

4-Amino-3 (RS)-hydroxybutanoic acid maleate の抗けいれん作用に関する研究

岡山大学医学部脳代謝研究施設機能生化学部門（主任：森昭胤教授）

沼 本 章 博

（昭和58年5月16日受稿）

Key words : 4-Amino-3(RS)-hydroxybutanoic acid maleate,
ベンチレンテトラゾール, ペニシリン, ピククリン

緒 言

4-Amino-3 (RS)-hydroxybutanoic acid（一般名 γ -アミノ- β -ハイドロキシ酪酸, GABOB と略す）は、最初1923年に Tomita により合成され¹⁾ ついでこの物質はイヌの種々のけいれんを強く抑制することが Hayashi (1959)²⁾ によって示された。さらにこの物質は、哺乳動物の大脳皮質ニューロンを抑制することが種々の実験により明らかにされた³⁻⁷⁾。ついで GABOB の光学分割が Musashi & Tomita (1956)⁸⁾, Tomita (1959)⁹⁾, Lindstedt ら (1964)¹⁰⁾ によってなされ、これら光学活性 GABOB の生理活性の比較が、Hayashi¹¹⁾, および大口¹²⁾ によって検討された結果、イヌの電撃けいれんに対しては、(R)-GABOB (l-GABOB) が (RS)-GABOB (dl-GABOB) より数倍抑制作用の強いことが示された。その後、黒野ら¹³⁾ は、(R S)-GABOB amide·HCl を camphor-10-sulfo-nic acid を用いて光学分割を行ない、(R)-GABOB と (S)-GABOB (d-GABOB) とを高純度に調整することに成功した。教室の片山¹⁴⁾ は、マウス腹腔内に投与した (R)-GABOB は、(S)-及び (RS)-GABOB に比し、約3.5倍多く脳中に移行すること、(R)-GABOB はネコ大脳皮質のペニシリン、あるいは、N-amidinobenzamide 誘発発作放電を (S)-GABOB よりも著明に抑制すること^{15,16)} など明らかにした。また Aishita ら¹⁷⁾ も、ウサギの大脳皮質運動領の電気刺激による後放電に対して、(R)-GABOB が著

明な抑制作用のあることを報告している。

その後、(R)-GABOB はてんかん患者の治療に応用され、かなりすぐれた治験成績が得られている¹⁸⁾ が、生産価格が極めて高価であるために、一般的な抗けいれん薬として実用化に至っていない。現在臨床的に使用されている GABOB 製剤は、衆知のごとく、(RS)-GABOB で、ラセミ混合物ではなく、ラセミ化合物であり、生体内では、(RSRS)_{n1} の単位で挙動して生理活性を現わしていると考えられている。われわれの共同研究者らは、ラセミ化合物を混合物(RRRR)_{n2} + (SSSS)_{n2} に変え、よりすぐれた効果を発起させようとして、種々の酸性塩、及び、塩基性塩を合成し、アフリカマイマイ巨大神経細胞の自発発火を指標にして、これらの抑制作用を調べた結果、(RS)-GABOB maleate 及び (RS)-GABOB fumarate が (RS)-GABOB よりすぐれた抑制作用のあることを明らかにした¹⁹⁾。

本論文では、ネコのベンチレンテトラゾール (PTZ)、ピククリンあるいはペニシリン誘発発作波、並びに、ウサギの PTZ けいれん閾値に対して、(RS)-GABOB maleate の抑制効果を詳細に検討し、さらにこれらの誘発発作波に対する (R)-GABOB の作用についても比較検討を行なった。

実 験 方 法

第1節 実験動物

成熟ウサギ（雄2～2.5kg）、成熟ネコ（2.5～3.5kg）を使用した。ウサギは、室温24℃、

湿度55%, 12時間明暗サイクル(1時~13時を明期, 13時~1時を暗期とした)の条件で飼育し, 飼料は, ウサギには RC-4 (オリエンタル酵母) を, ネコには CS, T2 (オリエンタル酵母) を使用し, 水は吸水ビンで自由に摂水させた。

第2節 (RS)-GABOB maleate の調製方法

(RS)-GABOB 1 mole に対して maleic acid 1/2 mole を混合した後, 水に溶かした。次いで減圧乾固を行ない, 溶液がシロップ状を呈した時, これに acetone を加え析出する沈殿物を再結晶した(図-1)。化学構造の確認は, 赤外分光分析および, NMR 分析により行なった。

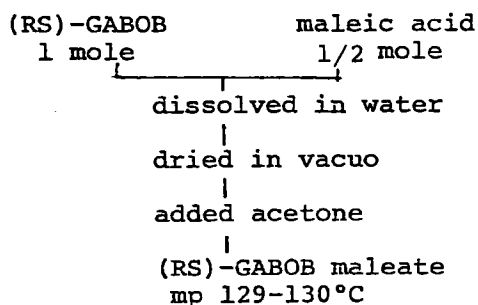


Fig. 1 Preparation of (RS)-GABOB maleate.

第3節 脳波の誘導方法

ネコをエーテル麻酔下で気管切開後, 気管内挿管を行ない, サクシニールコリンで非動化した後, 直ちに東大式脳固定装置に固定して調節呼吸のもとに実験を行なった。

1) 深部脳波の誘導

前頭部から後頭部にかけて正中頭皮切開を行ない, 附着筋肉および骨膜を剝離し, 頭蓋骨を両側にわたって広く露出した後, 電極の定位的刺入に必要な場所に歯科用ドリルを用いて, burr-hole を作り, 扁桃核(AMY), 海馬回(HIPP), 視床中心核(CM), 網様体(RF), 黒質(SN), 視床腹側核(VL), 淡蒼球(GP), には深部電極を, 大脳皮質(CX) にはビス電極を固定し, ついで双極誘導で脳波を記録した。

2) 皮質脳波の誘導

左前頭一頭頂一側頭部の開頭術を行ない, 硬膜を切除し, 馬蹄型の電極保持器に固定した電極(単極針電極)の先端に, 生理食塩水を浸した綿片をつけたものを脳表面に接する様に置き,

皮質脳波を記録した。不関電極は, 鼻根部に刺入した。各脳波の記録には, 日本光電(MP-L-72)を使用し, 時定数 0.1, 紙送り速度1.5 cm/sec で単極および双極誘導で記録した。

第4節 薬物の投与方法

1) (R)-GABOB 及び (RS)-GABOB maleate:

脳室内には, (R)-GABOB 20mg/kg, (RS)-GABOB maleate 30mg/kg-濃度のものを0.5 ml 注入した。静脈内には, (R)-GABOB 20 mg/kg, (RS)-GABOB maleate 30mg/kgを下腿静脈に投与した。網様体には, (RS)-GABOB maleate 0.6mg/50 μ l を投与した。

2) PTZ:

PTZ は生理食塩水に溶解し, 30mg/kg を静脈内投与した。

3) ペニシリン:

ペニシリンはペニシリンGを生理食塩水に溶解し, 400 単位をマイクロシリンジで中上シルビアン領野に注入し, ペニシリン皮質焦点を作製した。

4) ビククリン (Bicuculline Sigma):

ビククリンは0.1NHCl に溶解後, 0.1M の Tris(hydroxymethyl)aminomethane (Sigma) で PH 5 に調製し, 5 mg/kg を静脈内投与した。

PTZ, ペニシリン, ビククリンは, (R)-GABOB, 及び (RS)-GABOB maleate投与30分後に注入した。

第5節 けいれん閾値の測定方法

(RS)-GABOB maleate (30mg/kg)をウサギに PTZ 投与30分前に静脈内投与し, けいれん閾値に対する作用を検討した。そのさい, PTZ 溶液 (30 mg/1.5ml/kg)を1分間に1.0mlの割合で, 耳静脈より注入し, 最初の強直性けいれん発現までの時間をけいれん閾値とした。

