

## ウサギ血管アドレナリン作動性収縮機構に対する ofloxacin の作用

柳 原 太

関西医科大学内科学第一講座\*

(主任: 安永幸二郎教授)

(平成4年9月28日受付・平成5年1月6日受理)

1) 新キノロン合成抗菌剤 ofloxacin (OFLX) の血管に対する効果をウサギ大動脈条片を用いて検討し、その作用機序を明らかにするため、Ca アンタゴニストである diltiazem の作用と比較した。また、アドレナリン作動性反応に対する選択性を調べるため、コリン作動性およびタキキニン作動性反応を示す虹彩括約筋においても効果を調べ検討した。

2) OFLX はウサギ大動脈における経壁電気刺激および tyramine による内因性カテコールアミンを介した収縮反応を  $10^{-5}$  M 以上の濃度で濃度依存的に抑制した。しかし、虹彩括約筋の経壁電気刺激によるコリン作動性およびタキキニン作動性収縮に対して OFLX  $10^{-4}$  M は影響をおよぼさなかった。

3) OFLX は大動脈の phenylephrine の濃度反応曲線を非競合的に右方移動させた。しかし、KCl 収縮および  $Ca^{2+}$  除去液において、KCl 40 mM 脱分極後の  $Ca^{2+}$  による収縮反応には影響をおよぼさなかった。

4) Diltiazem は phenylephrine の収縮反応に対しては軽度、KCl 収縮および KCl 40 mM 脱分極後の  $Ca^{2+}$  の収縮反応に対しては強く抑制した。

5) ウサギ胸部大動脈は  $Ca^{2+}$  除去液中で phenylephrine  $10^{-6}$  M の適用により一過性収縮 (phasic 相) を、その後  $Ca^{2+}$  2.5 mM を適用させるとさらに持続性収縮 (tonic 相) を惹起した。OFLX はその両収縮反応を抑制した。

6) これらの結果から、OFLX はアドレナリン作動性収縮機構に対して選択的に抑制的に作用すること、その作用は  $\alpha_1$  受容体に関連した細胞内  $Ca^{2+}$  遊離による収縮と受容体作動性 Ca チャンネルを介した収縮の抑制に起因するものと推察される。

**Key words:** OFLX, Diltiazem, 細胞内  $Ca^{2+}$  遊離, 受容体作動性 Ca チャンネル, 膜電位依存性 Ca チャンネル

Ofloxacin (OFLX) は、ナリジクス酸誘導体である新キノロンカルボン酸系合成抗菌剤である。その化学名は (±)-9-fluoro-2, 3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido [1,2,3-de] [1,4] benzoxazine-6-carboxylic acid であり、*Pseudomonas aeruginosa* および *Serratia marcescens* を含むグラム陰性およびグラム陽性細菌に対して広範囲に強力な抗菌作用を有しており、臨床的に有効であることが認められている<sup>1-4)</sup>。基礎的実験において OFLX はイヌの股動脈血流量を増加させ、noradrenaline (NA) に対する昇圧反応を抑制することが明らかにされている<sup>5)</sup>。この実験の結果から、OFLX は血管平滑筋収縮に対して抑制的に作用することが考えられる。しかしながら、OFLX の血管平滑筋におよぼ

す作用についての詳細な検討はない。本研究の目的は、OFLX の血管平滑筋に対する作用機序を明らかにすることであり、そのために、ウサギ胸部大動脈摘出標本に対する OFLX の作用を、Ca アンタゴニストである diltiazem と比較検討した。また、コリン作動性反応およびタキキニン作動性反応に対する効果も、ウサギ虹彩括約筋を用いて検討した。

## I. 材料と方法

実験には、体重 2.0~2.5 kg の白色雄性ウサギを用いた。ウサギを頸動脈放血により致死させ、ただちに、胸部大動脈、および眼球を摘出した。摘出した大動脈は、血管に付着する脂肪および結合組織を除去し、幅 5 mm、長さ 1.5 cm のらせん状条片を作成し

\* 大阪府守口市文園町 1 番地

た。眼球は、角膜を取り除き、瞳孔縁に沿って幅 2.0~2.5 mm で虹彩括約筋を強膜より輪状に切り取り、その横断標本を作成した。大動脈および虹彩括約筋標本は、20 ml 容の栄養液中に各々 1.5 g および 0.5 g の張力を負荷して懸垂した。張力の変化は force displacement transducer を介して、熱ペン書きオシログラフ上に記録した。栄養液は  $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$  に保ち、95%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$  混合ガスを通気した。栄養液組成は、NaCl 120.7 mM, KCl 5.9 mM,  $\text{CaCl}_2$  2.5 mM,  $\text{MgCl}_2$  1.2 mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.2 mM,  $\text{NaHCO}_3$  15.5 mM, glucose 11.5 mM である。標本懸垂後 60 分間放置した後実験を開始した。その間 20 分毎に栄養液を交換した。大動脈および虹彩に対して経壁電気刺激を行うため各々の標本を 2 本の銀線の間に懸垂した。大動脈に対する経壁電気刺激の条件は supramaximal voltage, 0.3 msec 幅, 頻度 3, 5, 10, および 20 Hz で 15 分毎に 10 秒間刺激を加えた。虹彩に対する刺激条件は, supramaximal voltage, 0.3 msec 幅, 頻度 5, 10, および 20 Hz で 10 分毎に 10 秒間刺激を行った。

