結晶, mp 220°(decomp) の無色微細な針状結晶. $C_9H_{11}ON_3S$ 計算値 C 51.65, H 5.30, 実験値 C 51.55, H 5.25.

2- α -Methyl-*p*-hydroxybenzylidenehydrazono-4-thiazolidone *p*-hydroxyacetophenone thiosemicarbazone 209 mg, クロロ酢酸エチル 135 mg, 結晶酢酸ナトリウム 150 mg を同様処理して粗製品 210 mg を得. メタノールから再結晶, mp 247~248° の無色鱗片状結晶 190 mg を得. 収率, 理論値の 76%. $C_{11}H_{11}O_2N_3S$ 計算値 C 53.00, H 4.45, 実験値 C 53.09, H 4.46.

2- α -Methyl-*p*-hydroxybenzylidenehydrazono-5-methyl-4-thiazolidone チオセミカルバゾン 209 mg, α -ブロムプロピオン酸エチル 200 mg, 結晶酢酸ナトリウム 150 mg を同様処理して粗製品 200 mg を得. メタノールから再結晶, mp 219° の無色鱗片状結晶 140 mg を得. 収率, 理論値の 53%. $C_{12}H_{13}O_2N_3S$ 計算値 C 54.73, H 4.98, 実験値 C 54.84, H 4.84.

結核菌に対する抗菌試験 試験管内の結核菌発育阻止試験は本研究第1報⁵⁾に記載した方法によつた.

大阪大学薬学部 国立療養所刀根山病院

5) 谷山, 竹村, 安井, 内田: 本誌 74, 113(1954).

U. D. C. 615.771.5

331. 小沢 光, 岩尾順一, 甲和良夫, 中上節夫, 団野 保: Adrenochrome 誘導体の研究 (第7報)

Adrenochrome 類縁化合物の止血作用

Hikaru Ozawa, Jun-ichi Iwao, Yoshio Kowa, Setsuo Nakagami, and Tamotsu Danno: Studies on Adrenochrome Derivatives. VII. Hemostatic Activities of Compounds related to Adrenochrome.

(Osaka Research Laboratory, Gohei Tanabe & Co., Ltd.**)

Using rabbit ear veins, reduction of bleeding time by 17 kinds of compounds related to adrenochrome, prepared by Iwao,⁶⁾ was tested by the modified Duke's method. The compounds effective were 1- β -hydroxyethyl-3-hydroxy-5-(4'- β -hydroxyethyl-semicarbazono)-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole (IV), sodium 1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-2-sulfonate trihydrate (VI), sodium 1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-3-sulfonate trihydrate (VII), and sodium 1-methyl-3-hydroxy-5-semicarbazido-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-5-sulfonate dihydrate (IX). Of these, (VII) was especially effective, with greater solubility in water, and effective in clinical tests, seemingly promising for practical use.

Examination of a structure-activity relationship showed that compounds capable of forming an *ortho*-quinoid structure in 5- and 6-position of the indole ring possessed greater efficacy, while the introduction of a sodium sulfonate group increased solubility in water with increase in efficacy.

(Received September 8, 1956)

adrenochrome monosemicarbazone (以下 ACS と略記) は Derouaux (1937~1942)^{1~3)} の研究以来血管因子に作用する止血薬として, 広く臨床に應用されているが, その欠点としては水に難溶のため, 注射液は大量のサリチル酸ナトリウム等の溶解補助剤を必要とする点である. 岩尾⁶⁾はこの点を改良せんとして, 多数誘導体を合成し, やや満足すべき化合物を得たので, 著者らは改良 Duke 法によつて出血短縮時間を験し, 更に構造-活性相関 (structure-activity relationship) について検討を試みた.

実験方法 出血時間測定法として最もよく用いられる Duke 法⁴⁾は動物の個体差, 穿刺する血管部位及び穿

* 第6報: Pharm. Bull. (Japan) 4, 254(1956). ** Honjo-kawasaki-cho, Oyodo-ku, Osaka.

1) G. Derouaux, J. Roskam: J. Physiol. 90, 65(1937).

2) G. Derouaux: Arch. Intern. Pharmacodyn. Therap. 66, 202(1941).

3) G. Derouaux: Ibid. 68, 311(1942).

4) W. W. Duke: J. Am. Med. Assoc. 55, 1185(1910).

