2-Methyl-3-pyrrolidinopropiophenone 誘導体の中枢性筋弛緩作用

山崎光雄,^{*,a} 青木康治,^a 加藤日出男,^a 伊藤安夫,^a

紺谷 仁,^b 越浦良三^b

北陸製薬株式会社中央研究所,^a 北陸大学薬学部薬理学教室^b

Centrally Acting Muscle Relaxant Activities of 2-Methyl-3-pyrrolidinopropiophenone Derivatives

MITSUO YAMAZAKI,^{*,a} YASUJI AOKI,^a HIDEO KATO,^a YASUO ITO,^a

HITOSHI KONTANI,^b and RYOZO KOSHIURA^b

Research Laboratories, Hokuriku, Seiyaku Co., Ltd.,^a Inokuchi, Katsuyama,

Fukui, 911, Japan and Department of Pharmacology, Hokuriku

University School of Pharmacy,^b Kanagawa-machi,

Kanazawa, 920-11, Japan

(Received February 23, 1987)

The compounds of 2-methyl-3-pyrrolidinopropiophenone structure, in which the *p*-position of phenyl group is hydrogen, alkyl group (C₁—C₄), cyclohexyl group or fluoromethyl group, were synthesized and the centrally acting muscle relaxant activities of these compounds were studied after peroral or intraduodenal administration. On the muscle relaxant activity in rotating rod method in mice, compound which contains ethyl, *n*-propyl, isopropyl or *n*-butyl group had almost equipotent inhibitory activity, but the inhibitory effect on the anemic decerebrate rigidity in rats of ethyl substituent compound was stronger than other compounds. The muscle relaxant activities of the compound containing cyclohexyl or fluoromethyl group were weaker than those of other compounds. The hexobarbital induced sleeping time was more prolonged by the compound containing hydrogen or butyl group at *p*-position. Toxicities (body weight decrease or mortality) in mice and rats were potentiated according to the length of alkyl chain. These results suggested that ethyl group would be suitable for the *p*-substituent of phenyl group of the compounds as a centrally acting muscle relaxant. The pyrrolidinopropiophenone derivatives had stronger inhibitory effect on convulsion induced by nicotine, as compared with the piperidinopropiophenone analogues.

Keywords—2-methyl-3-pyrrolidinopropiophenone; centrally acting muscle relaxant activity; rotating rod; anemic decerebrate rigidity; hexobarbital sleeping time; anti-convulsant activity; toxicity; structure-activity relationship; phenyl group *p*-substituent

著者らは先に中枢抑制作用の弱い筋弛緩薬を得る目的で、既存の中枢性筋弛緩薬 tolperisone (1) 及び eperisone (2) の骨格である 3-amino-2-methylpropiphenone (AMP) の化学構造に修飾を加えた化合物を合成し、中枢性筋弛緩薬としての有用性を検討した。その結果、AMP の構造のうち piperidine を pyrrolidine に変換した化合物 HSR-770 (4'-ethyl-2-methyl-3-pyrrolidinopropiophenone, 3c) が、2 と同程度の強い筋弛緩作用を持つことを見出し、本化合物が十二指腸内投与で有効であること及び 2 と比較して自発運動抑制作用の弱いことを報告した。^{1,2)} そこで今回、この pyrrolidinopropiophenone の phenyl 基の *p* 位置換基を種々変換した誘導体 (3a—j) を合成し、それらの筋弛緩作用及び毒性について比較検討したので報告する。

実 験 の 部

使用薬物 本実験で使用した化合物はすべて北陸製薬(株)中央研究所で合成した。合成は既知の方法に準拠して行った。各化合物の物性を Table I に示す。なお、3a, 3b 及び 3h については報告されている結果と一致した。³⁻⁵⁾ 酒石酸ニコチン及びヘキサバルビタールは市販のもの(和光純薬)を用いた。

使用動物 雄性ラット (Wistar 系: 静岡実験動物農協あるいはSD系: 日本チャールスリバー(株), 5週齢) 及び雄性マウス (ddY 系: 静岡実験動物農協, 5週齢) を用いた。

実験方法

1. 投与方法 各化合物についてラット除脳固縮緩解作用は十二指腸内投与により, その他の実験は経口投与で行い, いずれも用時蒸留水に溶解したものを投与した。又, 酒石酸ニコチン及びヘキソバルビタールは生理食塩水に溶解して各々尾静脈内投与及び腹腔内投与した。

2. 筋弛緩作用 マウス回転円筒 (KN-75: 夏目, 13 rpm) 上に 60 秒以上留まるように訓練したマウスを用いた。そのマウスを1群5匹として各化合物 (100 mg/kg) を経口投与し, 15 分後にマウスを円筒上に乗せ, 60 秒以内に落下した動物数を求めた。

