薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (5) 477-481 (1981)

アミノピリンの催奇性に対するバルビタールおよびフェノバルビタールの促進効果¹⁾

伊佐幸雄,^{*,a} 野村大成^b

大阪大学歯学部附属病院薬剤部,^a 大阪大学医学部附属癌研究施設^b

Enhancement Effects of Barbitol and Phenobarbital on Aminopyrine-initiated Teratogenesis in Mice¹⁾

YUKIO ISA^{*,a} and TAISEI NOMURA^b

Department of Pharmacy, Osaka University Dental School,^a Nakanoshima,
Kita-ku, Osaka and Institute for Cancer Research, Osaka University
Medical School,^b Fukushima, Fukushima-ku, Osaka

(Received November 19, 1980)

Aminopyrine and its molecular compound with barbitol (Pyrabital) showed potent teratogenicity, whereas an equivalent dose of its molecular compound with cyclobarbitol (Cyclopyrabital) showed very weak teratogenicity. Even if aminopyrine was given subcutaneously to the right flank of pregnant mice and barbitol given to the left flank at the same time on days 9, 10 and 11 of gestation, teratogenicity was approximately equal to that by the equivalent dose of molecular compound, but significantly higher than that of aminopyrine alone. When barbitol was given as a suspension in 1% gelatin solution, it strongly enhanced aminopyrine-initiated teratogenesis, while cyclobarbitol did not. Barbitol might induce an enzyme responsible for transforming aminopyrine to teratogenic forms, since pre-treatment of aminopyrine with barbitol on days 5, 6, and 7 significantly enhanced teratogenicity initiated by aminopyrine. Pre-treatment with phenobarbital also enhanced aminopyrine-initiated teratogenesis, while it did not enhance X-ray-initiated one.

Keywords—teratogenicity; drug interaction; synergism; barbitol; phenobarbital; pyrabital; aminopyrine

前報²⁾においてウレタンを含む解熱鎮痛剤の注射液の胎仔死亡および催奇性を調べた結果、ICR/Jcl マウスに対し臍帯ヘルニアおよび口蓋裂を高頻度に誘発した。これはウレタンによるものでなく、ピラビタール、アミノピリンによるものであった。ピラビタール、アミノピリンは高率に胎仔死亡および奇形を誘発し、明確な量効果が存在した。ところがアミノピリンとバルビタールよりなるピラビタールの方がアミノピリン単独よりも、はるかに強く奇形と胎仔死亡を誘発した。さらにピラビタールに含まれる等量のバルビタールとアミノピリンを別々に投与しても、胎仔死亡および奇形は同じように高率に誘発されることから、ピラビタールによる強い催奇性および胎仔死亡は分子化合物によるものでなく、バルビタールによるアミノピリンの催奇性および胎仔死亡の促進効果によるのではないかと考えられる。

そこで本報においてはアミノピリンの催奇性の促進効果をバルビタールについてさらに検討を加え、バルビタールの誘導体であるフェノバルビタール、シクロバルビタールについてもアミノピリンの催奇性への効果を調べた。

実 験 方 法

実験動物 ICR/Jcl マウス 9—11 週令 (体重 29—32 g) の処女雌 241 匹を用いた。発情期の雌マウスを陰の外形からえらび、種雄と夕方交配し、翌朝陰栓を確認し、妊娠第1日目とした。詳細は前報に記載した。²⁾

化学物質 以下の薬剤を使用直前に調製した。

1. アミノピリン (住友化学工業, 大阪, XL 009). 2.1, 2.5% 水溶液および 1% ゲラチン水溶液に 2.1% とした。

2. ピラビタール (グレラン製薬, 東京, 238 YIX). エタノールに溶解した後, 10% エタノール水溶液中で 3% となるように調製した.

3. バルビタール (保栄薬工, 大阪, 329 RAOY). 1% ゲラチン水溶液を用いて, 0.9% 懸濁液を調製した. またエタノールに溶解した後, 10% エタノール水溶液に 0.9% となるように調製した.

4. シクロバルビタール (東京化成工業, 東京, AKOI). 1% ゲラチン水溶液を用いて, 1.1% および 2.5% 懸濁液を調製した.

5. シクロピラビタール (塩野義製薬研究所により供与を受けた). 1% ゲラチン水溶液を用いて, 2.5% 懸濁液を調整した.

