Ephedrine-Isopropylantipyrine の浮腫および血管透過性亢進に対する影響¹⁾青沼 繁, 小浜靖弘, 陳 英俊, 屋敷伸治, 江川 宏
大阪大学薬学部²⁾Effect of Ephedrine-Isopropylantipyrine on Edema and Increased Vascular Permeability¹⁾SHIGERU AONUMA, YASUHIRO KOHAMA, ING-JUN CHEN,
SHINJI YASHIKI and HIROSHI EGAWAFaculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University²⁾

(Received May 19, 1976)

Effect of ephedrine-isopropylantipyrine (EIA) on exudative inflammations and its physiological mechanisms were examined.

When given to rats in a dose of 0.65 mmole/kg, EIA showed stronger inhibitory effect like phenylbutazone than isopropylantipyrine (IA) or ephedrine, on edema produced by carrageenin, formalin, and dextran, and increased vascular permeability induced by histamine and xylene. This compound greatly inhibited the primary edema by carrageenin in a rat, and its inhibitory action was blocked by reserpine and dibenamine. EIA also inhibited prostaglandin synthesis *in vitro* in 25 μ M of ED₅₀, equal to phenylbutazone and more than IA, in proportion to their inhibitory effect on exudative inflammation. Further, this compound promoted the excretion of noradrenaline into rat urine less than ephedrine and increased the level of cyclic AMP in lung and spleen of a rat. Anti-inflammatory action of EIA seems to result from inhibition of prostaglandin synthesis and moderate stimulation of sympathetic nerve system.

EIA showed an antitussive effect and its ED₅₀ was 23.1 mg/kg in guinea pigs, and improved the stimulated function of adrenal cortex system in a rat under stress by alteration of rhythm in temperature, but did not show a spontaneous motor activity like ephedrine and any effect on adrenal cortex function and blood glucose level of a normal rat.

著者らはすでに数種の isopropylantipyrine (IA) 誘導体の生物活性について検討し, 特に N-propylphenazon-3'-a-ylephedrine (ephedrine-isopropylantipyrine, EIA) が毒性の少ない安定な化合物で, IA と同等の解熱鎮痛作用を有するとともに多くの非ステロイド系抗炎症作用物質にみられる多核白血球遊走抑制作用, 赤血球膜安定化作用, 摘出腸管の histamine およびアナフィラキシーショックに対する抑制作用の試験において IA および aminopyrine などより強い効果を示すことを報告した.³⁾

本報では EIA の抗浮腫作用, 血管透過性亢進に対する作用およびその作用機序について検討し, 本化合物が浸出性炎症に対して抑制効果を示し, prostaglandin 生合成, noradrenaline 分泌, cyclic AMP レベルおよびストレス下の副腎皮質系機能に対して影響をおよぼすことを認めた. また EIA の母体である ephedrine の有する鎮咳作用および自発運動に対する作用についても検討したので併せて報告する.

実 験 方 法

検体および動物 検体として既報³⁾ に従い合成した EIA を用い, 対照として IA, ephedrine·hydrochloride (以下 ephedrine と略), phenylbutazone および ibuprofen を用いた. 動物に投与する場合 EIA は塩酸酸性 (pH 2) の生理食塩水, ephedrine は生理食塩水, 他は 10% propylene glycol を含む生理食塩水にそれぞれ溶解した. 動物はすべて固型飼料 (オリエンタル酵母製) で飼育した正常雄性体重 20—25 g の ddy 系マウス,

1) 第 25 回日本薬学会近畿支部大会で発表, 神戸, 1975 年 11 月.

2) Location: 133-1, Yamadakami, Suita, Osaka.

3) 青沼 繁, 小浜靖弘, 陳 英俊, 屋敷伸治, 中陳静男, 菅谷純子, 薬誌, 95, 151 (1975).

