

脳 の ト ラ ン ス ア ミ ナ ー ゼ

第 2 編

各種向精神・神経薬のダイコクネズミ脳組織トランスアミナーゼ活性に及ぼす影響

岡山大学医学部神経精神医学教室 (主任: 奥村二吉教授)

小 野 昌 也

〔昭和34年9月30日受稿〕

緒 言

1952年に Delay らが Chlorp romazine (以上 CP と略す) を用いた精神病治療法を冬眠療法と名付けて発表して以来, 新しい向精神薬が続々と登場し, これらによる化学療法が現在の精神病治療において重要な地位を占めるに至つた. これと軌を同じくして精神薬理学も目覚ましい発展を遂げ, これらの薬物に関する臨床的ならびに実験的研究が輩出している. 生化学の分野においても向精神薬と物質代謝との関連が盛んに研究されているが, これらの薬物の作用の本態については今なお不明な点が多い. 一方脳のアミノ酸代謝をめぐる多くの業績によつて, この代謝が脳において占める特殊性が理解されて来た. とりわけ, グルタミン酸 (以下 G 酸と略す) と精神活動の深い関係が明らかにされて以来, G 酸代謝に及ぼす向精神薬の影響を論じた研究も多い. しかしながら G 酸代謝と関係のある脳のトランスアミナーゼ (以下 TA と略す) に対する向精神薬の影響に関しては, Williams ら¹⁾ の古い業績をみるが, 新しい向精神薬を広く試みたものは殆んど見当らぬようである.

私はダイコクネズミ脳組織のグルタミン酸-アスパラギン酸トランスアミナーゼ (以下 GAT と略す) を対象として, 18種の向精神薬および3種の向神経薬 (向精神作用の乏しい薬物で中枢神経系に働くものを以下こう呼ぶこととする) が TA 活性に及ぼす影響をしらべた. それによつて得られた知見を報告する. なお, GAT 活性はアスパラギン酸 (以下 As 酸と略す) と α -ケトグルタル酸 (以下 α -K 酸と略す) とのトランスアミナーゼによる生成する G 酸量を活性の指標とした.

実験材料および方法

1) 実験材料

As 酸および α -K 酸はともに和光純薬特級品を用いた. 18種の向精神薬と3種の向神経薬は, それぞれ製造または輸入している会社から純末結晶の提供を受けた. Azacyclonol と LSD-25 は注射液を用いた. なおこの実験に用いた薬物を第1表にかかげる.

As 酸および α -K 酸はそれぞれ中性化した $50\mu\text{M}/0.5\text{ml}$ 溶液に調整した. 各薬物も中性化した $0.1\mu\text{M}/0.2\text{ml}$ 溶液に調製したが, フェノチアジン系薬物の殆んど全部は中性付近で析出して白濁を生じるので, これの生じない限界で最も中性に近付けた.

酵素材料は断頭直後に取り出したダイコクネズミの新鮮全脳を $1/5\text{ M phosphate buffer (pH7.6)}$ で10倍の homogenate として用いたが, 個体差を考慮してなるべく2個以上の脳を混ぜて調製した.

2) 実験方法

ツンベルグ管を容器となし, As 酸および α -K 酸溶液, $1/5\text{ M phosphate buffer}$, 薬物溶液を用いて第2表の如き reaction system を構成せしめた. 対照には薬物溶液の代りに buffer を用いた. 以下, incubation およびペーパークロマトグラフ法による G 酸の分離定量の手技は, 前編²⁾ と同様である. ただしセリンを分離する必要がないので展開時間もつと短かくした.

実験成績

実験に用いた製品のうち有機酸塩となつているので, 酵素研究法³⁾ に TA に対する阻害の有無の記載のない有機酸の影響を測定して第3表の結果を得て参考にした.

1) フェノチアジン系薬物の影響

第1表 実験に用いた薬物

薬物名	使用した塩型	使用した製品名
Chlorpromazine	HCl 塩	Contomin (吉富)
Chlorpromazine S-oxide	HCl 塩	Opromazine (吉富)
Acetylpromazine	マレイン酸塩	Plégicil (Clin-Byla・三共)
Levomepromazine	HCl 塩	Hirnamin (R. P.・塩野義)
Mepazine	醋酸塩	Pacatal (Promonta・田辺)
Perphenazine	HCl 塩	PZC (吉富)
Prochlorperazine	メタンスルホン酸塩	Novamin (R. P.・塩野義)
Diethazine*	HCl 塩	Ethylemin (吉富)
Promethazine*	HCl 塩	Pyrethia (塩野義)
Azacyclonol	HCl 塩	Frenquel (Merrell・塩野義)
Pipradrol†	HCl 塩	Meratran (Merrell・塩野義)
Methylphenidate†	HCl 塩	Ritalin (Ciba)
Dimethylaminoethanol†	酒石酸塩	Recrein (吉富)
Imipramine†	HCl 塩	Tofranil (Geigy・藤沢)
LSD-25†	酒石酸塩	Delysid (Sandoz)
Amobarbital	—	Isomytal (日本新薬)
Phenobarbital	—	Luminal (Bayer)
Methypylon	—	Noctan (山之内)
Glutethimide	—	Doriden (Ciba)
Bemegride†	—	Antibarbi (田辺)
Primidone*	—	Mysoline (I. C. I.・大日本)