6. フェノバルビタールとしてはフェノバルビタール Na 塩 (藤永製薬, 東京, PL 31) を 0.4% 水溶液として用いた.

7. X 線照射. 東芝 X 線発生装置を使用した. 照射条件は 180 kVp, 20 mA, 距離 45 cm である. フィルターは銅 0.5 mm, アルミニウム 0.5 mm を用いた. この条件での線量は 60 R/分である.

妊娠マウスへの投与 前報²⁾と同じく, ICR/Jcl マウスの妊娠第 9, 10 および 11 日目に 1 日 1 回計 3 回皮下注射した. 皮下注射量は体重グラム当たり 0.01 ml とした. 妊娠第 19 日目に屠殺し, 着床数, 早期胎芽死 (胎盤完成前の死亡), 胎仔死亡 (胎盤完成後すなわち妊娠第 9 日目以後の死亡) および奇形, 主として外表面の奇形および内臓の奇形を観察した.³⁾

アミノピリンの胎仔毒性におよぼす溶媒の影響——アミノピリン (0.21 mg/g) を水溶液および 1% ゲラチン水溶液に溶かし, 妊娠マウス各 23, 16 匹の背部皮下に, 妊娠第 9, 10 および 11 日目に注射した.

バルビタールとアミノピリンとの同時投与——バルビタール (0.09 mg/g) をエタノールまたは, 1% ゲラチン水溶液に懸濁した液を左背部皮下に, アミノピリン (0.21 mg/g) を右背部皮下に, 別々に妊娠マウス各 20 匹に, 妊娠第 9, 10 および 11 日目に注射した. 対照として相当量の分子化合物ピラビタール 0.3 mg/g を, 妊娠マウス 23 匹に妊娠第 9, 10 および 11 日目に皮下注射した.

シクロバルビタールとアミノピリンとの同時投与——アミノピリンの催奇性に対しバルビタール誘導体であるシクロバルビタールの効果をしらべるために, シクロバルビタールを 1% ゲラチン水溶液に懸濁した液を 0.11 または 0.25 mg/g を左背部皮下に, アミノピリン 0.21 または 0.25 mg/g を右背部皮下に, 妊娠マウス各々 14 匹に, 妊娠第 9, 10 および 11 日目に注射した. さらにこれらの分子化合物であるシクロピラビタール 0.5 mg/g (アミノピリン 0.25 mg, シクロバルビタール 0.25 mg を含む) についても, 妊娠マウス 17 匹に同様に投与した.

バルビタールとフェノバルビタールの前処置のアミノピリン胎仔毒性への影響——アミノピリンの催奇性に対し, バルビタールおよびフェノバルビタールの前処置をしたときの影響を調べた. ICR/Jcl マウスの妊娠第 5, 6 および 7 日目に 1% ゲラチン水溶液に懸濁したバルビタール 0.09 mg/g を妊娠マウス 25 匹に, 1 日 1 回計 3 回, またはフェノバルビタール 0.04 mg/g を妊娠マウス 22 匹に, 妊娠第 4, 5, 6, 7 および 8 日目に 1 日 1 回計 5 回皮下注射した. そして妊娠第 9, 10 および 11 日目にアミノピリン 0.21 mg/g を 1 日 1 回計 3 回皮下注射した. さらにバルビタール, フェノバルビタールのみを上記と同量, 同日数 1 日 1 回妊娠マウス各 13, 14 匹に投与した.

フェノバルビタール前処置による X 線の胎仔毒性への影響——フェノバルビタール 0.04 mg/g を妊娠マウス 10 匹に, 妊娠第 4, 5, 6, 7 および 8 日目に 1 日 1 回計 5 回皮下注射し, そして妊娠第 10 日目に 180 R を全身照射した. また妊娠マウス 10 匹に, 妊娠第 10 日目 180 R を全身照射した.

