

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）

片 山 泰 人

（昭和50年11月26日受稿）

緒 言

γ -aminobutyric acid (GABA と略す) が、強力な中枢抑制作用を有することはよく知られている。一方、GABA の β 位が水酸化された 4-amino-3-hydroxybutanoic acid すなわち、 γ -amino- β -hydroxybutyric acid (GABOB と略す) にも同様の中枢抑制作用が存在することが Hayashi (1959)¹⁾ のイヌを用いた種々の痙攣抑制実験によって明らかにされた。以来、この GABOB に関する生理学的生化学的研究が多岐にわたってなされてきた。また同時に、てんかんや頭部外傷後遺症などの治療にも広く用いられてきた。

さて、GABOB は最初 Tomita (1923)²⁾ が、carnitine 合成の中間体として合成した物質であるが、合成された GABOB は通常ラセミ体であり、その後の GABOB に関する諸研究のほとんどのものはラセミ体を用いておこなわれてきたし、また、現在臨床的に使用されている諸 GABOB 製剤もラセミ体である。

GABOB の光学分割は、Musashi と Tomita (1956)³⁾ および Tomita ら (1959)⁴⁾ によって初めて試みられた。彼らは、GABOB の N-benzoyl 誘導体を Burcine 塩にして分割し、 $[\alpha]_D^{20} = +18.30^\circ$ (H_2O) と $+3.21^\circ$ (H_2O)、ならびに $[\alpha]_D^{20} = -21.4^\circ$ (H_2O) と -3.40° (H_2O) の合計 4 種類の GABOB を得たと報告している。その後、Lindstedt ら (1964)⁵⁾ は、Tomita らの方法に従って分割をおこない $[\alpha]_D^{20} = +20.4^\circ$ (H_2O) と、 -21.45° (H_2O) を示す 2 種類の GABOB を得ている。

最近、黒野ら (1974)⁶⁾ は、GABOB の amide すなわち (RS)-4-amino-3-hydroxybutyramide-HCl を camphor-10-sulfonic acid を用いて分割した後、

(3S)-(+)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid (d-GABOB と略す), mp. 224-225°C (decomp.) $[\alpha]_D^{20} = +20.13^\circ$ ($C=1.165 \cdot H_2O$)、および (3R)-(-)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid (l-GABOB と略す), mp. 224-225°C (decomp.) $[\alpha]_D^{20} = -20.71^\circ$ ($C=0.92 \cdot H_2O$) を合成することに成功した (図 1)。

Hayashi (1959)¹⁾ および大口 (1960)⁷⁾ は l-GABOB と dl-GABOB との痙攣抑制作用を比較して、l-GABOB が dl-GABOB より強力な抑制作用を示すことを報告しているが、完全に l-および d-GABOB の精製をおこなって、その代謝や作用を比較した報告はまだない。

したがって今回、光学活性 ^{14}C -GABOB のマウス生体内代謝ならびに、光学活性 GABOB の中枢抑制作用の相違について比較検討をおこなった。

実験材料と方法

I) 実験動物

a) 岡山大学医学部総合動物実験室系統維持部門で飼育されている Swiss 系アルビノマウス (体重 25-30g) 雌雄をトレーサー実験に用いた。

b) 体重 3-4 kg の成熟雌雄ネコを、ペニシリン皮質焦点に対する抑制作用の脳波学的検索に用いた。

c) 沖縄より入手したアフリカマイマイ (*Achatina fulica* Férussac) の巨大神経細胞を抑制作用の電気生理学的検索に用いた。

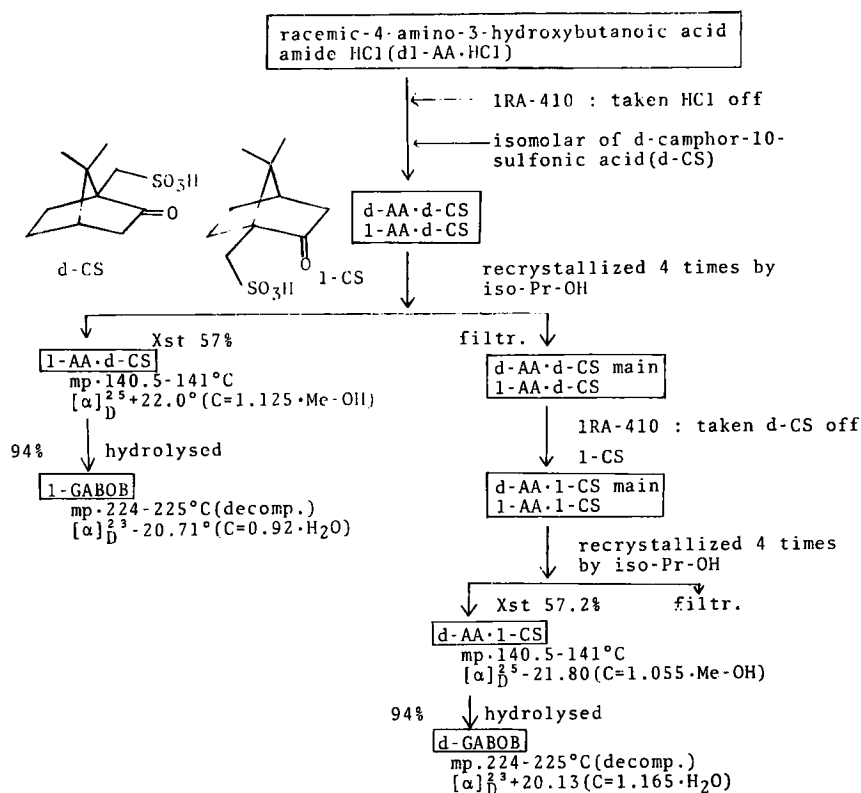
II) トレーサー実験

a) アイソトープ

^{14}C -標識化光学活性 GABOB の合成は、epichlorohydrin に $Na^{14}CN$ を作用せしめ、 γ -chloro- β -hydroxybutyronitrile ($-^{14}CN$) を作製して標識化した後、 γ -chloro- β -hydroxybutyramide ($-^{14}CO-$

図1 光学活性 GABOB の調製法

PREPARATION OF (3S)-(+)-AND (3R)-(-)-4-AMINO-3-HYDROXYBUTANOIC ACID FROM RACEMIC-4-AMINO-3-HYDROXY-BUTANOIC ACID AMIDE HCl



