The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Tropone-誘導体の制癌作用について
Author(s)	荒川, 順生
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28834
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【10】

氏　名・(本籍)	荒　川　順　生（あら　かわ　まさ　お）
学位の種類	薬　学　博　士
学位記番号	第　582　号
学位授与の日付	昭和39年7月31日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**Tropone-誘導体の制癌作用について**
論文審査委員	(主査) 教授 羽野　寿　(副査) 教授 川崎近太郎　教授 青木　大　教授 青沼　繁

論文内容の要旨

本論文は著者が化学構造と制癌作用との関係を究明する目的で，各種物質の制癌性についてScreening test を行なった研究のうち，新しい七員環化合物についての実験的研究をまとめたものである。

七員環化合物は化学的にも比較的新しい分野に属し，従って Colchicine 等数種の物質を除いては，生理並びに薬理学的にも未知に属するもので，従って癌細胞に対しても，従来の化合物では見出し得なかった特異的な化合物が得られるのではないかとの期待が持たれる。しかしこの種の研究では，桂，和田らの Tropolone-誘導体及び，桂，佐藤らによる Azaazulene-系化合物の報告もあるが，従来の制癌薬に較べて特に優れたものを見出すに至らなかった。

そこで著者は既に行なった研究のうち，芳香族砒素化合物において3価の化合物は Benzene-核に塩基性の基又は Nitro-基を導入することによって制癌性をもつものが高率に得られることを認めたので，この知見に基づいて合成化学者の協力を得つつ，基本的な七員環化合物の中から5-Nitrsotropolone が制癌性の強いことを認めたので，遂次 Tropone-誘導体の化学構造と制癌性及び毒性との関係を詳細に検討した。

かくて 5-Nitrosotropolone の金属化合物或いはその2位の水酸基を Hydrazino-体で置換した 2-Benzoylhydrazino-5-nitrosotropone，特に 2-Isonicotinoylhydrazino-5-nitrosotropone が毒性少なくして，1回投与によって Ehrlich-腹水癌に対し制癌作用の強いことを見出した。

そこで更にこの関連化合物について，より制癌性の強い物質を追求したところ，従来の制癌薬はその LD_{50} の 1/10 量程度を連日投与する必要があるにかかわらず，Pyridyl-基の N-oxide は僅か LD_{50} の 1/20～1/50 量を1回投与することによって充分な効果を示し，Sarcoma-180 及び腹水肝癌 AH-49 に対しても有効であった。

ここに於いてかかる特異的な制癌作用を有する N-oxide の薬理学的性質を検討するため，癌細胞に対する直接作用を他の制癌薬のそれと比較し，併せて二，三の薬理作用について研究を行なった。

第1編　諸種七員環化合物の制癌作用と化学構造

Ehrlich-腹水癌を用いて主に Tropone-誘導体の制癌作用を検討したところ，次のような成績を得た。

(1) 約20種の基本的な七員環化合物のうち 5-Nitrosotropolone（No. 108）のみが有効で，基本骨格である Tropolone 及び5位の Nitroso-基が Amino-基或いは Nitro-基で置換した化合物にはほとんど無効である。

(2) Nitroso-基が Benzene-核及びその側鎖についた化合物のうち，5-Nitroso-8-hydroxyquinoline のみが有効となるが，No. 108 よりはかなり弱い。

(3) No. 108 関連化合物のうち，

a) No. 108 の Acetate 及び Guanidine salt は母体の No. 108 とほぼ同程度の制癌作用を有し，

b) 金属塩ではコバルト，マグネシウム及び鉄塩が母体より優れるが，銅，亜鉛及び水銀塩は母体とほぼ同程度で，カルシウム及び鉛塩の作用は母体よりも弱い。

c) 7位の置換体はいずれも母体より弱い。

d) 2位の水酸基を置換した2-(2-Troponylhydrazino)-5-nitrosotropone はほとんど作用を示さず，2-Carbamylhydrazino-5-nitrosotroponeは 母体とほぼ同程度で，Acylhydrazino-体の 2-Benzoyl-hydrazino-5-nitrosotropone，2-Isonicotinoylhydrazino-5-nitrosotropone は連日投与による毒性が強いため，その制癌作用を正確に評価することはできなかったが，これら3者のうちでは No. 172 が最もすぐれている。

