

新冠血管拡張薬, 1-[(3, 4-dihydro-2H-(1, 3)-  
thiazino [3, 2-a] benzimidazole-2-yl) methyl]-  
4-(3, 4, 5-trimethoxycinnamoyl) piperazine  
dihydrochloride (D230) の薬理作用

新潟大学医学部薬理学教室 (主任: 今井昭一教授)

小川 陽一郎

Pharmacological Properties of 1-[(3, 4-Dihydro-2H-(1, 3)-  
Thiazino [3, 2-a] Benzimidazole-2-yl) Methyl]-4-  
(3, 4, 5-Trimethoxycinnamoyl) Piperazine  
Dihydrochloride (D 230), a New  
Coronary Vasodilating Drug

Yoichiro OGAWA

*Department of Pharmacology,  
Niigata University School of Medicine  
(Director: Prof. Shoichi IMAI)*

The cardiovascular effects of D230 were investigated in comparison with those of dipyridamole. D230 (0.3~3.0 mg/kg i.v.) produced a marked increase in coronary blood flow and a slight decrease in arterial pressure in anesthetized dogs. Concomitant with these changes decrease in total peripheral resistance without tachycardia were noted. Cardiac output and stroke volume increased with no significant changes in cardiac work and myocardial oxygen consumption. D230 potentiated the effect of adenosine. The coronary vasodilating effect of D230 was antagonised by aminophylline. These effects were almost similar to those of dipyridamole (0.1~1.0mg/kg i.v.). In isolated taenia coli, D230 ( $10^{-5}$ ~ $10^{-4}$ M) caused a partial inhibition of the spontaneous contraction as well as the  $K^+$  (30mM and 100mM)-induced contractures. Although D230 did not increase myocardial blood flow of the ischemic region, it tended to suppress the arrhythmias induced by ligation of the left anterior descending coronary

Reprint requests to: Yoichiro OGAWA,  
Department of Pharmacology, Niigata  
University School of Medicine,  
Asahimachi-dori 1, Niigata City, 951,  
JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町  
新潟大学医学部薬理学教室

小川陽一郎

artery in anesthetized dogs. D230 (10~30 mg/kg i.v.) depressed the elevation of S wave in electrocardiogram induced by methacholine in rats. These results suggest that similar to that of dipyridamole, the mechanism of the coronary vasodilation induced by D230 may be due to potentiation of action of endogenous adenosine.

Key words: coronary vasodilator, adenosine, blood flow, dipyridamole  
血管拡張薬，アデノシン，血流量，ジピリダモール

## 緒 言

虚血性心疾患の治療には亜硝酸剤やカルシウム拮抗剤のほかに，adenosine (Ads) 増強作用を有する冠血管拡張薬が用いられている<sup>1)</sup>。Dipyridamole や dilazep がこの系統の薬物であり，いずれも強力な冠血管拡張作用<sup>2)-6)</sup>を示す。これらの薬物は外因性に投与した Ads の作用を著明に増強し<sup>2)5)6)</sup>，また，aminophylline によって冠血管拡張作用が抑制される<sup>3)4)</sup>ことから，作用機序として内因性 Ads 増強作用が考えられている。Ads は ATP の分解産物であり，強力な冠血管拡張作用を有し，心筋虚血時の冠血流量増加に重要な役割を演じる<sup>7)</sup>ことが知られている。

1-[(3, 4-dihydro-2H-(1, 3)-thiazino [3, 2-a] benzimidazole-2-yl) methyl]-4-(3, 4, 5-trimethoxycinnamoyl) piperazine dihydrochloride (D230) は，Fig. 1 の構造を有する thiazinobenzimidazole 誘導体であり，循環器作用薬のスクリーニングから見出された化合物である。今回の化合物の循環器系に対する作用，摘出平滑筋に対する作用，イヌの冠動脈結紮に対する作用およびラットの狭心症モデルに対する作用を dipyridamole と比較検討したので報告する。

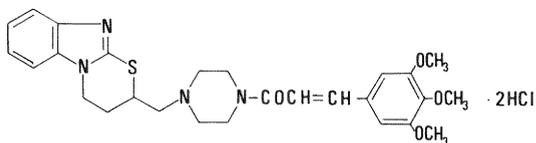


Fig. 1 Chemical structure of D230.

## 実験材料

### 1. 薬物

1-[(3, 4-dihydro-2H-(1, 3)-thiazino [3, 2-a] benzimidazole-2-yl) methyl]-4-(3, 4, 5-trimethoxycinnamoyl) piperazine dihydrochloride (D230) は生理食塩液に溶解して使用した。その他，dipyridamole (田

辺製薬)，adenosine (Sigma)，aminophylline (Sigma)，dilazep (興和)，nifedipine (鐘紡)，verapamil (エーザイ)，sodium pentobarbital (東京化成)，sodium heparin (清水製薬)，urethane (東京化成) methacholine chloride (東京化成) を使用した。

### 2. 使用動物

雌雄雑種イヌ (武田化製場)，雄性 Hartley 系モルモット (浅妻実験動物)，および雄性 SD 系ラット (静岡県実験動物農業協同組合) を使用した。

## 実験方法

### 1. 麻酔イヌの各種動物血流量

イヌ (体重 11~34 kg) を pentobarbital 30 mg/kg i.v. で麻酔後，気管カニューレを挿入し，人工呼吸を行った。実験中は麻酔維持のため，pentobarbital 3~5 mg/kg/hr を静脈内に持続注入した。右椎骨動脈，右総頸動脈，左冠動脈前下行枝，前腸管膜動脈，左腎動脈および右大腿動脈に電磁流量計のプロープを装着し，それぞれの血流量を電磁流量計 (RT-500, Narco) で測定した。また，左大腿動脈内に挿入したカニューレを圧トランスデューサ (MPU-0.5, 東洋ポールドウィン) に接続し，圧歪アンブ (1236, 三栄) で血圧を測定した。心拍数は標準四肢第 II 誘導心電図の R 波をトリガーとして瞬時心拍計 (2140, 三栄) で測定した。上記いずれの測定項目ともレクチホリー (8K, 三栄) に記録した。なお，薬物は右大腿静脈内に投与し，投与後の最大変化率を算出した。

### 2. 麻酔イヌの心拍出量，総末梢抵抗

イヌ (体重 10~14 kg) を pentobarbital 30 mg/kg i.v. で麻酔後，人工呼吸下に胸骨正中切開により開胸した。大動脈基部にプロープを装着し電磁流量計で測定した大動脈血流量を心拍出量 (CO) とした。同時に平均血圧 (MBP) および心拍数 (HR) を測定し，レクチホリーに記録した。これらの測定値から，下記の式により，総末梢抵抗 (TPR)，一回拍出量 (SV) および分時心仕事量 (CW) を算出した。

$$\text{TPR} = \text{MBP} / \text{CO}$$

$$\text{SV} = \text{CO} \times 1,000 / \text{HR}$$

$$\text{CW} = 0.0136 \times \text{MBP} \times \text{CO}$$

薬物は右大腿静脈内に投与し、投与後の最大変化率を算出した。

### 3. 麻酔イヌの心筋酸素消費量

イヌ (体重 12~17 kg) を pentobarbital 30 mg/kg i.v. 麻酔後、人工呼吸下に胸骨正中切開により開胸した。心嚢膜を切開し、Morawitz のカニューレを右心耳切開部から冠静脈洞に挿入し、冠静脈洞流出を頸静脈に導く回路を作製した。この回路に体外型プローブを接続し、電磁流量計で冠静脈洞流出量を測定した。また、冠静脈洞からの静脈血と大腿動脈からの動脈血をそれぞれ一定流量で A-V 酸素アナライザー (A-VOX) に導き、動脈酸素較差 (AVDO<sub>2</sub>) を測定した<sup>8)</sup>。同時に血圧および心拍数を測定した。測定項目は何れもレクチホリーに記録した。測定した冠静脈洞流出量を全冠血流量の70%とみなし、心筋 100 g あたりの冠血流量 (CBF) を算出した。心筋酸素消費量 (MOC) は CBF と AVDO<sub>2</sub> の積より算出した。動物には血液凝固防止のため heparin を最初 1,000 U/kg、その後 1 時間ごとに 100 U/kg 静脈内投与した。