結 果

アミノピリンの胎仔死亡および催奇形に対するバルビタールの促進効果

アミノピリン (0.21 mg/g) を右背部皮下に, バルビタール (0.09 mg/g) を 1% ゲラチン水溶液に懸濁させ左背部皮下に, 別々に同時に投与すると, 奇形はマウス胎仔 128 匹中 59 匹 (46.1%) を認め, バルビタールを 10% エタノール水溶液にして投与した群, およびピラビタール (0.3 mg/g) 群に比し有意に高率に奇形を誘発した. しかしアミノピリン (0.21 mg/g) を 1% ゲラチン水溶液として投与しても, 胎仔死亡および催奇性は, 水

Fig. 1. Enhancement Effects of Barbitol on Toxicities of Aminopyrine in Mouse Embryo

χ^2 -test was applied against aminopyrine alone group. χ^2 -test was also applied between to a Ap+Ba groups in which barbitol was dissolved in ethanol or gelatin.

Fig. 2 Effects of Cyclobarbitol on Toxicities of Aminopyrine in Mouse Embryo

χ^2 -test was applied between groups treated with aminopyrine alone and with aminopyrine and cyclobarbitol. NS; not significant.

溶液に比し有意差はなかった (Fig. 1).

発生した奇形の多くは臍帯ヘルニアであり、口蓋裂、曲尾、多指も認められた。

アミノピリンの胎仔死亡および催奇形に関するシクロバルビタールの効果

次にバルビタール誘導体の1つであるシクロバルビタールについても検討した。分子化合物であるシクロピラビタール 0.5 mg/g を妊娠マウスに投与しても、マウス胎仔の胎仔死亡は 168 匹中 16 匹 (9.5%)、奇形は 153 匹中 3 匹 (2.0%) を認め、対照群より有意に胎仔毒性を誘発したが、相当量のアミノピリン 0.25 mg/g より、はるかに低い胎仔死亡と奇形を認めた。

さらに Fig. 2 に示すようにアミノピリンの催奇性はアミノピリンの 1/2 モルおよび等モルのシクロバルビタールを左右背部皮下別々に、同時に投与した場合、アミノピリンとバルビタールのような奇形の促進効果は認められなかった。

バルビタール、フェノバルビタール前処理によるアミノピリン誘発の胎仔死亡および奇形の促進効果

バルビタールがアミノピリンの催奇性に影響を与える酵素を誘導した可能性を考えて、バルビタールおよびフェノバルビタールを前もって投与した後に、アミノピリンを投与した。すなわちバルビタール 0.09 mg/g を前もって妊娠第 5, 6 および 7 日目に皮下注射した後に、アミノピリン 0.21 mg/g を妊娠第 9, 10 および 11 日目に投与した場合、奇形はマウス胎仔 183 匹中 53 匹 (29.0%) を認め、アミノピリン単独投与の 191 匹中 16 匹 (8.4%) より有意に高率に奇形が誘発された (Fig. 3)。

フェノバルビタール 0.04 mg/g を前もって妊娠第 4, 5, 6, 7 および 8 日目に皮下注射した後に、アミノピリン 0.21 mg/g を妊娠第 9, 10 および 11 日目に投与した場合、マウス胎仔 150 匹中 22 匹 (14.6%) に奇形が誘発され、バルビタールを前もって投与するよりも弱いながら促進効果を示した (Fig. 3)。

Fig. 3. Enhancement Effects of Baribital and Phenobarbital Pretreatment on Toxicities of Aminopyrine in Mouse Embryo

χ^2 -test was applied against aminopyrine alone group.

Fig. 4. Effects of Phenobarbital Pretreatment on Embryo Toxicities of X-Rays

χ^2 -test was applied against X-ray alone group. NS; not significant.

上記2群共、発生した奇形の多くは臍帯ヘルニアであり、口蓋裂、曲尾、多指、指趾の方向異常も認められた。なおバルビタール (0.09 mg/g)、フェノバルビタール (0.04 mg/g) を同様に妊娠マウスに前もって投与しても、奇形はマウス胎仔 136 匹中 0 匹 (0%), 151 匹中 2 匹 (1.3%) と対照群に比し有意には誘発されなかった。

フェノバルビタール前処置による X 線誘発胎仔死亡および奇形への影響

Fig. 4 に示すようにフェノバルビタール 0.04 mg/g を前もって妊娠第 4, 5, 6, 7 および 8 日目に皮下注射した後に、X 線照射を妊娠第 10 日目 180 R 全身照射した場合、マウス胎仔 79 匹中 46 匹 (58.2%) に奇形が誘発され、前もってフェノバルビタールを投与しなかった群の胎仔 77 匹中 47 匹 (61.0%) に比し有意の差を認めなかった。

