薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
109 (2) 119—126 (1989)

ピリドンカルボン酸系抗菌剤及び非ステロイド性抗炎症剤の薬物相互作用：
マウスでの経口及び脳内投与による痙攣誘発

平井嗣郎,* 田中啓一, 牧野伸治, 成田弘和
富山化学工業株式会社総合研究所

Adverse Drug Interactions between Pyridonecarboxylic Acids and
Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs: Convulsion after Oral
or Intracerebral Administration in Mice

Shiro HIRAI,* Keiichi TANAKA, Shinji MAKINO
and Hirokazu NARITA

Research Laboratory, Toyama Chemical Co. Ltd.,
2-4-1, Shimookui, Toyama, 930, Japan

(Received August 10, 1988)

Comparing with other pyridonecarboxylic acids (PCAs), the neurotoxicity of (±)-7-(3-amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid *p*-toluenesulfonate hydrate (T-3262), which is a new PCA, was investigated in mice in a combination with fenbufen (FBF). T-3262, ofloxacin (OFLX) and nalidixic acid (NA) did not produce convulsion, but enoxacin (ENX) and norfloxacin (NFLX) produced it after an oral administration with FBF. The intracerebral injection of drugs alone to mice revealed that both FBF and 4-biphenylacetic acid (BPAA), which is principally responsible for FBF's antiinflammatory action, scarcely had convulsant activity. While all the PCAs had convulsant activity and the order of potency was as follows; NFLX > ENX > OFLX > penicillin G potassium > the free base of T-3262 (T-3262 base) ≥ NA. When orally pretreated with BPAA, the convulsive threshold was scarcely lowered for T-3262 base and OFLX, but for ENX and NFLX it was lowered to about 1/300 and 1/100 of the respective activity. As the result, convulsant activities of ENX and NFLX were greatly potentiated, and their potencies became almost equal. The adverse drug interactions between T-3262 and FBF were scarcely observed in mice.

Keywords—pyridonecarboxylic acid; (±)-7-(3-amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid *p*-toluenesulfonate hydrate (T-3262); enoxacin; norfloxacin; ofloxacin; nonsteroidal antiinflammatory drug; fenbufen; drug interaction; convulsion; intracerebral injection

緒 言

1980年代に入って本邦で開発された norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX) 及び enoxacin (ENX) などの新しい pyridonecarboxylic acid (PCA) は、グラム陽性菌及びグラム陰性菌に対し強い抗菌力と広範囲な抗菌スペクトルを示し、経口抗菌剤としていずれも臨床で高い評価を得ている。¹⁾ これらの薬剤の中樞神経作用による副作用発現率は0.6—1.2%で、症状はめまい、ふらつき、羞明、眠気、不眠、頭痛、耳鳴、不安感、振せん及び痙攣など極めて多様である。^{2a)} この中で痙攣は、nalidixic acid (NA) に認められて以来の懸念される重篤な副作用で、^{2b)} 1986年10月、ENX及びfenbufen (FBF) の併用で7例が報告された。^{2c)} 以来、種々のPCAとnonsteroidal antiinflammatory drug (NSAID) の併用による痙攣誘発について検討がなされている。^{3a-c)} 村山はPCAとNSAIDの薬物相互作用に関する総説の中で、NSAIDとの併用で実験的に最も痙攣を誘発しやすいPCAはENXであり、また、PCAの中樞興奮作用を最も誘発しやすいNSAIDはFBFであると述べている。^{3d)}

著者らは(±)-7-(3-amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid (T-3262 base) の抗菌スペクトルがNFLX, OFLX及びENXと同様に幅広く、かつ、

	X	R ₁	R ₂
T-3262	N		
T-3262 base	N		
ENX	N	CH ₃	
OFLX	-COCH ₂ CH(CH ₃)-		
NFLX	CH	CH ₃	
NA	N	CH ₃	CH ₃
T-3136	N		

Chart 1

抗菌活性が優れていることを見出した。^{4a)}(±)-7-(3-Amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid *p*-toluenesulfonate hydrate^{4b)} (T-3262) は T-3262 base の経口吸収を高めるために *p*-toluenesulfonate (PTS) 化されたもので、現在、新しい PCA として臨床での有用性が確認されている。⁵⁾

今回、T-3262 と FBF 又は FBF の抗炎症作用の薬理活性本体である 4-biphenylacetic acid (BPAA)⁶⁾ との併用による痙攣誘発作用をマウスを用いて経口及び脳内投与により検討し、既知の PCAs 及び T-3262 base の 7 位を piperazinyl 基で置換した homologue (T-3136) と比較したので、その結果について報告する。今回用いた PCAs の化学構造式を Chart 1 に示した。

