

新規カルバペネム系抗生物質Meropenemの中樞作用に関する行動薬理的および脳波学的検索

大野行弘・広瀬 彰・辻 良三・加藤照文・中村三孝
住友製薬株式会社研究所*

Edwards J.R.

ICI Pharmaceuticals**

Patel J.B.

ICI America Inc.***

Meropenem(MEPM)の一般薬理作用評価の一環として中枢神経系に対する作用を検討し、以下の成績を得た。

1. MEPMは、300 mg/kg静脈内投与でマウスの一般症状に何ら影響を与えず、barbital麻酔増強作用および協調運動抑制作用も示さなかった。

2. MEPMは、30～300 mg/kg静脈内投与の範囲でウサギの中脳網様体刺激による脳波覚醒反応に何ら影響をおよぼさなかった。

3. 慢性埋め込み電極を装着したウサギにおいて、MEPMは30～1000 mg/kg静脈内投与で大脳皮質および海馬の自発脳波に何ら影響を与えなかった。これに対し、対照薬imipenem(IPM)は300 mg/kg静脈内投与で約60%の動物に、cefazolin(CEZ)は1000 mg/kgで約85%の動物に発作性発射を誘発した。

4. MEPMは、30～300 μ g/animalの脳室内局所投与でマウスに行動的变化をきたさなかった。一方、IPMは10 μ g/animal以上の用量で間代性および強直性痙攣を惹起し、それぞれの痙攣誘発におけるED₅₀値は11.3および16.6 μ g/animalであった。

以上の成績より、MEPMはIPM、CEZなど従来の β -ラクタム剤と異なり痙攣誘発作用を有さず、中枢神経系に対しほとんど作用しないことが明らかとなった。

Key words : Meropenem, 新カルバペネム系抗生物質, 一般薬理, 中枢作用

住友製薬株式会社に合成された新規カルバペネム系 β -ラクタム剤meropenem(MEPM)は、グラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルと強力な抗菌活性を示す。今回、MEPMの一般薬理作用評価の一環として、本剤の中枢神経系に対する作用を知るため、行動薬理的および脳波学的検討を加えたので報告する。

I. 実験材料

1. 使用動物

実験には、Swiss-Webster系雄性マウス、HLA Wistar系雄性ラット(Hilltop Laboratories), ddY系雄性マウス(日本SLC), 日本白色種雄性ウサギ(日本動物)を使用した。いずれの動物も入荷後1週間以上予備飼育し、健康な動物を実験に供した。

2. 使用薬物

MEPMおよびimipenem(IPM)は当社で合成したものをを用いた。その他、次の薬物を使用した。Cefazolin sodium (CEZ, セファメジン注[®], 藤沢薬品), barbital sodium (Amend Drug & Chemical Co.), pentobarbital sodium (ネンブタール注[®], 大日本製薬), lidocaine hydrochloride (キシロカイン注[®], 藤沢薬品), ether (スクイブ麻酔用エーテル[®], 三楽), benzylpenicillin potassium (結晶ペニシリンGカリウム明治[®], 明治製薬)。

MEPMおよびIPMは、各薬物1モルに対しそれぞれ0.75モルの炭酸ナトリウムおよび1モルの炭酸水素ナトリウムを混合し、蒸留水に溶解し静脈内投与した。CEZは蒸留水に溶解し静脈内投与した。マウス脳室内投与の実験では、MEPMおよびIPMを生理食塩水に溶解し、0.1N NaOH溶液を用いて約pH6.0に合わせた後

*〒554 大阪市此花区春日出中3丁目1-98号

**Macclesfield, Cheshire, UK

***Wilmington, DE 19897, USA

使用した。

II. 実験方法

1. 行動薬理試験

Swiss-Webster系雄性マウス(体重25g前後)およびHLA Wistar系雄性ラット(体重200g前後)を使用した。MEPMの投与量は300 mg/kgとし、動物の尾静脈より静脈内注射した。

1) 一般症状に対する作用

1群8匹のマウスを用い、MEPM静脈内投与15, 30, 60および120分後の一般症状(自発運動量, 探索行動, 筋緊張性, 正向反射, 耳部血管の拡張性, 唾液分泌, 体温, 呼吸・循環器系の律動性, 放尿, 下痢, 縮瞳, 散瞳, 眼瞼下垂, 挙尾, 立毛, 振戦, 常同行動, 痙攣および死亡例の有無など)の変化をIrwinら(1968)¹⁾の方法に準じて観察した。

