹として用いた。ネコをエーテル麻酔後気管カニューレを挿入し、脳定位固定装置に固定した。第1頸椎の高さ(C₁)で脊髄

を切断した後人工呼吸を行い、椎弓を切除して腰仙部脊髄を露出し、L₅以下の前根および後根を両側性に切断した。L₇後根を電気刺激(0.2 Hz, 0.1 msec, supramaximal voltage)して同側のL₇前根より前根反射電位およびL₆後根より後根反射電位を導出し、デジタルメモリーオシロスコープで平均加算(4回)した後レコーダーに記録した。脊髄は流動パラフィンで覆い、体温はヒーティングパッドおよび白熱灯により約36℃に維持した。薬物静脈内投与後5, 15, 30, 45, 60分に脊髄反射を測定した。

Ⅲ. 実験結果

1. 自発運動量

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、対照群と比較してマウスの自発運動量に変化は認められなかった。

Chlorpromazine は0.5 mg/kg, i.v.投与後30分の間著明な自発運動量減少が認められた (Fig. 2)。

2. Hexobarbital 睡眠

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、対照群と比較して hexobarbital 睡眠時間に変化は認められなかった。

Chlorpromazine 1 mg/kg, i.v.では対照群に比較して睡眠時間が約2倍延長した(Table 1)。

3. 抗けいれん

1) 最大電撃

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、最大電撃によるT.E.に対して影響はみられなかった。

Diphenylhydantoin 5 mg/kg, i.v.の投与では、5/10例のマウスにおいてT.E.の発現が抑制された(Table 2)。

2) Pentylentetrazol

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、pentylentetrazolによりT.E.に対して影響はみられなかった。

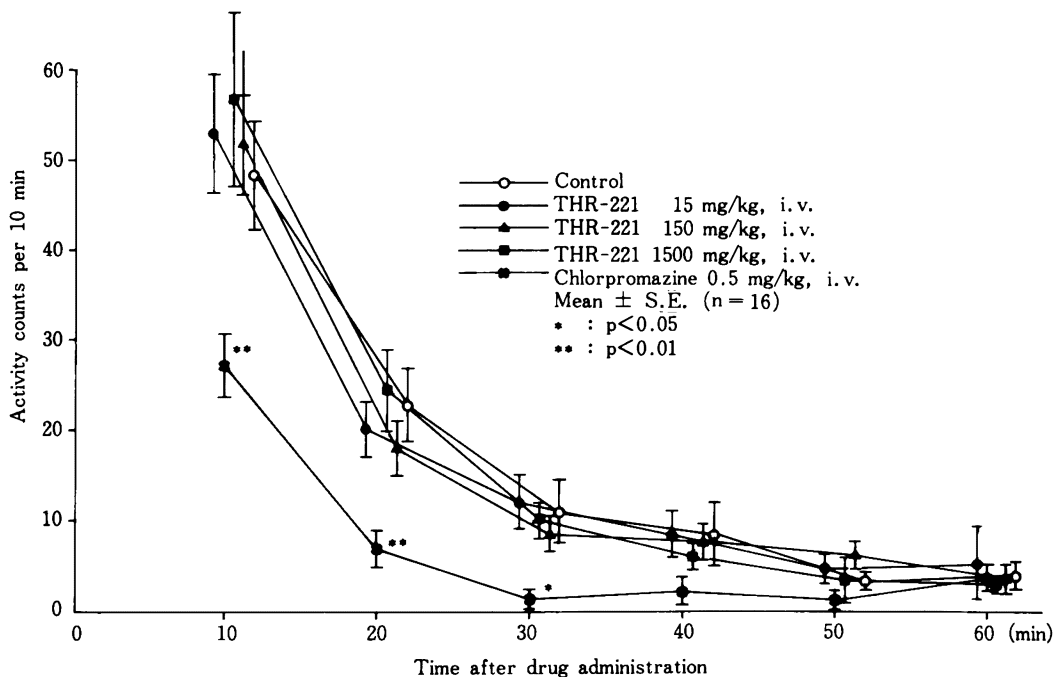
Phenobarbital 10 mg/kg, i.v.の投与では、6/10例のマウスにおいてT.E.の発現が抑制された(Table 3)。