実 験 材 料

1. 使用動物 生後 4—5 週齢の ICR 系雄性マウス (静動協) を用いた。

2. 使用薬物 T-3262, T-3262 base, T-3136 及び flurbiprofen は富山化学工業(株)総合研究所で合成し、ENX (大日本製薬), NFLX (杏林製薬), OFLX (第一製薬) 及び FBF (日本レダリー) は当研究所で市販製剤から抽出した。NA (広栄化学), penicillin G potassium (PCG, 万有製薬), ibuprofen, piroxicam (以上、富山化学), phenylbutazone (Sigma), aminopyrine (住友化学) 及び BPAA (Aldrich Chemical) は市販品を用いた。薬液調製に際し、経口投与の場合、液量が 0.1 ml/10 g となるように薬物を 0.5% methyl cellulose 溶液に懸濁又は溶解した。また、脳内投与の場合、PCG は生理食塩液に溶解し、その他の薬物は 0.1 N NaOH で 2% 溶液 (原液) とし、これを生理食塩液で所定の濃度まで希釈した。なお、原液の pH は NA で 11.7, その他の PCA では 12.4—12.5, BPAA 及び FBF ではそれぞれ 10.2, 11.9 であった。

実 験 方 法

1. PCA 及び FBF 又は BPAA の経口投与による併用実験 マウスに FBF 又は BPAA を、次いで 5 分後に PCA を経口投与した。投与終了後マウスを 160×130×130 mm のプラスチック製観察箱に入れ、2 時間後まで 1 匹ごとに痙攣の種類、その発現時間及び致死の有無を調べた。観察終了後各群ごとに飼育ケージに移し、翌日に生死判定を行った。なお、投与量は臨床用量及びマウスでの急性毒性を参考にして設定した。

2. 脳内投与実験 Haley ら及び渡辺らの方法⁷⁾に準じた。すなわち、マウスの後頭部をゆりみなくしっかりとつかみ、正中線から左右いずれか 2 mm の線と耳の基部の前方を通して引かれる線の交点に 27G の注射針を垂直に深さ 4 mm 刺入し、各濃度の検液 10 µl を速やかに脳室内へ注入した。検液の最高濃度は 2% (投与量 200 µg/mouse) とした。投与終了後マウスを直ちに 160×130×130 mm のプラスチック製観察箱に入れ、1 時間後ま

で1匹ごとに痙攣の種類、発現時間及び致死の有無を観察した。なお、検液の注入部位を確認する目的で本投与方法により1% Evans blue 溶液を注入し、10分後に脳を摘出し、10%ホルマリンで固定したのち脳の冠状及び矢状縫合切断面を肉眼的に観察した。その結果、色素の大部分が側脳室に分布しており、少量の色素がその周囲に認められた。

3. NSAID の経口投与及び PCA の脳内投与による併用実験 マウスに NSAID を経口投与し、30分後に実験方法2と同様にして PCA を脳内投与し、症状を観察した。

4. 統計学的処理 50% 痙攣誘発量 (ED₅₀) 及び 50% 致死量 (LD₅₀) は probit 法により算出した。

結 果

1. PCA 及び FBF 又は BPAA の経口投与での併用による痙攣誘発

マウスに FBF 又は BPAA の 100 mg/kg を、次いで5分後に PCA の 1000, 200 又は 40 mg/kg を経口投与し、痙攣及び致死の有無を調べた (Table I)。

T-3262 と FBF 又は BPAA の併用において、痙攣誘発及び致死例は認められなかった。

ENX と FBF の併用においては、ENX 200 mg/kg で5匹全例が痙攣を起こして死亡した。ENX 投与6—10分後から振戦及び挙尾反応などの中枢興奮症状が現われ、15—40分後に間代性痙攣から強直性屈曲、強直性伸展へと移行した。間代性痙攣は発声 (泣鳴) を伴い、跳躍、疾走及び遊泳痙攣なども1—数十回観察された。間代性痙攣が激しい時に強直性痙攣に移行し、投与29—41分後にそのほとんどが呼吸麻痺で死亡した。ENX 40 mg/kg では1/5例が投与30分後から間代性痙攣を起こし、更に強直性痙攣に移行し、52分後に死亡した。一方、ENX と BPAA の併用においては、FBF の併用に比して痙攣誘発作用が強まり、痙攣の発現及び致死時間が短縮される傾向を示し、ENX 40 mg/kg で4/5例が間代性痙攣から強直性痙攣を発現して死亡した。