実験結果

第1節 (RS)-GABOB maleate の検定

実験方法第2節に記載のごとく調製した(RS)-GABOB maleate の標品は129~130°Cの融点を有し, 赤外分光分析及び NMR 分析の結果, di-(RS)-GABOB maleate であることが確認された(図2-1, 2)。

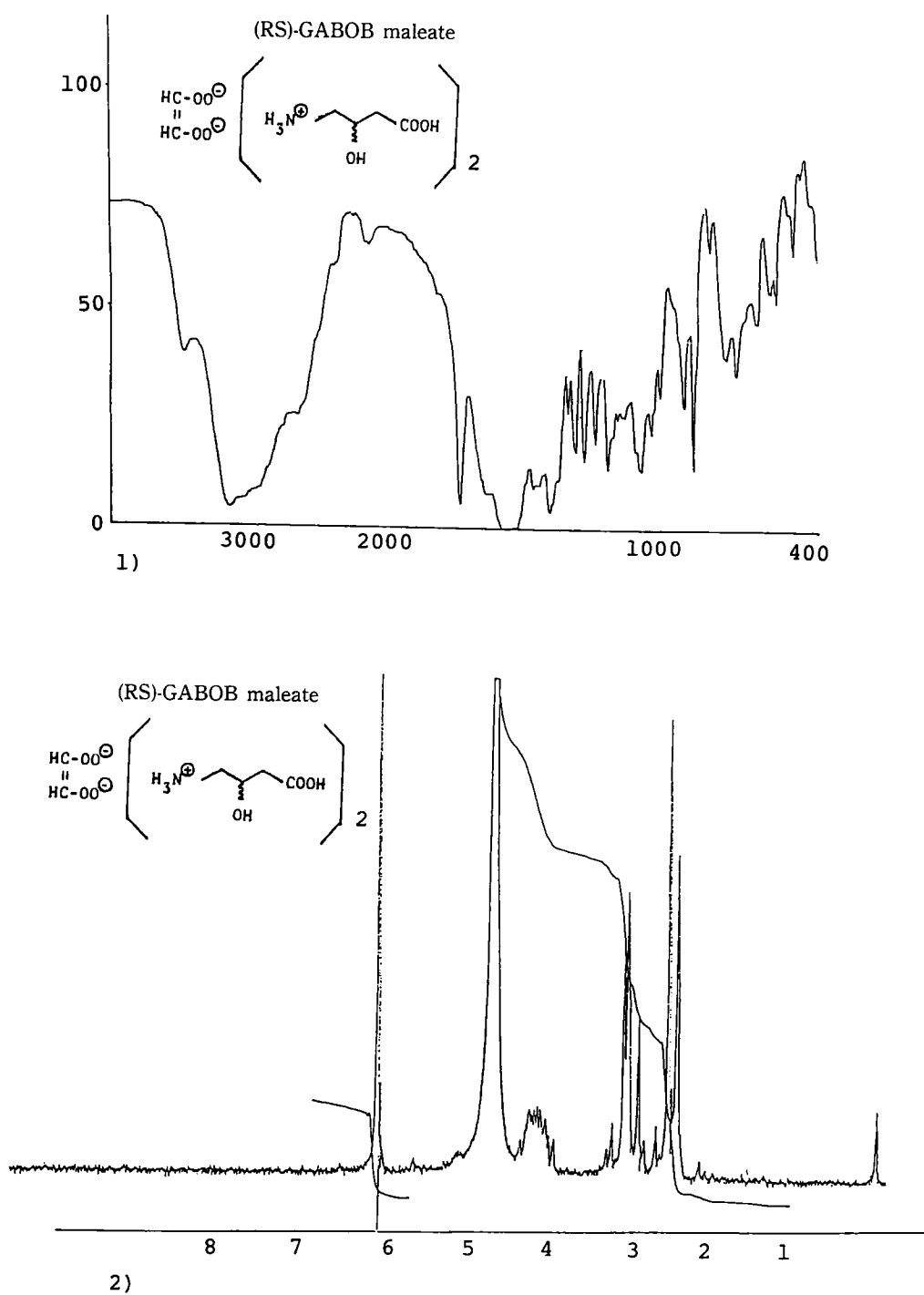


Fig. 2 Analyses of (RS)-GABOB maleate.

1) Infrared spectrum.

2) Nuclear magnetic resonance spectrum.

第2節 PTZ けいれんに対する (RS)-GABOB maleate の効果

1) けいれん閾値に対する作用

PTZ 投与30分前に (RS)-GABOB maleate を静脈内投与し、けいれん閾値に対する作用を調べた結果、11例中9例にけいれん発現までの潜時の延長が認められた (図-3)。

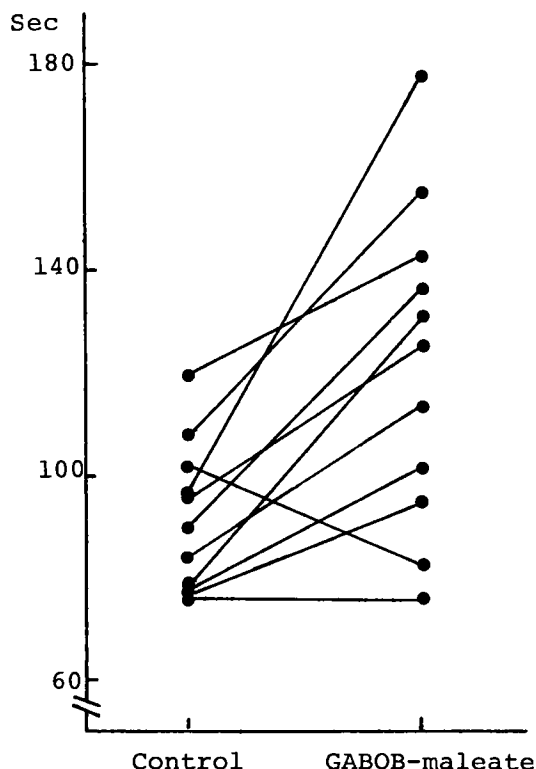


Fig 3 Effect of (RS)-GABOB maleate on pentylenetetrazol induced convulsions of rabbit.

2) 発作波に対する作用

対照群 (PTZ 静注 5 例) では、PTZ 注入直後より皮質下核から spike が出現し、ついで multiple spike discharges に発展することが観察された。そのさい burst の持続は約数10秒間であるが、一定の間歇期間をおいて再出現し、約1時間にわたって反復出現するのが観察された (図4-1)。

次に PTZ 投与30分前に (RS)-GABOB maleate (30mg/kg) を脳室内に注入した例 (5 例) においては、spike 出現までの潜時は約2分30秒であったが、初発の burst の振幅や持続時間

については、PTZ 単独のものとほとんど相違が認められなかった (図4-2)。しかし約10分後には、burst の持続時間の短縮、強度の軽減が認められた。ついで散発性の spike が出現するのが認められたが、15分後には異常波の出現はまったく認められなかった。

(RS)-GABOB maleate の単独投与 (5 例) についても検討を行なったが、投与2時間の観察においては、深部脳波に著明な変化はまったく認められなかった。

第3節 ビククリンけいれんに対する (RS)-GABOB maleate の効果

1) ビククリン誘発発作放電に対する (RS)-GABOB maleate の作用

ビククリン (5 mg/kg) をネコ (5 例) に静注すると全例に高振幅の多棘波が全汎性に波及した。その頻度は1分間に約15回で比較的規則正しく出現し、投与30分後には、多棘波が持続して出現するのが認められた (図5-1)。ビククリン投与60分から90分後には高振幅の多棘波が規則的にくり返して出現するのが観察された。

a) 脳室内投与群

(RS)-GABOB maleate (30 mg/kg) ネコ (7 例) に脳室内投与し、30分後にビククリン (5 mg/kg) を投与すると、ビククリン投与10分後には、対照群に比べて、全例に高振幅多棘波出現の減少が観察され、30分後には著しく減少しているのが認められた (図5-2)。さらに60分から90分後には、高振幅多棘波の出現は認められず、散発性スパイクが1分間に9回から10回の頻度で出現するのが観察された。

b) 静脈内投与群

(RS)-GABOB maleate (30mg/kg) をネコ (3 例) に静脈内投与し、30分後にビククリン (5 mg/kg) を投与すると、投与10分後には、対照群のものと比べて変化は認められないが、30分後には、全例について高振幅多棘波の出現がわずかながら減少しているのが観察された。特にその軽減は、視床中心核、網様体、黒質においてみられた (図5-3)。しかし投与60分から90分後には、対照群の場合とほとんど変化は認められなかった。

