

# Diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidenemalonate (malotilate) の薬理作用に関する基礎的研究

## 第II編 中枢作用に関する検索

東京医科大学薬理学教室 (主任: 渋谷 健教授)

松田宏三 陳博忠 謝明村 道永啓以智  
松永寛幸 林秀憲 高橋則行

---

### Basic Studies on the Pharmacological Action of Diisopropyl 1,3-dithiol-2-ylidenemalonate (malotilate)

#### Part II, Action of Malotilate on the Central Nervous System

Hiromi MATSUDA, Po-Chung CHEN, Ming-Tsuen HSIEH, Keiichi MICHINAGA,  
Hiroyuki MATSUNAGA, Hidenori HAYASHI, Noriyuki TAKAHASHI

Department of Pharmacology, Tokyo Medical College  
(Director: Prof. T. SHIBUYA)

Malotilate (Diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidenemalonate) has been intended as a drug for liver diseases. This report presents the results of experiments conducted to explore the effects of the compound on the central nervous system in comparison with glutathione (GSH).

1) Malotilate in a dose of 1,000mg/kg (p. o.) produced a slight sedation to monkeys and rats, whereas GSH did no effect.

2) Spontaneous motor activity of mice was suppressed by malotilate at  $\geq 500$  mg/kg. GSH showed no effect.

3) Malotilate caused a slight suppression of conditioned avoidance response at 2,500 mg/kg in rats. GSH showed no effect.

4) The body temperature was decreased slightly by 2,500 mg/kg of malotilate in rats while no effect was observed with GSH.

5) Malotilate and GSH had little or no effect on spinal reflexes in cats.

6) No analgesic effect was demonstrable with malotilate and GSH.

7) Malotilate produced a slight relaxation of skeletal muscles at 2,500 mg/kg in mice. No effect was brought about by GSH.

8) Rotarod performance in mice was inhibited by malotilate at  $\geq 1,000$  mg/kg, whereas no

---

**Key words:** 中枢薬理作用 (central pharmacological action),  
イソプロチオラン誘導体 (isoprothiolane derivative)

effect could be demonstrated with GSH.

9) Malotilate and GSH failed to inhibit apomorphine induced vomiting.

10) Righting reflex in mice and rats was suppressed by malotilate at 2,500 mg/kg. There was no effect of GSH.

11) Thiopental sleeping time in mice was prolonged by 2,500 mg/kg of malotilate. No effect was seen with GSH.

12) Malotilate and GSH proved to be devoid of anticonvulsive effect.

The comparative study of malotilate and GSH for CNS effects in laboratory animals indicate that malotilate showed only a tendency to slight inhibition when administered in high doses as 500-2,500 mg/kg (p. o.). Since these doses correspond to more than about 50 times the estimated therapeutic dose (600 mg/kg/day), it would be suggested that there is little possibility of CNS effects in clinical use of malotilate.

### I. 緒 言

四塩化炭素、エチオニン及びコリン欠乏などによる肝細胞壊死や肝線維化などの実験的肝障害<sup>1)~5)</sup>及びいわゆる肝疾患治療薬によるこれらの肝障害に対する抑制作用<sup>6)~9)</sup>については数多く報告されている。

杉本<sup>10)</sup>、加藤<sup>11)</sup>、中山<sup>12)</sup>らは malotilate (diisopropyl 1,3-dithiol-2-ylidenemalonate) も、四塩化炭素やエチオニン等により惹起される実験的肝障害に対して抑制作用を有することを報告している。

松田<sup>13)</sup>らは、malotilate に関する安全性及び薬理学的研究の一環として、一般薬理作用の検索を行ない、臨床応用量から考え、比較的安全性の高い薬物であると推測している。今回、malotilate 及び glutathione の中枢神経系に及ぼす影響を比較検討し、一定の成果を得たので報告する。

### II. 実験材料

実験動物としては、体重 2.2~2.5 kg のアカゲザル (*Macaca mulata*) 及びカニクイザル (*Macaca irus*)、体重 2.3~3.3 kg の雌雄ネコ、体重 9~12 kg の雑種犬、体重 150~280 g の SD 系雄性ラット、体重 180~200 g の Wistar 系雄性ラット及び体重 18~20 g の ICR 系雌性マウスを使用した。

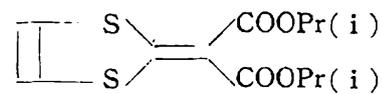
被検薬は日本農薬株式会社より提供されたもので、化学名は diisopropyl 1,3-dithiol-2-ylidenemalonate (malotilate) で、化学構造式は Fig. 1 に示すものである。

本物質は純度 99% 以上の白色ないし微黄色の結晶

粉末で、融点 61~63°C、水に難溶性であり、メタノール、酢酸エチル等の有機溶媒に易溶である。

本実験では 5%アラビアゴム溶液に懸濁して使用した。

Fig. 1 Chemical structure of malotilate



malotilate

(diisopropyl 1,3-dithiol-2-ylidenemalonate)

実験に使用したその他の薬物は glutathione (以下 GSH と略記する)、strychnine, pentetrazol, apomorphine, ether, 及び thiopental 等である。

### III. 実験方法

本実験を通して、室温 22±2°C、湿度 55±1% の恒温室で行ない、且つ、経口投与の場合、用いた被検薬の投与量は 20, 100, 500, 1,000 及び 2,500 mg/kg であった。

#### 1. Naive behavior に及ぼす影響

諸動物の naive behavior の変化を当教室の観察基準表<sup>14)</sup>に従い 3 人の実験者により記録観察した。

#### 1) サルの naive behavior

当教室で飼育管理している健康な 3 匹のアカゲザル No. 1 (2.2 kg ♂), No. 2 (2.5 kg ♂), No. 3 (2.3 kg ♀) 及びカニクイザル No. 4 (2.3 kg ♂) 計 4 匹を雌雄の区別なく用い、10 日間隔で同一動物に対し Table 1 に示す投与計画に従い、計 7 回行なった (Table 1)。

Table 1 Dosing program of malotilate and GSH to monkeys

Monkey No.	Sex	Body weight	Dosing No.						
			1	2	3	4	5	6	7
1	Male	2.2 kg	5 % gum arabic	malotilate 100 mg/kg	GSH 100 mg/kg	malotilate 500 mg/kg	GSH 500 mg/kg	malotilate 1000mg/kg	GSH 1000mg/kg
2	Male	2.5 kg	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.
3	Female	2.3 kg	5 % gum arabic	GSH 100 mg/kg	malotilate 100 mg/kg	GSH 500 mg/kg	malotilate 500 mg/kg	GSH 1000mg/kg	malotilate 1000mg kg
4	Male	2.3 kg	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.	p. o.

