

Rauwolfia alkaloid 誘導体, Rescimetol のラット 脳内 Monoamine におよぼす薬理学的研究

東京医科大学薬理学教室 (主任 : 渋谷 健教授)

佐藤勝彦 謝明 村 高須 矯 石田啓一郎
相沢 潔 道永啓以智 渋谷 健

The Pharmacological Study on the Effect of Rescimetol, Rauwolfia Alkaloid Derivatives, on Monoamines in Rat Brain

Katsuhiko SATO, Ming Tsuen HSIEH, Tadashi TAKASU, Keiichiro ISHIDA,
Kiyoshi AIZAWA, Keiichi MICHINAGA, Takeshi SHIBUYA

Department of Pharmacology, Tokyo Medical College
(Director : Prof. Takeshi SHIBUYA)

A comparative study was made biochemically and fluorescent-histochemically concerning the effects on monoamine in rat brain, using rescinnamine, syrosingopine, reserpine, and especially centering around rescimetol.

1) The influences of rescimetol in doses of 1, 5 and 10 mg/kg (p. o.) on the content of dopamine and noradrenaline in brain show a similar reduction to syrosingopine, whereas rescinnamine showing a significant reduction and reserpine revealing the strongest reducing action.

On the other hand, in fluorescent-histochemical examination, the changes of monoamine neurons in brain in the 5 mg/kg (p. o.) administration are as follows :

2) The catecholamine fluorescence in the nuc. locus ceruleus, median eminence and substantia nigra (A 10) hardly shows any change with rescimetol or syrosingopine, but it reveals a tendency toward diminution with rescinnamine, and reserpine causes a diminution and also makes obscure the minute structure of cell groups.

3) The 5-HT fluorescence in the nuc. raphe dorsalis, nuc. raphe medianus, and lemniscus medialis of the midbrain hardly reveals any change with rescimetol or syrosingopine, it is reduced with rescinnamine, and its disappearance with reserpine is recognized.

From these results, it is assumed that monoamine neurons in brain are involved as one of the central acting mechanisms of rauwolfia alkaloids, however, respective drugs have different intensities in the actions against central monoamines, and concerning pharmacological actions

Key words : レシメトール (Rescimetol), モノアミン (monoamine),
蛍光組織化学 (fluorescent histochemistry)

in general there are various drugs possessing weak CNS actions and those having strong CNS actions, like reserpine. It seems to suggest the correlations with the action intensity against monoamines in brain.

緒 言

Rauwolfia alkaloids は精神安定薬として使用され、さらに血圧下降作用を有する薬物である。しかしながら、従来より使用されてきた rauwolfia alkaloids の1つである reserpine は、連用によつて高血圧症の治療上、抑うつ状態をはじめ好ましくない副作用を誘発することが欠点とされている。以来 reserpine の構造を化学的に修飾することにより、中枢神経系に影響の少ない化合物の開発が検討されている。

すでに reserpine の構造を一部化学的に修飾することにより、中枢作用を減弱化した rescinnamine, deserpine の出現をみた。さらに Kametani¹⁾ は、rescinnamine の 3,4,5-trimethoxycinnamoyl 基を、4-hydroxy-3-methoxycinnamoyl 基に置換した methyl-0-(4-hydroxy-3-methoxy cinnamoyl) reserpate (rescimetol) を合成した。

Okamoto and Aoki²⁾ によつて作られた。自然発症高血圧ラット(SHR)を用い、Kato ら³⁾ は、rescimetol の降圧作用を検討し、syrosingopine よりも強く、rescinnamine と同程度であることを報告している。

reserpine は高血圧症の治療薬として広く用いられているが、長期連用により、抑うつ状態、倦怠感、鼻閉、下痢、眩暈、精力減退等の副作用の誘発があると

されている。したがつて、これら副作用の少ない同族 alkaloid の開発が行われ、Lucas⁴⁾ により開発された syrosingopine は、血圧下降作用は reserpine に近く中枢作用は弱いとされ、reserpine 誘導体として合成されたものである。さらに、rauwolfia alkaloid 誘導体として合成された rescimetol は、中枢作用は著しく弱いと報告されている化合物である⁵⁾。

今回、rescimetol を中心として、rescinnamine, syrosingopine および reserpine を用いて、中枢神経系への影響、特にラット脳内 monoamine に対する作用を、生化学的、蛍光組織化学的に比較検討し、一定の成果を得たので報告する。

実験材料並びに実験方法

1) 実験動物

実験には体重 250~300 g の SD 系雌性ラットを用い、1群9匹とし、うち6匹を生化学的測定に、3匹を組織化学的検索に用いた。

2) 使用薬物

使用した薬物は rescimetol (日本ケミフヅ株)、rescinnamine (伊・Inverni)、syrosingopine (伊・Inverni) および reserpine (伊・Inverni) で、各々の化学構造式は Fig. 1 に示す如くである (Fig. 1)。

