33. 伊藤四十二, 北川晴雄: クマリン誘導体の薬品的研究 (第4報*)

駆虫作用に就いて その2¹⁾

Yosoji Ito and Haruo Kitagawa: Coumarin Derivatives for Medical Purpose. IV. Anthelmintic Action. (2).

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo**, and Pharmaceutical Department, University of Toyama***)

緒 論

前報¹⁾で著者等は 31 種のクマリン誘導体を合成し, それらの駆虫作用を豚蛔虫を用い *in vitro* で調べ coumarin, 2-thiocoumarin, 及び 4-methylcoumarin に若干駆虫作用を認め, 駆虫作用と化学構造との関係を論じた。著者等は更に 8 種のクマリン誘導体を合成し駆虫作用と化学構造との関係に新たな知見を得たので報告する。

実 験 方 法

化学実験の部

(1) 3,4-Dihydrocoumarin Zwenger, Bodenbender²⁾ は hydro-*o*-cumaric acid を乾溜して製しているが著者等はクマリン 5 g を無水エタノール 30 cc に溶かし, これに PtO₂ 0.6 g を加え接触還元し, エタノール溜去後減圧蒸溜した。bp₁₀ 140~146, bp 272° の無色芳香臭の粘稠液体。放置すると褐色を帯びる。得量 4.9 g (97%)。C₉H₈O₂ 計算値 C 72.97, H 5.41, 実験値 C 73.03, H 5.45。

(2) 3,4-Dihydro-2-thiocoumarin 3,4-dihydrocoumarin 1 g に五硫化磷 1 g を加え還流冷却器を附して油浴中で 120° に 2 時間加熱し反応成績体をベンゼンで抽出後, ベンゼンを溜去し減圧蒸溜し bp₁₂ 134~136° の淡黄色悪臭を有する液体。得量 0.13 g (11.8%)。C₉H₈OS 計算値 C 68.72, H 5.82, 実験値 C 68.88, H 5.91。

(3) Ethyl coumarin-3-acetate B. B. Dey, Y. Sankaranarayanan³⁾ によつて合成した coumarin-3-acetic acid 1 g をエタノール 30 cc に溶解し濃硫酸 0.5 cc を加え還流冷却器を附し常法に従いエステル化した。反応終了後エタノールを溜去し減圧蒸溜し bp₅₆ 128~133°。無色芳香臭を有する液体。C₁₃H₁₂O₄ 計算値 C 63.45, H 5.81, 実験値 C 63.71, H 5.89。

(4) 3,4-Dihydro-4-methylcoumarin⁴⁾, coumarin-3-carboxylic acid diethylamide⁵⁾, methyl coumarin-5-carboxylate⁶⁾, ethyl coumarin-5-carboxylate⁷⁾ 及び methyl isocoumarin-3-carboxylate⁸⁾ は夫々文献に従つて合成した。

生物学的試験の部

(1) 試験液の調製 a) Locke-Ringer 改変液, Tween 80 による 1:500 乳濁液の調製 クマリン誘導体 0.1 g に Tween 80 (Sorbitan-monooleate+ethylene oxide) 0.1 g を加え Locke-Ringer 改変液⁹⁾ (NaCl 9.5 g, KCl 0.42 g, CaCl₂ 0.24 g, NaHCO₃ 0.15 g, 溜水 1 L: pH 7.0) 50 cc を加え homogenizer によつて emulsion とす (Table I, 1), 2), 3), 6), 及び 9))。

b) Locke-Ringer 改変液, アラビアゴムによる 1:500 乳濁液の調製 クマリン誘導体 0.1 g にアラビアゴム 0.1 g を加え Locke-Ringer 改変液 50 cc を加え homogenizer によつて emulsion とす (Table I, 4), 7), 8), 及び 10))。

* 第3報: 本誌 71, 686 (1951). ** Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo. *** Okuda, Toyama.