## 2) ラットの naive behavior

サル同様当教室の観察基準表に従い、SD系雄性ラット1群6匹を用い、240分間に亘り記録観察した。

### 2. 自発運動に及ぼす影響<sup>15)~17)</sup>

マウスの自発運動に際しては、自発運動量に影響を及ぼす諸因子を出来るだけ取り除くため、遮光防音箱に animex (室町製) を設置した。自発運動量の測定は被検薬投与後5分から、1回の測定時間を15分間とした。

予備試験として連続測定と入換え測定を検討した結果、後者の方が adaptation による motility の減少が少なかったため入換え測定法を選んだ。また、自発運動の測定は日内変動による影響を考慮して、全て午前10時30分に開始した。

### 3. 条件回避反応に及ぼす影響

体重180~200gのWistar系雄性ラットを用いた。実験装置はTwo Compartment Shuttle Box<sup>18)</sup>を用い条件回避付けは、条件刺激として400Hz約70dbの純音を5秒間与え、この間にラットが他方の compartment に移動しなければ Grid に0.4~4mAの直流電流が無条件刺激として与えられる。試行間隔は30秒間の variable interval とし、1 session 25 試行とし、1日1 session の条件付けを行なった。

条件回避反応率80%以上を3日間連続して示したものをを選び、1群6匹として計48匹使用した。

### 4. 体温に及ぼす影響<sup>20)</sup>

体重250~280gのSD系雄性ラット1群6匹を用い、Terumo electrothermometer のフィナー感温部を2~3cm直腸内に30秒間挿入し、各々3回測定しその平均値を直腸温とした。

### 5. 脊髄反射に及ぼす影響<sup>21)~23)</sup>

体重2.3~3.3kgの健全な雌雄ネコ5匹を用い、Shibuya and Anderson<sup>21)</sup>の方法により ether 麻醉下に気管切開を行つて気管カニューレを挿入し、人工

呼吸(30cm H<sub>2</sub>O)下に第1頸椎(C<sub>1</sub>)と第2頸椎(C<sub>2</sub>)の間で脊髄神経を切断した。

次いで第4腰椎(L<sub>4</sub>)から第3仙椎(S<sub>3</sub>)まで脊髄弓切除術(laminectomy)を行い、C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>間脊髄神経切断標本を作製した。第7腰椎(L<sub>7</sub>)あるいは第1仙椎(S<sub>1</sub>)の脊髄後根を電気刺激し、同側の前根より単シナプス反射(M. S. R.)および多シナプス反射(P. S. R.)の誘発活動電位を oscilloscope に導入した。電気刺激条件は delay 1.3 msec, duration 0.05 msec, voltage 2 V であつた。なお流動パラフィンプールは常時 37.5±0.5°C に保つた。

単シナプス反射は spike height, 多シナプス反射は面積比を指標とした。

被検薬は前肢正中静脈内に挿入固定した塩化ビニル細管より注入した。

### 6. 鎮痛作用の検索<sup>19)</sup>

Haffner<sup>24)</sup>法を用いて被検薬の鎮痛作用を検索した。体重18~20gのICR系雌性マウスを1群10匹とした。被検薬投与後、尾根部を動脈鉗子ではさむとマウスは直ちに後方に振り向いて鉗子にかみつるか、あるいは啼鳴する。この疼痛様反応が5秒以内に発現しなかつた場合を鎮痛作用陽性と判定し実験を行なつた。

### 7. 筋弛緩作用の検索<sup>19)</sup>

体重18~20gのICR系雌性マウス1群10匹を用い、傾斜板(Glass)法によつて筋弛緩作用を検索した。マウスを斜面に対して下向きにおき、斜面角度をゆつくり増大させてマウスが滑り落ちる時の傾斜板の最小角を測定した。

### 8. 協調運動に及ぼす影響

体重18~20gのICR系雌性マウスを用い、被検薬の協調運動に及ぼす影響を rotarod 法<sup>25)</sup>によつて測定した。

Rotarod (Treadmill for mice 7,600, Ugo Basile 製)は直径2.8cmのプラスチック棒が毎分16回転

するように調整して、この上に回転方向に頭を向けてマウスを乗せた。動物は予め3日間訓練し、180秒以上を3回連続記録したマウスを選び1群10匹とし計90匹を使用した。被検薬投与0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4時間後における作用を検索した。

### 9. 抗嘔吐作用に及ぼす影響<sup>19)26)</sup>

抗嘔吐作用の検索は3匹の雑種犬(体重9~12kg)を雌雄の区別なく用いた。

塩酸 apomorphine 1.0 mg/kg s.c. で一定時間に数回嘔吐する犬を選び実験を行つた。実験は他の薬物と比較するため対照実験後1週間々隔で同一動物を用いた。なお、apomorphine の投与は原則として被検薬の経口投与後90~100分とした。

### 10. Righting reflex に及ぼす影響<sup>27)</sup>

体重250~280gのSD系雄性ラットおよび体重18~20gのICR系雄性マウスを用いた。righting reflex の検索はIrwin(1964)の方法<sup>27)</sup>に準拠し宙返り法により行なつた。即ち、ラットまたはマウスの尾端をもつて2~3回宙返りさせ、動物が側臥位または仰臥位に倒れた回数を調べ、3回中2回以上側臥位あるいは仰臥位に倒れたものを正向反射の消失とした。

### 11. 睡眠時間に及ぼす影響<sup>19)26)</sup>

体重18~20gのICR系雄性マウスを1群10匹として用いた。被検薬投与100分後にthiopental sodium 40 mg/kg を尾静脈内投与し、righting reflex を指標として、その消失時間を測定した。各投与量は0.1 ml 以内になるように調製した。また、睡眠時間の延長は対照群(5%アラビアゴム溶液0.1 ml/10 g)における平均睡眠時間(23.7±5.1分)の2倍以上に延長したものを陽性と判定した。

### 12. 抗痙攣作用の検索<sup>28)</sup>

最大電撃痙攣並びにpentetrazol 痙攣およびstrychnine 痙攣に及ぼす影響について検討した。試験動物には体重18~20gのICR系雄性マウスを1群10匹として用いた。

#### (1) 電撃痙攣に及ぼす影響

Woodburd and Daveport 型電撃装置<sup>28)</sup>の当教室改良型を用い、角膜電極によりマウスの両眼球に50 Hz, 2 kV, 20 mA の定電流を0.2秒間通電した。最大電撃痙攣は、まず、強直性屈曲痙攣(T.F.)が1~2秒間続き、ついで強直性伸展痙攣(T.E.)が12~15秒間、間代性痙攣(C.L.)が7~10秒間の順に現れ、その後平均80秒前後の昏睡(C.O.)を経て起き上がるのが普通である。このうちT.E.の消失を

指標として、被検薬を経口投与し100分後の影響を観察した。

#### (2) 薬物痙攣に及ぼす影響

##### i) pentetrazol 痙攣に対する作用

体重18~20gのICR系雄性マウスを1群10匹として用いた。被検薬投与100分後にpentetrazol 100 mg/kg を腹腔内投与し、T.E.の消失および痙攣発現から死に至るまでの時間を指標として検索した。

