

2. 諸種藥物の併用に依る催眠藥作用並に 鎮痛藥作用の増強 (第3報)

藤 村 一, 中 嶋 健 一

The Potentiating Effects of Various Drugs upon the Action of Hypnotics and Analgesics. (III)

Hajime Fujimura and Ken-ichi Nakajima

(Ogiu Laboratory)

Recently Slaughter *et al.* reported that eserine and prostigmine potentiated the analgesic action of morphine, and Frommel *et al* that prostigmine as well as analogous anticholinesterase agents potentiated the hypnotic action of barbiturates. Both of them made the same suggestion that these actions were attributable to the cholinergic effects of the drugs.

We carried out the similar investigation by attaching importance to the anticholinesterase action of drugs. At the same time two synthesized drugs [P-aminobenzoylcholine chloride ($\text{Me}_3\text{-Procaine}$), N-(dimethylaminoethyl)-Phenothiazine methochloride ($\text{Me}_3\text{-Anergen}$)] which have $\text{Me}_3\text{-N}$ group and were proved to have anticholinesterase action, and methylenblue which were used in neuralgia since Ehrlich advocated the effect, because of its strong affinity to the sensitive nerve and were reported to have strong anticholinesterase action by Rentz, and some other few synthetic dyes as methylgreen, methylviolet, were employed to investigate whether they potentiate the action of morphine and evipan.

The result obtained were compared with those results in the previous report.

Summary

1. Above mentioned drugs were subjected to the experiment to investigate whether they had potentiating effects upon the hypnotic action of evipan (Winter's method) and analgesic action of morphine (Haffner's method) in mice.

2. In doses which no toxic symptom was manifested, eserine, $\text{Me}_3\text{-Procaine}$, $\text{Me}_3\text{-Anergen}$ and methylenblue potentiated the hypnotic action of evipan, while

prostigmine had no effect.

3. In doses which no toxic symptom was manifested, eserine and Mes-Procaïne had a slight potentiating effect on analgesic action of morphine, while prostigmine, Mes-Anergen, methylenblue, methylgreen, methylviolet and fuchsin had no such effect.

4 Relationship between anticholinesterase action of drugs and their potentiating effects upon the action of evipan as well as morphine, and relationship between chemical structure and potentiating effect of the drugs upon the action of morphine were discussed.

結 言

私等は先報に於て抗-Histamin 劑，局所麻酔劑，解熱劑，鎮靜劑の Evipan の催眠作用，Morphine の鎮痛作用に對する併用効果を檢した結果，一部の例外を除いては兩作用共に前者の併用下に多少共増強されることを知つた。更に又側鎖に diethylamino ($\text{Ae}_2\text{N}-$) 基を有するものよりも dimethylamino 基 ($\text{Me}_2\text{N}-$) を有するものの方が一般にこれらの増強効果が，大なることを報じた。

近時 Slaughter²⁾等は Eserine, Prostigmine が Morphine の鎮痛作用を増強することを報じ，又 Frommel⁴⁾等は Prostigmine 及びこれと類似の抗-Cholinesterase 性(Ch-E)藥物が barbiturate の催眠作用を増強することを報じ，且この協力作用がこれ等藥物の Cholinergic (あるいは vagomimetic) な性質と関連するものとしておる。

そこで私達は特に抗-ChE 作用に重點を置いて，上記諸氏の報告を追試すると共に更に私等が先報に於て檢した藥物と對比し，しかも抗-ChE 作用を多少共示した $\text{Me}_2\text{N}-$ 基を有する藥物2種を特に製してこれらとの關係を檢し，併せて Ehrlich⁵⁾が知覺神經に對する染色性の強い故に神經痛に効果ありと唱導して以來一時はこの方面に使用せられたことのある，そして又 Rentz⁶⁾が非常に強力な抗-ChE 作用をみとめたところの Methylenblue を含む $\text{Me}_2\text{N}-$ 基を有する有機色素類の2, 3に就ても Evipan 作用並に Morphine 作用に對する増強効果の有無を檢した。蓋し $\text{Me}_2\text{N}-$ 基の示す態度を探究せんとしたのである。

