

Title	Ephedrine-Isopropylantiphrineおよびその関連物質の生物活性, 代謝に関する基礎的研究
Author(s)	陳, 英俊
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31625
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 3 】

氏名・(本籍)	陳 英 俊
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 3903 号
学位授与の日付	昭和 52 年 3 月 25 日
学位授与の要件	薬学研究科 応用薬学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	Ephedrine- Isopropylantiphrine およびその関連物質の 生物活性, 代謝に関する基礎的研究
論文審査委員	(主査) 教授 青沼 繁 (副査) 教授 鎌田 皎 教授 岩田平太郎 教授 近藤 雅臣

論文内容の要旨

緒 論

Isopropylantipyrine (propyphenazone, 以下 I A と略す) は解熱鎮熱剤として広く利用されているが, pyrazolone 系化合物一般にみられるアレルギー反応など副作用がひきおこされることが欠点とされており, 鎮痛剤と解熱剤の併用が鎮痛効果を増大することを考え併せ, 従来この副作用を抑えるために, ephedrine との配合などいろいろな試みがなされてきた。一方これら作用とは別に I A と例えば ephedrine などを配合して製剤にした場合, 湿潤, 変色する例が多く, 本配合は禁忌とされている。

以上の如き観点から著者は湿潤, 変色する欠点を示さず, 安定性の高い教種の I A 誘導体を合成し, それらの生物活性について調べたところ, 特に Fig. 1 に示す ephedrine-IA (N-Propyphenazon-3a-yl-ephedrine, 以下 E I A と略す) に新しく滲出性炎症に対する強い抑制作用が発現することを見出した。そこで, さらにその作用機作および生体内代謝について検討を加えた。

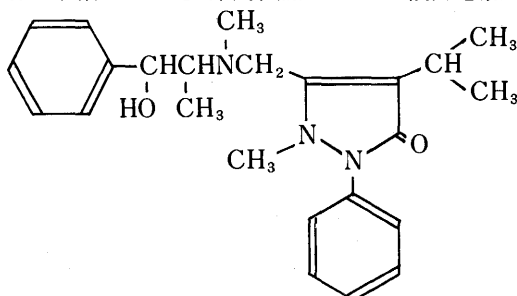


Fig. 1. N-propyphenazon-3a-yl-ephedrine (EIA)

本 論

第1章 EIAおよびその関連物質の合成

IAをNBSでブロム化し、IAの3-methylbromide (以下IABrと略す)を得、このIABrと1, 2または3級アミンを反応させると、それぞれ2, 3級アミンおよび4級のアンモニウムブロム塩に変化する。この原理を利用してIAとephedrine, norephedrine, methylephedrineおよびphenetidineとの共有結合化合物(以下それぞれEIA, NEIA, MEIABrおよびPIAと略す)を合成した。得られた化合物はいずれも従来の分子化合物あるいは配合剤とは異なり、元素分析, Mass, NMRおよびTLCにおける挙動から明らかにIA1分子とephedrine, norephedrine, methylephedrineおよびphenetidine各1分子が共有結合した新しい化合物であった。またいずれも白色結晶で、湿潤、変色しない安定性の高い化合物であることを認めた。EIA, NEIAおよびPIAはIAと同様酢酸法、圧刺激法および熱刺激法において鎮痛作用を有し、特にEIAはTable Iに示す如く熱刺激法において構成成分および他の化合物より強い鎮痛効果を示すことを認めた。またEIAはIAと同等の解熱作用およびマウスにおけLD₅₀ (p. o.) 3.48±0.39g/kgを示し、他の化合物より比較的毒性が少ないことを認めた。

Table I. Analgesic and Antipyretic Effect of EIA.

	Analgesic effect			Antipyretic effect	
	Acetic acid method (%) ^{a)}	D'Amour-Smith method (sec) ^{b)}	Randall-Sellitto method (index) ^{c)}	Hypothermic effect (%) ^{e)}	Antipyretic effect (%) ^{d)}
IA	64.1	0.8	1.32	-0.5	-1.6
EIA	48.3	4.3	1.41	-1.1	-0.8
Ephedrine+IA	63.0	2.0	1.44	—	+3.4
Aminopyrine	100.0	6.0	2.02	-5.3	-7.2

dose: 0.65m mole/kg, p. o., Each value shows mean of 4 animals.

a) inhibition of mouse writhing.