##### ii) strychnine 痙攣に対する作用

pentetrazol 同様、被検薬投与100分後にstrychnine 1 mg/kg を腹腔内投与し、その後痙攣発現から死に至るまでの時間を指標として検索した。

## IV. 実験成績

### 1. Naive behavior に及ぼす影響

#### (1) サルの naive behavior に及ぼす影響

##### i) 5%アラビアゴム投与の場合

No. 1のサルは運動量が多くstanding, walking, playing等のdynamic behaviorが観察され、さらにurinationおよびevacuationが見られ常に活発であった。No. 2のサルは運動量が少なくsitting postureをとることが多かつたが外部刺激即ち、音や実験者の動きには敏感に反応しopen mouth barking, attacking等のaggressive behaviorが観察された。No. 3のサルはNo. 1同様運動量が多かつた。No. 4のサルは比較的運動量が多く、サルの顔は常に実験者に向けられ外部刺激に対し敏感に反応した。即ち、実験者の接近によりmenacing behaviorが観察された。また各々のサルは240分を通して、実験者が棒で軀幹に触れようとする敏感に回避逃避行動およびvocalization等を示した。

##### ii) malotilate の場合

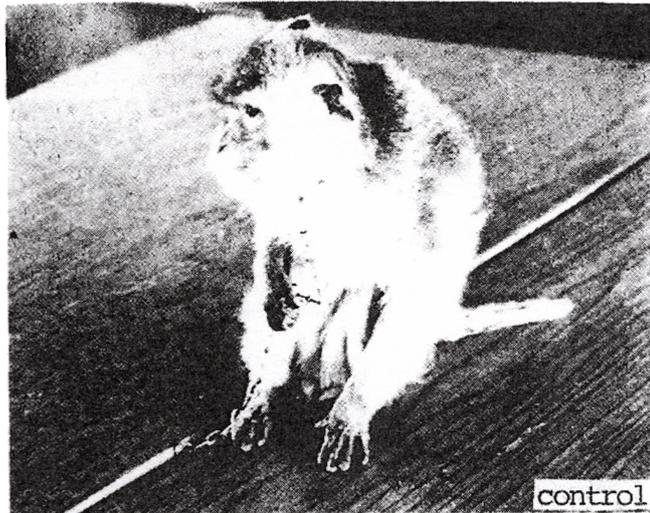
500 mg/kg p.o. 以下の諸量ではNo. 1, 4のサルでは対照とほとんど差異は認められなかつた。Fig. 2に示す如く1,000 mg/kg p.o. では投与後60~120分にかけて若干鎮静傾向が見られたが、外部刺激に対して敏感に反応した。即ち、音や実験者の接触に対してopen mouth barking, attacking等が観察された。180分では投与前とほとんど差はなかつた(Fig. 2)。

##### iii) GSH の場合

1,000 mg/kg p.o. 以下の諸量では240分を通して、ほとんど変化が見られなかつた。

#### (2) ラットの naive behavior に及ぼす影響

Fig. 2 Effect of malotilate on naive behavior in monkey (1,000 mg/kg p. o.)



malotilate の場合 500 mg/kg p. o. 以下の諸量では、サル同様 240 分間を通してほとんど変化は見られなかった。1,000 mg/kg p. o. では 60~90 分にかけて若干鎮静傾向を示したが、サル同様外部刺激に対して敏感に反応した。2,500 mg/kg p. o. では投与 60 分前後から僅かに鎮静傾向および体温下降が観察され、60~120 分にかけて、これらはさらに増強された。120 分以後徐々に回復傾向が見られ 240 分では対照群との間に behavior 上の差異はほとんど見られなかった。

GSH の場合、2,500 mg/kg p. o. 以下の諸量ではサル同様ほとんど変化は観察されなかった。

## 2. 自発運動に及ぼす影響

### (1) 予備実験

#### (A) 連続測定の場合

一度に 10 匹を animex に入れて 15 分間隔で連続 7 回測定した。3 群の平均 motility は Fig. 3 に示す如く連続測定では時間経過とともに減少し、第 5~6 回では第 1 回目に比べて 1/5 以下の値を示した (Fig. 3)。

#### (B) 入れ換え測定の場合

(A) の方法同様 10 匹を同時に animex に入れ、15 分間測定後、他群と入れ換え、30 分間隔で測定した motility は Fig. 3 に示す如くであった (Fig. 3)。

(A) の方法同様第 1 回目の motility は高値を示したが、2~5 回目までは (A) 方法より減少率が小さく standard error も小さかった。予備実験 (A), (B) 両方法ともに adaptation により motility の減少が認められたが減少率は (A) 方法の方が大きかった。このことから malotilate および GSH の自発運動に及ぼす影響の検索は (B) 方法を用い、かつ被験薬投与 45 分前

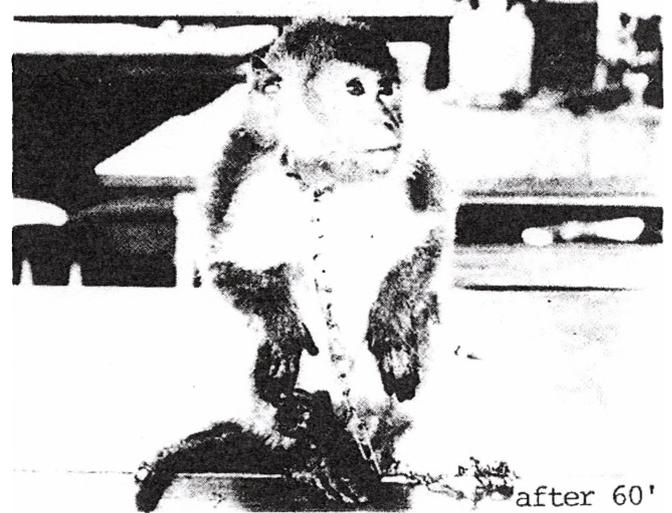
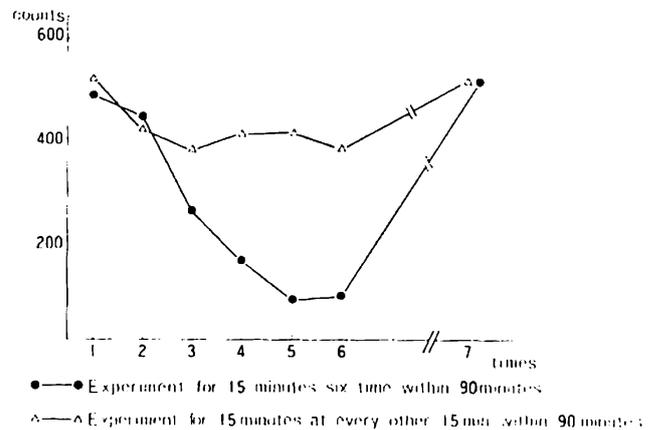