NH₂)を経て, (RS)-¹⁴C-GABOB-amide を合成し, 黒野らの方法に従って光学分割をおこない調製した (図2)。

この様に調製された光学活性¹⁴C-GABOB に, それぞれの carrier を加え, 比放射能を5.6 μCi, 1 mg/0.2 ml 水溶液としてマウス腹腔内(ip)に投与した。

なお, 脳内取りこみの確認実験には, 比放射能5 μCi, 1 mg/0.2 ml 水溶液としたものを用いた。

b) 放射能測定方法

放射性 l-, dl-, および d-GABOB (¹⁴C) を, 雌雄一対 (各群14匹) のマウスに腹腔内投与した後, 経時的に血液, 肝, 腎および脳を摘出し, また経日的に尿を採取して, それらに含まれる放射能を測定した。

マウスは, ドライアイス・アセトンまたは液体チッ素を用いて迅速に凍結したのち, 各臓器を摘出し,

放射能測定までは, -20℃にて保存した。

放射能測定は, 各臓器約20-30 mg を秤量し, バイアル瓶内で, SolueneTM 100 (Packard) 0.5-1.0 ml 加え溶解し, 液体シンチレーター [2,5-Diphenyl-oxazole (PPO) 0.4% と, 1,4-bis-2-(4-Methyl-5-Phenyloxazole)-Benzene (M₂POPOP) 0.01% とをトルエンに溶かす] 10 ml を加え, Liquid scintillation spectrometer (Aloka LSC-653) で β 線測定をおこない, 組織 1 mg 当りの dpm を算定した。

また, 血液はドライアイス・アセトンまたは液体チッ素投入直前に毛細管で眼底網膜血管より採血したものを用い, 同様に処理して, 1 μl 当りの dpm 値を求めた。

採尿は簡易型代謝ケージを用いておこない, 尿を濾紙に吸着させ, 水50 ml で抽出し, 1 日当りの排泄 dpm 値を求めた。

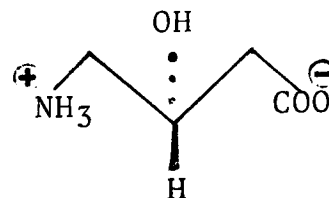
図2 放射性 GABOB の立体化学構造

OPTICAL ISOMER OF 4-AMINO-3-HYDROXYBUTANOIC ACID

(3S)-(+)-4-AMINO-3-HYDROXYBUTANOIC ACID

d-γ-amino-β-hydroxybutyric acid

abbrev. : d-GABOB



(3R)-(-)-4-AMINO-3-HYDROXYBUTANOIC ACID

l-γ-amino-β-hydroxybutyric acid

abbrev. : l-GABOB

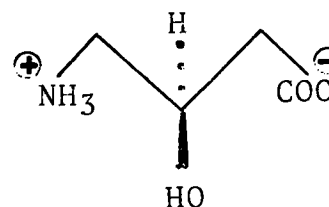
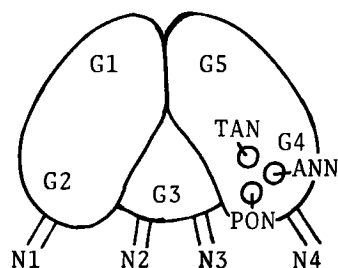


図3 アフリカマイマイの食道下神経節中に固定した巨大神経細胞

Identifiable autoactive neurones in african giant snail

Dorsal surface of subesophageal ganglia



TAN: tonically autoactive neurone

dopamine[I], 5-HT[E], Ach[I]

AAN: arhythmically autoactive neurone

dopamine[O], 5-HT[O], Ach[E]

PON: periodically oscillating neurone

dopamine[E], 5-HT[E], Ach[O]

I: 抑制, E: 興奮, O: 反応なし

Ⅲ) ネコ大脳皮質ペニシリン焦点に対する抑制作用実験

ネコ大脳皮質に下記のごとくペニシリン焦点を作成し、光学活性 GABOB ならびに GABA の抑制効果を比較検討した。

まず、ネコ (体重 3-4 kg) をネンブタール麻酔下 (5 mg/kg 体重) に挿管し、サクシニールコリンで非動化したのち、解蓋し、大脳皮質内にペニシリン G 400 単位を microsyringe で注入した。そのさい脳波の観察をおこなうと、注入後約 20 分ぐらいで、1 分間当り 20 位の規則正しい spike が出現するようになった。ついで、光学活性 GABOB および GABA をそれぞれ 10^{-3} M になるように生理食塩水に溶解し、 4×4 mm² の綿片に浸し、焦点上に topical に投与をおこない、これらの薬物の spike (棘波放電) に対する効果を調べた。

Ⅳ) アフリカマイマイの巨大神経細胞の自発発火に対する作用の検索

アフリカマイマイの食道下神経節中に自発発火を有する巨大神経細胞を同定し、その電気活動に対する l-および d-GABOB, ならびに GABA の抑制作用を観察した。

使用した神経細胞は、図 3 に示すように、dopamine (DA) で抑制 (I), serotonin (5-HT) で興奮 (E), acetylcholine (Ach) で抑制を示す tonically autoactive neurone (TAN) と呼ばれる神経細胞である。

検定は、Takeuchi (1975)⁸⁾の方法にしたがっておこなった。同定した神経細胞 TAN に微小ガラス電極を刺入し、biopotential をオシロスコープで観察し、pen writer で記録させるほか、spike counter により spike discharge の数を自動的に算定、記録した。

l-および d-GABOB と GABA の投与法は, bath-application 法 (a)⁸ と microdrop-application 法 (b)⁹ とを用いておこなった。

a) bath-application 法:

l-および d-GABOB と GABA とをアフリカマイマイ用生理的溶液¹⁰⁾に溶解 (10^{-4} g/ml) し, 神経節の置かれている実験槽の中へ直接投与し, 神経細胞の電気活動を spike counter で記録した。

b) microdrop-application 法:

micropipetteの先端に, 直径 $100\mu\text{m}$ のmicrodropを油圧で作成 [l-および d-GABOB: 500pg (10^{-3} g/ml), GABA: 50pg (10^{-4} g/ml)] し, 直接神経細胞表面に付着させ, biopotential の変化を pen writer で記録した。

実験成績

I) 投与された GABOB 光学異性体の諸組織への取りこみと尿中排泄の比較について

放射性 l-, dl-および d-GABOB をマウスに腹腔内投与した後, 経時的に血液, 肝, 腎および脳組織中の, また経時的に尿中の放射能を測定し, つぎの成績を得た。

a) 血液:

いずれの GABOB 異性体も投与後15分で最高値に達した (l: 107, dl: 80, d: 78dpm/ μl)。その後漸減し, 6時間後にはほとんど検出されなくなった (図4)。

b) 肝:

いずれの GABOB 異性体も投与後30分で最高値に達した (l: 6028, dl: 5379, d: 4748dpm/mg)。その後24時間後まで漸減するが, 減少の速度は l-, dl-, d-GABOB の順であった (図5)。

c) 腎:

いずれの GABOB 異性体も投与後15分あるいは30分で最高値に達した (l: 15分, 1716 ; 30分, 1696, dl: 1504 ; 1661, d: 1236 ; 1236dpm/mg)。その後24時間後まで漸減するが, 減少速度は肝と同様に l-, dl-, d-GABOB の順序であった (図6)。

d) 脳:

いずれの GABOB 異性体も投与後30分で最高値が認められるが, 移行の値は, 肝, 腎に比べて極めて低かった (l: 73, dl: 22, d: 16dpm/mg)。脳では放射能の減少も比較的早く, 3時間後には, l-GABOB 以外はほとんど認められなくなった (図7)。

図4 GABOBの血液への移行

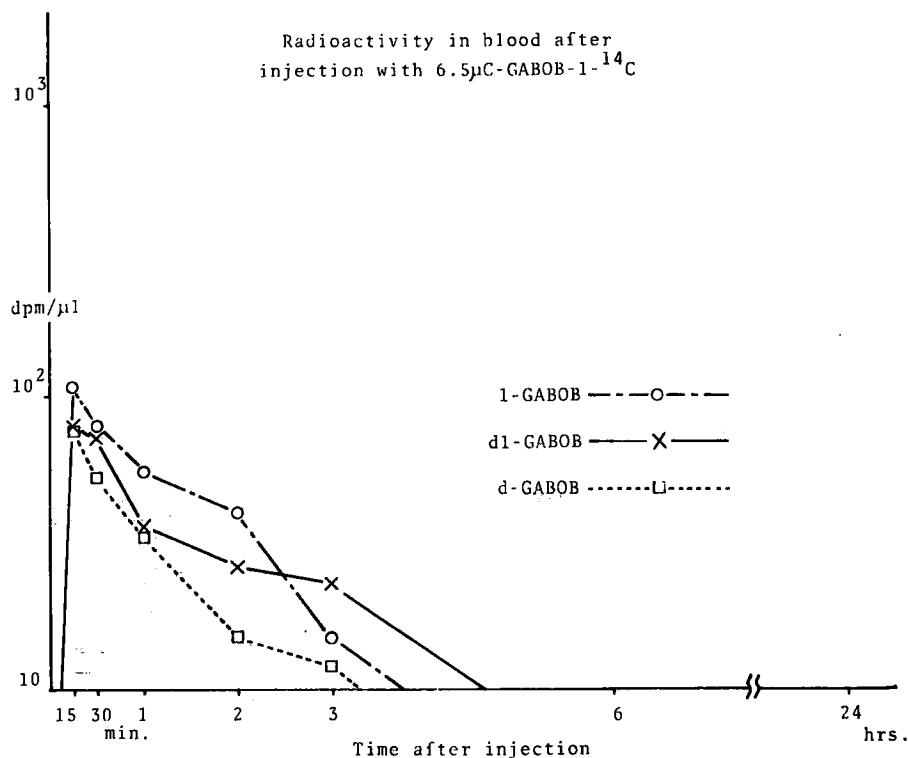


図5 GABOBの肝への取りこみ

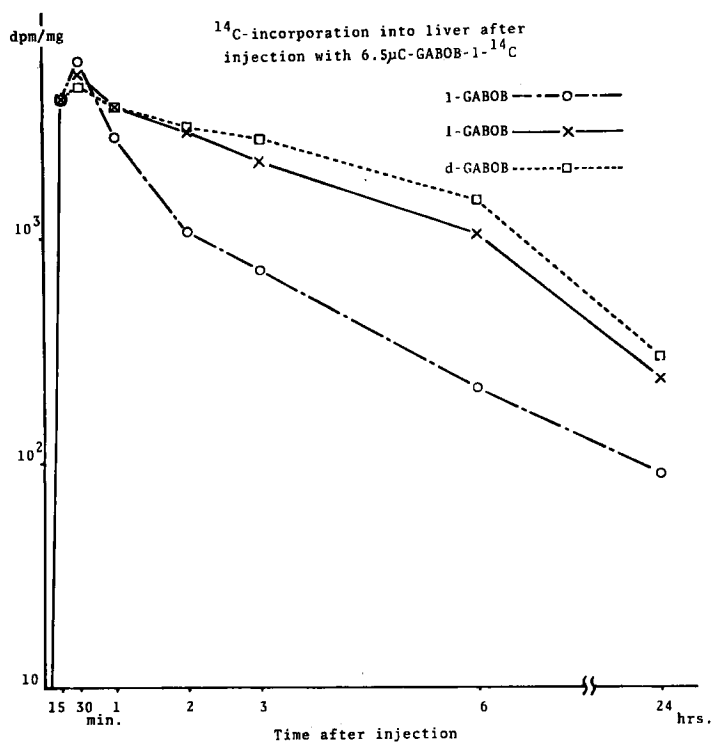