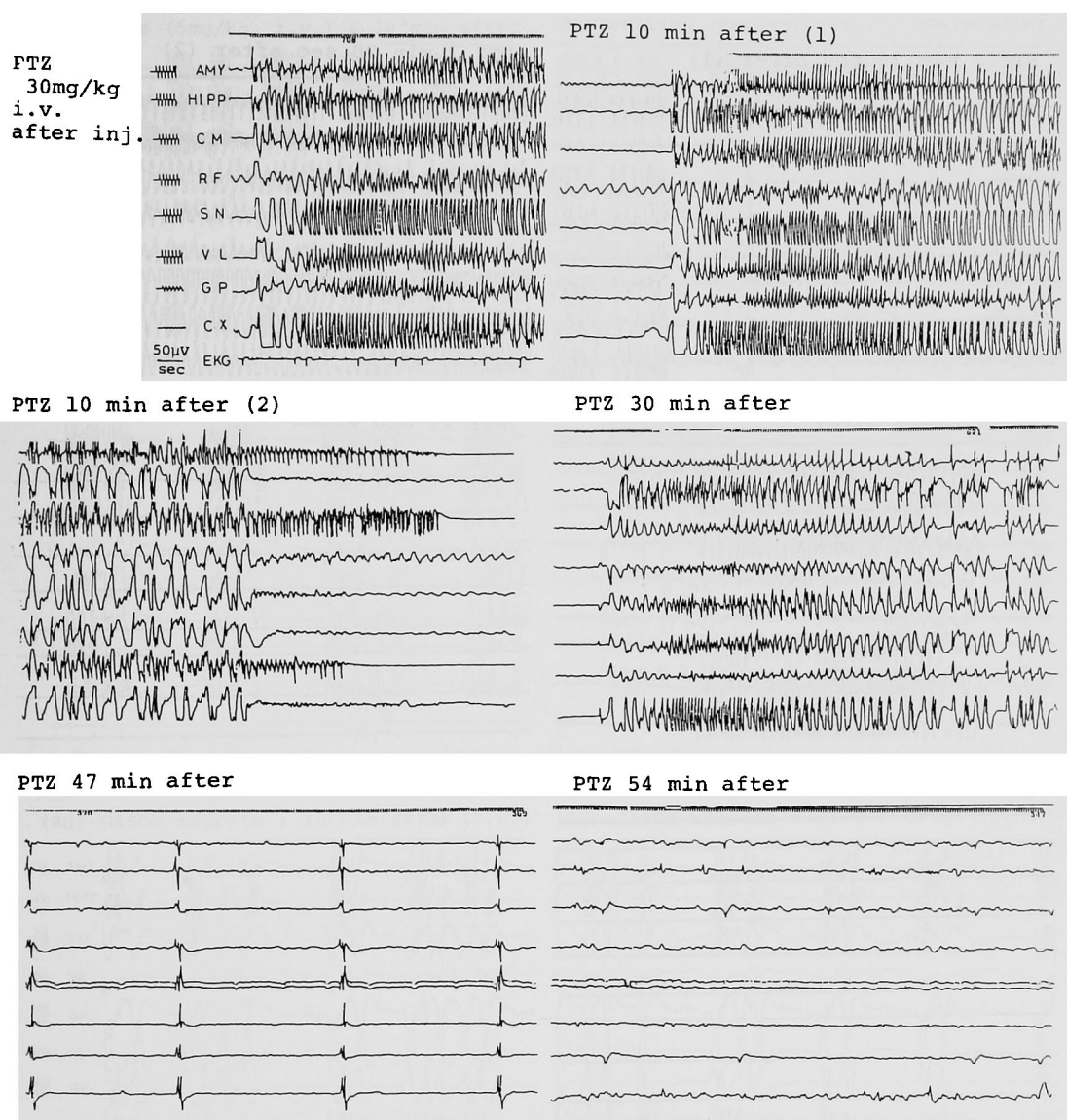


Fig. 4-1 Pentylene-tetrazol induced seizure discharges in cat.
The figure shows an example of 5 cats.

2) ピククリン誘発発作放電に対する (R)-GABOB の作用

a) 脳室内投与群

(R)-GABOB (20mg/kg) をネコ (3例) に脳室内投与し、30分後にピククリン (5mg/kg) を投与すると、10分後には全例について対照群の脳波に比べて高振幅多棘波出現の持続が観察された。投与60分から90分後には、さらに高振幅多棘波出現の延長が認められた (図5-4)。

b) 静脈内投与群

(R)-GABOB (20mg/kg) をネコ (3例) に静脈内投与し、30分後にピククリン (5mg/kg) を投与すると、対照群に比べて高振幅多棘波出現持続の延長が認められた。そのさい、その持続は、60分から90分にわたり観察された (図5-4)。

