

Acetanilide 及び Pyrazolone 系二, 三誘導体の抗炎症作用と Histamine 遊離抑制作用

岡山大学医学部薬理学教室 (主任: 山崎英正教授)

山 崎 英 正
近 藤 和 二
宇 田 昭 夫

[昭和 35 年 4 月 5 日受稿]

緒 言

萩生及び共同研究者たち^{1,2)}は Phenetididn 及び Antipyrine の Dialkylaminoacylamino 誘導体多数を合成してその薬理作用を検討し, 鎮痛作用ならびに毒性の少ない点で優れたものを見出し, かつ水溶性の増加する利点を認めている. 私たちは Acetanilide 及び Pyrazolone 系の Dimethylaminoacylamino 誘導体に属する新化合物二, 三を日本新薬研究所より提供を受けたので, それらの抗炎症作用について既存の関連薬物と比較した. また抗炎症作用と関係の深い Histamine (Hist.) 遊離抑制作用が Aminopyrine その他諸種解熱薬乃至抗炎症薬に認められることをわが教室³⁾⁴⁾⁵⁾で見出しているので, 被検化合物についてもこの作用を検討した.

実験材料及び方法

被検化合物: GB-105, GB-302, GB-306, GP-1 及び The third (いずれも code name) の 5 種で, 関連構造の薬物 Acetanilide, Phenacetin, Aminopyrine, Aminopropylron 及び Butazolidine についても比較のため実験を行った. これらの構造は Table 1 に示した. Butazolidine と Phenacetin はアラビヤゴム加懸濁液として用い, Butazolidine については一部の試験では Na 塩として溶解したものを用いた. 他のは所要濃度では可溶である. 溶媒はすべて生理食塩水とした.

一部の抗炎症作用の試験には Aminopropylron 0.05 g + Aminopyrine 0.0375 g/kg (配合 No. 1 と略記), GP-1 0.04 g + Aminopyrine 0.025 g/kg

Table 1. Compounds

Name of compound	Structural formula	Melting point (°C)
Acetanilide derivatives		
GB-105		100—101
GB-302		80
GB-306		76—77
Phenacetin		134—135
Acetanilide		113—115

Pyrazolone derivatives				
		R	R'	
GP-1		CH ₃	CH ₂ CON $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	119—120
The third	$\begin{matrix} \text{GH}_3-\text{C}=\text{C}-\text{N} \begin{matrix} \text{R} \\ \text{R}' \end{matrix} \\ \quad \\ \text{CH}_3-\text{N} \quad \text{CO} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix}$	CH ₃	COCH ₂ N $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	92—93
Aminopyrine		CH ₃	CH ₃	176
Aminopropylon		H	COCHN $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	107—109
Butazolidine	$\begin{matrix} \text{HO}-\text{C}=\text{C}-\text{C}_4\text{H}_9 \\ \quad \\ \text{H}_5\text{C}_6-\text{N} \quad \text{CO} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix}$			103—104

(配合 No. 2) 及び GP-1 0.05 g + Aminopropylon 0.05 g/kg (配合 No. 3) についても検討した。これについても注射量は生理食塩水にて 3—5 cc/kg に調製した。

抗炎症作用の試験法：実験には 100—150 g の雌雄のラットを用いた。浮腫発生には Dextran, mol. wt. 75000±2500, 3 mg (0.05 cc), Hyaluronidase (Sprase) 60 V. U. M. (0.3 cc), Formaldehyde 3.7 mg (3.7 w/v%, 0.1 cc), Histamine (Hist.) 20 µg (0.1 cc) 及び 5-Hydroxytryptamine (5-HT) 0.1 µg (0.1 cc) を用いた。Hist. 及び 5-HT の用量は塩基として示したものである。Hyaluronidase 及び Formaldehyde は後足の足趾皮下に、他のものは足背皮下に注射した。これらの物質によつて発生した浮腫の強度は特別にスプリングを弱く調整した

Micrometer を用い足の背趾の最大厚みの測定によつて示した。浮腫発生物質を先ず左後足に皮下注射し、その浮腫の程度を測定したのち、この第 1 回注射から 24 時間の後に右足に同様の方法で浮腫を発生させる。被検薬物は第 2 回浮腫発生の 1 時間前に腹腔内に注射した。各足の浮腫強度の測定は浮腫発生注射後 1, 2, 3 及び 5 時間に行い、次式によつて薬物による浮腫抑制率を計算した。

浮腫抑制率 = $\frac{En - Et}{En} \times 100\%$ 、En は対照足の浮腫強度 (mm)、Et は薬物投与後の浮腫強度 (mm) である。この実験の対照として薬物を含まぬ生理食塩水の腹腔内注射を行ない、左右足浮腫強度の比較を行つたところ Table 2 に示した如く、Hyaluronidase 及び Hist. 浮腫に第 2 回目浮腫の減弱 (抑制)

Table 2. Effect of normal saline (i. p.) on the edema induced in the rat's hind paws. Figures indicate percentage of edema inhibition. Averages of six experiments each.