實驗方法並に實驗材料

實驗方法は先報に記載したから省略する。

實 驗 材 料

Morphine: 『鹽酸モルヒネ (局方)』

* 國司は兎の腦を用いて Hall & Lucas 法に準じて行つた實驗に於て Mes-Procaïne は 10^{-2}Mol に於て約80%， 10^{-3}Mol に於て約40%，又 Mes-Anergen は 10^{-2}Mol にて約85%， 10^{-3}Mol にて約25%の Ch-E 阻害作用を示したが， $\text{Me}_2\text{N}-$ Procaïne 及び Anergen は殆どこのような作用のないことをみとめた。

Evipan: Evipan natrium (オウロパンソーダ鹽野義)

Me₂-Procaine: p-Aminobenzoyldimethylaminoethanol hydrochloride (日新化學)

*Me₃-procaine: p-Aminobenzoylcholine chloride (日新化學)

Anergen: N-(dimethylaminoethyl)-phenothiazine hydrochloride (日新化學)

*Me₃-Anergen: N-(dimethylaminoethyl)-phenothiazine methochloride (日新化學)

Prostigmine: Prostigmine methylsulfate (ワゴスチグミン鹽野義)

Eserine: Physostigmine sulfate (Merck)

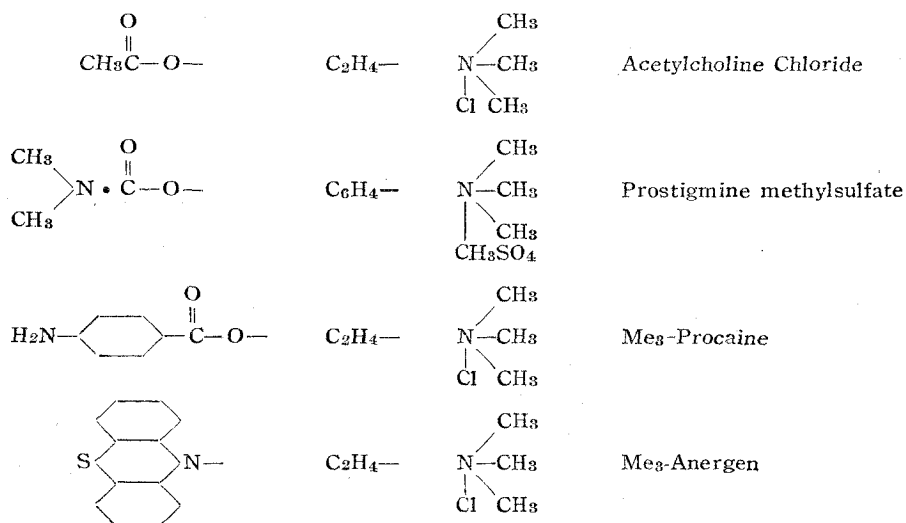
Methylenblue, Fuchsin, Methylgreen, Methylviolet: (Merck)

實驗成績

A. Evipan 催眠作用に及ぼす影響

1. Eserine 並に Prostigmine の作用. Eserine 及び Prostigmine のLD₅₀ は皮下注射にて夫々0.0075mg/10g, 0.002mg/10g であつて, 0.0005mg/10g では何等の中毒症をみとめない, 又これら藥劑自身の投與では鎮靜, 催眠作用をみとめず増量すればむしろ興奮症狀を呈する. そこで今併用による Evipan 作用の増強効果を平均覺醒時間 (M. W. T.) を以て示すと第1表の如くである. 即ち Eserine は Evipan 作用を相當程度増強したが, Prostigmine は豫期したような増強効果を示さなかつた.

* Me₃-Procaine 及び Me₃-Anergen の抗-ChE 作用は下記の如く Acetylcholine, Prostigmine 等と化學構造上の近似からも窺い得られる.



2' Me₃-Procaine (p-Aminobenzoylcholin chloride) の作用. Me₂-Procaine 及び Me₁-Procaine 兩者の毒性は皮下投與で LD₅₀ 4~5mg/10g, 0.3~0.4mg/10g, 最少絶對致死量では 7 mg/10g 及び 0.5mg/10g である. 夫々の 1mg/10g, 0.05mg/10g は何等の中毒状態を呈せず, 又これ等のみでは鎮靜, 催眠作用をみとめない. Me₂-Procaine については私等の先報に於て Procaine が約 39% の増強を示したに對して約 67% の増強を示し, 側鎖の Ae₂-N 基よりも Me₂-N 基の方が Evipan 作用に對する増強の度大なることを報じたが, 今この Me₂-Procaine と Me₁-Procaine の併用効果を比較すると, 對照 Evipan のみで 30^m の平均覺醒時間 (M. W. T.) を示すのに對して, 兩者共に上記で約 50^m の M. W. T. を示した. 即ち約 67% の増強をみとめたのである. 毒性の強度から注射量を Me₃-Procaine は 1/20 としてあるので, 量的には Me₃-Procaine の方が相當強いように思われる.