第4節 ペニシリン誘発発作放電に対する (R-S)-GABOB maleate の効果

ネコにペニシリン G400 単位を大脳皮質に

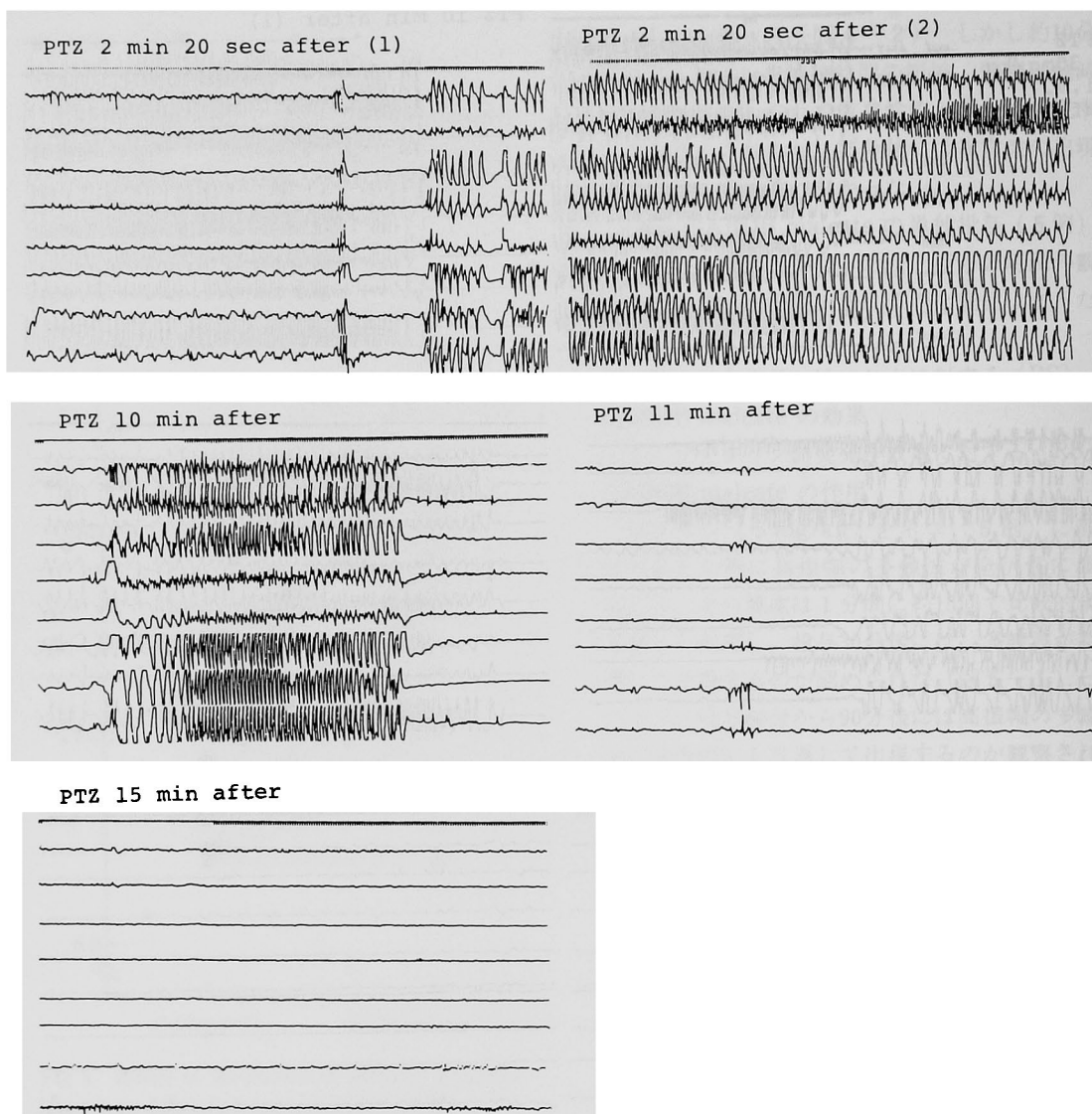


Fig. 4-2 Effect of (RS)-GABOB maleate on pentylenetetrazol induced seizure discharges in cat.
The figure shows an example of 5 cats.

投与すると、ペニシリン注入約10分後より、周期的に律動的な spike 放電が1分間に10回から20回の頻度で1時間以上にわたって出現することが観察された(図6-1)。

つづいて spike 放電を指標に (RS)-GABOB maleate 及び (R)-GABOB の抑制作用を調べた。

図6-2及び図6-3は、ペニシリン spike 放電出現時から、1時間にわたる1分間当たり

の spike 放電数を示した。また対照群はペニシリン単独投与とし、各実験群は5例の平均を示した。

(RS)-GABOB maleate を脳室内投与した場合にはペニシリン誘発発作放電は約75%抑制された。また (RS)-GABOB maleate を静脈内投与した場合には、ペニシリン誘発発作放電の約30%が抑制された。他方、(R)-GABOB を脳室内投与すると、発作放電は、spike 出現後、

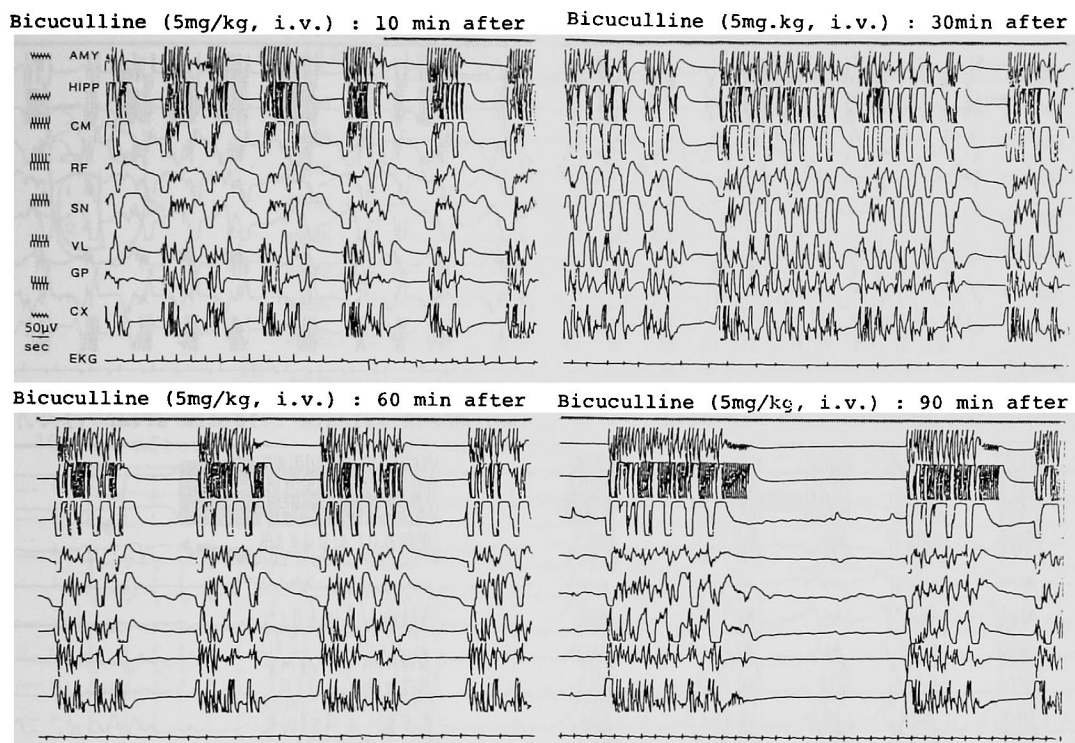


Fig. 5-1 Bicuculline induced seizure discharges in cat. The figure shows an example of 5 cats.

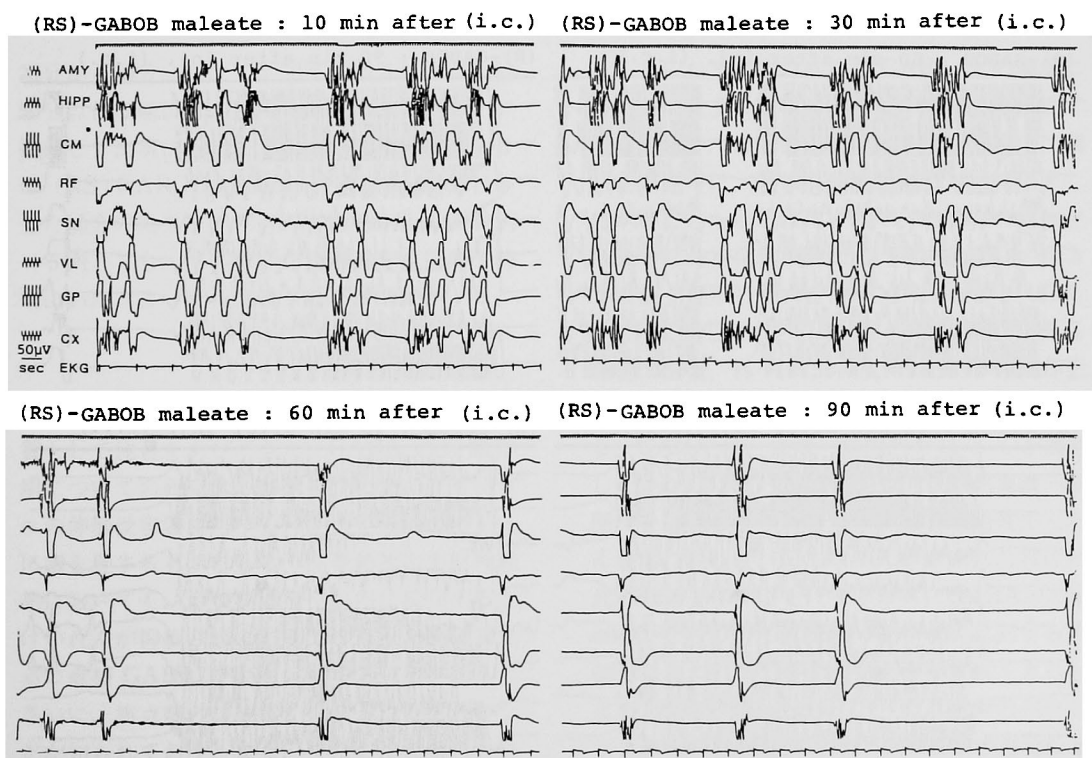


Fig. 5-2 Effect of intracisternal injection of (RS)-GABOB maleate on bicuculline induced seizure discharges in cat. The figure shows an example of 7 cats.