* 向神経薬 † 中枢刺激剤

第2表 Reaction system

主室	脳 homoenagte.....	1.0ml
	AS 酸溶液.....	0.5ml (50 μ M)
	phosphate buffer.....	0.8ml
側室	α -K 酸溶液.....	0.5ml (50 μ M)
	薬物溶液*.....	0.2ml (0.1 μ M)

終末容量 3.0ml, 反応温度 38°C
終末 pH 7.6, 気相 N₂ ガス

* 対照は phosphate buffer 0.2ml を薬物の代りに用いた。

第3表 塩構成有機酸の影響 (4例平均)

有機酸	生成 G 酸 μ M/tube/hr.		阻害率%
	有機酸 附加	対照	
マレイン酸	27.2	30.1	9.6
酒石酸	29.9	30.1	0.7
メタンスルホン酸	28.3	30.1	6.0

9種のフェノチアジン誘導体を用いた実験の成績を第4表に示す。向精神薬7種は Prochlorperazine 以外はすべてGAT阻害を示した。向神経薬 Diethazine と Promethazine の影響は殆んどみられなかつた。

GAT 阻害は CP に特に著明に現われ、これに較べると近似構造をもつ CP-S-oxide の阻害作用は著しく低い。Acetylpromazine が CP に次ぐ阻害を示したが、第3表にみるようにマレイン酸の影響も加わっていると考えられる。しかしそれを差引いても他のフェノチアジン系向精神薬と略同等の影響を示している。

2) 各種中枢刺激剤, Azacyclonol, LSD-25の
影響

第5表にあげられた薬物のうち, Pipradrol, Methylphenidate, Dimethylaminoethanol (以下 DMAE と略す), Imipramine が中枢刺激剤 (以下 Stimulant と呼ぶ) である。このうち Imipramine は阻害を示し、他の3種の中枢刺激剤は阻害作用なく, Pipradrol と DMAE は逆に GAT 活性を促進せしめた。

また、互に γ -異性体でありながら向精神作用の相反している Azacyclonol と Pipradrol が、GAT に対する効果においても相反していることは興味深い。すなわち抗幻覚剤と呼ばれる Azacyclonol はフェノチアジン系の中枢抑制剤 (以下 depressant と呼ぶ) と同じく GAT に対して阻害を示したが、Stimulant である Pipradrol は阻害しない。Hallucinogen としての作用をもつ LSD-25も阻害を示した。しかし

ながら、人体投与量の著しく低いPipradrolと LSD-25について、更に低濃度の実験を行なつたところ、両薬剤ともに高濃度においてみられた著明な作用を示さず、GAT に対して殆んど無影響に近かつた。

3) 各種睡眠剤および Bemegride, Primidone の影響
バルビツール酸系睡眠剤から Amobarbital と

第4表 各種フェノチアジン系薬物の影響

薬 物	生成G酸量 μM/tube/hr.		阻害率 %	阻害率 平均%
	薬物 附加	対照		
Chlorpromazine	24.2	32.4	25.5	34.0
	22.2	25.7	13.6	
	15.1	20.9	27.8	
	9.0	20.9	56.9	
	11.2	20.9	46.4	
Chlorpromazine S-oxidc	21.9	26.2	16.7	14.1
	22.8	25.7	11.5	
Acetylpromazine	20.4	25.7	20.9	22.5
	19.9	25.7	22.6	
	23.7	31.4	24.5	
	24.5	31.4	22.0	
Levomepromazine	23.1	25.7	10.3	15.7
	21.0	26.0	19.3	
	21.7	26.0	16.7	
	21.7	26.0	16.7	
Mepazine	23.7	25.7	13.4	11.1
	24.4	26.2	6.9	
	22.8	26.2	13.0	
Perphenazine	23.0	25.7	10.7	14.8
	23.5	26.2	10.5	
	20.9	26.2	20.2	
Prochlorperazine	23.4	25.7	9.0	4.0
	24.4	26.0	6.4	
	25.6	26.0	1.6	
	26.3	26.0	- 1.1	
Diethazine	29.0	25.7	-12.8	-7.0
	33.8	30.4	-11.2	
	29.3	30.4	3.6	
	32.7	30.4	- 7.6	
Promethazine	26.6	25.7	- 3.4	-3.7
	27.1	26.2	- 3.5	
	28.5	26.2	- 8.8	
	26.0	26.2	0.9	