3. ニコチン誘発痙攣抑制作用 1群5匹のマウスに各化合物 (100 mg/kg) を経口投与し, その10分後酒石酸ニコチン (5 mg/kg) を尾静脈より投与した。ニコチンによる強直性痙攣を全く起こさなかった動物数を求めた。

4. ヘキソバルビタール誘発睡眠延長作用 1群5匹のマウスに各化合物 (100 mg/kg) を経口投与し, 15 分後ヘキソバルビタール (80 mg/kg) を腹腔内へ投与した。蒸留水を経口投与した対照群のヘキソバルビタールによる平均睡眠時間が2倍以上に延長された動物数を求めた。

5. 有効量の決定 2. 及び 3. の実験の結果, 筋弛緩作用及びニコチン誘発痙攣抑制作用の強かった化合物の効力を比較するため各化合物の有効量を求めた。各化合物 5—6 用量 (公比 1.4—1.5) について各用量を1群7匹のマウスに投与した。有効量は回転円筒法では円筒上から 60 秒以内に半数のマウスが落下する用量を, 又, ニコチン誘発痙攣抑制作用では半数のマウスで痙攣を起こさせない用量とし, 各々 probit 法により算出した。これら化合物のヘキソバルビタール睡眠延長作用も比較した。この場合, 3c—f の各化合物を 100 mg/kg 経口投与した後, ヘキソバルビタール睡眠時間が2倍に延長されたマウスは5匹中1—2匹だったので, 1群7匹のマウスに公比2で各化合物を前投与し, ヘキソバルビタール睡眠時間を1.5倍に延長した用量をグラフより算出して有効量とした。

6. 貧血性除脳固縮緩解作用 Fukuda ら⁶⁾ の方法によりラットに固縮を発現させた。Wistar 系ラットを用い, ether 麻酔下気管カニューレを挿入し, 食道及び両頰頸動脈を二重結紮した後, 後頭骨の中央部に直径 3 mm の穴をあけ, 双極性凝固器 (MICRO-10: 瑞穂医科工業) で脳底動脈の血流を止めた。Ether 麻酔からさめ固縮が発現した動物を背位に固定し, 前肢間にポリエチレン管を渡した。その中央部に等張性トランスジューサーを乗せ, 20 g の負荷を付けて, 前肢の高さの変化を D.C. レコーダーで記録した。両後肢を距腿関節部で固定し, 足根部を 45 秒間隔で3秒間 5 mm 頭方向に引き刺激を加え, 固縮の持続性成分に加え, 相動性成分も発現させた。実験終了後 ether 死させた時の前肢の最も低下した高さを基準点にし, 各化合物投与前の高さから投与後の高さを測定した。

7. 毒性試験 急性毒性試験を1群7匹のマウスで行った。一昼夜絶食後, 各化合物を経口投与し, その死亡率から Probit 法で LD₅₀ 値を算出した。投与後マウスを7日間観察した。

また連続投与による毒性試験は SD 系ラットを用いて行った。1群7匹のラットに 400 又は 800 mg/kg を1日1回2週間連続経口投与して死亡率, 一般症状及び体重変化について調べた。

1: R=Me (tolperisone)

2: R=Et (eperisone)

3

3a: R=H

3b: R=Me

3c: R=Et

3d: R=n-Pr

3e: R=iso-Pr

3f: R=n-Bu

3g: R=iso-Bu

3h: R=tert-Bu

3i: R=cyclo-Hex

3j: R=CH₂F

Chart 1

結果及び考察

1. 筋弛緩作用, ニコチン誘発痙攣抑制作用及びヘキソバルビタール誘発睡眠延長作用

まず, 各化合物を 100 mg/kg 経口投与した結果を Table II に示す。検討した化合物のうち 3c—f は筋弛緩作用及びニコチン誘発痙攣抑制作用が強く, 中枢抑制作用と考えられるヘキソバルビタール誘発睡眠延長作用の弱いことが分かった。そこで 3c—f, tolperisone (1) 及び eperisone (2) のこれら作用に対する効力を比較するため,

