Summary

The amount of calcium in a solution of calcium salt with the concurrent presence of magnesium salt was determined by adding a small amount of ammonia to such a solution, adding ammonium molybdate solution in the presence of ammonium salt, and warming on a boiling water bath. The calcium molybdate precipitate thereby formed was collected by filtration, washed with boiling water, dried, and ignited. In this case, the mother liquor shows approx. pH 6.0. The amount of magnesium in the filtrate was determined by the method elaborated by the present author.⁵⁾ In the formation of calcium molybdate, a part of barium precipitates at pH 5.8 but strontium was found to be without effect. Magnesium remains dissolved at around pH 5.8~9.2 and its separate determination by later procedures was found to be possible.

(Received January 31, 1955)

148. 高木敬次郎, 粕谷 豊, 福田英臣, 太田喜夫: 鎮痙剤の研究 (第4報*)

1,1-Diphenyl-3-piperidinobutanol Hydrochloride の薬理作用について

Keijiro Takagi, Yutaka Kasuya, Hideomi Fukuda, and Yoshio Ota:

Antispasmodics. IV. Pharmacology of 1,1-Diphenyl-3-piperidinobutanol Hydrochloride.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo**)

前報までに報告した diphenylbutanolamine 誘導体のうち, 摘出モルモット腸管による鎮痙効力の試験で最も強力であつたジベリジノ誘導体 (No. 3 と略称) について一般薬理作用を試験した. 即ち生体内腸管に対する作用, 局所麻酔性, 及び一般に neurotropic antispasmodics の副作用として知られる唾液分泌抑制, 散腫, 迷走神経性心搏亢進等の作用を硫酸アトロピンのそれと比較し, あわせて急性毒性の試験を行った.

実 験 の 部

I. 生体内小腸運動に対する作用 **1) 実験方法** 生体内小腸運動を描記するためにモルモットを使用する Straub 法¹⁾を採用した. 0.5 g/kg のウレタン麻酔を施して腹腔を開き注意して廻腸を 5~3 cm の間隔で結紮する. 一端を開き内容物を水で洗い, カニューレを結びリングを満した水マンノメーターに連結する. セルロイド板を適当に切り腹腔の切開部を覆い, 特に腹壁を縫い合せる事はしない. 冬期行う時は適当に外部から保温する. 通常小腸運動は僅かに肉眼で認められる程度であるが prostigmine 7.5 γ/kg を股静脈に注入すると 2 時間以上以上にわたつて強い蠕動がみられる (Fig. 1). prostigmine を与えて蠕動が連続的に起るのを確かめてから (通常 10~20 分後) 薬物の生理食塩水溶液を静注する. **2) 結果** Fig. 2 に見る如く硫酸アトロピン 0.15 mg/kg では約 30~50 分にわたつて蠕動が停止し, 其の後は徐々に恢復する. No. 3 は 2 mg/kg ではこれより抑制が

* 第3報: 本誌 73, 544 (1953).

** Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) Straub, P. Viaud: Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. 169, 1 (1933); ibid. 175, 518 (1934).

強く, No. 3 1.5 mg/kg では硫酸アトロピン 0.12 mg/kg より強い抑制を示す. 先に No. 3 1.2 mg/kg を与え効果が消失してから硫酸アトロピン 0.1 mg/kg を与えた場合は Fig. 3 の如くアトロピンが僅かに強く出ている. 以上から No. 3 の生体内腸管運動抑制効力は硫酸アトロピンの約 8%程度であるといえよう. また artane hydrochloride [I] の 3 mg/kg と No. 3 2 mg/kg とは同程度の効果を示している.

Fig. 1. Contractions of Guinea Pig Small Intestine *in situ* (caused by Prostigmine 7.5 γ /kg intravenous injection)

Fig. 2. Comparison of No. 3 with Atropine Sulfate by the Inhibition of the Effect of Prostigmine

Fig. 3. Comparison of No. 3 with Atropine Sulfate and Artane·HCl on Guinea Pig Small Intestine *in situ*

II. 瞳孔に対する作用 1) 実験方法 Pulewka²⁾の方法に従って体重 15 g 以上のマウスを選び静かな暗室内で 0.1 mm スケール入りルーペで瞳孔の直径を測定する。ルーペの倍率は 10 倍程度が最適で 25 倍では瞳孔の輪郭が不明瞭になる。瞳孔の直径は通常 0.3~0.5 mm であつて、雌雄の差は殆んどない。薬物の注射量はきわめて少量であるため数日の休養を置いて数回使用することが出来たが、何回か使用すると瞳孔の大きさが 0.5 mm 以上となり反応の個体差も大きくなる。マウスは 1 群 5 匹以上を使用し薬物は皮下注射を行う。