体重 180—200 g の Wistar 系ラットおよび体重 500—580 g の Hartley 系モルモットを使用した。

抗浮腫作用 Winter ら⁴⁾の方法に従い一夜絶食したラットに検体を投与し、30 分後に起炎物質を両側後肢の足趾末端より注射針の先が中心部皮下に到達するように注入した。以後一定時間毎に足の容積を測定し、測定値は両足の平均値として求め、起炎物質投与前の値より浮腫率を計算し、対照群と比較した。起炎物質として 1% carrageenin (Picnin-A, No. T-0586, Pasco International Corp.), 1% formalin および 6% dextran (分子量 180000) を用い、両足にそれぞれ 0.05 ml を注射した。また EIA の作用点を検討するため carrageenin 浮腫をとりあげ、10% propylene glycol を含む生理食塩水に溶解または懸濁した reserpine, propranolol および dibenamine-hydrochloride (以下 dibenamine と略) で前処置したラットを用いて同様に実験を行ない、EIA の抗浮腫作用に対する影響を検討した。

末梢血管透過性亢進抑制作用 ラット皮内色素浸出法——斎藤⁵⁾の方法に従い一夜絶食したラットを用い、胸腹部を除毛後検体を投与し、60 分後に起炎物質として histamine-dihydrochloride の順次希釈濃度の生理食塩水溶液を 0.05 ml づつ腹部に量に応じて 3 ケ所 1 列に皮内注射した。その後直ちに、1% pontamine sky blue 2 ml/kg を尾静脈注射し、15 分後に屠殺して皮膚を剥離し、起炎物質を注射した青染部位を内側からトレースしてその面積を測定し、対照群と比較した。

マウス耳色素浸出法——藤村⁶⁾の方法に従い一夜絶食したマウスに検体を投与し、60 分後に 0.5% pontamine sky blue 0.1 ml/10 g を尾静脈注射し、直ちに xylene を充分含ませたフェルト貼付のクレメンにて左側の耳を 5 秒間はさんだ。15 分後両耳を切断して、直径 8 mm の孔を開けた板に耳をはさみ光電比色計のセルホルダーに挿入し、青染されない右側の耳をブランクとして 630 nm における透過率を測定した。

Fig. 1. Vertical Sectional View of Trap Part in Apparatus for Spontaneous Movement by Cycle Movement Method

- A: tunnel (5.0×5.0 cm)
 - B: trap; trapboard abc (5.0×12.0 cm), column d (2.5 cm), column e (2.0 cm)
 - C: window hole (diameter; 1 cm)
 - D: door
 - E: plate
 - F: thread to lever followed by kymograph
- Arrow shows the movement of rat when placed into A from D (I) or when passed c part of B (II).

15 分間 incubation した。反応終了後直ちに冷 0.1M クエン酸緩衝液 (pH 4.5) 1.8 ml を加え、3000 rpm, 5 分間低温にて遠心分離し、上清につき生成された adrenochrome を 480 nm の吸光度にて比色定量した。この反応系で検体を加えない場合 3.47 ± 0.15 ($n=5$) $\mu\text{M}/\text{mg protein}/15 \text{ min}$ の adrenochrome が生成されることを認

鎮咳作用 高木⁷⁾の化学刺激法に準じて行なった。すなわち一夜絶食したモルモットに検体を投与し、30 分後に 3 liter のデンケーター中に入れ、1 分間にわたり、1.5 ml の SO_2 (水圧 60 mm) を導入後 5 分間モルモットの咳の有無を観察記録した。

自発運動におよぼす作用 断面が 5.0×5.0 cm の正方形からなる直径 60 cm の環状トンネル中におけるラットの左廻り前進運動性を測定した。運動性を測定するため Fig. 1. に示す如くトンネル A の 1 ケ所に長さ 12.0 cm の trap B をとり付け、ラットが trap B の c 部分を踏むと trap が a を支点として約 0.5 cm 傾き (II), ラットが通過すると支柱 d, e の重量差により再び元に戻る装置を使用した。Trap の傾きは糸 F を介してキモグラフ上に描記され、トンネルの上面にはトンネル内に均等に光が入るように直径 1.0 cm の円型窓 C が 10 cm 毎に開けてある。一夜絶食したラットに検体を投与後直ちに引戸 D よりトンネル中にラットを入れ、(I), 環状トンネルを一周し、元の位置に戻った時より 1 時間にわたり左廻り前進運動による回転数を観察記録した。

Prostaglandin 生合成阻害作用 Takeguchi ら⁸⁾の方法に準じ生合成酵素分画としてラット精のう腺より調製したミクロゾーム分画を用い、ミクロゾーム分画 (2.5 mg 蛋白質), 1.5 mM adrenaline, エタノールに溶解した検体 0.1 ml を含む 0.05M トリス緩衝液 (pH 8.3) 1.4 ml をガラスホモジナイザーを用いて均一化し、25°, 5 分間 preincubation した後基質として 0.33 mM arachidonic acid 0.1 ml を加え 37°C,

4) C.A. Winter, E.A. Risley, G.W. Nuss, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **141**, 369 (1963).