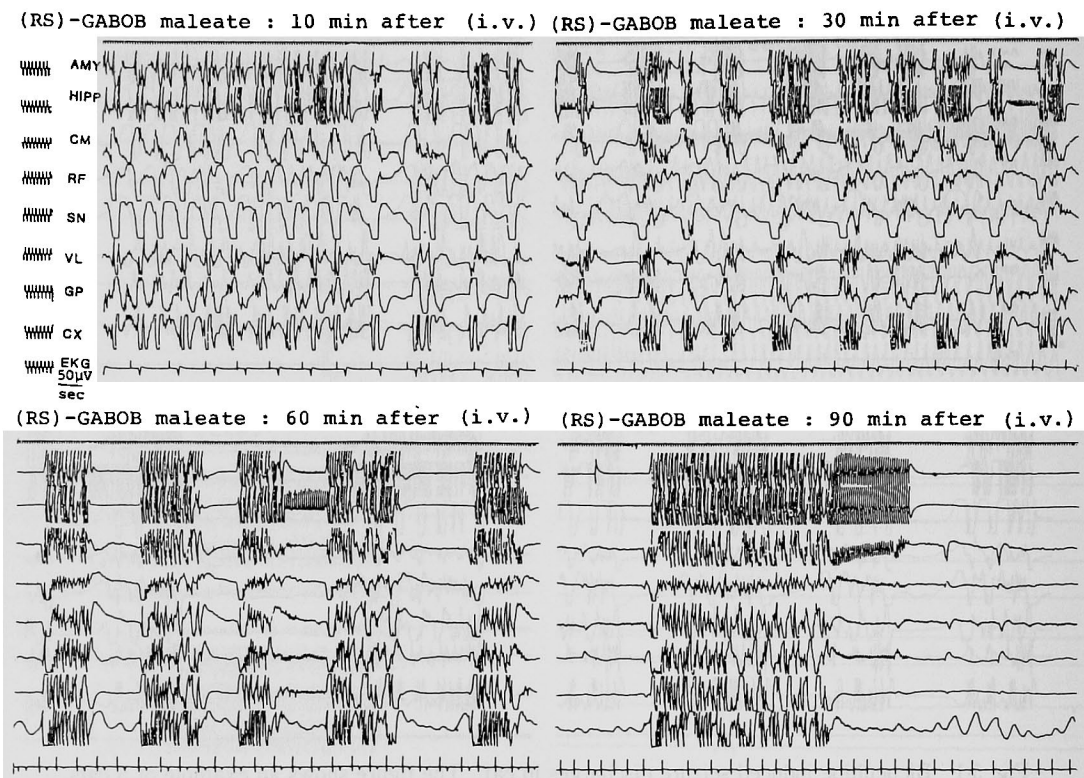


Fig. 5-3 Effect of intravenous injection of (RS)-GABOB maleate on bicuculline induced seizure discharges in cat. The figure shows an example of 3 cats.

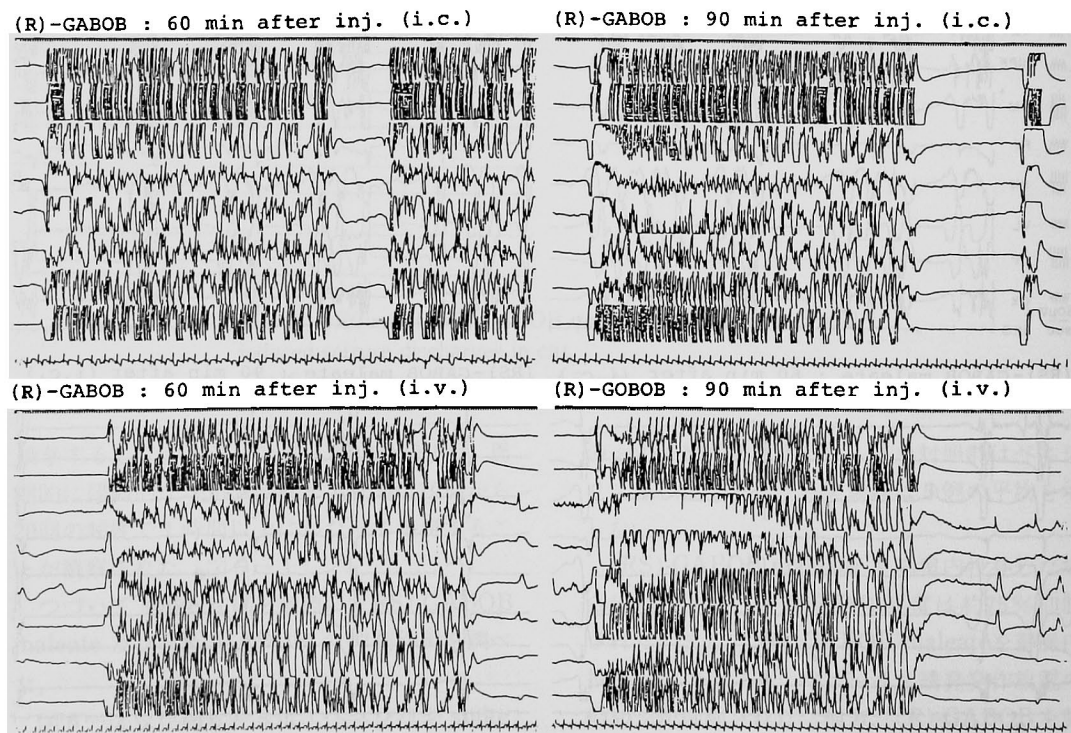


Fig. 5-4 Effect of (R)-GABOB on bicuculline induced seizure discharges in cat. Each experiment shows an example of 3 animals.

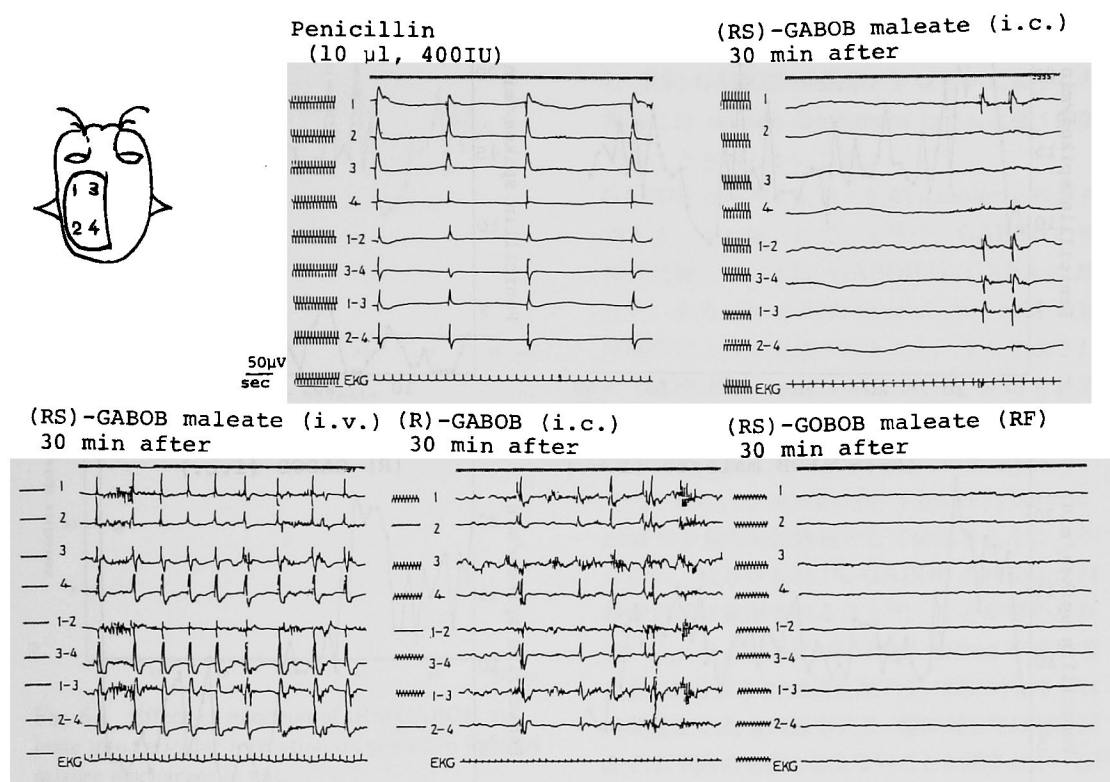


Fig. 6-1 Penicillin induced seizure discharges in cat.
Each figure shows an example of 5 animals.