Fig. 3 Effect of 5% gum arabic (0.1 ml/10 g) on spontaneous motor activity in mice



から 15 分間 2 回測定し、第 2 回目の自発運動量を before control とした。

### (2) 本実験

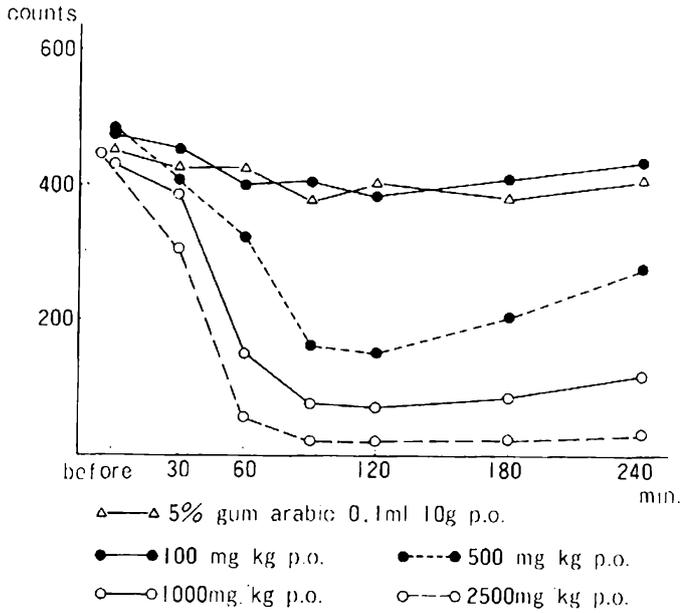
5%アラビアゴム溶液 0.1 ml/10 g p. o. の自発運動量は、240 分間に亘る測定で 460 前後を示し、before control との間に有意な差は見られなかった。

#### i) malotilate の場合

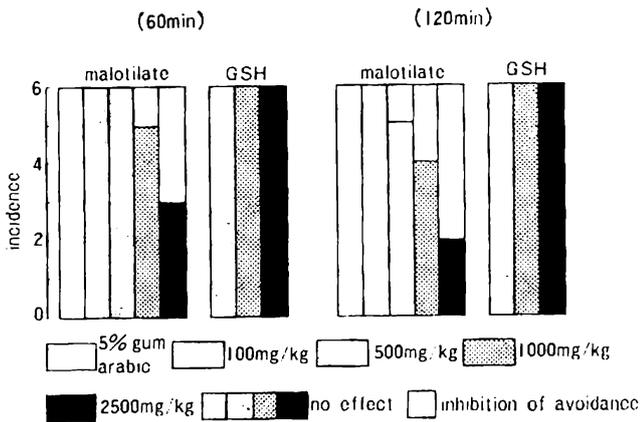
malotilate の自発運動量に及ぼす影響は Fig. 4 に示す如くであった (Fig. 4)。100 mg/kg p. o. では 240 分間に亘る測定で対照との間にほとんど差は見られなかった。

500 mg/kg p. o. では Fig. 4 に示す如く投与後 30~90 分にかけて motility の減少が見られ自発運動推移曲線は緩やかに下降したが、120 分以後増加し、240 分では対照と大差はなかった (Fig. 4)。1,000 mg/kg p. o. では 30~90 分にかけて motility は急激に減少し自発運動推移曲線も急勾配で下降したが、120

**Fig. 4** Effect of malotilate on spontaneous motor activity in mice

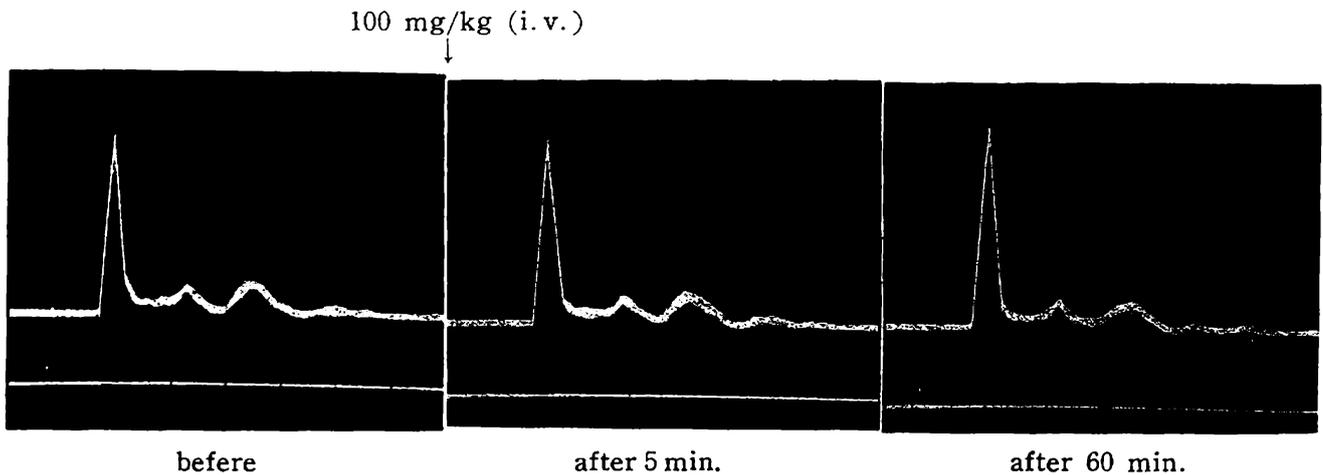


**Fig. 5** Effect of malotilate and GSH on conditioned avoidance response in rats

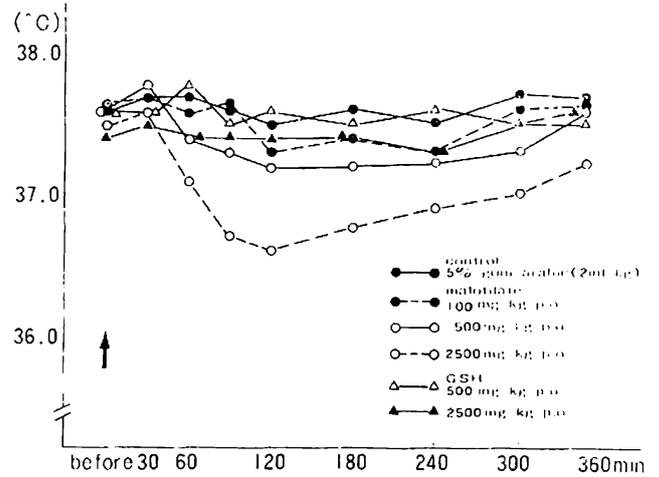


分以後徐々に回復傾向が見られ 240 分では対照と比較して約 70% 減少していた。2,500 mg/kg p.o. では 1,000 mg/kg よりさらに自発運動量の減少は著明