TABLE I. 2-Methyl-3-pyrrolidinopropiophenone Derivatives

Compd. No.	R	mp (°C) (Recryst. Solv.)	Formula	Analysis (%)			IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm ⁻¹)	MS (m/z)	¹ H-NMR (CD ₃ OD) (δ)
				Calcd	Found				
				C	H	N			
3a ³⁾	H	152–153 (EtOH-ether)	C ₁₄ H ₁₉ NO·HCl	66.26 (66.20)	7.94 (8.19)	5.52 (5.36)	—	—	—
3b ⁴⁾	Me	166–167 (EtOH-ether)	C ₁₅ H ₂₁ NO·HCl	67.28 (67.18)	8.28 (8.13)	5.23 (5.46)	—	—	—
3c	Et	158–159 (EtOH-ether)	C ₁₆ H ₂₃ NO·HCl	68.19 (67.97)	8.58 (8.71)	4.97 (4.88)	1680 (CO)	245 (M ⁺)	1.26 (3H, t, J=7.5 Hz), 1.30 (3H, d, J=7 Hz), 1.84–2.28 (4H, m), 2.74 (2H, q, J=7.5 Hz), 3.08–4.25 (7H, m), 7.40, 8.02 (each 2H, d, J=8.5 Hz)
3d	n-Pr	152–154 (EtOH-ether)	C ₁₇ H ₂₅ NO·HCl	69.02 (68.91)	8.86 (8.87)	4.73 (4.69)	1680 (CO)	259 (M ⁺)	0.95 (3H, t, J=7 Hz), 1.29 (3H, d, J=7 Hz), 1.68 (2H, ses, J=7 Hz), 1.84–2.34 (4H, m), 2.69 (2H, t, J=7 Hz), 2.92–4.32 (7H, m), 7.38, 8.01 (each 2H, d, J=8.5 Hz)
3e	iso-Pr	137–139 (MeCOEt)	C ₁₇ H ₂₅ NO·HCl	69.02 (69.18)	8.86 (8.93)	4.73 (4.49)	1680 (CO)	259 (M ⁺)	1.28 (6H, d, J=7 Hz), 1.29 (3H, d, J=7 Hz), 1.80–2.32 (4H, m), 2.92–4.26 (7H, m), 7.43, 8.03 (each 2H, d, J=8 Hz)
3f	n-Bu	116–117 (MeCOEt)	C ₁₈ H ₂₇ NO·HCl	69.77 (69.76)	9.11 (8.91)	4.52 (4.48)	1680 (CO)	273 (M ⁺)	0.80–1.04 (3H, m), 1.29 (3H, d, J=7 Hz), 1.15–1.84 (4H, m), 1.88–2.32 (4H, m), 2.72 (2H, t, J=7 Hz), 3.08–4.28 (7H, m), 7.38, 8.01 (each 2H, d, J=8.5 Hz)
3g	iso-Bu	127–128 (MeCOEt)	C ₁₈ H ₂₇ NO·HCl	69.77 (69.55)	9.11 (9.11)	4.52 (4.58)	1675 (CO)	273 (M ⁺)	0.92 (6H, d, J=7 Hz), 1.30 (3H, d, J=7 Hz), 1.74–2.30 (5H, m), 2.58 (2H, d, J=7 Hz), 3.08–4.28 (7H, m), 7.35, 8.02 (each 2H, d, J=8.5 Hz)
3h ⁵⁾	tert-Bu	177–178 (EtOH-ether)	C ₁₉ H ₂₉ NO·HCl	69.77 (69.52)	9.11 (9.13)	4.52 (4.35)	—	—	—
3i	cyclo-Hex	186–187 (EtOH-ether)	C ₂₀ H ₂₉ NO·HCl	71.51 (71.64)	9.00 (8.86)	4.17 (4.12)	1680 (CO)	299 (M ⁺)	1.00–2.80 (15H, m), 1.29 (3H, d, J=7 Hz), 2.92–4.30 (7H, m), 7.40, 8.02 (each 2H, d, J=8.5 Hz)
3j	CH ₂ F	151–152 (EtOH-ether)	C ₁₈ H ₂₀ FNO·HCl	63.04 (63.16)	7.41 (7.49)	4.90 (4.94)	1680 (CO)	249 (M ⁺)	1.30 (3H, d, J=7 Hz), 1.76–2.32 (4H, m), 2.92–4.30 (7H, m), 7.57, 8.13 (each 2H, d, J=8.5 Hz)

TABLE II. Effects of Propiophenone Derivatives on Retention Time on Rotating Rod, Nicotine Induced Convulsion and Hexobarbital Induced Sleeping in Mice

Compd. No.	Muscle relaxant activity (rotating rod method)	Anticonvulsant activity	Prolongation of hexobarbital induced sleeping
	Number of animals ^{a)}	Number of animals ^{b)}	Number of animals ^{c)}
1 (tolperisone)	2	1	1
2 (eperisone)	2	2	4
3a	1	4	3
3b	1	4	1
3c	3	4	1
3d	3	4	1
3e	3	5	0
3f	2	4	2
3g	0	3	3
3h	0	3	5
3i	1	2	0
3j	1	0	0

Each experiment was performed in 5 mice.

a) The number of mice whose retention time on rotating rod was less than 60 s.