(4) そこでNo.172並びにその関連化合物について実験し，次のような結果を得た。

a) No. 172 の致死量は，マウスの経口，皮下及び腹腔内投与で 1g/kg 以上で，静脈内投与では 200～400 mg/kg である。ラットでは腹腔内投与で 1g/kg 以上，静脈内で 50～100 mg/kg，家兎では 25～50 mg/kg である。

b) Ehrlich-腹水癌に対して，No. 172 はただ1回の腹腔内投与で制癌効果を発揮し，移植7日後の担癌マウスに対しても1回の投与で有効である。しかし静脈内，皮下及び経口投与ではほとんどその効果は認められない。

c) Sarcoma-180 に対しても，Ehrlich-腹水癌におけると同様に1回の腹腔内投与で制癌効果がある。

(5) No. 172 関連化合物の約20種を，Ehrlich-腹水癌移植24時間後のマウスに最大量 100 mg/kg を1回腹腔内投与したが，2-Isonicotinoylhydrazino-5-nitrosotropone N-oxide（No. 1003）が最も有効な化合物である。

第2編　2-Isonicotinoylhydrazino-5-nitrosotropone N-oxide（No. 1003）の制癌作用

前編において，各種七員環化合物のうち5-Nitrosotropolone-誘導体である 2-Isonicotinoyl-hydrazino-5-nitrosotropone N-oxide（No. 1003）が最も強い制癌作用を有することを認め

たので，本化合物の毒性，制癌作用並びに薬理学的性質について検討した。

(1) No. 1003 の致死量はマウスの経口及び皮下投与では 1g/kg 以上で，腹腔内投与による LD_{50} は 97.0 mg/kg，静脈内では 86.0 mg/kg である。ラットに対しては腹腔内投与で 25～100 mg/kg，静脈内では 10～50 mg/kg で，家兎の静脈内投与では 10～25 mg/kg である。

(2) No. 1003 の制癌作用を数種の腫瘍を用いて検討し，次のような結果を得た。

a) Ehrlich-腹水癌に対しては，No. 1003 はただ 1 回の腹腔内投与で，制癌効果を発揮し，移植 7 日後の担癌動物に対しても 40mg/kg 1 回で 80～90 % 以上の動物数を治癒させる。しかし静脈内，皮下及び経口投与ではほとんどその効果は認められない。

b) Sarcoma-180 に対しては，Ehrlich-腹水癌におけると同様に 1 回の腹腔内投与で著明な制癌効果を示し，移植 7 日後のマウスに対しても 40 mg/kg で著効を示す。

c) ラットの腹水肝癌 AH-49 に対しても 15 mg/kg 1 回の腹腔内投与で相当の効果を示す。

d) Ehrlich-固型癌に対して，移植 1 日，2 日或いは 3 日後のいずれかに週 1 回の静脈内投与を開始すれば，いずれもほぼ同様に腫瘍の成長を抑制するが，4 日後の投与では抑制効果は弱い。No. 1 003 及び No. 172 は週に 1 回，Mitomycin C は 5 回連用によって，3 者ともほぼ同様に腫瘍の成長を抑制する。

(3) 各種制癌薬の 1 回投与による効力を比較するために，アルキル化剤，代謝拮抗剤，細胞分裂毒，金属化合物，抗生物質及び七員環化合物を，Ehrlich-腹水癌移植 1 日，4 日或いは 7 日後のいずれかに 1 回腹腔内投与して比較したが，No. 172 及び No. 1003 はいずれの時期に投与しても顕著な効果を示し，特に後者は生存率において最もすぐれている。

第 3 編　2-Isonicotinoylhydrazino-5-nitrosotropone N-oxide（No. 1003）の癌細胞に及ぼす作用

No. 1003 の作用機作を知るため，マウス Ehrlich-腹水癌細胞に対する作用を主に形態学的並びに生化学的見地から検討したところ，次のような成績を得た。

(1) 腹腔内投与された No. 1003 の作用動態を伺う方法として，その 50 mg/kg（最小有効量の約 10 倍）をマウスの腹腔内に注射してから以後各異なった時間に Ehrlich-癌細胞を腹腔内に移植して比較したところ，投与 2 時間以内に移植した群は著明な延命効果を示すが，4 時間以後の群は効果がない。