刺する方法によつてバラツキが大きいため、この難点を除去するために、方法の改良とデーターの推計学的処理によつて所期の目的を達した。原法ではウサギの耳血管をメスにて傷つけ出血する血液を30秒毎に濾紙にて吸取り、出血の停止する迄の時間を測定するわけであるが、著者らは条件を一定にするため、ほぼ同大の細動脈が分枝せる部位を選び、一方の血管を傷つけこれをXと名付け、対照として注射前の出血時間を測定し、他方の耳静脈に薬物を注射1時間後、Xと同じ血管の動脈側を傷つけY₁とし、また分枝した対照部位を傷つけY₂としてそれぞれの出血時間を5秒毎に濾紙に吸取り測定した。実験Iにおいては各実験日毎に各薬物に1匹の動物をわりあて、3回反復し(3日間を要する)出来る限り、個体差を除く目的で薬物に対して動物を無作為に配置した。実験IIにおいては4×4のラテン方格に組んで比較した。共変量として投与前の出血時間(X)をとり、共分散分析を行つた。この際Y₁はXと同じ血管であるためX穿刺による血流の阻害や血液凝固の影響等が考えられるが、実測の結果ではp=0.05でY₁とY₂に有意の差を認め得なかつた。従つて実験には専らXとY₁との比較を行つた。先づ通常の共分散分析法に従つて要因分析表を作製し、薬物間の有意差の有無を検討し、有意差のある場合には次のtによつて個々の薬物の止血作用の有無及び程度を調べた⁵⁾。

$$t_i = \frac{|\bar{y}_i - \bar{y} - b(\bar{x}_i - \bar{x})|}{\sqrt{\sigma_{yx}^2 \left[\frac{2}{r} + \frac{(\bar{x}_i - \bar{x})^2}{E_{xx}} \right]}}$$

$\bar{x}_i$: 比較される薬物に於けるXの出血時間の平均値

$\bar{x}$: 基準となる薬物に於けるXの出血時間の平均値

$\bar{y}_i$: 比較される薬物に於けるYの出血時間の平均値

$\bar{y}$: 基準となる薬物に於けるYの出血時間の平均値

b: xに対するyの回帰係数(調整因子)

σ_{yx}^2 : 誤差平均平方

E_{xx} : xについての誤差平方和

r: 同一薬物に対する反復数

実験成績 実験I 岩尾⁶⁾が報告したadrenochrome類縁化合物17種につき上記実験を行つた。用量は体重kg当りACS 66γを静脈注射し他の薬物は分子量からACS 66γに対応する用量を用いた。効力の比較は対照とした生理食塩液と各種化合物との間のt検定を行いt_i値を求め、出血短縮時間の目安とした。次いでこの値がp<0.01で生理食塩液と有意の差のあるものを(++) p<0.05で有意差のあるものを(+) p=0.05でも有意差のないものを(-)と判定した。その成績はTable Iの通りである。

Table I. Comparative Hemostatic Activity of the Compounds related to Adrenochrome by Modified Duke's Methods

(Rabbit ♂, intravenous injection of equimolar dose to ACS 66 γ/kg.)

Compd. No.	Mol. wt.	Soly. in water %	Bleeding time (sec.)						t _i	Activity
			1st day		2nd day		3rd day			
			X	Y	X	Y	X	Y		
Physiological saline solution (control)			120	115	135	140	140	135		
(I)	236.0	0.03	140	100	135	100	135	100	3.99	++
(II)	"	0.5	"	120	160	125	130	90	3.77	"
(III)	280.0	0.1	145	"	145	120	"	100	2.57	+
(IV)	310.0	"	125	100	125	90	125	"	3.61	++
(V)	336.3	"	"	90	145	"	110	70	5.56	"
(VI)	376	0.5	160	125	135	100	130	80	4.08	"
(VII)	"	1.5	135	90	140	85	125	85	5.40	"
(VIII)	"	"	175	80	115	80	115	80	6.32	"
(IX)	"	"	"	125	170	120	160	100	3.76	"
(X)	"	"	145	"	150	105	125	"	2.97	"
(XI)	165	0.5	120	115	135	120	135	105	1.92	—
(XII)	238	0.05	150	130	160	140	145	118	1.35	"
(XIII)	278.3	0.1	130	115	140	115	"	125	1.86	"

† 推計学的処理については団野、中上により第6回品質管理大会発表(1956年11月22日)。

5) Cochran, Cox (田口、松本訳): “実験計画法” I. 84 (丸善)。

6) 本誌; 76, 808, 811, 814 (1956); Pharm. Bull. (Japan) 4, 244, 247, 254 (1956)。

(XIV)	294	0.5	120	//	130	100	150	130	1.94	//
(XV)	394	1.5	125	100	135	115	170	135	2.37	+
(XVI)	197	0.5	140	125	165	145	145	100	1.96	-
(XVII)	211	//	135	//	130	105	125	110	1.92	//