3. Me₃-Anergen の作用. Anergen (3015 R. P.) 及び Me₃-Anergen の毒性は皮下投與で LD₅₀ 夫々 1.05mg/10g, 0.7mg/10g であつた. その 0.1mg/10g は中毒症状を伴わず, 又鎮靜, 催眠作用をみとめない. 今この量の併用による夫々の Evipan 併用増強効果を検すると第 1 表の如くなる. 先報では Anergen (3015 R. P.) は對照 32.5^m に對し 58^m を示し, 約 78.5% の増強を示したが今回はこの成績より多少増強の度が強く現われた. 上記成績から, Me₃-Anergen も相當の増強作用を示したが, Anergen に比して稍弱いようである.

4. Methylenblue の作用. Meteylenblue の毒性は増量によれば最少致死に 5mg/10g (皮下投與) で呼吸困難, 麻痺症状を呈して死するといわれる. しかし 1mg/10g ではやや鎮靜狀を呈するが催眠作用はみとめられず又呼吸困難, 麻痺症状もみとめられない. 今對照 Evipan の 30^m に對し Methylenblue 1mg/10g の併用で約 50^m の M. W. T. を示し Eserine の場合と同様の増強効果をみとめた.

以上各藥物による Evipan 催眠作用の増強効果を一括表示すれば次表の如くなる.

Table 1. The potentiating effects of various drugs upon the hypnotic action of Evipan in mice.

Drugs	Number of Animals	Dosis administ. (mg/10g)	Evipan 0.5mg with various Drugs (M.W.T.)	Control Evipan 0.5mg (M. W. T.)	Per cent increased to cotrol
Eserine	16	0.0005	50	30	67%
Prostigminl	16	0.0005	35	30	17%
Me ₂ -Procaine	20	1.0	50	30	67%
Me ₃ -Procaine	20	0.05	50	30	67%
Anergen	10	0.1	55	25	120%
Me ₃ -Anergen	10	0.1	45	25	80%
Methylenblue	10	1.0	50	30	67%

M. W. T.: Mean waking time—minutes.

B. Morphine 鎮痛作用に及ぼす影響

1. Eserine 及び Prostigmine の作用. Slaughter³⁾ 等は Eddy⁸⁾ の猫尾部壓痛法による實驗に於て 0.5mg/Kg の Morphine と 0.085mg/kg の Prostigmine の同時皮下投與は略 1mg/kg の Morphine の作用に匹敵する効果を示し、又犬を使つて Eserine による Morphine の増強効果をも報じておる。私等はマウスを使用し Haffner 法で追試したところ次表のような結果を得た。即ち Eserine は Morphine の作用を多少増強するようであるが、Prostigmine は殆んど Morphine の作用を増強しなかつた。この事は Slaughter 等の成績とは一致しておらない。

Table 2. The analgesic action of Morphine with Eserine or Prostigmine.

Drugs	Number of Animals	Dosis administ. of Morphine (mg/10g)	Dosis administ. of Drugs (mg/10g)	Number of Positive Reaction	* Resuth	* Control
Eserine	38	0.05	0.0005	13	+	±
	16	0.05	0.001	5	+	±
Prostigmine	30	0.05	0.0005	4	±	±
	10	0.05	0.001	2	±	±
	20	0.1	0.0005	6	+	+

* Tested by Haffner's method.

Positive Number, 0-¼.....(±), ¼-½.....(+), ½-¾.....(++).

2. Me₃-Procaine の作用. 先報に於て既に Procaine は輕度の増強作用を有し、Me₂-Procaine は相當顯著な増強作用を示した事を報じたが、今これ等と比較して Me₃-Procaine の作用を検したところ次の如き結果を得た。

Table 3. The analgesic action of Morphine with M₂-Procaine, M₃-Procaine or Procaine.