薬物は 0.2% CMC 溶液に懸濁後、経口投与した。

Fig. 1 Chemical Structure of Rauwolfia Alkaloid Derivatives

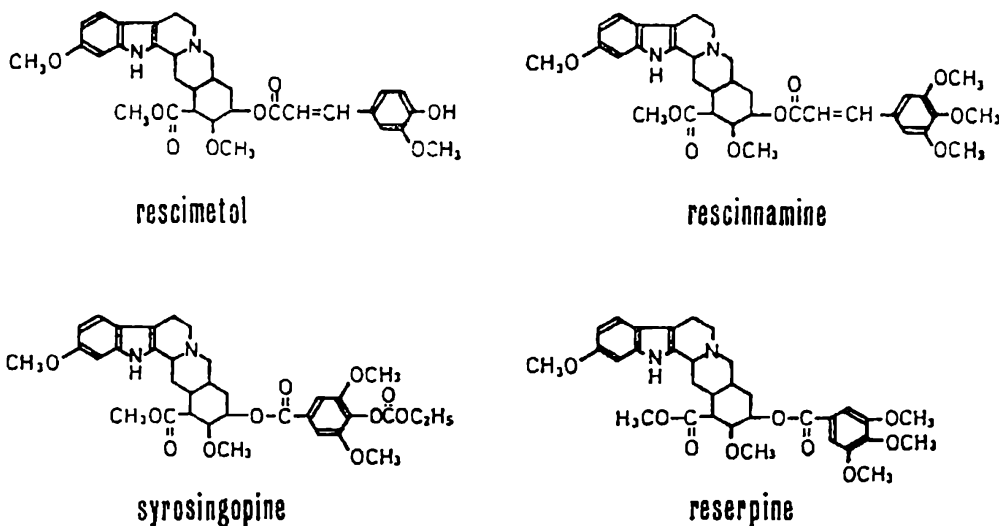


Fig. 2 Comparison of Rauwolfia Alkaloids on Brain Dopamine Content in Rats

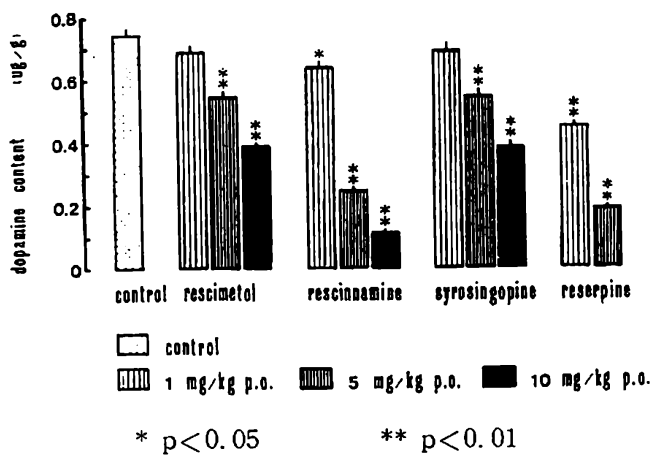
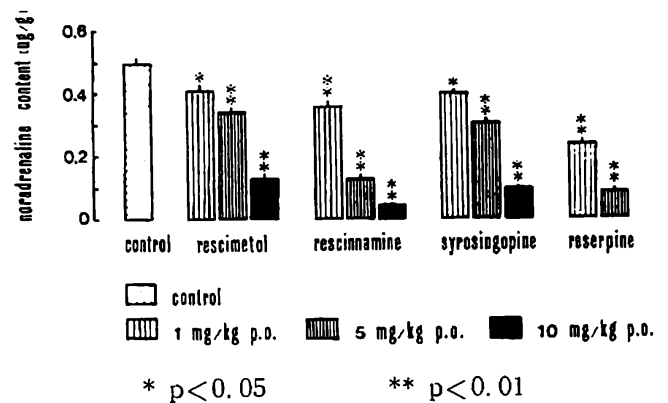


Fig. 3 Comparison of Rauwolfia Alkaloids on Brain Noradrenaline Content in Rats



3) 脳内 monoamine の測定

ラット脳内 monoamine (dopamine および noradrenaline) の測定は rescimetol, rescinnamine, syrosingopine および reserpine の各 1 mg/kg, 5 mg/kg および 10 mg/kg (P.O.) 投与 6 hr 後に断頭した。脳組織は直ちに homogenize し、全脳中の dopamine および noradrenaline 含量を定量した。定量は Anton ら⁶⁾ の方法に準じて蛍光法により測定した。

4) 脳内 monoamine の組織化学的検索

組織化学的検索は、蛍光組織標本⁷⁾⁸⁾ を作製し、蛍光顕微鏡を用いて検鏡した。

蛍光組織化学による検索は、正中隆起、青斑核および黒質 (A 10) における catecholamine 蛍光と、中脳縫線核における serotonin 蛍光の変化を観察した。

尚、本実験ではラット脳内 monoamine の日内リズムを考慮して、断頭はすべて午後 1 時より行なつた。

実験成績

1) 脳内 dopamine 含量の測定

脳内 dopamine の測定結果は Fig. 2 に示す如くである。rescimetol, rescinnamine, syrosingopine の各々 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg (p.o.) および reserpine の各 1 mg/kg, 5 mg/kg (p.o.) 投与 6 hr 後の脳内 dopamine 含量は、対照群を 100% とした場合、rescimetol 投与群において、1 mg/kg で 7.5%, 5 mg/kg で 27.0%, 10 mg/kg で 47.5%, rescinnamine において、1 mg/kg で 15.0%, 5 mg/kg で 66.0%, 10 mg/kg で 84.0%, syrosingopine においては、1 mg/kg で 7.0%, 5 mg/kg で 26.5%, 10 mg/kg で 49.0%, reserpine では 1 mg/kg で

