終わりに臨み本研究に対し御便宜を下さった東京大学薬学部 柴田承二博士, 北海道大学薬学科 三橋 博博士, IR の測定をしていただいた国立予防衛生研究所の中沢 敏博士, 元素分析をしていただいた東京大学応用微生物研究所元素分析室の方々, ならびに終始御指導下さった東北大学薬学科 近藤嘉和氏に深謝するとともに本研究の機会を与えられかつ御助力を戴いた社長 津村重舎氏, 専務取締役 津村重孝氏, 当研究所 佐々木一郎氏に厚く感謝致します。

津村研究所

〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
84 (10) 961 ~ 966 (1964)

UDC 615-015 : 612.73

148. 岩城利一郎, 安井卓三, 三村 明: 平滑筋における薬物受容体の研究 (第8報^{*1})

血管平滑筋における非可逆的拮抗剤に関する研究 その 2

Riitiro Iwaki, Takuzō Yasui, and Akira Mimura: Studies on Drug Receptors in Smooth Muscles. VIII. Studies on Irreversible Antagonists in Vascular Smooth Muscles.

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama^{*2})

Detailed examinations were made on the protective action of adrenergic agents, barium agents, histamine agents, and compounds possessing chemical structure related to adrenaline against the irreversible suppressor of alkylation like dibenamine and irreversible antagonistic action of SH inhibitors like mercuric chloride, using the Magnus method employing isolated vascular series of a guinea pig. As shown in Fig. 2, action of $10^{-6}M$ of dibenzamine against adrenergic receptor was selectively protected by adrenergic agents but the protection of barium chloride and histamine was non-selective. Dibenzamine in $10^{-4}M$ concentration attacked the receptor of adrenaline, histamine, and barium chloride. There were no substances that showed protective action against the former two, but adrenergic agents and barium agents showed protection against the latter. The action of SH inhibitors like mercuric chloride against adrenergic receptor cannot be considered as specific, from the result of their protective action.

(Received April 23, 1964)

岩城は前報で adrenergic receptor に作動的に作用する adrenaline, 同じく adrenergic receptor に競合的に拮抗する tolazoline が, マグヌス法でモルモット血管標本における adrenergic receptor に対する dibenamine および N,N-bis(2-chloroethyl)benzylamine (NCBA) のときアルキル化非可逆的拮抗剤の非可逆的抑制作用を保護する点より, Furchgott²⁾ が dibenamine を非可逆的競合的抑制物質と分類していることは妥当であることを指適し, 同様に塩化第二水銀, *p*-chloromercuribenzoate (PCMB) および硫酸銅のとき重金属 SH 阻害剤の非可逆的抑制作用を phenylephrine, tolazoline のとき adrenergic agent および活性の SH 基を有する cysteine が保護する点より, 重金属 SH 阻害剤は adrenergic receptor に作用し, とくにその receptor の SH 基に特異的に作用するのであることを観察した. また前述のアルキル化非可逆的拮抗剤は cysteine によって保護されない点より, adrenergic receptor の SH 基にも作用するかもしれないが, SH 基以外の活性機能团にも作用することを指適した.

本報ではモルモット摘出血管標本を用い, 前報^{*1} 同様マグヌス法で, 上記の各種非可逆的拮抗剤の非可逆的抑制作用という特性をさらに利用して, adrenergic receptor に作用する adrenaline, phenylephrine および tolazoline, バリウム receptor に作用する塩化バリウム, morphine および avacane, histamine-receptor に作用す

*1 第7報: 本誌, 82, 21 (1962).

*2 Gofuku, Toyama.

1) 岩城: 本誌, 82, 14 (1962).

2) R. F. Furchgott: Pharmacol. Rev., 7, 183 (1955).