1) 伊藤, 北川, 玉置, 鶴藤: 本誌 70, 730 (1950)。

2) Zwenger, Bodenbender: Ann. 126, 263; Zwenger: Ann. Spl. 5, 105.

3) Biman Bihari Dey, Yegnarama Sankaranarayanan: J. Indian Chem. Soc. 8, 819 (1931).

4) 伊藤, 北川, 平森, 鈴木, 山形: 本誌 71, 686 (1951)。

5) Werder: Merck's Jahresberichte 50, 88 (1936)。

6) H. von Pechmann: Ber. 17, 936 (1884); Ann. 264, 279 (1891)。

7) H. von Pechmann: Ann. 264, 281 (1891)。

8) Zincke: Ber. 25, 1496 (1892)。

9) 板東: 東京医学雑誌 59, 39 (1951)。

Table I Action of Coumarin Derivatives against *Ascaris suilla*

Coumarin derivatives	m.p. (°C)	b.p. (°C)	Solubility	Solution and emulsifier	Concentration	Hours												Living time
						1/6	1/2	1	2	3	4	5	6	9	12	18	24	
1) 3,4-Dihydrocoumarin		140~146 (10 mm)	1:333	Locke-Ringer Tween 80	1:500	##	##	##	+	+	+	+	+	+	+	+	+	16
2) 3,4-Dihydro-2-thio-coumarin		134~136 (12 mm)	1:83	Locke-Ringer Tween 80	1:500	##	##	##	##	+	+	+	+	+	+	+	+	25
3) 3,4-Dihydro-4-methyl-coumarin		130~131 (6 mm)	1:59	Locke-Ringer Tween 80	1:500	##	##	##	##	1**+ 2	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2	14
4) Coumarin*	67		1:2,846	Locke-Ringer GummiArabicum	1:500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
Coumarin*	67		1:2,846	Locke-Ringer GummiArabicum	1:1,000	##	##	##	##	+	+	+	+	+	+	+	+	43
Coumarin*	67		1:2,846	Bunge Gummi Arabicum	1:500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	15
Coumarin*	67		1:2,846	Bunge Gummi Arabicum	1:1,000	##	##	##	##	+	+	+	+	+	+	+	+	43
5) Control				Locke-Ringer		##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	over 93
Control				Locke-Ringer Tween 80	1:500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	over 93
Control				Locke-Ringer GummiArabicum	1:500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	over 93
6) Ethyl coumarin-3-acetate		128~133 (56 mm)	1:25	Locke-Ringer Tween 80	1:500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	43
7) Methyl isocoumarin-3-carboxylate	172~173		1:12,500	Locke-Ringer GummiArabicum	1:500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	43
8) Methyl coumalin-5-carboxylate	74~75 (60 mm)	178~180 (60 mm)	1:8,333	Locke-Ringer GummiArabicum	1:500	##	##	##	##	##	##	+	+	+	+	+	+	8
9) Ethyl coumalin-5-carboxylate	36	142~145 (19 mm)	1:59	Locke-Ringer Tween 80	1:500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	43
10) Coumarin-3-carboxylic acid diethylamide	77~78		1:135	Locke-Ringer GummiArabicum	1:500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	15
Coumarin-3-carboxylic acid diethylamide	77~78		1:135	Locke-Ringer	Saturated	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	43
11) Barbitatum soluble*			1:5.6	Locke-Ringer	1:500	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	over 93
Barbitatum soluble*			1:5.6	Locke-Ringer	1:1,000	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	over 93

(##) stimulated condition, ## normal condition, ## weaker condition than normal, + weak condition, + microseism, ± the state of repose, - death; Solubility, against distilled water at 37°C; * Commercial preparation ** Number of ascarids

c) Locke-Ringer 改変液, アラビアゴムによる 1:1,000 乳濁液の調製 クマリン誘導体 0.05 g にアラビアゴム 0.05 g を加え, Locke-Ringer 改変液 50cc を加え homogenizer によつて emulsion とす (Table I, 4)).