2) 協調運動に対する作用(Rota-rodテスト)

動物に予め訓練を施し, rota-rod(直径9.6cmの回転棒, 6回転/分)上に回転方向と逆向きに乗せ, 1分間以上この上にとどまることができるラットのみを選別し実験に供した。1群8匹のラットにMEPMを投与し, 15, 30, 60, 90および120分後にそれぞれrota-rod上に乗せ, 1分間の試行中に3回以上落下した場合, 協調運動の失調と判定した。

3) Barbitol麻酔時間に対する作用

1群8匹のマウスを使用した。MEPMを静脈内投与した後, 15分目にbarbitol sodium(100mg/kg)を腹腔内投与し, 正向反射の回復を指標に睡眠時間を測定した。

2. 脳波試験

1) 自発脳波に対する作用

体重3kg前後の日本白色種雄性ウサギを使用した。Pentobarbital(40mg/kg, i.v.)麻酔下に, ウサギの頭蓋を脳定位固定装置(成茂科学, SN-2)に固定した。Sawyerら²⁾の脳座標図に従い背側海馬(A:-4.0, L:6.0, H:5.0)にステンレススチール製記録電極を刺入し, 次いで大脳皮質運動領の硬膜上に銀球記録電極を置いた。不閃電極は前頭骨上に置き, それぞれの電極をミニチュアソケットの接点に接続させた後, その周囲を即時硬化樹脂を用いて頭蓋骨に固定した。手術終了後, 感染防止の目的でbenzylpenicillin 10万単位を筋肉内注射した。手術後少なくとも1週間の回復期間の後, 健康と認められた動物をアクリル製固定箱に入れ, 防音シールド室内で無麻酔下に脳波の測定を行った。海馬および大脳皮質の脳波は, 単極誘導にて三栄測器製脳波計(1A52)を用いて記録した。ウサギは頭部を除き軽度の拘束をうけるが, 痙攣などの異常行動は固定

箱を通じて観察することが出来る。被検薬MEPMおよび比較対照薬のIPMおよびCEZを, 30~1000 mg/kgの用量で耳介静脈内に投与した。投与直後および5, 15, 30, 60分後の自発脳波を投与前の脳波と比較するとともに, 痙攣など異常行動発現の有無を観察した。同一動物に異なる薬物を投与する場合には, 少なくとも1週間以上の休薬期間をおき自発脳波所見に異常のないことを確認した後, 実験に供した。

2) 脳波覚醒反応に対する作用

体重3kg前後の日本白色種雄性ウサギを使用した。Ether麻酔下に気管カニューレを挿入し, 脳定位固定装置に頭部を固定した。動物の術創面および頭部圧迫部位をlidocaineにより局所麻酔し, ether麻酔を中止した。次いで前述と同様の方法により, 背側海馬および大脳皮質運動領に記録電極を留置した。また, 脳波覚醒反応を得るため, ステンレススチール製双極刺激電極を中脳網様体(A:-9.0, L:2.0, H:-1.5)に刺入し, 頻度200Hzの矩形波(持続1msec, 強度0.2~3.0V)電気刺激を10秒間与えた。動物の体温は保温パットを用いて36.5~37.5℃に維持した。中脳網様体刺激による脳波覚醒反応は, MEPM(30~300 mg/kg)の耳介静脈内投与の前および5, 15, 30, 60分後に測定し, 覚醒閾値に対するMEPMの作用を検討した。

3. 脳室内投与試験

1群10匹のddY系マウス(体重25g前後)を使用した。被検薬MEPMおよび比較対照薬のIPMを, それぞれ30, 100, 300 μ g/animalおよび3, 10, 30 μ g/animalの3段階3用量でマウスの左側側脳室内に局所投与した。投与液量はいずれも20 μ lとし, 対照群の動物には同容量の生理食塩水のみを投与した。側脳室内投与は無麻酔下にマイクロシリンジを用いて行い, シリンジ針を左眼の後縁より3mm後方, 縦正中線より0.5mm外側の頭蓋位置に垂直に刺入し, 約1分かけて薬液を緩徐に注入した。なお, シリンジの針先端部にはあらかじめポリエチレン製ストッパーを装着し, 針の刺入する深さを3mmに調節した。薬物の脳室内投与後, 動物をプラスチック製観察箱に入れ30分間の行動観察を行い, 挙尾, 間代性痙攣, 強直性痙攣および死亡の有無を判定した。