20分から50分にかけて約50%抑制されたが、約50分以後は逆に multiple spike discharges が持続して出現することが観察された。図6-3は(RS)-GABOB maleateを直接網様体に投与した場合の効果を示すものであるが、全実験例(5例)とも、ペニシリン誘発発作放電は1時間にわたりまったく出現しなかった。

考 按

γ -アミノ酪酸(GABA)は、抑制性神経伝達物質として注目をあびてきた。GABAの抑制作用についての研究は、1954年 Florey のザリガニの伸展受容器に対する抑制因子(factor 1)に端を発するものである。高等動物の中枢神経系においても、直接脳表面や脳内に投与するとけいれんが抑制されること、てんかん脳皮質焦点に直接GABAを貼布して電気刺激を加えたさいに、焦点部の後放電が抑制されること²⁰⁾などが知られており、また、てんかん患者の大脳皮質焦点組織には、GABAの代謝異常が存在す

ること²¹⁾など、けいれんとGABAとの関係については数多くの報告がある^{22,23)}。また最近では、てんかん患者髄液中のGABA濃度は、難治性あるいは、発作高頻度患者において低下していることも示されている²⁴⁾。これらの諸知見は、てんかん発現機構におけるGABAの大きな役割を提示しているものと考えられる。GABOBに関しては、GABAの抑制物質に関する報告の直後、林²⁾によって、GABOBが高等動物の中枢神経系を抑制することが報告されている。GABAは、血液-脳関門をほとんど通過しないが、(RS)-GABOBは、比較的血液-脳関門を通過しやすいこと²⁵⁾、及び難治性てんかん患者に対して、(R)-GABOBが秀れた抗けいれん効果を示すこと¹⁸⁾などから、GABAのagonistである²⁶⁾GABOBのけいれんに対する抑制効果についても多くの研究がなされてきた。また、最近、Chemelloら²⁷⁾は、ネコのペニシリン誘発発作放電が(RS)-GABOBの局所投与あるいは静注(500 mg/kg)により強く抑制す

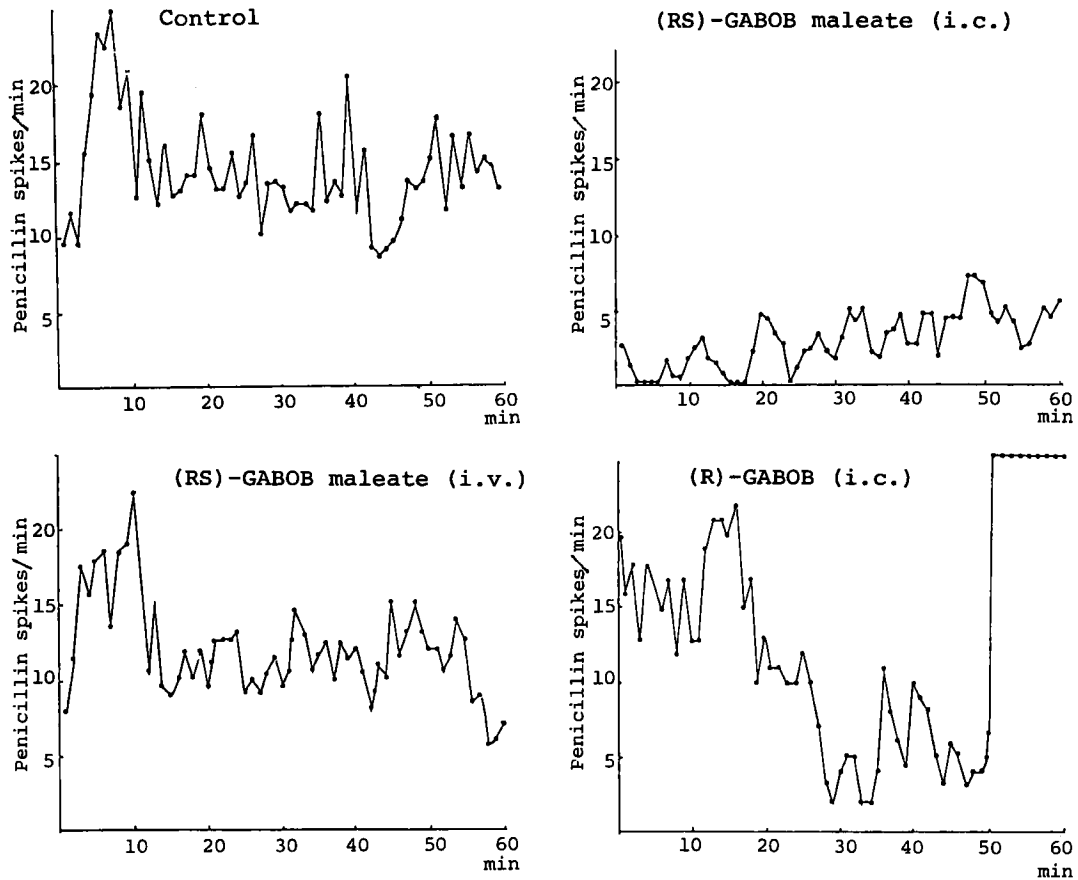


Fig. 6-2 Effect of (RS)-GABOB maleate and (R)-GABOB on penicillin induced seizure discharges in cat.

Each figure shows mean of 5 animals.

The standard error of each value is not shown in the figure to avoid complexity.

ることを報告している。

従来、実験的研究用あるいは臨床治験用に一般に使用されてきた(RS)-GABOB は、R型とS型とが鏡像関係にあり、R型とS型とが1対1に対応して規則正しく配列しているものである(図7-1)。このような、ラセミ化合物においては、(R)-GABOB と (S)-GABOB とはお互いに head to toe fashion に配位しており、従って互いにそれぞれの生理活性を減じているものと想定される。一方、maleate との混合物である (RS)-GABOB maleate の存在様式は、図7-2に示す如く、2分子の GABOB が1分子の maleate と混合物の結晶を形成し、一定数のR型とS型分子に分かれて混合物を形成しているものと想定され、従って、(RS)-GABOB maleate は (RS)-GABOB よりも強い生理活性

を呈するものと考えられる。著者は、(RS)-GABOB maleate を脳室内投与すると、ペニシリン誘発発作放電を強く抑制することを見出すとともに、(RS)-GABOB maleate の静注でも同様に抑制効果を認めたが、著者の用いた投与量は、Chemello らの報告に比べると非常に少ない。

GABOB のラセミ混合物としては、種々の (RS)-GABOB の酸性塩及び塩基性塩が調整可能であるが、われわれの教室の横井らは¹⁹⁾、巨大アフリカマイマイ食道下神経中に同定した巨大神経膜自発発火に対する種々 GABOB ラセミ混合物の作用を検討した結果、(RS)-GABOB maleate と (SR)-GABOB fumarate が強い抑制作用を有することを報告した。著者は、予備実験として、(RS)-GABOB maleate 及び、

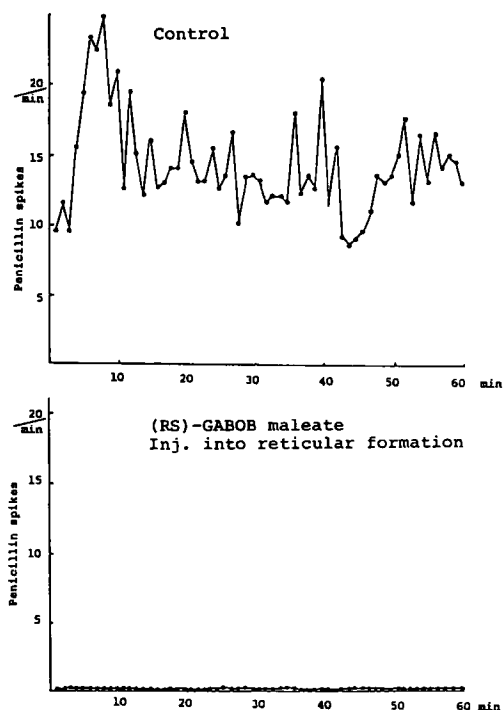


Fig. 6-3 Effect of injection of (RS)-GABOB maleate into reticular formation on penicillin induced seizure discharges in cat.