39.5%, 5 mg/kg で 75.0% の減少を示した (Fig. 2)。

2) 脳内 noradrenaline 含量の測定

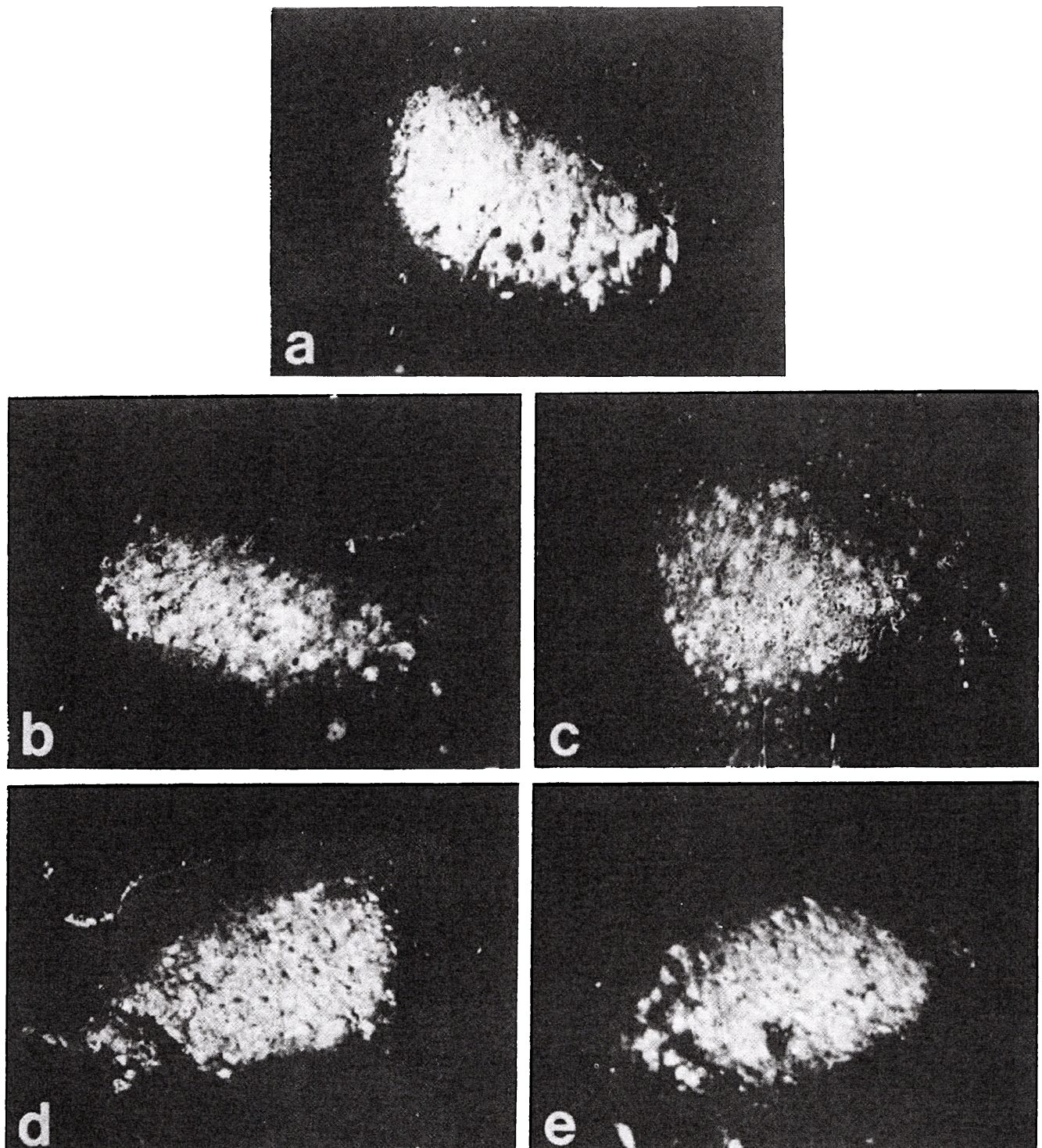
脳内 noradrenaline の測定結果は Fig. 3 に示す如くである。rescimetol, rescinnamine, syrosingopine の各々 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg (p.o.) および reserpine の各 1 mg/kg, 5 mg/kg (p.o.) 投与 6 hr 後の脳内 noradrenaline 含量は、対照群を 100% とした場合、rescimetol 投与群において、1 mg/kg で 17.0%, 5 mg/kg で 32.0%, 10 mg/kg で 77.0%, rescinnamine において、1 mg/kg で 26.0%, 5 mg/kg で 71.5%, 10 mg/kg で 88.7%, syrosingopine においては、1 mg/kg で 18.0%, 5 mg/kg で 38.0%, 10 mg/kg で 79.0%, reserpine では 1 mg/kg で 51.5%, 5 mg/kg で 72.5% の減少を示した (Fig. 3)。

3) 脳内 monoamine の組織化学的検索

rescimetol, rescinnamine, syrosingopine および reserpine の各々 5 mg/kg (p.o.) 投与 6 hr 後の脳内 catecholamine および serotonin 蛍光の変化を観察した。catecholamine については、青斑核、正中隆起および黒質 (A 10) における蛍光像を、serotonin については、中脳縫線核における蛍光像の変化を比較検索した。

青斑核における noradrenaline 蛍光像は Fig. 4 に示す如く、対照に比較して、rescimetol および syrosingopine でやや減弱が認められたが、noradrenaline 含有細胞の微細構造は対照との間にほとんど差異はなかつた。rescinnamine では、noradrenaline 蛍光の減弱が認められ、noradrenaline 含有細胞の微細構造がやや不鮮明であつた。reserpine では、

Fig. 4 Effect of Rauwolfia Alkaloids on Catecholamine Fluorescence in Rats Locus Coeruleus 6 hr after Administration of 5 mg/kg p. o.



a : control b : rescimetol c : syrosingopine d : rescinnamine e : reserpine
(Transverse section) $\times 100$

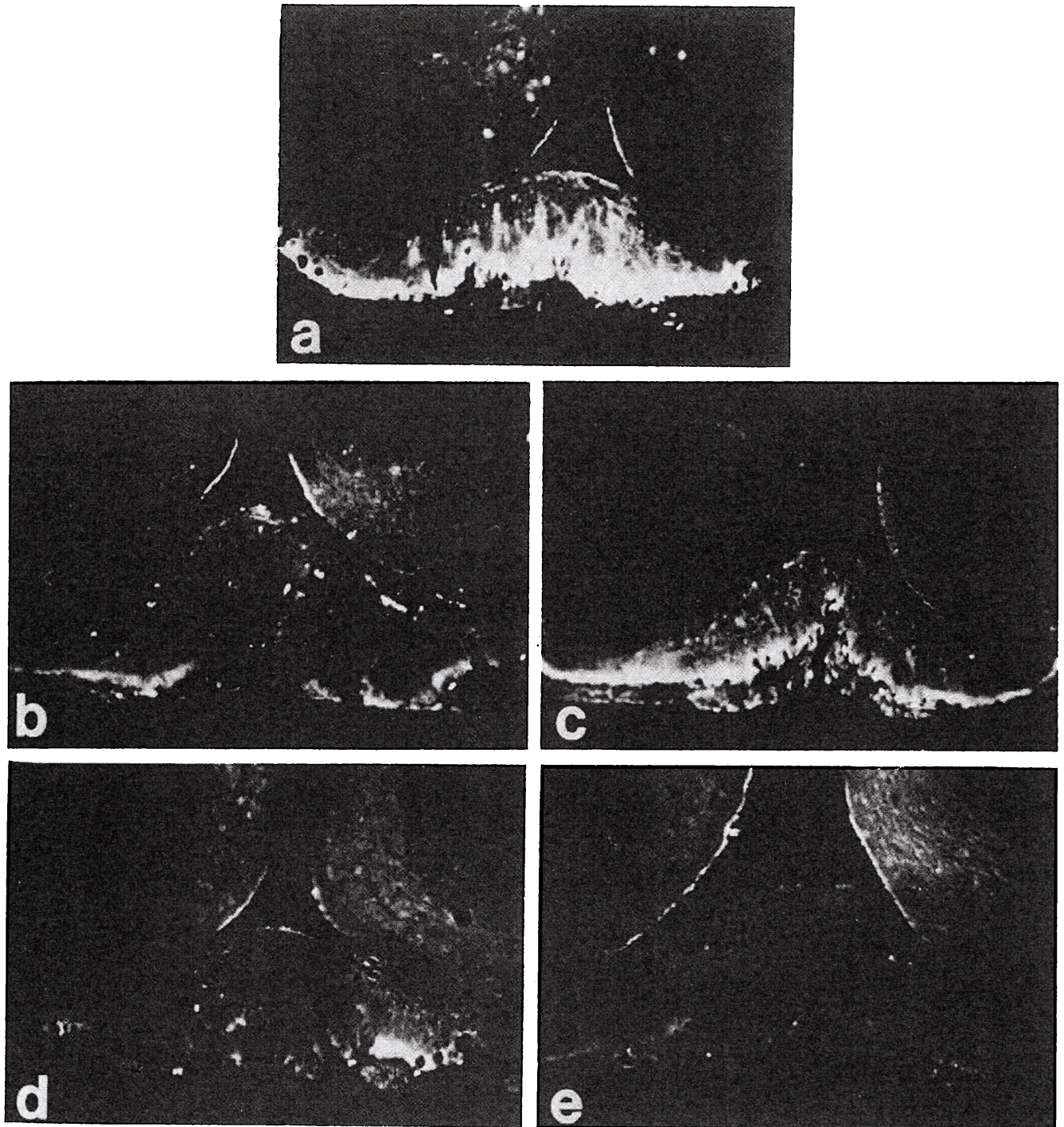
noradrenaline 含有細胞の微細構造が不鮮明になり、noradrenaline 蛍光の減弱が認められた (Fig. 4).