5) 斎藤昭昭, 日薬理誌, **54**, 1268 (1958).

6) 藤村 一, 鶴見介登, 林 元英, 日薬理誌, **64**, 379 (1968).

7) 高木敬次郎, 福田英臣, 矢野剡二, 薬誌, **80**, 1497 (1960).

8) C. Takeguchi, E. Kohno, C.J. Sih, *Biochemistry*, **10**, 2372 (1971), C. Takeguchi, C.J. Sih, *Prostaglandins*, **2**, 169 (1972).

めている。

尿中 Noradrenaline の測定 ラット 10 匹を 2 匹ずつ 5 ケの採尿ケージに飼育し、2 匹分の 24 時間尿を 1N HCl 10 ml 中に集めた。検体投与および採尿は毎日午前 9:00—9:30 の間に行ない、尿中 noradrenaline は Euler ら⁹⁾の方法で測定した。

副腎皮質系機能に対する作用 ラットを用い正常な飼育温度 (24°) において検体を投与後 1 時間目に撲殺し、血漿および副腎中の corticosterone レベルを測定した。また喜多ら¹⁰⁾の方法に従い飼育温度を 15 日間にわたり午前 10:00 から午後 5:00 まで 1 時間毎に -3°, 24° と交互に変化させ、午後 5:00 から翌朝 10:00 までは -3° とし温度リズムの変更によるストレス状態 (SART ストレス) に陥ったラットを用い、ストレス初日より連日検体を投与し、亢進する副腎皮質系機能に対する影響を検討した。検体投与は全て午前 10:00—11:00 の間に行ない、副腎皮質系機能検査として 16 日目の午前 10:00 に撲殺後直ちに血漿および副腎を採取し、血漿および副腎中 corticosterone レベル、血漿中 cholesterol レベル、副腎中 ascorbic acid レベル、胸腺および副腎重量を測定した。Corticosterone は Guillemain ら¹¹⁾の方法、cholesterol は Zak-Henly 変法¹²⁾、ascorbic acid は Schaffert ら¹³⁾の方法でそれぞれ測定した。対照としては 24° で飼育した正常ラットを用いた。

血糖量の測定 24 時間絶食したラットに検体を投与後所定時間毎に採血を行ない、Somogyi-Nelson 法¹⁴⁾により血糖量を測定した。

臓器中 Cyclic AMP レベルの測定 既報¹⁵⁾に従い測定した。

実験結果

抗浮腫作用

Carrageenin を起炎物質とした場合 Fig. 2 に示すように EIA は 0.65 mmole/kg の経口投与で対照群に比し約 60% の抑制作用を示し、特に 2 時間目までの初期浮腫に対して他のいずれの検体よりも強い効果を示した。3—6 時間では phenylbutazone よりやや弱いが ibuprofen, IA および ephedrine より明らかに強い抑制効果を有することを認めた。EIA の抑制様式を EIA の母体である IA および ephedrine と比較すると 2 時間目までは ephedrine に、3—6 時間目までは IA に類似した。

Formalin または dextran を起炎物質とした 3 時間目までの浮腫に対しても EIA は 0.65 mmole/kg の投与量で Fig. 3. に示す如く phenylbutazone に匹敵する抑制作用を有し、IA および ephedrine より強い抑制作用を示すことを認めた。これら 3 つの浮腫の中で EIA は carrageenin 浮腫に対して最も有効で、次いで forma-

Fig. 2. Effect of EIA on Development of Carrageenin Edema in Rats

Every sample was given (p.o.) at a dose of 0.65 mmole/kg 30 min before the irritant.

Each point represents mean of 4 rats.

○: control ●: EIA △: IA
▲: ephedrine □: phenylbutazone ■: ibuprofen

Fig. 3. Effect of EIA on Development of Formalin or Dextran Edema in Rats

Every sample was given (p.o.) at a dose of 0.65 mmole/kg 30 min before formalin (a) or dextran (b).

Each point represents mean of 4 rats.