近年  $\alpha$  受容体は  $\alpha_1$  と  $\alpha_2$  の subtype に分類され<sup>6,7)</sup>, ウサギ大動脈のシナプス後膜受容体は  $\alpha_1$  のみであることが明らかにされている<sup>8,9)</sup>。そのため、その受容体に対する作動薬として、選択的に  $\alpha_1$  受容体に作用する phenylephrine<sup>6,7)</sup> を使用した。

使用した薬物は ofloxacin (OFLX 第一製薬), diltiazem (田辺製薬), phenylephrine (Sigma), tyramine (Sigma), prazosin (ファイザー製薬), guanethidine (東京化成), tetrodotoxin (三共) である。

## II. 結 果

### 1. OFLX の経壁電気刺激胸部大動脈収縮に対する作用

胸部大動脈は、3, 5, 10 および 20 Hz の経壁電気

刺激頻度に依存して収縮し、その収縮は tetrodotoxin  $10^{-7}$  M および guanethidine  $10^{-6}$  M により阻止され、また prazosin  $10^{-7}$  M によっても阻止された。このことは、この経壁電気刺激による収縮はアドレナリン作動性神経刺激によるものであることを示している。OFLX ( $10^{-5}$ ~ $10^{-3}$  M) は濃度依存的にその収縮反応を抑制した。また、その抑制の程度は、低頻度刺激の方が高頻度刺激に対するよりも強かった (Table 1)。

### 2. OFLX の tyramine 胸部大動脈収縮反応に対する作用

Tyramine  $3 \times 10^{-6}$  M は胸部大動脈を収縮させその反応は prazosin  $10^{-7}$  M により阻止された。OFLX ( $10^{-5}$ ~ $10^{-4}$  M) はその tyramine による収縮反応を濃度依存的に抑制した。その収縮率は OFLX  $10^{-5}$  M で  $83.2 \pm 4.8\%$ ,  $3 \times 10^{-6}$  M で  $64.1 \pm 4.6\%$ ,  $10^{-4}$  M では  $39.3 \pm 4.4\%$  に抑制された (Fig. 1)。OFLX による抑制効果は洗浄により回復した。

### 3. OFLX の phenylephrine および KCl による胸部大動脈収縮反応に対する作用

Phenylephrine ( $10^{-9}$ ~ $10^{-4}$  M) および KCl (10~40 mM) の累積的な適用によって、胸部大動脈は濃度依存的に収縮反応を引き起こした。OFLX ( $3 \times 10^{-5}$ ~ $10^{-3}$  M) は phenylephrine の濃度反応曲線を右方移動させ、phenylephrine の低濃度による収縮反応を、高濃度によるそれよりも強く抑制した (Fig. 2 A)。Arunlakshana and Schild<sup>10)</sup> の方法によって得られた、phenylephrine の濃度反応曲線に対する OFLX の slope は、0.41 であった。一方、KCl の濃度反応曲線は、OFLX  $10^{-3}$  M によっても抑制されなかった (Fig. 2 B)。

### 4. Diltiazem の phenylephrine および KCl による胸部大動脈収縮反応に対する作用

Table 1. Effect of ofloxacin on contraction induced by electrical transmural stimulation in rabbit thoracic aorta

Concentration of ofloxacin	Inhibition (%)			
	3 Hz	5 Hz	10 Hz	20 Hz
$10^{-6}$ M	$18.9 \pm 4.2$	$16.3 \pm 4.0$	$9.8 \pm 2.3$	$6.4 \pm 1.8$
$10^{-4}$ M	$72.4 \pm 6.5$	$57.6 \pm 5.1$	$38.5 \pm 4.0$	$28.4 \pm 3.7$
$10^{-3}$ M	$98.3 \pm 1.1$	$94.2 \pm 3.6$	$77.5 \pm 3.7$	$64.9 \pm 5.1$

Contractile response before treatment with ofloxacin is regarded as 100%.

Each value indicates mean  $\pm$  S.E. of 5 experiments.

Absolute value of contraction induced by stimulation at frequency of 20 Hz was  $0.8 \pm 0.1$  g.

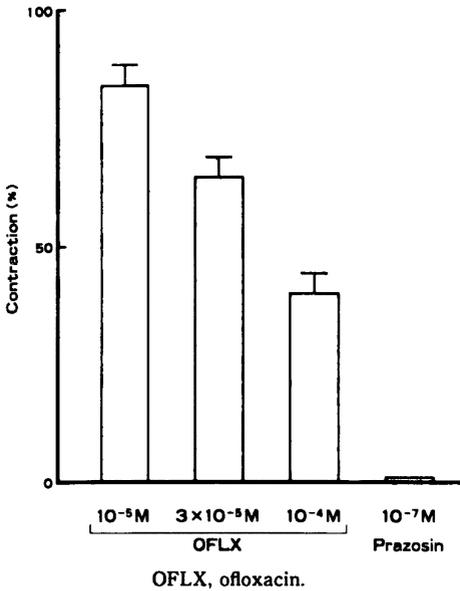


Fig. 1. The effects of ofloxacin ( $10^{-5}$ ~ $10^{-4}$  M) and prazosin ( $10^{-7}$  M) on the response of rabbit thoracic aorta to tyramine ( $3 \times 10^{-5}$  M). The response induced by tyramine before treatment with the test drugs was  $1.4 \pm 0.2$  g, and was regarded as 100%. The values are expressed as the mean  $\pm$  S.E. of 7 experiments.