4. 協調運動

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、0.5, 1, 2および4時間後の各時間期においてマウスの協調運動に対して影響はみられなかった。

Chlorpromazine 1 mg/kg, i.v.では、投与後0.5時間に9/10例, 1時間に6/10例および2時間に1/10例のマウスに協調運動抑制作用が認められた (Table 4)。

Fig. 2 Effect of THR-221 and chlorpromazine on spontaneous movement activity in mice



5. 酢酸 stretching

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、酢酸によるマウスのstretching数に影響はみられず、鎮痛作用は認められなかった。

Aminopyrine 20 mg/kg, i.v.の投与では、stretching数が対照群の約33%に減少し、鎮痛作用が認められた(Table 5)。

6. 正常体温

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、投与後4時間においてラットの正常体温に影響はみられなかった。

Chlorpromazine 2 mg/kg, i.v.では、投与後0.5および1

時間に対照群と比較して約1.1℃の体温下降が認められ、その後回復傾向を示したが4時間後においても有意な体温下降が認められた(Fig. 3)。

7. 条件回避反応

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、投与後4時間にわたり条件回避反応に対して影響はみられなかった。

Chlorpromazine 0.5 mg/kg, i.v.では、投与後0.5時間に著明な条件回避反応の抑制が認められ、その後回復傾向を示したが4時間後においても有意な抑制が認められた(Fig. 4)。

8. 脳波

Table 1 Effect of THR-221 and chlorpromazine on hexobarbital sleep in mice

Hexobarbital-Na : 70 mg/kg, i.p.

Drug	Dose (mg/kg, i.v.)	No. of animals	Sleeping time (min)
Control		10	41.2 ± 6.8
THR-221	15	10	40.7 ± 7.7
	150	10	42.7 ± 6.8
	1500	10	43.1 ± 9.5
Chlorpromazine	1	10	84.2 ± 9.1***

Mean ± S.D. *** : p < 0.001

Table 2 Effect of THR-221 and diphenylhydantoin on maximal electroshock convulsions in mice

Maximal electroshock : 15 mA, 0.2 sec

Drug	Dose (mg/kg, i.v.)	No. of animals	No. of animals showing no convulsions (T.E. loss)
Control		10	0
THR-221	15	10	0
	150	10	0
	1500	10	0
Diphenylhydantoin	5	10	5

Table 3 Effect of THR-221 and phenobarbital on pentylenetetrazol convulsions in mice

Pentylenetetrazol : 120 mg/kg, i.p.

Drug	Dose (mg/kg, i.v.)	No. of animals	No. of animals showing no convulsions (T.E. loss)
Control		10	0
THR-221	15	10	0
	150	10	0
	1500	10	0
Phenobarbital	10	10	6

Table 4 Effect of THR-221 and chlorpromazine on coordinating ability in mice

Drug	Dose (mg/kg, i.v.)	No. of animals	No. of animals falling from rotarod within 1 minute				
			Time after administration				
			Pre.	0.5	1	2	4 (h)
Control		10	0	0	0	0	0
THR-221	15	10	0	0	0	0	0
	150	10	0	0	0	0	0
	1500	10	0	0	0	0	0
Chlorpromazine	1	10	0	9	6	1	0