図6 GABOBの腎への取りこみ

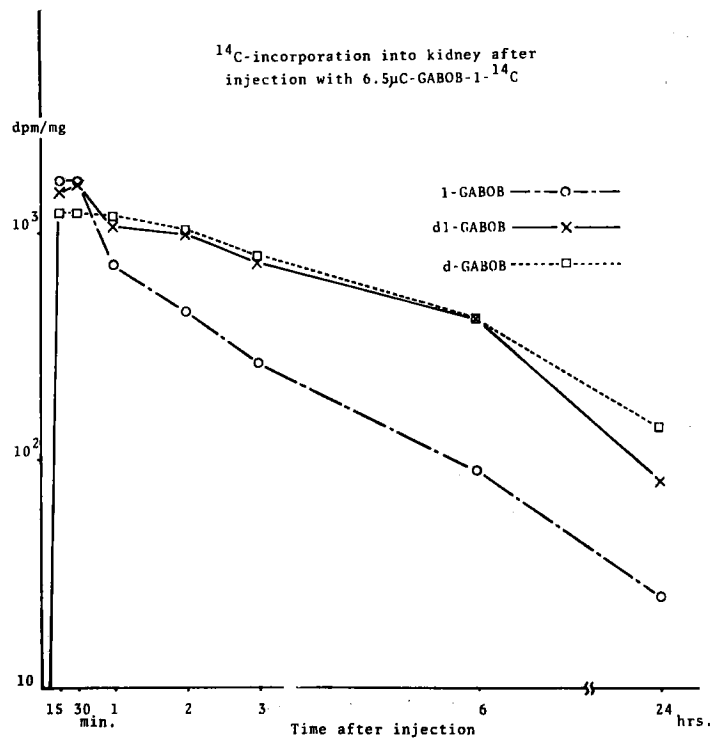


図7 GABOBの脳内への取りこみ

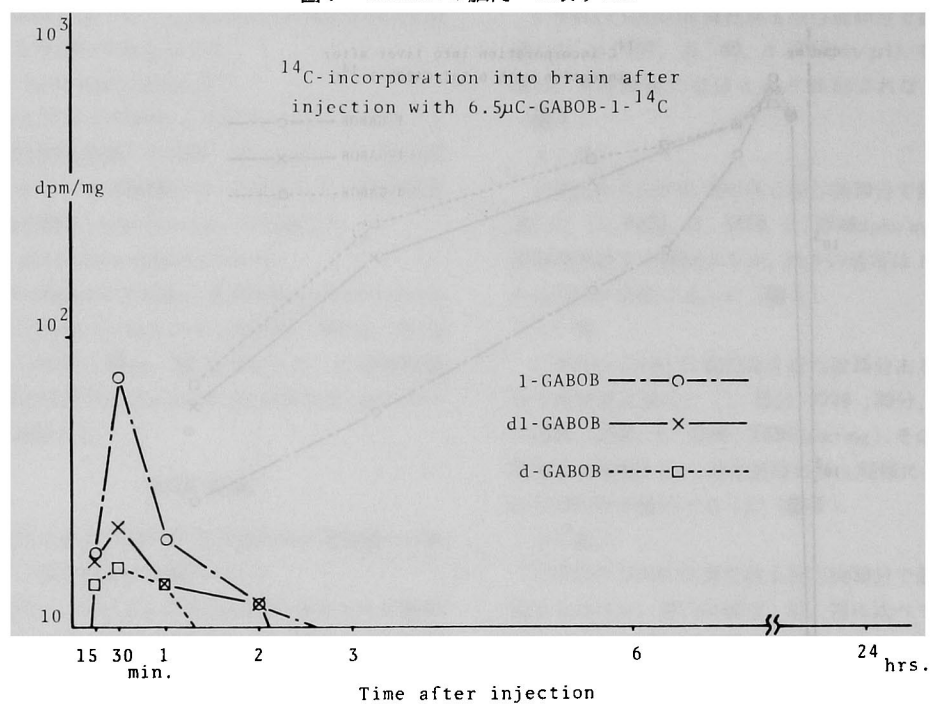
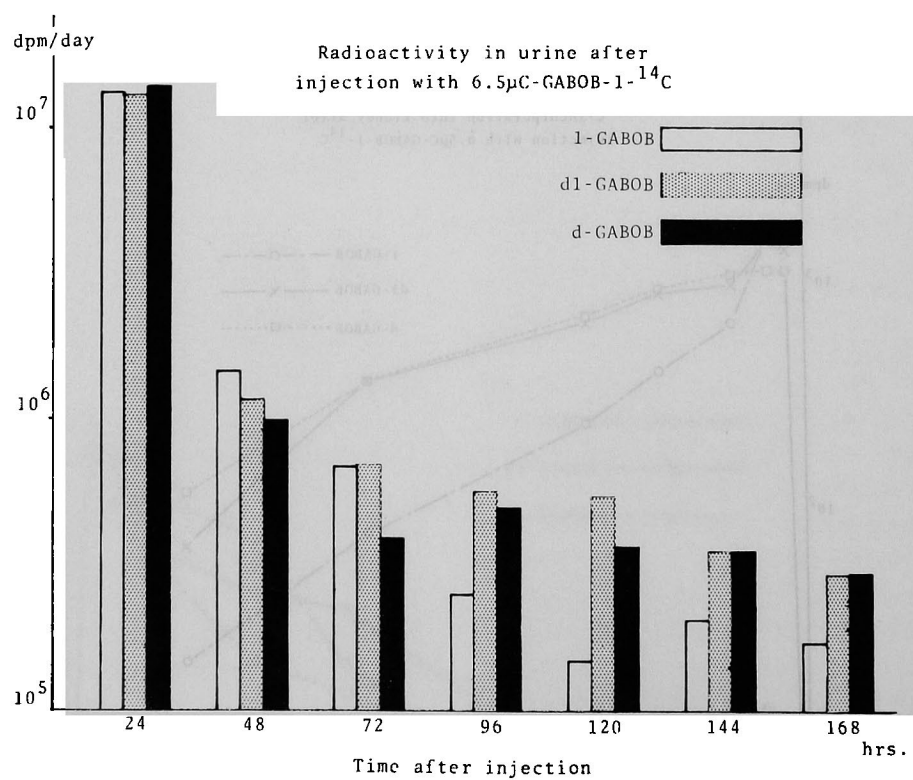


図8 GABOBの尿中排泄



e) 尿中排泄:

いずれの GABOB 異性体も投与後24時間以内に大部分が尿中に排泄された。そのさい、l-, dl-, および d-GABOB の間には相違は認められなかった (l: 投与量の81%, dl: 80%, d: 83%), ついで48時間後までに投与量の約90%が排泄された (図8)。

以上が血液, 肝, 腎, 脳および尿中排泄に関する結果であるが, いずれも投与後15分から30分の間に取りこみの値は最高に達した。脳以外の臓器への取りこみにも最高値からみると一応 l 型がより取りこまれるように思われるが, 有意な相違とは思われない。けれども, 脳の場合は明らかに l-GABOB が最も高い取りこみ値を示した。また, 尿中への排泄は, l-, dl-, および d-GABOB 間には相違はなく, 投与後48時間で投与量の約90%が排泄された。他方, l-, dl- および d-GABOB の減少速度はかならずしも一定しておらず, 肝および腎においては, l-, dl-, d-GABOB の順で, 脳においては逆に d-, dl-, l-GABOB の順であった。