○: control ●: EIA △: IA
▲: ephedrine □: phenylbutazone

9) U.S. von Euler, F. Lishajko, *Acta Physiol. Scand.*, **51**, 348 (1961).

10) 喜多富太郎, 秦多恵子, 米田良三, 尾陰多津子, *日薬理誌*, **71**, 185 (1975).

11) R. Guillemain, G.W. Clayton, H.S. Lipscomb, J.D. Smith, *J. Lab. Clin. Med.*, **53**, 830 (1958).

12) 北村元任, *臨床化学*, **1**, 19 (1971).

13) R.R. Schaffert, G.R. Kingsley, *J. Biol. Chem.*, **212**, 59 (1955).

14) M. Somogyi, N. Nelson, *J. Biol. Chem.*, **195**, 19 (1952).

15) 青沼 繁, 小浜靖弘, 中陳静男, 屋敷伸治, 江川 宏, 和田昌師, 小宮山豊, *日内分泌誌*, **52**, 83 (1976).

TABLE I. Effect of EIA on Increased Vascular Permeability induced by Histamine in Mice

Sample	Dose (mmole/kg, s.c.)	Blueing area (mm ²) ^{a)}		
		Histamine (μg)		
		25	50	100
Control	0	63.0 ± 8.9	96.0 ± 7.1	142.3 ± 4.9
EIA	0.65	16.0 ± 3.9 ^{b)}	59.3 ± 4.6 ^{b)}	91.3 ± 1.9 ^{b)}
IA	0.65	49.4 ± 3.2	87.5 ± 5.4	130.2 ± 27.2
Ephedrine	0.65	24.0 ± 14.0 ^{c)}	72.0 ± 18.0	104.0 ± 23.4
Phenylbutazone	0.65	26.0 ± 2.1 ^{b)}	71.0 ± 6.3 ^{c)}	89.5 ± 8.5 ^{b)}

a) mean ± s.e. (n=4)

b) $p < 0.01$; significantly different from controlc) $p < 0.05$

TABLE II. Effect of EIA on Increased Vascular Permeability and Edema Formation induced by Xylene in Mice

Sample	Dose (mmole/kg, s.c.)	Vascular permeability transmission ^{a)} (%)	Edema formation weight of edema ^{a)} (mg)
Control	0	50.7 ± 2.6	33.9 ± 0.9
EIA	0.65	64.1 ± 2.6 ^{b)}	27.2 ± 0.4 ^{c)}
IA	0.65	57.3 ± 2.4	31.0 ± 2.1
Ephedrine	0.65	61.6 ± 1.9 ^{b)}	28.6 ± 2.9
Phenylbutazone	0.65	64.6 ± 2.4 ^{c)}	28.0 ± 0.2 ^{c)}

a) mean ± s.e. (n=4)

b) $p < 0.05$ c) $p < 0.01$; significantly different from controlTABLE III. Antitussive Effect of EIA in Guinea Pig by SO₂ Stimulating Method

Animal No.	Body weight (g)	Dose (mg/kg, <i>s.c.</i>)	Cough response					Antitussive effect ^{a)}
			Time after injection (min)					
			1	2	3	4	5	
1	505	36	—	—	—	—	—	+
2	540	24	—	+	—	—	—	—
3	553	36	—	—	—	—	—	+
4	539	24	—	—	—	—	—	+
5	510	16	+	+	—	+	—	—
6	575	24	+	+	+	—	—	—
7	525	36	—	—	—	—	—	+
8	575	24	—	—	—	—	—	+
9	508	16	—	+	+	—	+	—
10	563	24	—	—	—	—	—	+

a) ED₅₀ was 23.1 mg/kg.

lin, dextran の順であった。

末梢血管透過性亢進抑制作用

Histamine により惹起されたラット胸腹部末梢血管透過性亢進に対して EIA は Table I に示す如く 0.65 mmole/kg の皮下注射で明らかに抑制作用を示し、特に histamine 25 μg で生じる末梢血管透過性亢進を 75% 抑制した。

TABLE IV. Effect of EIA on Spontaneous Movements in Rats by Cycle Movement Method

Sample	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	No. of cycle movement per hr ^{a)}	Movement index ^{b)}
Control	0	21.5 ± 1.3	1.00
EIA	200	21.3 ± 1.9	0.99
	400	20.5 ± 4.6	0.95
IA	400	14.8 ± 3.5	0.69
Ephedrine	100	44.3 ± 4.3 ^{c)}	2.06
	200	75.5 ± 11.6 ^{c)}	3.51