る histamine および diphenhydramine, および adrenaline 化学構造関連化合物である ephedrine, tyramine, α -methylbenzylalcohol, benzylalcohol, ethanol, 2-isopropylamino-6-methylamino-6-methylheptane, monomethylamine, phloroglucinol, pyrogallol, resorcinol および phenol 等が上記非可逆的拮抗剤の非可逆的抑制作用に対して, いかなる保護作用態度をとるかを, adrenergic receptor を中心として調べ, さらには adrenaline, 塩化バリウムおよび histamine の各 receptor の性格および相互関係を検討したところ, 若干の知見を得たので報告する.

実 験 の 部

実験方法

前報¹⁾ にしたがって行なった.

実験結果

1) Adrenergic receptor における低濃度 dibenamine に対する各種化合物の保護作用 前報¹⁾ に示したごとく, $1.19 \times 10^{-6} M$ のとき低濃度の dibenamine が adrenergic receptor に対して, 約 50~60% の非可逆的

TABLE I. Protective Action of Various Agents against Irreversible Antagonists :
Dibenamine-Low-Concentration at the Adrenergic Receptor
of Isolated Vascular Strips of Guinea Pig

No.	Protective agents : A			Irreversible antagonists : B		AM / BM	Response (%) ^{a)}	rf.
	Name	M	Pharmacological action	Name	M			
1						×	100.0	
2				dibenamine	1.19×10^{-6}	×	67.2	c)
3				{ "	1.19×10^{-6}	×	54.0	
				{ "	1.19×10^{-6}		12.5	
4				"	1.19×10^{-5}	×	18.3	c)
5	Adrenaline	1.19×10^{-6}	adrenergic action	"	1.19×10^{-6}	1	87.9	+
6	"	2.38×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	2	91.5	+
7	"	1.30×10^{-5}		"	1.19×10^{-6}	11	99.4	+
8	Phenylephrine	2.94×10^{-6}	adrenergic action	"	2.94×10^{-6}	1	78.7	+
9	"	2.38×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	2	85.1	+
10	"	7.06×10^{-4}		"	1.19×10^{-6}	592	114.8	+
11	Tolazoline	1.19×10^{-6}	competitive anti-adrenergic action	"	1.19×10^{-6}	1	84.5	+
12	"	2.80×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	2	100.5	+
13	"	8.69×10^{-5}		"	1.19×10^{-6}	73	101.4	+
14	BaCl ₂	4.13×10^{-2}	Ba ²⁺ action	"	1.19×10^{-6}	3470	87.0	+
15	"	4.13×10^{-5}		"	1.19×10^{-6}	3	36.4	—
16	Morphine	3.52×10^{-3}	competitive anti-Ba ²⁺ action	"	1.19×10^{-6}	2957	64.5	—
17	"	3.52×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	3	59.2	—
18	Avacane	8.00×10^{-4}	competitive anti-Ba ²⁺ action	"	1.19×10^{-6}	672	92.8	+
19	"	8.00×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	7	54.5	—
20	Histamine	1.55×10^{-3}	histamine action	"	1.19×10^{-6}	1395	88.9	+
21	"	1.55×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	1	66.3	—
22	Diphenhydramine	1.02×10^{-3}	competitive anti-histamine action	"	1.19×10^{-6}	857	50.8	—
23	"	1.19×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	1	49.6	—
24	Cysteine	2.35×10^{-3}	SH-reactive action	"	1.19×10^{-6}	1975	31.2	—
25	"	2.35×10^{-6}		"	1.19×10^{-6}	2	50.3	—

a) Contraction (%) by adrenaline $1.30 \times 10^{-6} M$

b) Protective action of protective agent against irreversible inhibition by irreversible agents. (Response to agonists after the isolated vascular strip was exposed to (A) for 3 min., then to (A)+(B) for 10 min., and finally washed with modified Krebs-Ringer hydrogen carbonate solution) + : protective action, — : non-protective action

c) R. Iwaki : This Journal, 82, 14 (1962).

