UDC 547.586-233.3: 615.782

188. 高木敬次郎, 藤江 恭, 高柳一成: 鎮痙作用の薬品作用学的研究 (第 14 報)

イソアミルエステル類と塩基性エステル類の鎮痙作用の比較

Keijiro Takagi, Kyo Fujie, and Issei Takayanagi: Chemicopharmacological Studies on Antispasmodic Action. XIV. Comparison of the Antispasmodic Action of Isoamyl Esters with That of Basic Esters.

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo*)

Seven isoamyl esters and four diethylaminoethyl esters were synthesized, and their atropine-like and papaverine-like antispasmodic activities were estimated. Isoamyl acetate lacks acetylcholine (ACh)-like action and has some atropine-like and papaverine-like anti-ACh actions. These facts show the indispensability of a cationic center for ACh-like action. The indexes of Ferguson's thermodynamic activity on atropine-like and papaverine-like actions were calculated from the solubility of esters and free bases in water. The isoamyl esters and weak bases such as papaverine have the indexes of a same magnitude and can be interpreted that they act through some physicochemical property of their molecules. The indexes of diethylaminoethyl esters on papaverine-like action were somewhat smaller than the above two groups and ionic state would also be supposed to contribute to papaverine-like action to some extent.

(Received July 11, 1958)

粕谷¹⁾は最近パバペリン様作用 (*P*-作用) の発現には一般の鎮痙薬の有する陽イオンとしての性質が不必要であつて、むしろ麻酔薬に見られる如く、何等かの物理化学的性質によつてその効力が左右されるものと推定した。この事実はすでに Barlow²⁾ によつて示唆されている。本研究の目的は中性エステルと塩基性エステルの鎮痙作用を比較して *P*-作用の本態の究明に資すると共に、アセチルコリン様作用 (*C*-作用) に陽イオン性が不可欠のものであるか否かを検討するに在る。先づイソアミルアルコールのエステル類と、これに対応するジエチルアミノエタノールのエステルを合成して、それ等のアトロピン様作用 (*A*-作用) 及び *P*-作用を検討した。若し *P*-作用が非特異的な抑制作用であるならば Ferguson の法則³⁾ が成立する筈であるから著者等の化合物について適用を試みた。

イソアミルアルコール及びジエチルアミノエタノールのエステル類の合成 ここに合成したイソアミルエステルのうちフェニル酢酸イソアミル (V) 以外のものは既知であるが、確実な記載に欠けているので安息香酸イソアミル (IV) 以外は (V) の合成法に準じて行つた。即ち酸を約 10 倍量のイソアミルアルコールに溶解し、濃硫酸を酸の約 2 倍量加えて加熱沸騰させると相当に良好な得量でエステルが得られる。安息香酸イソアミル (IV) はアルコールと塩化ベンゾイルとから得られる⁴⁾。マンデル酸ジエチルアミノエチル (XI) の薬理作用の報告は見られるが^{5,6)}、合成に関する詳細な報告はない。われわれはマンデル酸と 2 当量のジエチルアミノエチルクロリドをジオキサンを溶媒として反応させ、エステルを得たが、不安定な物質であることがわかつた。

本研究に際し溶解度測定に御援助下さつた沖電気岡本氏に深甚の謝意を表する。

実 験 の 部

フェニル酢酸イソアミル (V) フェニル酢酸 5 g をイソアミルアルコール 50 g に溶解し、冷却、攪拌しつつ conc H_2SO_4 9 g を加えた後、10 時間煮沸還流させる。氷水 20 g を加え、 Et_2O 200 cc で抽出、 Et_2O 液を

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) Y. Kasuya: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) **6**, 155(1958).

2) R.B. Barlow: "Introduction to Chemical Pharmacology", Methuen Press, 167(1955).

3) J. Ferguson: Proc. Roy. Soc. B **127**, 387(1939).4) F. Zetzsche, et al.: Helv. Chim. Acta **9**, 181(1926).5) N. Brock, et al.: Arzneim. Forsch. **2**, 165(1952).6) A.M. Lands, et al.: J. Pharmacol. Exptl. Therap. **86**, 129(1946).

合し, K_2CO_3 溶液, 次いで水で洗う. Na_2SO_4 乾燥, Et_2O 留去後減圧蒸留. bp_3 103° . 得量 6.3 g (83%) $C_{13}H_{18}O_2$ 計算値 C 75.32, H 9.42, 実験値 C 75.34, H 9.01.