Edema inducing agent with dose	1 ^h	2 ^h	3 ^h	Av. (1—3 ^h)
Dextran 3 mg	1.1±0.16	0.8±0.17	0.4±0.20	0.8
Hyaluronidase 6 V.U.M.	1.0±1.22	3.0±1.00	3.7±1.83	2.6
Formaldehyde 3.7 mg	0.5±0.22	-1.8±0.30	-1.7±0.30	-1.3
Histamine 20 µg	1.7±0.22	1.8±0.26	2.3±1.09	1.9
5-HT 0.1 µg	1.0±1.38	0.8±0.28	-0.5±0.22	0.4

をみとめられた。それ故、両種の浮腫に対する実験成績には薬物によらないこの浮腫抑制率を差し引き補正するようにした。

被検薬物は 100 mg/kg を腹腔内に注射した。但し Phenacetin のみ 50 mg/kg についても実験した。注射量は約 1 cc とした。

Histamine 遊離抑制作用の試験法：著者の一人近藤⁶⁾が既報した方法によりラット尿中に排泄される遊離 Hist. の測定法を利用した。近藤によると Hist. の非経口投与後尿中に過剰に排泄増加する Hist. 量 (b) は、投与前の毎30分平均 Hist. 排泄量 (a) に対し、投与量に関して $b/a=k$ なる比例関係を示すことが知られている。従つて、体内における Hist. の遊離の程度を k の測定によつて知ることができる。Hist. 遊離物質には Ovomuroid (Hektoen⁷⁾, Leger⁸⁾ による Mörner⁹⁾ の変法にて作製) を用い、その 40 mg/kg の腹腔内投与による Hist. 遊離を、2 時間前に腹腔内投与した被検薬物が抑制する効力を k の値の比較によつて検らべることにした。対照無処置ラットにおける Ovomuroid 注射後 $k \times 100$ は平均 301 (290, 305, 328) (Table 4) であつたから、Ovomuroid によるこの k 値をそれ以下に低下

させる場合、被検薬物には Hist. 遊離抑制効果があることになる。使用ラットは体重150—250 g の雌で採尿及び Hist. 定量の詳細な既報⁶⁾した如くである。

薬物は何れもその注射全量が生理食塩液 0.5 cc に含まれるようにした。

実験成績

1. 抗炎症作用

Dextran, Hyaluronidase, Formaldehyde, Hist. 及び 5-HT による浮腫抑制効果を上述の方法により試験した成績は 1—3 時間における抑制率平均値が Fig. 1 及び Fig. 2 に示されている。GB 3 種化合物は 5-HT 浮腫には比較的著明な抑制作用を示すが、GB-302 は Hyaluronidase に、GB-105 及び GB-306 は Formaldehyde 浮腫に対する効果が殆んど認められぬ。Phenacetin 及び Acetanilide ではこの両浮腫に対する効果は認められる、Pyrazolone 系の The third についてもやはり Formaldehyde 浮腫に対する効果を欠いている。しかし、GP-1 は 5 種類の浮腫に対していずれもよく揃つた、しかも相当強力な抑制効果を示し、この点 Aminopyrine 及び Butazolidine と類似している。Aminopropylon にくらべ GP-1 の

