薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
105 (7) 685-689 (1985)

**1,6-*trans*-N,N-Dimethyl-(6-benzyl-4,4-dimethyl-2-cyclohexenyl)methylamine
塩酸塩 (TAI-998) の鎮痛作用**

加藤武司,^{*,a} 石井治光,^a 船堂昌和,^a 土居孝行,^a 川井清尚^b
武田薬品工業株式会社中央研究所,^a 甲子園大学栄養学部^b

Analgesic Activity of 1,6-*trans*-N,N-Dimethyl-(6-benzyl-4,4-dimethyl-2-cyclohexenyl)methylamine Hydrochloride (TAI-998)

TAKESHI KATO,^{*,a} HARUMITSU ISHII,^a MASAKAZU FUNADO,^a
TAKAYUKI DOI,^a and KIYOHISA KAWAI^b

Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.,^a 2-17-85 Jusohonmachi,
Yodogawa-ku, Osaka, 532, Japan and Department of Nutrition, Koshien
University,^b 10-1 Momijigaoka, Takarazuka, Hyogo, 665, Japan

(Received February 12, 1985)

The analgesic and morphine-like properties of TAI-998 were compared with those of codeine. TAI-998 was slightly more potent than codeine in the phenylquinone writhing test, but was less potent than codeine in the hot plate test in mice. Unlike the situation with codeine, the analgesic action of TAI-998 was not antagonized by a narcotic antagonist, and TAI-998 showed additive effects to the analgesic activities of morphine and codeine in the hot plate test. The IC_{50} value of TAI-998, in competing for 3H -naloxone binding to rat brain homogenates was much higher than that of codeine. Codeine affected respiration, gastro-intestinal transfer of charcoal and body temperature, but TAI-998 did not.

Keywords—cyclohexenylmethylamine; codeine; naloxone; analgesic action; receptor binding; respiratory depression; charcoal transfer

一連の cyclohexenylmethylamine 誘導体及びその関連化合物の構造活性相関を検討した結果, 1,6-*trans*-N,N-dimethyl-(6-benzyl-4,4-dimethyl-2-cyclohexenyl)-methylamine 塩酸塩 (TAI-998) が強力な鎮痛作用を示すことを見出した。¹⁾ その鎮痛作用を精査すると共に, opiate receptor に対する binding 効果, 呼吸, 血圧, 小腸輸送運動及び体温に与える影響についても, codeine と比較検討した。その化学構造は Fig. 1 に示す通りである。

Fig. 1. TAI-998

実験の部

実験動物 マウスは Jcl: ICR 雄又は Jcl: CF #1 雄を, ラットは Jcl: SD 雄を, ウサギは成和興産において生産飼育した雄を用いた。

使用薬物 Codeine phosphate (武田), morphine HCl (武田), levallorphan tartrate (ロシュ), dextrallorphan HBr (ロシュ), 3H -naloxone HCl (ニューイングランド・ヌクレアー社) 及び aminopyrine (武田)。

投与方法 本実験で使用した検体は特記しない限り, 4% アラビアゴム懸濁液とし, 原則としてマウスには 0.2 ml/10 g 体重を, ラットには 0.5 ml/100 g 体重の容積を, とくに断らない限り経口投与した。対照群としては 4% アラビアゴム液 (溶媒) のみを与えた。なお鎮痛作用に関する実験はすべて盲検法に従い実施した。

鎮痛作用 a) Phenylquinone Writhing 法²⁾—生後 3.5 週齢, 体重 16—20 g の Jcl: ICR マウス 1 群 10 匹を用いた。まず検体を投与して 30 分後に 0.02% phenylquinone 水溶液 (ethanol を 5% の割合に加えて溶解) 0.1 mg/10 g 体重を腹腔内注射した。これより 20 分間にわたり, phenylquinone の刺激による writhing 及び stretching の反応を個々の動物について数えた。検体投与群の各動物についてその反応回数が対照群の平均回数

の 50% 以下に減少した動物を鎮痛効果陽性とみなし, probit 法により ED_{50} を算出した. なお 2 化合物の効力比は平行線検定法により求めた.

