

モルモット脳ミクロソームの K^+ -依存性 phosphatase 活性におよぼす向精神薬の影響

黒河内 寛, 蟹池 健一

(奈良県立医科大学薬理学教室)

(昭和46年6月24日受付)

K^+ -dependent phosphatase は Na^+ , K^+ -ATPase の酵素反応の後半段階を反映するものとして知られている^{1,4)}。両酵素活性は低濃度の強心配糖体により阻害されることはよく知られている。向精神薬については Judah⁵⁾ ら (1964), Squire⁶⁾ ら (1965) により, Na^+ , K^+ -ATPase 活性が chlorpromazine により抑えられることが報告されている。また Davis⁷⁾ ら (1966) は, phenothiazine 誘導体, および Imipramine が Na^+ , K^+ -ATPase を阻害し, 阻害度が薬効と関連づけ得ることを認めている。また Akera⁸⁻¹⁰⁾ ら (1968, 1969, 1970) は chlorpromazine free radical による Na^+ , K^+ -ATPase の阻害について報告している。 K^+ -dependent phosphatase 活性についてはわれわれ¹¹⁻¹³⁾が (1966, 1968, 1968) chlorpromazine, chlorprothixene, Imipramine により, Na^+ , K^+ -ATPase 活性と共に同様濃度で阻害されること chlorpromazine S-oxide, meprobamate では阻害されないことを報告している。また Akera⁹⁾ (1969) も K^+ -dependent phosphatase が, chlorpromazine free radical により Na^+ , K^+ -ATPase と同様に阻害されることを報告している。

なお今回の実験では微量の被験薬で実施し易いように実験条件を変更した。すなわち K^+ -dependent phosphatase 活性は K^+ 濃度 10 mM が至適であるが, chlorpromazine, imipramine 等の阻害は K^+ と拮抗を示すので^{12,13)}, K^+ 濃度を 2 mM とし, いくつかの向精神薬について検討した成績を報告する。

方 法

酵素標本: モルモット断頭後すみやかに全脳を取り出し, 組織を9倍量の 0.25M 蔗糖液中でホモゲナイズした。ホモジエートは 8000×g, 15^m 間遠心後, 上清を 105000×g, 30^m 間遠心し脳ミクロソーム分画を得た。ミクロソームは 2MNaI 処理¹⁴⁾をし, 最後に得られた pellet は水冷蒸溜水に懸濁し, -20°C で保存した。

K^+ -dependent phosphatase 活性の測定: MgCl₂, 50mM Tris-Buffer (pH7.2), 2mM KCl, 5mM p-nitrophenylphosphate, 酵素標本 (100~200 μ g protein/ml) および被験薬物を含む全量 2ml の mixture を試験管中で 37°C, 20^m 間インキュベートし, その後試験管を氷冷しながら 4ml の 0.5MNaOH を加え反応を停止した。試験管を遠心後上清中に含まれる p-nitrophenol の量を分光光度計により比色 (410m μ) 定量した。 K^+ -dependent phosphatase 活性は, mixture に K^+ の含まれる場合と含まれない場合の p-nitrophenylphosphate の分解の差をもって表わした。

成 績

Chlorpromazine のモルモット脳ミクロソームの K^+ -dependent phosphatase 活性におよぼす影響を Fig. 1 に示す。 K^+ -dependent phosphatase 活性は chlorpromazine により阻害され, chlorpromazine-HCl 0.015 mg/ml (4.2×10^{-4} M) ~ 0.088mg/ml (2.5×10^{-4} M) の濃度では, 濃度を対数で表わすとき, 阻害は直線関係を示した。直線は最小二乗法により求められた。

