

## 新制癌剤 1,3-Bis(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione (FD-1) の抗腫瘍効果に関する研究 (第1報)

—経口投与による抗腫瘍効果について—

采見憲男・武田節夫・北里健二・梶原大義

大鵬薬品工業株式会社技術研究部

藤井節郎

大阪大学蛋白質研究所

(昭和52年10月8日受付)

### はじめに

5-Fluorouracil (5-FU と略す) の誘導体として合成された 1-(2-Tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT と略す) は、5-FU のいわゆる masked compound として徐々に 5-FU を放出し、生体内で長時間にわたり活性物質としての 5-FU を持続させる性質をもつことから、5-FU にくらべ副作用は極めて低く、経静脈、経口、経直腸投与による長期連用が可能な制癌剤として最も広く用いられている制癌剤の1つである。

FT の制癌効果をさらに高めるために、生体内での FT からの 5-FU への活性化を亢進させる試みも行なわかなりの効果を上げている<sup>1-5)</sup>。しかしながら、FT にくらべさらに強い効果をもつ制癌剤の開発が望まれ、5-FU の誘導体として 1,3-Bis(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione (FD-1 と略す) が開発された (Fig.1)。FD-1 は経口投与により毒性(急性毒性)が FT の約 1/3~2/3 であり、しかも FT にくらべ高濃度の 5-FU を長時間持続させる性質をもち、とくに腫瘍組織中では極めて高い 5-FU 濃度を持続させるといわれている<sup>6)</sup>。

今回、我々は FD-1 の *in vivo* での抗腫瘍効果を経口投与にて FT および 5-FU と比較し、併せてその代謝物質である 3-(Tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-

-pyrimidinedione (3-FT と略す) および  $\gamma$ -Hydroxybutyric acid (GHB と略す)、さらに FD-1 の異性体である 1(R), 3(R,S)-Bis(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione (R-FD-1 と略す) および 1(S), 3(R,S)-Bis(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione (S-FD-1 と略す) についても検討したので報告する。

### 実験材料および方法

#### 1) 実験腫瘍および動物

ddY 系マウスおよび Wistar 系ラットは徳島実験動物研究所から、ICR 系マウスは日本クレア(株)から、ドリュウ系ラットは日本ラット(株)から、また C57BL/6 系マウスおよび BDF<sub>1</sub> マウスは静岡県実験動物共同組合から購入し、いずれも雄性、5~6 週令を使用した。マウス白血病 L1210 および P388 は癌研究所、塚越博士から分与されたものをいずれも DBA/2 系マウスにて継代維持し、BDF<sub>1</sub> マウスに移植して実験に供した。Methylcholanthrene 誘発肉腫 (MC-tumor と略す) は 20-Methylcholanthrene 0.5mg を 0.1ml のオリーブオイルに溶解し、C57BL/6 系マウスの背部皮下に注射して約4カ月後に発癌したマウスの中から腫瘍の最も良好なもの1匹を選別し、これを同系マウスに1代移植して実験に供した。

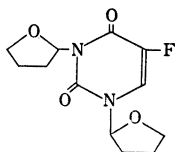
#### 2) 被検薬物

FD-1, FT, 3-FT, R-FD-1 および S-FD-1 は大鵬薬品工業(株)技術研究部において合成したものを、また 5-FU はシグマ社 (USA) から、GHB は和光純薬工業(株)から購入したものをを用いた。

#### 3) 実験方法

EHRlich carcinoma, Sarcoma 180, AH130 および吉田肉腫については、腹水型では、各腫瘍細胞  $5 \times 10^6$  個を被検動物の腹腔内に、また固型では、同じく  $5 \times 10^6$  個を右腋窩部皮下に移植した。L1210 および P388 については、腹腔内移植ではそれぞれ  $5 \times 10^5$  個を、皮下

Fig. 1 Chemical structure of FD-1



1,3--Bis(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione  
C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>F  
MW=270.27

Table 1 Effect of FD-1 on EHRlich carcinoma

ddY mice were inoculated subcutaneously or intraperitoneally with  $5 \times 10^6$  cells of EHRlich ascites carcinoma on Day 0. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Percentage of inhibition in tumor growth and of increase in lifespan were calculated from the mean tumor weight on Day 10 and from the median survival period of treated group to that of the control group, respectively.