拮抗作用を示すので, 前述の化合物がいかなる保護作用態度を示すかを調べた結果は Table I のごとくであって, adrenaline, phenylephrine および tolazoline は1倍のごとき低 mole 倍数で保護するが, BaCl₂ avacane および histamine は保護しても 10³ 倍 order のごとき高 mole 倍数を必要としている. morphine, diphenhydramine および cysteine はこの程度の濃度では保護作用を示していない. 他の adrenaline 化学構造関連化合物については Table IV のごとくであって, ephedrine は adrenaline 等よりも高 mole 倍数を必要とし, 50 mole 倍数で保護するが, 10 倍 mole 数では保護しない. しかしながら tyramine 等の関連化合物はすべて保護作用を示さない.

2) **Adrenergic receptor** における高濃度 dibenamine に対する各種化合物の保護作用 前述の 100 倍濃度である $1.50 \times 10^{-4} M$ のごとき高濃度の dibenamine は adrenergic receptor を完全に抑制するし, 同時に Ba-receptor に対しては 50~60% 非可逆的に抑制し, histamine-receptor に対しては 100% 非可逆的に抑制する濃度である. この場合は保護作用が認められる化合物はまったくなかった.

3) **Adrenergic receptor** における N,N-bis(2-chloroethyl)benzylamine に対する各種化合物の保護作用 結果は NCBA が dibenamine と類似した化学的および薬理学的性格を有するので, dibenamine の場合と類似の結果が認められた.

4) **Adrenergic receptor** における塩化第二水銀に対する各種化合物の保護作用 結果は Table II のごとくで, 低濃度の dibenamine の場合と類似の結果が認められたが, BaCl₂, avacane, morphine, histamine, および diphenhydramine 等では dibenamine および NCBA に対するごとき保護作用を示す場合は観察されなかった. adrenaline 化学構造関連化合物についての保護作用は Table V のごとくで, 一般にいずれの場合にも保護作用が観察された.

TABLE II. Protective Action of Various Agents against Irreversible Antagonists: Mercuric Chloride at the Adrenergic Receptor of Isolated Vascular Strips of Guinea Pig

No.	Protective agents: A			Irreversible antagonists: B		AM BM	Response (%) ^{a)}	b)	rf.
	Name	M	Pharmacological action	Name	M				
1						×	100.0		
2				HgCl ₂	3.15×10^{-6}	×	72.4		c)
3				{ "	3.15×10^{-6}	×	64.7		
				"	3.15×10^{-6}	×	39.8		
4				"	5.27×10^{-5}	×	56.7		c)
5				{ "	5.27×10^{-5}	×	40.0		
				"	5.27×10^{-5}	×	33.1		
6	Adrenaline	6.51×10^{-4}	adrenergic action	"	3.15×10^{-6}	207	67.5	—	c)
7	Phenylephrine	5.62×10^{-4}	adrenergic action	"	3.15×10^{-6}	178	92.9	+	
8	"	3.15×10^{-6}		"	3.15×10^{-6}	1	87.5	+	
9	Tolazoline	1.45×10^{-3}	competitive anti-adrenergic action	"	5.27×10^{-5}	27	55.9	—	c)
10	"	1.45×10^{-3}		"	3.15×10^{-6}	460	102.8	+	c)
11	"	3.15×10^{-6}		"	3.15×10^{-6}	1	91.2	+	
12	BaCl ₂	4.13×10^{-2}	Ba ²⁺ action	"	5.27×10^{-5}	784	52.8	—	
13	Avacane	8.00×10^{-4}	competitive anti-Ba ²⁺ action	"	5.27×10^{-5}	15	14.9	—	
14	Morphine	3.52×10^{-3}	competitive anti-Ba ²⁺ action	"	5.27×10^{-5}	668	36.4	—	
15	Histamine	1.55×10^{-3}	histamine action	"	5.27×10^{-5}	29	25.4	—	
16	Diphenhydramine	1.02×10^{-3}	competitive anti-histamine action	"	6.32×10^{-5}	16	58.2	—	
17	Cysteine	2.35×10^{-3}	SH-reactive action	"	5.27×10^{-5}	45	87.5	+	

a), b), c) see Table I

5) **Adrenergic receptor** における *p*-chloromercuri benzoate に対する各種化合物の保護作用 結果は HgCl₂ の場合と類似していた.