b) prolongational time of heat pain threshold on mouse tail 30min after sample administration

c) ratio of pain threshold (g) 1, 2 and 3 hr after sample administration to that before sample administration in rat

d) change of rectal temperature in rat treated with E. coli 2 hr before sample administration

e) change of rectal temperature in rat

第2章 EIAの生物活性

EIAを用い解熱鎮痛作用以外の生物活性につきその構成成分のIAおよびephedrineと比較検討した結果をTable IIにまとめた。まずモルモット摘出腸管のhistamineによる収縮およびアナフィラキシーショックに対してEIAは明らかに抑制作用を示し、この作用は構成成分およびaminopyrineよりはるかに強いことを認めた。またEIAはモルモットを用いた化学刺激法による鎮咳作用を示し、ED₅₀は23.1mg/kg (s. c.)で、methylephedrineと同等の効果を示した。ラットcarrageenin, formalinおよびdextran浮腫に対してEIAは0.65m mole/kg (p. o.)の投与で、それぞれ60%, 50%, 40%の抑制効果を示し、Fig. 2に示す如く特にcarrageeninによる2hr目までの初期浮腫に対して

Table II. Biological Activity of E I A

Assay	Dose	Effect
Histamine shock of isolated guinea pig ileum	100 μ g/ml	complete inhibition
Anaphylactic shock of isolated guinea pig ileum	20 μ g/ml	complete inhibition
Antitussive effect in guinea pig by SO ₂ stimulating method	ED ₅₀ (23.1mg/kg, s. c.)	
Development of carrageenin edema in rat	0.65 m mole/kg, p. o.	60% inhibition
Development of form a lin edema in rat	0.65 m mole/kg, p. o.	50 % inhibition
Development of dextran edema in rat	0.65 m mole/kg, p. o.	40 % inhibition
Increased vascular permeability induced by histamine (25 μ g) in rat	0.65 m mole/kg, p. o.	75 % inhibition
Increased vascular permeability induced by xylene in mouse	0.65 m mole/kg, p. o.	28 % inhibition
Chemotaxis of rabbit polymorphonuclear leucocyte in vitro	100 μ g/ml	75 % inhibition
Rabbit blood pressure	0.12 μ mole/kg, i. v.	mild increasing
Isolated frog heart	1 mg/ml	no effect
Rat gastric acid secretion induced with tetragastrin (10 μ g/kg, i. v.)	100 mg/kg	no effect
Hemorrhage of perfused rat stomach	1 mg/ml/min	no effect
Spontaneous movement of rat	400 mg/kg, p. o.	no effect
Hematological finding of rat	20 mg/kg/day, s. c. treated for 6 months	no effect

強力な抑制作用を示すことを認めた。EIAは histamine によるラット胸腹部および xylene によるマウス耳の末梢血管透過性亢進に対しても 0.65m mole/kg (p. o.) で明らかに抑制作用を示した。これら浮腫および末梢血管透過性亢進に対する E I A の抑制作用はいずれも構成成分よりはるかに強く、phenylbutazone に匹敵する効果を示すことを認めた。家兎多核白血球の in vitro における遊走 に対

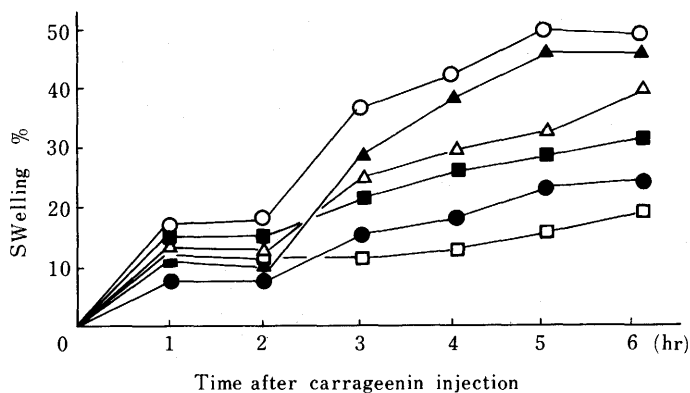


Fig. 2. Effect of EIA on Development of Carrageenin Edema in Rats. Every sample was given (p. o.) at a dose of 0.65 m mole/kg 30 min before the irritant. Each point represents mean of 4 rats.