NFLX と FBF の併用において、NFLX 1000 mg/kg 投与40分後から間代性痙攣が発現し、次いで強直性痙攣を起こして120分後までに4/5例が死亡した。NFLX 200 mg/kg では80分後から痙攣が発現し、120分後までに2/5例が死亡した。NFLX の用量を40 mg/kg に下げると、痙攣の発現や死亡例は認められなかった。一方、NFLX と BPAA の併用においては、ENX の場合と同様に FBF の併用に比して痙攣誘発作用が強まり、NFLX 40 mg/kg でも2/5例が痙攣を発現して死亡した。

OFLX 及び NA は FBF 又は BPAA との併用で痙攣誘発作用を示さなかった。なお、NA 1000 mg/kg 併用群では、NA 単独投与時と同程度の呼吸抑制や筋弛緩が認められ、鎮静症状を呈した。

TABLE I. Induction of Convulsion after Oral Combination of PCAs with FBF or BPAA in Mice

Drug	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	FBF (100 mg/kg, <i>p.o.</i>)		BPAA (100 mg/kg, <i>p.o.</i>)	
		Convulsion	Death	Convulsion	Death
T-3262	1000	0/10	0/10	0/5	0/5
	200	0/10	0/10	0/5	0/5
	40	0/10	0/10	0/5	0/5
ENX	200	5/5	5/5	5/5	5/5
	40	1/5	1/5	4/5	4/5
NFLX	1000	4/5	4/5	4/5	4/5
	200	2/5	2/5	3/5	3/5
	40	0/5	0/5	2/5	2/5
OFLX	1000	0/5	0/5	0/5	0/5
	200	0/5	0/5	0/5	0/5
	40	0/5	0/5	0/5	0/5
NA	1000	0/5	0/5	0/5	0/5
	200	0/5	0/5	0/5	0/5
	40	0/5	0/5	0/5	0/5

PCAs were administered orally 5 min after oral administration of FBF or BPAA. Data are presented as the number of positive mice/the number of used mice.

2. FBF 又は BPAA の脳内投与による痙攣誘発

FBF 又は BPAA の 200 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ 脳内投与では、投与直後に前者で 5/8 例、後方で 4/12 例に一過性の不明確な間代性痙攣が認められたが、その後鎮静症状を呈し、10—20 分後にほぼ正常に回復した。残りは投与直後に鎮静症状を呈したのちほぼ正常に回復した。50 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ では痙攣の発現や死亡例は全く認められず、投与後 5—15 分まで鎮静症状を呈したのちほぼ正常に回復した (Table II)。

3. PCA 脳内投与による痙攣誘発

T-3262 base, ENX, NFLX, OFLX, NA 及び T-3136 の 6 種の PCA すべてに痙攣誘発作用が認められ、痙攣誘発用量には 3.125 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ から 200 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ まで大きな差がみられた (Table III)。

T-3262 base の 200 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ を投与すると、20 秒から 7 分後に 6/12 例に間代性痙攣 (回転、跳躍又は疾走を伴う) が認められた。このうちの 1 例は鎮静、間代性痙攣をくり返したのち投与 15 分後に強直性痙攣 (屈曲、伸

TABLE II. Induction of Convulsion after Intracerebral Injection of FBF or BPAA in Mice

Drug	Dose ($\mu\text{g}/\text{mouse}$, i.c.)	Convulsion		Mortality
		Clonic	Tonic	
FBF	200	5/ 8	0/ 8	0/ 8
	50	0/ 8	0/ 8	0/ 8
BPAA	200	4/12	0/12	0/12
	50	0/12	0/12	0/12

Data are presented as the number of positive mice/the number of used mice.