6) **Adrenergic receptor** における硫酸銅に対する各種化合物の保護作用 結果は HgCl₂ および PCMB の場合と類似していたが, BaCl₂ を用いたとき, CuSO₄ と反応して BaSO₄ と銅が生成するため保護作用を示すこ

とが考察された。すなわち同一濃度の CuCl_2 には非可逆的拮抗作用は認められない。

7) バリウム-Receptor における高濃度 dibenamine に対する各種化合物の保護作用 結果は Table III のごとくで、前述の adrenaline receptor および後述の histamine receptor における高濃度 dibenamine に対して保護作用が認められなかったが、adrenaline, phenylephrine, tolazoline, 塩化バリウムおよび avacane 等が 1 倍濃度程度の低 mole 倍数で保護した。しかしながら histamine, diphenhydramine および cysteine には保護作用は認められない。

TABLE III. Protective Action of Various Agents against Irreversible Antagonists :
Dibenamine-High-Concentration at the Barium Chloride-Receptor of
Isolated Vascular Strips of Guinea Pig

No.	Protective agents : A			Irreversible antagonists : B		AM / BM	Response (%) ^{b)}	rf.
	Name	M	Pharmacological action	Name	M			
1						×	100.0	
2				dibenamine	1.50×10^{-4}	×	68.7	
3				{ "	1.50×10^{-4}	×	46.6	
4	Adrenaline	6.51×10^{-4}	} adrenergic action	"	1.50×10^{-4}	4	95.5	+
5	"	1.50×10^{-4}		"	1.50×10^{-4}	1	82.1	+
6	Phenylephrine	7.05×10^{-4}	} adrenergic action	"	1.50×10^{-4}	5	75.0	±
7	"	1.50×10^{-4}		"	1.50×10^{-4}	1	85.0	+
8	Tolazoline	1.45×10^{-3}	} competitive anti-adrenergic action	"	1.50×10^{-4}	10	107.5	+
9	"	1.50×10^{-4}		"	1.50×10^{-4}	1	78.0	+
10	BaCl_2	4.13×10^{-2}	Ba^{2+} action	"	1.50×10^{-4}	300	100.2	+
11	"			"	1.50×10^{-4}	1	86.3	+
12	Avacane	8.00×10^{-5}	} competitive anti- Ba^{2+} action	"	1.50×10^{-4}	5	95.8	+
13	"	1.50×10^{-4}		"	1.50×10^{-4}	1	53.8	—
14	Morphine	3.52×10^{-2}	} competitive anti- Ba^{2+} action	"	1.50×10^{-4}	200	90.7	+
15	"	1.50×10^{-4}		"	1.50×10^{-4}	1	57.0	—
16	Histamine	1.55×10^{-3}	histamine action	"	1.50×10^{-4}	10	62.7	—
17	Diphenhydramine	1.02×10^{-3}	competitive anti-histamine action	"	1.50×10^{-4}	7	32.6	—
18	Cysteine	2.35×10^{-3}	SH-reactive action	"	1.50×10^{-4}	16	70.9	—

a) Contraction (%) by BaCl_2 $4.13 \times 10^{-2} \text{M}$,

b), c) see Table I

8) Histamine-receptor における高濃度 dibenamine に対する各種化合物の保護作用 結果は Table V のごとくで、保護作用を示す薬物はまったく認められなかった。

TABLE IV. Protective Action of Adrenaline and Its Related Compounds against Irreversible Agents : Mercuric Chloride and Dibenamine at the Adrenergic Receptor of
Isolated Vascular Strips of Guinea Pig