Phenobarbital を、非バルビツール酸系睡眠剤から Methyprylon と Glutethimide を選んだ。またバルビツール酸に拮抗して働く覚醒剤 Bemegride と、抗てんかん薬 Primidoneを用いた。

実験成績は第6表にかかげた如く、stimulant である Bemegride 以外の各 depressant は何れも GAT 阻害を呈した。Bemegride は Amobarbital, Phenobarbital に対して拮抗するが、GAT に対する効果においても袂を分つたことは興味深い。睡眠剤 4種の中で、Glutethimide に GAT の阻害が最も強かつた。

第5表 各種中枢刺激剤および Azacyclonol, LSD-25の影響

薬 物	↑ 附加 量	生成G酸量*		阻害率 %	阻害率 平均%
		薬物 附加	対照		
Azacyclonol	0.1	22.0	20.9	- 5.3	11.5
		18.4	20.9	12.0	
		15.8	20.9	24.4	
		15.8	20.9	24.4	
		20.0	20.9	4.3	
Pipradrol	0.1	38.1	28.3	-34.6	-31.4
		38.1	28.3	-34.6	
		32.8	28.3	-12.4	
		39.8	28.3	-40.6	
	0.001	27.9	28.3	1.4	1.4
Methylphenidate	0.1	24.4	23.9	- 2.6	- 0.2
		24.1	23.9	- 0.8	
		23.5	23.9	1.8	
Dimethylamino- ethanol	0.1	16.4	18.2	9.9	-17.0
		21.7	18.2	-13.2	
		22.0	18.2	-20.9	
		25.1	18.2	-37.9	
Imipramine	0.1	26.6	26.0	- 1.9	12.6
		19.7	25.7	23.5	
		20.0	23.9	16.3	
LSD-25	0.04	27.0	32.0	15.6	18.3
		23.0	32.0	28.1	
		27.9	31.4	11.1	
	0.001	21.7	23.9	9.2	
23.1		23.9	3.3		
24.1		23.9	- 0.8		

* μM/tube/hr. † μM/tube

第6表 各種睡眠剤および Bemegride,
Primidone の影響

薬 物	生成G酸量 μM/tube/hr.		阻害率 %	阻害率 平均%
	薬物 附加	対照		
Amobarbital	22.2	24.9	10.8	6.4
	22.9	24.9	8.0	
	23.5	24.9	5.6	
	29.3	32.0	8.4	
	28.5	31.4	9.2	
Phenobarbital	25.2	32.0	21.2	18.0
	26.6	32.0	16.9	
	26.4	31.4	15.9	
Methypylon	20.4	23.9	14.6	20.6
	17.6	23.9	26.4	
	18.5	23.9	22.6	
	23.7	31.4	24.5	
	27.2	32.0	15.0	
Glutethimide	14.6	23.9	38.9	30.4
	18.6	23.9	22.2	
	16.8	23.9	29.7	
Bemegride	23.7	23.9	0.8	-2.3
	25.2	23.9	-5.4	
Primidone	29.4	31.4	6.4	10.9
	27.6	31.4	12.1	
	27.5	32.0	14.1	
	28.4	32.0	11.2	

考 按

以上の実験成績を眺めて、まず目につくことは、depressant の中で Prochlorperazine を除くすべてのものが GAT を阻害したが、促進的に作用したものはみられなかつたことである。一方、stimulant をみると、Imipramine のみが GAT を阻害したが、他は皆阻害を示さず、なかには Pipradrol や DMAE のように明らかに TA 活性を促進するものさえあつた。これらのことから、作用点の問題はさしおいて、向精神薬の薬理作用と TA 活性に与える作用の間に多少の関連があるように思われる。

私の実験では GAT による G 酸生成能が向精神薬から受ける影響をみたが、近年教室において in vivo において向精神薬を投与したダイコクネズミ脳髄の G 酸量の変動を追究した研究があり、その成績をみると、depressant については、河井⁴⁾ の CP 投与時、