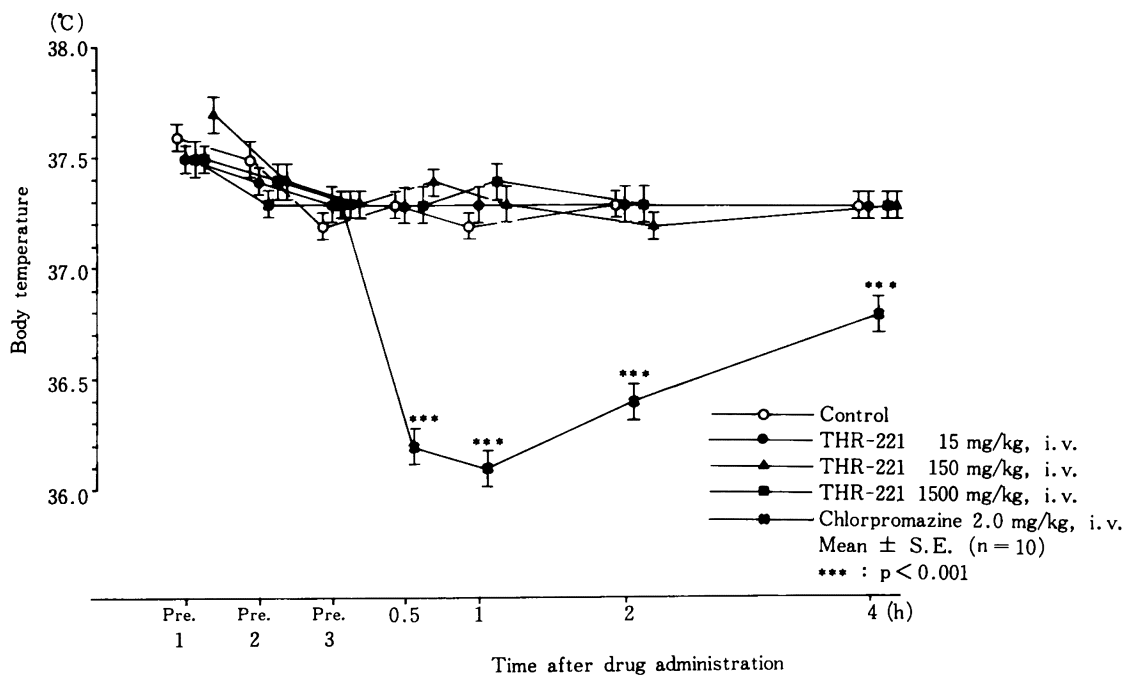
Table 5 Analgesic effect of THR-221 and aminopyrine in mice

0.6% Acetic acid : 0.1 ml/10 g. i.p.

Drug	Dose (mg/kg, i.v.)	No. of animals	No. of stretchings
Control		10	28.7 ± 6.40
THR-221	15	10	27.6 ± 6.50
	150	10	26.7 ± 5.64
	1500	10	24.6 ± 6.04
Aminopyrine	20	10	9.6 ± 4.58**

Mean ± S.D. ** : p < 0.01

Fig. 3 Effect of THR-221 and chlorpromazine on body temperature in rats



1) 自発脳波

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、投与後4時間において自発脳波、心電図および一般症状に変化は認められなかった(Fig. 5)。

2) 音・光刺激反応

THR-221 15, 150および1500 mg/kg, i.v.の投与では、投与後4時間において音刺激脳波覚醒反応および光刺激脳波誘発反応に変化は認められなかった(Fig. 6, 7)。

9. 嘔吐

THR-221 15, および150 mg/kg, i.v.の投与では、投与後4時間において悪心嘔吐症状は観察されなかった。1500 mg/kg, i.v.の投与では3/3例において、投与終了前あるいは投与後数分以内に1~2回の軽度の悪心嘔吐症状が観察されたのみであり、その後4時間の観察においては3例とも悪心嘔吐症状は認められなかった(Table 6)。

10. 脊髄反射

THR-221 1500 mg/kg, i.v.の投与では、前根反射電位(単シナプス反射, 多シナプス反射)および後根反射電位に対して影響はみられなかった。

Mephenesin 50 mg/kg, i.v.では、多シナプス反射および後根反射電位の抑制が認められた(Fig. 8, 9)。

V. 考 察

THR-221の臨床的使用方法は静脈内投与であることより、各実験は静脈内投与で行った。また、臨床的用量と比較してかなりの高用量まで用いて、THR-221の中樞神経系に対する作用を検討した。