### 4. Adenosine 増強作用

イヌ (体重 13~16 kg) を pentobarbital 30 mg/kg i.v. で麻酔後、人工呼吸下に左第 4 肋間を開胸した。心嚢膜を切開し、左冠動脈回旋枝にプローブを装着して電磁流量計で冠動脈血流量を測定した。Adenosine を静脈内あるいは左心房内に投与した時の CBF 増加作用に対する薬物の影響を検討した。また、静脈内投与した薬物の効果に対する aminophylline の影響を検討した。

### 5. モルモット摘出結腸紐標本

モルモット (体重 400~600 g) から結腸紐を摘出し、長さ約 10 mm の標本作製した。標本は 37℃ に保温し、混合ガス (95% O<sub>2</sub>; 5% CO<sub>2</sub>) を通気した 12 ml の Krebs-Henseleit 液 (NaCl 118.0, KCl 4.7, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, glucose 11.0 mM) 中に 1 g の負荷をかけ懸垂した。張力は FD トランスデューサー (T7-30-240, 東洋ポールドウィン)、動ひずみ測定器 (6M81, 日本電気三栄) を介して記録器 (056, 日立) に等尺性に記録した。

自動性収縮に対する作用をみるために、正常 Krebs-Henseleit 液中で自動性収縮を発生させた。次に、カルシウム拮抗作用をみるために KCl 30 mM あるいは 100 mM を含む高カリウム Krebs-Henseleit 液中で脱分極

を起こさせ、カリウム拘縮を発生させた。いずれの収縮も Ca free 液中で標本を安定させたのち Ca を添加することによって発生させた。薬物は標本の収縮が一定したところから累積的に適用した。

### 6. 麻酔イヌの心筋局所血流量

イヌ (体重 12~18 kg) を pentobarbital 30 mg/kg i.v. で麻酔後、人工呼吸下に左第 4 肋骨を開胸した。心嚢膜を切開し、左冠動脈前下行枝 (LAD) の第一対角枝直下に結紮用糸をかけた。その末梢側の心室筋内 (深さ 5~7 mm) に 2 種類のワイヤータイプ電極を縫合針で挿入し、心筋局所血流量の経時変化と絶対値をそれぞれ、交叉熱電対式組織血流計 (CTM-101B, エムティ技研) および水素ガスクリアランス式組織血流計 (PHG-300, エムティ技研) で測定した。交叉熱電対法では、約 100 μV の補償電圧をかけて測定し、実験終了時にゼロレベルを確認した。水素ガスクリアランス法は Auckland らの方法<sup>9)</sup> に従い、約 0.3 V の印加電圧をかけて組織水素ガス濃度を測定した。水素ガスを人工呼吸器の吸気側に 0.5 l/min の割合で吸入させ、水素ガス濃度に比例して生じる拡散電流が一定になったところで吸入を停止し、減衰曲線 (クリアランスカーブ) を記録した。この曲線を片対数グラフにプロットし、半減期 (T<sub>1/2</sub>) を求め、下記の式より血流量を算出した。

$$\text{血流量 (ml/min/100 g)} = \frac{0.693}{T_{1/2}} \times 100$$

また、左冠動脈回旋枝に電磁流量計のプローブを装着して回旋枝血流量 (LCXBF) を測定した。血圧は左大腿動脈に挿入したカニューレから圧歪アンプを介して測定し、標準四肢第 II 誘導心電図から心拍数を測定した。いずれの測定項目もレクチホリー (8K, 三栄) に記録した。冠動脈前下行枝 (LAD) の結紮の前後に薬物を静脈内投与し、これらの測定項目に対する作用を検討した。

### 7. ラット実験的狭心症モデル

Urethane 1.0 g/kg i.p. で麻酔したラット (体重 270~325 g) を用い、Sakai ら<sup>10)</sup> の方法に従って実験を行った。気管カニューレを挿入し、気道を確保した後、右大腿静脈に薬物投与用カニューレを挿入した。冠動脈内投与用に作製した特殊カニューレ<sup>10)</sup> を右頸動脈より大動脈弁近傍まで注意深く挿入した。生体用アンプ (1205 D, 三栄) を用いて標準四肢第 I 誘導心電図をレクチホリーに記録した。冠動脈内投与用カニューレにマイクロシリンジを接続し、methacholine 2 あるいは 4 μg を投与し、30~40 秒後に観測される心電図の変化 (S 波高) を測定した。Methacholine は 10 分間隔で投与し、一定

したS波上昇を示した用量を実験に用いた。薬物を静脈内に投与し、2, 10, 20分後に methacholine を投与した。

8. 統計処理

2群の比較には Student の t-test を、3群以上の比較には一元配置分散分析を用いた。薬物投与前値との比較には paired t-test を用いた。いずれの場合も危険率5%未満 (p<0.05) の時、有意とした。

実験成績

1. 各種動脈血流量に対する作用

Table 1 に D230 および dipyridamole を静脈内投与した時の各種動脈血流量、平均血圧 (MBP) および心拍数 (HR) に対する作用を示した。いずれの測定項目についても薬物投与前値には両薬物群間で有意の差はなかった。

D230 は 0.3 mg/kg から冠動脈血流量 (CBF) を用

量依存的に増加させた。Fig. 2 に示したように、D230 1 mg/kg は速やかに増加し、1, 2分で最大反応 (87.6%) を示し、その後徐々に回復する持続的な血流増加作用を示した。

MBP は軽度低下 (9.5%) したが、HR は有意に変化しなかった。3 mg/kg 投与により、さらに著明な CBF 増加作用 (222.9%) と MBP 低下作用 (22.2%) がみられ、HR も有意に低下 (8.2%) した。Dipyridamole は 0.1 mg/kg から用量依存的な CBF 増加作用と MBP 低下作用を示した。HR は 1 mg/kg で有意に低下した。

椎骨動脈血流量 (VBF)、総頸動脈血流量 (CCBF)、腸管膜動脈血流量 (MBF) は 0.3 mg/kg で有意の増加を、大腿動脈血流量 (FBF) は 1 mg/kg で有意の増加を示したが、変化は概ね一過性でその程度も軽かった (3 mg/kg で増加率はいずれも30~40%程度)。腎動脈血流量 (RBF) は、D230 1 mg/kg で有意に減少した。3 mg/kg では 32.5%の持続的な減少がみとめられた。

Table 1 Effects of D230 and dipyridamole on arterial blood flow of various regions, mean blood pressure (MBP) and heart rate (HR) in anesthetized dogs

Drugs	Initial values	% Changes after the drug administration		
		0.3 mg/kg, i.v.	1.0 mg/kg, i.v.	3.0 mg/kg, i.v.
D230				
VBF	48.7±11.7 ml/min	12.0± 5.5*	25.9± 3.9*	48.8±16.8*
CCBF	75.3±16.0 ml/min	8.0± 2.2*	17.6± 2.5**	36.8± 5.6**
CBF	15.3± 2.5 ml/min	23.6± 9.6*	87.6±28.3*	222.9±61.6**
MBF	178.3±15.6 ml/min	14.8± 2.8**	22.7± 2.7**	31.0± 3.0**
RBF	87.8±19.0 ml/min	- 4.9± 2.7	-11.5± 1.7**	-32.5± 4.1*
FBF	31.5± 5.0 ml/min	9.4± 3.1	25.0± 5.1**	33.8± 8.7**
MBP	112.5±10.1 mmHg	- 3.2± 1.9	- 9.5± 0.9**	-22.2± 1.5**
HR	166.7± 5.9 beats/min	- 0.9± 0.6	- 1.6± 0.8	- 8.2± 4.3*
Dipyridamole				
VBF	43.0± 9.4 ml/min	- 0.2± 4.4	- 2.7± 5.9	10.2±22.6
CCBF	65.3± 8.1 ml/min	6.7± 2.7	9.4± 4.5	25.7± 5.2**
CBF	14.5± 2.4 ml/min	92.7±30.2*	164.0±41.1**	229.8±70.9*
MBF	176.8±21.1 ml/min	17.9± 2.4**	23.8± 3.4**	28.5± 1.7**
RBF	94.2±20.2 ml/min	- 5.5± 2.8	-22.8± 4.2*	-47.5± 5.2*
FBF	33.8± 4.0 ml/min	2.1± 3.0	- 3.3± 5.8	-17.6±13.6
MBP	104.2± 7.7 mmHg	- 6.4± 1.8*	-16.6± 1.8**	-34.6± 4.2**
HR	158.5± 4.9 beats/min	- 1.5± 1.0	- 5.4± 2.4	-17.2± 3.7**

Abbreviations used are: VBF, vertebral arterial blood flow; CCBF, common carotid arterial blood flow; CBF, coronary arterial blood flow; MBF, mesenteric arterial blood flow; RBF, renal arterial blood flow; FBF, femoral arterial blood flow; MBP, mean blood pressure; HR, heart rate. Each value represents the mean±S.E. of six experiments. \* and \*\*: Significant differences from initial values (p<0.05 and 0.01, by paired t-test).