○ control ● E I A △ I A
 ▲ ephedrine □ phenylbutazone ■ ibuprofen

してE I Aは100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で約75%の抑制作用を示し、生存性にはほとんど影響を示さず、本作用は構成成分、aminopyrine, salicylate, trypsinなどより強く、cortisoneと同等であった。E I Aはephedrineと同様家兔頸動脈圧上昇作用を示したが、ラット胃酸分泌、胃潰瘍に対しては影響を示さなかった。また400mg/kg (p. o.)を投与してもephedrine様のラット自発運動能亢進作用および興奮作用を示さず、ラットに20mg/kg (s. c.)のE I Aを6カ月間連日投与しても各組織重量、末梢血液像、GOT, GPTなどに対して変化を示さないことを認めた。

第3章 E I Aの抗滲出性炎症作用機作

抗滲出性炎症作用を有するE I Aにつきラットを用い、非ステロイド系抗炎症作用物質およびephedrineについて知られている作用点への影響を調べた。その結果E I Aのcarrageeninによる初期浮腫に対する抑制効果はreserpineまたはdibenamineをあらかじめ投与することにより阻害されたが、3~6 hr間の抗浮腫作用は影響されなかった。またin vitroにおけるprostaglandin生合成系に対しE I AはFig. 3に示す如くIAより強くphenylbutazoneと同等の阻害作用(ID_{50} : 25 μM)を示し、その抗滲出性炎症作用の強さと一致した。なお阻害様式はphenylbutazoneとは異なり、IAに類似した。Fig. 4に示す如くE I A 20, 30mg/kg (s. c.)投与により尿中noradrenaline排泄量は有意に増加したが、ephedrineほど著明ではなかった。従ってE I Aの作用機作の一つにprostaglandin生合成阻害と弱いephedrine様の交感神経刺激作用が関与していることが示唆された。またE I Aは抗滲出性炎症効果を示す投与量で、Table IIIに示すように脾臓および肺臓中のcyclic AMPレベルを有意に上昇させ、noradrenaline遊離を支持する結果を得た。さらにE I Aは多くの非ステロイド系抗炎症作用物質と同様赤血球の加熱(Table IV)および低張圧溶血に対し強い抑制作用を示し、ラ

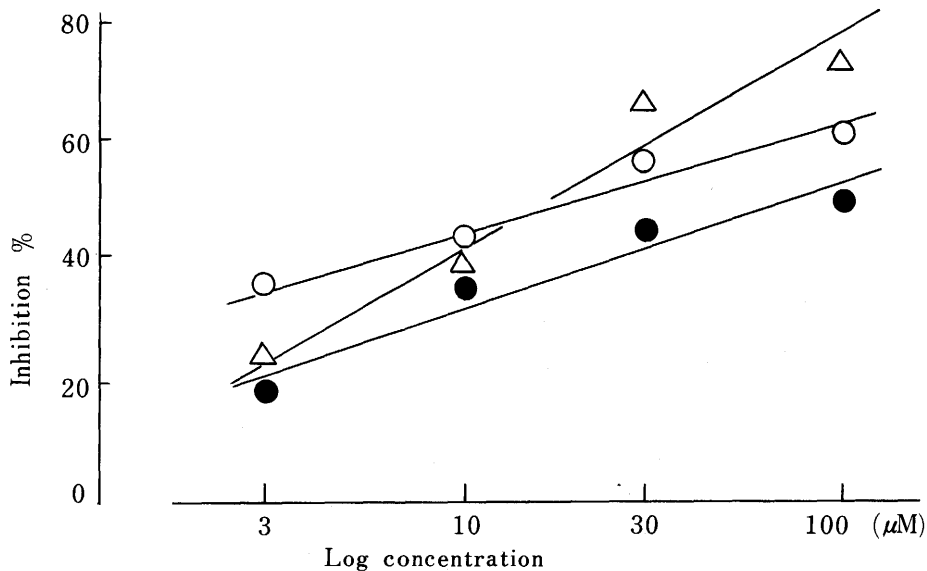


Fig. 3. Inhibition Effect of EIA on Prostaglandin Synthesis in Vitro.

Each point represents mean of 3 experiments. The lines are those calculated for best fit.

○ EIA ● IA △ phenylbutazone

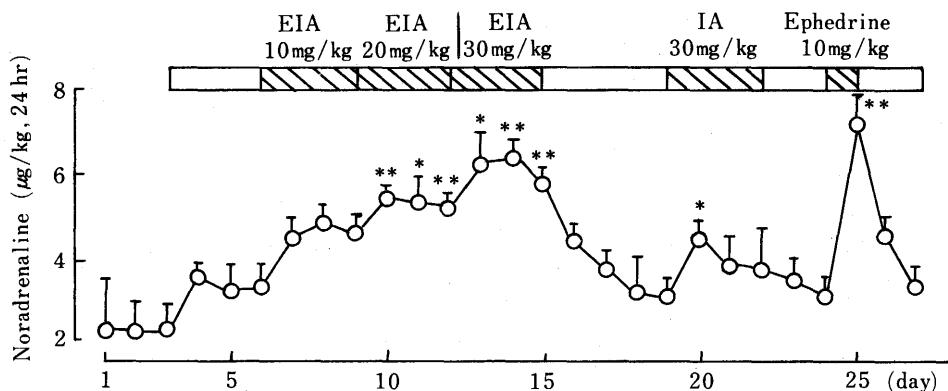


Fig. 4. Renal Excretion of Noradrenaline in Rats administrated with EIA.