2) 結果 各薬物につき注射後の経過を調べると Fig. 4 の如くで、硫酸アトロピンの作用は持続性を有し注射後 30~40 分で最大値に達する。No. 3 は速かに作用が現われ徐々に減退する。従つて瞳孔測定時間を atropine は注射後 30 分、No. 3 は 10 分後と定め観察した。その結果を Table I, Fig. 5 に示した。これから考察すると用量に対する瞳孔散大の度合が両者では全く異なっているためいわゆる parallel line assay は出来ない。要因分析の結果では atropine, No. 3 の各用量反応線の直線性は成立するが、平行性は ($p=0.05$ で) 否定される。従つて精密な効力比は出せないが、使用量の比を効力比とすると、だいたい No. 3 は硫酸アトロピンの 1/50 以下である。

Fig. 4

Fig. 5
log Dose-Action Curves
for Atropine Sulfate
and No. 3

Table I. Mydriatic Action of No. 3

	A_1	A_2	A_3	P_1	P_2	P_3
Diameter of pupil	8.0	13.0	17.5	7.0	8.5	10.0
	8.5	16.0	12.0	6.0	8.0	10.5
	5.0	12.5	11.0	6.0	9.0	14.0
	5.0	10.5	17.5	6.5	7.0	8.5
	6.5	8.5	18.0	8.5	9.5	12.0
	6.0	5.5	22.0	5.0	7.0	11.5
Mean	6.5	11.0	16.3	6.5	8.2	11.1

Atropine sulfate $A_1=0.00075$ mg/15 g, $A_2=0.0015$ mg/15 g, $A_3=0.003$ mg/15 g.

No. 3 $P_1=0.0375$ mg/15 g, $P_2=0.075$ mg/15 g, $P_3=0.15$ mg/15 g.

III. 唾液分泌停止作用 1) 実験方法 一番簡単な方法としては家兎にピロカルピンを注射し唾液の分泌を起しこれに対する薬物の拮抗作用をみる方法³⁾があるが、我々は家兎の代りにモルモットを使用した。動物を無麻酔で正常位の儘頸部だけを特別な固定台に固定し口の下にロートを置き唾液を集めて、その下のメシリンダーに流下するようにする。薬物を背部皮下に注射し、4 時間後までの唾液分泌量を測定する。分泌促進剤と停止剤とは同時に注射する。2) 結果 Table II に示した如く塩酸ピロカルピン 5 mg/kg+硫酸アトロピン 0.1 mg/kg では 5 匹の平均 1.09 cc、塩酸ピロカルピン 5 mg/kg+No. 3 5 mg/kg では 5 匹の平均 3.02 cc であるから大体 No. 3 の唾液分泌停止作用は硫酸アトロピンの 1/50 以下である。

Table II. Antisialagogue Action of Atropine Sulfate and No. 3

	Body weight (g.)	Total saliva (cc., 4 hrs.)
Pilocarpine-HCl 5 mg./kg.	660	9.50
	630	10.50
	740	8.40
	320	12.00
	mean	10.10

2) Pulewka: Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. **168**, 307 (1932).

3) B. V. Issekutz: Z. exptl. Pathol. Therap. **19**, 99 (1918); Graham, Lazarus: J. Pharmacol Exptl. Therap. **69**, 331 (1940).

Atropine sulfate 0.1 mg./kg.	400	3.70
+ Pilocarpine-HCl 5 mg./kg.	485	0
	657	0
	645	0
	380	1.75
	mean	1.09
No. 3 5 mg./kg. + Pilocarpine-HCl 5 mg./kg.	465	3.80
	328	3.40
	325	0.30
	355	0
	265	7.60
	mean	3.02

IV. 循環系に対する作用 1) 実験方法 迷走神経性心臓促進作用の測定には Kuhl⁴⁾の方法を採用した。ウレタン (1.7 g/kg) 麻酔を行つた猫の頸動脈圧を描記しつつ塩化アセチルコリン 0.01~0.05 γ を静注すると一過性の血圧降下が起り、直ちに元の血圧に恢復する。アセチルコリンの注射を 2, 3 回繰返して血圧降下の程度をみた後に硫酸アトロピンまたは No. 3 の適当量を静注し、3 分毎にアセチルコリンを注射して血圧降下をみる。

2) 結果 我々の実験では Fig. 6 にみる如くアセチルコリン 0.015 γ で約 10 mm の血圧降下をみたが、これに atropine sulfate 1.25 γ を与えると以後アセチルコリンの血圧降下を恢復する迄約 7 分間要し、No. 3 200 γ では 8 分を要した。後に同じ dose を繰返した場合前者は 15 分、後者は 14 分を要した。アセチルコリン 0.05 γ (血圧降下 15 mmHg) の場合は atropine sulfate 2.5 γ で 17 分、No. 300 γ で 12 分を要した。故

Fig. 6

Fig. 7

4) Kuhl: Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. **109**, 295 (1925).