II) 光学活性 GABOB のマウス脳内への取りこみの比較
各群6匹のマウスに l-, dl- および d-¹⁴C-GABOB 5 μ Ci, 1 mg/0.2ml 水溶液を腹腔内投与し, 30分後の脳内取りこみを比較し, 前述の実験結果の確認をおこなった (表1)。

その結果, l-GABOB の30分後の取りこみ値は 19.8

± 6.5 dpm/mg で, d-GABOB (10.0 ± 3.8 dpm/mg) に比べ, その取りこみ値は高く, 約2倍の値を示した。dl-GABOB は両者の中間よりやや低い値 (13.2 ± 6.2 dpm/mg) を示した。

III) ペニシリン皮質焦点棘波放電に対する GABOB 光学異性体の抑制作用の比較

ネコ大脳皮質にペニシリン焦点を作成し, その棘波放電におよぼす光学活性 GABOB ならびに GABA の抑制効果を比較検討した結果, つぎの成績を得た。

a) 10^{-3} M d-GABOB は, 投与8分から10分後に軽度の抑制作用を示した (抑制率, 6例平均: 64.5 ± 3.8 %) (図9)。

b) 10^{-3} M dl-GABOB は, 投与約4分後に急激

表1: GABOB 脳内取りこみ

—光学異性体による相違—

Radioactivity of the brain (dpm/mg tissue)
30 min. after i. p. injection of 5 μ Ci ¹⁴C-GABOB

Exp. No.	Optical isomer		
	l	dl	d
1	11.5	17.8	4.5
2	16.5	20.4	11.9
3	31.2	10.9	7.9
4	21.9	15.2	10.4
5	23.1	9.6	16.7
6	14.3	5.2	8.6
Av. $\pm$ S. D.	19.8 $\pm$ 6.5	13.2 $\pm$ 6.2	10.0 $\pm$ 3.8