正中隆起における catecholamine 蛍光像は Fig. 5 に示す如く、対照に比較して、rescimetol および syrosingopine で減弱が認められ、rescinnamine がこれに次いで減弱が認められた。reserpine では正中

隆起の catecholamine 蛍光はほとんど消失した (Fig. 5).

黒質における catecholamine (A 10 細胞群, dopamine 主体) 蛍光像は Fig. 6 に示す如く、対照に比較して、rescimetol および syrosingopine ではほとんど変化が認められず、蛍光強度の判定はできな

Fig. 5 Effect of Rauwolfia Alkaloids on Catecholamine Fluorescence in Rats Median Eminence 6 hr after Administration of 5 mg/kg p. o.



a : control b : rescimetol c : syrosingopine d : rescinnamine e : reserpine
(Transverse section) ×100

つた. rescinnamine では catecholamine 蛍光の減弱が認められ, reserpine では一部弱い蛍光を発していたが, 消失している部分が多かつた (Fig. 6).

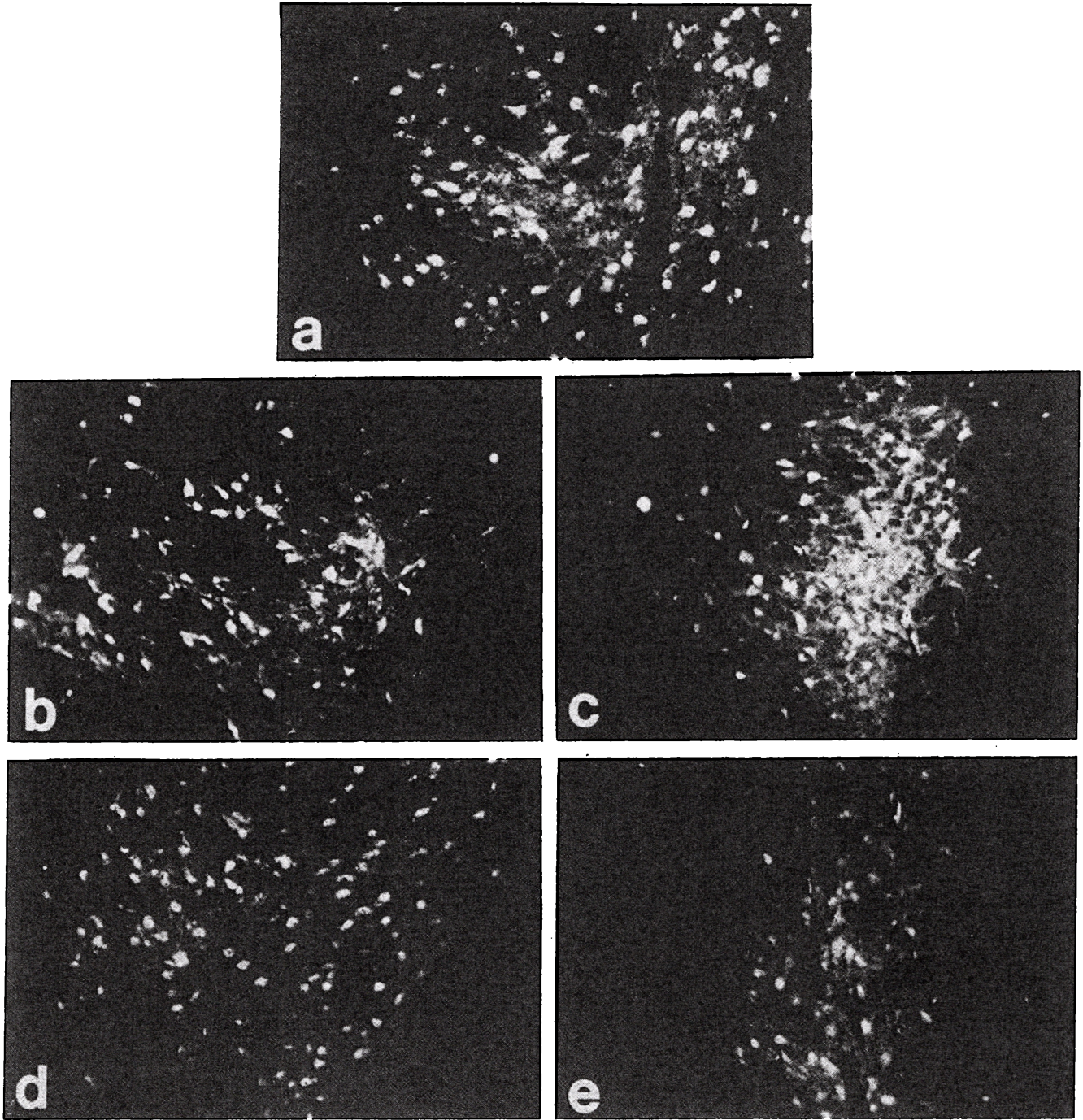
中脳 nuc. raphe dorsalis (B 7) における serotonin 蛍光像は Fig. 7 に示す如く, 対照に比較して, rescimetol および syrosingopine でやや減弱傾向が認められ, rescinnamine で明らかな減弱が認められた. reserpine では serotonin 蛍光はほとんど消

失した (Fig. 7).