III. 実験結果

1. 行動薬理試験

1) 一般症状に対する作用

MEPMは, 300mg/kg静脈内投与においてマウスの一般症状に対し何らの変化をも与えなかった。

2) 協調運動抑制作用

MEPMは, 300mg/kgの静脈内投与でrota-rodテス

トにおけるラットの協調運動に影響を与えなかった。

3) Barbital麻酔時間に対する作用

MEPMは、300 mg/kg静脈内投与でbarbital睡眠時間に対し何らの影響も示さなかった。

2. 脳波試験

1) 自発脳波に対する作用

ウサギを固定箱に入れるとしばらくの間、脳波は覚醒パターンを示した。すなわち、大脳皮質では主として低電位速波が、また海馬では4~6 Hzの明瞭な同期波(θ波)が得られた。その後しばらくすると動物は容易に安静状態となり、大脳皮質脳波には高電位徐波成分が増加し、海馬ではθ波が脱同期化し不規則な脳波パターンを示した。このような状態においても、音などの軽微な外来刺激によりウサギ脳波は直ちに覚醒パターンに変化した。

MEPMは、30~1000 mg/kgの静脈内投与においてウサギ自発脳波に何ら作用を示さなかった(Fig. 1)。すなわち、薬物の投与直後から60分における自発脳波パターンに明らかな変化は認められず、検討した7例全例において、痙攣波など異常脳波の出現は観察されなかった(Table 1)。

IPMは、30および100 mg/kg静脈内投与の範囲で自発脳波に何ら影響を与えなかった。しかし、300 mg/

kgでは、7例中4例の動物の大脳皮質および海馬に、主として高電位の棘波および棘徐波よりなる発作性発射を誘発した(Fig. 2およびTable 1)。この際動物には、間代性痙攣に類似する全身性の筋攣縮が認められ

Table 1. Comparison of meropenem, imipenem and cefazolin on the induction of seizure discharges in chronically electrode-implanted rabbits

Treatment	Dose (mg/kg, i.v.)	Incidence of seizure discharge
Meropenem	30	0/7 ^{a)}
	100	0/7
	300	0/7
	1000	0/7
Imipenem	30	0/7
	100	0/7
	300	4/7
Cefazolin	30	0/7
	100	0/7
	300	1/7
	1000	6/7

^{a)} Values show the number of animals in which the drug induced seizure discharges/the total number of animals examined.

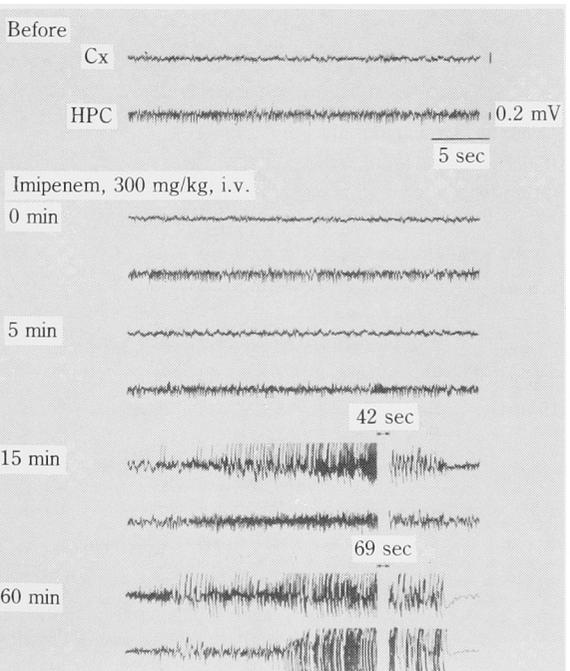
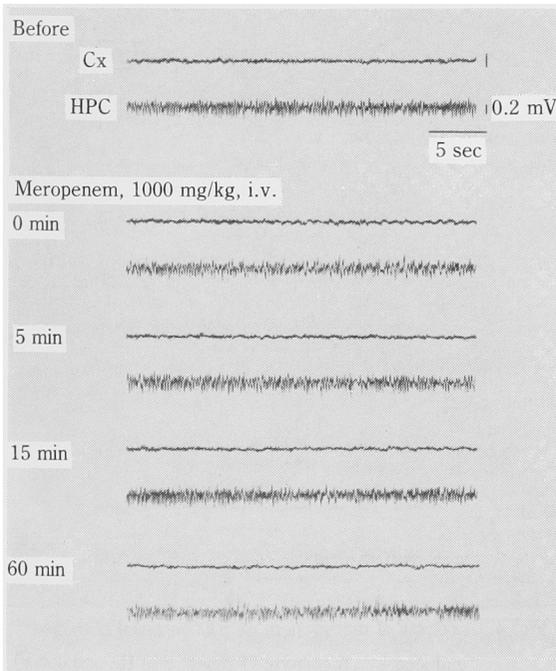