Drugs	Number of Animals	Dosis administ. of Morphine (mg/10g)	Dosis administ. of Drugs (mg/10g)	Number of Positive Reaction	Result	Control
M ₂ -Procaine	12	0.05	1.0	7	++	±
	18	0.05	1.0	10	++	±
M ₃ Procaine	28	0.05	0.05	8	+	±
	18	0.05	0.1	5	+	±
Procaine	38	0.05	1.0	11	+	±

又先報に於て更に Benadrin 0.1mg/10g (subcutan inj.) を加えた場合、Procaine 併用の作用はより増強されたが Me₂-Procaine 併用の Morphine 作用はより以上には増強されなかつたことをみとめたので Me₃-Procaine の場合にも更に Benadrin を加えて試験したところ増強作用はみとめられなかつた。

Table 4. The analgesic action of Morphine and Benadrin with Me₂-Procaine, Me₃-Procaine or Procaine.

Drugs	Number of Animals	Dosis administ. of Morphine (mg/10g) ①	Dosis administ. of Benadrin (mg/10g) ②	Dosis administ. of Drugs (mg/10g) ③	Number of Positive Reaction	Result	Control	
							①+②	①+③
Me ₂ -Procaine	8	0.1	0.1	1.0	4	++	+	++
	14	0.05	0.1	1.0	7	++	±	++
Me ₃ -Procaine	10	0.05	0.1	0.05	2	±	+	+
Procaine	16	0.05	0.1	1.0	8	++	±	+

以上の如く Me₃-Procaine の併用による Morphine 作用増強効果は丁度 Procaine 併用時
にみとめられた程度の増強を示したが、Procaine の如く更に Benadrin を加えることにより効
果の増強はみとめられなかつた。

3. Me₃-Anergen の作用. Anergen (3015 R. P.) は先報に於て既に Morphine 作用を増強
することとめたが Me₃-Anergen は増強効果をみとめ得なかつた。今 Anergen と比較して
みると次の如くなる。

Table 5. The analgesic action of Morphine with Anergen or Me₃-Anergen.

Drugs	Number of Animals	Dosis administ. of Morphine (mg/10g)	Dosis administ. of Drugs (mg/10g)	Number of Positive Reaction	Result	Control
Anergen	12	0.05	0.2	5	+	±
Me ₃ -Anergen	12	0.05	0.2	1	±	±

4. Methylenblue 及び他の有機色素類の作用. Methylenblue, Methylgreen, Methylviolet,
Fuchsin に就て夫々 Morphine 作用の増強効果を検したが總て陰性であつた。更に Methylen-
blue の場合には Procaine 1mg/10g を加えても作用の増強は認められず、Benadrin 0.1mg/10g
を加えた場合も作用の増強は示さなかつた。（第6表）

Table 6. The analgesic action of Morphine and Procaine or Benadrin with various Synthetic dyes.

Synthetic dyes	Number of Animals	Dosis administ of dyes(mg/10g)	Dosis administ of Morphine (mg/10g) ①	Dosis administ of Procaine (mg/10g) ②	Dosis administ of Benadrin (mg/10g) ③	Number of Positive Reaction	Result	Control
Methylenblue	20	1.0	0.05	1.0	0.1	2	±	$\begin{cases} \pm \\ \textcircled{\text{A}}+\textcircled{\text{B}} \\ + \\ \textcircled{\text{A}}+\textcircled{\text{C}} \\ \pm \end{cases}$
	10	0.1	0.05			1	±	
	10	1.0	0.05			2	±	
Methylgreen	10	0.1	0.05			0	-	±
Methylviolet	10	0.1	0.05			1	±	±
Fuchsin	10	0.1	0.05			0	-	±

ここに Fuchsin は Methylgreen, Methylviolet の基本型として $\text{Me}_2\text{-N}$ を有しないが参考のため試験に加えたのであるが上記の如く $\text{Me}_2\text{-N}$ 基のあるものと H_2N -基の Fuchsin との間に差異をみとめ得なかつた。

考 察

Frommel 等は Prostigmine と Somnifene (barbiturate) が血清 Ch-E 阻害作用のみならず、その催眠作用に於て協力し、又 Prostigmine の類似誘導體もその Ch-E 阻害作用に平行して Somnifene の作用を増強する事を報じ、Heyman (1946) の説を引用してこの増強作用が少くとも兩者の vagomimetic な作用によるとした。又逆に sympathicomimetic な Sympatol, Ephedrine が Somnifene の催眠作用を抑制し、Ergotamin や Dihydroergotamine も抑制する事を報じてゐる。