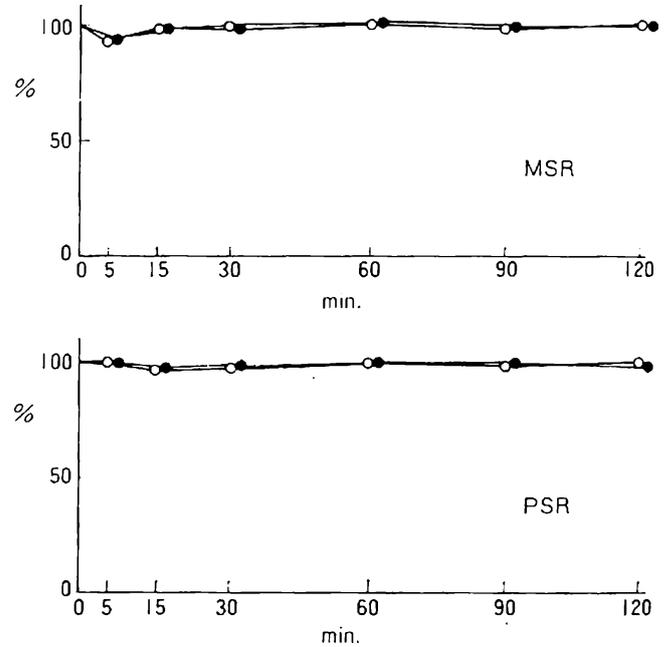
**Fig. 8** Effect of malotilate on monosynaptic and polysynaptic reflexes in cats



**Fig. 6** Effect of malotilate and GSH on rectal temperature in rats



**Fig. 7** Effects of malotilate, GSH on spike height of MSR and on areas of PSR in cats (C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> cut preparation)



Note; ○—○ malotilate 100 mg/kg (i.v.)  
●—● GSH 100 mg/kg (i.v.)

Table 2 Analgesic effect of malotilate and GSH on the Haffner method in mice

drugs	dose (mg/kg p.o.)	before	15	30	60	90	120	180	240 (min)
5% gum arabic	0.1 ml/10 g	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
malotilate	20	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	500	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	10/10	10/10
	2500	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	10/10	10/10
GSH	20	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	500	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	2500	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

となり、120分では対照と比較して約98%下回つた。120分以後自発運動推移曲線は非常に緩やかに回復傾向を示した。

#### ii) GSH の場合

GSH 2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量では自発運動量に及ぼす影響はほとんど認められなかつた。

### 3. 条件回避反応に及ぼす影響

malotilate および GSH の条件回避反応に及ぼす影響は Fig. 5 に示す如くであつた。各被検薬投与群とも5試行させ、条件回避反応が40%以上抑制されたラットの匹数を示した (Fig. 5)。

#### i) malotilate の場合

malotilate の条件回避反応に及ぼす影響は、Fig. 5 に示す如くであつた。即ち、500 mg/kg p.o. では120分で6例中1例に条件回避反応の抑制を認めた。1,000 mg/kg p.o. では60分で6例中1例、120分で6例中2例抑制した。2,500 mg/kg p.o. では60分で6例中3例、120分で6例中4例抑制した (Fig. 5)。

#### ii) GSH の場合

GSH は2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量で対照と比較して条件回避反応にほとんど影響は及ぼさなかつた (Fig. 5)。

### 4. 体温に及ぼす影響

i) 5%アラビアゴム溶液 2 ml/kg p.o. では360分まで特に変化は見られなかつた (Fig. 6)。

#### ii) malotilate の場合

100 mg/kg p.o. では360分を通じて対照と比較してほとんど変化は見られなかつた。500 mg/kg p.o. では360分まで±0.5°C 以内で著しい変化は認めら

れなかつた。2,500 mg/kg p.o. では30分前後から120分にかけて体温は下降し、120分では約36.6°Cであつたが、120分後徐々に回復傾向が見られ、300分では約37.2°Cまで回復した (Fig. 6)。

#### ii) GSH の場合

100, 500, 2,500 mg/kg p.o. の投与量では360分まで±0.5°C 以内で著しい変化は見られず、対照と比較して差は認められなかつた (Fig. 6)。

### 5. 背髄反射に及ぼす影響

#### i) malotilate の場合

malotilate の背髄反射に及ぼす影響は Fig. 7, 8 に示す如くであつた (Fig. 7, 8)。30 mg/kg i.v. では120分に亘り M.S.R, P.S.R. とともに特に変化は認められなかつた。100 mg/kg i.v. では投与直後より5分前後に亘り M.S.R. の軽度の抑制傾向が見られたが、対照時の5%未満の抑制にすぎず、特に著明な変化は認められなかつた。

#### ii) GSH の場合

100 mg/kg p.o. 以下の諸量では M.S.R. および P.S.R. に変化は認められなかつた (Fig. 7)。

### 6. 鎮痛作用の検索

#### i) malotilate の場合

100 mg/kg p.o. 以下の諸量では240分に亘る観察で Table 2. に示す如く鎮痛作用は認められなかつた。500 mg/kg p.o. では投与後90~120分で10例中1例に疼痛様反応が見られなかつた。また2,500 mg/kg p.o. でも500 mg/kg p.o. と同様であつた (Table 2.)。

#### ii) GSH の場合

2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量では240分に亘る観

**Table 3** Effect of malotilate and GSH on inclined screen test in mice

drugs	dose (mg/kg p.o.)	before	30	60	90	120	180	240 (min)
5% gum arabic	0.1 ml/10 g	40.7±1.5	41.0±1.4	40.5±1.5	41.0±2.0	40.3±1.8	41.6±1.2	41.0±1.3
malotilate	100	40.3±1.2	40.7±1.8	40.1±1.2	41.2±2.1	41.5±1.1	40.0±1.3	41.2±1.4
	500	41.0±1.4	40.8±1.7	40.2±2.0	39.0±1.5	39.2±1.8	40.2±1.5	40.2±1.0
	2500	40.0±2.0	40.0±1.3	38.9±1.5	38.4±2.1	38.5±1.7	40.0±2.2	40.0±1.3
GSH	100	41.7±1.9	41.0±1.5	40.0±1.3	40.2±2.0	40.5±1.7	41.0±1.8	40.0±1.0
	500	40.4±1.7	40.2±2.0	40.4±1.7	41.4±1.3	40.5±1.2	41.3±1.2	41.2±1.7
	2500	40.8±2.0	41.4±1.3	41.0±1.4	41.0±1.2	41.2±1.2	40.0±1.2	41.2±1.4

**Table 4** The antiemetic effect of malotilate and GSH in dogs (before 90 min. apomorphine HCl 1.0 mg/kg s.c. was given)

drug	dose (mg/kg p.o.)	findings and number of animals
malotilate	100	+ (3)
	500	+ (3)
	2500	+ (3)
GSH	100	+ (3)
	500	+ (3)
	2500	+ (3)

察で Table 2. に示す如く鎮痛作用は見られなかつた (Table 2.).