^{a)} mean ± s.e. (*n* = 5)^{b)} Movement of control was taken as 1.00.^{c)} *p* < 0.01; significantly different from control

この作用は等 mole 量の IA, ephedrine および phenylbutazone より強力で, IA よりはむしろ ephedrine に類似する効果を示した。

マウス耳の xylene による色素浸出法において EIA は Table II に示す如く血管透過性亢進と浮腫に対して phenylbutazone と同等の抑制作用を示すことを認めた。IA はほとんど作用を示さなかった。

鎮咳作用

SO₂ によるモルモットの咳に対する EIA の効果を Table III に示した。EIA は 36 mg/kg の投与量では有効, 16 mg/kg では無効であり, ED₅₀ は 23.1 mg/kg であった。

自発運動に対する作用

環状トンネル中における左廻り前進運動性について検討した結果 Table IV に示す如く EIA は 200, 400 mg/kg の投与量で何ら影響を示さず, ephedrine にみられる自発運動亢進作用を認めなかった。IA は 400 mg/kg 投与で自発運動抑制の傾向を示した。

Prostaglandin 生合成阻害作用

ラット精のう腺からのマイクロゾーム分画を用いた prostaglandin 生合成系に対して EIA は Fig. 4 に示す如

Fig. 4. Inhibitory Effect of EIA on Prostaglandin Synthesis *in Vitro*

Each point represents mean of 3 experiments.
The lines are those calculated for best fit.
○: EIA ●: IA △: phenylbutazone

Fig. 5. Renal Excretion of Noradrenaline in Rats administrated with EIA

Each point represents mean ± s.e. of 4 urine samples; every sample consists of the 24 hr urine from 2 rats. Daily injections (*s.c.*) of solvent or samples were indicated by horizontal column or the shaded parts.

^{a)} *p* < 0.05^{b)} *p* < 0.01; significantly different from solvent control just before every sample administration

Fig. 6. Effect of EIA on Development of Carrageenin Edema in Rats treated with Dibenamine, Propranolol and Reserpine

EIA was given (*p.o.*) at a dose of 0.65 mmole/kg 10 min after the injection (*s.c.*) with 10 mg/kg of every blocker, followed by injecting of the irritant 30 min after EIA. Each point represents mean of 4 rats.

○: control ●: EIA △: EIA+dibenamine
▲: EIA+propranolol □: EIA+reserpine

mg/kg を 3 日間投与したところ 1 日目のみ有意な noradrenaline 排泄量の増加がみられ, さらに ephedrine 10 mg/kg 投与では著明な増加を認めた. 従って EIA は ephedrine ほど著明ではないが IA より強く尿中 noradrenaline 排泄量を増加することを認めた.

く 3—100 μM の濃度で明らかに阻害作用を有し, 50% 阻害を示す濃度 ED_{50} は phenylbutazone とほぼ同様 25 μM であり, IA より強い作用を有することを認めた. しかし用量反応曲線の傾きの異同より EIA は phenylbutazone とは異なり IA に類似する阻害様式を示した.

尿中 Noradrenaline 排泄におよぼす影響

ラットを採尿ケージに入れ 3 日間 24 時間尿中の正常 noradrenaline 排泄量を測定後 3 日間にわたり溶媒 (塩酸性の生理食塩水) を投与し, 対照値を測定したところ Fig. 5 に示す如く noradrenaline 量が増加した. その後 3 日間づつ連日 10, 20 および 30 mg/kg の EIA を皮下注射すると, 投与量の増加にともない noradrenaline 排泄量が増加し, 特に 20 および 30 mg/kg 投与で有意な増加を認めた. EIA 投与終了後再び溶媒のみを連日投与すると 3 日目に対照値レベルに回復した. その後 IA 30