THR-221は1500 mg/kg, i.v.(薬効量の約20倍²⁾, マウスおよびラットのLD₅₀の約1/5⁷⁾の投与においても、マウスの自発運動量, hexobarbital 睡眠, 電撃・pentylene-tetrazol けいれん, 協調運動, 酢酸 stretching およびラットの正常体温, 条件回避反応に対して影響は認められなかった。同様に、ウサギの自発脳波, 音・光刺激脳波反応およびネコ脊髄反射に対しても影響は認められなかった。これらの実験結果はTHR-221の中樞神経系に対する作用が、きわめて弱いことを示唆している。またマウスおよびラットにおいてTHR-221の体内動態を調べた結果、他の臓器に比べて脳への移行は少ないことが明らかにされており、THR-221の中樞作用が弱い理由の一つとして脳・血液関門を通過し難いことも考えられる。THR-221はイヌにおいて15および150 mg/kg, i.v.の投与では認められなかったが、1500 mg/kg, i.v.の高用量投与では弱い催吐作用が認められた。THR-221の催吐作用発現については、前述した中樞神経系実験の結果

Fig. 4 Effect of THR-221 and chlorpromazine on shuttle-box avoidance response in rats

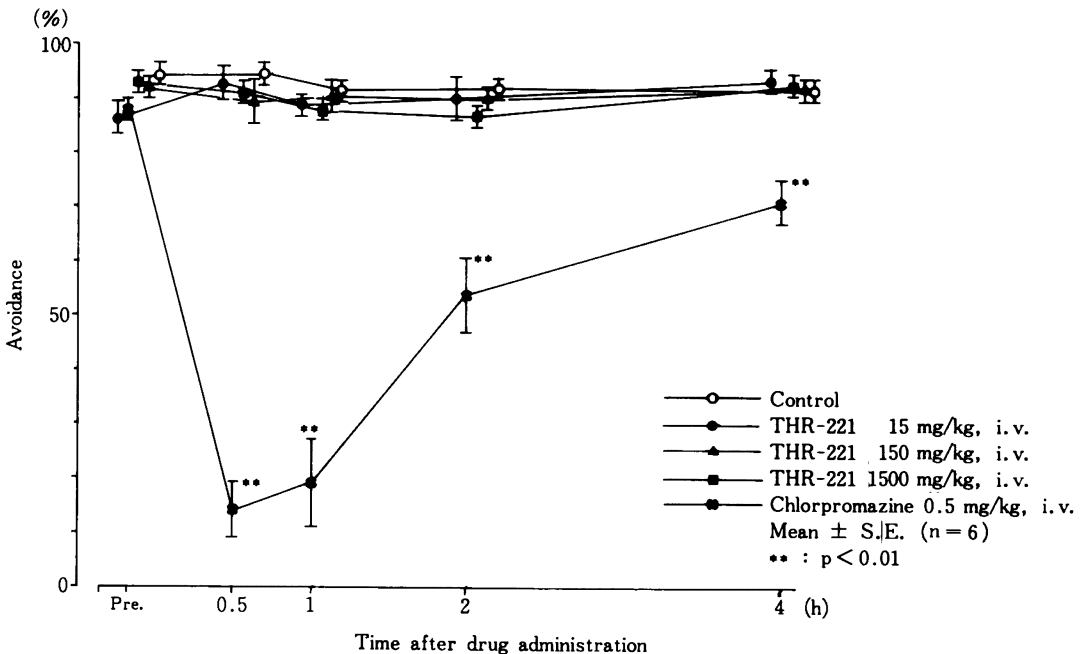


Fig. 5 Effect of THR-221 on spontaneous EEG activity in rabbits

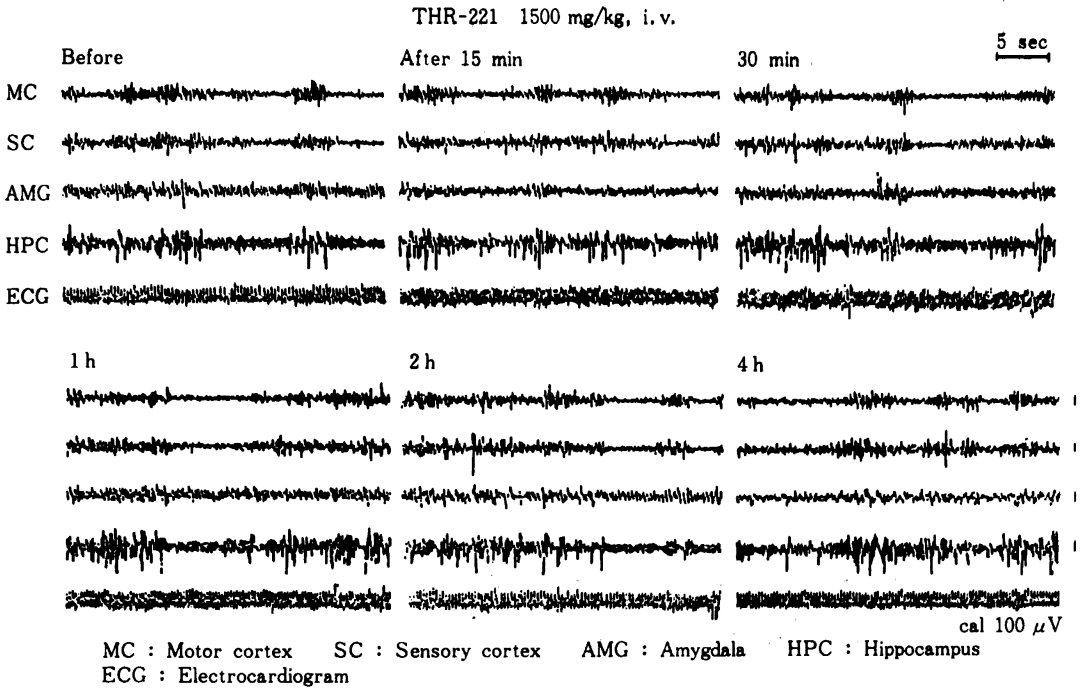
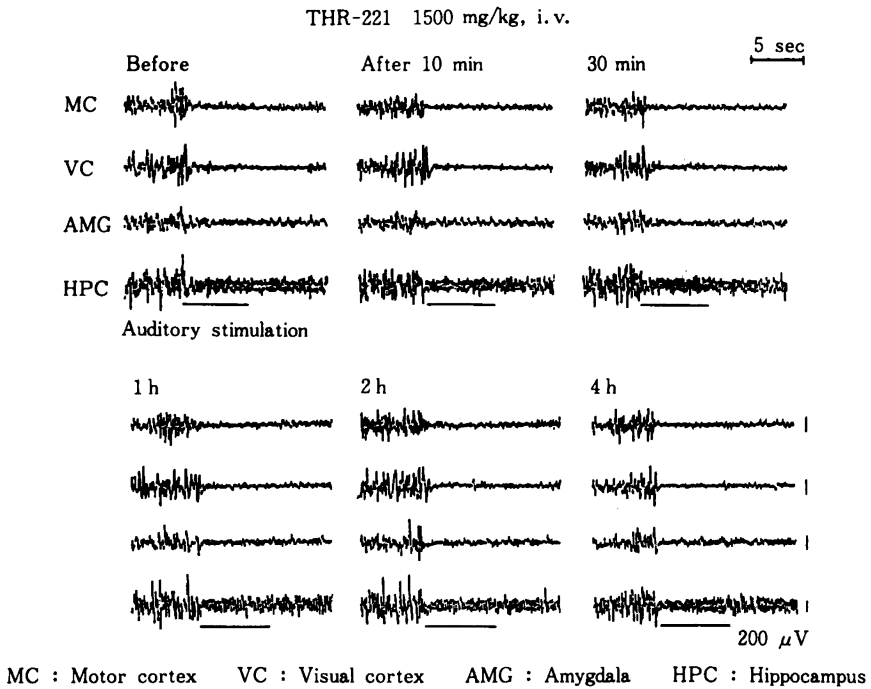


Fig. 6 Effect of THR-221 on EEG arousal response to auditory stimulation (monotone of 2000 Hz) in rabbits