中脳 nuc. raphe medianus (B 8) における serotonin 蛍光像は Fig. 8 に示す如く, 対照に比較して, rescimetol および syrosingopine ではほとんど変化が認められず, 蛍光強度の判定はできなかつた. rescinnamine では明らかな減弱が認められ, reserpine では serotonin 蛍光はほとんど消失した (Fig. 8).

中脳 lemniscus medialis (B 9) における seroto-

Fig. 6 Effect of Rauwolfia Alkaloids on Catecholamine Fluorescence in Rats Substantia Nigra (A 10 cell group) 6 hr after Administration of 5 mg/kg p. o.



a : control b : rescimetol c : syrosingopine d : rescinnamine e : reserpine
(Transverse section) ×100

nin 蛍光像は Fig. 9 に示す如く、対照に比較して、rescimetol および syrosingopine ではほとんど変化が認められず、蛍光強度の判定はできなかつた。rescinnamine では明らかな減弱が認められ、reserpine では serotonin 蛍光はほとんど消失した (Fig. 9)。

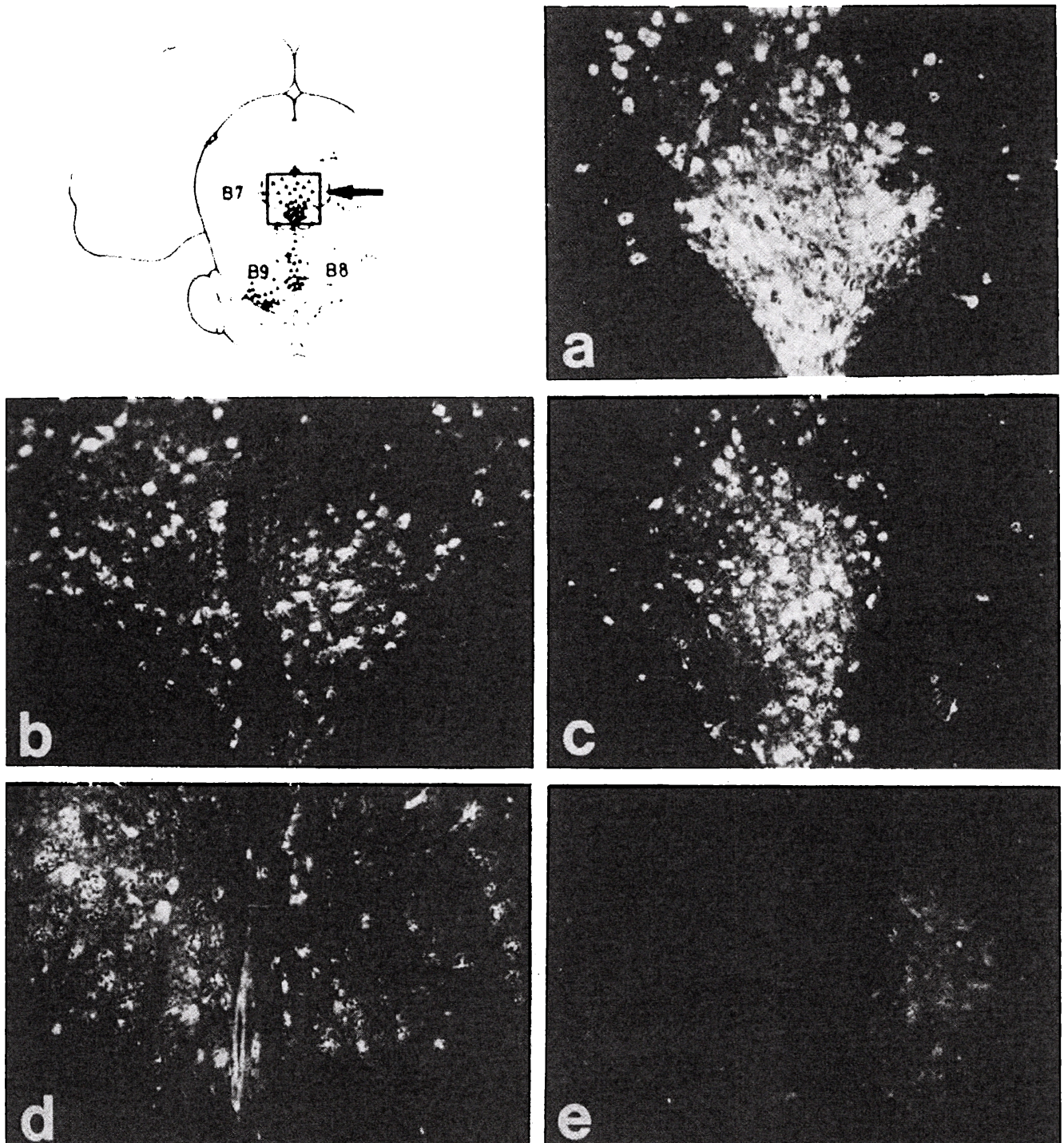
考 察

rescimetol は rescinnamine と類似の化学構造を

有する rauwolfia alkaloid である。本実験では、rescimetol と近似の中樞作用を有する⁵⁾ syrosingopine と、rescinnamine および reserpine を対照薬として、ラット脳内 monoamine におよぼす影響を、生化学的、蛍光組織化学的に検索を行なつたので、既述の実験結果を総括し考察する。

1) rescimetol の脳内 dopamine 含量におよぼす影響は、各々 1 mg/kg, 5 mg/kg および 10 mg/kg

Fig. 7 Effect of Rauwolfia Alkaloids on Catecholamine Fluorescence in Rats Nucleus Raphe Dorsalis (B 7 cell group) 6 hr after Administration of 5 mg/kg p. o.