TABLE V. Effect of EIA on Corticosterone Level in Rats

Group	Corticosterone level 1 hr after injection ^{a)}	
	Plasma ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	Adrenal ($\mu\text{g}/\text{g}$)
Control	23.8 $\pm$ 2.8	21.3 $\pm$ 1.9
EIA ^{b)}	27.8 $\pm$ 1.7	22.7 $\pm$ 2.2

a) mean $\pm$ s.e. ($n=4$)

b) dose; 250 mg/kg, *s.c.*

TABLE VI. Effect of EIA on Blood Glucose Levels in Rats

Sample	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Blood glucose level (mg/dl) ^{a)}		
		Time after administration (min)		
		0	60	150
Control	0	73.0 $\pm$ 2.3	75.1 $\pm$ 6.1 (+2.9) ^{b)}	76.5 $\pm$ 6.2 (+4.8)
EIA	100	72.0 $\pm$ 4.9	74.4 $\pm$ 12.2 (+3.3)	62.0 $\pm$ 6.6 (-13.9)
	250	76.3 $\pm$ 6.8	89.4 $\pm$ 7.6 (+17.6)	77.8 $\pm$ 6.8 (+2.0)
IA	100	75.7 $\pm$ 2.1	92.4 $\pm$ 2.6 ^{c)} (+22.1)	81.5 $\pm$ 3.5 (+7.7)
	250	73.0 $\pm$ 7.2	92.5 $\pm$ 6.9 (+26.7)	107.5 $\pm$ 9.6 ^{d)} (+47.3)

a) mean $\pm$ s.e. ($n=4$)

b) Variation % from the value at 0 time was given in parenthesis.

c) $p < 0.01$

d) $p < 0.05$

TABLE VII. Adrenal Cortex Functions of Rats and SART-Stress Rats administrated with EIA for 15 Days

Group		Body weight (g)	Adrenal weight (mg)	Thymus weight (mg)	Corticosterone level		Total cholesterol in plasma (μg/dl)	Ascorbic acid in adrenal (mg/100 g)
					Plasma (μg/dl)	Adrenal (μg/g)		
Normal	Control	321±13	42±3	511±26	25.4±2.8	12.8±0.8	94.5±5.9	382±15
	EIA ^{a)}	313±7	44±4	437±42	28.0±1.9	11.1±0.2	89.0±1.0	384±15
SART-stress	Control	261±6	54±2	332±49	44.1±4.1	11.5±1.1	185.0±9.2	364±15
	EIA ^{a)}	281±2 ^{b)}	43±3 ^{b)}	350±31	21.9±1.7 ^{c)}	8.7±1.5	95.8±3.9 ^{c)}	394±38

Data shows mean ± s.e. of 4 rats.

a) dose; 25 mg/kg/day, s.c.

b) $p < 0.05$ c) $p < 0.01$; significantly different from control

TABLE VIII. Cyclic AMP Levels of Tissues in Rats administrated with EIA

Tissue	Dose (mg/kg, p.o.)	Cyclic AMP level (μμ mole/mg) ^{a)}		
		Time after administration (min)		
		0	30	60
Lung	100	1.17±0.13	1.36±0.33	1.10±0.13
	250		3.28±0.59 ^{b)}	2.10±0.20 ^{c)}
Spleen	100	1.28±0.06	1.81±0.16 ^{b)}	1.30±0.17
	250		1.65±0.02 ^{c)}	1.08±0.19
Adrenal	100	0.33±0.07	0.34±0.03	0.37±0.03
	250		0.34±0.06	0.30±0.04
Hypophysis	100	0.33±0.06	0.38±0.08	0.31±0.06
	250		0.50±0.10	0.51±0.16

a) mean ± s.e. (n=4)

b) $p < 0.05$ c) $p < 0.01$; significantly different from the value at 0 time

EIA の抗カラゲニン浮腫作用に対する Reserpine, Propranolol および Dibenamine の影響

交感神経末端のカテコールアミン潤滑作用を有する reserpine, α または β -receptor 遮断薬の dibenamine, propranolol でそれぞれ前処置したラットを用い EIA の carrageenin 浮腫に対する作用を検討した。その結果 Fig. 6 に示す如くいずれの薬物も起炎物質投与後 2 時間目までの初期浮腫に対する EIA の抑制作用を阻害したが、3—6 時間目における抗浮腫作用に対しては影響を示さないことを認めた。3 つの薬物の阻害効果に大差はみられないが、propranolol において初期浮腫に対して促進傾向がみられた。