No.	Protective agents : A	Chemical formula	Irreversible antagonist : B	HgCl_2 : $3.15 \times 10^{-6} \text{M}$			Dibenamine : $2.94 \times 10^{-6} \text{M}$		
				AM / BM	Response (%) ^{a)}	Protective action	AM / BM	Response (%) ^{a)}	Protective action
1	Irreversible	agents		×	34.1	/	×	9.2	/
2	Adrenaline			207	67.5 ^{b)}	—	1 / 10	19.0 / 97.8	— / +
3	Phenylephrine			1	87.5 ^{b)}	+	1	78.7	+

4	Tolazoline		•HCl 1	91.2 ^{b)}	+	1 10	5.3 88.4	— —
5	Ephedrine		•HCl 1	95.0	+ ^{c)}	10 50	23.2 85.5	— +
6	Tyramine		•HCl 1	100.0	+ ^{c)}	500	31.0	—
7	α -Methyl benzylalcohol			100.0	+ ^{c)}	500	14.8	—
8	Benzylalcohol			100.0	+	500	37.4	—
9	Ethanol			102.0	+	500	15.1	—
10	2-Isopropylamino-6-methylamino-6-methylheptane		•HCl 10	112.5	+	1	7.7	—
11	Methylamine		•HCl 1	78.1	+	500	3.3	—
12	Phloroglucinol			112.5	+	1	28.6	—
13	Pyrogallol			95.3	+	5	10.3	—
14	Resorcinol			92.5	+	500	12.8	—
15	Phenol			97.3	+	500	23.7	—

a) Contraction (%) by adrenaline $1.30 \times 10^{-6} M$

b) From Table II

c) $HgCl_2$: $3.15 \times 10^{-4} M$

TABLE V. Protective Action of Various Agents against Irreversible Antagonist :
Dibenamine-High-Concentration at the Histamine-Receptor of
Isolated Vascular Strips of Guinea Pig

No.	Protective agents : A			Irreversible antagonists : B		AM BM	Response (%) ^{a)}	rf.
	Name	M	Pharmacological action	Name	M			
1						×	100.0	
2				dibenamine	1.50×10^{-4}	×	0	^{c)}
3	Adrenaline	6.51×10^{-4}	adrenergic action	"	1.50×10^{-4}	4	0	—
4	Phenylephrine	7.05×10^{-4}	"	"	1.50×10^{-4}	5	0	—
5	Tolazoline	1.45×10^{-3}	competitive anti-adrenergic action	"	1.50×10^{-4}	9	0	—
6	BaCl ₂	4.13×10^{-2}	Ba ²⁺ action	"	1.50×10^{-4}	275	0	—
7	Avacane	8.00×10^{-4}	competitive anti Ba ²⁺ action	"	1.50×10^{-4}	5	0	—
8	Morphine	3.52×10^{-4}	"	"	1.50×10^{-4}	235	0	—
9	Histamine	1.55×10^{-3}	histamine action	"	1.50×10^{-4}	10	0	—
10	Diphenhydramine	1.02×10^{-3}	competitive anti histamine action	"	1.50×10^{-4}	7	0	—
11	Cysteine	2.35×10^{-3}	SH agent action	"	1.50×10^{-4}	16	0	—

a) Contraction (%) by Histamine $1.55 \times 10^{-4} M$

b), c) see Table I

考察および結論

モルモット摘出血管標本を用いマグヌス法で, dibenamine および塩化第二水銀などのごとき非可逆的拮抗剤の非可逆的拮抗作用に対して, adrenaline, 塩化バリウム, histamine およびこれらに関連する化合物がいかなる保護作用態度を示すかを詳細に調べ, さらに adrenaline, バリウムおよび histamine の各 receptor の薬理学的性格および相互関係を追求し, つぎのことが推論された。

