ブドウ糖および benzylideneacetone の定量はアゾトメトリーによつた。またビルビン酸の定量は紫外外部吸収スペクトルの吸収極大が $322\text{m}\mu$ ⁶⁾ にあるところからその波長の吸光係数を測定して定量した。グルクロン酸の定量には Fehling 氏液を用い、Bertrand 法に準じて定量し、その還元力を比較した。

平衡恒数の測定 いずれも INAH およびカルボニル化合物の混液を 30° に保ち、平衡時の INAH を定量して平衡恒数を算出した。benzylideneacetone, ブドウ糖, グルクロン酸およびビルビン酸の INAH-hydrazone はそれぞれその平衡恒数が大きいので前報の濃度では INAH の反応開始時と平衡時の濃度変化が少く、正確な平衡恒数の測定ができない。著者は INAH の濃度を前報の通りとし、ブドウ糖では 0.02 M , ビルビン酸では 0.003 M benzylideneacetone では 0.002 M で平衡恒数を測定。

CD₅₀ の測定 実験動物として dd 系のマウスを用い、新谷が OMP の痙攣作用を検討した方法で CD₅₀ をしらべた。すなわち Table IV に示すように INAH-hydrazone 2000 mg/kg 以下について経口または皮下注射（水に易溶なもののみ）による痙攣現象を観察し、Behrens 法によつて CD₅₀ を算出した。

また痙攣作用以外の特異な症状を示した benzylidene-INAH, furfurylidene-INAH についてはその原因を追及するため furfural を、痙攣作用を示した INAH-hydrazone に対してそれが体内に遊離した INAH に基因することを確かめるためにそれに対応するカルボニル化合物について同様の実験を行った。

furfural によるマウスの死亡現象は経口投与後 1~2 分で四肢麻痺し、呼吸困難となり 5 分後心臓停止し斃死する。furfurylidene-INAH 及び benzylidene-INAH でも同様の現象が認められ、INAH による痙攣を伴う斃死と明瞭に区別し得る。

以上のことから INAH-hydrazone のマウスにおける痙攣現象は経口投与後体中で INAH が遊離するためであることを明らかにし得た。

武田薬品工業株式会社研究所

6) “実験化学講座 I 基礎技術 I (上)” 135 (丸善)。

UDC 615.785:577.158

213. 藤村 一, 大幡勝也: 薬物の中樞興奮作用とアミノオキシダーゼ活性及び脳組織呼吸に及ぼす影響について

Hajime Fujimura and Katsuya Ohata: Effect of Brain Tissue on Amine-Oxidase Activity and Respiration in Presence of Several Analeptics.

(Ogiu Laboratory, Institute for Chemical Research, and Department of Pharmacology, Medical Faculty, University of Kyoto*)

Relationship between awakening effect and inhibitory action of amine-oxidase activity of a drug, discovered by Mann, Quastel, and Ohta, was examined systematically by the use of analeptics, such as methylpropamin, dimethylpropamin, and 2-(3,4-methylenedioxyphenyl)isopropylamine, and a series of other pharmaceuticals. Further examinations were made on the possibility of the use of this point as a supplementary means in the judgement of potency of awakening effect, which is difficult to be obtained from animal tests. At the same time, effect of these pharmaceuticals on brain tissue respiration was tested with a rabbit. Majority of these pharmaceuticals indicated inhibitory action on amine-oxidase activity in greater or lesser degree and the levorotatory compound of analeptics, which does not indicate awakening effect in human body, inhibited amine-oxidase activity, same as dextrorotatory compound. It was found that the correlation between awakening effect and inhibition of amine-oxidase activity was exceptionally weak. At the same time, these pharmaceuticals indicated weak inhibitory action on tissue respiration but there seemed to be no correlation between that and awakening effect.

(Received February 28, 1958)

薬物の中樞興奮作用特に覚醒効果は動物では主としてその運動興奮、催眠薬に対する拮抗等によりその一部を窺い得るに過ぎない。著者等は人の正常な睡眠を抑制し、覚醒を招来する薬物の効果と動物におけるこの作用との関

* Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

係について検討中であるが, 最近, Pipradrol (Meratran, 以下 P) が中樞興奮薬として新しく登場すると共に, この P 及びメチルプロパミン (以下 MP) の誘導体入手し得て, それらの一般薬理作用を P, MP と比較検討し, 両者の間に幾多の近似点を認めたにも拘らず, これらの薬物を人体に应用したところ, 何等中樞興奮作用を認めることが出来なかつた¹⁾. 一方, 疲労や睡眠を来す原因の一つとして, Quastel 等²⁾ はチラミン或いはイソアミールアミン等のアミン類が脳組織呼吸を著しく阻害, 減弱させることを見出したが, 更にこの作用はアミン自身によるものではなく, モノアミノオキシダーゼ (以下 AO) によつて酸化分解されたアルデヒドの蓄積に基づくものであるとし, 太田, 江上等^{3,4)} は覚醒アミンの薬理作用も, これらが中枢神経系に働く生体常在アミンの AO による分解を阻害するため, その作用時間, 有効作用量が大きくなるのではないかと考え, 覚醒アミン, プリン誘導体等の AO 阻害能を測定し, 覚醒効果と阻害能との間に密接の関係のあることを認めた. 又, 奥村等⁵⁾, 岡等⁶⁾ 及び中島⁷⁾ も中枢神経作用物質との酵素との間に可成り関係の深いもののあることを見出している. 著者等は中枢興奮作用特に覚醒効果が動物で明確に捕捉し難いことから, 今回, 数種の覚醒アミンの光学異性体並びに P 及び MP の誘導体その他一連の化合物を得た機会に, これら薬物の AO に対する作用を系統的に比較検討すると共に, 現在まで十分に吟味されていない人体における覚醒効果の強弱との関係を考察し, 併せて脳組織呼吸に及ぼす影響を検し, 同様の見地からそれらの関係について検討を加えた.

実験方法

1) AO 標品の調製: 家兎肝臓 5g を *M*/15-磷酸緩衝液 (pH 7.4) 5 cc と共に homogenize し, モスリンで濾過した濾液 7.5 cc をとり, セロファン囊で流水中に約 12~18 時間透析後, *M*/2-磷酸緩衝液 (pH 8.0) で pH

Table I. Chemical Structures of Drugs used in Experiments

Drugs	General structure	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Fp
Methylpropamin (MP)	$\begin{array}{c} R_1 \\ \\ R_2-C-CH-R_5 \\ \quad \\ R_3 \quad R_4 \\ \cdot \\ HCl \end{array}$		H	H	CH ₃	NHCH ₃	<i>d</i> 172° <i>l</i> 170-171° <i>dl</i> 134-135°
Dimethylpropamin (DMP)			H	H	CH ₃	N< $\begin{array}{l} CH_3 \\ CH_3 \end{array}$	<i>d</i> 182-183° <i>l</i> 182-183° <i>dl</i> 157-159°
2-(3,4-Methylenedioxy-phenyl) isopropylamine (MOP)			H	H	CH ₃	NH ₂	<i>d</i> 181-182.5° <i>l</i> 183-184° <i>dl</i> 178-179°
12-1				H	CH ₃	NH ₂	273-275°
12-2				H	CH ₃	NHCH ₃	193-194°
Pipradrol (P)				OH	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH-		295° (decomp)
11-5				OH	CH ₃ CH ₂ CH ₂ -	NHCH ₃	252-253°
1,2-Diphenyl-1-dimethyl-amino-ethane (DDAE)	$\begin{array}{c} R_2 \\ \\ \text{Pyridine ring} \\ \\ R^1 \end{array}$		H	H		N< $\begin{array}{l} CH_3 \\ CH_3 \end{array}$	<i>d</i> 218-220° <i>l</i> 220-221° <i>dl</i> 186°
2-Aminopyridine (AP)		NH ₂	H	—	—	—	56°
2-Amino-4-methyl-pyridine (AMP)		NH ₂	CH ₃ -	—	—	—	98°
2-Amino-4-ethylpyridine (AEP)		NH ₂	C ₂ H ₅ -	—	—	—	68-69°

1) 藤村, 大幡, 野村, 霜村, 長沢: 第 7 回日本薬学会近畿支部総会にて講演.

2) Mann, Quastel: Biochem. J. **34**, 414 (1940).

3) 太田: 日化 **67**, 45 (1946); **66**, 9 (1945).

4) 太田, 江上: 科学 **14**, 202 (1944).

5) 奥村, 杉原: 九州神経精神医学 **1**, 19 (1950).

6) 岡, 田中, 大木, 後藤: 薬学研究 **28**, 83 (1956).

7) 中島: 大阪医科大学雑誌 **17**, 82 (1956).