b) 熱板法³⁾——生後 4 週齢, 体重 22—26 g の Jcl: CF #1 マウス 1 群 10 匹を用いた. 最初動物を $55 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ の銅板上にのせ, 仮性逃避反応即ち後肢足裏をなめるまでの時間 (秒) を測定した. その際 15 秒間以上経過しても上記反応を示さない動物は実験に不適当とみなし除外した. ついで検体を投与し, 30 分後に上記と同様の実験を行い, 仮性逃避反応を示すまでの時間を計測した. 検体投与群の各動物についてその反応時間が, 対照群の平均反応時間よりも 15 秒間以上延長した動物を鎮痛効果陽性とみなし, 前記同様 probit 法により ED_{50} を, 2 化合物の効力比を平行線検定法により求めた.

c) Morphine 拮抗薬との併用効果——熱板法により前項と同様の条件で行った. あらかじめ仮性逃避反応を示すまでの時間を測定した後, 検体及び morphine 拮抗薬を皮下注射した. 30 分後に再び仮性逃避反応を示すまでの時間を測定し, ED_{50} 及び効力比を求め, morphine 拮抗薬による影響を調べた.

d) Morphine 又は Codeine との併用効果——熱板法により検討した. 検体と morphine あるいは codeine を皮下投与して 30 分後に仮性逃避反応を示すまでの時間を測定した. それぞれの鎮痛効果陽性率を比較し, 併用による影響を検討した.

その他の Morphine 様作用 a) Opiate Receptor に対する Binding 作用——Pert らの方法⁴⁾に従い, 小脳を除去した Jcl: SD ラットの脳を 30 容積の 50 mM Tris-HCl 緩衝液中で homogenize し, $40000 \times g$, 10 分間の条件で遠心分離した後, その沈渣を 30 容積の Tris 緩衝液に懸濁し, 37°C 30 分間 incubate した. この懸濁液を $40000 \times g$, 10 分間遠心分離し, その沈渣を脳一匹当り 50 ml の Tris 緩衝液に懸濁した. ^3H -Naloxone binding assay は上記 homogenate 1 ml を用い, 反応混合液 2 ml 中に 2 nM ^3H -naloxone, 検体, bacitracin $50 \mu\text{g/ml}$ 及び $1 \mu\text{M}$ levallorphan 又は $1 \mu\text{M}$ dextrallorphan を含むようにした. 反応混合液は 0°C , 3 時間 incubate し, グラスフィルター (Whatman GF/B) で急速吸引ろ過により反応を停止し, 5 ml の氷冷した Tris 緩衝液で 2 回フィルターを洗浄後, フィルターを 5 ml のシンチレーションカクテル (1 容積の水, 3 容積の Triton X-100, 6 容積の toluene, 0.7% (w/v) PPO 及び 0.05% (w/v) POPOP) 中に入れ, 一晚放置した後放射活性を測定した. IC_{50} は log-probit グラフ用紙を用い算出した.

b) 呼吸及び血圧に対する作用——体重 3.0—3.4 kg の白色ウサギを背位に固定し, 呼吸は気管カニューレをタンブールに連結し, その圧変化を FD ピックアップ (日本光学, SD-1T) により, 血圧は右側頸部動脈圧を間歇的に, その圧変化をポリグラフ (日本光電, RH-150) 上に記録した. 検体は耳介静脈より注射した.

c) 小腸輸送運動に対する作用——生後 4 週齢, 体重 17—20 g の Jcl: ICR マウス 1 群 6 匹を用いた. あらかじめ 18 時間絶食した動物に検体を皮下注射して 30 分後に炭末液 (活性炭 10%, アラビアゴム 5%) 0.2 ml を経口投与した. 20 分後に頸椎脱臼により殺した後, 小腸を幽門部より回盲部にわたって摘出し, 摘出小腸の全長と炭末移行部までの長さを測り, 炭末輸送率を算出して作用を判定した.

d) 正常体温に対する作用——生後 7 週齢, 体重 220—250 g の Jcl: SD ラット 1 群 6 匹を用いた. 最初サーミスター端子 (宝工業, D-221) を直腸内へ約 4 cm 挿入して検温し, 基礎体温 (20 分間隔で 3 回測定の平均値) とした. ついで検体を経口投与し, 以後 5 時間にわたって直腸温度を測定した.

e) Sodium Pentobarbital 睡眠に対する作用——生後 4 週齢, 体重 18—22 g の Jcl: ICR 雄マウス 1 群 10 匹を用いた. まず pentobarbital 40 mg/kg を腹腔内注射し, 正向反射を指標として睡眠時間 (分) を測定した. 検体を投与して 30 分後に pentobarbital の同量を腹腔内投与し, 睡眠時間を測定した. 対照群の睡眠時間と比較し, 睡眠時間に及ぼす検体の影響を調べた. なお対照薬として aminopyrine を用いた.