副腎皮質系機能および血糖量におよぼす影響

正常ラットに EIA を投与したところ Table V に示す如く浸出性炎症に対して抑制作用を示す 250 mg/kg の投与量においても血漿および副腎中 corticosterone レベルには影響を示さず、また Table VI に示すように血糖量に対しても EIA でみられる上昇作用を示さないことを認めた。また正常な飼育温度下のラットに 15 日間連日 EIA を投与した場合においても Table VII に示す如く体重、corticosterone レベル、副腎および胸腺重量などの副腎皮質系機能に変化は認められなかった。しかし飼育温度リズムの変更による SART ストレス下のラットに対して EIA は体重減少を抑制するとともに血漿中 corticosterone レベル、副腎重量、血漿中 cholesterol 量を有意に減少させ、正常レベルに回復させることを認めた。

臓器中 Cyclic AMP レベルにおよぼす影響

EIA 関連諸臓器の cyclic AMP レベルを測定したところ Table VIII に示す如く EIA は肺および脾臓中における cyclic AMP レベルを有意に増加させることを認めたが、副腎および下垂体では著明な影響を認めなかった。

考 察

IA と同等の解熱鎮痛作用を有する EIA が IA および ephedrine よりはるかに強い抗炎症様作用を示すことはすでに報告したが,³⁾ 今回検討した浸出性炎症の一過程である浮腫および血管透過性亢進に対しても IA, ephedrine に比べ強い抑制作用を示すことを認めた. そこで本化合物特有の抗浸出性炎症作用機作を検討する目的で種々の非ステロイド系抗炎症作用物質について知られている作用点への影響を調べた. Aspirin 系抗炎症作用物質が低濃度で prostaglandin 生合成系を阻害し, その阻害の強さが抗炎症作用と平行することから prostaglandin 生合成阻害が主要な作用機作であることが報告されているが,¹⁶⁾ EIA についてラット精のう腺からのミクロソーム分画を用いた prostaglandin 生合成系に対する影響を検討したところ, ED₅₀ は 25 μ M で, phenylbutazone とほぼ同等の阻害作用を示し, その作用は IA より強く, 浸出性炎症における抑制効果の強さと一致した. 従って EIA においても prostaglandin 生合成阻害が抗炎症作用発現に関与していることが示唆された. しかし EIA の阻害様式は phenylbutazone とは異質で, IA に類似した. このことは最近 phenylbutazone は prostaglandin E_{2 α} および F_{2 α} にそれぞれ特異的に選択的阻害作用を示すが, indomethacin などは非特異的な作用を示すことが報告されており,¹⁷⁾ EIA と phenylbutazone の阻害様式の差は種々の prostaglandins に対する反応性の違いに由来すると考えられる.

Prostaglandin E が生体組織の交感神経末端より noradrenaline 分泌を阻害することが報告されており,¹⁸⁾ EIA が prostaglandin 生合成阻害作用を示し, さらに交感神経刺激作用を有する ephedrine を母体としていることから EIA が交感神経末端より noradrenaline 分泌を促進する可能性が考えられる. そこで EIA 投与による尿中 noradrenaline 排泄量の変化を検討したところ EIA により明らかに noradrenaline 排泄が増加することを認めたが, その作用は IA より強いが, ephedrine ほど著明ではなかった. また carrageenin による初期浮腫に対する EIA の抑制作用が交感神経末端の noradrenaline 潤滑作用を有する reserpine および α -receptor 遮断剤の dibenamine により阻害されることから, EIA の作用発現機構の 1 つに ephedrine ほど著明ではないが noradrenaline の遊離が示唆された. さらに, isoproterenol などの交感神経アミンが肺, 脾臓などの cyclic AMP レベルを上昇させることが報告されており,¹⁹⁾ EIA についても検討したところ, 肺, 脾臓中の cyclic AMP を増加させ, noradrenaline 遊離を支持する結果を得た. 一方著者らはすでに EIA が摘出腸管の収縮に対して抑制作用を示すこと³⁾を認めており, EIA は adrenergic receptor への直接作用も併せ有するものと考えられる. なお β -receptor 遮断剤の propranolol 前処置による EIA の抗浮腫作用阻害については propranolol が交感神経刺激による血管収縮に対して抑制作用を示すことが報告されており,²⁰⁾ 今回の実験系では propranolol の作用が強く発現されたものと考えられる.