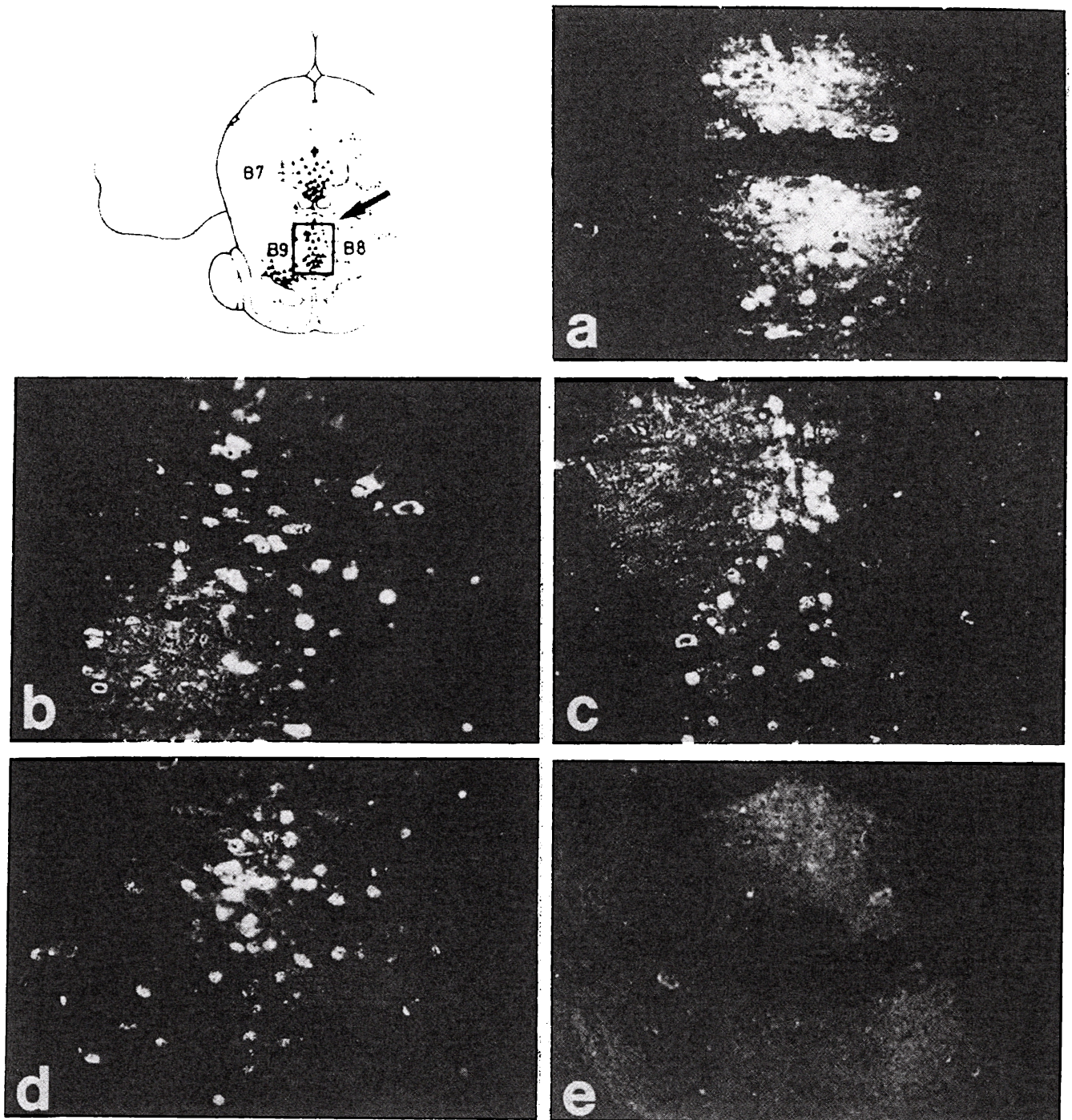
a : control b : rescimetol c : syrosingopine d : rescinnamine e : reserpine
(Transverse section) $\times 100$

の投与量において, syrosingopine と同程度の減少で, 1 mg/kg の投与量では, 対照に比較して dopamine の減少作用に有意差はなく軽度であった. rescinnamine では同投与量で有意に減少作用を示し, rescimetol および syrosingopine 投与群に比較して dopamine 減少作用は強かった. reserpine の dopamine に対する減少作用は最も強く, すでに数多くの

報告がなされている⁹⁾¹⁰⁾.

2) rescimetol の脳内 noradrenaline 含量におよぼす影響は, 各々 1 mg/kg, 5 mg/kg および 10 mg/kg の投与量において, syrosingopine と同程度の減少であり, dopamine の変動と同傾向を示した. rescinnamine では同投与量で有意に減少作用を示し, rescimetol および syrosingopine 投与群に比較して

Fig. 8 Effect of Rauwolfia Alkaloids on Catecholamine Fluorescence in Rats Nucleus Raphe Medianus (B 8 cell group) 6 hr after Administration of 5 mg/kg p. o.



a : control b : rescimetol c : syrosingopine d : rescinnamine e : reserpine
(Transverse section) ×100