TABLE III. Induction of Convulsion after Intracerebral Injection of PCAs in Mice

PCA	Dose ($\mu\text{g}/\text{mouse}$, i.c.)	Convulsion				Mortality	
		Clonic		Tonic		P/U	LD ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)
		P/U	ED ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)	P/U	ED ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)		
T-3262 base	200	6/12	200 ^{a)}	1/12	>200	2/12	>200
	50	2/12		0/12		1/12	
	12.5	1/12		0/12		0/12	
ENX	25	10/10	10.8	10/10	13.2	10/10	13.7
	17.5	10/10	(9.01—12.4)	6/10	(10.0—16.2)	8/10	(11.6—16.0)
	12.5	7/10		5/10		3/10	
NFLX	8.75	2/10		2/10		1/10	
	12.5	10/10	3.80	10/10	4.39	10/10	5.57
	8.75	10/10	(2.97—4.45)	10/10	(3.59—5.17)	8/10	(4.59—6.66)
	6.25	9/10		8/10		6/10	
OFLX	4.375	8/10		6/10		4/10	
	3.125	2/10		1/10		0/10	
	50	10/10	22.5	10/10	23.4	10/10	29.9
	35	10/10	(16.7—26.8)	8/10	(17.1—28.3)	5/10	(23.6—37.5)
NA	25	5/10		5/10		3/10	
	17.5	3/10		3/10		2/10	
	200	2/10	>200	1/10	>200	1/10	>200
T-3136	50	0/10		0/10		0/10	
	25	10/10	11.7	9/10	15.9	9/10	17.1
	17.5	8/10	(8.55—14.2)	6/10	(13.5—19.2)	6/10	(14.6—20.1)
	12.5	5/10		3/10		1/10	
PCG	8.75	3/10		0/10		0/10	
	100	8/8	20.5	8/8	41.9	8/8	50 ^{a)}
	50	7/8	(5.81—32.9)	5/8	(29.3—56.7)	5/8	
	25	5/8		1/8		0/8	

P/U, Number of positive mice/number of used mice. ED₅₀ and LD₅₀ were calculated by probit method. 95% Confidence limits were shown in parentheses.

a) Approximate value from experimental data.

T-3262 base or NA over 200 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ was not able to be injected intracerebrally because of their low solubilities.

展を伴う)を示した。2/12 例が死亡したが、いずれも強直性痙攣まで至らず、鎮静、間代性痙攣をくり返したのち投与 4—5 分後に死亡した。50 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ では 2/12 例に投与直後に間代性痙攣が認められ、そのうちの 1 例は激しく痙攣をくり返したのち投与 3 分後に死亡した。12.5 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ では投与 2 分後に 1/12 例が間代性痙攣を起こしたのちに回復し、強直性痙攣や死亡例は全く認められなかった。

NA の 200 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ では間代性痙攣が 30—40 秒後に 2/10 例に認められ、このうちの 1 例が 10 分後に強直性伸展から呼吸麻痺を起こして死亡した。50 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ では痙攣の発現は全く認められなかった。

NFLX では 12.5 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ 、ENX と T-3136 では 25 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ 、OFLX では 50 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ 、対照薬として用いた PCG では 100 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ の用量で 8—10 匹ほぼ全例が間代性痙攣、強直性屈曲及び伸展を起こし、呼吸麻痺で死亡した。これらの薬物の用量を下げると、用量に依存して痙攣の発現例数や死亡数も減少した。また、痙攣の発現時間、痙攣の種類、その持続時間及び死亡時間などにおいて、これらの薬物間に明確な相違は認められなかった。

なお、薬液調製用の溶媒である 0.1 N NaOH の 10 $\mu\text{l}/\text{mouse}$ では投与直後の静止状態、それに続く鎮静症状ののち 5—15 分後にはほぼ正常に回復した。1/5 例に投与直後に一過性の間代性痙攣が認められたが、くり返すことはなかった。

50% 強直性痙攣誘発量から、脳内投与での痙攣誘発作用の強さは NFLX > ENX > T-3136 > OFLX > PCG > T-3262 base $\geq$ NA で、致死毒性の強さも相関していた。

4. BPAA 経口及び PCA 脳内併用投与による痙攣誘発の増強

マウスに BPAA 100 mg/kg を経口投与し、30 分後に T-3262 base, ENX, NFLX 又は OFLX を脳内投与し、痙攣誘発作用を調べた (Table IV)。

BPAA を併用した場合、脳内投与での痙攣誘発作用の強さは、50% 痙攣誘発量から NFLX = ENX $\gg$ OFLX > T-3262 base であった。致死毒性の強さも同様であった。

T-3262 base は 50—200 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ では単独投与時 (Table III) と比べ、痙攣誘発作用をわずかに強める傾向を

TABLE IV. Induction of Convulsion after Intracerebral Injection of PCAs in Mice Orally Pretreated with BPAA