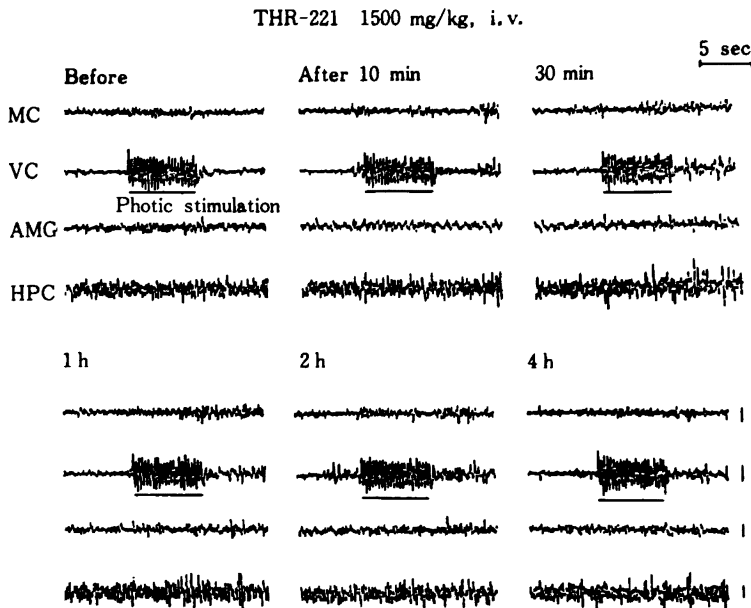
およびイヌの急性毒性試験において神経障害を示唆する症状・組織学的所見は得られていない⁷⁾ことからみて、中枢神経系を直接介した作用とは必ずしも言えないように思われる。一般にイヌは嘔吐が発現し易い動物であり、THR-221 1500 mg/kg (4 ml/kg)という大量を急速(10 ml/min)に静脈内投与した結果、何らかの生体内変化に基づく二次的な作用とも考えられる。

セフェム系抗生物質は、一般的に頭痛、脱力感、悪心、嘔吐などの中枢性副作用が現れることが知られており⁸⁾、また導入する側鎖によっては脳波上にけいれん波を誘発させる抗生物質も知られている⁹⁻¹¹⁾。今回 THR-221も高用量(1500 mg/kg, i.v.)において催吐作用が認められたが、CefazolinあるいはCefotiamは100~300 mg/kg, i.v.

位の用量で嘔吐が発現しており^{9,12)}、THR-221の中枢性副作用発現は弱いものと思われる。置換基によって異なるセフェム系抗生物質のけいれん誘発作用は、各薬剤の高用量を静脈内投与した後の脳波と行動によって観察される¹¹⁾。今回 THR-221の高用量を静脈内投与したが、脳波および行動上には変化は認められず、THR-221には一部の抗生剤で認められるけいれん誘発作用はないものと考えられる。

以上、THR-221は高用量で弱い催吐作用を示したが、他の中枢神経実験において作用は全く認められず、中枢神経系への影響が極めて少ない抗生物質であると考えられる。

Fig. 7 Effect of THR-221 on EEG photic driving response (light flash of 5 Hz) in rabbits



MC : Motor cortex VC : Visual cortex AMG : Amygdala HPC : Hippocampus

Table 6 Emetic effect of THR-221 in dogs

Drug	Dose (mg/kg, i.v.)	No. of animals	No. of animals vomiting
THR-221	15	3	0
	150	3	0
	1500	3	3

Fig. 8 Effect of THR-221 and mephenesin on the ventral root reflex (VRR) and dorsal root reflex (DRR) in spinal cats