Before administration of compounds, the retention time of all mice was more than 60 s.

b) The number of mice in which nicotine (5 mg/kg, i.v.) did not induce tonic convulsion.

c) The number of mice whose hexobarbital (80 mg/kg, i.p.) induced sleeping time was twice more than that in control mice.

The experiments of muscle relaxant activity and sleeping time by hexobarbital were performed 15 min after administration of each compound (100 mg/kg, p.o.). Nicotine was injected 10 min after administration of each compound (100 mg/kg, p.o.).

TABLE III. Effects of Propiophenone Derivatives on Retention Time on Rotating Rod, Nicotine Induced Convulsion and Hexobarbital Induced Sleeping in Mice

Compd. No.	Muscle relaxant activity (rotating rod method)	Anticonvulsant activity	Prolongation of hexobarbital induced sleeping
	[95% confidence intervals]	[95% confidence intervals]	
1 (tolperisone)	175 ^{a)} [146—211]	74 ^{b)} [55—98]	> 100 ^{c)}
2 (eperisone)	213 [154—297]	70 [53—91]	41
3c	182 [152—218]	35 [25—49]	67
3d	145 [117—180]	30 [24—39]	77
3e	119 [95—150]	38 [31—48]	57
3f	162 [126—208]	34 [27—43]	59

a) The value represents the dose (mg/kg, p.o.) by which retention time on rotating rod was shorten less 60 s in half of mice. Numbers in square brackets indicate 95% confidence intervals.

b) The value represents the dose (mg/kg, p.o.) which inhibited the convulsion induced by nicotine (5 mg/kg, i.v.) in half of mice. Numbers in square brackets indicate 95% confidence intervals.

c) The value represents the dose (mg/kg, p.o.) which prolonged the sleeping time by 1.5 times as much as that in control mice.

These values were obtained as described in "Methods".

半数のマウスが回転円筒上に滞る時間を 60 秒以下に短縮する用量及びニコチン誘発痙攣を抑制する各化合物の用量を求め比較した。又、これら化合物によりヘキシバルビタール睡眠時間が 1.5 倍に延長される用量を求めた (Table III)。

2. 除脳固縮緩解作用

筋弛緩作用及びニコチン痙攣抑制作用をもつ化合物 (3c—f) 及び 1, 2 について十二指腸内投与による貧血性除脳固縮に対する作用を調べた。各化合物による固縮の持続性成分緩解作用の経時変化を Fig. 1 に、又、緩解率を Table IV に示す。検討した化合物中 3c が固縮の持続性成分に強い緩解作用を有した。3d—f のその作用は 1, 2 の作用より弱かった。一方、持続性成分を緩解させたこれら化合物の用量では、相動性成分を緩解させる作用はなかった。

Fig. 1. Effects of Propiophenone Derivatives (50 mg/kg, i.d.) on the Tonic Component of Rigidity in Forelimbs of Anemic Decerebrated Rats

Each value indicates the mean with S.E. in 3 to 5 rats. Number in parenthesis in each figure indicates the numbers of animals.

3. 毒性試験

先の化合物 (3c-f) の毒性について 1 や 2 と比較した (Table V). マウスに経口投与した場合, 死亡はすべて投与後 24 時間以内に発現し, 以後 7 日間観察したが死亡例はなかった. 急性毒性の指標である LD_{50} 値では, isopropyl 基を有する化合物 (3e) が最も低く, 他の化合物はほぼ同程度であった. 一方, ラットに 2 週間連続投与した場合, alkyl 基の炭素鎖が長くなるほど体重減少及び呼吸数減少が観察され, 死亡率が高くなった. 各化合物により死亡したラットを剖検した結果, 各臓器に著しい腫大, 萎縮は観察されなかった.

以上の結果より, 今回検討した 2-methyl-3-pyrrolidinopropiophenone 誘導体における phenyl 基の *p* 位の置換基は, 筋弛緩作用, 貧血性除脳固縮緩解作用及び毒性の面から, ethyl 基が最も適当な置換基であると考えられた.