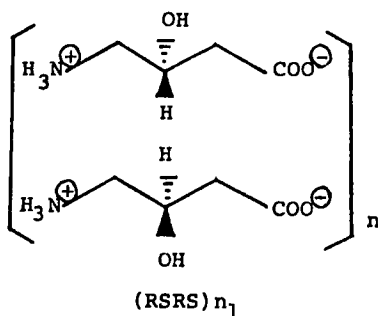
Each figure shows mean of 5 animals.

The standard error of each value is not shown in the figure to avoid complexity.

内に投与すると、PTZ 並びにピククリンの seizure discharges を抑制することを観察し、また (RS)-GABOB maleate を脳室内に投与した場合には seizure discharges はさらに強く抑制することを明らかにした。

GABOB は脳内に $0.01 \sim 0.05 \mu \text{ moles/g}$ 程度存在することが知られている^{28,29}。GABOB の生体内代謝については、GABOB は、GABA の酸化²⁸、あるいは β -hydroxyglutamic acid の脱炭酸³⁰によって生成されること、また生成された GABOB は、aminoacetoacetic acid を経て glycine と酢酸になること、投与された GABOB はほとんどそのままの型で排泄されるが、その一部は、 γ -acetamide- β -hydroxybutyric acid や少量の未知物質として排泄されること³¹、さらに、投与された ^{14}C -GABOB の約80%が24時間以内に排泄されること³²、などが報告されている。さらに (R)-GABOB 400mg を被検者に経口投与すると、血清遊離アミノ酸に対しては24時間後までは、また尿中アミノ酸に対しては48時間までは、何らの変化も与えないことが示されている³³。Mori ら¹⁵は、ペニシリン誘発発作活動に対し

1.) 4-amino-3(RS)-hydroxybutanoic acid
[(RS)-GABOB]



2.) di-(RS)-GABOB maleate

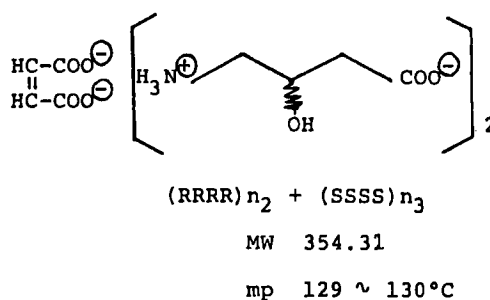


Fig. 7 Chemical structure of (RS)-GABOB and (RS)-GABOB maleate.

(RS)-GABOB fumarate の、ウサギの PTZ けいれん閾値に対する作用を検討した結果、(RS)-GABOB maleate は、明らかにけいれん発現までの潜時を延長させたが、(RS)-GABOB fumarate は、何の抑制効果を示さないことを見出した。ついで、(RS)-GABOB maleate を静脈

て、(R)-、(RS)- 及び (S)-GABOB の皮質焦点への直接投与の作用を検討し、(R)-GABOB が最も抑制作用の強いことを認めているが、その他にも、(R)-GABOB が (S)-GABOB よりも強い抑制作用を示すことが報告されている^{11,14,16,17}。著者は、(RS)-GABOB maleate と、

Table 1 Inhibitory action of 4-amino-3(RS)-hydroxybutanoic acid (RS-GABOB) maleate on seizures of cat

Treatment	RS-GABOB maleate i.c.	RS-GABOB maleate i.v.	R-GABOB i.c.	R-GABOB i.v.
Pentylentetrazol (30mg/kg, i.v.)	+++			
Penicillin (400 Unit, into cortex)	++	+	-	
Bicuculline (5mg/kg, i.v.)	++	+	-	-

Inhibition: +++ completely inhibited.
 ++ more than 50% inhibited.
 + slightly inhibited.
 - no effect.

(R)-GABOB との抑制作用を比較検討したところ(表1), (RS)-GABOB maleate を脳室内あるいは静脈内に投与した場合には, ペニシリン誘発発作放電が抑制されるのに対して, (R)-GABOB を脳室内に投与した場合には何らの抑制効果も認められないこと, さらに, (RS)-GABOB maleate はビククリンによる seizure discharges を抑制するが, (R)-GABOB は, 脳室内投与並びに, 静脈内投与のいずれも, 何の抑制効果を示さないことを明らかにした。これらの諸成績と, 従来の GABOB についての数多くの研究成果を勘案すると, (RS)-GABOB maleate は, 種々の GABOB 製剤のうち, 最も強い抑制作用を示すことが示された。

つぎに, (RS)-GABOB maleate を網様体に直接投与した場合には, ペニシリン誘発発作放電が完全に抑制されることが認められた。また, ビククリン誘発発作が (RS)-GABOB maleate の静注により特に, 網様体などにおいて軽度ではあるが抑制効果が観察されたことも興味深い。さらに, Gale ら³⁴⁾ は, γ -vinyl GABA 20 μ g をラットの網様体に投与すると中脳の GABA 含有量が約3~4倍増加するとともに, 最大電撃けいれんが長期にわたって抑制されることを報告している。これらの諸事実を勘案すると, けいれん抑制には, 中脳網様体の GABA 系機構が重要な役割を演じていることが示唆される。

結 論

ウサギの PTZ けいれん閾値及びネコの PTZ, ビククリン及びペニシリン誘発発作に対する (RS)-GABOB maleate 並びに (R)-GABOB の抑制効果を検索し, 次のことを明らかにした。

1. (RS)-GABOB maleate の静注により, PTZ けいれん閾値の増加が認められた。
2. (RS)-GABOB maleate の脳室内投与により, PTZ 誘発発作波出現までの潜時の延長, burst の頻度の減少, 及び burst 持続時間の短縮が認められた。
3. (RS)-GABOB maleate の脳室内投与により, ビククリン誘発発作波の著明な抑制が認められ, また, 静脈内投与により発作波の軽度の抑制が認められた。
4. (RS)-GABOB maleate の脳室内投与により, ペニシリン誘発発作波の著明な抑制が認められ, 静脈内投与によっては, 軽度の抑制が示された。
5. (RS)-GABOB maleate を中脳網様体へ直接注入すると, ペニシリン誘発発作波の出現が完全に抑制されることが示された。
6. (RS)-GABOB maleate のペニシリン誘発発作波抑制作用は, (R)-GABOB よりも強かった。

謝 辞

終りにあたり、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜
 わりました森 昭胤教授ならびに、直接御指導、御
 協力いただきました平松 緑助手に、また、ラセミ
 混合物の調製についての御援助と有益な御助言を賜

わりました三和化学名古屋研究所所長、黒野 昌
 庸博士、および小野薬品工業中央研究所、宮本 茂
 敏先生に深く感謝の意を捧げます。さらに本論文の
 遂行にあたり、御援助いただいた教室の皆様にご心か
 ら御礼申し上げます。