7. 筋弛緩作用の検索

Table 3. に示す如く、筋弛緩作用を 120 分後において比較してみると、malotilate の 100, 500 mg/kg p.o. では著しい変化は見られなかつた。2,500 mg/kg p.o. では最小角度が  $38.5 \pm 1.7^\circ$  で対照の  $40.3 \pm 1.8^\circ$  に比較して僅かに筋弛緩作用が見られたが有意ではなかつた。GSH の筋弛緩作用は観察されなかつた (Table 3.).

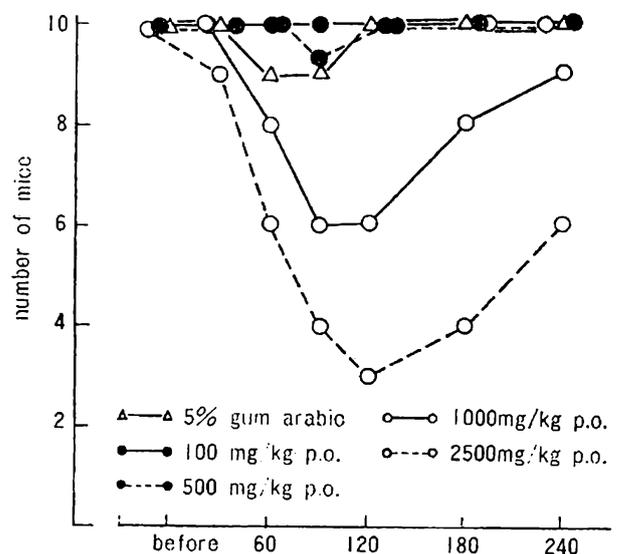
8. 協調運動に及ぼす影響 (rotarod test)

i) malotilate の場合

Fig. 9 に示す如く、100, 500 mg/kg p.o. で 5% アラビアゴム溶液 0.1 ml/10 g と比較してほとんど差は見られなかつた。1,000 mg/kg p.o. まで増量しても骨格筋の協調作用の抑制例が半数を越すことはなかつた (Fig. 9).

2,500 mg/kg p.o. では投与後 30~120 分にかけて協調作用の抑制が見られ、120 分では 10 例中 7 例に

**Fig. 9** Effect of malotilate on rotarod performance in mice



観察された (Fig. 9).

ii) GSH の場合

2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量では、5%アラビアゴム投与群と比較して差は認められなかつた (Fig. 9).

9. 抗嘔吐作用に及ぼす影響

抗嘔吐作用に及ぼす影響は Table 4 に示す如く、malotilate および GSH の 2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量では、嘔吐回数および回復までの時間は対照と比較して差異は認められなかつた (Table 4.).

10. Righting reflex に及ぼす影響

(1) マウスによる righting reflex の検索

マウスの righting reflex に及ぼす影響は Table 5 に示す如くであつた (Table 5).

i) malotilate の場合

100 mg/kg p.o. ではほとんど変化は見られなかつた。500 mg/kg p.o. では投与後 60~120 分にかけて

**Table 5** Effect of malotilate and GSH on righting reflex in mice

drugs	dose (mg/kg p.o.)	before	15	30	60	90	120	180	240 (min)
5% gum arabic	0.1 ml/10 g	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
malotilate	20	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	500	10/10	10/10	10/10	9/10	8/10	9/10	10/10	10/10
	2500	10/10	10/10	9/10	6/10	4/10	4/10	6/10	8/10
GSH	20	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	500	10/10	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	2500	10/10	10/10	9/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10

**Table 6** Effect of malotilate and GSH on righting reflex in rats

drugs	dose (mg/kg p.o.)	before	15	30	60	90	120	180	240 (min)
5% gum arabic	0.1 ml/10 g	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
malotilate	100	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	500	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	2500	6/6	6/6	6/6	5/6	3/6	3/6	5/6	5/6
GSH	100	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	500	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	2500	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6

**Table 7** Effect of malotilate and GSH on thiopental-induced sleeping time in mice

drug	malotilate	drug	GSH
dose (mg/kg p. o.)	incidence of potentiation	dose (mg/kg p. o.)	incidence of potentiation
5 % gum arabic 0.1 ml/10 g	0/10	5 % gum arabic 0.1 ml/10 g	0/10
100	0/10	100	0/10
500	1/10	500	0/10
2500	6/10	2500	0/10

righting reflex の消失が見られ、消失率は 20% であった。

2,500 mg/kg p. o. まで増量すると 30~120 分にかけて righting reflex の消失例は増加し、90~120 分では消失率 60% であった。120 分以後徐々に回復傾向が観察された (Table 5.)。

ii) GSH の場合

2,500 mg/kg p. o. では投与後 30, 60 分で right-

ing reflex の消失傾向が見られたが 90 分で対照との間に差異は認められなかった。

(2) ラットによる righting reflex の検索

ラットによる righting reflex に及ぼす影響は Table 6. に示す如くであった (Table 6.)。

i) malotilate の場合

500 mg/kg p. o. 以下の諸量では righting reflex の消失は認められなかった。

**Table 8** Effect of malotilate and GSH on maximal electroshock convulsion in mice

drugs	dose (mg/kg p.o.)	no. of animals	incidence of loss of T. E.
5% gum arabic	0.1 ml/10 g	10	0/10
malotilate	100	10	0/10
	500	10	0/10
	2500	10	2/10
GSH	100	10	0/10
	500	10	0/10
	2500	10	0/10

**Table 9** Effect of malotilate and GSH on pentetrazol (100 mg/kg i.p.) convulsion in mice

drugs	dose (mg/kg p.o.)	no. of animals	failure of T. E.	lethal rate (%)
5% gum arabic	0.1 ml/10 g	10	0	100
malotilate	100	10	0	100
	500	10	0	100
	2500	10	0	100
GSH	100	10	0	100
	500	10	0	100
	2500	10	0	100

2,500 mg/kg p.o. では投与後 60~120 分にかけて righting reflex の消失が見られ 120 分では 50% 消失した (Table 6.).

ii) GSH の場合

2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量では対照群との間に差異は認められなかつた。

11. 睡眠増強作用の検索

i) malotilate の場合

100 mg/kg p.o. では著しい変化は認められなかつた。500 mg/kg p.o. では 10 例中 1 例が延長傾向を示した。2,500 mg/kg p.o. では 10 例中 6 例に延長が見られた (Table 7.).

ii) GSH の場合

2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量では対照と比較してほとんど変化は認められなかつた (Table 7.).

12. 抗痙攣作用の検索

**Table 10** Effect of malotilate and GSH on strychnine (1.0 mg/kg i.p.) convulsion in mice

drugs	dose (mg/kg p.o.)	no. of animals	failure T. E.	lethal rate (%)
5% gum arabic	0.1 ml/10 g	10	0	100
malotilate	100	10	0	100
	500	10	0	100
	2500	10	1	100
GSH	100	10	0	100
	500	10	0	100
	2500	10	0	100

(1) 電撃痙攣に及ぼす影響

malotilate 100, 500 mg/kg p.o. および GSH 100, 500, 2,500 mg/kg p.o. とともに影響を及ぼさなかつたが、malotilate の 2,500 mg/kg p.o. では 10 例中 2 例に T. E. の消失が見られた (Table 8.).

