Amidinothiocholine 系化合物の薬理作用 (第 1 報) N'-Methylamidinothiocholine と N'-Ethylamidinothiocholine の薬理作用の比較¹⁾

小澤 光, 趙 台淳

東北大学医学部薬学科²⁾

Pharmacological Actions of Amidinothiocholine Derivatives. I. Comparison of Pharmacological Properties of N'-Methyl- amidinothiocholine and N'-Ethylamidinothiocholine¹⁾

HIKARU OZAWA and TAI SOON CHO

Pharmaceutical Institute, Tohoku University²⁾

(Received January 16, 1971)

Pharmacological properties of 2-trimethylaminoethyl-1'-methylisothiuronium bromide hydrobromide (MTMA) and 2-trimethylaminoethyl-1'-ethylisothiuronium bromide hydrobromide (ETMA), derivatives of 2-trimethylaminoethylisothiuronium bromide hydrobromide (TMAET), on autonomic nervous system were examined.

MTMA gave a rise in blood pressure of the rat and cat, and caused a contraction of nictitating membrane of a cat. The pressor action and contraction of nictitating membrane were blocked by hexamethonium. On the other hand, ETMA showed depressor action and blocked the pressor action induced by acetylcholine and DMPP in rat and cat. Contraction of nictitating membrane induced by electrical stimulating and acetylcholine was blocked by ETMA.

MTMA and ETMA showed a weak negative inotropic action on the heart preparation of guinea pig, but ETMA was weaker than MTMA.

MTMA showed a stimulating action on the isolated guinea pig ileum. Contraction of ileum was inhibited by hexamethonium and atropine. On the other hand, ETMA had no stimulating action but blocked the contraction of ileum induced by nicotine.

The contraction of vas deferens of a guinea pig induced by electrical stimulation of preganglionic fiber of hypogastric nerve was potentiated by MTMA and inhibited by ETMA.

Acute toxicity in mice was also tested.

小澤ら³⁻⁹⁾は一連の amidine 系化合物の構造活性相関の研究の一環として 2-aminoethylisothiuronium (AET) の関連化合物に注目し, AET の N, N', N''-alkyl 置換体を合成し, その薬理作用を検討しすでに報告した。この系列の中で amidinothiocholine 系化合物である 2-trimethylaminoethylisothiuronium bromide hydrobromide (TMAET と略)¹⁰⁾ が自律神経節に対して acetylcholine と同程度の節興奮作用を示すのに対し, 副交感神経終末における muscarine 作用は比較的弱いことを報告した。

本報はこの興味ある事実にもとづき引き続き TMAET の N'-methyl 誘導体である N'-methylamidinothiocholine, すなわち 2-trimethylaminoethyl-1'-methylisothiuronium bromide hydrobromide (MTMA と略) および

1) 第 9 回日本薬学会東北支部総会で発表。仙台, 1969 年 11 月。

2) Location: 980, Aobayama, Sendai.

3) 小澤 光, 原 洋一, 薬誌, **88**, 156 (1968).

4) 小澤 光, 原 洋一, 薬誌, **88**, 314 (1968).

5) 小澤 光, 原 洋一, 薬誌, **88**, 747 (1968).

6) 小澤 光, 原 洋一, 薬誌, **88**, 933 (1968).

7) 小澤 光, 原 洋一, 薬誌, **88**, 1270 (1968).

8) 小澤 光, 久保田克己, 原 洋一, 薬誌, **88**, 1352, (1968).

9) 小澤 光, 原 洋一, 百瀬和享, 趙 台淳, 薬誌, **89**, 1175, (1969).

10) 小澤 光, 原 洋一, 日薬理誌, **64**, 467 (1968).

N'-ethyl 誘導体である N'-ethylamidinothiocholine, すなわち 2-trimethylaminoethyl-1'-ethylisothiuronium bromide hydrobromide (ETMA と略) を新たに合成し, その一般薬理作用を検討し, その構造活性相関について興味ある知見を得たので報告する.

実 験 の 部

実験材料 2-Trimethylaminoethyl-1'-methylisothiuronium Bromide および 2-Trimethylaminoethyl-1'-ethylisothiuronium Bromide の合成——Moore ら¹¹⁾ の方法によって得られた alkylthiourea (II) に bromo-choline bromide (I) を加えて混和し溶媒なしで 130° に 20 min 間加熱熔融し, ガス発生後に生成した析出物質 (III) を熱 ethanol で洗浄し, methanol で再結晶した.

化合物は元素分析値と mp で同定した.

合成経路は Chart 1 に示す通りである.

Chart 1. Synthetic Route of Test Compounds

ほかに薬理実験には acetylcholine chloride (ACh と略), atropine sulfate (At と略), 1,1-dimethyl-4-phenyl-piperazinium iodide (DMPP と略), hexamethonium bromide (C₆ と略) nicotine bitartrate, dl-norepinephrine hydrochloride (NA と略) を用いた.