(2) Ehrlich-腹水癌移植 5 日後に，No. 1003　40 mg/kg を腹腔内に注射したマウスの癌細胞を位相差顕微鏡で観察すると，最初に細胞周囲に滲出物を認め，細胞膜は不明瞭となり，次いで融解又は細胞内容物が外部に流出し，1～2 日後に癌細胞は消失するので，本物質の制癌作用は 1 回投与によっても極めて強いものと考えられる。

(3) 癌細胞の解糖に対する No. 1003 の影響を Ehrlich-癌細胞で検討したところ，最終濃度 10^{-3}M 以上で癌細胞の解糖を抑制するが，低濃度（10^{-4}M以下）ではほとんど影響を与えない。

還元型 Glutathione（最終濃度 10^{-3} M）を前添加すると，No. 1003 の解糖抑制はやや減

弱するが，同時添加ではほとんど影響がない。

Cysteine（10^{-3} M）は同時添加でも No. 1003 の解糖抑制をやや減弱させるが，後添加ではほとんど影響を与えない。

(4) 各種制癌薬の癌細胞の解糖に及ぼす影響は，

a) Nitromin 及び Cyclophosphamide は 10^{-3}～10^{-2}M でほとんど影響を与えない。

b) Mitomycin C は癌細胞の解糖をやや抑制するが Cysteine はこれにほとんど影響を与えない。

c) Hg-Hematoporphyrin は 10^{-3}M で癌細胞の解糖を顕著に抑制するが，Cysteine はこれを著明に回復させる。

(5) 癌細胞の呼吸に対する No. 1003 の影響を Ehrlich-癌細胞で検討したところ，癌細胞に添加した No. 1003（最終濃度 3×10^{-5}～10^{-2} M）は呼吸を抑制するが，その抑制は高濃度（3×10^{-4} ～ 10^{-2} M）でも添加 20～30 分後でないと認められない。

この場合還元型 Glutathione（10^{-3} M）を同時添加すれば No. 1003 の呼吸抑制効果は消失するが，10 分後の添加では Glutathione の影響はない。Cysteine（10^{-3} M）は同時添加しても，かかる影響を与えないが，最初から癌細胞に添加しておくと，No. 1003 の抑制効果が減弱する。

癌細胞を No. 1003 で 10 分間前処置した後，細胞を洗滌して可及的に No. 1003 を除外しても，細胞の呼吸は抑制されているので，最初の10分間ですでに癌細胞に何らかの障害を与え，しかもそれは不可逆的なものと考えられる。

(6) 各種制癌薬の癌細胞呼吸に及ぼす影響は，

a) Nitromin，Cyclophosphamide 及び 8-Azaguanine は 10^{-5} ～ 10^{-3}M で癌細胞の酸素消費にほとんど影響を与えない。

b) Mitomycin C 及び Carzinophilin は高濃度（10^{-3} M 及び 500 μ/cc）の場合のみ酸素消費をやや抑制するが，還元型 Glutathione はこれにほとんど影響を与えない。

c) Hg-Hematoporphyrin は 10^{-4}～10^{-3}M で抑制し，この抑制は 30 分後でも Glutathione でかなり回復する。

以上の成績から Nitromin，Cyclophosphamide 及び 8-Azaguanine は呼吸系には直接関与せず，Mitomycin C 及び Carzinophilin は高濃度の場合のみ抑制するが，この作用は Glutathione によって影響されない。Hg-Hematoporphyrin は No. 1003 と同程度に呼吸を抑制するが，30 分後に Glutathione を添加してもかなり回復するから，この抑制は可逆的と思われる。従って No. 1003 の作用機作はこれらの制癌薬とはかなり異なると考えられる。