Bouchaert & Hymans (1937) は barbiturate が神経興奮時に起る化學傳導物質の遊離を妨げる。例えば Amytal や Dial は Sympathin の血行中への遊離を妨げるといつてゐる。又、Tobias (1945) は Nembutal や Chloroform の適用下に腦中の遊離 Acetylcholine, 總 Acetylcholine 共に増加してゐることを認めた。一方 Slaughter & Gross は犬に於て、Eserine が Morphine の作用を増強することを報じ、又 Slaughter & Munsell は猫に於て Eddy の方法により 0.085mg/kg の Prostigmine と 0.5mg/kg の Morphine との併用が 1mg/kg の Morphine に相當する鎮痛作用を現わすことを報じこの Prostigmine の Morphine 作用増強は Morphine 自身の cholinergic な作用と協力するものと考え臨床上の利點を示唆してゐる。尙 Morphine の cholinergic な藥物としての條件として in vitro で血清-Ch-E を阻害すること、それが Prostigmine により増強されること及び Atropine のような anti-cholinergic な藥物により拮抗されることをあげてゐる。その後も Slaughter et al (1945), Flodmark & Wramner (1945), Wramner (1945) 等が上記の増強作用をみとめ Eserine 或いは Prostigmine が Acetylcholine の破壊を防ぐ結果、Morphine 自體の示す cholinergic の作用効果の發現を見と考えることによつて良く説明され得るとしてゐる。何れにしても中樞機能の抑制的な作用と Cholinergic な状態との間に密接な關係のあることを物語つており、私等もまたこの點に興味を覺えたのである。しかし私等のマウスにおける實驗成績は上記諸氏の實驗を全面的に肯定することが出来なかつた。即ち Evipan の催眠作用の増強効果を検した結果、Prostigmine は明瞭な増強効果を示さず、Eserine, Meq-Procaïne, Meq-Anergen, Methylenblue に於てはみとめられたが、その抗 Ch-E 作用(in vitro に於ける)の強度とは平行せず、且つ又私等の先報に於て得た抗 Ch-E 作用の殆どないもの、むしろ末梢作用では抗-Acetylcholine 作用を有する抗-Histamine 劑或いは sympathicomimetic な作用を多分に有する局所麻酔劑のあるものに於て、より顯著な増強作用を認めたのである。即ちこれらは Morphine 作用の増強効果に於ては上記 Slaughter 等

の成績と著しく異り、Eserine に於てごく輕微の増強をみとめた以外 Prostigmine, Me₃-Procaine, Me₃-Anergen, Methylenblue, Methylgreen, Methylviolet 共に増強作用をみとめなかつたし、逆に抗 Ch-E 作用の殆んどあるいは全くみとめられないものの方が明かに増強作用をみとめたのである。以上のような相違した成績の間に横わる諸點について考えてみると、まず、Ch-E 阻害作用を食する方法と條件が區々であることであり、しかも多くは in vitro に於ける成績であつてこれと生體に於ける現象とを直ちに結びつけるところに無理があるように思われる。次に従來抗 Ch-E 劑とされたものでも多くは血清 Ch-E に就ての結果から論ぜられそれが非特異的 Ch-E と特異的 Ch-E に對する阻害作用を區別して考えられた場合が少い。一方腦の Ch-E は殆ど特異的 Ch-E であつて同じく抗 Ch-E 劑といつても血清 Ch-E に對する結果を直ちに腦 Ch-E に及ぼして考えることは速斷といわざるを得ない。Eserine は Prostigmine に比し特異的 Ch-E 阻害作用が強い。更に腦中 Ch-E に關する知見は尙十分なものでなく動物の種類により腦中の Ch-E 量が相違するといわれ又腦中各部位に於てもその含有量の相違が稱せられてゐる。人腦では大脳皮質よりも視丘に多く、基底核には更に多量の Ch-E を含有するといわれる。實驗動物を異にする Slaughter の結論と私等のそれとが一致を見ないのは止むを得ないとしてもこの問題は更に藥物の作用部位に於ける Ch-E の含量とも關連を有し更に又藥物の神經組織への透過性の問題をも取り上げて考えねばならない。たとえば 3 級アミンの Eserin の方が 4 級のアンモニウム鹽たる Prostigmine に比してより脂溶性である點からして血中に與えられた兩藥物の腦組織中への移行の問題もあつて既に Heim & Amelung¹⁰⁾ も局麻劑に就てその Ch-E 阻害度は毒性及び脂溶性と平行して強くなることを指摘してゐる。しかし同じ 3 級アミンである Ae₂-N と Me₂-N に於て何故に Me₂-N の方が増強作用が優るかは兩者の脂溶性が殆んど優劣のない點から單に脂溶性乃至は透過性の面のみを以て説明することは出来ない。尙又 cholinergic な状態は Ch-E の阻害のみに影響されるものではなく、Ch-Acetylase の活性度を強めることや、Acetylcholine の合成状態更にその effector cell に對する感受性を高めることによつても當然影響してくる。