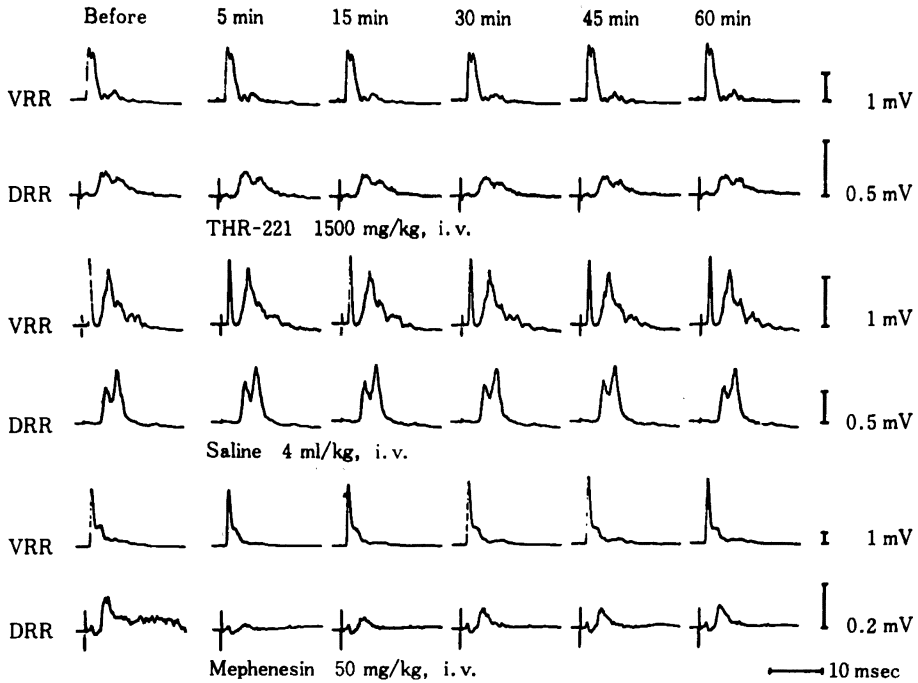
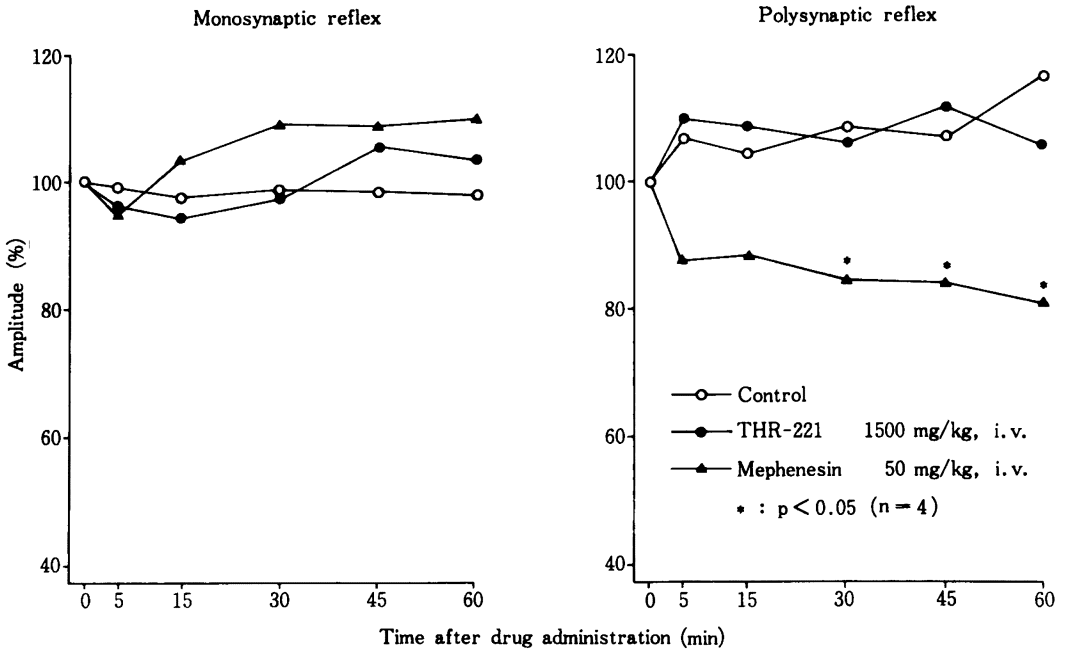