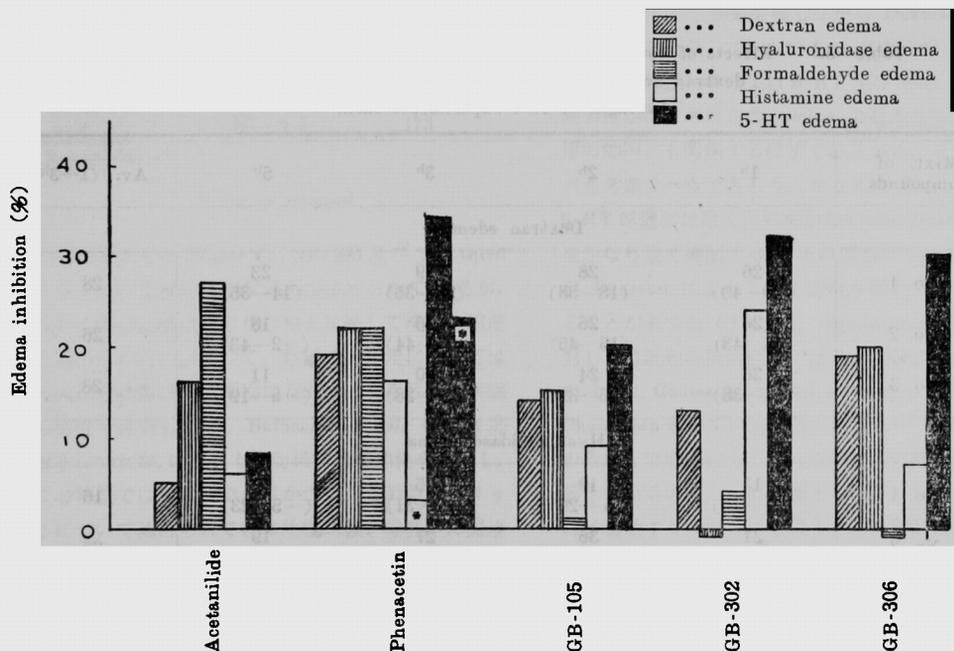


Fig. 1. Anti-inflammatory effect of acetanilide- and pyrazolone derivatives. (1). Histograms indicate average percentage of edema inhibition for 1—3 hours after inducing edema. 100 mg/kg dose for all compounds. * 50 mg/kg

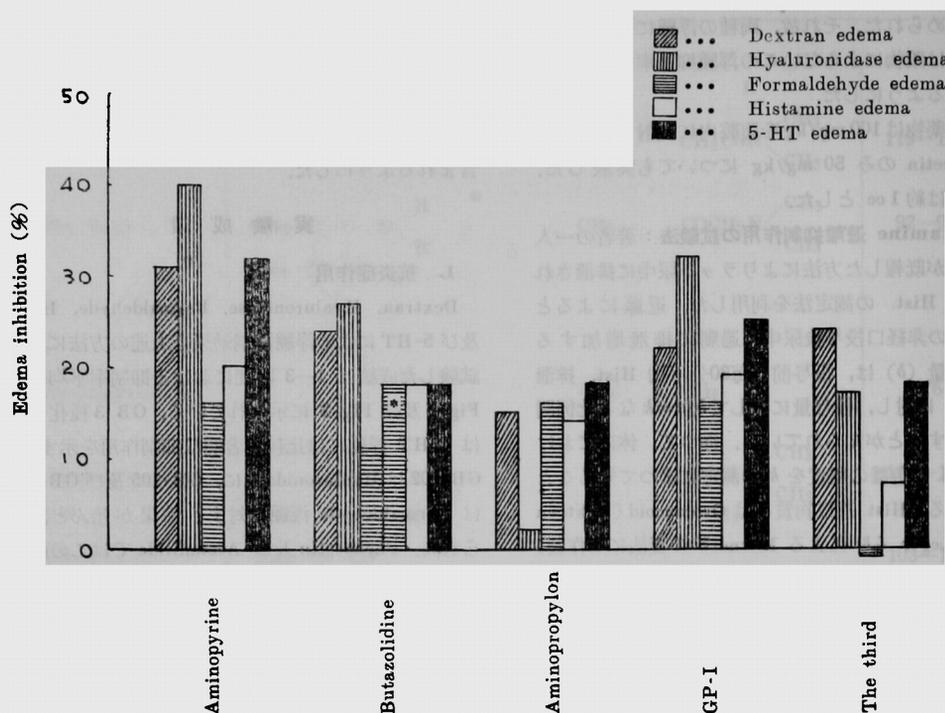


Fig. 2. Anti-inflammatory effect of acetanilide- and pyrazolone derivatives. (2).
* Sodium salt.

Table 3. Effects of combinations of aminopyrine, aminopropylon and GP-I on dextran and hyaluronidase edema in percentage inhibition. Averages of five experiments each.