(2) 薬物痙攣に及ぼす影響

i) pentetrazole 痙攣に対する作用

Table 9. に示す如く malotilate および GSH の 2,500 mg/kg p.o. 以下の諸量では、T. E. の消失および死亡率に影響を及ぼさなかつた (Table 9.).

ii) strychnine 痙攣に対する作用

Table 10. に示す如く malotilate の 2,500 mg/kg p.o. では 10 例中 1 例の T. E. 消失が認められたが死亡率は 100% であつた。

malotilate の 100, 500 mg/kg p.o. および GSH 100, 500, 2,500 mg/kg p.o. では T. E. および死亡率には影響を及ぼさなかつた (Table 10.).

V. 総括並びに考察

malotilate (diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidene-malonate) および glutathione (GSH) の中枢神経系に及ぼす作用を比較検索した実験結果を総括し考察する。

(1) 薬物投与前の naive behavior が dynamic であり menacing posture を伴い aggressive behavior を示しているサルにおいて malotilate 500 mg/kg 以下の諸量では naive behavior に影響を及ぼさず 1,000 mg/kg では軽度の静穏状態を惹起させる。

GSH の 1,000 mg/kg 以下の諸量では naive behavior に影響は認められない。一方ラットに対しては

サル同様 malotilate および GSH の 500 mg/kg 以下の諸量では影響は認められず, 1,000 mg/kg では malotilate に軽度の鎮静傾向が観察される。また, この事は急性毒性試験でマウスやラット等において運動抑制を認めており<sup>29)</sup>本実験のサルおよびラットの観察結果とはほぼ一致している。

(2) 自発運動に関しては, adaptation による motility の減少が認められたため, 入れ換え方法により自発運動量を測定した。malotilate 100 mg/kg および GSH の 2,500 mg/kg 以下の諸量では対照との間に差は認められず, malotilate 500 mg/kg では motility の減少は僅かであり malotilate の投与量の増加とともに自発運動の抑制傾向が増大するものと推測される。

(3) 条件回避反応に及ぼす malotilate の影響は 120 分では対照と比較して 500 mg/kg で 6 例中 1 例, 1,000 mg/kg で 2 例, 2,500 mg/kg で 4 例に抑制が認められる。GSH は条件回避反応に影響を及ぼさないものと思われる。

(4) 体温に及ぼす影響は malotilate 100 mg/kg および GSH 2,500 mg/kg 以下の諸量では対照と比較して差異は認められない。

malotilate の 500 mg/kg では体温の下降傾向はあるが生理的変動範囲内であり, 2,500 mg/kg では投与 120 分後を中心に約 1°C の体温下降が認められる。

(5) 背髄反射に関しては malotilate および GSH の 30mg/kg i.v. 以下の諸量では M.S.R. および P.S.R. 共に特に変化は認められない。malotilate 100 mg/kg i.v. では投与後約 5 分間に亘り M.S.R. の軽度の抑制傾向が見られたが, 一過性であり懸濁状態での物理的影響による変化と思われる。従つて malotilate および GSH は背髄シナプス伝達機能に対し, ほとんど影響を及ぼさないものと推測される。

(6) 鎮痛作用に関しては malotilate 100 mg/kg 以下および GSH 2,500 mg/kg 以下の諸量で影響は認められず, malotilate 500 および 2,500 mg/kg の投与量で各々 10 例中 1 例に鎮痛作用が見られたにすぎない。この事から, malotilate および GSH には鎮痛作用はないものと思われる。

(7) 筋弛緩作用に関しては malotilate 500 mg/kg 以下および GSH 2,500mg/kg 以下の諸量では, ほとんど影響は見られず, malotilate の 2,500 mg/kg では斜板の最小角度が  $38.5 \pm 1.7^\circ$  であり対照と比較

して僅かに影響が見られる。この傾向は rotarod test でも同様であり, 筋弛緩作用は先に述べた naive behavior 試験で観察された鎮静状態と関連性があるものと思われる。

(8) 中枢神経作用に及ぼす影響を判定する上で抗 apomorphine 作用を検索する事が重視されていることは Courorsier<sup>30)</sup>や Janssen<sup>31)</sup>らの指摘している通りである。そこで本実験においても抗 apomorphine 作用を検討した結果 malotilate および GSH の 2,500 mg/kg 以下の諸量では抗嘔吐作用が認められない。

(9) righting reflex に及ぼす影響は malotilate 500 mg/kg および GSH 2,500 mg/kg 以下の諸量では認められない。malotilate 2,500 mg/kg では, ラットおよびマウスにおいて 60~120 分にかけて righting reflex が抑制される。righting reflex の抑制は上述の筋弛緩作用が多分に関与していると考えられる。

(10) 睡眠作用に関しては malotilate 500 mg/kg および GSH 2,500 mg/kg 以下の諸量で影響は認められないが, malotilate 2,500 mg/kg では 10 例中 6 例に睡眠時間の延長が認められることから高用量では睡眠増強作用を有するものと思われる。

(11) 抗痙攣作用の検索は主として T.E. に対する影響を指標とした。最大電撃痙攣においては malotilate 500 mg/kg および GSH の 2,500 mg/kg 以下の諸量で T.E. の消失は認められないが malotilate 2,500 mg/kg では 10 例中 2 例に T.E. の消失を認めた。

大脳皮質を興奮させる pentetrazol の大量投与で痙攣を惹起させたが, その痙攣に対して malotilate および GSH の 2,500 mg/kg 以下の諸量では抗痙攣作用は認められない。さらに, 背髄興奮を惹起する strychnine 痙攣に対しても malotilate および GSH 共に抗痙攣作用は有しないものと思われる。以上の抗痙攣実験から, malotilate および GSH はほとんど抗痙攣作用を有しないものと推測される。

## VI. 結 論

上記の実験結果を次の如く結論する。

1. malotilate 500 mg/kg 以下の諸量では, サルの behavior にほとんど影響を及ぼさない。また 1,000 mg/kg では軽度の鎮静状態を示す。ラットの場合もサルと同様である。

GSH では, サルおよびラット共に behavior に影

響を及ぼさない。

2. malotilate は 500 mg/kg 以上の諸量では自発運動を抑制する。また GSH 2,500 mg/kg 以下の諸量で、自発運動に影響を及ぼさない。