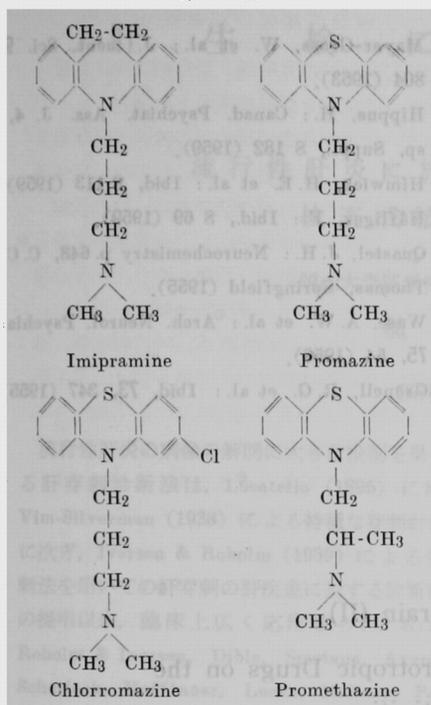
藤田⁵⁾ の Reserpine と Meprobamate、伊原⁶⁾ の Amobarbital と Azacyclonol を投与したものでは、それぞれ脳髄 G 酸の減少ないし減少傾向を報告している。これら in vivo における薬物の影響が、in vitro における GAT の阻害による G 酸生成の減少と同じ方向にむかっていることはおもしろい。

次に stimulant を用いた研究では、伊原⁶⁾ が DMAE, Methylphenidate, Pipradrol の投与において、いずれも脳髄 G 酸の増加を生じる事実を見出したが、私が同じ DMAE, Methylphenidate, Pipradrol で得た GAT に対する影響の成績は、この3薬物のうちの2つまでが GAT を促進して G 酸生成も増加を来し、in vitro でも in vivo と同じ方向で作用を示した事は興味深い。

ところで LSD-25 は、私の 0.04 μM 附加の場合に近い濃度で行なつた。Geronimus⁸⁾ らの実験では、脳組織 homogenate の呼吸抑制を生じるにも拘らず、極めて低い濃度で行なつた。Mayer-Gross⁹⁾ の実験によると却つて組織呼吸を促進するという。私の 0.001 μM 附加の成績は殆んど GAT への影響が生じなかつたが、この時の濃度が Geronimus らの実験と Mayer-Gross の実験の場合の中間の辺りに位していることから、0.001 μM より更に低濃度になると、GAT への影響も高濃度の阻害から逆転して促進を示す可能性が考えられる。

ここで、中枢刺激作用をもつ Imipramine が、stimulant の中でただ一つの例外として depressant と同様の GAT 活性の阻害を示したことが問題になる。Hippus¹⁰⁾ は Imipramine を投与したヒトの体液の生化学的変化が、CP 投与時に起る変化に類似していることを指摘した。また Himwich¹¹⁾ も Imipramine と CP の電気生理学的作用の類似を認めて、この類似が化学構造の側鎖の一致に由来すると主張し、更に、両者の相反する向精神作用は核の差異、すなわちイミノベンジール核とフェノチアジン核の違いによるものとした。一方において、Häfliger¹²⁾ は CP よりも更に Imipramine に近い構造をもつ Promazine が、向精神作用の相反する Imipramine と近似の物理化学的性状を呈することを報告した。Promazine は純品を入手できず私の研究には用いながつたが、第1図に示すように Imipramine や CP と全く同じ側鎖を有し、2個のN原子間の距離がこれらと等しい。実験に用いられた他のフェノチアジン系向精神薬の側鎖は種々であるが、2個のN原子間の距離は前述のものと同じである。分子構造上かかる

第 1 図



一致点をもつこれらの薬物が、向精神作用の相異にも拘らず、等しく GAT 阻害を示したことは興味深い。向精神作用が弱くむしろ向神経薬に近い Prochlorperazine のみは例外を示した。他方、第 1 図にかかげた、Promethazine は Diethazine と共にフェノチアジン系向神経薬であるが、何れも 2 個の N 原子間の距離が短かく、共に GAT 阻害を示さなかつた。以上のことから、これら構造類似の薬物において、2 個の N 原子間の距離の異同と GAT 活性に及ぼす作用の異同とが対応するように思われる。

さて、私の実験成績から depressant がすべて GAT に促進的には働かず、むしろ殆んど全部のものが GAT 阻害を示すことが分る。これに反して、stimulant は殆んど全部が GAT 阻害を示さなかつた。