図9 光学活性 GABOB のネコ大脳皮質ペニシリン焦点棘波放電に対する影響

Effect of optical isomer GABOB on penicillin-induced
spike activity of cat brain

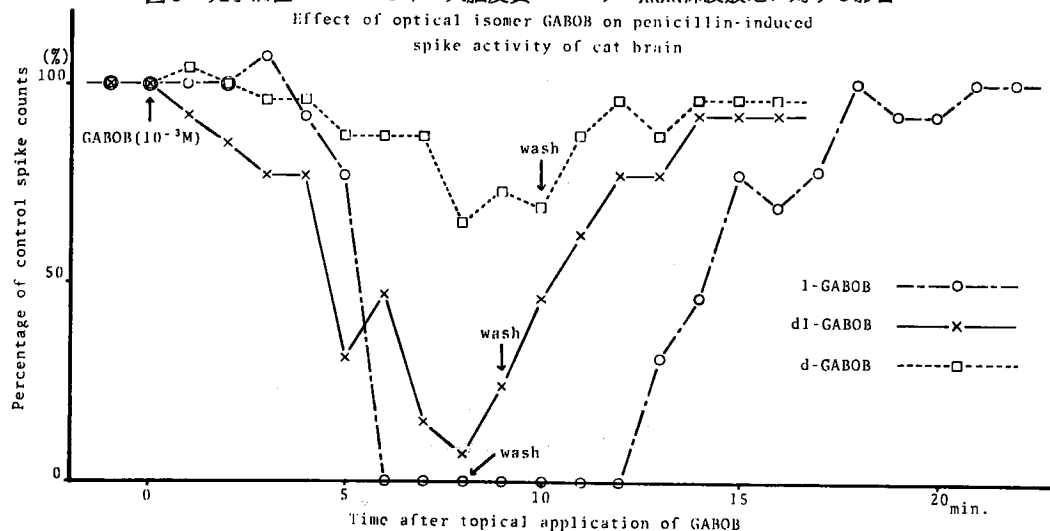


図10 GABAのネコ大脳皮質ペニシリン焦点棘波放電に対する影響

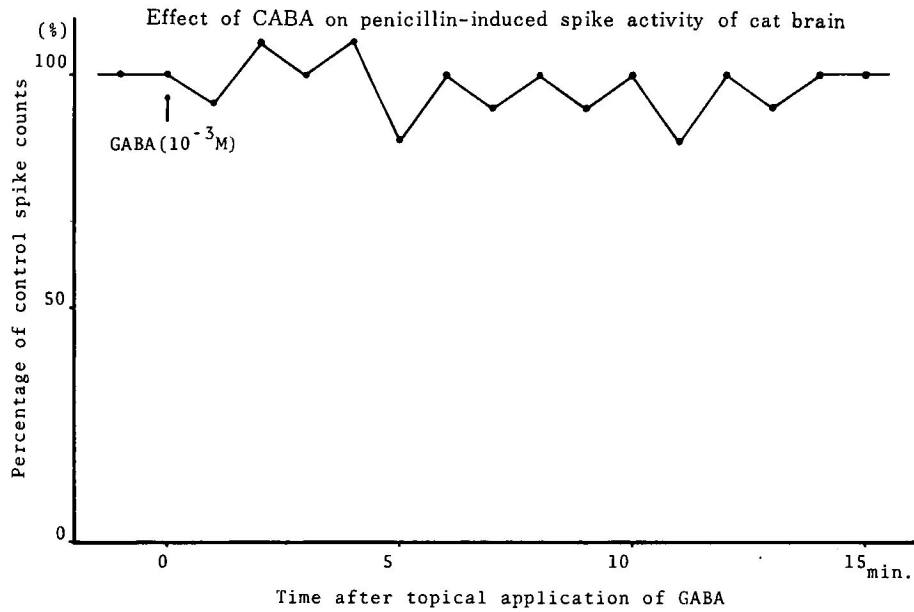


図11 bath application 法による神経細胞 TAN に対する l-, d-GABOB および GABA の作用

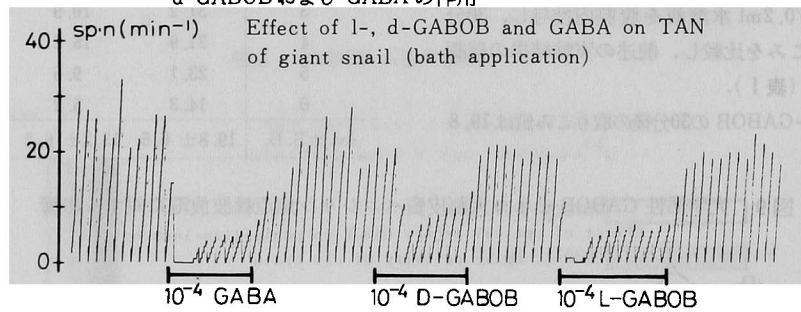
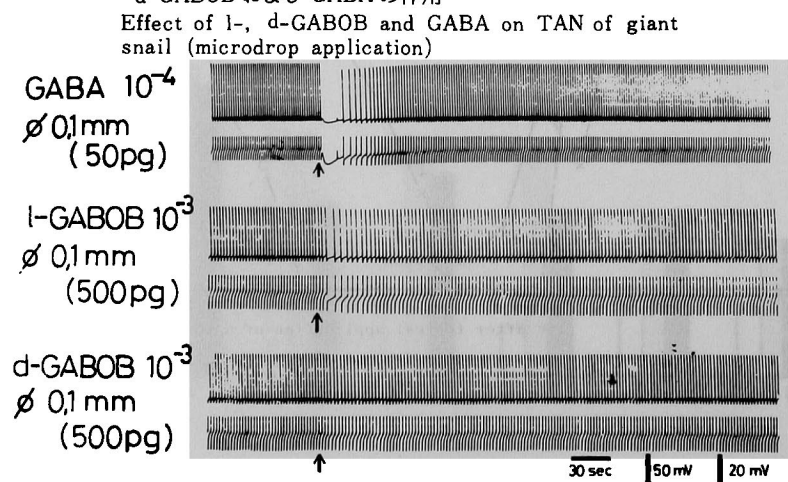


図12 microdrop application 法による神経細胞 TAN に対する l-, d-GABOB および GABA の作用



な抑制作用を示し、約8分後に spike 数は最少となった。しかし、spike の完全な消失には至らなかった (抑制率, 6例平均: $16.4 \pm 8.5\%$) (図9)。

c) $10^{-3}M$ l-GABOB は極めて強力な抑制作用を示し、投与6分後には、実験例6例とも spike は完全に消失した。そして、生理食塩水で l-GABOB を洗滌した後も約4分間は spike が再出現しなかった (図9)。

d) $10^{-3}M$ GABA はまったく抑制作用を示さなかった (図10)。

IV) 巨大神経細胞の自発発火に対する GABOB 光学異性体の抑制作用の比較

アフリカマイマイの食道下神経節中に同定された巨大神経細胞 TAN の自発発火に対する l-および d-GABOB, ならびに GABA の抑制作用を調べた。

a) 図11は bath-application 法によっておこなった結果である。すなわち、 $10^{-4}g/ml$ の l-および d-GABOB のいずれにも抑制作用がみられたが、その作用は l-GABOB の方が強かった。なお、 $10^{-4}g/ml$ の GABA は l-GABOB よりもさらに強い抑制作用を示した。

b) 図12は, microdorp-application 法によっておこなった結果である。

50pg の GABA では、一過性の膜の過分極と、ほぼ1分間ほど続く spike の減少をみた。l-GABOB は500pg で GABA 同様の作用を示したが、その作用は GABA に比べて弱かった。他方、500pg の d-GABOB によっては何らの変化も観察されなかった。

考 按

GABOB の光学分割は, Musashi と Tomita (1956)³⁾, Tomita ら (1959)⁴⁾, Lindstedt ら (1964)⁵⁾ によって試みられているが、分割方法が複雑で、純度や収量などについても難があった。最近、黒野ら (1974)⁶⁾ は (RS)-4-amino-3-hydroxybutyramide-HCl を camphor-10-sulfonic acid を用いて光学分割する方法を考案したが、この方法によると、前者らに比べて、比較的容易に高純度の GABOB 光学異性体を高収量に分割し、調製できる。今回、この方法によって調製された l-, dl-および d-GABOB を用いて、生体内代謝ならびに中枢抑制作用を調べた。

従来、GABA などのアミノ酸類は、血液-脳関門のため、脳内へはほとんど移行しないといわれており、このため、経口的あるいは注射によって投与された GABA などの脳内における薬理作用の検索

が困難となっている。しかし、GABA の β 位水酸基置換体である GABOB に関しては、森 (1974)¹⁰⁾ が ^{14}C -GABOB をネコやマウスに投与し、そのオートラジオグラフィーにより、この GABOB が血液-脳関門を通過し、脳へ移行すること、および頭部外傷ネコ脳のオートラジオグラフィーにより、GABOB が外傷部位により集りやすい傾向があることを観察しており、今回の実験はさらに GABOB は投与後30分目において脳内への取りこみ値が最高に達すること、および脳内への取りこみには光学異性による相違がみられ、l-型が最もよく脳へ移行することを明らかにした。なを、この GABOB の光学異性による相違が見られることは、血液-脳関門系が光学異性体の識別をおこなうことを示唆している点、極めて興味深い。

ネコ大脳皮質ペニシリン焦点の棘波放電に対する GABOB の作用の検索から、l-GABOB が最も強い抑制作用を示し、dl-GABOB がつぎに強く、d-GABOB は軽度の抑制作用のみを示すことがわかったが、これらの相違は GABOB が大脳皮表面下約0.1-0.2mm の焦点組織へ浸透していくさいの透過速度の相違、あるいは (および) GABOB の光学異性体に対するレセプターの選別能の相違に基づくものと考えられよう。

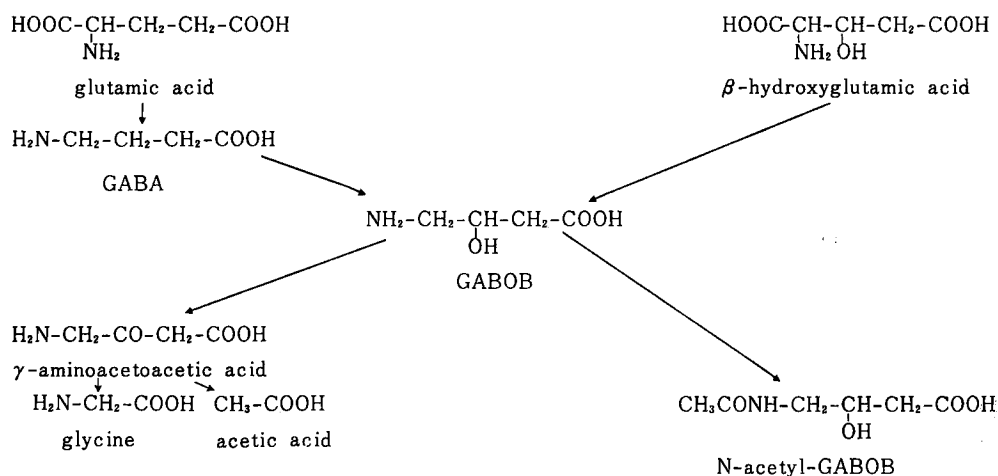
つぎに、アフリカマイマイの巨大神経細胞 TAN の自発発火に対して、l-GABOB (および、やや弱いが d-GABOB) は抑制作用のあることを知った。GABA の抑制作用は、TAN 細胞膜に対する直接的な過分極作用であり、GABA を putative inhibitory synaptic transmitter とすれば、GABOB はその agonist であろうと考えられる。