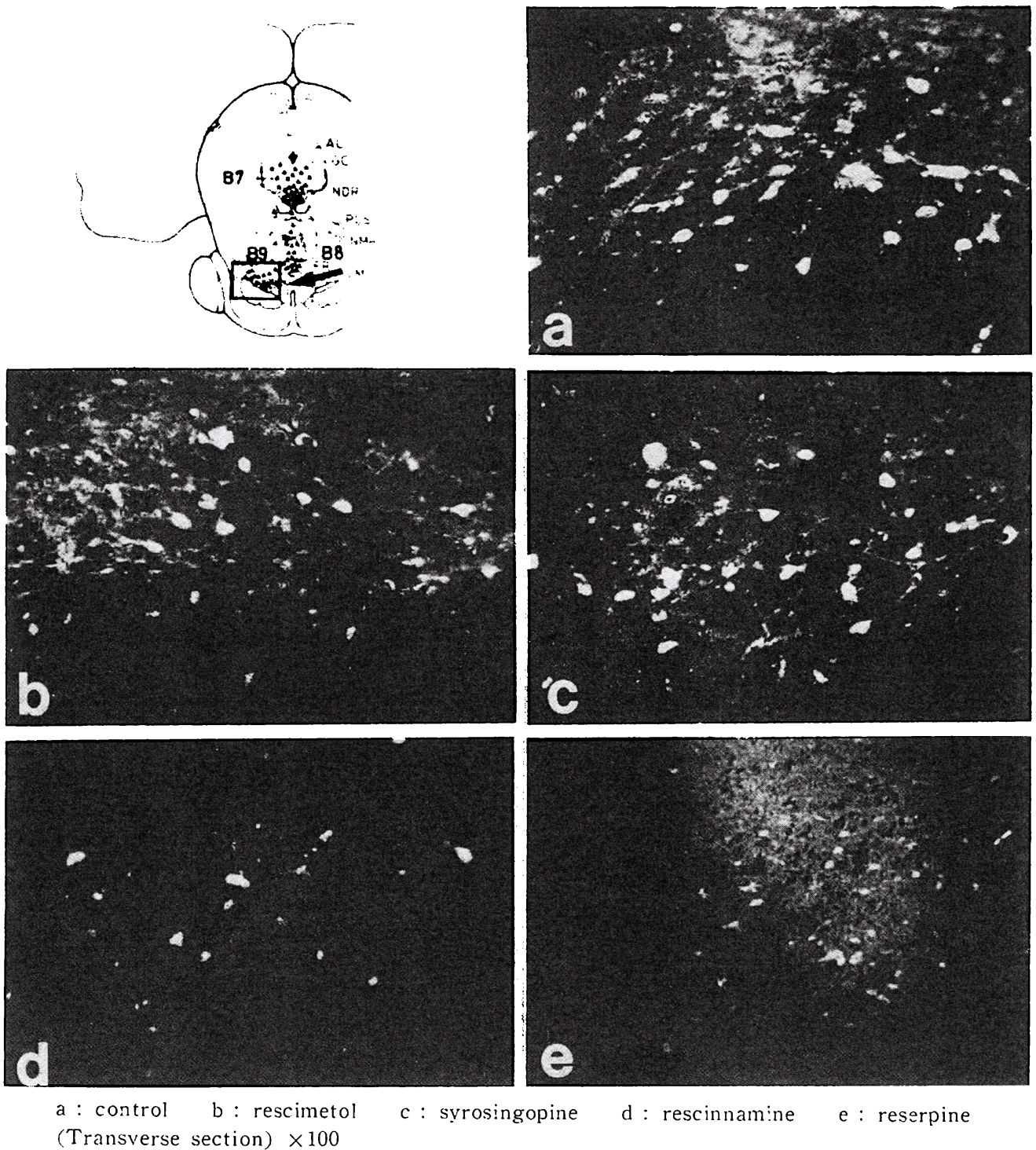
noradrenaline 減少作用は強かつた. reserpine 1 mg/kg および 5 mg/kg で有意に減少し, noradrenaline に対する減少作用は最も強かつた.

rescimetol のラット脳内 dopamine および noradrenaline に対する減少作用は, syrosingopine と同程度であり, rescinnamine の同投与量と比較して, dopamine および noradrenaline の減少作用は軽度であつた. reserpine の dopamine および noradre-

naline に対する作用は rescinnamine より強く, 減少作用は最も強かつた.

rescimetol のラット脳内 serotonin に対する作用については反町⁵⁾により報告され, rescimetol および syrosingopine の 1 mg/kg (p. o.) 投与 6 hr 後の全脳中の serotonin 含量は, 対照に比較して有意な変動を示さないが, 同投与量の rescinnamine および reserpine では明らかに脳内 serotonin 含量を減少さ

Fig. 9 Effect of Rauwolfia Alkaloids on Catecholamine Fluorescence in Rats Lemniscus Medialis (B 9 cell-group) 6 hr after Administration of 5 mg/kg p. o.



せると述べている。

3) 蛍光組織化学的検索による脳内 monoamine neuron への影響は、生化学的測定とほぼ同一傾向の結果が観察された。

青斑核の catecholamine 含有細胞群は、そのほとんどが noradrenaline 性⁽¹¹⁾⁽¹²⁾で、対照と比較した場合、rescimetol および syrosingopine では、noradrenaline 蛍光にはほとんど変化が認められなかつた。

しかし、rescinnamine では noradrenaline 蛍光に減弱傾向が認められ、reserpine では、noradrenaline 蛍光の減弱と、青斑核における細胞集団の微細構造が不鮮明になつた。青斑核の noradrenaline 蛍光に対する rauwolfia alkaloids の作用は、reserpine の投与で最も変化が著しく、rescinnamine がこれに次いで noradrenaline 蛍光の減弱が認められた。しかし、rescimetol および syrosingopine では、対照との間

にほとんど差異が認められず, rescimetol と syrosingopine との間における noradrenaline 蛍光強度の判定はできなかつた。

正中隆起における catecholamine 蛍光は, 対照と比較した場合, rescimetol および syrosingopine で減弱が認められたが, catecholamine 蛍光は消失せず, 正中隆起内層および外層の catecholamine 蛍光は保持されていた。rescinamine では, 正中隆起内・外層共に catecholamine 蛍光の減弱が認められ, 消失した部分が多かつた。reserpine では, 正中隆起内・外層共に catecholamine はほとんど消失した。本実験による正中隆起における catecholamine 蛍光の変化は, 検索した他部位に比較して最も著しいように思われた。

黒質の A 10 細胞群¹¹⁾ における dopamine 蛍光は, rescimetol および syrosingopine で, 対照との間にほとんど差異が認められず, rescimetol と syrosingopine との間においても, dopamine 蛍光強度の判定はできなかつた。rescinamine では明らかな dopamine 蛍光の減弱が認められ, rescimetol および syrosingopine 投与群に比較して, dopamine 蛍光の減少作用は強いように思われる。reserpine では, dopamine 蛍光の減弱は著明で, 消失している部分が認められた。

中脳における上行性 serotonin neuron の起如核¹¹⁾ である B 7, B 8 および B 9 細胞群¹¹⁾ の serotonin 蛍光の変化を検索し比較検討した。

nuc. raphe dorsalis (B 7) における serotonin 蛍光は, rescimetol および syrosingopine で, やや減弱傾向が認められたが, serotonin 含有細胞の微細構造は, 対照との間にほとんど差異は認められなかつた。rescimetol と syrosingopine との間における serotonin 蛍光強度の判定はできない程度であつた。rescinamine では明らかな serotonin 蛍光の減弱が認められ, rescimetol および syrosingopine 投与群に比較して明らかな減弱が認められた。reserpine では, serotonin 蛍光はほとんど消失した。

nuc. raphe medianus (B 8) における serotonin 蛍光は, rescimetol および syrosingopine で, 対照との間にほとんど差異が認められず, rescimetol と syrosingopine との間における serotonin 蛍光強度の差異もほとんど認められなかつた。rescinamine では, 明らかな serotonin 蛍光の減弱が認められ, rescimetol および syrosingopine 投与群に比較して