マンデル酸 2-ジエチルアミノエチル (XI) マンデル酸 5 g (0.033 mol) をジオキサン 40 cc に溶解し, 2-ジエチルアミノエチルクロリド (bp $51\sim 52^\circ$) 9 g (0.067 mol) を加え, 室温に 1 夜放置し, 9 時間沸騰水浴上加温. 析出したジエチルアミノエチルクロリド HCl 塩を浮別し, 減圧下ジオキサン及び過剰のジエチルアミノエチルクロリドを留去. 残留物を dil HCl に溶かし, Et_2O で洗った後, K_2CO_3 溶液を加えてアルカリ性とし, 分離する油状物を Et_2O 100 cc で抽出, 水洗, Na_2SO_4 , 溶媒留去. 減圧蒸留 $bp_{0.08}$ 126.5° 得量 1 g (12%) 淡黄色液体. 放置すると分解して褐変. $C_{14}H_{21}O_3N$ 計算値 C 66.90, H 8.42, N 5.57 実験値 C 66.5, H 8.44. N 5.72 塩酸塩: mp 117° . ($MeOH \cdot Et_2O$)

アトロピン様作用並びにパパベリン様作用と熱力学的活性 (thermodynamic activity) の関係

実験方法及び実験計画

効力検定に用いた実験方法及び実験計画は前報⁷⁾に同じ. 動物は体重 $15\sim 20$ g の雄ハツカネズミを用いた.

Table I. Isoamyl Esters and Diethylaminoethyl Esters

Compound		R-COOCH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	
No.	R	b.p. °C (mm)	Effective molar concn.
(I)	CH ₃	142	1.5×10^{-3}
(II)	C ₂ H ₅	160~161	1.2×10^{-3}
(III)	C ₃ H ₇	85 (30)	4.3×10^{-4}
(IV)	C ₆ H ₅	113 (6)	2.6×10^{-4}
(V)	C ₆ H ₅ CH ₂	103 (3)	2.4×10^{-4}
(VI)	C ₆ H ₅ CH(OH)	128 (4)	1.5×10^{-4}
(VII)	(C ₆ H ₅) ₂ C(OH)	182~184 (4)	1.1×10^{-4}
		R-COOCH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	
(VIII)	CH ₃	74 (15)	
(IX)	C ₆ H ₅	122~124 (3)	1.6×10^{-4}
(X)	methyl iodide	m.p. 132~133*	2.4×10^{-4}
(XI)	C ₆ H ₅ CH(OH)	126.5 (0.08)	6.3×10^{-5}
(XII)	(C ₆ H ₅) ₂ C(OH)	m.p. 54	2.4×10^{-6}

* Anal. Calcd. for $C_{14}H_{22}O_2I$ N 3.85, I 34.9. Found. N 3.64, I 35.13.

Fig. 1.

Movement of ACh Dose-Response Curve by
Isoamylbenzilate (1.1×10^{-4} M)

a : ACh alone b : with antagonist
○ : used for calculation

Fig. 2. Assay of Isoamyl Esters

Dotted line : P-action, Solid line : A-action

P : papaverine, A : atropine

Table II. Indexes of Thermodynamic Activity on *P*- and *A*-action of Isoamyl Esters and Diethylaminoethyl Esters

Compound No.	Potency ratio (R)		S_o (mol/L)*	r^*	$I_A =$ $r/A \times S_o$	$I_P =$ $r/P \times S_o$
	<i>A</i> = <i>A</i> -action	<i>P</i> = <i>P</i> -action				
(I)	0.004	0.4	1.8×10^{-2}	1	1.4×10^4	1.4×10^2
(II)	0.020	1.4	2.1×10^{-3}	1	2.4×10^4	3.5×10^2
(III)	0.034	3.0	4.4×10^{-4}	1	6.7×10^5	7.7×10^2
(IV)	0.054	6, 8	1.4×10^{-4}	1	1.3×10^5	10.0×10^2
(V)	0.13	8.5	1.4×10^{-4}	1	5.6×10^5	8.3×10^2
(VI)	0.19	15	1.3×10^{-4}	1	4.0×10^4	5.1×10^2
(VII)	1.1	82	1.7×10^{-5}	1	6.7×10^4	7.1×10^2
(VIII)	<i>C</i> -action		2.3×10^{-1}	0.07		
(IX)	1.7	0.97	7.5×10^{-3}	0.074	5.7×10^1	1.0×10^1
(X)	21	0.39				
(XI)	4.1	1.4	5.2×10^{-3}	0.082	3.6×10^1	1.2×10^1
(XII)	140	210	4.8×10^{-5}	0.082	1.2×10^1	0.82×10^1
atropine	100	0	1.0×10^{-2}	0.014	1.4×10^2	
papaverine	1.2**	100	$6.6 \times 10^{-5} \dagger$	0.987	1.3×10^4	1.5×10^2
dihydroneuspasverine***	0.8**	24	$1.0 \times 10^{-4} \dagger$	0.989	1.3×10^4	4.2×10^2