7.4 に調節し、更に $M/15$ -磷酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて透析前の 3 倍容 (22.5 cc) まで希釈し、粗酵素液とする。2) AO 活性に及ぼす影響: この粗酵素標品による塩酸チラミン酸化の初速度 (実験開始直後 10 分間の酸素消費を初速度とする) に及ぼす添加薬物の影響を Warburg 検圧計を用いて測定し、その阻害度を求めた。阻害度 = $(1 - \text{薬物添加条件下の塩酸チラミン酸化初速度} / \text{塩酸チラミン酸化初速度}) \times 100\%$ 反応には 2 個の側室を有する円錐容器を用い、薬物はいずれも $M/15$ -磷酸緩衝液に溶解して使用した。即ち、主室 粗酵素液 1.6 cc, 側室 A 塩酸チラミン 0.2 cc (終末濃度 $2 \times 10^{-3} M$), B 被検薬物 0.2 cc (終末濃度 $2 \times 10^{-3} M$), 副室 20% KOH 0.2 cc, 実験温度 37° , ガス条件 空気とし、測定開始と同時に両側室内内容を主室に注加した。3) 脳組織呼吸に及ぼす影響: 家兎大脳皮質切片 (乾燥重量 5~7 mg) のブドウ糖基質下における Q_{O_2} を Warburg 検圧計で測定し、その Q_{O_2} に及ぼす薬物添加の影響を検した。抑制度 = $(1 - \text{薬物添加条件下の } Q_{O_2} / \text{対照 } Q_{O_2}) \times 100\%$ 反応には 1 個の側室を有する円錐容器を用い、薬物はいずれも Krebs-Ringer phosphate⁸⁾ (pH 7.2) に溶解して使用した。即ち、主室 0.2% の割合にブドウ糖を添加した Krebs-Ringer phosphate 1.8 cc に大脳皮質切片を浮遊、側室 被検薬物 0.2 cc (終末濃度 $2 \times 10^{-3} M$ 及び $10^{-2} M$), 副室 20% KOH 0.2 cc, 実験温度 37° , ガス条件 酸素とし、側室内内容を測定開始と同時に主室内に注加した。4) 被検薬物: Table I に示す如く、光学異性体を含めて 19 種である。

実験成績

1) AO 活性に及ぼす影響: その成績は Table II に示す如く、これらの薬物はいずれも AO に対して阻害作用を示す。AEP 及び 12-1 は阻害度 10%前後を示す最も作用の弱い群に属し、MP, DMP, MOP, 11-5 及び

Table II. Effects of Several Drugs on Tyramine ($2 \times 10^{-3} M$) Oxidation of Monoamine Oxidase

Drugs	Number of Trials	O ₂ -Uptake (μL)		Inhibition (%)
		Control	$2 \times 10^{-3} M$	
MP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	15	25.5 ± 0.53	17.4 ± 0.97	31.8
			20.1 ± 0.88	21.2
			18.9 ± 1.05	25.9
DMP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	15	25.6 ± 0.94	18.5 ± 1.00	27.7
			19.0 ± 1.09	25.8
			20.7 ± 0.89	19.2
MOP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	15	26.2 ± 1.07	20.5 ± 1.10	21.0
			21.7 ± 1.02	17.8
			20.9 ± 1.21	20.2
12-1	11	24.2 ± 0.72	22.5 ± 0.99	7.0
12-2	11	25.4 ± 1.19	20.8 ± 1.15	18.1
P	11	24.7 ± 0.87	14.7 ± 0.86	40.5
11-5	15	24.6 ± 1.05	17.7 ± 1.09	28.0
AP	13	26.0 ± 0.80	18.4 ± 1.14	29.2
AMP			14.8 ± 0.80	43.1
AEP			23.1 ± 0.84	11.1
DDAE $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	11	25.0 ± 0.98	6.1 ± 0.53	75.6
			17.9 ± 0.51	28.4
			9.9 ± 0.55	60.4

AP では阻害度 20%前後を示すが、それらの強弱には推計学的 (平均値の差の検定法⁹⁾, 危険率 5%, 以下同様) に有意な差異が認められない。又, DDAE の d , dl 体, AMP 及び P は 40%以上の阻害度を示す最も強い効果を示した。一方, 立体異性に基づく阻害の強弱については、いずれも d 体が少々強い作用を示す如くであるが, MP, DMP 及び MOP では推計学的にはその d , l 体間に全く有意差を認めることが出来ず、唯, DDAE のみは d 体が著るしく強力な阻害能を有することを認めた。

2) 脳組織呼吸に及ぼす影響: その成績は Table III に示す如く、すべての薬物は呼吸を抑制する傾向を認めた。一般に、濃度の低下によりその抑制度も低下するが, MP, DMP 及び MOP では濃度の変化によつてその抑制度は有意な変化を示していない。光学異性体では, DDAE の d 体が l 体より少々強い効果を示した他は、全

8) Umbreit, Burris, Stauffer: "Manometric Techniques and Tissue Metabolism" Burgess, 6th Printing 119 (1951).