さて、TAN においても、ペニシリン皮質焦点とにおいてみられたごとく l-型と d-型との識別がおこなわれ、抑制作用に相違がみられたことは、TAN レセプターの光学異性体における選択性を示すもので、今後の化学受容の分子レベルにおける解析に役立つものと考えられる。

つぎに、ペニシリン皮質焦点棘波放電に対する GABA および GABOB の作用の実験成績において、GABA は、アフリカマイマイの巨大神経細胞 TAN に対しては強力な抑制作用を有するにもかかわらず、ペニシリン焦点に対しては何ら抑制作用を示さなかったことも興味深い。大脳皮質ニューロンに対して、GABA が過分極を引き起こすことや、抑制作用についての報告がなされているが¹²⁻¹⁶⁾ このペニシリンに

よって誘発された棘波放電に対しては何ら作用を示さなかったことの理由として、GABAを脳皮表面に直接投与しても焦点まで到達しないことが想定される。事実、GABAを脳皮表面に直接投与すると、組織内への浸透はその近隣域に限られている¹⁷⁾といわれており、またGABAは脳組織内では広汎に分布している transaminase によってすばやく分解されてしまう^{11, 16)}ために、ペニシリン焦点に抑制のための効果量が到達されえず、GABOBと同濃度のGABAによっては抑制作用が認められなかったのかも知れない。

Hayashi¹⁾は、電激あるいはグルタミン酸ソーダなどの化学物質で惹起した痙攣に対しては、GABOBはGABAよりも数倍強い抑制作用があるといっている。



GABOBの合成に関しては、GABAのβ酸化による過程、あるいはβ-hydroxyglutamic acidの脱炭酸による過程などが想定される。

Hayashi¹⁾は、イヌの脳切片を用いて、GABAのβ酸化によりGABOBが生成されることを報告している。また井上(1959)¹⁶⁾も同様に、ウサギ大脳皮質を用いて、glutamic acidより脱炭酸酵素の作用を受けGABAが生成され、ついでβ酸化によりGABOBが生成されることを報告している。それに対して、金行ら(1971)²¹⁾は、ネコ脳を用いて、β-hydroxyglutamic acidが脱炭酸酵素の作用を受け、GABOBになることを明らかにしている。

一方、GABOBの分解過程については、Yoshikawa(1961)²²⁾は、ウサギの脳や肝を用いて、GABOBは、γ-aminoacetoacetic acidを経て、glycineと酢酸とに分解されるのではないかと述べている。また最

脳内へ取りこまれたGABOBは3—6時間の間に分解されてしまうことが、今回の実験で明らかになったが、GABOBの生体内、特に脳内存在に関して、井上(1959)¹⁶⁾は、ウシの脳10kgから10mgのGABOBを取り出すことに成功し、またOharaら(1959)²⁰⁾は、マウス、ウサギ、ウシ、ヒトなどの脳内にGABOBが存在することを報告している。しかし、脳内に存在する量について、アミノ酸分析装置を用いると、β-alanineとoverlapするなど、分離方法などに問題があり、正確な値はわからないが、0.01—0.05 μmoles/g程度存在し、脳内GABA総量の数—数十百分の1ぐらいであると考えられている。

生体内におけるGABOBの生成および分解過程についてもいくつかの報告があり、それらを要約すると、下記のごとくである。

近、高田ら²³⁾は、マウスに経口投与したGABOBは、ほとんどGABOBそのままの形で排泄されるが、一部は、γ-acetoamide-β-hydroxybutyric acid(N-acetyl-GABOB)、および少量の未知物質として排泄されることを報告している。

著者も48時間尿において、高田らの方法にしたがって検索し、GABOBはl-型およびd-型ともに大部分そのままの形で排泄されるが、一部はl-型とd-型ともにN-acetyl-GABOBとなることをたしかめた。しかし、l-型およびd-型との間に量的には有意な差を認めることはできなかった²⁴⁾。

最近、加藤ら(1975)²⁵⁾は、l-GABOBはラット成長ホルモンの分泌を促進させるが、d-GABOBにはその作用がほとんどないことを報告しているが、これらもl-GABOBの生理作用を解明するための糸口となろう。

結 論

光学活性 4-amino-3-hydroxybutanoic acid (GABOB) の生体内代謝と、中枢抑制作用に関する相違を比較検討してつぎのごとき知見を得た。

1) 光学活性 ^{14}C -GABOB ($1-^{14}\text{C}$) を合成し、マウスの腹腔内に投与し、血液、肝、腎および脳内への取りこみを経時的に、また尿中排泄を経日的に調べた。

2) 脳以外の組織への取りこみについては、l-GABOB と d-GABOB との間に特に著しい相違は認められなかったが、脳への取りこみは、l-GABOB が最も優れており、ついで dl-GABOB、d-GABOB の順であった。