d) Bunge 氏液, アラビアゴムによる 1:500 乳濁液の調製 クマリン誘導体 0.1 g にアラビアゴム 0.1 g を加え, Bunge 氏液 (NaCl 10 g, Na_2CO_3 1 g, 溜水 1 L) 50 cc を加え homogenizer によつて emulsion とす (Table I, 4)).

e) Bunge 氏液, アラビアゴムによる 1:1,000 乳濁液の調製 クマリン誘導体 0.05 g にアラビアゴム 0.05 g を加え, Bunge 氏液 50 cc を加え homogenizer によつて emulsion とす (Table I, 4)).

f) 飽和溶液の調製 Coumarin-3-carboxylic acid diethylamide を 37° に加温した Locke-Ringer 改変液 50 cc に溶解しなくなる迄加え, 30 分間攪拌した後吸出して調製した (Table I, 10)).

g) 水溶性物質の場合 溶性バルビタール 0.1 g (0.05 g) を Locke-Ringer 改変液 50 cc に溶解し 1:500 (1:1,000) 溶液を調製した (Table I, 11)).

h) Control Locke-Ringer 改変液 50 cc に Tween 80 又はアラビアゴム 0.1 g を加え homogenizer により emulsion とす (Table I, 5)).

(2) *in vitro* の豚蛔虫に対する試験 屠場より持ち帰つた豚蛔虫 (*Ascaris suilla*) を恒温槽中で 37° に保温した試験液に夫々 3 匹宛投入し 24 時間に亘り 30 分毎にその状態を観察した。豚蛔虫は長さ 20~30 cm の雄を使用した。

実験結果

蛔虫の試験液中に於ける状態は Table I の如くであつた。

考 察

先ず control についてみると Locke-Ringer 改変液に Tween 80 及びアラビアゴムを加えても蛔虫に対して肉眼的に何ら影響を及ぼさない事が判る (Table I, 5)).

coumarin は検液に Locke-Ringer 改変液と Bunge 氏液を用いた場合 1:1,000 の濃度の時は Bunge 氏液の方が早く蛔虫が弱るが 1:500 の濃度の時は Locke-Ringer 改変液の方が早く死亡する (Table I, 4)).

coumarin, 2-thiocoumarin 及び 4-methylcoumarin の 3,4 位間の二重結合に水素を添加した dihydro 化合物にすると 3,4-dihydrocoumarin の場合は投入後 1 時間位は正常運動を続けるが 2 時間位して運動鈍くなり, 3 時間後には静止し 16 時間後には死亡する。この結果は coumarin の場合より効力が弱い事が判る。3,4-dihydro-4-methylcoumarin の場合も 4-methylcoumarin に較べると効力が弱くなる。即ち 4-methylcoumarin の 1:1,000 溶液では投入後 1 時間して静止状態になり 5 時間して死亡するが 3,4-dihydro-4-methylcoumarin は 1:500 溶液でさえ投入後 3 時間して静止状態になり 14 時間して死亡する。3,4-dihydro-2-thiocoumarin の場合も同様である。即ち 2-thiocoumarin の 1:1,000 溶液では投入後 2 時間して微動状態となり 6 時間後に静止状態に達し 26 時間後に死亡するが 3,4-dihydro-2-thiocoumarin の 1:500 溶液では投入後 3 時間して微動状態となり 7 時間後に静止状態に達し 25 時間後に死亡する (Table I, 1), 2), 及び 3) 並びに第 1 報¹⁾ 参照)。

ethyl coumarin-3-carboxylate の carboxyl 基と coumarin 核の間に $-\text{CH}_2-$ 基を入れて ethyl coumarin-3-acetate にしても, 又 coumarin 核中の pyrone 環の $-\text{O}-$ と $-\text{CO}-$ の位置を入れ変えた methyl isocoumarin-3-carboxylate では効力が認められなかつた (Table I, 6) 及び 7))。

coumarin 核の構成環である pyrone 環の 5 位に carboxyl 基を有する coumalin-5-carboxylic acid の methyl ester 及び ethyl ester では methyl ester に於いて効力が認められたが ethyl ester では認められなかつた (Table I, 8) 及び 9))。