9) 高橋, 土肥: "医学及び生物学研究者のための推計学入門" (医学書院) 11 (1951).

Table III. Effect of Several Drugs on Respiration of Rabbit Brain Cortex Slices
(mean values of 5 experiments)

Drugs	Q_{O_2}				Inhibition (%)	
	Control	$2 \times 10^{-3} M$	Control	$10^{-2} M$	$2 \times 10^{-3} M$	$10^{-2} M$
MP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	9.8 ± 0.18	8.0 ± 0.33	10.0 ± 0.37	8.2 ± 0.22	18.4	18.0
		8.7 ± 0.30		9.1 ± 0.14	11.2	9.0
		8.7 ± 0.34		8.7 ± 0.15	11.2	13.0
DMP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	9.5 ± 0.24	7.8 ± 0.44	10.0 ± 0.39	8.4 ± 0.39	17.9	16.0
		8.6 ± 0.31		9.3 ± 0.21	9.5	7.0
		8.5 ± 0.37		9.1 ± 0.35	10.5	9.0
MOP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	9.3 ± 0.23	7.8 ± 0.16	9.7 ± 0.28	7.4 ± 0.31	16.1	23.7
		8.2 ± 0.14		8.2 ± 0.27	11.8	15.5
		8.0 ± 0.25		7.4 ± 0.35	14.0	23.7
12-1	9.4 ± 0.54	8.9 ± 0.26	9.7 ± 0.33	6.7 ± 0.47	5.3	30.9
12-2	9.6 ± 0.19	7.6 ± 0.10	9.7 ± 0.39	7.8 ± 0.36	22.2	19.6
P	9.1 ± 0.23	7.6 ± 0.16	9.5 ± 0.15	$5.0 \pm 0.80^*$	16.5	47.4*
11-5	9.6 ± 0.14	6.9 ± 0.44	—	—	28.1	—
AP	9.8 ± 0.26	8.7 ± 0.16	9.5 ± 0.15	8.4 ± 0.31	10.2	11.6
AMP	9.1 ± 0.24	8.7 ± 0.31	9.5 ± 0.18	8.1 ± 0.53	4.4	14.5
AEP	9.1 ± 0.23	8.7 ± 0.09	9.8 ± 0.42	8.7 ± 0.38	4.4	11.2
DDAE $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	9.3 ± 0.19	8.2 ± 0.25	10.0 ± 0.40	$6.7 \pm 0.38^*$	11.8	33.0*
		9.1 ± 0.13		$7.7 \pm 0.36^*$	2.1	23.0*
		9.0 ± 0.49		$7.1 \pm 0.35^*$	3.2	29.0*

* $5 \times 10^{-3} M$

く推計学的にその強弱を認め得ない程度であつた。 $10^{-2} \sim 5 \times 10^{-3} M$ の濃度では, P, DDAE の d, dl 体及び 12-1 が少々強い抑制を示したが, その他は抑制度 20%前後或いはそれ以下であつて, 高濃度にも拘わらずそれらの作用は弱かつた。 $2 \times 10^{-3} M$ では, 11-5 のみ 30%近い抑制度を示したのみで, 他はすべて 20%前後或はそれ以下の抑制度に終始した。

考察と総括

所謂覚醒アミン類の AO 阻害能については, Table IV に示す様に過去の業績を総括してみると, その成績は酵素標品, 薬物濃度等により必ずしも一致していない。著者等は従来注目されてきた覚醒効果と AO 阻害能との

Table IV. Comparison of Inhibitory Action on Amine Oxidase Activity

Investigator	太田 ⁹⁾	奥村, 杉原 ⁵⁾		Fellows ^{1,10)} et al.	岡 ⁶⁾	中島 ⁷⁾	Present authors
Source of amine oxidase	Guinea-pig liver, kidney	—		Rat brain	Pig kidney	Pig kidney	Rabbit liver
Concn.	$10^{-3} M$	$10^{-2} M$	$5 \times 10^{-3} M$	$3.7 \times 10^{-4} M$	$10^{-2} M$	$10^{-2} M$	$2 \times 10^{-3} M$
Drugs							
Propamin $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	79.4			49			
				21			
MP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$	81.8	55.1	16.9	32			
	5.85	78.5	70.5	36	65	41	31.8
				25		65	21.2
DMP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$						60	25.9
	63.2						27.7
							25.8
MOP $\begin{cases} d \\ l \\ dl \end{cases}$							19.2
							21.0
							17.8
	82.4			14			20.2

Figures represent percentage inhibition (%) of amine-oxidase activity.