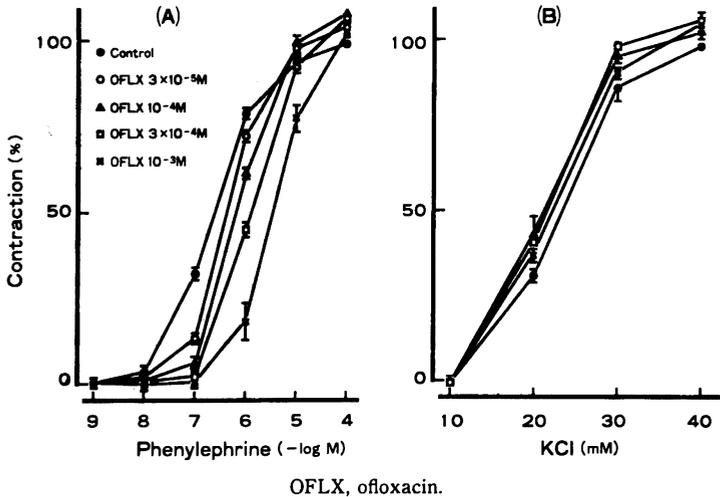


Fig. 2. The effect of ofloxacin on the contractile responses to phenylephrine (A) and KCl (B) in rabbit thoracic aorta. The responses induced by phenylephrine ( $10^{-4}$  M) and KCl (40 mM) before treatment with ofloxacin were  $4.0 \pm 0.3$  g and  $3.2 \pm 0.3$  g, respectively, and were regarded as 100%. The values are expressed as the mean  $\pm$  S.E. of 6 experiments.

Diltiazem は  $10^{-6}$  M 以上で phenylephrine の濃度反応曲線を右方移動させた (Fig. 3 A)。それとは異なり, diltiazem ( $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$  M) は KCl の濃度反応曲線を右下方へ著明に移動させ (Fig. 3 B), KCl に対する抑制の方が phenylephrine に対するそれよりも強かった。

#### 5. $Ca^{2+}$ の胸部大動脈収縮に対する OFLX および diltiazem の効果

$Ca^{2+}$  を除いた栄養液を用いて, あらかじめ 40 mM KCl によって脱分極させた胸部大動脈条片に, 累積的に  $Ca^{2+}$  ( $0.05$ ~ $3$  mM) を適用すると濃度依存的に収縮が発生した。その収縮反応に対して OFLX は  $10^{-3}$  M でも影響せず (Fig. 4 A), diltiazem ( $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$  M) はその濃度反応曲線を右下方移動させた (Fig. 4 B)。

#### 6. $Ca^{2+}$ 除去液における phenylephrine および $Ca^{2+}$ の胸部大動脈収縮反応に対する OFLX と diltiazem の作用

Ca 除去液中に phenylephrine  $10^{-6}$  M を添加すると, 胸部大動脈は一過性の収縮を惹起した。その後,  $Ca^{2+}$  2.5 mM を添加するとさらに収縮が引き起こされた。OFLX  $10^{-4}$  M は, 前者の収縮を 46.7% に, 後者の収縮を 75.0% に抑制した。Diltiazem  $10^{-6}$  M もその両者の収縮を抑制し, 前者の収縮は 81.2% に,