* r is a ratio of neutral molecules in Tyrode solution (pH 7.80) and calculated in Table III. S_o is saturated concentration of neutral molecules in water.

** taken from our previous report⁷⁾.

† estimated by the colorimetric method using B.C.G. reagent⁸⁾.

*** 1-piperonyl-3-methyl-6,7-methylenedioxy-3,4-dihydroisoquinoline.

Fig. 3.

Dose-Inhibition Curve of Isoamyl Acetate to 10^{-4} g./cc. of ACh

⊙: used for calculation

Fig. 4. Assay of Diethylaminoethyl Esters

Dotted line: *P*-action, Solid line: *A*-action

P: papaverine *A*: atropine

生物試験に際しイソamilエステル類のうち水に不溶性のものは稀薄プロピレングリコールに溶解する。予かじめ溶媒自身は何等薬理作用を呈しないことを確かめておく。

溶解度の測定には干渉計を用いた。

実験結果

(1) イソamilエステル—(i)ここに用いたイソamilエステル類はアセチルコリン (ACh) に対して競合的

8) 堀岡: 本誌 71, 200(1957).

並びに非競合的拮抗作用を呈する。即ち Table I に記載した濃度において ACh の用量-作用曲線は ACh の高濃度の方に移動すると同時に最大収縮高の低下を来たす (Fig. 1)。これ等の中性エステルは何れも小腸平滑筋の収縮を起さない。(ii) ACh の低濃度 (5×10^{-8} g/cc) に対する抑制曲線(A-作用を示す)及び ACh の高濃度 (10^{-4} g/cc) に対する抑制曲線 (P-作用) を Fig. 2 に示す。A-作用及び P-作用それぞれについて抑制曲線の平行性は 5% の危険率で否定出来ない。これから求めたアトロピン、パパベリンに対する効力比を Table II に示す。ACh 10^{-4} g/cc に対する酢酸イソアミルの抑制曲線の詳細を Fig. 3 に示す。

(2) ジエチルアミノエチルエステル—酢酸 2-ジエチルアミノエチル塩酸塩 (VIII) はハツカネズミ小腸の収縮を起す。その作用曲線の回帰係数 $b=1.63$, アトロピンは (VIII) による収縮を抑制し、その回帰係数 $b=0.923$ である。酸の分子量増大と共に C-作用は消失し、A-作用並びに P-作用を示すようになる。(Fig. 4, Table II)。

(3) 熱力学的活量—水溶液として適用する時の或る薬物の熱力学的活量 F はその物質が水に溶け難いときは S_t/S_o に等しい。但し S_t は有効 mol 濃度, S_o は溶解度である。Ferguson に従えば一定の薬理作用がその物質の物理化学的性質に依存するならば、等しい効力を示す時の F の値は各薬物を通じて大体等しくなるという。また平衡状態に在るとき各相毎の F の値は等しいから、外相* の F を求めれば生体相** の F の値が推定される。われわれは先ず P-作用は非イオン性の中性分子によつて現われるものと仮定する。従つて塩基性物質の F は遊離塩基の溶解度 S_o と外相における有効濃度とから求められる。然し有効濃度の絶対値を求めるより、標準品に対する効力比 R を求めるのが妥当であるから F の代りに F に比例する量 I を求めた。

$$I = r / RS_o$$

従つて標準品の有効濃度を S_s とすれば

$$F = I \times S_s$$

ここに r は外相における薬物の全量に対する中性分子の比で、中性エステルの場合は $r=1$, 塩基性物質の場合は外相の pH と塩基の pK_a とから計算される (Table III)。