実 験 結 果

鎮痛作用

a) Phenylquinone Writhing 法 Table I に示すように TAI-998 及び codeine は $3.125\text{—}25 \text{ mg/kg}$ 投与において用量作用関係を示した. 両者の ED_{50} から鎮痛効力を比較すると TAI-998 は codeine よりも 1.5 倍活性が高かった.

b) 熱板法 経口投与による TAI-998 及び codeine は $7.5\text{—}60 \text{ mg/kg}$ 投与で用量作用関係を示し, 熱板法では TAI-998 の経口投与による効力は codeine の 0.4 倍であった (Table II).

c) Morphine 拮抗薬との併用効果 Codeine に levallorphan 0.5 mg/kg を併用すると鎮痛作用は約 1/2 以下に減弱した. これに対し TAI-998 は全く影響をうけなかった (Table III).

TABLE I. Comparative Activity of TAI-998 and Codeine on the Phenylquinone Writhing Test in Mice

mg/kg <i>p.o.</i>	P/T ^{a)}	
	TAI-998	Codeine
3.125	2/10	1/10
6.25	5/10	3/10
12.5	7/10	6/10
25	9/10	8/10
ED ₅₀ ^{b)}	6.9 (3.5—11.2) ^{c)}	10.4 (6.4—18.7)
Relative potency	1.5 (0.8—3.2)	1

a) Number of positive animals (P)/number of total animals (T).

b) 95% confidence limits.

c) Not significant vs. codeine.

TABLE II. Comparative Activity of TAI-998 and Codeine in the Hot Plate Test

mg/kg <i>p.o.</i>	P/T ^{a)}	
	TAI-998	Codeine
7.5	0/10	2/10
15	1/10	5/10
30	4/10	7/10
60	7/10	10/10
ED ₅₀ ^{b)}	38.6 (26.2—77.5) ^{c)}	15.8 (9.1—23.9)
Relative potency	0.40 (0.20—0.70)	1

a, b) See the corresponding footnote in Table I.

c) $p < 0.05$ vs. codeine.

TABLE III. Comparative Antagonistic Activity of Levallorphan against Analgesic Activity of TAI-998 and Codeine in the Hot Plate Test

mg/kg <i>s.c.</i>	P/T ^{a)}		With levallorphan (0.5 mg/kg, <i>s.c.</i>)	
	TAI-998	Codeine	TAI-998	Codeine
2.5	—	2/15	—	—
5	1/10	5/10	2/10	2/20
10	4/10	9/10	5/10	4/10
20	7/10	—	8/10	8/10
ED ₅₀ ^{b)}	12.9 (8.3—29.1)	4.6 (2.9—7.9)	10.0 (5.5—18.2)	10.8 (6.4—21.4)
Relative potency	0.36 (0.19—0.62)	1	—	0.43 (0.23—0.75)
	1	—	1.3 (0.7—2.7)	—

a, b) See the corresponding footnote in Table I.

TABLE IV. Synergistic Effect of TAI-998 and Morphine in the Hot Plate Test

Compound	Dose mg/kg, <i>s.c.</i>	Analgesia	
		P/T ^{a)}	(%)
Control	—	0/20	0
TAI-998	20	6/20	30
Morphine	1	3/10	30
TAI-998+morphine	20+1	13/20	65

a) See the corresponding footnote in Table I.