考 察

アミノピリンの胎仔死亡および催奇性がバルビタールにより促進されることは前報²⁾でも報告した。しかもバルビタールを 1% グラチンの懸濁液とした方が 10% エタノール水溶液としたよりも、はるかに促進効果が強かった (Fig. 1)。またアミノピリンを 1% グラチン水溶液として、水溶液と比較しところ両者の間に有意の差は認められなかった。これは 1% グラチンに懸濁してバルビタールを徐々に吸収させた方がアミノピリンの催奇性が増強することを示している。バルビタールが薬物代謝酵素誘導剤であることから、少量ずつ徐々に作用した方が、エタノール水溶液として大量を短時間に作用した場合よりも、効果的にアミノピリンを催奇性をもつ活性型に変換する酵素を誘導したのではないかと考えている。そこでバルビタールを妊娠第 4, 5 および 6 日目に皮下注射してから、アミノピリンを妊娠第 9, 10 および 11 日目に皮下注射したところ、やはり奇形はアミノピリン単独より有意に促進された (Fig. 3)。

また薬物代謝酵素誘導剤としてよく用いられるフェノバルビタールを予め皮下注射してからアミノピリンを皮下注射した場合も弱いながら促進効果を示した (Fig. 3)。

フェノバルビタールの前処置による奇形発生の促進効果は AF-2 (furylfuramide) の場合にも認められ、⁸⁾ X

線とフェノバルビタールでは Fig. 4 に示すごとく、このような現象は起こらないことから、化学物質特有の反応であり、バルビタールおよびフェノバルビタールはアミノピリンをマウス胎仔に死亡、奇形をおこす型に変換したことを示唆している。⁸⁾

しかし同じ薬物代謝酵素誘導剤であるシクロバルビタール⁹⁾が、アミノピリンの催奇性を促進しなかった点は、バルビタールおよびフェノバルビタールの場合と矛盾した結果になっている。シクロバルビタールは他のバルビツレートに比べ、極めて水に溶けにくく、¹⁰⁾ 1% ゲラチン水溶液に懸濁して皮下投与した場合、非常に吸収されにくいことが最近判明した。これがシクロバルビタールがアミノピリンの催奇性を促進しなかった原因と考えている。

結 論

1. アミノピリンの催奇性はバルビタールにより促進されるが、バルビタールを 10% エタノール水溶液として同時に投与するよりも、1% ゲラチン水溶液に懸濁させて、同時に投与の方が促進効果は著しかった。

2. アミノピリンの催奇性はバルビタールを前投与した後にアミノピリンを投与することにより促進された。フェノバルビタールも同様の結果が得られた。X 線照射による奇形はフェノバルビタール前処置により促進されないことから、バルビタールおよびフェノバルビタールはアミノピリンを胎仔死亡および奇形を起す型に活性化したものと考えられる。

謝辞 本研究に御指導、御助言をいただいた大阪大学薬学部 青沼 繁教授、大阪大学医学部 坂本幸哉教授に深く感謝の意を捧げますと共に御協力頂きました神崎 徹先生、田中弘之先生に感謝致します。

引用文献および注

- 1) 本報を「アミノピリンおよびそのバルビタール誘導体との分子化合物の催奇性の解析 (第2報)」とする。日本先天異常学会総会第18回で発表、横浜、1978年7月。
- 2) 第1報：野村大成、伊佐幸雄、坂本幸哉、薬誌, **101**, 470 (1981)。
- 3) T. Nomura, *Cancer Res.*, **34**, 2217 (1974)。
- 4) R.C. Garner, E.C. Miller, J.A. Miller, *Cancer Res.*, **32**, 2058 (1972)。
- 5) J.A. Miller, *Cancer Res.*, **30**, 559 (1970)。
- 6) J.A. Miller, E.C. Miller, *J. Natl. Cancer Inst.*, **47**, (3), V (1971)。
- 7) M. Tada, M. Tada, *Nature*, **255**, 510 (1975)。
- 8) T. Nomura, and S. Kondo, *Mutation Research*, **35**, 167 (1976)。
- 9) 高島英伍, 有吉敏彦, “くすりの代謝”, 北川晴雄, 野口照久, 伊藤隆太編, 南江堂, 東京, 1975, p. 175
- 10) “The Merck Index 9th edition,” Merck & Co., Inc. 1976, p. 36, p. 127, p. 354, p. 940.