Mixt. of compounds	1 ^h	2 ^h	3 ^h	5 ^h	Av. (1-3 ^h)
Dextran edema					
No. 1	26 (20-40)	28 (18-38)	29 (25-35)	23 (14-35)	28
No. 2	26 (14-43)	26 (16-45)	26 (11-44)	18 (-2-43)	26
No. 3	26 (14-38)	24 (15-32)	20 (9-28)	11 (-5-19)	23
Hyaluronidase edema					
No. 1	13 (5-15)	19 (5-29)	15 (-2-31)	6 (-5-23)	16
No. 2	21 (16-30)	36 (28-52)	27 (6-36)	19 (1-33)	28
No. 3	30 (17-36)	32 (18-47)	35 (28-55)	33 (20-59)	32

効果は概して優れているように思われる。

Aminopyrine (I), Aminopropylon (II) 及び GP-1 (III) のうち2種の化合物の配合物について Dextran 及び Hyaluronidase 浮腫に対する抑制効

果を比較した結果は Table 3 の如くで、配合 No. 1 (I + II), No. 2 (I + III) 及び No. 3 (II + III) とともに Dextran 浮腫に対する効果は大差ないが、No. 1 > No. 2 > No. 3 の順に効果の持続性が減少している。

Hyaluronidase 浮腫に対しては No. 2 及び No. 3 の効果が No. 1 より優れている。

2. Histamine 遊離抑制作用

Ovomucoid による尿中 Hist. 排泄増加を指標とする Hist. 遊離に対し、これら化合物はいずれも抑

Table 4. Inhibitory effect of some synthetic antipyretics on urinary excretion of histamine induced by intraperitoneal injection of ovomucoid (40mg/kg) in the rat.

Inhibitor (75mg/kg)	M.C. (μ g/30m)	Total hist. excretion in excess of M. C.	
		μ g	as % of M. C. (k)
None	0.70	2.1	305
"	0.70	2.0	290
"	0.82	2.7	328
Aminopyrine	0.42	0.59	141
"	1.0	1.7	162
Aminopropylon	0.76	1.5	196
"	0.54	1.1	203
The 3rd	1.9	1.5	83
"	0.73	1.3	173
GP-1	0.47	0.85	182
"	1.9	3.9	202
GB-105	0.70	0.38	54
"	1.4	2.5	174
GB-302	0.55	1.1	196
"	1.3	2.2	162
GB-306	0.48	0.88	183
"	0.99	1.7	173
Butazolidine*	—	—	—

* Urine stopped

制効果を示した (Table 4)。GB-105 及び The third の各 1 例に比較的著明な効果が認められているが、他の 1 例の成績は他の化合物と比較して格段の相違を認められない。従つて、結局この作用に関しては被検化合物及び対照薬物相互間にはつきりした強弱の程度を区別し難い。Butazolidine sod. は 2 例実験を行つたが、いずれも注射後排尿の中絶をきたし、この用量では実験ができなかつた。この原因はラットについて認められている比較的強い毒性¹⁰⁾に関連するものかも知れない。

総括及び考察

Acetanilide 誘導体 GB-105, GB-302, GB-306 及び Pyrazolone 系の GP-1 及び The third の 5 種の新化合物について、ラット後足におこした Dextran, Hyaluronidase, Formaldehyde, Hist. 及び 5-HT

浮腫に対する抑制効果ならびに Ovomuroid による Hist. 遊離に対する抑制効果を、他の二、三関連化合物と比較検討した。

上記浮腫に対する効果は被検化合物のうち GP-1 が比較的平均して強く、この点 Aminopyrine 及び Butazolidine と類似した。他の 4 種のものうち The third, GB-105, GB-306 は Formaldehyde 浮腫, GB-302 は Hyaluronidase 浮腫に対し効果を認められなかつたが、他の浮腫には効果が認められた。