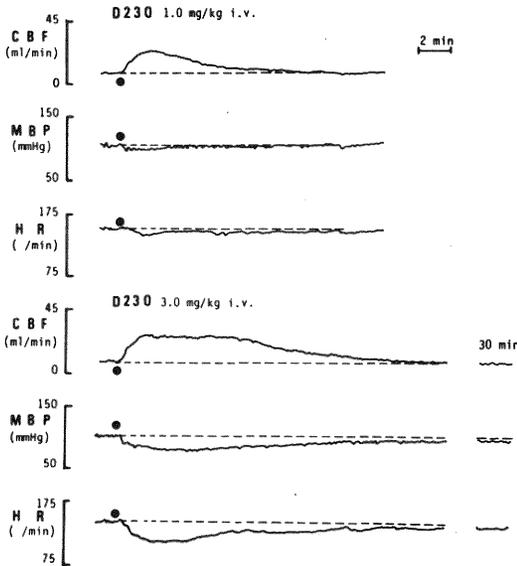


Fig. 2 Effects of D230 on coronary blood flow (CBF), mean arterial blood pressure (MBP) and heart rate (HR) in anesthetized open chest dog.

Dipyridamole は 0.1 mg/kg で腸管膜動脈血流増加作用を, 1 mg/kg で総頸動脈血流増加作用を示したが, 椎骨動脈および大腿動脈血流に対しては明らかな作用を示さなかった. また, 腎血流は 0.3 mg/kg 以上で D230 と同様, 持続的な減少を示した.

## 2. 心拍出量, 総末梢抵抗に対する作用

Table 2 に示したように, 各測定項目の薬物投与前値には両薬物群間に有意の差はなかった.

D230 は 0.3 mg/kg から用量依存的な心拍出量 (CO) 増加作用および総末梢抵抗 (TPR) 減少作用を示した. 一回拍出量 (SV) に対しても同様な増加作用を示したが, 分時心仕事量 (CW) は変化しなかった.

Dipyridamole は 0.1 mg/kg 以上で, D230 と同様な CO 増加, TPR 減少, SV 増加作用を示した. CW は 1 mg/kg でも有意な変化を示さなかった.

## 3. 心筋酸素消費量に対する作用

Table 3 に薬物投与前および投与 3 分後の冠血流量 (CBF: ml/min/100 g), 動静脈酸素較差 (AVDO<sub>2</sub>), 心筋酸素消費量 (MOC) を示した. 薬物投与前値には両薬物群間に有意の差はなかった.

Fig. 3 に示したように, D230 は 1 mg/kg で冠血流量 (CBF) を増加させ, AVDO<sub>2</sub> を減少させた. 3 mg/kg でこれらの変化はより明らかとなったが, 心筋酸素

Table 2 Effects of D230 and dipyridamole on mean blood pressure (MBP), heart rate (HR), cardiac output (CO), total peripheral resistance (TPR), stroke volume (SV) and cardiac work (CW) in anesthetized open chest dogs

Drugs	Initial values	% Changes after the drug administration		
		0.3 mg/kg, i.v.	1.0 mg/kg, i.v.	3.0 mg/kg, i.v.
D230				
MBP	115.2 ± 8.8 mmHg	- 7.1 ± 3.0	- 9.0 ± 1.7**	- 23.3 ± 2.8**
HR	135.0 ± 8.9 beats/min	- 1.1 ± 0.7	0.1 ± 1.1	- 4.9 ± 1.6*
CO	0.80 ± 0.04 l/min	7.0 ± 1.7*	14.2 ± 1.8**	23.8 ± 4.0**
TPR	146.8 ± 13.2 mmHg min/l	- 8.2 ± 1.9**	- 18.1 ± 1.0**	- 36.9 ± 2.0**
SV	6.1 ± 0.5 ml	6.3 ± 1.4**	11.5 ± 1.9**	21.5 ± 4.4**
CW	1.24 ± 0.11 kg m/min	4.8 ± 2.1	6.6 ± 2.8	- 2.8 ± 6.1
Dipyridamole				
MBP	112.0 ± 11.2 mmHg	- 5.1 ± 1.0**	- 13.8 ± 2.3**	- 26.4 ± 5.4**
HR	138.8 ± 9.7 beats/min	- 1.1 ± 0.7	- 4.6 ± 1.1*	- 9.6 ± 1.4**
CO	0.79 ± 0.09 l/min	5.5 ± 1.8*	9.5 ± 2.0*	14.2 ± 4.0*
TPR	148.3 ± 14.7 mmHg min/l	- 7.3 ± 1.6*	- 15.7 ± 3.4**	- 23.8 ± 1.7**
SV	5.6 ± 0.4 ml	5.8 ± 2.0*	9.6 ± 2.1**	15.1 ± 4.3*
CW	1.23 ± 0.22 kg m/min	2.8 ± 1.8	- 1.1 ± 2.3	0.1 ± 5.8

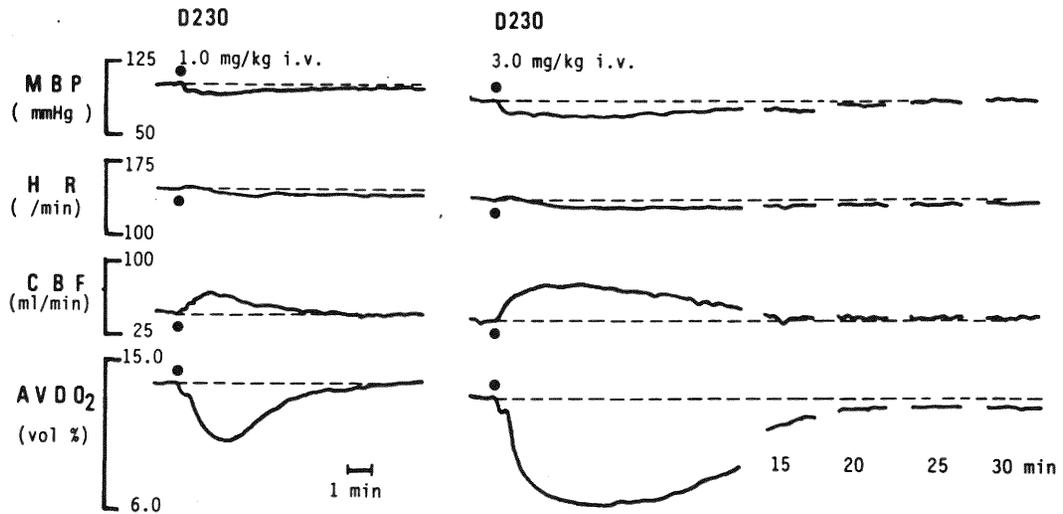
Each value represents the mean ± S.E. of 6 experiments. \* and \*\*: Significant differences from the initial values ( $p < 0.05$  and  $0.01$ , by paired t-test).

**Table 3** Effects of D230 and dipyridamole on coronary blood flow (CBF), arteriovenous oxygen difference (AVDO<sub>2</sub>) and myocardial oxygen consumption (MOC) in anesthetized open chest dogs

Drugs	Dose (mg/kg, i.v.)	CBF (ml/min/100 g)		AVDO <sub>2</sub> (vol %)		MOC(ml/min/100 g)	
		Before	After <sup>a)</sup>	Before	After <sup>a)</sup>	Before	After <sup>a)</sup>
D230	1.0	53.7±7.2	62.6± 9.6*	11.8±0.5	10.0±0.3**	6.5±1.0	6.3±1.0
	3.0	48.5±4.7	102.7± 8.6**	10.6±0.6	5.7±0.5**	5.2±0.7	5.8±0.4
Dipyridamole	0.1	52.1±8.7	61.7±10.7*	11.5±0.7	9.4±0.5**	6.1±1.1	5.8±1.1
	0.3	48.0±6.3	87.8±3.6**	11.0±0.8	6.3±0.6**	5.3±0.8	5.6±0.7

Each value represents the mean±S.E. of 5 experiments. a): 3 min after the drug administration.