その他の向精神薬についても同様に阻害直線が得られたので一括して Fig. 2 に示す。

これらの図より求められた各薬物の50%阻害濃度を Table 1 に示す。

また用いた濃度で阻害がみられなかった薬物については Table 2 に示す。

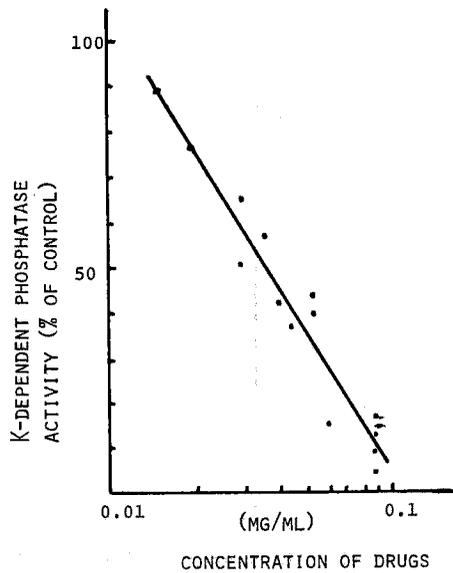


Fig. 1. Effect of chlorpromazine-HCl on the K-dependent phosphatase activity in the brain microsomes

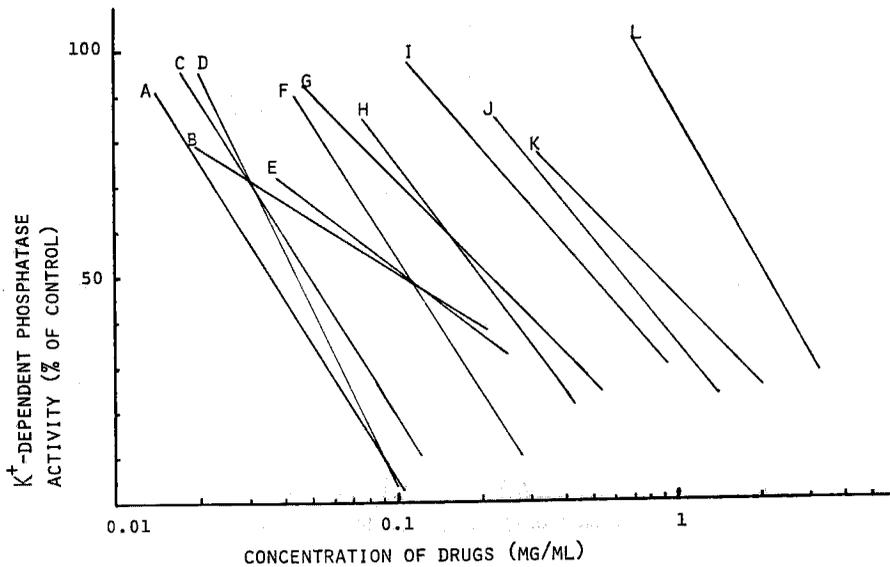


Fig. 2. Effect of psychotropic drugs on the K^+ -dependent phosphatase activity in the brain microsomes.

A: Chlorpromazine-HCl, B: Imipramine-HCl, C: Amitriptyline-HCl,
 D: Desipramine-HCl, E: Levopromazine-HCl, F: Chlordiazpoxide,
 G: Hydroxyzine-2HCl, H: Diazepam, I: Nialamide,
 J: Phenerzine sulfate, K: Opromazine-HCl, L: Meprobamate.

Table 1. The 50% inhibitory concentrations of psphotropic drugs on the K⁺-dependent phosphatase activity in the brain microsomes.

Drugs	concentration ($\times 10^{-4}$ M)
Chlorpromazine	1.0
Levopromazine	3.3
Opromazine	23.
Imipramine	3.2
Desipramine	1.5
Amitriptyline	1.5
Meprobamate	92.
Hydroxyzine	4.9
Diazepam	7.8
Chlordiazepoxide	3.7
Phenerzine	27.
Nialamide	16.