3. malotilate の条件回避反応に及ぼす影響については 2,500 mg/kg で軽度に抑制する。

GSH では影響を及ぼさない。

4. malotilate は 500 mg/kg 以下の諸量ではほとんど体温に影響を及ぼさないが 2,500 mg/kg では、軽度の体温下降が認められる。

GSH は体温に影響を及ぼさない。

5. malotilate および GSH は 100 mg/kg i.v. 以下の諸量で背髄反射にほとんど影響しない。

6. malotilate および GSH に鎮痛作用は無い。

7. malotilate 500 mg/kg および GSH 2,500 mg/kg 以下の諸量では筋弛緩作用は無く、malotilate 2,500 mg/kg では、若干筋弛緩傾向を示す。

8. malotilate 500 mg/kg 以下および GSH 2,500 mg/kg 以下の諸量では、骨格筋協調運動に影響を及ぼさない。malotilate 1,000 mg/kg 以上で協調運動の抑制を示す。

9. malotilate および GSH は apomorphine による嘔吐を抑制しない。

10. malotilate は 2,500 mg/kg で righting reflex を抑制する。malotilate の低用量および GSH は righting reflex に影響しない。

11. malotilate 500 mg/kg 以下および GSH は thiopental sodium の睡眠増強作用を示さず、Malotilate 2,500 mg/kg では若干睡眠増強作用を示す。

12. malotilate および GSH はほとんど抗痙攣作用（電撃、pentetrazol および strychnine に対する）を有しない。

以上要するに、malotilate は 2,500 mg/kg の高用量で軽度の中枢抑制傾向が認められたにすぎない。この用量は推定臨床用量（600 mg/man/day）のおよそ 250 倍以上であり、臨床上、malotilate に中枢作用の懸念はほとんど無いと考えられる。

#### 引用文献

- 1) 渋谷 健：マウスにおける四塩化炭素の亜急性試験の検索，化学物質および重金属の安全性評価手法に関する総合研究（科学技術庁研究調整局）報告集 1：88～93，1976
- 2) 渋谷 健：CCl<sub>4</sub> のラット及びマウスにおける慢

性毒性試験，化学物質および重金属の安全性評価手法に関する総合研究（科学技術庁研究調整局）報告集 1：99～115，1976

- 3) 小林立德：肝臓作用物質に関する薬理学的研究，第1編 肝障害物質 Ethionine と CCl<sub>4</sub> の毒性ならびに肝臓におよぼす影響の比較観察，日薬理誌 62(6)：333～360，1966
- 4) 和田和代史：コリン欠乏食飼育ラット肝硬変における門脈圧亢進の原因解析，肝臓 14(9)：481～493，1973
- 5) Adaler, EM et al: Vapor toxicity of carbon tetrachloride determined by experiments on laboratory animals. A. M. A. Arch. Ind. Hyg. Occup. Med. 6: 50～60, 1952
- 6) 小林立德：肝臓作用物質に関する薬理学的研究 第2編，Ethionine 障害肝におよぼすいわゆる肝臓用薬の影響，日薬理誌 62(6)：361～388，1966
- 7) 坂本浩二，松島美子，三上勝夫：Glutathione の Ethionine 障害肝に及ぼす影響について，基礎と臨床 5(3)：507～535，1971
- 8) 坂本浩二，笠原多嘉子，三上勝夫：Laennec の CCl<sub>4</sub> 障害肝に及ぼす影響とくに抗脂肪肝作用について，東医大誌 31(5)：829～837，1973
- 9) 稗田憲次郎：ラエンネックによる肝硬変症の治療成績（第1報），臨床と研究 47(1)：258～261，1970
- 10) 杉本達芳，今泉洋子，笠井 勉：Diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidenemalonate (NKK-105) のラット四塩化炭素脂肪肝治療作用，第51回日本薬理学会総会プログラム要旨集：168，1978
- 11) 加藤 稔 他：Diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidenemalonate (NKK-105) の薬物性肝障害抑制作用，第51回日本薬理学会総会プログラム要旨集：167，1978
- 12) 中山貞夫：肝の薬物代謝酵素ならびに微細構造におよぼす Diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidene-malonate (NKK-105) の影響，日薬理誌 75：571～584，1979
- 13) 松田宏三 他：Diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidene-malonate (NKK-105) の薬理作用に関する基礎的研究，東医大誌 37(3)：367～377，1979
- 14) 渋谷 健：Naive behavior の肉眼観察による行動，日医師会誌 58：1217～1226，1976
- 15) 渋谷 健，陳博忠：行動薬理学領域における新

- しい計測器具. ファルマシア 11(6): 432~435, 1975
- 16) 高野清一: マウスの自発行動に及ぼす諸種薬物の効果について. 北関東医学 9: 919~933, 1959
- 17) 遠藤任彦: 動物行動の解析とその計量化による実験的研究. 日薬理誌 70: 175~192, 1974
- 18) 松田宏三: 個体ラットと集団ラットによる行動薬理学的研究. 東医大誌 30(6): 717~733, 1972
- 19) 反町正之: 諸種 Rauwolfia Alkaloid 誘導体の中枢作用に関する薬理学研究. 東医大誌 34(4): 677~698, 1976
- 20) 板橋博史: 広義中枢作用薬の Drug Evaluation の基礎的検討. 東医大誌 27: 475~498, 1969
- 21) Shibuya, T and Anderson, EG: The influence of chronic cord transection on the effects of 5-hydroxytryptophan, *l*-tryptophan and pargyline on spinal neuronal activity. J. Pharm. Exp. Ther. : 185~190, 1968
- 22) 松宮輝彦: 諸種中枢作用薬の脊髄反射活動電位に及ぼす影響について. 日薬理誌 68(2): 218~240 1972
- 23) 村山 智, 小林龍男: 脊髄反射活動電位に及ぼす Chlorpromazine の作用. 千葉医会誌 40: 252~258, 1964
- 24) Haffner, F: Experimentelle Prufung schmerzstellender Mittel. Deutsche Med. Wech 55: 731~733, 1929
- 25) Dunham, NW: A note on a simple apparatus for detecting urological deficient in rats and mice. J. Am. Pharm. Associ. Sci. Ed. 46: 208~209, 1957
- 26) 佐々木康雄: 抗うつ薬の毒性並びに薬理作用に関する薬理学的検討. 東医大誌 28(3): 437~469, 1970
- 27) Irwin, S: Animal and clinical pharmacologic techniques in drug evaluation. Year Book Medical Publishers. Inc. Chicago 1964 pp 47
- 28) Woodburg, LA and Daveport, VD: Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors altering seizure threshold and pattern (1). Arch. int. pharmacodyn. Ther. 92: 97~107, 1952
- 29) 伊藤隆太 他: 肝臓疾患治療薬 Diisopropyl 1, 3-dithiol-2-ylidenemalonate の急性毒性. 東邦医学会雑誌 25(4): 702~710, 1978
- 30) Courovoiser, S: Pharmacodynamic basis for use of Chlorpromazine in psychiatry. J. Clin. Exp. Psychopath. 17: 25~37, 1952
- 31) Janssen, PA: Pirinitramide (R 3365) a potent analgesic with unusual chemical structure. J. Pharm. Pharmacol. 13: 513~530, 1961