PCA	Dose ($\mu\text{g}/\text{mouse}$, i.c.)	Convulsion				Mortality	
		Clonic		Tonic		P/U	LD ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)
		P/U	ED ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)	P/U	ED ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)		
T-3262 base	200	6/10	92.5	4/10	>200	3/10	>200
	50	5/10	(40.5—803)	1/10		2/10	
	12.5	0/10		0/10		0/10	
ENX	0.07	10/10	0.033	10/10	0.038	9/10	0.039
	0.05	8/10	(0.027—0.039)	8/10	(0.032—0.044)	8/10	(0.032—0.047)
	0.035	8/10		4/10		4/10	
	0.025	1/10		1/10		1/10	
	0.0175	0/2		0/2		0/2	
NFLX	0.07	10/10	0.028	10/10	0.036	9/10	0.042
	0.05	10/10	(0.023—0.033)	8/10	(0.029—0.043)	7/10	(0.033—0.053)
	0.035	8/10		4/10		2/10	
	0.025	3/10		2/10		2/10	
OFLX	25	10/10	7.75	9/10	10.1	9/10	12.9
	17.5	10/10	(5.79—9.24)	7/10	(5.21—14.4)	6/10	(9.39—18.5)
	12.5	9/10		5/10		4/10	
	8.75	6/10		5/10		3/10	
	6.25	3/10		3/10		2/10	

P/U, Number of positive mice/number of used mice. BPAA was administered orally at a dose of 100 mg/kg 30 min before intracerebral injection of PCAs. ED₅₀ and LD₅₀ were calculated by probit method. 95% Confidence limits were shown in parentheses.

TABLE V. Effect of BPAA on Induction of Convulsion after Intracerebral Injection of PCAs in Mice

PCA (i.c.)	Clonic convulsion (ED ₅₀)		Tonic convulsion (ED ₅₀)		Mortality (LD ₅₀)	
	Without/with ^{a)}	Ratio	Without/with ^{a)}	Ratio	Without/with ^{b)}	Ratio
T-3262 base	200 /92.5	2.16	>200/ >200		>200/ >200	
ENX	10.8/0.033	327	13.2/0.038	347	13.7/0.039	351
NFLX	3.80/0.028	136	4.39/0.036	122	5.57/0.042	133
OFLX	22.5/7.75	2.90	23.4/10.1	2.32	29.9/12.9	2.32

^{a)} ED₅₀ without BPAA/ED₅₀ with BPAA. ^{b)} LD₅₀ without BPAA/LD₅₀ with BPAA. ED₅₀ and LD₅₀ values (μg/mouse) were quoted from Table III and Table IV.

TABLE VI. Effect of NSAIDs on Induction of Convulsion after Intracerebral Injection of ENX in Mice

NSAID (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Clonic convulsion		Tonic convulsion		Mortality	
	ED ₅₀ with NSAID (μg/mouse)	Ratio ^{a)}	ED ₅₀ with NSAID (μg/mouse)	Ratio ^{a)}	LD ₅₀ with NSAID (μg/mouse)	Ratio ^{b)}
Flurbiprofen (50)	0.55(0.37—0.71)	19.6	0.66(0.51—0.84)	20.0	0.69(0.50—0.96)	19.9
Ibuprofen (200)	3.05(2.26—3.74)	3.54	3.86(3.03—5.02)	3.42	3.85(2.93—5.24)	3.56
Piroxicam (20)	9.76(8.07—11.5)	1.11	11.6(9.47—13.9)	1.14	12.9(10.4—16.0)	1.06
Phenylbutazone (200)	10.9(9.16—12.9)	0.99	13.4(11.0—16.2)	0.99	13.4(11.0—16.2)	1.02
Aminopyrine (200)	10.5(9.14—12.0)	1.03	12.11(10.1—14.5)	1.09	15.4(12.9—19.1)	0.89

NSAIDs were administered orally 30 min before intracerebral injection of ENX. ED₅₀ and LD₅₀ were calculated by probit method. 95% Confidence limits were shown in parentheses. The intracerebral ED₅₀ and LD₅₀ for ENX alone were quoted from Table III.

^{a)} ED₅₀ without NSAID/ED₅₀ with NSAID. ^{b)} LD₅₀ without NSAID/LD₅₀ with NSAID.

示したが、12.5 μg/mouse では単独投与時との差は認められなかった。一方、ENX 及び NFLX は単独投与時と比べ、極めて低い用量 0.025—0.07 μg/mouse で、OFLX は単独投与時よりもやや低い用量で用量依存的な痙攣誘発作用を示した。これらの結果を Table III の単独投与時の 50% 痙攣誘発量及び 50% 致死量と比較し、(Table V). T-3262 base の痙攣誘発作用は BPAA との併用によって約 2 倍増強した。一方、ENX は 300 倍、NFLX は 100 倍、OFLX は 2—3 倍程度増強した。