\* and \*\*: Significant differences from before values (p<0.05 and 0.01, by paired t-test).



**Fig. 3** Typical recordings showing the effects of D230 on MBP, HR, CBF and arteriovenous oxygen difference (AVDO<sub>2</sub>) in anesthetized open chest dog.

消費量 (MOC) はいずれの用量でも有意な変化を示さなかった (Table 3).

Fig. 4 に示したように，dipyridamole は 0.1 および 0.3 mg/kg で D230 と同様な CBF 増加作用と AVDO<sub>2</sub> 減少作用を示した。この時，MOC は有意に変化しなかった。

Fig. 5 に CBF と MOC の関係をプロットした結果を示す。D230 と dipyridamole はいずれも冠血管拡張薬に特有な Y 軸に近接した直線を示した。

#### 4. Adenosine (Ads) 増強作用

Fig. 6 に示したように，Ads 1 μg/kg i.v. により冠血流量 (CBF) は一過性に増加した。D230 (0.3 mg/kg) は，Ads の CBF 増加作用を著明に増強した。

Dipyridamole (0.03 mg/kg) も同様にこの作用を増強した。

別の動物で Ads を左心房内に投与した場合にも CBF は一過性に増加し，この反応は D230 で増強されたが，増強効果は Ads を静脈内に投与した場合の方がより著明であった。Ads 投与部位による増強作用のこのような差は，diazepam でも観察された。

Fig. 7 に示したように，D230 の CBF 増加作用は aminophylline 10 mg/kg で抑制された。Dipyridamole の作用も同様に抑制された。

#### 5. モルモット結腸紐標本に対する作用

Fig. 8 に，モルモット結腸紐標本の自発性収縮および 30 mM, 100 mM K<sup>+</sup> によるカリウム拘縮に対する

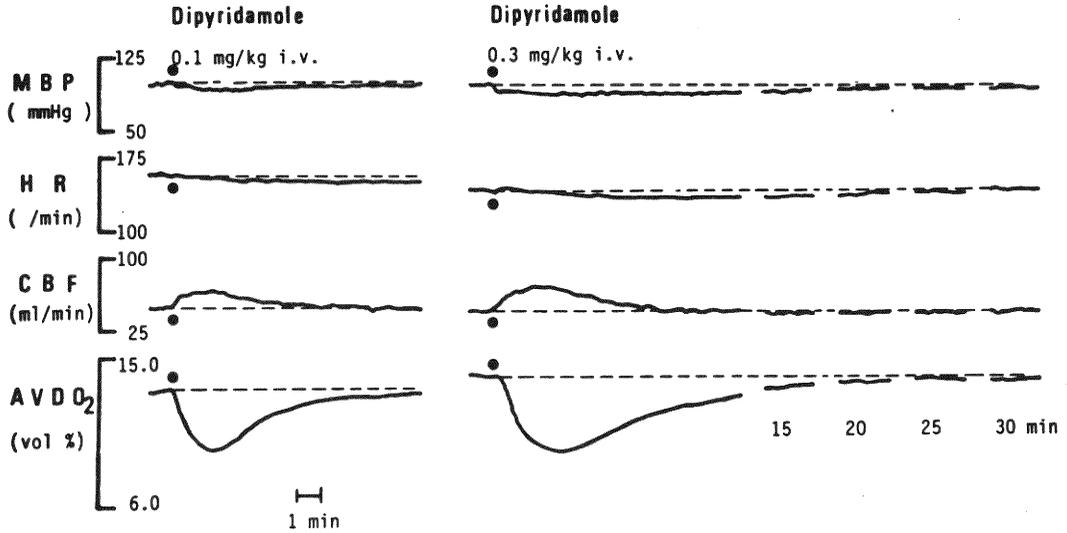


Fig. 4 Typical recordings showing the effects of dipyridamole on MBP, HR, CBF and arteriovenous oxygen difference (AVDO<sub>2</sub>) in anesthetized open chest dog.

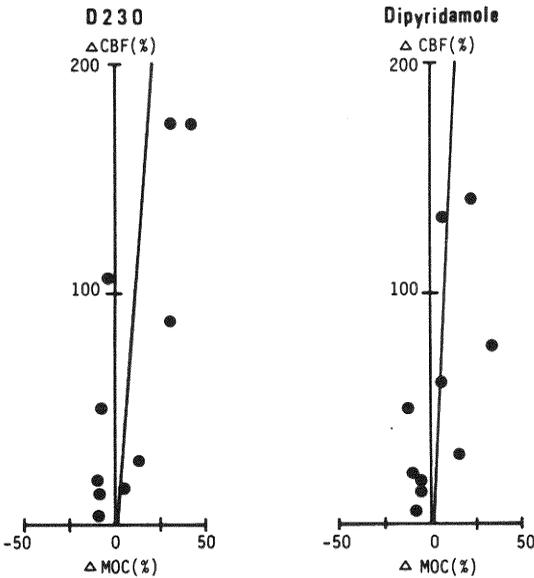


Fig. 5 Effects of D230 and dipyridamole on CBF and myocardial oxygen consumption (MOC) in anesthetized open chest dogs.

Abscissa: Increase in MOC expressed as percent of the control  
 Ordinate: Increase in CBF expressed as percent of the control

D230 の作用を示した。

D230 は自動性収縮に対して  $10^{-6}M$  から濃度依存的な抑制作用を示したが、 $10^{-4}M$  でもこの収縮を完全に抑制しなかった。この時、pinacidil  $10^{-5}M$  を適用すると、この自動性収縮は完全に消失した。

30mM および 100mM  $K^+$  によるカリウム拘縮に対しても、D230 は  $10^{-6}M$  から濃度依存的な抑制作用を示したが、 $10^{-4}M$  における抑制率は約50%であった。

3種の収縮に対する D230 の抑制作用は何れも軽度であった。一方、nifedipine はカリウム拘縮に対して強力な抑制作用を示し、 $10^{-8}M$  でこれを完全に抑制した。

6. 心筋局所血流量 (RMBF) に対する作用

Fig. 9 に麻酔イヌの心筋局所血流量 (RMBF) を測定した1例で示すように、水素ガスクリアランス法によって測定した RMBF (58.7 ml/min/100g) は、D230 3mg/kg および dipyridamole 0.3mg/kg で増加したが (それぞれ 147.4 および 111.8 ml/min/100g)、LAD 結紮により減少 (27.6 ml/min/100g) した血流は何れの薬物を投与しても増加しなかった。交叉熱電対法で測定した RMBF も水素ガスクリアランス法と同様、LAD 結紮前には両薬物で増加したが、結紮後は増加しなかった。一方、電磁流量計で測定した回旋枝血流量 (LCXBF) の両薬物による増加は、LAD 結紮後にも同程度に認め

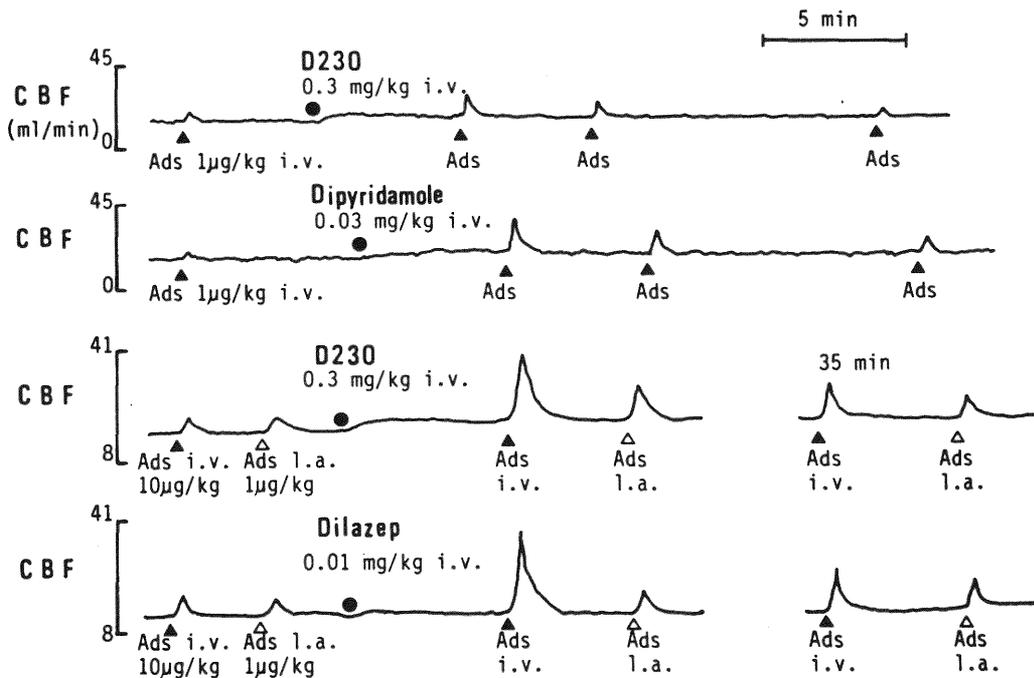


Fig. 6 Potentiation of action of adenosine (Ads) on CBF by D230, dipyridamole and dilazep in anesthetized open chest dogs.