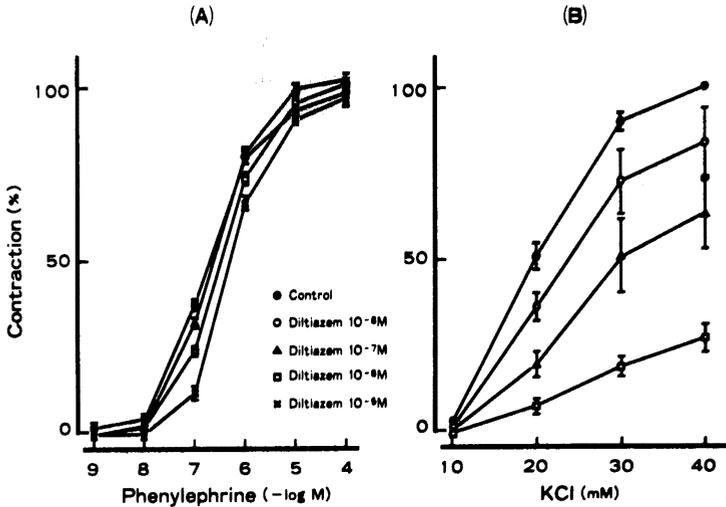
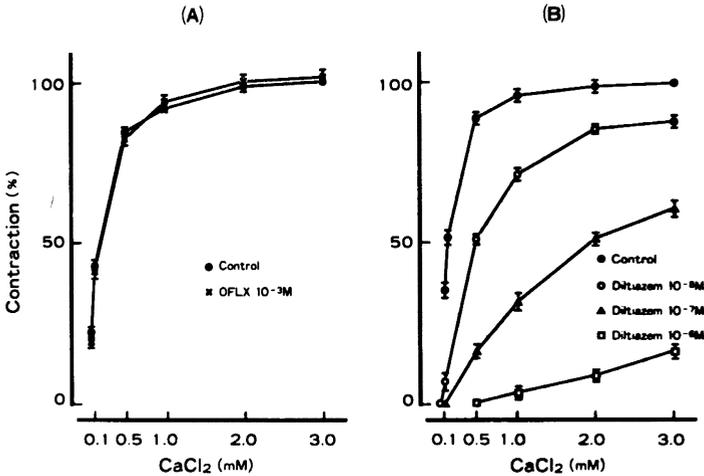
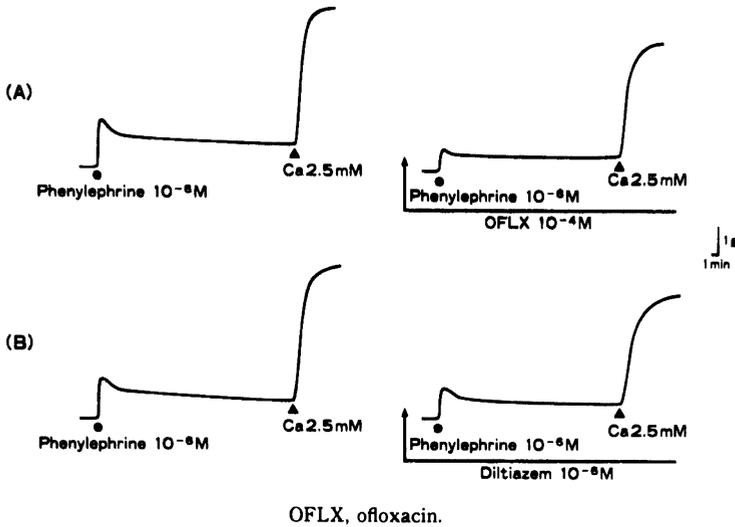


Fig. 3. The effects of diltiazem on the contractile responses to phenylephrine (A) and KCl (B) in rabbit thoracic aorta. The responses induced by phenylephrine ( $10^{-4}$  M) and KCl (40 mM) before treatment with diltiazem were  $4.4 \pm 0.3$  g and  $3.4 \pm 0.3$  g, respectively, and were regarded as 100%. The values are expressed as the mean  $\pm$  S. E. of 6 experiments.

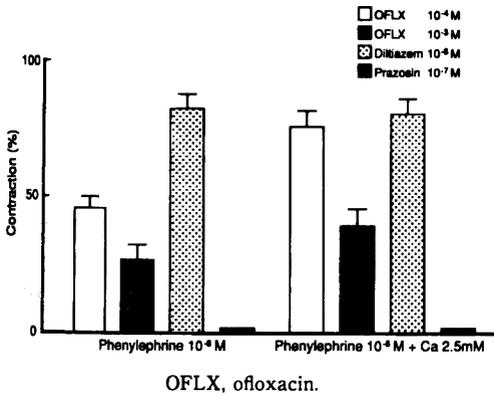


OFLX, ofloxacin.

Fig. 4. The effects of ofloxacin (A) and diltiazem (B) on the contractile response of rabbit thoracic aorta to Ca<sup>2+</sup> in a Ca<sup>2+</sup>-free solution with KCl (40 mM). Tissues were incubated in a Ca<sup>2+</sup>-free solution for 60 min and then Ca<sup>2+</sup> (0.05–3 mM) was cumulatively added to the bath. The response induced by Ca<sup>2+</sup> (3 mM) before treatment with OFLX and diltiazem was  $3.7 \pm 0.2$  g and was regarded as 100%. The values are expressed as the mean  $\pm$  S.E. of 6 experiments.

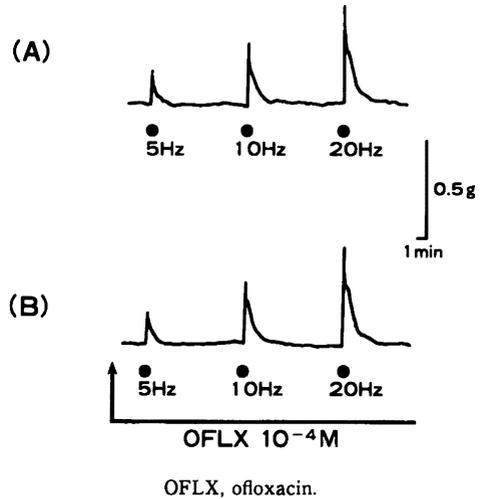


OFLX, ofloxacin.  
 Fig. 5. Typical responses to phenylephrine and  $\text{Ca}^{2+}$  in rabbit thoracic aorta exposed to a  $\text{Ca}^{2+}$ -free solution, and the effects of ofloxacin (A) and diltiazem (B). Tissues were incubated for 20 min in a  $\text{Ca}^{2+}$ -free solution before application of phenylephrine.