以上のような諸點を考えると問題は非常に複雑であつて藥物の抗 Ch-E 性と睡眠作用あるいは鎮痛作用の増強効果とを直ちに結びつけることは非常に危険であるといわざるを得ない。しかし神經作用の酵素化學的研究は甚だ興隆ある所であつてこの方面の近來の盛況よりして近き將來に何等かの意義付けがなされ得ることを期待する。しかしさしあつて一時的な抗 Ch-E 作用の他に神經細胞に對する藥物の直接作用を忘れてはならない。

最後に Anergen と Methylenblue の 2 者に於てその化學構造上主要な骨核となるものは Phenothiazin 核であり、しかもその側鎖に同じく Me₂-N 基を共有してゐるに拘らず兩者が Morphin 鎮痛作用の増強効果に對して異なる態度を示すことは Phenothiazin 核の N に続く alkyl 分子及び手としての Me₂-N 基の母核に對する附加位置も鎮痛作用増強効果の發現に際して見逃し得ない點であるように思われるのでこの點に關しては目下更に研究、その解明に努めてゐる次

第である。

總 括

1. マウスに就て Winter の方法による Evipan 催眠作用並に Haffner 法による Morphin 鎮痛作用に對する Eserin 及び Me_3N -基を有する Prostigmin, $\text{Me}_3\text{-Procain}$, $\text{Me}_3\text{-Anergen}$, 更に Me_2 -基を有する Methylenblue, Methylgreen, Methylviolet 並に Fuchsin の増強効果の有無に就て實驗した。

2. 中毒症狀を示さない量に於て Eserin, $\text{Me}_3\text{-Procain}$, $\text{Me}_3\text{-Anergen}$, Methylenblue の併用は何れも Evipan 催眠作用を増強したが Prostigmin はひとむべき増強を呈しなかつた。

3. 中毒症狀を示さない量に於て Eserin, $\text{Me}_3\text{-Procain}$ の併用は Morphin 鎮痛作用を輕度
に増強したが Prostigmin, $\text{Me}_3\text{-Anergen}$, Methylenblue, Methylgreen, Methylviolet, Fuchsin
に於ては増強効果をみとめなかつた。

4. 各藥物の抗 Ch-E 作用と Evipan 作用, Morphin 作用の増強効果との關係及び藥物の化學構造と Morphin 作用増強効果との關係に就て考察した。

(本論文の概要は本研究所第48回業績發表講演會に發表した)。

引 用 書 目

- 1) 藤村, 中嶋: 日本藥理學雜誌, **45**, 47~95 § (1949), 化研報25集, P. 36~ (1951)...
- 2) Slaughter & Gross: J. P. E. T. **63**, 34~ (1938).
- 3) Slaughter & Munsell: J. P. E. T. **68**, 104~ (1940).
- 4) Frommel *et al*: Excerpta Medica section II, vol. I. No. 4, P. 503 (1948).
- 5) Ehrlich u. Leppman: Deut. med. Woch. **23**, 493 (1890).
- 6) Rentz: Arch. f. exp. path. u. Pharmacol. **196**, 148~ (1940).
- 7) 増田: 京都醫學雜誌, **19**, 1090~ (大正11年).
- 8) Eddy: J. P. E. T. **45**, 339~ (1932).
- 9) Frommel *et al*: Excerpta Medica, Sec II, vol. I, No. 3, P. 399 (1948).
- 10) Heim u. Amelung: Excerpta Medica. Sec II. vol. III, No. 9, P. 1287 (1950).
- 11) 後藤: 日新醫學, **37**, 434~ (1950).

(昭和27年1月25日受理)