Ads was administered either into the femoral vein (i.v.) or into the left atrium (l.a.).

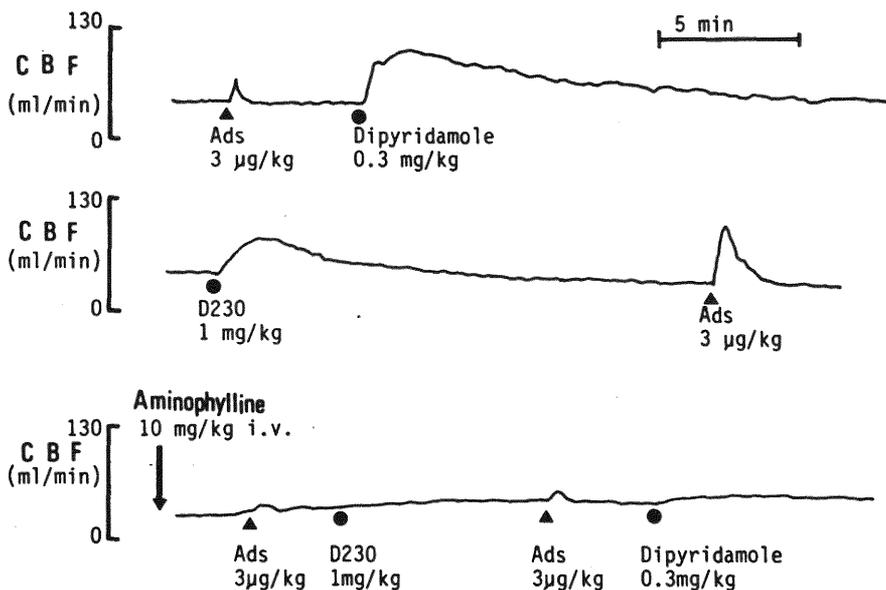


Fig. 7 Antagonistic effect of aminophylline on D230- and dipyridamole-induced increase in CBF in anesthetized open chest dogs.

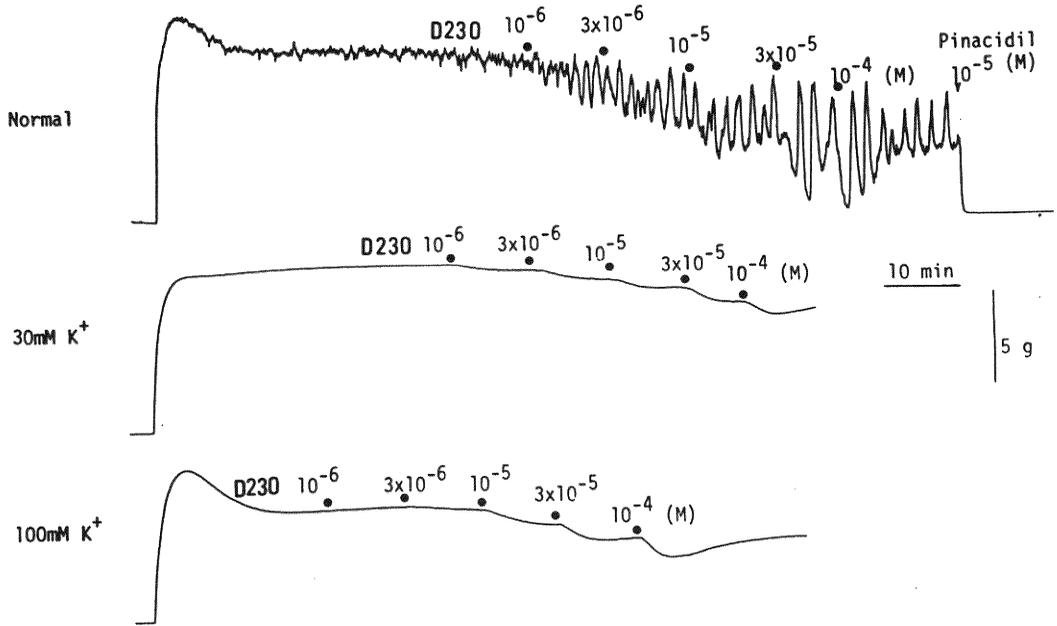


Fig. 8 Effects of D230 on the spontaneous contraction (Normal), the contractures induced by intermediate and high K<sup>+</sup> (30mM, 100mM) media in the isolated guinea-pig taenia coli.

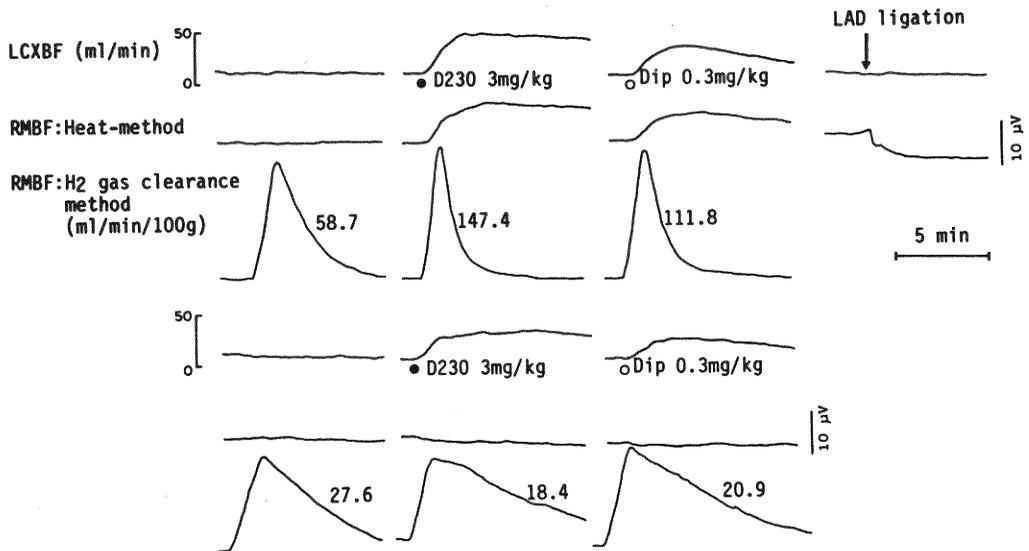


Fig. 9 Typical recordings showing the effects of D230 and dipyrindamole on left circumflex coronary arterial blood flow (LCXBF) and regional myocardial blood flow (RMBF) in anesthetized open chest dog. LCXBF was measured with an electromagnetic flowmeter, and RMBF was measured by heat- and hydrogen gas clearance methods. Each drug was administered before and after ligation of the left anterior descending coronary artery (LAD).