実験方法 1. 摘出モルモット腸管に対する作用——常法に従いモルモット回腸を摘出し, 液温 28° で Magnus 装置に懸垂し筋の収縮をキモグラフに描記した. 栄養液は Tyrode 液を用い試験化合物は Tyrode 液に溶解し, 3 min 毎に 30 sec 間作用させた.

2. 摘出モルモット輸精管 (Vas Deferens) に対する作用——Huković¹²⁾ の方法にしたがい, モルモットの輸精管を下腹神経をつけたまま摘出し, 10 ml の Magnus 装置に懸垂し, Tyrode 液中 30° に保ち, 3 min 毎に下腹神経節前線維に 50 cps, 1 msec, supramaximal の矩形波刺激を 3 sec 間与え輸精管の収縮をキモグラフに描記した. さらに NA 10⁻⁶g/ml, ACh 10⁻⁶g/ml の収縮に対する作用も観察した.

3. 摘出モルモット心臓に対する作用——モルモットを用い Langendorff 法により行なった. 栄養液は Krebs-Henseleit bicarbonate を用い, 試験化合物は栄養液に溶解し, 0.1 ml を大動脈カニューレより注入した.

4. 血圧におよぼす作用——シロネズミ (wistar 系, 300—350 g, ♂) は urethane 1.4 g/kg, 皮下注射により麻酔し, 血圧は頸動脈にカニューレを挿入し水銀マンノメータを介してキモグラフ上に描記した. ネコ (2—4 kg) は ether 導入麻酔後に α-chloralose 60 mg/kg 静注で麻酔し, 血圧は股動脈にカニューレを挿入して記録した. 薬物はシロネズミにおいては頸動脈にネコでは股静脈にカニューレを介して注入した.

5. ネコ瞬膜に対する作用——ネコを ether にて導入麻酔後 α-chloralose 60 mg/kg で静注麻酔し, 右側の瞬膜の収縮を isotonic lever を介してキモグラフ上に描記した. 頸部交感神経節前線維には 20 cps, 1 msec, supramaximal の電気刺激を 15 sec 間与えた. 薬物は生理・食塩液に溶解し股静脈より注入した.

6. 急性毒性——dd 系ハツカネズミ (20—23 g ♂) の静脈注射による LD₅₀ を up and down 法¹³⁾ により算出した. 用量は体重 10 g に対し 0.1 ml の割合とし 30 sec で注入し 3 hr 後に生死の判定を行なった.

結 果

1. 摘出モルモット腸管に対する作用

Fig. 1 に示したように MTMA 10⁻⁴g/ml は単独で腸管の収縮を示し, その収縮は C₆ 10⁻⁴g/ml によって拮抗され At. 10⁻⁸g/ml によって完全に抑制された. ETMA 2×10⁻⁸g/ml は単独で腸管の収縮に何らの影響をも与えなかったが nicotine 10⁻⁵g/ml によって起る収縮を完全に抑制した.

2. 摘出モルモット輸精管に対する作用

Fig. 2 に示したようにモルモット下腹神経-輸精管標本において, MTMA の作用は二相性を示し低濃度 (5×10⁻⁸g/ml) では神経刺激による輸精管の収縮を増強し, 高濃度 (10⁻⁴g/ml) では収縮を抑制した. また単独で輸精

11) M.L. Moore, F.S. Crossley, "Organic Syntheses," Coll. Vol. III, ed, by A.H. Blatt, John Wiley and Sons, Inc., New York, N.Y., 1943, p. 617.

12) S. Huković, *Brit. J. Pharmacol.*, **16**, 188 (1961).

13) K.A. Brownlee, J.L. Hodges, Jr. M. Rosenblatt, *J. Am. Stat. Assoc.*, **48**, 262 (1953).

Fig. 1. Effects of MTMA and ETMA on Contractions of Isolated Guinea-pig Ileum

Agonists were allowed to act for 30 sec in every 3 min cycles and bath was washed out twice in each cycles.

— indicates the presence of blockers

A: acetylcholine 10^{-8} M: MTMA 10^{-4} N: nicotine 10^{-5} unit: g/ml

Fig. 3. Effects of MTMA and ETMA on Contractions of the Guinea-pig Vas Deferens induced by Noradrenaline and Acetylcholine

MTMA (10^{-4} g/ml) and ETMA (10^{-4} g/ml) were administered at arrow.

dots: acetylcholine (10^{-6} g/ml) or noradrenaline (10^{-6} g/ml) respectively

Fig. 2. Effects of MTMA and ETMA on Contractions of the Guinea-pig Vas Deferens induced by Electrical Stimulation of Hypogastric Preganglionic Nerve

MTMA (5×10^{-8} and 10^{-4} g/ml) and ETMA (5×10^{-7} g/ml) were administered at arrow.

dots: electrical stimulation (50 cps, 1 msec, 18 v)

Fig. 4. Effects of MTMA, ETMA and Acetylcholine on Isolated Guinea-pig Heart

a) effect of MTMA: Negative inotropic actions of MTMA (5 mg) were abolished by atropine (1 µg).

b) effect of ETMA: Negative inotropic actions of ETMA (25 mg) were not effected by atropine (100 µg).

c) effect of acetylcholine: Negative inotropic actions of acetylcholine (0.1 µg) were abolished by atropine (0.1 µg).