Table 2. Non-inhibitory effects of drugs on the K⁺-dependent phosphatase in the brain microsomes

Drugs	concentration tested (M)
Reserpine	1.6×10^{-4}
Morphine	5×10^{-4}
Phenobarbital	5×10^{-4}
Pilocalpine	5×10^{-4}
Histamine	5×10^{-4}
Dibenzyliline	5×10^{-4}
Procaine	5×10^{-4}

考 察

Table 1 に示すように, phenothiazine 系薬物では, levopromazine の50%阻害濃度は chlorpromazine の3.3倍であり, chlorpromazine の不活性代謝物である opromazine (chlorpromazine S-oxide) の阻害は著しく弱く, 薬効と阻害強度との間に相関が得られた.

Dibenzazepine 系薬物では desipramine (desmethyylimipramine) は chlorpromazine に近い阻害度を示し, imipramine よりも阻害が強い. desipramine は imipramine の活性型代謝物であり速効性であることが知られているので薬効と阻害とが平行すると見なし得よう. これらの薬物は臨床的には antidepressant として応用されているが, 化学構造上および薬理学的性質では phenothiazine 系薬物との類似性も見られるので, phenothiazine 系薬物と近似した強力な酵素阻害作用をもっているも不自然でないと思われる.

Minor tranquilizer である meprobamate は著しく弱く, 50%阻害濃度は chlorpromazine の92倍であった.

Minor tranquilizer に分類されている hydroxyzine は, その中枢機序において meprobamate とは異った面を有し, むしろ chlorpromazine に近いように思わせると言われている¹⁵⁾. また Benzodiazepine 誘導体についても, それらの行動に対する作用の強さは, chlorpromazine と meprobamate の中間に位すると言われている¹⁶⁾. しかもこれらの薬物の酵素阻害度は chlorpromazine と meprobamate の中間であることが認められ薬効と阻害の間に関連が認められるようである.

しかし Benzodiazepine 系内では diazepam が chlordiazepoxide より馴化作用および抗痙攣作用が大であることが知られているが、酵素阻害は逆であった。

MAO 阻害剤であり抗うつ薬に分類される Hydrazine 系薬物である phenerzine, nialamide は meprobamate とその他の minor tranquilizer の中間の阻害度であった。

一方 major tranquilizer である reserpine は、その機序は monoamine の存在形態と結びつくものであることが知られているが、用いられた最大濃度 ($1.6 \times 10^{-4} M$) では阻害は認められなかった。

Morphine, phenobarbital のごとき中枢抑制薬, pilocarpine, histamine, dibenzylamine, procaine についても, phenothiazine, dibenzazepine, hydroxyzine, benzodiazepine で阻害がみられる濃度 ($5 \times 10^{-4} M$) で阻害が認められなかった。

以上の結果から phenothiazine および dibenzazepine 系薬物では薬効と酵素阻害の間に関係が認められるようであるが、両系薬物の間に一致する薬理作用は neuroleptic なるものである。従って neuroleptic potency と酵素阻害との間に相関が存在すると考えるならば、minor tranquilizer での、meprobamate とその他の薬物との関係も理解できるものと思われる。一方、 $1.6 \times 10^{-4} M$ ではあるが major tranquilizer である reserpine により阻害が認められなかったこと、低濃度の ouabain により K^+ -dependent phosphatase 活性が阻害され、phenothiazine 系薬物等向精神薬に特異的な阻害作用ではないこと、phenothiazine 系薬物も K^+ -dependent phosphatase だけでなく、膜構造に結びつく酵素一般に non-specific に種々の酵素を阻害することが知られていること¹⁷⁾より向精神薬とこの酵素活性阻害との間に普遍的な関連を求めることは困難である。しかしその範囲内においての阻害の認められた向精神薬も化学構造の類似する物質の検定的手段としては役立つかも知れない。