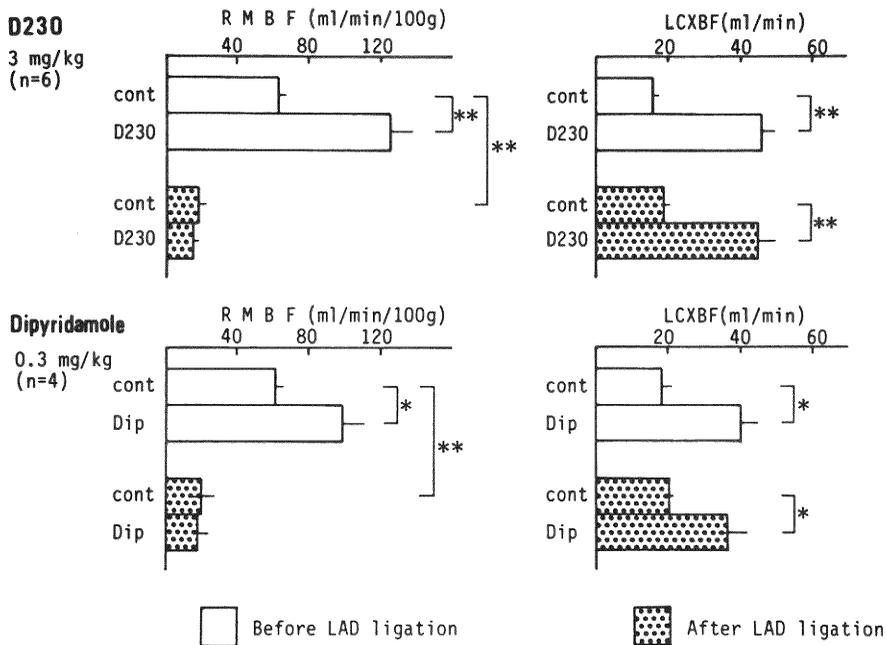


Fig. 10 Effects of D230 and dipyridamole on LCXBF and RMBF before and after ligation of LAD in anesthetized open chest dogs. RMBF: Obtained by hydrogen gas clearance method. Each column indicates the mean  $\pm$  S.E. \* and \*\*: Significant differences from the initial values ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , paired t-test).

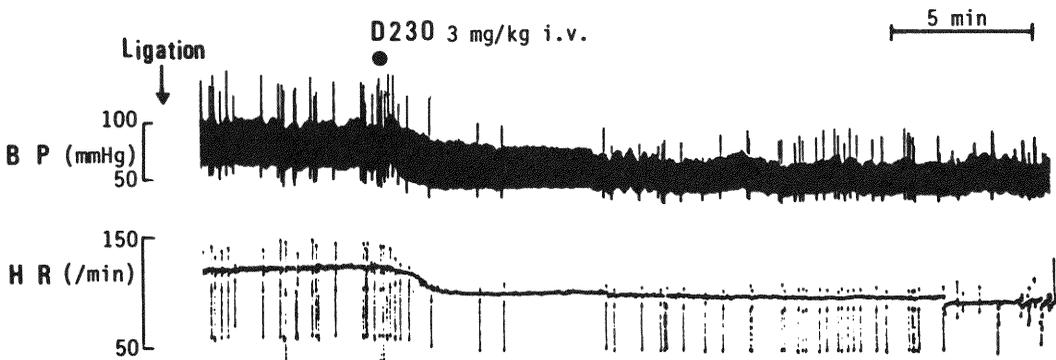


Fig. 11 Representative recordings showing the effects of D230 on the arrhythmias induced by LAD ligation in anesthetized open chest dog.

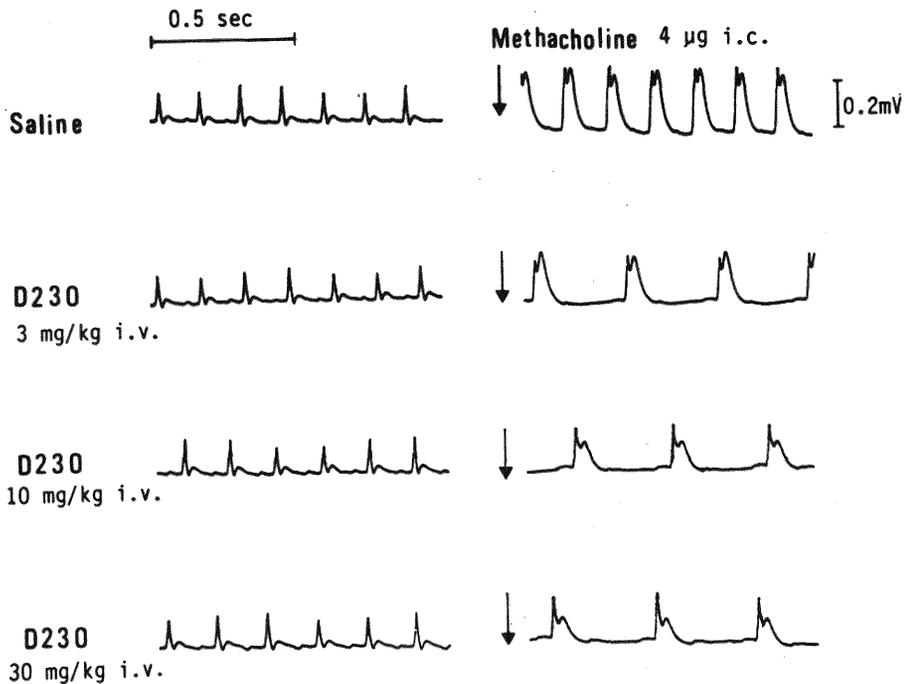


Fig. 12 Effects of D230 on the ECG changes induced by intracoronary administration of methacholine in rats.

Table 4 Effects of D230 and coronary vasodilators on methacholine-induced ECG changes in anesthetized rats

Drugs	Dose (mg/kg, i.v.)	N	Changes in S waves ( $\mu V$ ) produced by methacholine	
			Before	After <sup>a)</sup>
D230	3.0	5	211 $\pm$ 24	206 $\pm$ 35
	10.0	5	180 $\pm$ 26	105 $\pm$ 32
	30.0	5	168 $\pm$ 34	85 $\pm$ 29**
Dipyridamole	1.0	4	215 $\pm$ 45	205 $\pm$ 39
	3.0	4	212 $\pm$ 49	211 $\pm$ 49
Dilazep	3.0	6	219 $\pm$ 35	186 $\pm$ 32
	10.0	5	182 $\pm$ 55	171 $\pm$ 61 <sup>b)</sup>
Nifedipine	0.1	6	257 $\pm$ 27	138 $\pm$ 18**
Verapamil	1.0	5	227 $\pm$ 14	100 $\pm$ 28**

Changes in S waves from baselines were measured at 30 sec after the coronary arterial injection of methacholine (2–4  $\mu g$ ). Each value represents the mean  $\pm$  S.E. a): 2 min after the drug administration. b): 10 min after administration, 10 mg/kg (i.v.) of dilazep produced changes in ECG. \*\*: Significant differences from the values before administration of the drugs ( $p < 0.01$ , by paired t-test).

られた。

**Fig. 10** にこれらの作用をまとめて示した。LAD 結紮により，LAD 支配領域の RMBF は有意に減少すること，D230 は LAD 結紮の有無にかかわらず，健常部の血流量 (LCXBF) を有意に増加させるが，LAD 結紮によって生じた虚血部の局所血流量 (RMBF) は変化させないことがこの図からわかる。Dipyridamole も D230 と同様な作用を示した。

LAD 結紮後明らかな不整脈が発現する動物があり，これに D230 3 mg/kg を投与したところ，**Fig. 11** に示したような一過性の軽度な抗不整脈作用が観察された。この作用は D230 では 8 例中 5 例にみられ，dipyridamole (0.3 mg/kg) では 7 例中 4 例にみられた。

#### 7. ラット狭心症モデルに対する作用

**Fig. 12** に示したように，ラットの冠動脈内に methacholine (2~4  $\mu$ g) を投与すると，一過性の徐脈が発現し，30~40秒後に明らかな心電図変化 (S波上昇) が生じた。

**Table 4** に，薬物投与前および投与 2 分後に methacholine で誘発した S 波高を示した。薬物投与前値にはいずれも有意差はなかった。D230 は 3~30 mg/kg の投与でそれ自身は心電図に無影響であったが，10 mg/kg で methacholine により誘発される S 波上昇を抑制する傾向を示し，30 mg/kg で有意な抑制作用を示した (**Fig. 12**)。10 分後にこの作用は消失した。一方，dipyridamole は 1 および 3 mg/kg で S 波高に明らかな作用を示さなかった。Dilazep 3 mg/kg も同様であった。Dilazep 10 mg/kg 投与では直後に，心電図に影響がみられたため 10 分後の成績を示したが，抑制作用はみられなかった。一方，nifedipine および verapamil は，それぞれ，0.1 および 1 mg/kg で有意な抑制作用を示し，この作用は 20~30 分持続した。