Each point represents mean \pm s. e. of 4 urine samples; every sample consists of the 24hr urine from 2 rats. Daily injections (s. c.) of solvent or samples were indicated by horizontal column or the shaded parts.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; significantly different from solvent control just before every sample administration.

Table III. Cyclic AMP Levels of Tissues in Rats Administrated with EIA.

Tissues	Dose (mg/kg, p. o.)	Cyclic AMP level ($\mu\mu$ mole/mg) ^{a)}		
		Time after administration (min)		
		0	30	60
Lung	100	1.17 \pm 0.13	1.36 \pm 0.33	1.10 \pm 0.13
	250		3.28 \pm 0.59*	2.10 \pm 0.20**
Spleen	100	1.28 \pm 0.06	1.61 \pm 0.16*	1.30 \pm 0.17
	250		1.65 \pm 0.02**	1.08 \pm 0.19
Adrenal	100	0.33 \pm 0.07	0.34 \pm 0.03	0.37 \pm 0.03
	250		0.34 \pm 0.06	0.30 \pm 0.04
Hypophysis	100	0.33 \pm 0.06	0.38 \pm 0.08	0.31 \pm 0.06
	250		0.50 \pm 0.10	0.51 \pm 0.16

a) mean \pm s. e. (n=4)

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; significantly different from the value at 0 time

Table IV. Inhibitory Effect of EIA on Heat Induced Hemolysis of Rat Erythrocyte in Vitro.

	Inhibitory % on erythrocyte lysis ^{a)}			
	Final concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
	100	50	25	10
E I A	17.2	38.1	40.0	10.8
I A	18.2	15.8	6.0	—
Ephedrine · HCl	43.9	39.2	22.5	—
Ephedrine · HCl + IA ^{b)}	32.5	31.2	8.2	—
Aminopyrine	10.9	—	—	—

a) mean of 3 experiments, — : less than 5 %

b) molar ratio: 1/1

イソゾームの膜安定化作用機作の一端を担っていることが示唆された。しかしE I Aについて anti-pyrene などで行われている副腎皮質系機能への影響を調べたところ血漿および副腎中 corticosterone レベル、血糖レベルに対しては影響を示さなかった。一方飼育温度リズムの変化によるストレス下にあるラットの亢進した副腎皮質系機能に対してはこれを正常化させる傾向を認めた。

第4章 E I Aの生体内代謝

E I Aの生体内代謝を知る手がかりとして³H-E I Aを合成して、ラットにおける吸収、分布、排泄および生体内変化について検討した。その結果、経口投与30 minで消化管から約30%が吸収され、6 hr間で約42%が吸収され、血中濃度は1 hr間目で最高となった。尿、糞中への排泄も3日間で投与量の85%が排泄され、胆汁中にも24 hr間で約15%が排泄された。体内ではTable Vに示す如く投与後3 hr間目に特に消化管に多く分布し、6 hr間目では急激に減少し、代謝がはやいことを認めた。尿中には約15%の未変化体が検出され、I Aおよびephedrineへの分解はわずかで、E I A特有の作用が代謝面からうらづけられた。さらにE I Aの活性発現に対する投与量の示標として種々の量のE I Aを投与したラット血中のE I A濃度を測定した結果、Fig. 5に示す如く250mg/kgの投与量で最高血中濃度が得られることを認めた。

Table V. Distribution of ³H in Rat Tissues after Oral Administration of ³H-EIA (50mg/kg).