1) adrenaline, phenylephrine および tolazoline のごとき adrenergic agent は, adrenergic receptor を 50~60% 非可逆的に抑制する $10^{-6}M$ 程度の dibenamine の作用を 1 mole 倍数の低濃度で選択的に保護作用を示し, ephedrine では若干高倍 mole 数を必要としている。しかしながら塩化バリウム, avacane および histamine のごとき non-adrenergic agents は保護作用を示すためには約 10^3 mole 倍数のごとき高濃度を必要としている。すなわち adrenergic agents は adrenergic receptor に対して選択的に作用するので, 低濃度でよいが, non-adrenergic agents が adrenergic agents が adrenergic receptor を保護するにはかなりの高濃度を必要とする。

さらに $10^{-4}M$ のごとき高濃度の dibenamine を用いると, adrenergic receptor を完全に遮断するし, バリウムの receptor も 50~60% 遮断され, histamine の receptor もやはりほとんど遮断される。この高濃度の dibenamine に対しては, バリウム-receptor の場合のみ, adrenaline, phenylephrine, tolazoline, 塩化バリウムおよび avacane のごとき adrenergic agents および Ba^{2+} ならびにその競合的拮抗薬は保護するが, histamine, diphenhydramine および cysteine には保護作用はない。一方 adrenergic receptor および histamine-receptor に対する $10^{-4}M$ の dibenamine の作用を保護する薬物はなかった。

また $10^{-6}M$ の dibenamine の作用を adrenaline 化学構造関連化合物である tyramine, monomethylamine あるいは 1~3 価の phenol 類などが保護しないことも観察された。これらのことより,

i) ある受容体に対して可逆的競合的に反応する化合物はその受容体を選択的に侵襲するが, 可逆的非競合的化合物は非選択的である。

ii) 血管平滑筋には adrenaline, バリウムおよび histamine の receptor はそれぞれ個別に存在することを再確認するとともに, これらの受容体の配置を想定すると, その生体相にはきわめて感受性の強い adrenergic receptor が散在し, これに関連して感受性の比較的弱いバリウム-receptor および histamine-receptor が広範囲に存在している。このなかでとくにバリウム-receptor は adrenergic receptor と関連性が深いようである。

iii) receptor の化学的性質であるが, adrenergic receptor の場合は, Belleau⁵⁾ が提唱している, α -site および β -site が存在し, α -site には amine および α -位の alcohol が結びつき, catechol は重金属と関係することを述べているが, 著者らも同様に adrenaline の amine, α -位の alcohol および catechol とくに m -位の OH 基が, adrenergic receptor との結合に必要であることを推察している。

iv) バリウム-receptor に高濃度の adrenergic agents が作用するというのは高濃度の塩化バリウムおよび histamine 等が作用するのと類似の傾向であることが考察される。

2) NCBA も dibenamine と類似の傾向が認められる。

3) 重金属 SH 阻害剤の場合は adrenergic agents および adrenaline 化学構造関連化合物がすべて選択的に保護作用を示すが, バリウムおよび histamine-receptor へ作用する化合物には保護作用はなく, また活性の SH 基を有する cysteine の保護作用はかならずしも選択的とはいえない。これらのことより重金属 SH 阻害剤は adrenergic receptor に作用するのであるが, 保護作用の性格より推察して, かならずしも特異的ではない。また cysteine の重金属 SH 阻害剤に対する保護作用も同様に特異的ではなかった。しかしながらこのことは adrenergic receptor における SH 基の否定を意味していない。

本研究について終始御懇篤なる御指導を賜った東京大学薬学部 高木敬次郎教授に対し衷心より謹んで感謝の意を表します。なお研究実施上多大の御便宜と御鞭撻を賜った同じく高柳一成博士に厚く御礼申し上げます。

富山大学薬学部

5) B. Belleau: First International Pharmacological Meeting, 7, 75 (1961).