## 考 察

本邦で合成された Thiazinobenzimidazole 誘導体 D230 の薬理作用を検討した。D230 は麻酔イヌの冠動脈血流量 (CBF) を 0.3 mg/kg 以上で持続的に増加させた。椎骨動脈血流量，総頸動脈血流量，腸管膜動脈血流量および大腿動脈血流量に対しても一過性の増加作用を示したが，CBF の増加に比べると何れも軽度なことから，D230 の冠血管に対する選択的な作用が示唆された。Dipyridamole は 0.1 mg/kg で著明な CBF 増加作用を示し，その力価は D230 より強力であった。Dipyridamole は持続的な冠血流量増加作用を示すことが報告<sup>2)6)</sup>されて

おり，今回の成績はこれに一致した。

CBF を著明に増加させる用量 (1 mg/kg) で D230 は軽度な血圧下降作用を示した。一般に，冠血流量は動脈圧とその血管抵抗によって決定される。血圧下降作用を示すにもかかわらず D230 が，CBF を増加させたことはこの物質に冠血管抵抗を著明に低下させる作用のあることを示すものである。血圧下降と同時に総末梢抵抗の減少が見られたことから，降圧作用は末梢血管抵抗低下によって説明される。

D230 は 0.3 mg/kg から用量依存的な心拍出量増加作用を示したが，これは dipyridamole でも同様であった。心拍出量増加作用は，強心作用あるいは末梢血管抵抗減少作用などで生じるが，dipyridamole には強心作用は認められておらず，むしろ陰性変力作用が報告<sup>6)</sup>されていることから，今回観察された dipyridamole による心拍出量増加は，末梢血管抵抗減少作用に起因すると思われる。今回の実験では D230 の心臓作用を直接評価できなかったが，心拍出量増加は dipyridamole と同様の機序で起ったものと考えられる。

D230 は心拍数減少作用および 1 回拍出量増加作用を示したが，心仕事量および心筋酸素消費量を増加させなかった。これらの測定項目に対し，dipyridamole も同様の作用を示した。CBF 増加と心筋酸素消費量の関係をプロットしたところ，D230，dipyridamole とともに Y 軸に近接した直線を示したことから，冠血流量増加はいずれの薬物の場合にも心機能亢進による二次的な効果によるものではなく，冠血管に対する直接作用であり，両薬物とも良性的冠血管拡張薬であることが示唆された。

Dipyridamole の冠血管拡張作用は内因性 Ads 増強によるとされており<sup>2)6)</sup>，その作用は aminophylline で拮抗される<sup>3)</sup>ことが知られているが，今回の実験でもこれが裏付けられた。D230 でも同様な Ads 増強作用が見られ冠血管拡張に Ads 増強作用が重要な役割を演じていることが示唆された。D230 の Ads 増強作用は，Ads を左心房内に投与した場合よりも静脈内に投与した場合に顕著であり，増強作用の機序として肺循環における Ads の不活性化抑制の重要性が示唆された。Dipyridamole や dilazep でも同様な作用が報告<sup>5)6)</sup>されている。Dipyridamole による Ads の作用増強は Ads の組織への取り込み抑制<sup>11)</sup>により発揮されるとされており，dipyridamole 投与で細胞外液中の Ads 濃度の上昇が報告<sup>12)13)</sup>されている。D230 の Ads 増強作用にも組織とくに肺における Ads の取り込み抑制が重要であろう。

最近、Ads 受容体に関する研究が進み、Ads の循環器作用として  $A_2$  受容体を介する CBF 増加作用<sup>14)</sup> と  $A_1$  受容体を介する RBF 減少作用<sup>15)</sup> が報告されている。今回の実験で D230 により CBF 増加作用と同時に RBF 減少作用が見られたことは D230 投与により増加した内因性 Ads がこれらの受容体を介して作用している可能性を強く示唆するものである。

Ads 増強作用以外の血流量増加作用機序を検索する目的でモルモット結腸紐標本の自発収縮とカリウム拘縮に対する D230 の作用を検討した。その結果、D230 はいずれの収縮に対しても同程度の軽度な抑制しか示さないことがわかった。今回の標本は外液カルシウムに対する依存性が大きく、血流調節を司る細動脈平滑筋に似ているが、すでに我々は、この標本で nifedipine がカリウム拘縮を著明に抑制し、Kチャンネル活性化薬である pinacidil や nicorandil が自動性収縮を強力に抑制することを報告している<sup>16)</sup>。今回の成績からすると D230 にはこれらの薬物のような選択的なカルシウム拮抗作用あるいはKチャンネルに対する作用は考えられず、hydralazine のような非選択的抑制作用<sup>16)</sup> しかないものと思われる。

D230 の局所心筋血流量 (RMBF) に対する作用を LAD 結紮の前後で検討した。RMBF の測定には交叉熱電対法と水素ガスクリアランス法を併用した。交叉熱電対法は局所血流量の経時変化を鋭敏に測定できるが、絶対値が測定できない。一方、水素ガスクリアランス法は、絶対値を測定できるが、測定に時間がかかる。これらの欠点を補い合うために、2種類の電極を心筋の同じ部位に挿入し、同時測定を行った。なお、電極挿入部位は LAD 支配領域の 5~7 mm の深さであり、心筋中層から内層に相当する部位である。水素ガスクリアランス法によって測定した LAD 結紮前の RMBF は  $63.3 \pm 4.5$  ml/min/100 g (N=7) であり、仲川<sup>17)</sup> の測定した心筋内層血流量に一致した。LAD 結紮前に D230 (3 mg/kg) を投与した場合、水素ガスクリアランス法によって測定した RMBF は著明に増加した。交叉熱電対法で測定した RMBF は電磁流量計で測定した回旋枝血流量 (LCXBF) の増加パターンとよく一致した。LAD 結紮により、交叉熱電対法で測定した RMBF は速やかに低下した。水素ガスクリアランス法で測定した RMBF は  $17.4 \pm 4.9$  ml/min/100 g (N=7) であり、LAD 支配領域の心筋が急性の虚血状態に陥っていることが確認された。これは同様の LAD 結紮を実施した松原ら<sup>18)</sup> の成績に一致していた。LAD 結紮後に D230 を投与すると非虚

血部の血流量である LCXBF は有意に増加したが、虚血部 RMBF の増加は見られなかった。Dipyridamole も D230 と同様の作用を示した。一般に Ads 増強薬は細動脈を拡張することにより冠血流量増加作用を示し、結紮あるいは通過障害による虚血部の血流量は減少させるとされている<sup>19)-21)</sup>。今回の実験で D230 には有意な減少作用は示されなかったものの、正常部とは明らかに作用が異なっていた。この成績は D230 の冠血管拡張作用部位が dipyridamole と同様、細動脈であることを示唆している。Ads は、冠血流量調節の代謝性因子であり<sup>7)</sup>、低酸素状態の心筋で内因性に遊離され、冠血流量増加作用に関与すると報告されている<sup>22)-24)</sup>。LAD 結紮後にも RMBF がある程度維持されていた今回の成績は、この説を支持するものと考えられる。すなわち、結紮部で D230 が血流増加を起さなかったのは結紮により生じた虚血により内因性に遊離された Ads のために血流が既に最大に増加していたためであり、非虚血部では Ads の遊離が少ないため薬物の作用が発現したのであろう。

今回の実験で、LAD 結紮により生じた軽度の不整脈を D230 が抑制する傾向が認められた。定量的な検討は行なわなかったが、D230 投与後明らかに不整脈が軽減した例があることは確かであり、有効例は結紮後30分以内の比較的早期に投与した場合に多い傾向にあった。Dipyridamole でも同様な傾向がみられた。Wainwright<sup>25)</sup> は、Ads や dipyridamole がイヌの冠動脈結紮により発生する不整脈を抑制することを報告し、Ads の有する冠動脈拡張作用と同時にカテコールアミンの遊離やその作用抑制がこの機序であるとしている。Mainwaring<sup>26)</sup> は摘出ラット灌流心で Ads が心筋の glucose 取り込みを上昇させ、ATP 含量を増加させたことを報告している。Ads 増強作用を有する D230 がこのような機序を介して虚血性不整脈を抑制する可能性が考えられる。なお同じ Ads 増強薬の dilazep については不整脈に有効であるとの臨床報告<sup>27)</sup> がある。