4-methylcoumarin が駆虫作用を有し¹⁾, coumarin-3-carboxylic acid diethylamide 及び 4-methylcoumarin が鎮静催眠作用を有する事⁴⁾ より鎮静催眠作用と駆虫作用との間に何らかの関係があるのではないかと考え coumarin-3-carboxylic acid diethylamide と溶性バルビタールについて駆虫作用を調べてみた。いずれも投入後 1 時間位して興奮状態が認められた。即ち coumarin-3-carboxylic acid diethylamide の飽和溶液では投入 3 時間後に興奮状態が認められ, 以後運動が弱まり 43 時間して死亡した。1:500 溶液では投入 1 時間後に興奮

状態が現れ3時間後迄続き、以後急速に運動弱まり15時間で死亡した。溶性バルビタールに於いては1:500溶液では1時間後、1:1,000溶液でも1時間後に興奮状態が現れ、比較的長時間持続し、いずれも93時間以上生存していた。この興奮状態は催眠に入る前の発揚期に相当する様に考えられるが催眠状態に相当する蛔虫の静止が認められないし、溶性バルビタールに効力がない点より駆虫作用と催眠作用との間には直接関係がない様に思われる。この点に関して今後なお研究を行う予定である (Table I, 10) 及び 11)。

尙お融点と駆虫作用の関係は第1報¹⁾で述べた如く融点が70°と100°の間のものに比較的効力がある様に考えられる。

結 論

- 1) Locke-Ringer 改変液にアラビアゴム及び Tween 80 を加えても外観的観察には何ら影響を及ぼさない。
- 2) coumarin の場合検液に Locke-Ringer 改変液を用いた場合と Bunge 氏液を用いた場合とは作用が少々異なる。
- 3) coumarin, 2-thiocoumarin 及び 4-methylcoumarin の 3, 4 位間の二重結合を水素で飽和し dihydro 化合物にすると駆虫作用は弱まる。
- 4) ethyl coumarin-3-acetate, methyl isocoumarin-3-carboxylate 及び ethyl coumalin-5-carboxylate では効力が認められなかつたが methyl coumalin-5-carboxylate では効力が認められた。
- 5) 催眠作用と駆虫作用の間には関係はない様に思われる。ただ coumarin-3-carboxylic acid diethylamide 及び溶性バルビタール共投入後蛔虫に興奮状態が認められた。
- 6) 融点が70~100°の化合物に比較的効力がある様に考えられる。

東京大学医学部薬学科 富山大学薬学部

Summary

Eight kinds of coumarin derivatives were prepared, their anthelmintic action determined, and following relationships were found to exist between their chemical structure and anthelmintic action.

- 1) No outward change occurred on the addition of arabic gum and Tween 80 to the modified Locke-Ringer solution.
- 2) The action of coumarin was slightly different in the Locke-Ringer modified solution and in the Bunge solution.
- 3) The anthelmintic action decreased when the double bond between 3- and 4-positions of coumarin, 2-thiocoumarin, and 4-methylcoumarin were hydrogenated to their respective dihydro compounds.
- 4) No anthelmintic effects were found in ethyl coumarin-3-acetate, methyl isocoumarin-3-carboxylate, and ethyl coumalin-5-carboxylate, but a good effect was found in methyl coumalin-5-carboxylate.
- 5) There seemed to be no relation between hypnotic and anthelmintic action although both coumarin-3-carboxylic diethylamide and soluble barbitol excited the ascaris.
- 6) It seemed that the compounds melting between 70° and 100° possessed comparatively good efficacy.

(Received October 15, 1952)