Fig. 1. Effects of meropenem on spontaneous EEG in a chronically electrode-implanted rabbit.

Cx: Cerebral cortex, HPC: Hippocampus.

Fig. 2. Effects of imipenem on spontaneous EEG in a chronically electrode-implanted rabbit.

Cx: Cerebral cortex, HPC: Hippocampus.

た。IPMによる痙攣誘発は、通常薬物投与の10~20分後より現われ、その後断続的に60分以上持続した。

CEZは、30および100 mg/kg静脈内投与の範囲で自発脳波に影響を与えなかった。しかし、300 mg/kg投与では7例中1例、1000 mg/kg投与では7例中6例の動物に痙攣を伴う発作性発射を誘発した (Fig. 3および Table 1)。CEZによる異常脳波は、通常、薬物投与の直後に一過性に出現し15分後には正常に復する例が多かったが、1000 mg/kg投与群の2例においては投与60分後まで断続的に認められた。

2) 脳波覚醒反応に対する作用

中脳網様体に高頻度の電気刺激を与えると、Fig. 4に示すように大脳皮質脳波は低電位速波化し、海馬では明瞭な θ 波が得られた。この中脳網様体刺激による脳波覚醒反応は、30、100および300 mg/kgのMEPM静脈内投与により何らの影響も受けず、検討した全ての動物で覚醒反応の刺激閾値に変化は認められなかった (Fig. 4)。

3. 脳室内投与試験

MEPMは、30~300 μ g/animal側脳室内投与の範囲で検討したいずれの動物に対しても明らかな行動変化

を与えず、MEPM投与後30分間におけるマウス行動は対照群のそれとほぼ類似していた (Fig. 5)。

IPMは、3 μ g/animalの脳室内投与で検討した10匹中3匹のマウスに挙尾を誘発した。10 μ g/animalの用量では、10匹中5匹の動物で挙尾を伴う激しい間代性痙攣を誘発し、このうち2匹は、間代性痙攣に引き続き強直性痙攣を起こしいずれも死亡した (Fig. 5および Table 2)。さらに30 μ g/animalのIPMは、10例中9例の動物に間代性痙攣を惹起し、うち8例は強直性痙攣を起こしいずれも死亡した (Table 2)。IPMによる間代性痙攣の誘発は、通常薬物投与の30秒から5分後に起こり、強直性痙攣を起こした動物は15分以内に死亡した。IPMの脳室内投与による間代性および強直性痙攣誘発のED₅₀値は、それぞれ11.3および16.6 μ g/animalであり、LD₅₀値は16.6 μ g/animalであった (Table 2)。

IV. 考 察

MEPMは、300 mg/kgの静脈内投与でマウスに行動的变化をほとんどきたさなかった。運動機能に対する作用を知るため rota-rod法を用いて検討したが、MEPMはラット協調運動に対しても何ら作用を示さず、