Ovomucoid による Hist. 遊離に対してこれら化合物は Aminopyrine 及び Aminopropylon と同様明らかな抑制効果を示した。

ラットにおける上述の浮腫の成因について分析した宇田¹¹⁾の研究によると Dextran 浮腫は主に 5-HT 及び Hist. の遊離に負うものであるが、Hyaluronidase 浮腫及び Formaldehyde 浮腫にはこれら両種 amine の作用はあまり関係していないようである。今回の実験においても両種 amine 浮腫の何れか又は両方に抑制効果の強い薬物は概して Dextran 浮腫にもよく奏効しており、逆に Acetanilide の如く両 amine の浮腫に抑制作用の少ないものは Dextran 浮腫に対する効果も少ない。但し、例外的に、両種 amine による浮腫によく効果を奏しながら Dextran 浮腫にその割合に奏効していないもの (GB-302) もある。Dextran 浮腫への効果は 5-HT 及び Hist. の作用抑制のほか、それらの amine の遊離を抑制する作用の如何にも関係するはずであるから、そういった点も考慮すべきであろう。たとえば Guaiazulen は 5-HT 浮腫には殆んど効果がないのに Dextran 浮腫をかなり強く抑制するが、その理由は Guaiazulene が Dextran による 5-HT 遊離を抑制するためであることが判つた (宇田¹¹⁾)。Hyaluronidase 浮腫に対しては既知の抗炎症薬ではこの実験に用いたもののほか Guiazulene, Sod. salicylate, Cortisone, Phenergan がいずれも奏効している¹¹⁾。細菌感染その他多くの原因による炎症反応にこの酵素は実際関係しているので、抗炎症薬としてなるべくこの浮腫には奏効する方がよいと思う。GB-302 にこの効果のないことは一応 screening に当つて考えねばならぬと思う。Formaldehyde 浮腫には既存のものでは Salicylate が奏効せぬ。しかし、この浮腫の発生要約が実際の炎症にあつて問題になるかどうかよく判つていないのでこの浮腫に奏効しない故に臨床的応用の価値が減せられるという断定は下し兼ねる。そういった諸点を考慮すると GB-105 などは毒性が

著しく弱く、他剤に比して用量を増加しうる場合には更に他の薬理作用乃至臨床試用を考えてみてもよいと思う。GP-1 は以上の諸炎症浮腫に何れも強力に奏効しているので有望な化合物であろう。Hist. 遊離の抑制作用は何れの化合物にも認められるので、Hist. 遊離の関与するアレルギーその他炎症反応への効果は同様に期待できるだろう。

Aminopyrine, Aminopropylone 及び GP-1 の各2

種配合による抗炎症効果の成績は使用用量の関係かも知れないが特に著しい相乗効果を認めえなかつた。用量比その他についてなお検討を加える余地があると思う。

文 献

- 1) 荻生規矩夫, 藤村一, 松村元治, 上島孝治, 高柳西蔵, 千田重男: 薬学誌, **73**, 437 (1953).
- 2) 荻生規矩夫, 藤村一, 松村元治, 上島孝治: 日薬理誌, **49**, 289 (1953).
- 3) Irino, S.: Acta Med. Okayama **12**, 93 (1958).
- 4) 近藤和二: 岡山医学会誌, **71**(6, II), 3289 (1959).
- 5) 内田可亮: 倉敷病院年報, **28**, 117 (1959).
- 6) 近藤和二: 日薬理誌, **54**, 1221 (1958).
- 7) Hektoen, L. & Cole, A. G.: J. infec. Dis., **42**, 1 (1928).
- 8) Leger, J. & Masson, G.: Ann. Allergy, **6**, 131 (1948).
- 9) Mörner, C. T.: Z. physiol. Chem., **18**, 525 (1894).
- 10) Wilhelmi, G.: Schweiz. med. Wschr., **79**, 577 (1949).
- 11) 宇田昭夫: 日薬理誌, **55**, 155§ (1959).

Anti-inflammatory Effect and Histamine-release Inhibitory Effect of Some Derivatives of Acetanilide and Pyrazolone

By

Hidemasa Yamasaki, Kazuji Kondo and Teruo Uda

Department of Pharmacology, Okayama University Medical School, Okayama
(Director: Prof. Dr. Hidemasa Yamasaki)

Three acetanilide- and two pyrazolone derivatives were tested for anti-inflammatory effect on the edema of rat's hind-paws induced by the local injection of dextran, hyaluronidase, formaldehyde, histamine and 5-hydroxyptamine, and for histamine-release inhibitory effect on the rat receiving an intraperitoneal injection of ovomucoid which increases urinary output of histamine as a result of histamine release in the whole body. Phenacetin, acetanilide, aminopyrine, aminopropylone and butazolidine served as controls. GP-I, one of the pyrazolone derivatives (for formula cf. table 1), showed fairly marked suppression on all 5 kinds of edema with effects comparable to aminopyrine and butazolidine. Acetanilide derivatives tested, also exerted marked inhibition on the edema other than by hyaluronidase or formaldehyde. All the compounds inhibited the histamine release due to ovomucoid injection, but no graded difference could be seen.