Fig. 9 Effect of THR-221 and mephenesin on the amplitude of ventral root reflexes [monosynaptic reflex and polysynaptic reflex] in spinal cats



文 献

- 1) KASAI, K. ; A. TSUJI, S. MIYAZAKI & S. GOTO : *In vitro* antibacterial activity and β -lactamase stability of cefodizime, a new cephalosporin antibiotic. Jap. J. Antibiotics 37(7) : 1294~1305, 1984
- 2) KASAI, K., A. TSUJI, S. MIYAZAKI & S. GOTO : *In vivo* antibacterial activity of cefodizime, a new cephalosporin antibiotic. Jap. J. Antibiotics 37(7) : 1306~1312, 1984
- 3) KLESEL, N. ; M. LIMBERT, G. SEIBERT, I. WINKLER & E. SCHRINNER : Cefodizime, an aminothiazoyl cephalosporin III Therapeutic activity against experimentally induced pneumonia in mice. J. Antibiotics 37(12) : 1712~1719, 1984
- 4) MATSUSHITA, H. ; M. YOSHIDA, K. SAGAWA, T. MARUNAKA, H. MATSUSHIMA, K. IRIMURA & Y. KAWAGUCHI : Cefodizime Sodium(THR-221)の実験動物における体内動態。Chemotherapy, 投稿予定
- 5) 平林牧三, 飯塚正博, 田所作太郎 : 簡便なマウス自発運動測定方法。日薬理誌 74 : 629~639, 1978
- 6) SAWYER, H. ; J. W. EVERRET & J. D. GREEN : The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. J. Comp. Neurol. 101 : 801~824, 1954
- 7) NAKANO, S. ; K. MORITA : Acute toxicity of Cefodizime Sodium (THR-221) in mice, rats and dogs. The Journal of Toxicological Sciences (in press).
- 8) SANDERS, W. E. ; J. E. JOHNSON & J. G. TAGGRT : Adverse reactions to cephalotin and cephalirin. Uniform occurrence on prolonged intravenous administration of high doses. New Eng. J. Med. 290 : 424~429, 1974
- 9) 松本直彦, 志田 勝, 川添勝義, 菊地健三 : Cefotiam (SCE-963) の一般薬理作用。Chemotherapy 27 : 145~161, 1979
- 10) 山本研一, 吉村弘二, 松下 享 : Cinoxacin の一般薬理作用(1) 中枢神経系に対する作用。Chemotherapy 28 : 530~548, 1980
- 11) YU, Q. H. Epileptogenic activity induced by intravenous injection of certain cephalosporins in rats. J. Pharm. Dyn. 7 : 586~592, 1984
- 12) 山本研一, 沢田 享, 吉村弘二, 広瀬勝己, 松下享, 上田元彦, 木本定利, 中村益久, 提内正美 : Oxacephem 系抗生物質6059-S の一般薬理作用。Chemotherapy 28 : 1158~1189, 1980

GENERAL PHARMACOLOGY OF CEFODIZIME SODIUM(THR-221)(1)
—EFFECT ON CENTRAL NERVOUS SYSTEM—

JUNJI YAMAMOTO, HITOSHI MURAKAMI, KATSUO TOIDE, HIROFUSA AJIOKA and HIDEKAZU MIYAKE
Research Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Tokushima

We investigated the effect of THR-221, a new cephalosporin antibiotic, on the central nervous system in mice, rats, rabbits, cats and dogs. THR-221 at i.v. doses of 15, 150 and 1500 mg/kg, affected neither spontaneous movement activity, hexobarbital sleeping time, convulsions(induced by electroshock and pentylenetetrazol), motor coordination and stretching induced by acetic acid in mice, nor body temperature and conditioned avoidance response in rats. THR-221, administered at the same doses, affected neither spontaneous EEG activity, EEG arousal response and photic driving response in rabbits, nor spinal reflex in cats. Only at a high i.v. dose of 1500 mg/kg was slight vomiting observed in dogs.

These results suggest that THR-221 does not significantly affect the central nervous system.