に No. 3 の迷走神経性心臓促進作用は atropine sulfate の 1/150~1/160 程度であると考えられる。なお No. 3 自体の血圧に対する作用は Fig. 7 の如く 3 mg では約 10 mmHg の血圧降下を示し、10 mg では著明な下降をみる。血管に対する作用を墓の後肢灌流法によつて試験したが何等影響はみられなかつた。

V. 呼吸に対する影響 呼吸運動に対しては 1 mg/kg によつて一過性に呼吸の興奮がみられ、3 mg/kg では血圧の下降と同時にわずかに呼吸の興奮がくるが後はむしろ抑制される。5 mg/kg 以上では血圧下降と共に呼吸の興奮が著明となるが暫時の後呼吸は緩徐となる。

VI. 局所麻酔作用 1) 伝達麻酔 Bülbring & Wajda⁵⁾ の方法により反射蛙を使い局所麻酔性を試験した。先ず standard として塩酸プロカインを選び、その dose response curve の直線性を検定した。常法によつて反射蛙を作り 0.05 N 塩酸に対する反射の回復良好なものを選び使用する。先ず薬物を与えないで 1 分毎に 0.2 N 塩酸で足を刺戟し 30 回以上繰返しても反射消失のないことを確かめてから Table III の如くプロカイン 4 dose の生理食塩水溶液を下腹部に出来たポケット状部分に適用し、後 1 分毎に塩酸に対する反射を試験した。その際 0.05 N, 0.1 N, 0.2 N の塩酸を用意し、先ず 0.05 N の塩酸で test して 10 秒を経ても反射のないものは次の濃度の塩酸で刺戟するという如くし 0.2 N 塩酸に対する反応消失迄の所要時間を以て目印とした。Table V から dose response curve の直線性が立証されたので、上述の試験法を用いプロカイン塩酸塩と No. 3 の麻酔力を比較するため Table IV の如き実験を行つた。其の要因分析から両薬物の dose response curve の直線性、平行性が認められ、これから効力比を求めると No. 3 の伝達麻酔力は塩酸プロカインの 66%となる (Fig. 8)。

Fig. 8

$$M = \bar{x}_p - \bar{x}_{No.3} - \frac{\bar{y}_p - \bar{y}_{No.3}}{b}$$

$$= 0.586$$

$$R = 0.667$$

$$\text{Fiducial limit} = 54.5 \sim 81.5\% (p=0.05)$$

2) 表面麻酔 モルモットの角膜反射試験によつて No. 3 の表面麻酔性をプロカインと比較せんとし Table V の如き実験を行つた。No. 3, プロカインの各 3 dose 即ち $A_1, A_2, A_3, P_1, P_2, P_3$ の計 6 dose を選び任意の順序でモルモットに投与し、各投与後 5 分間に於ける wink reflex の有無を 1 分間隔でしらべた。かくして 1 匹のモルモットにつき 1 dose で左右の眼で合計 10 回の試験が行われる。4 匹のモルモットを使つたが、その反射消失を表では (—) で示してある。ここに見られる如く dose の上昇とともに wink reflex の消失度が上昇してゆく事がわかる。(—) の出現率を probit に換算し各薬物の log dose-probit line を引いた場合、 χ^2 test からそれが平行であるとみなせるので効力比を算出すると No. 3 の表面麻酔力は塩酸プロカインの 2.7 倍、危険率

Table III

Time Taken for the Development of Plexus Anesthesia in Frogs

Concentration of Procaine (%)	Time for anesthesia to 0.2 N HCl (min.)							
0.125	18	20	13	15	18	20	18	19
0.25	14	11	12	16	15	16	15	16
0.5	7	12	8	9	9	8	12	8
1.0	7	6	5	3	3	4	4	5

Analysis of Variance

Nature of variation	d.f.	Sum of squares	Mean square
Regression	1	783.2	783.2
Deviations from regression	2	6.2	3.1
Between doses	3	789.4	
Within doses	28	106.5	3.8
Total	31	895.9	

5) Bülbring, Wajda: J. Pharmacol. Exptl. Therap. 85, 78 (1945).