文 献

1. Tomita, M.: Synthese der γ -amino- β -oxybuttersäure, *Z. physiol. Chem.* **124**, 253—258, 1923.
2. Hayashi, T.: *Neurophysiology and Neurochemistry of convulsion*, Dainihon-Tosho, Tokyo, pp.191—220, 1959.
3. Purpura, D.P., Girado, M., Smith, T.G., Callan, D.D. and Grundfest, H.: Structure-activity determinants of pharmacological effects of amino acids and related compounds on central synapses. *J. Neurochem.*, **3**, 238—268, 1959.
4. Krnjevic, K. and Phillis, J.W.: Ionophoretic studies of neurones in the mammalian cerebral cortex, *J. Physiol. (Lond.)*, **165**, 273—304, 1963.
5. Krnjevic, K.: Actions of drugs on single neurones in the cerebral cortex, *Br. Med. Bull.*, **21**, 10—14, 1965.
6. Krnjevic, K. and Schwarz, S.: The action of γ -aminobutyric acid on cortical neurones, *Exp. Brain Res.* **3**, 320—336, 1967.
7. Crawford, J.M. and Curtis, D.R.: The excitation and depression of mammalian cortical neurones by amino acid, *Br. J. Pharmacol.* **23**, 313—329, 1964.
8. Musashi, A. und Tomita, K.: Konstitutionsermittlung der Isomeren der γ -amino- β -hydroxybuttersäure durch erschöpfende Methylierung, *Z. physiol. Chem.* **304**, 64—68, 1956.
9. Tomita, M., Tomita, T. und Tomita, K.: Zur Kenntnis der Struktur von Enantiostereomeren der γ -amino- β -hydroxybuttersäure, *Z. physiol. Chem.* **316**, 121—126, 1959.
10. Lindstedt, S. and Lindstedt, G.L.: Synthesis of DL-4-amino-3-hydroxybutyric acid [carboxy- ^{14}C], DL-carnitine-[carboxy- ^{14}C] and (—)-carnitine-[methyl- ^{14}C], *Arkiv. Kemi.* **22**, 93—96, 1964.
11. Hayashi, T.: The inhibitory action of β -hydroxy- γ -aminobutyric acid upon the seizure following stimulation of the motor cortex of the dog, *J. Physiol.* **145**, 570—578, 1959.
12. 大口雅人：高等動物中枢神経の陰性化学的伝達物質としての 1- β hydroxy γ -aminobutyric acid (1-GABOB) について、日本生理学雑誌, **22**, 899—906, 1960.
13. 黒野昌庸, 宮本茂敏, 重岡毅, 森昭胤：4-アミノ-3R-ヒドロキシブタン酸アミドおよび4-アミノ-3S-ヒドロキシブタン酸アミドまたはそれらの塩の製造法, 公開特許公報特開, 昭51—100026.
14. 片山泰人：4-amino-3-hydroxybutanoic acid (GABOB) の体内代謝と中枢抑制作用に関する研究—特に光学異性体についての比較検討—, 岡山医誌, **88**, 209—221, 1976.
15. Mori, A., Kobayashi, K., Kishikawa, H. and Katayama, Y.: Inhibitory action of (R)-(—)- γ -amino- β -hydroxybutyric acid on penicillin-induced spike activity in cat brain, *IRCS Med. Sci.* **3**, 124, 1975.
16. Katayama, Y. and Mori, A.: Inhibitory action of (3R)-(—)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid on N-amidinobenzamide induced seizure activity in cat brain, *IRCS Med. Sci.* **5**, 437, 1977.
17. Aishita, H., Akimoto, A. and Makita, T.: Comparison of the inhibitory effects of GABOB optical isomers on seizure discharges elicited by electrical stimulation of the motor cortex in rabbits, *IRCS Med.*

- Sci.*, 6, 115, 1978.
18. 森昭胤, 六川二郎, 岩田吉一, 片山泰人: (3R)-(-)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid によるてんかん治療法に関する研究, 精神薬療基金研究年報, 10, 161~166, 1978.
 19. 横井功, 森昭胤, 黒野昌庸, 宮本茂敏: 軟体動物巨大神経細胞に対する種々 GABOB 塩類の作用, 日本生理学雑誌, 41, 284, 1979.
 20. 西本詮, 沼本満夫, 森昭胤: GABA 及び GABOB の皮質誘導脳波に及ぼす影響について, 総合医学, 19, 393-397, 1962.
 21. Tower, D.B.: *Neurochemistry of Epilepsy*, Thomas, Springfield, 1960.
 22. 森昭胤: てんかんの生化学的アプローチ, 小児内科, 13, 1915-1921, 1981.
 23. 森昭胤: 中枢けいれんの生化学的機構, とくに神経伝達物質に関して, 脳神経外科, 7, 923-931, 1979.
 24. 森昭胤: てんかんの臨床生化学—特に神経伝達物質について—, 脳神経, 34, 1129-1136, 1982.
 25. 森昭胤: 林猷先生の思い出—特に GABOB 研究を中心として—, 脳研究会会誌, 7, 236-245, 1982.
 26. Jung, M.J., Lippert, B., Metcalf, B.W., Böhlen, P. and Schechter, P.J.: γ -Vinyl GABA (4-amino-hex-5-enoic acid), A new selective irreversible inhibitor of GABA-T: Effects on brain GABA metabolism in mice, *J. Neurochem.* 29, 279-802, 1977.
 27. Chemello, R., Giaretta, D., Pellegrini, A. and Testa, G.: Effects of gamma-amino-beta-hydroxybutyric acid (GABOB) on experimentally induced epileptic activities, *Rivista di Neurologia* 1, 1-23, 1980.
 28. 井上和久: 脳の γ -amino- β -hydroxybutyric acid に関する研究 (1) ^{14}C - γ -aminobutyric acid の生成について, 生化学, 31, 127-129, 1959.
 29. Ohara, K., Sano, I., Koizumi, H. and Nishimura, K.: Free β -hydroxy- γ -aminobutyric acid in brain, *Science* 129, 1225-1226, 1959.
 30. 金行孝雄, 森昭胤, 高坂睦年: ネコ脱炭酸酵素による β -hydroxyglutamic acid より GABOB の生成に関する研究, 条件反射, 111, 147-150, 1971.
 31. Yoshikawa, T.: Studies on γ -amino- β -hydroxybutyric acid, III. Metabolism of γ -amino- β -hydroxybutyric acid in perfusion through the liver and brain, *Acta Med. Okayama* 15, 141-152, 1961.
 32. 高田彰一, 丹治昭治: 未発表
 33. 森昭胤, 片山泰人, 六川二郎: (3R)-(-)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid (l-GABOB) によるてんかん治療に関する研究, II. 特に l-GABOB 投与後の血中濃度および尿中排泄について, 精神薬療基金研究年報, 11, 195-199, 1979.
 34. Gale, K. and Ladarola, M.: Drug-induced elevation of GABA after intracerebral microinjection: site of anticonvulsant action, *Eur. J. Pharmacol.* 68, 233-235, 1980.

**Inhibitory action of 4-amino-3(RS)-hydroxybutanoic
acid maleate on pentylenetetrazol, bicuculline and
penicillin induced seizure discharges in cats**

Akihiro NUMOTO

Department of Neurochemistry, Institute for Neurobiology,

Okayama University Medical School

(Director: Prof. A. Mori)

Effects of 4-amino-3(RS)-hydroxybutanoic acid maleate [(RS)-GABOB maleate] on threshold of pentylenetetrazol (PTZ) induced convulsion in the rabbit, and PTZ, bicuculline or penicillin induced seizure discharges in cats were examined and found following results;

An intravenous (i.v.) injection of (RS)-GABOB maleate increased the threshold of convulsion, and an intracisternal (i.c.) injection of it prolonged latency for onset of spike discharges and decreased frequency and duration of the burst. The i.c. injection of (RS)-GABOB maleate apparently inhibited the both bicuculline and penicillin induced seizure discharges and the i.v. injection slightly depressed them.

An injection of (RS)-GABOB maleate into the reticular formation absolutely inhibited the penicillin induced seizure discharges.

The inhibitory action of (RS)-GABOB maleate on the penicillin induced abnormal discharges was stronger than that of (R)-GABOB.