古くより antipyrene, salicylates などが副腎皮質系機能を亢進することからこれら薬物の作用機構に副腎皮質ホルモン分泌亢進, 血糖上昇などが示唆されているが,²¹⁾ EIA についてはこれらの作用は認められなかった. しかし飼育温度リズムの変更によるストレス下にあるラットの亢進した副腎皮質系機能に対してはこれを正常化させることを認めた. 喜多ら²²⁾ は同じ実験系でトランキライザーの chlorpromazine などにはストレス緩和作用はなく, 著者らの得た自律神経失調症に有効で, 赤血球膜安定化作用および多核白血球遊走抑制作用を有する

- 16) J.R. Vane, *Nature New Biol.*, **231**, 232 (1971); R.J. Flower, R. Glyglewski, K. Herbaczyn'ska-Cedro, J.R. Vane, *Nature New Biol.*, **238**, 104 (1972); R.J. Flower, J.R. Vane, *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 1439 (1974).
- 17) K.J. Stone, S.J. Mather, P.P. Gibson, *Prostaglandins*, **10**, 241 (1975).
- 18) P. Hedquist, *Acta Physiol. Scand.*, **79**, Suppl. 345 (1970); Å Wennmalm, *Acta Physiol. Scand.*, **83**, Suppl. 365 (1971).
- 19) L.M. Klainer, Y.M. Chi, L. Freidberg, T.W. Rall, E.W. Sutherland, *J. Biol. Chem.*, **237**, 1239 (1962); M.A. Kaliner, R.P. Orange, W.J. Koopman, K.F. Austen, P.J. Laraia, *Biochim. Biophys. Acta*, **252**, 160 (1971).
- 20) B. Åblad, L. Ek, B. Johansson, B. Waldeck, *J. Pharm. Pharmacol.*, **22**, 627 (1970).
- 21) B.S. Hetzel, D.C. Hine, *Lancet*, **2**, 94 (1951); C.C. Pfeiffer, T. Hasegawa, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **103**, 357 (1951); Y. Amano, S. Takaori, *Jap. J. Pharmacol.*, **18**, 430 (1968).
- 22) 喜多富太郎, 秦多恵子, 尾陰多津子, 米田良三, 星野一也, 日薬理誌, **71**, 211 (1975); 青沼 繁, 小浜靖弘, 屋敷伸治, 陳 英俊, 江川 宏, 大西 昇, 薬誌, 「受理」.

ワクシニアウイルス感染組織からの抽出物²³⁾に活性を認めており、EIAの自律神経への作用が示唆され興味深い。

喘息治療剤 methylephedrine は ephedrine に比べ、中枢神経刺激作用および血糖上昇作用などの副作用が少ないことが知られているが、²³⁾ methylephedrine と同様に ephedrine のアミノ基に IA を導入した EIA は ephedrine 様自発運動亢進作用および血糖上昇作用を示さず、しかも methylephedrine (ED_{50} : 24.0 mg/kg)²⁴⁾ と同等の活性を示し、すぐれた鎮咳作用物質であった。

結 論

EIA の浮腫、血管透過性亢進、自発運動に対する作用、鎮咳作用およびその作用機作について検討し、次の結果を得た。

1) ラットにおける carrageenin, formalin および dextran 浮腫に対して IA および ephedrine より強い抑制作用を示す。特に carrageenin による初期浮腫に対して強力な抑制作用を示し、この作用は reserpine および dibenamine により阻害される。

2) ラット皮内およびマウス耳色素浸出法による末梢血管透過性亢進に対して phenylbutazone と同等あるいはそれ以上の抑制作用を示す。

3) Ephedrine 様の自発運動亢進作用を示さないが、鎮咳作用を示し、 ED_{50} は 23.1 mg/kg である。

4) Prostaglandin 生合成阻害作用、尿中 noradrenaline 排泄増加作用および肺、脾臓中 cyclic AMP レベルの増加作用を示すが、corticosterone および血糖レベルに影響を示さない。また飼育温度リズムの変更によるストレス下のラットの副腎皮質系機能を正常化する。

謝辞 本研究に対し、試料を提供された恒信製薬および東邦新薬株式会社に感謝する。

23) 日本公定書協会, “第8改正日本薬局方第1部解説書,” 廣川書店, 東京, 1972.

24) 伴 義雄, 北川晴雄, 宮木高明, 中垣正幸, 岡本敏彦, 奥井誠一, 高木博司, “医薬品研究法,” 再版, 朝倉書店, 東京, 1969, p. 285.