OFLX, ofloxacin.  
 Fig. 6. The effects of ofloxacin and diltiazem on the contractile responses to phenylephrine and  $\text{Ca}^{2+}$  in rabbit thoracic aorta exposed to  $\text{Ca}^{2+}$ -free solution. Those responses before treatment with ofloxacin, diltiazem and prazosin were regarded as 100%. The values are expressed as the mean  $\pm$  S. E. of 7 experiments.

後者の収縮は79.6%に抑制された。明らかに、OFLXのphenylephrineに対する抑制は、diltiazemの抑制よりも強かった。Fig. 5はそれらの代表例である。この両収縮反応はprazosin  $10^{-7}$  M前処置で完全に抑制された。これらの結果をまとめたのがFig. 6である。



OFLX, ofloxacin.  
 Fig. 7. Typical recordings of the contractile response of rabbit iris sphincter muscle to electrical transmural stimulation in the absence (A) and presence (B) of OFLX ( $10^{-4}$  M). The preparation was stimulated as frequencies of 5, 10 and 20 Hz for 10 sec.

7. OFLXの虹彩括約筋経壁電気刺激収縮に対する作用

虹彩括約筋は経壁電気刺激により収縮反応を引き起

こした。その収縮は速い反応とその後に続いて見られる遅い反応からなっていた。これらの収縮は刺激頻度 (5, 10, 20 Hz) に依存性であった。OFLX  $10^{-4}$  M は、それら反応に対して影響をおよぼさなかった (Fig. 7)。

### III. 考 察

血管平滑筋の収縮過程における運動調節にはアドレナリン作動性神経が関与しており、その神経終末より遊離される伝達物質である noradrenaline は、 $\alpha$  受容体を刺激し細胞内貯蔵部位から細胞質内に  $Ca^{2+}$  を遊離させ、また細胞外液中の  $Ca^{2+}$  は Ca チャンネルを介して細胞質内に流入する<sup>11-14</sup>)。これら諸過程の総合的結果として血管平滑筋は収縮する。したがって本報では、血管収縮に対する OFLX の作用機序を上記の観点から検討した。

OFLX はウサギ大動脈標本において、経壁電気刺激、tyramine および phenylephrine による収縮反応を抑制した。このことは、OFLX は血管のアドレナリン作動性収縮機構に対して抑制的に作用することを示唆している。経壁電気刺激および tyramine<sup>15-17</sup>) は、血管壁に分布するアドレナリン作動性神経終末から NA を遊離させ血管を収縮させる。本実験でも、それぞれの収縮は、アドレナリン作動性神経遮断薬である guanethidine および  $\alpha_1$  受容体拮抗薬である prazosin で阻止された。OFLX が電気刺激、および tyramine の収縮反応を抑制したことは、OFLX に NA の遊離を抑制する作用を有している可能性が考えられた。NA 遊離抑制作用には、主として、guanethidine に代表されるアドレナリン作動性神経遮断による抑制と、clonidine に代表される  $\alpha_2$  作動薬のように神経終末に存在する  $\alpha_2$  受容体刺激による抑制とがあげられる<sup>6,7</sup>)。ところで guanethidine は、神経刺激および tyramine による収縮反応を不可逆的に抑制し、洗浄後も収縮反応は回復しない<sup>16,17</sup>)。しかし OFLX の抑制作用は guanethidine とは異なり可逆的であった。Clonidine は高頻度よりも低頻度の電気刺激による収縮反応をより強く抑制する<sup>17-19</sup>)。しかし、tyramine に対しては抑制作用を有していないことが知られている<sup>17</sup>)。OFLX は、高頻度よりも低頻度電気刺激による収縮反応を clonidine と同じように抑制したが、tyramine の収縮反応をも抑制した。ウサギの伏在静脈のシナプス後膜には  $\alpha_2$  受容体が存在し、clonidine によって収縮が惹起されることが報告されている<sup>20</sup>)。しかし、OFLX を伏在静脈に作用させても収縮は認められなかった (未発表データ)。これらの点で、OFLX のアドレナリン作動性反応抑制作

用は guanethidine や clonidine と異なることが示唆された。

Bevan および Su<sup>21</sup>) は、神経終末からシナプス間隙に遊離された NA は神経終末に近いほど濃度は高く、離れるにしたがって低濃度になること、したがって、神経刺激による収縮反応と外来性に投与した NA の収縮反応とが同じである場合には、神経刺激による場合の方が外来性によるよりも神経終末近傍では NA は高濃度になっていること、その結果、phenolamine のような  $\alpha$  受容体拮抗薬は神経刺激による収縮反応よりも外来性 NA による反応をより強く抑制することを提示している。本実験において、経壁電気刺激 20 Hz および tyramine  $3 \times 10^{-6}$  M の収縮に対する OFLX の抑制率と、それぞれの収縮と同程度の phenylephrine の収縮に対するその抑制率を比較したところ、phenylephrine に対する抑制の方が強かった。これらのことから、OFLX の抑制効果はアドレナリン作動性神経終末からの NA 遊離抑制効果よりも、むしろシナプス後膜に対する作用に起因することが考えられる。しかし、OFLX の phenylephrine 収縮に対する抑制は非競合的であったことから、 $\alpha$  受容体拮抗作用では説明し難い。