Table III. pK_a of Diethylaminoethyl Esters and Ratio of Free Base at pH 7.80

Compound No.	pK_a	Ion	Base
(VIII)	8.93	0.931	0.069
(X)	8.90	0.926	0.074
(XI)	8.85	0.918	0.082
(XII)	8.85	0.918	0.082
papaverine	5.93	0.013	0.987
dihydroneuspasverine	5.85	0.011	0.989
atropine	9.65	0.986	0.014

A-作用, P-作用の効力比を用いてそれぞれ I_A , I_P を求めると Table II に示す如く、各同族体内では効力比の著明な差にもかかわらず、 I_A , I_P 共に余り著しい差はない。然しイソアミルエステルとジエチルアミノエチルエステルの間では I_A は 2000 倍以上の差があり、 I_P は約 100 倍程度の差である。これに反して外相の pH 7.8 においては 99% が遊離塩基であるパパベリン, dihydroneuspasverine はイソアミルエステルとほぼ等しい I_P の値を示している。

考察と結論

ACh 様の作用における陽性中心の重要性は Pfeiffer⁹⁾, Ing¹⁰⁾, Taylor¹¹⁾, Schueler¹²⁾ 等によつて繰返えし強調されている。従来は確かに陽イオンを形成する可能性のある物質だけが C-作用を示したのである。

C-作用を有する酢酸 2-ジメチルアミノエチルと等配体である酢酸イソアミル (I) はその分子形状も ACh 受容体によく適合し、且つエステル部分によつて緩和な結合を来すが、陽性基を欠いている。これが C-作用を示さず、逆に弱いアトロピン様作用を有することは陽性中心の ACh 作用に不可欠なことを意味する。イソアミルエ

(I)

酢酸 2-ジメチルアミノエチル

ステルの酸部の分子量増大と共に A-作用は強くなり、これに平行して P-作用も増強される。両作用とも水に対するエステルの溶解度に逆比例するから、 I_A 及び I_P 共に同族体内ではほぼ一定した値をとる。体液内では殆んど全部が遊離塩基として存在するパパベリンの I_P がイソアミルエステルの I_P と等しい値をとることは両者とも同一の作用機序を有し、分子の物理化学的性質によつて効力が左右されるものと推定し得る。これに反して強い塩基性を有し、外相中では 90% 以上がアンモニウムイオンとなつているジエチルアミノエチルエステル類では

* external phase この場合は浴槽液。

** biophase 薬物の作用点の周辺。

9) C. C. Pfeiffer: Science **107**, 946(1948).

10) H. R. Ing: Ibid. **109**, 264(1948); Brit. J. Pharmacol. **4**, 190(1949); **9**, 376(1954).

11) D. W. Taylor: Nature **159**, 86(1947).

12) F. W. Schueler: Science **115**, 54(1952).

遊離塩基の溶解度 S_0 の増大, 溶液中の遊離塩基の比即ち r の減少にもかかわらず A -作用が低下しないで, 逆に増強していることは A -作用はアミノ基の導入或いは陽イオン性の増大によつて選択的に作用が増強されるいわゆる特異的作用であると考えられる. これは前述した I_A の著明な差として示されている. アミノ基の導入によつて P -作用も弱くなっているが, r の減少, 溶解度の増大に見合う程の著明な低下を示さないので I_P はイソアミルエステルの I_P よりやや小さくなつて, 両群の化合物の作用機序は全く同一とはいえない. これはイオンもまた P -作用に関与するためと考えられるが, 寄与する程度は A -作用の如く特異的なものではない筈である.

上述の如く塩基性の強弱, 有無によつて I_A に著明な差を生ずるにもかかわらず, 各化合物群内では I_A がほぼ等しい値をとることは各化合物群内での A -作用の差はその物理化学的性質によつて左右されるものと推定される. これと同じ結論は既に粕谷¹²⁾によつて発表されているのであるが今回の報告はより確実な支持を与えるものである.

われわれはアトロピン様作用は特殊な化学構造を必要とするが, 同時に非特異的な物理化学的性質を強めるような原子団の影響を強く受けるものとの見解を再び表明する.

東京大学薬学部

12) Y. Kasuya: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) **6**, 147(1958).