5. ENX の脳内投与での痙攣誘発に及ぼす NSAID の影響

マウスに NSAID を経口投与し、30 分後に ENX を脳内投与して調べた結果から 50% 痙攣誘発量及び 50% 致死量を求め、ENX 単独投与時との比を算出した (Table VI). Flurbiprofen 50 mg/kg 又は ibuprofen 200 mg/kg との併用により、ENX の脳内投与による痙攣誘発作用はそれぞれ 20 倍、3.5 倍増強した。しかし、piroxicam 20 mg/kg, phenylbutazone 又は aminopyrine の各 200 mg/kg との併用では、ENX の痙攣誘発作用にほとんど変化が認められなかった。

考 察

マウス経口投与による FBF 又は BPAA 100 mg/kg との併用で、新規な PCA である T-3262 は OFLX 及び NA と同様、1000 mg/kg まで痙攣を誘発しなかった。しかし、同様の実験で、ENX は FBF との併用では 200 mg/kg で 100%, 40 mg/kg で 20%, BPAA との併用では 200 mg/kg で 100%, 40 mg/kg で 80% のマウスに痙攣を誘発し、致死毒性を示した。更に NFLX は FBF との併用では 200 mg/kg で 40% のマウスに痙攣を誘発し、致死毒性を示したが、40 mg/kg では痙攣を誘発しなかった。また、BPAA との併用では 200 mg/kg で 60%, 40 mg/kg で 40% のマウスに痙攣を誘発し、致死毒性を示した。FBF 以外の NSAID では、田中らが flurbiprofen 100 mg/kg との併用で、ENX は 200 mg/kg で痙攣誘発作用を示すことを報告している。³⁰⁾ マウスに PCA を単独で経口投与した場合、T-3262 では 6000 mg/kg, ENX では 5000 mg/kg, NFLX では 4000 mg/kg まで中

毒症状の発現は認められず,^{8a-c)} OFLX では LD₅₀ (5450 mg/kg) に近い致死量で痙攣の発現が認められた^{8d)}と報告されている。一方, FBF では LD₅₀ (1400 mg/kg) に近い致死量で痙攣の発現が,^{8e)} BPAA では LD₅₀ (696 mg/kg) に近い用量で音及び接触刺激に対する反応性の亢進が認められた^{8f)}と報告されている。以上のことから, FBF や BPAA と併用することによって, ENX 及び NFLX の毒性は著しく増強することが明らかである。

FBF 又は BPAA との併用で認められた PCA の中枢神経毒性を更に詳細に調べるために, マウスの脳内に各薬物を単独投与した。FBF 及びその活性本体である BPAA は 200 µg/mouse の高用量でも一過性に不明確な間代性痙攣を誘発しただけであったが, 今回用いた PCA 6 剤はいずれも痙攣を誘発し, 致死毒性を示した。痙攣誘発作用の強さには PCA 間で非常に大きな差があり, 強直性痙攣の 50% 誘発量 (µg/mouse) で比較すると, NFLX (4.39) > ENX (13.2) > T-3136 (15.9) > OFLX (23.4) > PCG (41.9) > T-3262 base (>200) ≥ NA (>200) であった。PCG より作用の強い PCA の化学構造は, 側鎖が共通して piperazinyl 基を有し, また, T-3262 base (7 位は 3-aminopyrrolidinyl 基) に比して, 7 位側鎖以外は同一である T-3136 (7 位は piperazinyl 基) が約 20 倍強い作用を示したことから, piperazinyl 基が痙攣誘発作用の増強に関与しているものと推定された。このように化学構造の一部が異なることによって, 痙攣誘発作用の強さに大きな差が生ずる例として, β-ラクタム系抗生物質が知られている。⁹⁾ Hori らはラット脳シナプス膜を用いた GABA 受容体結合実験で, PCA の阻害活性 (IC₅₀) は NFLX > ENX > OFLX > NA であることを報告しており,¹⁰⁾ 今回の脳内投与の結果と関連するようである。