要 旨

1. モルモット脳ミクロソームの K^+ -dependent phosphatase 活性におよぼす向精神薬の影響を検討した。 K^+ ion 濃度は 2mM とした。
2. 阻害は用量の対数に比例を示し、chlorpromazine の50%阻害濃度は $10^{-4} M$, levopromazine $3.3 \times 10^{-4} M$, opromazine $2.3 \times 10^{-3} M$, imipramine $3.2 \times 10^{-4} M$, desipramine $1.5 \times 10^{-4} M$, amitriptyline $1.5 \times 10^{-4} M$, meprobamate $9.2 \times 10^{-3} M$, hydroxyzine $4.9 \times 10^{-4} M$, diazepam $7.8 \times 10^{-4} M$, chlordiazepoxide $3.7 \times 10^{-4} M$, phenerzine $2.7 \times 10^{-3} M$, nialamide $1.6 \times 10^{-3} M$ であった。
3. Reserpine は $1.6 \times 10^{-4} M$ で、morphine, phenobarbital, pilocarpine, Histamine, dibenzylamine, procaine は $5 \times 10^{-4} M$ で阻害が認められなかった。

文 献

- 1) Judah, J. D., Ahmed, K. and Mclesn, A. E. M.: Biochim. Biophys. Acta 65. 472 (1962).
- 2) Nagai, K., Izumi, F. and Yoshida, H.: J. Biochem. 59. 295 (1966).
- 3) Bader, H. and Sen, A. K.: Biochim. Biophys. Acta 118, 116 (1966).
- 4) 蟹池健一: 日薬理誌 63, 179 (1966).
- 5) Judah, J. D. and Ahmed, K.: J. Cell. Comp. Physiol. 64, 355 (1964).
- 6) Squire, R. F.: Biochem. Biophys. Res. Comm. 19, 27 (1965).
- 7) Dawis, P. W. and Brody, T. M.: Biochem. Pharmacol. 15, 703 (1966).
- 8) Aker, T. and Brody, M.: Mol. Pharmacol. 4, 600 (1968).
- 9) Aker, T. and Brody, M.: Mol. Pharmacol. 5, 605 (1969).
- 10) Akera, T. and Brody, M.: Mol. Pharmacol. 6, 557 (1970).
- 11) 黒河内寛, 蟹池健一, 岡田仙三: 日薬理誌 62, 59§ (1966).
- 12) 黒河内寛, 蟹池健一, 岡田仙三: 日薬理誌 64, 24§ (1968).
- 13) 岡田仙三: 奈良医学会誌 19, 139 (1968).

- 14) Nakao, T., Tashima, Y., Nagano, K. and Nakao, M.: Biochem. Biophys. Res. Comm. 13, 444 (1963).
- 15) 伊藤 宏: 薬理学 (4ed) (1969), P142, 英光堂.
- 16) 小林龍男, 萩原弥四郎: 熊谷 洋監修 臨床薬理学大系 3巻 (1963) P.46 中山書店.
- 17) Guth, P. S. and Spirtes, M. A.: Intern. Rev. Neurobiol. 7, 231 (1964).

ABSTRACT

KUROGOCHI, Yutaka and **KANIKE, Kenichi**. Department of pharmacology, Nara Medical College. *Effect of psychotropic drugs on the K-dependent phosphatase activity in brain microsomes of guinea pig*. Folia pharmacol. japon. 68, 42~46 (1972) Tables 2, Illus. 2.

Inhibitions of psychotropic drugs on the activity in NaI treated brain microsomes of guinea pig were estimated under conditions of 2 mM potassium ion. Concentrations of 50 % inhibition were found by 10^{-4} M chlorpromazine, 3.3×10^{-4} M levopromazine, 2.3×10^{-3} M opromazine, 3.2×10^{-4} M desipramine, 1.5×10^{-4} M amitriptyline, 9.2×10^{-3} M meprobamate, 4.9×10^{-4} M hydroxyzine, 7.8×10^{-4} M diazepam, 3.7×10^{-4} M chlordiazepoxide, 2.7×10^{-3} M phenerzine and 1.6×10^{-3} M nialamide.

These inhibitions were not observed with reserpine at 1.6×10^{-4} M and morphine, phenobarbital, pilocarpine, histamine, dibenzyline and procaine at 5×10^{-4} M.