3) ネコ大脳皮質ペニシリン焦点の棘波放電に対する影響を比較検討した。その結果、l-GABOB は極

めて強い抑制作用を有すること、d-GABOB は非常に弱い抑制作用を有すること、ならびに dl-GABOB はそれらの中間の作用を有することを明らかにした。

4) アフリカマイマイの食道下神経節中に同定された巨大神経細胞の自発発火に対して、l-GABOB は d-GABOB よりも強い抑制作用を示した。

終わりにあたり、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜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竹内宏助教授、病態生化学部門小林清史講師、岸川秀実先生に、また、光学活性 GABOB の合成についての御援助と、有益な御助言を賜った小野薬品工業中央研究所黒野昌庸博士に深く感謝の意を捧げます。さらに実験遂行にあたりましては終始快く御協力下さいました坪井幸枝嬢、白石由紀子嬢をはじめ研究室の皆様に心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) Hayashi, T.: Neurophysiology and Neurochemistry of Convulsion, 191-220, Dainihon-Tosho, Tokyo, 1959.
- 2) Tomita, M.: Synthese der γ -Amino- β -Oxybuttersäure, Z. Physiol. Chem., 124, 253-258, 1923.
- 3) Musashi, A. und K. Tomita: Konstitutionsermittlung der Isomeren der γ -Amino- β -hydroxybuttersäure durch erschöpfende Methylierung, Z. Physiol. Chem., 304, 64-68, 1956.
- 4) Tomita, M., T. Tomita und K. Tomita: Zur Kenntnis der Struktur von Enantiostereomeren der γ -Amino- β -hydroxybuttersäure, Z. Physiol. Chem., 316, 121-126, 1959.
- 5) Lindstedt, S. and G. Lindstedt: 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.
- 6) 黒野昌庸, 宮本茂敏, 重岡毅, 森昭胤, 未発表.
- 7) 大口雅人: 高等動物中枢神経の陰性化学伝達物質としての l- β -hydroxy- γ -aminobutyric acid (l-GABOB) について, 日本生理学雑誌, 22, 899-906, 1960.
- 8) Takeuchi, H., I. Yokoi, A. Mori and M. Kohsaka: Effects of nucleic acid components and their relatives on the excitability of Dopamine sensitive giant neurones, identified in subesophageal ganglia of the african giant snail (*Achatina fulica* Férussac), Gen. Pharmac., 6, 77-85, 1975.
- 9) Takeuchi, H., I. Yokoi, A. Mori and S. Ohmori: Effects of glutamic acid relatives on the electrical activity of an identified molluscan giant neurone (*Achatina fulica* Férussac), Brain Research, 103, 261-274, 1976.
- 10) Matsumoto, M., T. Morimasa, H. Takeuchi, A. Mori, M. Kohsaka, J. Kobayashi and F. Morii: Amounts of inorganic ions and free amino acids in hemolymph and ganglion of the african giant snail, *Achatina fulica* Férussac, Comp. Biochem. Physiol., 48 A, 465-470, 1974.

- 11) 森昭胤：脳内アミノ酸の生理と生化学，科研化学株式会社，1974.
- 12) Purpura, D. P., M. Girado, T. G. Smith, D. D. Callan and H. Grundfest: Structure-activity determinants of pharmacological effects of amino acids and related compounds on central synapses, *J. Neurochem.*, **3**, 238—268, 1959.
- 13) Krnjevic, K. and J. W. Phillis: Ionophoretic studies of neurones in the mammalian cerebral cortex, *J. Physiol. (Lond.)*, **165**, 273—304, 1963.
- 14) Krnjevic, K.: Actions of drugs on single neurones in the cerebral cortex, *Brit. Med. Bull.*, **21**, 10—14, 1965.
- 15) Krnjevic, K. and S. Schwartz: The action of γ -aminobutyric acid on cortical neurones, *Exp. Brain Res.*, **3**, 320—336, 1967.
- 16) Crawford, J. M. and D. R. Curtis: The excitation and depression of mammalian cortical neurones by amino acid, *Brit. J. Pharmacol.*, **23**, 313—329, 1964.
- 17) Bindman, L. J., O. C. J. Lippold and J. W. T. Redfearn: The nonselective blocking action of γ -aminobutyric acid on the sensory cerebral cortex of the rat, *J. Physiol. (Lond.)*, **162**, 105—120, 1962.
- 18) 森昭胤：脳の生化学，脳のアミノ酸代謝とその特異性，*総合臨床*, **21**, 208—218, 1972.
- 19) 井上和久：脳の γ -amino- β -hydroxybutyric acidに関する研究(I) “C- γ -aminobutyric acidによる γ -aminobutyric acidより γ -amino- β -hydroxybutyric acidの生成について：生化学，**31**, 127—129, 1959.
- 20) Ohara, K., I. Sano, H. Koizumi and K. Nishimura: Free β -hydroxy- γ -aminobutyric acid in brain, *Science*, **129**, 1225—1226, 1959.
- 21) 金行考雄，森昭胤，高坂睦年：ネコ脳脱炭酸酵素による β -hydroxyglutamic acidよりGABOBの生成に関する研究：条件反射，**111**, 147—150, 1971.
- 22) 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.
- 23) 高田彰一，丹治昭治，未発表
- 24) 片山泰人，森昭胤，未発表
- 25) 加藤謙，千原和夫，阿部広己，岩崎美子，大郷勝三，井村裕夫，前田潔：GABOB, GABAのラット成長ホルモン分泌促進作用，第3回日本内分泌学会西部部会講演抄録，**63**, 1975.

**Metabolism of 4-amino-3-hydroxybutanoic acids in the mouse organs
and their inhibitory effects on penicillin-induced spike activity
of the cat cerebral cortex and on electrical activity
of an identified snail giant neurone.**

Yasuto KATAYAMA

Section of Neurochemistry, Institute for Neurobiology

Okayama University Medical School

(Director: Prof. Akitane Mori)

1) $1\text{-}^{14}\text{C}$ labelled (3R)-(-)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid (l-GABOB) and (3S)-(+)-4-amino-3-hydroxybutanoic acid (d-GABOB) were prepared from their racemic compound using camphor-10-sulfonic acid. These optical isomers were administered at the dose of $5.6\mu\text{Ci}(1\text{mg})$ to mice intraperitoneally and observed that l-GABOB was uptaken more rapidly into blood and organs, and metabolized more rapidly in the liver and kidney than d-GABOB, and that l-GABOB could penetrate significantly into the brain, while d-GABOB could hardly do it.

2) These substances in the concentration of 10^{-3}M were topically applied on the epileptogenic focus of the cat cerebral cortex induced by potassium benzyl penicillin. As the results of the experiment, no more spike was observed several minutes after l-GABOB administration ($n=6$, all cases). On the contrary, the optical isomer, d-GABOB, showed a very weakly effect (Spike counts were reduced to $64.5\pm 3.8\%$, $n=6$, $P < 0.05$), and racemic GABOB moderately (Spike counts were reduced to $16.4\pm 8.5\%$, $n=6$, $P < 0.05$).

3) These substances were applied on the giant neurone, identified subesophageal ganglia of the african giant snail (*Achatina fulica* Férussac) by bath-application method and microdrop-application method. As the results of the experiment, it was clarified that l-GABOB inhibited more strongly the electrical activity of the neurone than d-GABOB did it.