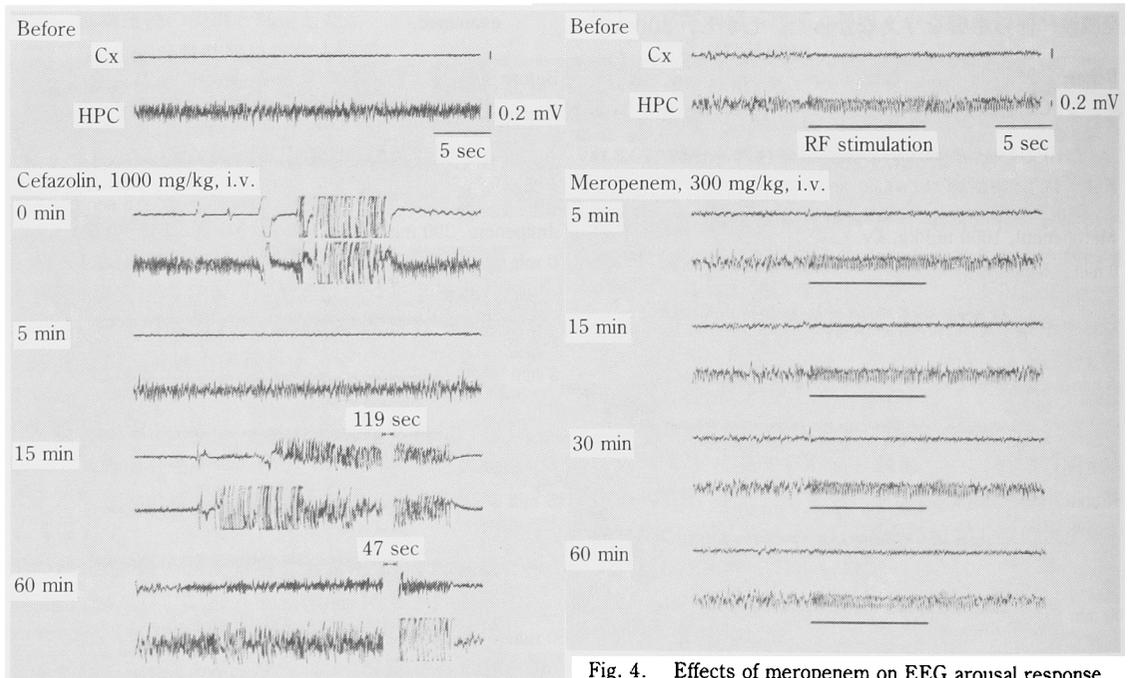


Fig. 3. Effects of cefazolin on spontaneous EEG in a chronically electrode-implanted rabbit.

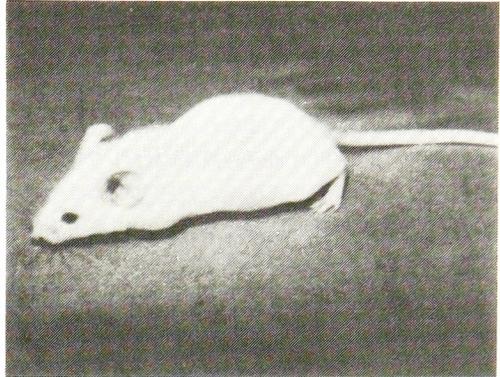
Cx: Cerebral cortex, HPC: Hippocampus.

Fig. 4. Effects of meropenem on EEG arousal response induced by stimulation (1 msec, 200 Hz and 0.4 V) of the midbrain reticular formation (RF) in a rabbit. Horizontal bars indicate the period of RF stimulation. Cx: Cerebral cortex, HPC: Hippocampus.

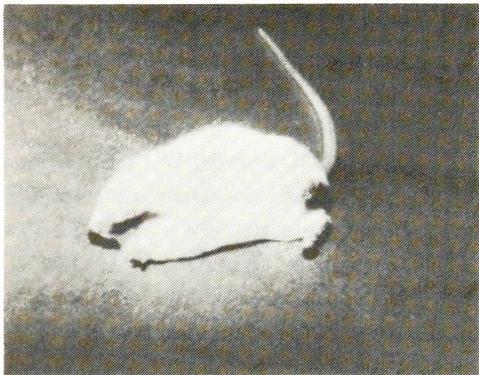
Meropenem (300 $\mu\text{g}/\text{animal}$, i.c.v.)
2 min



30 min



Imipenem (30 $\mu\text{g}/\text{animal}$, i.c.v.)
2 min



3 min

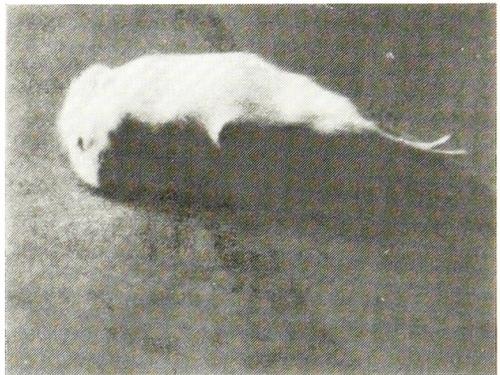


Fig. 5. Typical behavioral responses to intracerebral injection of meropenem and imipenem in mice. Note that imipenem induced clonic convulsion (2 min) followed by tonic convulsion (3 min).