Sakai<sup>10)</sup> によって報告された実験的狭心症モデルに対して D230 は 30 mg/kg で抑制作用を示した。このモデルは methacholine による冠動脈攣縮のモデルであり、抗コリン薬やカルシウム拮抗薬が著効を示す一方で dipyridamole は無効である<sup>10)28)</sup> ことが知られている。今回の実験でも nifedipine や verapamil は、低用量で持続的な抑制作用を示したが、dipyridamole は無効であった。これに対して D230 では抑制が認められた。しかし、抑制は軽度であったし、この薬物は摘

出標本で明らかなカルシウム拮抗作用を示さないことから，抗コリン薬やカルシウム拮抗薬とは異なる作用によるものと考えられる。Dipyridamole や dilazep はこのモデルで抑制作用を示さぬことから考えると Ads 増強作用と異なる機構であろう。

以上より，D230 は Ads 増強作用により冠血管拡張作用を示す薬物で，その循環器系に対する作用は dipyridamole に類似しているにも拘らず，病態モデルを用いた実験では dipyridamole と異なり虚血性心疾患に対する有効性が示されるなど興味深い化合物であることがわかる。今後の検討が必要である。

### 謝 辞

稿を終るに臨み，御指導，御校閲を賜りました今井昭一教授に謹んで感謝の意を表します。また，本実験に，御助言，御助力いただいたエスエス製薬(株)大野洋光博士，好田忠行博士，磯前和男氏，榎原典光氏に深謝致します。

### 参 考 文 献

- 1) 内田康美：その他の冠拡張剤。日本臨牀，45: 128～131, 1987.
- 2) Hashimoto, K., Kumakura, S. and Tanemura, I.: Mode of action of adenine, uridine and cytidine nucleotides and 2, 6-bis (diethanol-amino)-4, 8-dipiperidino-pyridino (5, 4-d) pyrimidine on the coronary, renal and femoral arteries, *Arzneim. Forsch./Drug Res.*, 14: 1252～1254, 1964.
- 3) Afonso, S.: Inhibition of coronary vasodilating action of dipyridamole and adenosine by aminophylline in the dog, *Circ. Res.*, 26: 743～752, 1970.
- 4) Lenke, V.D., Brock, N. and Zechel, H.J.: Zur Pharmakologie von 1, 4-Bis-[3-(3, 4, 5-trimethoxybenzoyloxy)-propyl]-perhydro-1, 4-diazepin (Dilazep I.N.N.), einer neuen koronaraktiven Substanz, *Arzneim. Forsch./Drug Res.*, 22: 639～651, 1972.
- 5) Sano, N., Katsuki, S. and Kawada, M.: Enhancement of coronary vasodilator action of adenosine by 1, 4-bis-[3-(3, 4, 5-trimethoxybenzoyloxy)-propyl]-perhydro-1, 4-diazepin (Dilazep I.N.N.), *Arzneim. Forsch./Drug Res.*, 22: 1655～1657, 1972.
- 6) 片野由美，武田啓介，大鳥居健，堀井大治郎，今井昭一：Dilazep の冠循環・心機能および心筋エネルギー代謝に対する作用について。日薬理誌，70: 305～314, 1974.
- 7) Berne, R.M.: The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow, *Circ. Res.*, 47: 807～813, 1980.
- 8) Shepherd, A.P. and Burgar, C.G.: A solid-state arteriovenous oxygen difference analyzer for flowing whole blood, *Am. J. Physiol.*, 232: H437～H440, 1974.
- 9) Aukland, K., Bower, B.F. and Berliner, R.W.: Measurement of local blood flow with hydrogen gas, *Circ. Res.*, 14: 164～187, 1964.
- 10) Sakai, K., Akima, M. and Aono, J.: Evaluation of drug effects in a new experimental model of angina pectoris in the intact anesthetized rat, *J. Pharmacol. Meth.*, 5: 325～336, 1981.
- 11) Degenring, F.H., Curnish, R.R., Rubio, R. and Berne, R.M.: Effect of dipyridamole on myocardial adenosine metabolism and coronary flow in hypoxia and reactive hyperemia in the isolated perfused guinea pig heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 8: 877～888, 1976.
- 12) Feigl, E.O.: Coronary physiology, *Physiol. Rev.*, 63: 1～205, 1983.
- 13) Wangler, R.D., Gorman, M.W., Wang, C.Y., Dewitt, D.F., Chan, I.S., Basingthwaighte, J.B. and Sparks, H.V.: Transcapillary adenosine transport and interstitial adenosine concentration in guinea pig hearts, *Am. J. Physiol.*, 257: H89～H106, 1989.
- 14) Sabouni, M.H., Cushing, D.J. and Mustafa, S.J.: Adenosine receptor-mediated relaxation in coronary artery: evidence for a guanyl nucleotide-binding regulatory protein involvement, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 251: 943～948, 1989.
- 15) Callis, J.T., Kuan, C.-J., Branch, K.R., Abels, B.C., Sabra, R., Jackson, E.K. and Branch, R.A.: Inhibition of renal vasoconstriction induced by intrarenal hypertonic saline by the nonxanthine adenosine antagonist CGS 15943A, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 248: 1123～1129, 1988.
- 16) Matsui, K., Ogawa, Y. and Imai, S.: Relaxant

- effects of pinacidil, nicorandil, hydralazine and nifedipine as studied in the porcine coronary artery and guinea-pig taenia coli, *Arch. int. Pharmacodyn.*, **283**: 124~133, 1986.
- 17) 仲川義人: Molsidomine (SIN-10) の冠循環, 心機能, 心筋局所血流量および全身循環動態に対する作用. *新潟医学会雑誌*, **96**: 135~145, 1982.
- 18) 松原達昭, 伊藤健一, 南木道生, 横井 清, 柳沢 潔, 日比範夫, 西村欣也, 神戸 忠, 坂本信夫, 杉山 理, 小沢高将: 実験犬における急性心筋虚血時の局所心筋血流とミトコンドリア機能. 心筋の構造と代謝, **3**: 29~38, 1980.
- 19) **Fam, W.M. and McGregor, M.:** Effect of nitroglycerin and dipyridamole on regional coronary resistance, *Circ. Res.*, **22**: 649~659, 1968.
- 20) **Winbury, M.M., Howe, B.B. and Hefner, M.A.:** Effects of nitrates and other coronary dilators on large and small coronary vessels: an hypothesis for the mechanism of action of nitrates, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **168**: 70~95, 1969.
- 21) **Takeda, K., Nakagawa, Y., Katano, Y. and Imai, S.:** Effects of coronary vasodilators on large and small coronary arteries of dogs, *Jap. Heart J.*, **18**: 92~101, 1977.
- 22) **Bardenheuer, H. and Schrader, J.:** Supply-to-demand ratio for oxygen determines formation of adenosine by the heart, *Am. J. Physiol.*, **250**: H173~H180, 1986.
- 23) **Deussen, A., Borst, M. and Schrader, J.:** Formation of S-adenosylhomocysteine in the heart. I: an index of free intracellular adenosine, *Circ. Res.*, **63**: 240~249, 1988.
- 24) **Deussen, A., Borst, M., Kroll, K. and Schrader, J.:** Formation of S-adenosylhomocysteine in the heart. II: a sensitive index for regional myocardial underperfusion, *Circ. Res.*, **63**: 250~261, 1988.
- 25) **Wainwright, C.L. and Parratt, J.R.:** An antiarrhythmic effect of adenosine during myocardial ischemia and reperfusion, *Eur. J. Pharmacol.*, **145**: 183~194, 1988.
- 26) **Mainwaring, R., Lasley, R., Rubio, R., Wyatt, D.A. and Mentzer, R.M. Jr.:** Adenosine stimulates glucose uptake in the isolated rat heart, *Surgery*, **103**: 445~449, 1988.
- 27) 野田汎史: Dilazep (Comelian) の心室性期外収縮に対する臨床効果. 基礎と臨床, **24**: 4509~4515, 1990.
- 28) **Vergona, R.A., Herrott, C., Garippa, R. and Hirkaler, G.:** Mechanisms of methacholine-induced coronary vasospasm in an experimental model of variant angina in the anesthetized rat, *Life Sciences*, **35**: 1877~1884, 1984.

(平成3年4月26日受付)