関係を、光学異性体を含めた一連の化合物を用いて検討し、覚醒効果が実験動物において明確に把握し難い点の補助手段たり得るか否かを明らかにしようとした。マウスにおける中枢興奮作用（運動興奮を指標とする）においては、MP はプロパミン（以下 PM）より少々弱く¹¹⁾、MOP より遙かに強力である¹²⁾と云われ、人では MP が PM より強い覚醒効果を有する¹³⁾と云う。覚醒アミン類の人における効果の強弱について観察した人は数多い様であるが、明確な記載なく、著者等¹³⁾の検討したところによると、それらの光学異性体中 *L*-体は全く覚醒効果を欠き、*d*-体では MP 3~5 mg, PM 4~6 mg, DMP 50 mg, MOP 15~20 mg, P 5~10 mg が略々同等の効果を示し、それらの効果比は大凡 1: (1/1~1.3): 1/10: 1/(3~4): 1/(1.5~2) である。しかるに、著者等の実験において AO 阻害能が光学異性体によつて認むべき相違を示さなかつたことは、現在まで光学異性体についてかかる検討の充分でなかつた点と相俟つて注目すべきことと思われる。Fellows 等¹⁰⁾の PM における成績でも *d*, *L*間の阻害能は比較的僅少であり、中島⁷⁾の MP の成績ではむしろ *L*-体が *d*-体より強い阻害力を示している。又、著者等の得た各覚醒アミンの AO 阻害度は上記の人における覚醒効果の強弱と対応した強弱を示していない。Mann, Quastel¹²⁾は PM と MOP の AO 阻害力が殆ど同等であるとし、太田⁹⁾も MOP が MP に優る阻害力を有すると述べている点は、むしろ覚醒効果と AO 阻害能との平行性に対して逆の関係を示している。更に、P が MP より強い阻害能を示し、又、可成りの鎮痛作用は有するが、覚醒効果を全く有しない DDAE¹⁴⁾が極めて強力な阻害能を有すること、MP 及び P の誘導体であるが覚醒効果を持たない 12-2, 11-5¹⁾、呼吸興奮作用は有するが中枢神経系には弱い鎮静作用を有するという AP, AMP¹⁵⁾が夫々可成りの AO 阻害能を示すことは、Fellows 等¹⁰⁾も一部述べているところであるが、覚醒効果と AO 阻害能との平行性に著しく矛盾する。AO 活性の阻害が覚醒作用を示すための本質的且つ唯一の条件であるとは勿論考えられないところであるが、少くとも覚醒作用の強弱と AO 阻害能との関係は、従来述べられている程平行性を有するものではなく、それらの関連性は薄弱と云わねばならない。

脳組織呼吸に及ぼす覚醒アミンの影響については系統的な研究に乏しく、MP については低濃度で促進¹⁶⁾或は抑制¹⁷⁾、高濃度で抑制又は殆ど作用がない¹⁶⁾と云われ、一定の成績が得られていない。そこで、一連の薬物を得た機会に、ブドウ糖基質下における脳組織呼吸に及ぼす影響を検討した。その結果、これら薬物の作用は高濃度にも拘らず極めて弱いが、明らかに呼吸を抑制する傾向を示した。しかしながら、既に述べた覚醒効果又は光学異性との関連性を殆ど認めることが出来なかつた。一方、睡眠薬、麻酔薬は脳組織呼吸に対して抑制作用を有することは周知であるが、覚醒アミンはこれら睡眠薬或は麻酔薬によつて抑制された脳組織呼吸に対しても何等認むべき効果を示さないことが認められて居り¹³⁾、脳組織呼吸と覚醒効果との関係については尚検討を要する問題がある。

終りに本研究に協力された霜村末隆君の労を多謝する。

京都大学化学研究所、京都大学医学部薬理学教室

- 11) Jacobson, Wollenstein, Christensen: Klin. Wochenschr. **45**, 1580 (1938).
- 12) 雲井, 金沢, 三沢: 神戸医科大学紀要 **6**, 83 (1955).
- 13) 藤村: 未発表.
- 14) 藤村: 未発表.
- 15) Haxthausen: Arch. exptl. Path. Pharmacol. **226**, 163 (1955).
- 16) 肥後: 日薬理誌 **45**, 46 § (1949).
- 17) 中塚, 山田: 日薬理誌 **51**, 59 § (1955); 奥村: 福岡医学雑誌 **37**, 217 (1944).
- 18) Goodman, Gilman: "The Pharmacological Basis of Therapeutics", MacMillan, 2nd Ed. 516 (1955).