ところで Quastel¹³⁾ は薬物が局所親和性に基いて作用を発揮すると云っているし、CP の脳内分布の局所親和性を見出した Wase¹⁴⁾ の報告や、CP の in vivo における酵素の阻害作用にも局所親和性を認めた Grenell¹⁵⁾ の報告からしても、全脳を用いた私の実験からは薬物の向精神作用と TA 活性に及ぼす影響との間に直接的関連を見出すことは難しいよう

に思われる。

要 約

ダイコクネズミ脳 homogenate を用い、グルタミン酸-アスパラギン酸トランスアミナーゼ(GAT)活性に及ぼす18種の向精神薬、および3種の向神経薬の影響を測定した。

1. フェノチアジン系向精神薬は、Prochlorperazine を除く他の6種はいずれも GAT 阻害を示し、阻害作用は Chlorpromazine に最も強かつた。Chlorpromazine S-oxide は Chlorpromazine に比して GAT 阻害作用は著しく弱い。2種のフェノチアジン系向神経薬は GAT 活性に影響をみなかつた。
2. Azacyclonol は GAT 阻害を示し、LSD-25 は高濃度で阻害を示したが低濃度では影響を与えなかつた。
3. 中枢刺激剤4種のうち、Pipradrol と DMAE は促進、Methylphenidate は影響なく、Tofranil は阻害を示した。
4. バルビツール酸系睡眠剤 Amobarbital と Phenobarbital、非バルビツール酸系睡眠剤 Methylprylon と Glutethimide は、すべて阻害を示した。しかるにバルビツール酸拮抗剤 Bemegride は GAT に無影響であつた。抗てんかん剤 Primidone は阻害を示した。
5. 実験に用いた中枢抑制剤13種のうち12種が阻害を示した。
6. GAT に及ぼす作用において、Imipramine と Chlorpromazine の類似、Diethazine や Promethazine と Chlorpromazine との差異を、化学構造における2個の N 原子間の距離の一致と相異に対応すると考えた。

終りに臨み、御懇篤なる御指導御校閲を賜つた奥村二吉教授ならびに高坂睦年助教授に深甚なる謝意を捧げます。

文 献

- 1) Williams, H. L., Watson, E. M.: *Rev. Canad. Biol.* **6**, 43 (1947); *Chem. Abst.* **41**, 4182 (1947).
- 2) 小野: *岡山医誌*, **72**, 1 (1960).
- 3) 赤堀編: *酵素研究法*, **2**, 660, 朝倉書店, 東京 (1956).
- 4) 河井: *岡山医誌*, **69**, 3175 (1957).
- 5) 藤田: *Ibid.* **70**, 1341 (1958).
- 6) 伊原: *Ibid.* **70**, 4219 (1958).
- 7) 伊原: *Ibid.* **70**, 4669 (1958).
- 8) Geronimus, L. H. et al.: *J. Psychol.* **42**, 157 (1956).
- 9) Mayer-Gross, W. et al.: *J. ment. Sci.* **99**, 804 (1953).
- 10) Hippus, H.: *Canad. Psychiat. Ass. J.* **4**, sp, Suppl., S 182 (1959).
- 11) Himwich, H. E. et al.: *Ibid.* S 113 (1959).
- 12) Häfliger, F.: *Ibid.*, S 69 (1959).
- 13) Quastel, J. H.: *Neurochemistry* p. 648, C. C. Thomas, Springfield (1955).
- 14) Wase, A. W. et al.: *Arch. Neurol. Psychiat.* **75**, 54 (1956).
- 15) Grenell, R. G. et al.: *Ibid.* **73**, 347 (1955).

Transaminase of Brain (II)

Effects of Psychotropic and Neurotropic Drugs on the Transaminase Activities

By

Masaya ONO

Department of Neuropsychiatry Okayama University Medical School
(Director: Prof. Nikichi Okumura)

Effects of 18 psychotropic and 3 neurotropic drugs were measured by the author on the glutamic-aspartic transaminase (GAT) activities in the rat brain homogenates.

1. Chlorpromazine, chlompromazine sulfoxide, acetylpromazine, levomepromazine, mepazine and perphenazine inhibited GAT, while prochlorperazine showed no effect. Both of diethazine and promethazine did not effect on GAT.

2. Pipradrol and dimethylaminoethanol activated GAT, while methylphenidate showed no effect.

3. Azacyclonol, amobarbital, phenobarbital, methyprylon, glutethimide and primidone were inhibitory in action on GAT.

4. LSD-25 inhibited to GAT and bemegrade did not effect on.

5. In the effect on GAT, similarities of imipramine to the phenothiazine derived depressants, or differences of diethazine and promethazine from other phenothiazine derivatives seemed to be caused due to the resemble or different distance between two nitrogen atoms.