(7) 癌細胞からミトコンドリアを分離し，その酸化能に及ぼす No. 1003 の直接作用を検討した。

a) α-Ketoglutarate に対する癌ミトコンドリアの酸化能は極めて旺盛で且つ安定であるが，No. 1003 はその酸化を最初からやや強く抑制する。

b) Succinate を基質とする酸化能は極めて旺盛で且つ比較的安定であるが，No. 1003 はそれをやや強く抑制する。

c) Fumarate の酸化はかなり旺盛で且つ極めて安定であるが，No. 1003 はそれをやや抑制する。

d) Malate の酸化は弱く，No. 1003 による抑制も僅かである。

e) Pyruvate の酸化は弱いが比較的安定であり，No. 1003 は添加 20 分後からその酸化をやや強く抑制し始める。

第4編 2-Isonicotinoylhydrazino-5-nitrosotropone N-oxide（No. 1003）の一般薬理作用

No. 1003 の一般薬理作用を検索したところ，次のような成績を得た。

(1) 犬の血圧及び呼吸は 5 mg/kg 以下の投与ではほとんど影響なく，10 mg/kg でわずかに血圧が下降し，10分後には正常に回復する。

猫の血圧及び呼吸も 5 mg/kg 以下ではほとんど影響なく，10 mg/kg では一過性の血圧上昇と呼吸数減少と深大がみられる。

(2) 犬及び猫の心電図は 5～10 mg/kg の投与でほとんど変化がない。

(3) モルモット摘出腸管は No. 1003 の低濃度で軽度に，高濃度でやや強い弛緩がみられるが，Acetylcholine，Histamine 及び Serotonin に対する感受性は保持されている。

(4) No. 1003 は家兎に 0.1～10mg/kg の静脈注射で，赤血球数及び血色素量には影響なく，白血球数は投与数時間後に一時的に低下し，6～8時間後には正常値に回復する。大量投与の場合は8～24時間後に正常値よりも増加し，その後徐々に回復する。

結　論

1. 各種七員環化合物のうち，5-Nitrosotropolone 関連化合物が Ehrlich - 腹水癌に対して制癌作用を有し，特に 2-Isonicotinoyl-hydrazino-5-nitrosotropone N-oxide（No. 1003）は連用を必要とする他の制癌薬と異なって1回の投与によって効果を現わすので，短時間の接触によって癌細胞に不可逆的な障害を与えるものと考えられる。
2. No. 1003 は 10^{-3} M 濃度以上で癌細胞の解糖を抑制する。
3. No. 1003 は 3×10^{-5} M 濃度以上で癌細胞の呼吸を抑制する。
4. Glutathione 及び Cysteine は in vitro で No.1003 の癌細胞呼吸抑制作用を著明に減弱させるが，in vivo でも No. 1003 の制癌作用を著明に阻害する。
5. No. 1003 は犬，猫の血圧，呼吸及び心電図に影響少なく，モルモット摘出腸管にも影響少なく，Acetylcholine，Histamine 及び Serotonin に対する感受性は保持される。
6. 家兎の赤血球数，血色素量及び白血球数に認むべき障害を与えない。

論文の審査結果の要旨

七員環化合物は比較的新しい化合物なるが故に，その化学構造と薬理学的作用との関係は未だ明らかでない。

本論文はこの意味から七員環化合物の中に既知制癌薬とは異なる性格をもつ新しい制癌性物質が得られるのではないかとの考えから，著者が従来から得た実験成績を Tropone に適用し，漸次制癌作用をもつ誘導体約70種の合成を企てつつ，遂に動物実験に於いてはただ一回の投与によって極めて強力な制癌物質を得るに至った研究成績であって，そのうち有効な物質についての成績は次の通りである。

約20種の基本的な七員環化合物のうち，5-Nitrosotropolone が最も強い制癌性を有し，特に 2-Isonicotinoylhydrazino-5-nitrosotropone が最も有効で，毒性は比較的弱く，特に癌移植7日後でも腹腔内にただ一回の投与で効果が認められた。

更に本物質の誘導体約20種のうち，その N-oxide が最も有効なことを見出し，この N-oxide の毒性も比較的弱く，既知制癌薬の作用よりも諸種の点に於いて優っていることを認めた。

またこの N-oxide を一回投与したマウス Ehrlich-腹水癌の細胞は，位相差顕微鏡の所見で著しく融解され，2日後には癌細胞は認められず，また本物質は癌細胞の解糖と呼吸を著しく抑制し，この抑制はSH-化合物によって一定の影響を受け，癌細胞のミトコンドリアの基質酸化能も障害する。ついで諸種動物に対する一般薬理作用を検討したが，特記する程の有害作用もなく，特に白血球減少等も認められない。

以上の如く未開拓の七員環化合物から一定の段階を経つつかかる有力な制癌性物質を発見し，毒性も少なく，既知制癌薬の通性とされる白血球減少もなく，特に癌移植7日後の動物に対し一回の投与によって有効な性質を有する等は，制癌物質として全く新しい知見であって，薬学の分野に於ける今後の制癌薬合成研究に貢献するところが大きく，博士論文として価値あるものと認める。