†: significant to physiological saline solution ($p < 0.01$)

+: significant to physiological saline solution ($p < 0.05$)

-: not significant ($p = 0.05$)

以上のことから有効と判断される化合物は adrenochrome monosemicarbazone (I), adrenochrome monosemicarbazone を Na-salicylate (25 倍量) で可溶化したもの (II), 1-β-hydroxyethyl-3-hydroxy-5-(4'-β-hydroxyethylsemicarbazono)-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole (IV), 1-methyl-2-ethoxycarbonyl-5-(4'-β-hydroxyethylsemicarbazono)-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole (V), sodium 1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-2-sulfonate trihydrate (VI), sodium *dl*-1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-3-sulfonate trihydrate (VII AC-17 と略), sodium *l*-1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-3-sulfonate trihydrate (VIII), sodium *dl*-1-methyl-3-hydroxy-5-semicarbazido-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-5-sulfonate dihydrate (IX), sodium *l*-1-methyl-3-hydroxy-5-semicarbazido-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-5-sulfonate dihydrate (X) で、やや有効と判断される化合物は 1-methyl-3-hydroxy-5-(4'-β-hydroxyethylsemicarbazono)-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole (III), sodium 1-methyl-6-semicarbazono-7-oxo-1,2,3,4,6,7-hexahydroquinoline-4-sulfonate tetrahydrate (XV) で 1-methyl-5,6-dihydroxyindole (XI), 1-methyl-5-semicarbazido-6-hydroxyindole (XII), 1-methyl-6-(4'-β-hydroxyethylsemicarbazono)-7-oxo-1,2,3,4,6,7-hexahydroquinoline (XIII), 1-methyl-4-hydroxy-6-(4'-β-hydroxyethylsemicarbazono)-7-oxo-1,2,3,4,6,7-hexahydroquinoline (XIV), 及び生体内でインドール核を形成すると予測される 3,4-dihydroxyphenylalanine (XVI), 3,4-dihydroxyphenyl-N-methylalanine (XVII) は無効であつた。

実験 II 更に Table I で有効と考えられた ACS, (V), (VII), (IX) の化合物の強弱を 4×4 のラテン方格に組み、同様方法にて 15γ/kg 筋肉注射した場合 Table II の如き成績を示した。

Day	1	2	3	4	
Drug					
a	B	C	A	D	A, B, C, D: Animals
b	A	D	B	C	a, b, c, d: Drugs
c	D	B	C	A	1, 2, 3, 4: Days
d	C	A	D	B	

Table II. Comparative Hemostatic Activity of Several Effective Compounds
by Modified Duke's Method
(Rabbit ♀, intramuscular injection of equimolar dose to compound VII 15 γ /kg.)

Compd. No.	Bleeding time (sec.)								t_i	Bleeding time reduction rate
	1st. day		2nd. day		3rd. day		4th. day			
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y		
ACS	145	115	155	125	160	115	135	100	4.31	23.0%
AC-17 (VII)	150	100	110	80	165	105	125	85		33.3%
(V)	//	110	150	110	130	//	130	105	4.80	21.5%
(IX)	160	120	135	//	125	95	120	100	4.50	23.6%

以上より AC-17 が ACS, (V) に比して有意の出血時間短縮率を示した。

結 論 adrenochrome 類縁化合物の structure-activity relationship を検討するに、なお充分多数の化合物を試験していないので決定的なことはいえないが、次の事が推論される。

1. 出血時間短縮作用を有する構造はインドール核を有するものが強く、キノリン核では効力がないか、極めて弱い ((VII と (XV) との比較)。
2. インドール核の 5, 6 位が解離して *o*-キノイドを生成するものが効力強く、*o*-dihydroxy では効力がなく、また ACS を還元した 5-semicarbazido-6-hydroxy (XII) も効力がない。
3. インドール核の 5, 6 位が *o*-キノイドになり得る化合物なら semicarbazide の代りに hydroxyethyl-semicarbazide でも同様効果がある。
4. インドール核に $-\text{SO}_3\text{Na}$ を結合した化合物は効力を増強するが、これは置換基の作用によるか溶解性が増大するためか明らかでない。特に sodium *dl*-1-methyl-5-semicarbazono-6-oxo-2,3,5,6-tetrahydroindole-3-sulfonate trihydrate (VII) は水に対する溶解度も大きく、止血効力も強く、また臨床実験も効力が優れているので従来の製剤よりも進歩した化合物と考えられる。

本実験に当たり、御指導、御捷達を賜わった東大菅沢教授に深甚の謝意を表する。

田辺製薬株式会社大阪研究所