Table IV
Time Taken for the Development of Plexus Anesthesia in Frogs after Application
of No. 3 and Procaine

	Dose of Procaine-HCl			Dose of No. 3			Totals
	P_1	P_2	P_3	A_1	A_2	A_3	
	13	8	5	14	8	7	55
	15	7	3	17	10	10	62
	10	10	3	11	12	6	52
	11	8	4	18	10	6	57
	12	10	6	16	10	5	59
	12	9	3	16	10	7	57
Totals	73	52	24	92	60	41	342
Means	12.16	8.65	4.0	15.33	10.0	6.83	
$P_1=A_1=0.25\%$ $P_2=A_2=0.5\%$ $P_3=A_3=1.0\%$							

Analysis of Variance

Nature of variation	d.f.	Sum of squares	Mean square	F
Preparations	1	53.78		19.13
Regression	1	416.67		148.23
Parallelism	1	0.17		
Curvature	1	0.50		
Difference of curvatures	1	5.55		1.98
Between doses	5	476.67		
Error	30	84.33	2.81	
Total	25	561.00		

Table V. Failure of Wink Reflex after Application of No. 3 and Procaine
to the Cornea of Guinea Pigs

Animal No.	No. 3			Procaine		
	A_1	A_2	A_3	P_1	P_2	P_3
1	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+

5%の信頼限界は 2.3~3.1 倍となる。なお局所麻酔剤の表面麻酔力評価に関する bioassay については従来満足すべき方法が少なく、ここに述べた方法についてもまだ充分考慮すべき点が残っており現在検討中である。

VII. 急性毒性 マウスに皮下注射してその中毒症状を観察すると 100 mg/kg~150 mg/kg では注射後動作はやや活発となり多少の興奮がみられる。250 mg/kg では興奮やや強く震顫をみる。殆んど2時間後に恢復するが24時間以内に1/10の死亡率であった。350 mg/kg 以上では興奮震顫がきわめて激しく直立出来ないこともある。この状態が静まった後でも急に激しく動き廻り痙攣状を示すことが多い。死ぬ時は激しい痙攣とともに横に倒れ四肢を伸す。皮下注射では 493 mg/kg まで投与したが死亡率は 40%で偏差が大きく、正確な LD_{50} 。

の測定は困難であつたので腹腔内注射を行つた。此の場合の症状は皮下注射の時と大差はない。Table VII に示すように 130 mg/kg から 224 mg/kg の間に 0~100%の死亡率がある。

Table VI

	Dose (% sol.)	log (dose $\times$ 10)	Response	Empiric. Probit	Expd. Prob.
P_1	1.0	1.0	5/40	3.861	4.0
P_2	1.4	1.1461	19/40	4.939	4.8
P_3	1.96	1.2923	27/40	5.448	5.55
A_1	0.4	0.6021	7/40	4.078	4.2
A_2	0.56	0.7482	19/40	4.937	5.0
A_3	0.784	0.8943	32/40	5.841	5.7
$\chi^2_{(3)}=3.484$ $P\chi^2_{(1)}=2.294$ $A\chi^2_{(1)}=1.053$ $\text{para.}\chi^2_{(1)}=\chi^2_{(3)}-(P\chi^2_{(1)}+A\chi^2_{(1)})=0.137$ $m=\bar{x}_P-\bar{x}_A-\frac{\bar{y}_P-\bar{y}_A}{b}=0.4311$ $R=2.698$ fiducial limits=2.344~3.105					

Table VII

Acute Toxicity of No. 3 to Mice by Intraperitoneal Injection

Dose (mg./kg.)	Number of Mice		% Kill.
	Injected	Killed	
130	10	0	0
149	10	0	0
171	10	4	40
196	10	6	60
224	10	10	100
LD ₅₀ =183.3 mg./kg. (172.3~195.0)			
Intravenous Injection			
33.3	10	0	0
40.0	10	1	10
48.0	10	1	10
57.6	10	3	30
69.1	10	8	80
82.9	10	10	100
99.5	10	10	100
LD ₅₀ =59.7 mg./kg. (54.6~65.3)			

東京大学医学部薬学科

Summary

Pharmacological action of 1,1-diphenyl-3-piperidinobutanol hydrochloride (No. 3) was examined and following results were obtained :

- 1) In the tests on antispasmodic activity by the excised guinea pig intestines, No. 3 showed 30~50% activity of atropine sulfate and 50% that of papaverine hydrochloride, and *in vivo* intestinal tests, it showed approximately 8% the activity of atropine sulfate.
- 2) The local anesthetic activity of No. 3 was 70% of procaine hydrochloride as inducing anesthetic, and 270% of procaine as surface anesthetic.
- 3) The side-action of No. 3, as compared to that of atropine sulfate, was less than 1/50 in antisilagogue action, less than 1/60 in vagal cardiac stimulating action, and less than 1/50 in mydriatic action. Its LD₅₀ was 59.7 mg./kg. by intravenous injection.

(Received February 2, 1955)