Table 2. Comparison of intracerebral meropenem and imipenem on the induction of clonic and tonic convulsions in mice

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Clonic convulsion		Tonic convulsion		Death	
		Incidence	ED ₅₀	Incidence	ED ₅₀	Incidence	LD ₅₀
Saline	—	0/10 ^{a)}	—	0/10 ^{a)}	—	0/10 ^{a)}	—
Meropenem	30	0/10	—	0/10	—	0/10	—
	100	0/10	—	0/10	—	0/10	—
	300	0/10	—	0/10	—	0/10	—
Imipenem	3	0/10	—	0/10	—	0/10	—
	10	5/10	11.3 μg	2/10	16.6 μg	2/10	16.6 μg
	30	9/10	(6.1 ~ 21.1)	8/10	(9.9 ~ 27.6)	8/10	(9.9 ~ 27.6)

^{a)} Values show the number of animals responding to the drug/the total number of animals examined.

運動機能障害を引き起こすことはなかった。さらに、barbital麻酔に対しても増強作用を示さなかったことより、本剤は中枢抑制作用を有していないと考えられた。一方、脳波学的検索においても、MEPMはウサギの自発脳波に何らの作用も示さず、脳波を覚醒波化したり、安静波化したりすることはなかった。さらに、中脳網様体の電気刺激により得られる脳波覚醒反応に対し、MEPMは、30～300 mg/kg静脈内投与で覚醒反応の刺激閾値を全く変化させなかった。以上の結果から、MEPMが中枢神経系に対しほとんど作用を有さず、動物の覚醒レベルに対しても影響をおよぼさないと考えられる。

これまでpenicillin, CEZなどβ-ラクタム系抗生物質の中枢性副作用として、これら薬剤による痙攣助長あるいは痙攣誘発作用が問題とされてきた³⁻⁵⁾。比較的新しいカルバペネム系β-ラクタム剤であるIPMについても、その痙攣誘発作用が臨床上の問題点としてとりあげられている⁶⁻⁸⁾。そこで本研究では、MEPMの痙攣脳波誘発作用について、対照薬IPMおよびCEZの作用と比較した。IPMおよびCEZの痙攣脳波誘発作用に関しては、これまで無麻酔ガラミン非動化状態のウサギにおいて、200 mg/kg(i.v.)以上の用量のIPMおよび400 mg/kg(i.v.)以上の用量のCEZが、それぞれ高電位棘波よりなる異常脳波を誘発することが報告されている⁹⁾。今回我々が行った実験においても、IPMは300 mg/kg静脈内投与で約60%の動物に、CEZは1000 mg/kgで約85%の動物に発作性発射を誘発し、行動上にも明らかな筋痙攣を惹起した。これに対し、MEPMは1000 mg/kgの投与量においてもウサギ自発脳波に何ら影響をおよぼさず、痙攣波などの異常脳波をも誘発しなかった。これらの結果は、MEPMの痙攣誘発作用が、IPMおよびCEZに比べ明らかに弱いことを示している。PatelとGiles(1989)¹⁰⁾は、マウスでのmetrazole誘発痙攣に対するMEPMおよびIPMの作用を比較し、IPMが200 mg/kg(i.v.)以上の用量でmetrazole痙攣を増強するのに対し、MEPM(50～400 mg/kg, i.v.)は何ら増強作用を示さないことを報告している。これらの知見も、MEPMが痙攣誘発作用を有していないことを支持している。

次に、MEPMおよびIPMの中枢作用をより直接的に評価するため、マウス脳室内投与実験を行った。IPMを側脳室内に局所微量注入すると、10 μg/animalの用量から間代性および強直性の痙攣が観察され、強直性痙攣を起こした動物は全て死亡した。これに対し、MEPMは300 μg/animalの高用量においてもマウスに明らかな行動変化を引き起こさず、本剤が脳内投与時

でも痙攣誘発作用を示さないことが明らかとなった。従って、痙攣誘発におけるMEPMとIPMの効力差は、両薬物の末梢での代謝や脳内移行性など薬物動態学的な差によるものでなく、むしろこれら薬剤の中枢神経系に対する直接作用に基づくと考えられる。このため、血液脳関門の脆弱化をきたしうる疾患(脳・髄膜炎など)においても、MEPMはIPMなど他のβ-ラクタム剤に比べより安全性の高い薬剤として期待される。