BPAA (100 mg/kg, *p.o.*) との併用によって, 脳内投与での痙攣誘発作用は, T-3262 base 及び OFLX ではほとんど増強されなかったが, ENX 及び NFLX ではそれぞれ 300 及び 100 倍程度増強された (Table V)。また, ENX 及び FBF の各 100 mg/kg (*p.o.*) をマウスに併用した場合, 痙攣が顕著に発現する投与 30 分後の ENX, FBF 及び BPAA の血清中及び脳組織内濃度は, 単独投与時よりも高くなることはなかった (未発表)。OFLX や NY-198 については, 単独投与時と FBF 併用時で体内動態に差のないことが報告されている。^{11a,b)} 以上のことから, ENX 又は NFLX と FBF の併用で認められた薬物相互作用は, pharmacokinetic な場ではなく, pharmacodynamic な場で起こったもので, FBF の活性本体である BPAA が ENX や NFLX の痙攣誘発閾値を著しく低下させることによって発現したものと考えられた。ENX の痙攣誘発閾値の低下については, 更に 5 種の NSAID を併用して調べたが, フェニルプロピオン酸系の flurbiprofen や ibuprofen によっても閾値低下が認められた。T-3262 base の BPAA 併用による痙攣誘発閾値の低下が ENX と比べ, わずかなものであったことから, T-3262 base ではこれらの NSAID 併用による影響はないものと推測された。

Hori らはマウス脳シナプス膜を用いた *in vitro* の実験系で, BPAA を共存させることによって, GABA 受容体結合阻害活性 (IC₅₀) が ENX で約 10000 倍, NFLX で約 1000 倍増強され, flurbiprofen, indomethacin 及び FBF などの NSAID も増強作用を有することを報告している。^{12a)} また, 同様の実験系で, T-3262 base の阻害活性は BPAA 共存下で約 4 倍増強するが, FBF や indomethacin ではほとんど影響を受けないことが知られている。^{12b)} BPAA や flurbiprofen などフェニル酢酸あるいはプロピオン酸系の一部の NSAID による痙攣誘発増強作用と GABA 受容体結合阻害増強作用もよく関連するようである。

Murayama らは ENX 又は NY-198 と FBF をネコ, ウサギ, ラット, マウス及びカエルなどに併用した時, いずれの動物においても痙攣が発現したと報告している^{8a)}ことから, PCA と NSAID の併用による痙攣誘発には, 動物による種差があまりないものと推測された。そこで, 著者らは今回, 最も取り扱いやすいマウスを用いて検討を行った。その結果, T-3262 及び FBF の薬物相互作用は, 経口及び脳内投与による検討でほとんど認められなかった。また, PCA をマウスの脳内に単独投与すると同時に NSAID を併用し, 痙攣誘発作用の強さ及び NSAID による痙攣誘発閾値の低下の程度を調べることによって, 臨床の場での PCA 及び NSAID の併用による副作用 (痙攣) 発現の可能性を簡便に, しかも感度よく予測することができると考えられた。

結 論

T-3262 及び FBF の併用による中枢神経毒性をマウスを用いて既知の PCAs と比較検討し, 以下の結論を得た。

- 1) FBF 又はその活性本体である BPAA 各 100 mg/kg 経口投与での併用において, T-3262, OFLX 及び NA は 1000 mg/kg まで痙攣を誘発しなかったが, ENX 及び NFLX は 40—200 mg/kg で痙攣を誘発した。
- 2) 脳内単独投与では, FBF 及び BPAA は明確な間代性痙攣を誘発しなかったが, PCAs は 3.125—200 µg/

mouse でいずれも痙攣を誘発し、その強さの順位は NFLX > ENX > T-3136 > OFLX > PCG > T-3262 base $\cong$ NA であった。

3) BPAA (100 mg/kg, *p.o.*) の併用によって、T-3262 base 及び OFLX の脳内投与での痙攣誘発閾値はほとんど低下しなかったが、ENX 及び NFLX のそれは各々 1/300 及び 1/100 程度に低下した。その結果、ENX 及び NFLX の痙攣誘発作用が著しく増強され、両者とも同程度の強さとなった。

4) ENX 又は NFLX と FBF の併用で認められた薬物相互作用は pharmacodynamic な場で起こったものであると考えられた。

5) T-3262 及び FBF の薬物相互作用はほとんど認められなかった。

6) マウスでの単独脳内投与及び併用実験が、臨床の場での PCA 及び NSAID 併用による副作用 (痙攣) 発現の可能性を予測する有用な手段となることを示した。