筋弛緩作用及び協調運動抑制作用の試験法である回転円筒法で筋弛緩作用を検討したところ, 合成した 2-methyl-3-pyrrolidinopropiophenone 誘導体のうち, phenyl 基の *p* 位にアルキル基として ethyl, *n*-propyl, iso-

TABLE IV. Effects of Propiophenone Derivatives on the Tonic Component of Rigidity in Forelimbs of Anemic Decerebrated Rats

Compd. No.	Inhibition (%)
1 (tolperisone)	76 ± 4.6 (5)
2 (eperisone)	53 ± 9.1 (5)
3c	86 ± 7.3 (5)
3d	21 ± 5.3 (3)
3e	34 ± 10.1 (3)
3f	25 ± 12.7 (3)

Inhibitory effect of each compound (50 mg/kg, i.d.) on tonic component of rigidity was observed for 60 min. The maximal relaxation induced by each compound within 60 min was measured and the inhibitory effects were expressed as % relaxation of the maximum relaxation after ether inhalation at the end of experiments. Each value represents the mean with S.E. of 3 or 5 rats. Numbers in parenthesis indicate the number of experiments.

TABLE V. Acute Toxicity in Mice and Prolonged Toxicity in Rats of Propiophenone Derivatives

Compd. No.	LD ₅₀ (mg/kg) [95% confidence intervals]	Prolonged toxicity for 2 weeks		
		Dose (mg/kg/d)	Mortality	Body weight change
1 (tolperisone)	358 [313—410]	400 800	1/7 0/7	N.C. ↓
2 (eperisone)	324 [280—375]	400 800	1/7 5/7	↓ ↓ ↓
3c	356 [314—404]	400 800	1/7 5/7	↓ ↓ ↓
3d	337 [297—384]	400 800	3/7 6/7	↓ ↓ ↓ ↓
3e	201 [175—231]	400 800	4/7 7/7	↓ ↓ ↓ ↓
3f	337 [292—389]	400 800	5/7 7/7	↓ ↓ ↓ ↓

N. C., no change; ↓, slight suppression of body weight increase; ↓ ↓, severe suppression of body weight increase.

propyl あるいは *n*-butyl 基を導入した化合物 (**3c—f**) は **1** 及び **2** と同程度の強い筋弛緩作用を示し、置換基の炭素鎖がこれらより短くても (**3a, b**), isobutyl 基又は *tert*-butyl 基にしても (**3g, h**), その効力は低下した。しかし、貧血性除脳固縮緩解作用は筋弛緩作用と平行せず, ethyl 基のみ強い作用を示した。更にニコチン誘発痙攣抑制作用では pyrrolidinopropiophenone 誘導体の phenyl 基が水素原子 (**3a**) から *tert*-butyl 基 (**3h**) まで強く現れ, piperidinopropiophenone 誘導体の **1, 2** と比較した場合, これらの化合物が約 2 倍強かった (Table III)。このことは pyrrolidine を有する化合物は, piperidine を有する化合物よりニコチン誘発痙攣を抑制する作用が強いことを示すと考えられた。一方, 中枢抑制作用の強さを検討したヘキソバルビタール誘発睡眠延長作用では, *p* 位の置換基が methyl, ethyl あるいは propyl 基を有する化合物 (**3b—e**) は, 水素原子や butyl 基を有する化合物 (**3a, f—h**) より弱く, 特に ethyl 基をもつ **3c** は **2** と比較しても弱かった。Alkyl 基の代わりに cyclohexyl 及び fluoromethyl 基を置換した化合物 (**3i, j**) の筋弛緩作用も弱く, このような置換基をもつ化合物は筋弛緩作用が弱いのかあるいは代謝されやすいことが考えられた。

謝辞 本研究に際し, 実験に協力頂いた北陸製薬中央研究所小川信男氏, 大下政文氏, 西野博幸氏, 小原登氏に感謝致します。

引用文献及び注

- 1) 紺谷 仁, 真野章弘, 越浦良三, 山崎光雄, 嶋田康治, 大下政文, 森川宏二, 加藤日出夫, 伊藤安夫, 日薬理, **89**, 91 (1987).
- 2) K. Morikawa, M. Oshita, M. Yamazaki, N. Ohara, F. Mizutani, H. Kato, Y. Ito, H. Kontani, R. Koshiura, *Arzneim.-Forsch.*, **37**, 331 (1987).
- 3) A. Pohland, H. Sullivan, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4458-61 (1953).
- 4) 日本臓器株式会社, 特開昭 54-125630 (1979) [*Chem. Abstr.*, **95**, 149960g (1981)].
- 5) H. J. Knops, W. Kraemer, P. E. Frohberger, Ger. Offen. Patent 3019497 (1981) [*Chem. Abstr.*, **96**, 103860s (1982)].
- 6) F. Fukuda, T. Ito, S. Hashimoto, Y. Kudo, *Jpn. J. Pharmacol.*, **22**, 457 (1972).