以上のごとく、MEPMはIPM, CEZなど従来のβ-ラクタム剤と異なり痙攣誘発作用をほとんど持たず、中枢性副作用発現頻度の低い薬剤であることが明らかとなった。さらに、運動機能障害、中枢抑制作用なども認められなかったことより、本剤は中枢神経系に対しほとんど作用を有していないと考えられる。

文 献

- 1) Irwin S: Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia (Berl)* 13: 222～257, 1968
- 2) Sawyer C H, Everett J W, Green J D: The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J Comp Neurol* 101: 801～824, 1954
- 3) Curtis D R, Game C J A, Johnston G A R, McCulloch R M, McClachian R M: Convulsive action of penicillin. *Brain Res* 43: 242～245, 1972
- 4) Bechtel T P, Slaughter R L, Moore T D: Seizures associated with high cerebrospinal fluid concentrations of cefazolin. *Am J Hosp Pharm* 37: 271～272, 1980
- 5) Gerald M C, Massey J, Spadro D C: Comparative convulsant activity of various penicillins after intracerebral injection in mice. *J Pharm Pharmacol* 25: 104～108, 1973
- 6) Calandra G B, Brown B K, Grad L C, Ahonkhai V, Wang C, Aziz M A: Review of adverse experiences and tolerability in the first 2,516 patients treated with imipenem/cilastatin. *Am J Med* 78: 73～78, 1987
- 7) Tedtse C S, Vera F, Hernandez, Desai D: Seizure-like activity associated with imipenem-cilastatin. *Drug Intel Clin Pharmac* 21: 659～660, 1987
- 8) Williams P D, Bennett D B, Comereski C R: Animal model for evaluating the convulsive

- liability of β -lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemothera 32: 758~760, 1988
- 9) 牧 栄二, 木村一平, 成瀬友裕, 池田宣二, 浅見照美: 新しい β -ラクタム系抗生物質 imipenem (MK-0787) と dehydropeptidase-I の特異的阻害剤 cilastatin sodium (MK-0791) の併用時における一般薬理作用. Chemotherapy 33 (S-4): 329~356, 1985
- 10) Patel J B, Giles R E: Meropenem: evidence of lack of proconvulsive tendency in mice. J Antimicrob Chemothera 24 (Suppl. A): 307~309, 1989

BEHAVIORAL AND ELECTROENCEPHALOGRAPHIC STUDIES ON THE CENTRAL ACTION OF A NOVEL CARBAPENEM: MEROPENEM

Yukihiro Ohno, Akira Hirose, Ryozo Tsuji, Terufumi Kato and Mitsutaka Nakamura
Research Laboratories, Sumitomo Pharmaceuticals Co. Ltd.
1-98 Kasugade-naka, 3-chome, Konohana-ku, Osaka 554, Japan

J. R. Edwards
ICI Pharmaceuticals Macclesfield, Cheshire, UK

J. B. Patel
ICI America Inc. Wilmington, DE 19897, USA

Behavioral and electroencephalographic (EEG) studies were performed to examine the effects of meropenem (MEPM) on the central nervous system. The following results were obtained:

1. MEPM at a dose of 300 mg/kg i.v. did not affect the gross behavior of mice, the balance and motor coordination of rats on a rota-rod or the sodium barbital sleeping time of mice.
2. MEPM at doses of 30~300 mg/kg i.v. did not alter the stimulus threshold in EEG arousal responses induced by stimulation of the midbrain reticular formation.
3. In experiments using conscious rabbits in which electrodes had been chronically implanted, MEPM showed no effects on the spontaneous EEG pattern at doses up to 1000 mg/kg. In contrast, other β -lactams, imipenem (IPM) (300 mg/kg, i.v.) and cefazolin (1000 mg/kg, i.v.), evoked seizure discharges in about 60 and 90% of animals tested, respectively.
4. Intracerebral injection of MEPM at doses of 30~300 μ g/animal did not produce behavioral changes in mice, while IPM (3~30 μ g/animal, i.c.v.) induced clonic and tonic convulsions with ED₅₀ values of 11.3 and 16.6 μ g/animal, respectively.

These results indicate that MEPM, unlike IPM, lacks pro-convulsive activity and has no adverse actions in the central nervous system.