TABLE V. Synergistic Effect of TAI-998 and Codeine in the Hot Plate Test

Compound	Dose mg/kg, <i>s.c.</i>	Analgesia	
		P/T ^{a)}	(%)
Control	—	0/20	0
TAI-998	10	7/20	35
Codeine	2.5	5/20	25
TAI-998+codeine	10+2.5	13/20	65

a) See the corresponding footnote in Table I.

d) **Morphine 又は Codeine との併用効果** Table IV 及び V に示すように TAI-998 は morphine 及び codeine の鎮痛作用に対し相加的協力作用を示した。

その他の Morphine 様作用

a) **Opiate Receptor に対する Binding 作用** Morphine の IC₅₀ は 11 nM で, codeine のそれは 2500 から 5000 nM の間にあると推定され, 活性が低かった。TAI-998 の binding 作用は前二者よりもさらに弱かった (Table VI)。

b) **呼吸及び血圧に対する作用** Fig. 2 に示すように TAI-998 5 mg/kg で呼吸はやや興奮し, 振幅はわずかに増加したが, 呼吸数には変化はほとんどみられなかった。血圧は約 20 mmHg 一過性に下降した。30 分後においても呼吸の興奮は持続し, 振幅の明らかな増大を示した。これに対し血圧はもとのレベルに回復し, 変化は認

TABLE VI. Inhibition (%) of ^3H -Naloxone Binding to Rat Brain Homogenates

Drug conc. (nM)	Inhibition (%)		
	Codeine	TAI-998	Morphine
11 ^{a)}			50.0
1000	34.2	6.5	
2500	42.7	13.0	
5000	57.4	21.8	

a) IC_{50} .

TABLE VII. Effect of TAI-998 and Codeine on Charcoal Transfer Rate in Mouse Small Intestine

Compound	mg/kg <i>s.c.</i>	Transfer rate (%)	
		Mean $\pm$ S.E.	% inhibition
Control	—	43.0 $\pm$ 3.1	—
TAI-998	20	46.3 $\pm$ 2.5	-7.7
	40	42.4 $\pm$ 2.8	-1.4
Codeine	10	31.7 $\pm$ 1.6 ^{a)}	26.3
	20	20.8 $\pm$ 1.8 ^{b)}	51.6

Statistically significant at a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$.

Fig. 2. Effect of TAI-998 and Codeine on Respiration (Resp) and Blood Pressure (BP) in Rabbits

Fig. 3. Effect of TAI-998 and Codeine on Body Temperature in Normal Rats

50 mg/kg of each drug was administered orally. Statistically significant at ○ $p < 0.05$, ⊗, $p < 0.02$, ⊙ $p < 0.01$.

TABLE VIII. Effect of TAI-998 and Aminopyrine on Hypnosis Induced by Sodium Pentobarbital in Mice

Compound	Exp. No.	Dose mg/kg <i>i.p.</i>	No. of mice	Mean sleeping time min $\pm$ S.E.	% prolongation
Control	1	—	10	75.4 $\pm$ 13.6	—
	2	—	10	37.3 $\pm$ 5.9	—
	3	—	9	20.6 $\pm$ 3.6	—
	4	—	10	20.9 $\pm$ 3.2	—
	5	—	9	39.9 $\pm$ 5.7	—
	6	—	10	19.7 $\pm$ 3.3	—
TAI-998	1	0.625	10	108.4 $\pm$ 18.0	44
	1	1.25	10	104.4 $\pm$ 15.6	38
	3	1.25	9	49.6 $\pm$ 4.5	141 ^{c)}
	4	2.5	10	93.8 $\pm$ 19.4	349 ^{b)}
	5	2.5	9	55.7 $\pm$ 5.5	40
	4	5	10	88.4 $\pm$ 15.9	323 ^{c)}
	5	5	9	> 117.8 $\pm$ 14.8	> 190 ^{c)}
	6	10	10	> 74.1 $\pm$ 10.0	> 276 ^{c)}
Aminopyrine	6	20	10	> 120	> 600 ^{c)}
	5	25	9	79.9 $\pm$ 12.0	100 ^{a)}
	6	25	10	52.7 $\pm$ 8.6	168 ^{b)}

Statistically significant at a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$, c) $p < 0.001$.