Tissue	Time in hr			
	1	3	6	24
Brain	5.1 ± 1.9 ^{a)}	14.0 ± 1.5	3.9 ± 0.5	4.3 ± 0.3
Heart	3.2 ± 0.8	16.0 ± 1.3	5.9 ± 0.9	4.8 ± 0.8
Lung	4.6 ± 1.4	17.2 ± 0.8	4.8 ± 0.6	3.3 ± 0.5
Liver	13.9 ± 1.6	50.1 ± 2.6	26.3 ± 3.5	9.7 ± 0.4
Spleen	3.2 ± 0.7	26.8 ± 3.2	3.7 ± 0.4	4.0 ± 0.4
Stomach	90.6 ± 10.8	175.2 ± 32.1	54.9 ± 21.8	5.2 ± 1.3
Intestine	83.1 ± 16.0	379.9 ± 183.7	150.6 ± 71.7	12.0 ± 1.0
Kidney	8.8 ± 1.5	28.4 ± 3.2	9.4 ± 0.4	6.2 ± 0.5
Adrenal	6.3 ± 2.0	44.9 ± 5.8	12.3 ± 1.1	4.4 ± 0.9
Testis	1.7 ± 0.2	8.0 ± 2.4	5.7 ± 0.5	5.4 ± 0.2
Fat	4.9 ± 1.4	77.9 ± 33.6	9.6 ± 2.2	2.2 ± 1.0
Muscle	1.9 ± 0.3	27.2 ± 1.5	9.2 ± 1.5	3.4 ± 0.7

a) dpm/mg of tissue, mean ± s. e. (n=4)

結 論

湿潤、変色しない安定性の高いI A誘導体E I A、NE I AおよびP I Aを新しく合成し、これらの化合物が解熱鎮痛作用を示すことを認めるとともに、特にE I Aを取り上げその生物活性、作用機作および代謝について構成成分と比較検討し、次の知見を得た。

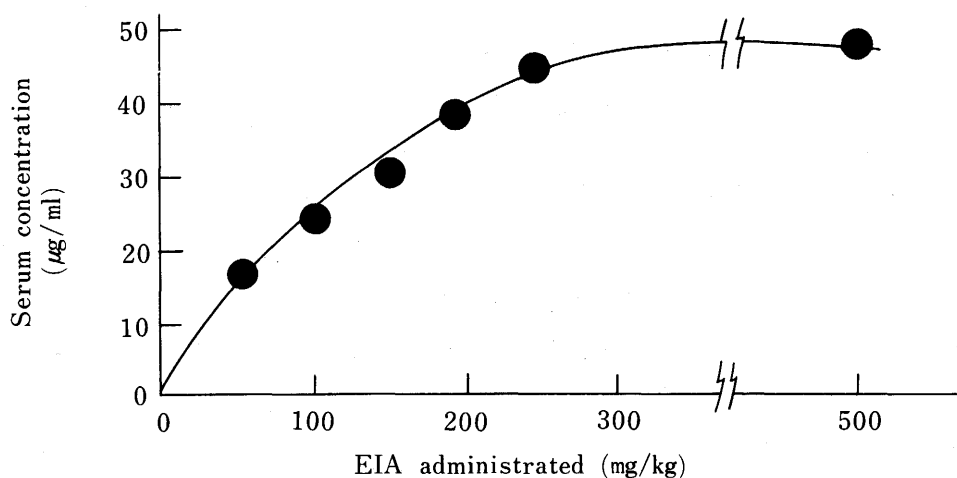


Fig. 5. Serum Concentration of EIA in Rat Administrated with Various Doses of EIA.
Each point represents mean value of 3 animals.

1) EIAは末梢血管透過性亢進、浮腫および家兎白血球遊走に対し、IAおよびephedrineより強い抑制作用を示し、これらの作用がEIA特有の活性であることを認めた。またephedrineと同様の鎮咳作用および血圧上昇作用を示すが、食用ガエル摘出心臓および胃機能には作用を示さず、さらに自発運動亢進および長期間投与による血液像変化を示さないことを認めた。

2) EIAのcarrageenin初期浮腫に対する抑制効果はreserpineおよびdibenamineより阻害され、EIAはprostaglandin生合成阻害作用、尿中noradrenaline排泄増加および肺、脾臓中cyclic AMPの増加作用を示すが、corticosteroneおよび血糖量に影響を示さないことを認めた。また飼育温度リズムを変化したストレスにより亢進する副腎皮質機能を正常に回復することを認めた。

3) ^3H -EIAは消化管からの吸収、尿糞中への排泄がすみやかで、体内では特に消化管に高く分布し、また尿中排泄量の約15%が未変化体として排泄され、IAおよびephedrineはほとんど検出されないことを認めた。

論文の審査結果の要旨

湿潤、変色しない安定性の高いIsopropylantipyrine誘導体を多数合成し、解熱鎮痛作用を有するものを目的に検討を進め、Ephedrine-Isopropylantipyrineが一番良いことを認めると共に、その生物活性、作用機作および代謝について新しい知見を得、薬として利用され得る可能性を認めた。

よって、学位に値するものと思う。