血管平滑筋の収縮には、細胞内遊離  $Ca^{2+}$  濃度の増加が必須である。そのため、OFLX の抑制作用を明らかにするため、phenylephrine と KCl の収縮反応に対する OFLX と diltiazem の効果を比較検討した。KCl 収縮は膜電位依存性 Ca チャンネルを介する細胞内への  $Ca^{2+}$  流入によるものであり<sup>12,14</sup>)、細胞内  $Ca^{2+}$  遊離は関係しないと考えられている<sup>19</sup>)。一方、phenylephrine を含む  $\alpha_1$  作動薬による収縮は、細胞内  $Ca^{2+}$  の遊離と、受容体作動性 Ca チャンネルを介する細胞外  $Ca^{2+}$  の細胞内への流入によると考えられている<sup>11-14</sup>)。Ca アンタゴニストは、受容体作動性 Ca チャンネルよりも膜電位依存性 Ca チャンネルに対してより効果的に抑制する<sup>22</sup>)。本実験でも diltiazem は、KCl およびあらかじめ脱分極させた後の  $Ca^{2+}$  適用による収縮反応を、phenylephrine に対するよりも強く抑制した。これは、NA に対する diltiazem の効果について報告されている結果<sup>23,24</sup>) と類似している。一方 OFLX は、さきに述べたように、phenylephrine の反応を抑制したが、KCl および脱分極後の  $Ca^{2+}$  による収縮反応には無影響であった。この結果は、OFLX は diltiazem とは異なった作用をもっており、膜電位依存性 Ca チャンネルに対して作用しないことを示唆する。Phenylephrine の収縮反応は 2 相性であり<sup>14,25</sup>)、phasic 相は細胞内  $Ca^{2+}$  遊離を、tonic 相は

細胞外  $Ca^{2+}$  の流入を反映している<sup>14)</sup>。 $Ca^{2+}$  除去液中での phenylephrine および  $Ca^{2+}$  添加の実験から、phenylephrine の収縮反応は細胞内  $Ca^{2+}$  遊離を介する反応であり、 $Ca^{2+}$  添加による反応は受容体依存性 Ca チャンネルを介する  $Ca^{2+}$  流入によるものと考えられる。OFLX はこの両者の反応、特に phenylephrine の反応をより強く抑制した。この結果は OFLX の細胞内  $Ca^{2+}$  遊離抑制および受容体依存性 Ca チャンネル抑制を示唆するものと思われた。なお diltiazem  $10^{-6}$  M も両者の反応を抑制したが、それについては、diltiazem  $10^{-6}$  M 以上の高濃度では細胞内  $Ca^{2+}$  遊離<sup>24)</sup> を、 $2 \times 10^{-7}$  M 以上では細胞外  $Ca^{2+}$  流入<sup>25)</sup> を抑制するという報告と一致する。

次に、OFLX がアドレナリン作動性反応以外の神経性反応に対しても作用を有するか否かを、ウサギ虹彩括約筋で検討した。この括約筋は電気刺激により、副交感神経であるコリン作動性神経から遊離される acetylcholine 性収縮反応と、三叉神経由来のタキキニン作動性収縮反応が惹起される<sup>27,28)</sup>。本実験においても、コリン作動性の早い収縮成分とタキキニン作動性の遅い収縮成分が観察された。OFLX はこの両収縮反応に対して抑制も増強もさせなかった。このことから、OFLX の抑制作用はアドレナリン作動性反応に特異的である可能性を示唆する。

以上の結果を総合すると、OFLX は血管系のアドレナリン作動性収縮機構を選択的に抑制すること、この作用には  $\alpha_1$  受容体に関連した細胞内  $Ca^{2+}$  遊離と受容体作動性 Ca チャンネルを介する  $Ca^{2+}$  の細胞内流入の抑制というシブナス後膜での機序が考えられることが明らかになった。

臨床的に狭心症治療薬として用いられている nitroglycerin や nicorandil は、受容体依存性 Ca チャンネル抑制作用や細胞内  $Ca^{2+}$  遊離抑制作用により血管収縮を抑制し、血圧を低下させ得ることが知られているが<sup>29,30)</sup>、OFLX がこれらのように臨床的に血管収縮を抑制、血圧低下を惹起させるかどうかは重要な問題である。OFLX は、一般的に 1 回 100 mg あるいは 200 mg が経口的に用いられる。その際の最高血中濃度は OFLX 100 mg では約  $1 \mu\text{g/ml}$ 、200 mg では約  $2.19 \mu\text{g/ml}$  であることが報告されている<sup>31,32)</sup>。この濃度は、モル濃度で各々約  $2.8 \times 10^{-6}$  M および約  $6 \times 10^{-6}$  M に相当する。本実験において phenylephrine の大動脈収縮反応に対して用いた OFLX の濃度は  $3 \times 10^{-5}$  M 以上であるが、OFLX は phenylephrine の高濃度収縮より低濃度収縮を強く抑制したことから、phenylephrine の低濃度収縮反応は、それ以下の濃度