謝辞 本研究に際し、御指導を賜りました東京大学医科学研究所 島田 馨教授並びに御協力をいただいた当研究所 岸本寿美子及び恒田礼子の両氏に謝意を表します。

引用文献

- 1) 坂 義人, 化学療法の領域, **3**, 508 (1987); 谷本普一, *ibid.*, **3**, 520 (1987); 野口行雄, *ibid.*, **3**, 531 (1987).
- 2) a) 大泉耕太郎, 臨床と微生物, **14**, 205 (1987); b) J. E. Idänpään-Heikila, J. Tuomisto, "Side Effects of Drugs Annual 3-1979," ed. by M. N. G. Dukes, Excerpta Medica, Amsterdam, 1979, p. 246; c) 厚生省薬務局, 医薬品副作用情報 (No. 81), 1986 年 10 月.
- 3) a) S. Murayama, T. Suzuki, Y. Hara, M. Tamagawa, K. Kakizaki, *Jpn. J. Pharmacol.*, **43** (Suppl.), 60P (1987); b) 森川宏二, 永田 治, 山本研一, 吉村弘二, 内藤行雄, 井上 譲, 第 35 回日本化学療法学会総会講演抄録, 1987 年 5 月, 盛岡, p. 163; c) 田中和彦, 能勢高志, 野崎正勝, 鶴見介登, 藤村 一, 第 8 回日本炎症学会プログラム予稿集, 1987 年 7 月, 東京, p. 115; d) 村山 智, *Prog. Med.*, **7** (Suppl. 1), 2272 (1987).
- 4) a) 成田弘和, 小西義憲, 新田 純, 北山 功, 宮島三香子, 渡辺泰雄, 四辻 彰, 才川 勇, 薬誌, **106**, 802 (1986); 富山化学工業株式会社, 日特開昭 60-228479 (1985) [*Chem. Abstr.*, **104**, 129888r (1986)]; b) 富山化学工業株式会社, 日特開昭 62-72616 (1987) [*Chem. Abstr.*, **107**, 183566j (1987)].
- 5) 第 34 回日本化学療法学会東日本支部総会新薬シンポジウム「T-3262」, 東京, 1987 年 11 月.
- 6) A. E. Sloboda, E. L. Tolman, A. C. Osterberg, J. Panagides, *Arzneim.-Forsch.*, **30**, 716 (1980).
- 7) T. H. Haley, W. G. McCormick, *Br. J. Pharmacol.*, **12**, 12 (1957); 渡辺裕司, 渡辺和夫, 後藤義明, 山口正俊, 薬誌, **98**, 653 (1978).
- 8) a) 河村泰仁, 中川重仁, 鬼頭暢子, 三善隆広, 柴田哲夫, 米田豊昭, *Chemotherapy*, **36** (S-9) 221 (1988); b) 仙田博美, 中野幸穂, 山吉迪子, 矢寺成次, 吉田耕一, *ibid.*, **32** (S-3), 192 (1984); c) 入倉 勉, 相島博, 土屋 剛, 杉本 勉, 棚瀬裕文, *ibid.*, **29** (S-4), 766 (1981); d) 大野広志, 稲毛富士郎, 赤羽浩一, 相原 清, 吉田貢由, 小野寺 威, *ibid.*, **32** (S-1), 1084 (1984); e) 滝田節郎, 平野耕平, 新井玲子, 石塚駿太, 奥泉仁一, 猪俣訓一, 薬理と治療, **5**, 3505 (1977); f) 滝田節郎, 高木英利, 新井玲子, 茂田哲哉, 阿部主作, 猪俣訓一, 田内清憲, 黄 坤正, 今井節夫, 基礎と臨床, **20**, 2107 (1986).
- 9) M. C. Gerald, J. Massey, D. C. Spadaro, *J. Pharm. Pharmacol.*, **25**, 104 (1973); 亀井千晃, 池上信行, 木庭茂治, 于 庆海, 三宅英和, 田坂賢二, 最新医学, **38**, 1662 (1983).
- 10) S. Hori, J. Shimada, A. Saito, T. Miyahara, S. Kurioka, M. Matsuda, Abstracts of the 25th ICAAC, Minneapolis, Minnesota, Sep. 1985, p. 163.
- 11) a) 直良浩司, 一川暢宏, 林原正和, 片桐義博, 岩本喜久生, 日本薬学会第 108 年会講演要旨集, 広島, 1988 年 4 月, p. 532; b) K. Morikawa, O. Nagata, S. Kubo, H. Kato, K. Yamamoto, Abstracts of the 27th ICAAC, New York, N. Y., Oct. 1987, p. 141.
- 12) a) S. Hori, J. Shimada, A. Saito, T. Miyahara, S. Kurioka, M. Matsuda, Abstracts of the 27th ICAAC, New York, N. Y., Oct. 1987, p. 101; b) 堀 誠治, 斎藤 篤, 嶋田甚五郎, 大森雅久, 柴 孝也, 山路武久, 北条敏夫, 加地正伸, 奥田新一郎, 宮原 正, 第 34 回日本化学療法学会東日本支部総会講演抄録, 東京, 1987 年 11 月, p. 87.