管の収縮を示し、この収縮は C_6 10^{-5} g/ml によって抑制された。これに対し ETMA は輸精管収縮の抑制作用だけがあらわれた。

一方下腹神経をつけずに摘出した場合には輸精管は高濃度 (10^{-3} g/ml) でも単独作用は見られず Fig. 3 に見られるように両方とも 10^{-4} g/ml の濃度で始めて NA 10^{-6} g/ml, ACh 10^{-6} g/ml による収縮をわずかに増強した。

3. 摘出モルモット心臓に対する作用

MTMA 5 mg は Fig. 4 に示したように心収縮力を抑制したが、この作用は At. 1μ g によって消失した。一方 ETMA は 25 mg の大量で心収縮力の抑制作用を示したが、この作用は At. の大量 (100 μ g) によっても消失しなかった。

4. 血圧に対する作用

シロネズミの血圧に対して Fig. 5 に示したように MTMA は 100 μ g/kg 静注で昇圧反応を示し、この昇圧反応は C_6 10 mg/kg 静注で抑制された。また ETMA は 300 μ g/kg 静注から血圧下降を示し DMPP 100 μ g/kg による昇圧反応を 10 mg/kg 静注によって抑制した。

ネコの血圧において MTMA 1 mg/kg 静注は Fig. 6 に示したように昇圧反応を示し、この昇圧反応は C_6 5 mg/kg 静注によって抑制された。

一方 ETMA 1 mg/kg 静注は Fig. 7 に示すように血圧下降を示し、At. 2 mg/kg 前処理によって ACh 0.3 mg/kg 静注による昇圧反応を抑制した。

5. ネコ瞬膜に対する作用

Fig. 6 に示すように MTMA 1 mg/kg 静注は頸部交感神経節前線維の電気刺激による瞬膜の収縮に対して何らの変化も与えなかったが、MTMA 単独で瞬膜の収縮を起こし、この収縮は C_6 5 mg/kg 静注によって完全に抑制された。一方 ETMA は Fig. 7 に示すように ACh 0.3 mg/kg 静注と節前線維の電気刺激による瞬膜の収縮を 1 mg/kg 静注で抑制した。

6. 急性毒性

マウス静注による LD_{50} は MTMA 13.3 mg/kg, ETMA 81.8 mg/kg であった。

Fig. 6. Effect of MTMA on Blood Pressure and Nictitating Membrane of Cat (3.2 kg, anesthetized with α -chloralose 60 mg/kg *i.v.*)

Contractions of nictitating membrane and rise in blood pressure induced by MTMA (1 mg/kg) were blocked by hexamethonium (C_6 : 5 mg/kg).

E.S.: electrical stimulation to preganglionic superior cervical nerve (20 cps, 1 msec, 1.6v for 15 sec)

Fig. 5. Effects of MTMA and ETMA on the Blood Pressure of Rats (anesthetized with urethane 1.4 g/kg *s.c.*)

a) effect of MTMA: Pressor effects of MTMA (0.1 mg/kg) were depressed by hexamethonium (C_6 : 10 mg/kg).

b) effect of ETMA: Pressor effects of DMPP (0.1 mg/kg) were depressed by ETMA (10 mg/kg).

Fig. 7. Effect of ETMA on Blood Pressure and Nictitating Membrane in Atropinized (2 mg/kg) Cat (3.5 kg, anesthetized with α -chloralose 60 mg/kg *i.v.*)

Contractions of nictitating membrane and rise in blood pressure induced by acetylcholine (0.3 mg/kg) or E.S. were inhibited by ETMA (1 mg/kg).