でも抑制されると考えられ、臨床的にも血管収縮が抑制され得るであろうことが推測できる。一原<sup>32)</sup>らは、OFLX 投与によるものかどうかは明確でないとしながらも、OFLX 経口投与後血中濃度最高時に、投与前に比べてわずかながら血圧下降を認めたことを報告している。生体の場合自動調節機構が存在するため、軽度の血圧変動に対してはこの機構により調節される可能性がある。

最近、OFLX は光学異性複合体であり、血中では d-体および l-体が 1:1 で存在し<sup>33,34)</sup>、抗菌活性本体は l-体の levofloxacin である<sup>35)</sup> ことが報告されている。本実験では d-体および l-体各々の血管作用について検討していないが、それらが独自に血管に対して作用を有しているのか、両者の相互作用により血管に影響をおよぼすのかを明らかにすることは重要な課題である。

#### 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました福井医科大学薬理学教室 村松郁延助教授、関西医科大学内科学第一講座 安永幸二郎教授、同内科 榊原嘉彦講師に深謝致します。

#### 文 献

- 1) Sato K, Matsuura Y, Inoue M, Une T, Osada Y, Ogawa H, Mitsuhashi S: In vitro and in vivo activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob Agents Chemother* 22: 548~553, 1982
- 2) Osada Y, Ogawa H: Antimycoplasmal activity of ofloxacin (DL-8280). *Antimicrob Agents Chemother* 23: 509~511, 1983
- 3) 五島瑛智子, 藤元輝男, 辻 明良, 小川正俊, 宮崎修一, 金子康子, 桑原章吾: 新ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 DL-8280 の *in vitro* および *in vivo* における細菌学的評価。 *Chemotherapy* 32 (S-1): 22~46, 1984
- 4) Doi T, Takeda A: *In vitro* studies of seven quinolinecarboxylic acid compounds against causative organisms of urinary tract infections. *Chemotherapy* 35: 175~179, 1987
- 5) 小島 浩, 広橋正章, 桜井武男, 笠井義男, 明石章: DL-8280 の一般薬理作用。 *Chemotherapy* 32: 1148~1160, 1984
- 6) Starke K: Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 77: 1~124, 1977
- 7) Langer S Z: Presynaptic adrenoceptor and regulation of release. In Paton D M (ed.): *The release of catecholamine from adrenergic neurons*. Pergamon Press, Oxford, pp.59~85, 1979
- 8) Docherty J R, Constantine J W, Starke K: Smooth muscle of rabbit aorta contains  $\alpha_1$  but not  $\alpha_2$ -

- adrenoceptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 317: 5~7, 1981
- 9) Awad R, Payne R, Deth R C: Alpha adrenergic receptor subtype associated with receptor binding,  $Ca^{++}$  influx,  $Ca^{++}$  release and contractile events in the rabbit aorta. *J Pharmacol exp Ther* 227: 60~67, 1983
  - 10) Arunlakshane O, Schild H O: Some quantitative uses of drug antagonists. *Brit J Pharmacol* 14: 48~58, 1959
  - 11) Deth R, Casteels R: A study of releasable Ca fractions in smooth muscle cells of the rabbit aorta. *J Gen Physiol* 69: 401~416, 1977
  - 12) Bolton T B: Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 59: 606~718, 1979
  - 13) Van Breemen C, Siegel B: The mechanism of  $\alpha$  adrenergic activation of the dog coronary artery. *Circ Res* 46: 426~429, 1980
  - 14) Scarborough N L, Carrier G O: Nifedipine and alpha adrenoceptors in rat aorta. I. Role of extra-cellular calcium in alpha-1 and alpha-2 adrenoceptor-mediated contraction. *J Pharmacol exp Ther* 231: 597~602, 1984
  - 15) Su C, Bevan J A: The release of H 3-norepinephrine in arterial strips studied by the technique of superfusion and transmural stimulation. *J Pharmacol exp Ther* 172: 62~68, 1970
  - 16) Starke K: Interactions of guanethidine and indirect-acting sympathomimetic amines. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 195: 309~314, 1972
  - 17) Sakakibara Y, Muramatsu I, Fujiwara M, Nagasaka Y: Effects of guanabenz on the adrenergic mechanism in rabbit arterial strips. *Japan J Pharmacol* 31: 1029~1036, 1981
  - 18) Vizi E S, Somogyi G T, Hadh'azy P, Knoll J: Effect of duration and frequency of stimulation on the presynaptic inhibition by  $\alpha$  adrenoceptor stimulation of the adrenergic transmission. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 280: 79~91, 1973
  - 19) Starke K, Endo T, Taube H D: Relative pre- and postsynaptic potencies of  $\alpha$ -adrenoceptor agonists in rabbit pulmonary artery. *Naunyn-Smiedeberg's Arch Pharmacol* 291: 55~78, 1975
  - 20) Schümann H J, Lues I: Postjunctional  $\alpha$ -adrenoceptor in the isolated saphenous vein of the rabbit. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 323: 328~334, 1983
  - 21) Bevan J A, Su C: Distribution theory of resistance of neurogenic vasoconstriction to alpha-receptor blockade in the rabbit. *Circ Res* 28: 179~187, 1971
  - 22) Janis R A, Triggie D J: New developments in  $Ca^{++}$  channel antagonists. *J Med Chem* 26: 775~785, 1983
  - 23) Van Breemen C, Hwang O, Meisheri K D: The mechanism of inhibitory action of diltiazem on vascular smooth muscle contractility. *J Pharmacol exp Ther* 218: 459~463, 1981
  - 24) Saida K, Van Breemen C: Mechanism of  $Ca^{++}$  antagonist-induced vasodilation. *Circ Res* 52: 137~142, 1983
  - 25) Brodie D C, Bohr D F, Smit J: Dual contractile response of the aorta strip. *Am J Physiol* 197: 241~246, 1959
  - 26) Flaim S F, Craven R A: Diltiazem and verapamil inhibit norepinephrine-stimulated  $^{45}Ca$  uptake in rabbit aorta. *Pharmacol* 22: 286~293, 1981
  - 27) Ueda N, Muramatsu I, Sakakibara Y, Fujiwara M: Noncholinergic, nonadrenergic contraction and substance P in rabbit iris sphincter muscle. *Japan J Pharmacol* 31: 1071~1079, 1981
  - 28) Muramatsu I, Ueda N, Fujiwara M: Sensory tachykininergic response in the rabbit iris sphincter muscle. *Biomed Res* 8: 59~63, 1987
  - 29) Hester R K: Effects of 2-Nicotinamidoethyl nitrate on agonist-sensitive  $Ca^{++}$  release and  $Ca^{++}$  entry in rabbit aorta. *J Pharmacol exp Ther* 233: 100~111, 1985
  - 30) 村松郁延, 藤原元始: Nicorandil の血管弛緩作用, Nitroglycerin, Ca アンタゴニストとの比較. *日薬理誌* 87: 199~207, 1986
  - 31) 一原規方, 立澤晴男, 津村光義, 采 猛, 佐藤敬喜: DL-8280 の第一相臨床試験. *Chemotherapy* 32 (S-1): 118~149, 1984
  - 32) Lode H, Höffken G, Olschewski P, Sievers B, Kirch A, Borner K, Koeppe P: Pharmacokinetics of ofloxacin after parenteral and oral administration. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 1338~1342, 1987
  - 33) 神谷 晃, 山下真寿男, 高木伸介, 荒川創一, 守殿貞夫: Levofloxacin (DL-3355) および ofloxacin のヒトにおける血中動態並びに腎排泄挙動の比較. *Chemotherapy* 40 (S-3): 196~201, 1992
  - 34) Okazaki O, Kojima C, Hokusui H, Nakashima M: Enantioselective disposition of ofloxacin in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 2106~2109, 1986
  - 35) Hayakawa I, Atarashi S, Yokohama S, Imamura M, Skano K, Furukawa M: Synthesis and antibacterial activities of optically active ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 163~164, 1986

Effect of ofloxacin on adrenergic contractile mechanisms in  
isolated rabbit aorta

Futoshi Yanagihara

First Department of Internal Medicine, Kansai Medical University,  
1 Banchi Fumizonochō, Moriguchi, Osaka, Japan

1) The effect of a new quinolinecarbonic acid compound, ofloxacin (OFLX), was studied in isolated rabbit thoracic aorta and isolated iris sphincter muscle. The findings obtained with ofloxacin in aorta were compared with those of the Ca antagonist, diltiazem.

2) OFLX attenuated the contractile responses to electrical transmural stimulation and tyramine in aorta. The attenuation of these responses was dose-dependent. In iris sphincter muscle, OFLX did not affect the contractile response to electrical transmural stimulation.

3) OFLX non-competitively shifted the phenylephrine-induced dose-response curve to the right, whereas the compound failed to affect the responses to potassium and  $\text{Ca}^{2+}$ -induced contraction in a  $\text{Ca}^{2+}$ -free medium in the presence of KCl (40 mM).

4) Diltiazem had very weak effect on the response to phenylephrine, but markedly attenuated the KCl and  $\text{Ca}^{2+}$ -induced contractile responses.

5) In a  $\text{Ca}^{2+}$ -free medium, phenylephrine  $10^{-6}$  M caused phasic contraction, and subsequent application of  $\text{Ca}^{2+}$  (2.5 mM) caused tonic contraction. Both contractions were inhibited by OFLX  $10^{-4}$  M.

6) These results suggest that OFLX has a selective inhibitory action against the adrenergic contractile mechanism, and that the action may be related to the release of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  and to  $\text{Ca}^{2+}$ -entry through receptor-operated Ca channels.