められなかった。Codeine 5 mg/kg では呼吸は抑制される傾向を示したが、血圧はほとんど影響を受けなかった。30 分後には呼吸の抑制、とくに振幅の減少が著明であった。

c) 小腸輸送運動に対する作用 Codeine は 10—20 mg/kg の投与量で用量依存的に小腸炭末輸送運動を有意に抑制した。TAI-998 には上記作用は全く認められなかった (Table VII)。

d) 正常体温に対する作用 Codeine 50 mg/kg は有意の体温上昇作用を示したが、TAI-998 の 50 mg/kg では影響は認められなかった (Fig. 3)。

e) Sodium Pentobarbital 睡眠に対する作用 Table VIII に示すように TAI-998 は 1.25—20 mg/kg で顕著に pentobarbital による睡眠作用を延長した。

考 察

Phenylquinone writhing 法は first screening test として最も popular であり、international な評価法で、臨床において鎮痛効果を示す化合物は当法によりほとんどすべて陽性と判定し得る利点を有している。^{5,6)} とくに中枢性の非麻薬性鎮痛薬のうち、agonist-antagonist に属する化合物、例えば cyclazocine 及び buprenorphine などは極めて少量で顕著な phenylquinone writhing 抑制作用を発揮する。^{7,8)} TAI-998 は経口投与で phenylquinone writhing を強く抑制し、その効力は codeine の 1.5 倍であった。一方、熱板法においては麻薬性あるいは極一部の中枢性非麻薬性鎮痛薬が当法における熱痛に対し抑制作用を示すに過ぎない。上記の agonist-antagonist は熱板法において、抑制効果を示さない例が多く、⁹⁾ 解熱性鎮痛薬の一部も中毒症状を来す大量投与で軽度の抑制作用を示すに過ぎず、また消炎性鎮痛薬では比較的大量を投与しても全く効果はみられない。¹⁰⁾ これに対し TAI-998 は経口及び皮下注射においても、codeine の 0.4 倍ながら明らかな鎮痛作用を示したことは特徴の 1 つとして挙げられる。鎮痛作用の性質も TAI-998 は codeine とは異なり、morphine 拮抗剤により全く影響を受けなかった。さらに TAI-998 は morphine 及び codeine の鎮痛作用に対し相加的に協力し、この点においても pentazocine などの agonist-antagonist と異なる態度を示した。

熱板法において、末梢性鎮痛剤は効果を示さないが、TAI-998 は鎮痛作用を示したことよりその作用点は中枢性と思われ、このことは TAI-998 が sodium pentobarbital の睡眠作用を著しく延長させることから併せ考えられる。しかし opiate receptor との binding 作用が codeine と比較して極めて低いため、その中枢作用は morphine などの作用点である μ -opiate receptor を介していないことが考えられる。

その他の morphine 様作用として呼吸抑制作用、小腸輸送運動の抑制作用並びにラット体温上昇作用などが指摘される。¹¹⁾ Codeine は morphine と比較して軽度ではあるが、上記の諸作用を示すのに対し、TAI-998 はそれらの作用を全く示さなかった。

Cyclohexenylmethylamine 誘導体から選出した TAI-998 は morphine 様の副作用を持たないが、morphine 及び codeine の鎮痛作用に協力し、codeine に匹敵する中枢性の鎮痛作用を有する特徴ある化合物と推定される。

引用文献及び注

- 1) T. Kato, H. Ishii, K. Kawai, Y. Sawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 2279 (1984).
- 2) E. A. Siegmund, R. A. Cadmus, G. Lu, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **95**, 729 (1957).
- 3) G. Woolfe, A. D. Macdonald, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **80**, 300 (1944).
- 4) C. B. Pert, S. H. Snyder, *Mol. Pharmacol.*, **10**, 868 (1974).
- 5) J. Pearl, M. D. Aceto, L. S. Harris, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **160**, 217 (1968).
- 6) S. Kuzuna, K. Kawai, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 1184 (1975).
- 7) A. Cowan, J. W. Lewis, I. R. Macfarlane, *Br. J. Pharmacol.*, **43**, 461 (1971).
- 8) A. W. Pircio, J. A. Gylys, R. L. Cavanagh, J. P. Buyniski, M. E. Bierwagen, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **220**, 231 (1976).
- 9) 津田恭介, 野上 寿編, “医薬品開発基礎講座 V, 6 薬効の評価 (1) 薬理試験法,” 地人書館, 東京, 1971, p. 211.
- 10) K. Kawai, S. Tamura, S. Morimoto, H. Ishii, S. Kuzuna, *Arzneim.-Forsch.*, **32**, 113 (1982).
- 11) K. Kawai, H. Ishii, T. Doi, S. Tamura, S. Shinagawa, M. Fujino, *Eur. J. Pharmacol.*, **72**, 297 (1981).