E.S.: electrical stimulation to preganglionic superior cervical nerve (20 cps, 1 msec, 1.6v for 15 sec)

考 察

Amidinothiocholine 系化合物である MTMA と ETMA の薬理作用を検討し, MTMA は摘出腸管で収縮作用を現わし, その収縮作用は C_6 によって拮抗され, At. によって完全に抑制されたことから神経節興奮作用と同時に末梢に対する muscarine 作用も持っていることを示したが, 心臓標本において心収縮の抑制作用が弱いことから, muscarine 作用は非常に弱いものと推測される。

Martin-Smith ら¹⁴⁾ は acetylcholine の muscarine 作用と nicotine 作用について conformation 異性体で説明しているが, Renshaw ら¹⁵⁾ は acetylthiocholine において muscarine 作用は acetylcholine の 1/100 で nicotine 作用は強くなることを観察している。Wurzel¹⁶⁾ によれば thiocholine 誘導体は choline 誘導体に比べ muscarine 作用はほとんどなく, nicotine 作用だけ強くなると報告し, Hunt ら¹⁷⁾ は homocholine の alkylthioether 誘導体が alkylether 誘導体に比べ muscarine 作用は弱く nicotine 作用が強くなったと報告している。また Land ら¹⁸⁾ は thio 誘導体を含めた choline 関連化合物の構造活性相関の研究で第 4 級 ammonium N から alkyl 基の長さが 7.5 Å において muscarine 作用が最高に達し, 9 Å で nicotine 作用が最高に到達することを報告している。構造式からの計算によると TMAET が 8 Å, MTMA が 9.5 Å で MTMA の方が TMAET より muscarine 作用が弱く nicotine 作用が強くなったことはこの報告と一致するものと考えられる。

モルモット下腹神経-輸精管標本において MTMA は単独で収縮を示し, 節前線維の電気刺激による収縮の増強作用を示した。シロネズミおよびネコ血圧においても MTMA は昇圧反応を示し, この昇圧反応が C_6 によって抑制されたことは選択的に神経節に作用していることを示しているが, 下腹神経-輸精管標本において高濃度で輸精管の電気刺激による収縮を抑制

することは TMAET¹⁰⁾ と同じように高濃度では節遮断作用も持っていることが推察される。

一方 ETMA は摘出腸管において nicotine による収縮を完全に抑制したことから神経節遮断作用をもつものと予想されるが, 輸精管の下腹神経節前線維の電気刺激による収縮の抑制作用および血圧において DMPP, ACh のような神経節興奮作用による昇圧反応を抑制することから, 神経節の遮断作用がうらづけられる。さらに上頸交感神経節前線維の電気刺激および ACh による瞬膜の収縮抑制作用から選択的な神経節遮断作用が推察される。単純に分子内の methyl 基が ethyl 基に変わったことだけで神経節興奮作用から神経節遮断作用に転移することは興味深いことであるが, この例は tetramethylammonium と tetraethylammonium の間でも見られ, また DiStefano¹⁹⁾ が AET 関連化合物において N', N'' に置換基が入ると神経節遮断作用が強くなると述べていることや, 小澤ら³⁾ も AET の N', N''-diethyl 置換体においてこの傾向を認めたことと一致するものと考えられる。

結 論

Amidinothiocholine 系化合物である MTMA と ETMA の薬理作用を検討し次の結果を得た。

1. 摘出モルモット腸管に対して MTMA (10^{-4} g/ml) は収縮作用を示し, ETMA (2×10^{-5} g/ml) は nicotine (10^{-5} g/ml) による腸管の収縮を抑制した。
2. 摘出モルモット下腹神経-輸精管標本において下腹神経節前電気刺激による収縮に対して MTMA (5×10^{-8} g/ml) は増強作用を示し, ETMA (5×10^{-7} g/ml) は抑制作用を示した。
3. Langendorff 法による摘出モルモット心臓標本において MTMA (5 mg), ETMA (25 mg) とともに弱い抑制作用を示したが, ETMA の方が弱い作用を示した。
4. ネコおよびラット血圧に対して MTMA は昇圧反応を示し, この昇圧反応は C_6 によって抑制され, ETMA

14) M. Martin-Smith, G.A. Smail, J.B. Stenlake, *J. Pharm. Pharmac.*, **19**, 561 (1967).

15) R.R. Renshaw, P.F. Dreibach, M. Ziff, D. Green, *J. Am. Chem. Soc.*, **60**, 1705 (1938).

16) M. Wurzel, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **144**, Art. 2, 694 (1967).

17) R. Hunt, R.R. Renshaw, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **44**, (1932).

18) A.M. Land, L.J. Cavallito, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **110**, 369 (1954).

19) DiStefano, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **114**, 588 (1964).

は薬物の神経節興奮作用による昇圧反応を抑制した。

5. ネコ瞬膜の収縮に対して MTMA (1 mg/kg 静注) は収縮作用を示し C_6 (5 mg/kg 静注) によって抑制されるが, ETMA (1 mg/kg 静注) は神経節興奮作用および頸部交感神経節前線維電気刺激による収縮を抑制した。

6. マウス静注による LD_{50} は MTMA が 13.3 mg/kg, ETMA が 81.8 mg/kg である。

以上より amidinothiocholine 系化合物において amidine 基の N' に methyl 基を置換したものは神経節興奮作用を示すのに対し, 同じ位置に ethyl 基を置換した化合物は神経節遮断作用を示すことを証明した。