明らかな減弱が認められた。reserpine では, serotonin 蛍光の減弱は著しく, ほとんど消失した。

lemniscus medialis (B 9) における serotonin 蛍光は, rescimetol および syrosingopine では, 対照との間にほとんど差異が認められず, rescimetol と syrosingopine との間における serotonin 蛍光強度の差異もほとんど認められなかつた。rescinamine では, serotonin 蛍光の減弱が認められ, reserpine で serotonin 蛍光はほとんど消失した。

中脳における serotonin 蛍光の変化は, nuc. raphe dorsalis および nuc. raphe medianus の変化が著しいように思われた。lemniscus medialis における serotonin 蛍光の変化はやや弱いように思われた。

以上の如く, rauwolfia alkaloids の1回投与 6 hr 後のラット脳内 monoamine に対する潤渇作用は, reserpine が最も強く, rescinamine がこれに次いで減少し, rescimetol および syrosingopine ではほぼ同程度の減少であつた。

蛍光組織化学による monoamine neuron の変化についても, 生化学的所見と同傾向の結果を示し, 青斑核, 正中隆起および黒質 (A 10) における catecholamine 蛍光と, 中脳における serotonin 蛍光は, reserpine で明らかに消失が認められ, rescinamine がこれに次いで減弱が認められた。しかし, rescimetol および syrosingopine では, 正中隆起の catecholamine 蛍光に減弱が認められた以外, 検索した他部位においては, 対照との間にほとんど差異が認められず, また rescimetol と syrosingopine との間には, catecholamine および serotonin 蛍光共に強弱の判定はできない程度であつた。

結 論

以上の結果を総括して次の如く結論する。

1) rescimetol のラット脳内 dopamine 含量におよぼす影響は 1 mg/kg, 5 mg/kg および 10 mg/kg (p. o.) の投与量において, syrosingopine と同程度の減少を示し, rescinamine で有意に減少し, reserpine による減少作用が最も強い。

2) rescimetol のラット脳内 noradrenaline 含量におよぼす影響は, 1 mg/kg, 5 mg/kg および 10 mg/kg (p. o.) の投与量において, syrosingopine と同程度の減少を示し, rescinamine で有意に減少し, reserpine による減少作用が最も強い。

一方, 蛍光組織化学的検索によるラット脳内 mo-

noamine neuron におよぼす影響は、各薬物の 5 mg/kg (p. o.) の投与量において

3) 青斑核における noradrenaline 蛍光は, rescimetol および syrosingopine ではほとんど変化がなく, rescinnamine では減弱傾向が認められ, reserpine では, 細胞集団の微細構造が不鮮になり, 蛍光の減弱が認められる。

4) 正中隆起における catecholamine 蛍光は, rescimetol および syrosingopine で, 蛍光の減弱が認められるが, 正中隆起内・外層の蛍光は保持されていた。rescinnamine では内・外層共に減弱し, reserpine では消失が認められる。

5) 黒質の A 10 細胞群における dopamine 蛍光は, rescimetol および syrosingopine でほとんど変化が認められず, rescinnamine で減弱し, reserpine では減弱と一部消失が認められる。

6) 中脳の nuc. raphe dorsalis, nuc. raphe-medianus および lemniscus medialis における serotonin 蛍光は, rescimetol および syrosingopine でほとんど変化が認められず, rescinnamine で減弱し, reserpine では消失が認められる。

これらの結果から, rauwolfia alkaloids の中枢作用機序の1つとして, 脳内 monoamine neuron の関与が考えられるが, 各薬物によつて中枢 monoamine に対する作用強度は異なり, 一般的な薬理作用において, 中枢作用の少ないものと, reserpine のように中枢作用の強いものがある。このことは脳内 monoamine に対する作用強度と相関々係を示唆することが考えられる。

本研究の要旨は第 54 回日本薬理学会関東部会(東京)および第 50 回日本薬理学会総会(東京)において発表した。

文 献

- 1) Kametani, T : Studies on the Synthesis of Heterocyclic Compounds. 459. Synthesis of Rescinnamine-Like Compounds as Antihypertensive Agents. *J. Med. Chemistry* **15** : 686~687, 1972
- 2) Okamoto, K and Aoki, K : Development of a Strain of Spontaneously Hypertensive Rats. *Jap. Circ. J.* **27** : 282~293, 1963
- 3) Kato, H et al : A antihypertensive activity

- of orally administered methyl 0-(4-hydroxy-3-methoxycinnamoyl) reserpate (CD-3400) in conscious hypertensive rats. *Japan J. Pharmacol.* **27** : 87~95, 1977
- 4) Lucas, RA : The synthesis and activity of some reserpine analogs. *J. Am. Chem. Soc.* **81** : 1928~1932, 1959
- 5) 反町正之 : 諸種 Rauwolfia Alkaloid 誘導体の中枢作用に関する薬理学的研究 特に, Methyl-0-(4-Hydroxy-3-methoxycinnamoyl) reserpate を中心として. *東医大誌* **34** : 677~698, 1976
- 6) Anton, AH and Sayre, DF : A study of the Factors Affecting the Aluminum Oxide Trihydroxyindole Procedure for the Analysis of Catecholamines. *J. Pharmacol.* **138** : 360~375, 1962
- 7) 渋谷 健, 佐藤勝彦 : 脳内 Monoamine の蛍光組織化学—精神薬理学へのアプローチ—. *東医大誌* **35** : 3~25, 1977
- 8) Falck, B., Hillarp, N.-A., Thieme, G. and Torp, A. : Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.* **10** : 348~354, 1962
- 9) Carlsson, A et al : Effect of reserpine on the metabolism of catecholamines in psychotropic drugs. ed. by S. Garattini and V. Ghetti, Elsevier Publ. Co. Amsterdam, 1957
- 10) Shepherd, M, Lader, M and Rodnight, R : *Clinical Psychopharmacology*. English Univ. Press, London, 1968
- 11) Dahlström, A and Fuxe, K : Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol. Scand.* **62**, Suppl. **232** : 1~55, 1964
- 12) Dahlström, A and Fuxe, K : Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. Experimentally induced changes in the intraneuronal amine level of bulbospinal neuron systems. *Acta Physiol. Scand.* **64**, Suppl. **247** : 1~36, 1965