Group	Dose (mmole/kg/day)	Inhibitory effect (s. c. -p. o.)		Survival effect (i. p. -p. o.)	
		Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)
Control	—	0.56 $\pm$ 0.21	—	15.0 $\pm$ 2.1	—
FD-1	0.45	0.22 $\pm$ 0.14	61	16.9 $\pm$ 6.8	13
	0.15	0.28 $\pm$ 0.12	50	13.8 $\pm$ 2.9	— 8
	0.05	0.35 $\pm$ 0.13	38	13.1 $\pm$ 3.2	—13
FT	0.45	0.26 $\pm$ 0.16	54	14.8 $\pm$ 3.1	— 1
	0.15	0.32 $\pm$ 0.13	43	15.5 $\pm$ 2.0	3
	0.05	0.44 $\pm$ 0.19	21	14.6 $\pm$ 2.3	— 3
5-FU	0.08	0.32 $\pm$ 0.22	43	16.3 $\pm$ 2.0	9

Table 2 Effect of FD-1 on Sarcoma 180

ICR mice were inoculated subcutaneously or intraperitoneally with  $5 \times 10^6$  cells of Sarcoma 180 on Day 0. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Percentage of inhibition in tumor growth and of increase in lifespan were calculated from the mean tumor weight on Day 10 and from the median survival period of treated group to that of the control group, respectively.

Group	Dose (mmole/kg/day)	Inhibitory effect (s. c. -p. o.)		Survival effect (i. p. -p. o.)	
		Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)
Control	—	2.00 $\pm$ 0.55	—	12.4 $\pm$ 3.5	—
FD-1	0.45	0.82 $\pm$ 0.32	59	16.3 $\pm$ 4.4	31
	0.15	1.01 $\pm$ 0.32	50	16.5 $\pm$ 5.9	33
	0.05	1.47 $\pm$ 0.40	27	14.3 $\pm$ 4.9	15
FT	0.45	1.17 $\pm$ 0.56	42	12.5 $\pm$ 2.1	1
	0.15	1.53 $\pm$ 0.30	24	13.9 $\pm$ 2.9	12
	0.05	1.95 $\pm$ 0.47	3	14.5 $\pm$ 1.9	17
5-FU	0.08	0.96 $\pm$ 0.37	52	13.4 $\pm$ 1.7	8

移植では  $10^6$  個を背部皮下に移植し、一部の試験では、L1210 について  $10^5$  個を脳内に移植した。Walker256 および MC-tumor については、摘出した腫瘍を壊死部分を除去して細切し、80メッシュのフィルターで篩過した後、EAGLE's medium 中に懸濁して調製した腫瘍組織液 0.1 ml を背部皮下に移植した。

薬物は、経口投与の場合にはアラビアゴム水溶液に懸濁し、また腹腔内投与の場合には生理食塩液に溶解し、各投与量とも 0.5 ml/100g となるよう用時調製した。FD-1 の投与量は、比較薬 FT の効果が約 50% 認められた投与量<sup>7)</sup> 0.45 mmole/kg (FD-1 : 121.5 mg/kg, FT : 90 mg/kg) を基準に 0.15 mmole/kg (FD-1 : 40.5 mg/kg,

FT : 30 mg/kg) および 0.05 mmole/kg (FD-1 : 13.5 mg/kg, FT : 10 mg/kg) とし、一部の試験では 0.90 mmole/kg (FD-1 : 243 mg/kg, FT : 180 mg/kg) についても行なった。またその効果を FT と比較するため等モル投与とした。5-FU の投与量は、その毒性を考慮して 0.08 mmole/kg (10 mg/kg) とし、一部の試験では 0.24 mmole/kg (30 mg/kg) とした。薬物は全て、各表および図中に記した方式により投与した。なお対照群には 5% アラビアゴム水溶液を 0.5 ml/100g の割合で経口投与した。

効果の検定は、腫瘍増殖抑制効果は各群の平均腫瘍重量により、延命効果は各群の平均生存日数を検討することにより、また MC-tumor での腫瘍増殖抑制効果は各

Table 3 Effect of FD-1 on AH 130

Donryu rats were inoculated subcutaneously or intraperitoneally with  $5 \times 10^6$  cells of AH 130 on Day 0. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Percentage of inhibition in tumor growth and of increase in lifespan were calculated from the mean tumor weight on Day 10 and from the median survival period of treated group to that of the control group, respectively.

Group	Dose (mmole/kg/day)	Inhibitory effect (s. c. -p. o.)		Survival effect (i. p. -p. o.)	
		Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)
Control	—	10.9 $\pm$ 2.6	—	12.9 $\pm$ 1.4	—
FD-1	0.45	6.1 $\pm$ 0.9	44	15.3 $\pm$ 3.5	19
	0.15	7.4 $\pm$ 2.2	32	14.1 $\pm$ 3.1	9
	0.05	8.3 $\pm$ 2.3	24	16.1 $\pm$ 3.2	25
FT	0.45	6.4 $\pm$ 1.5	41	14.3 $\pm$ 3.4	11
	0.15	8.5 $\pm$ 0.6	22	13.5 $\pm$ 2.3	5
	0.05	9.5 $\pm$ 1.1	13	13.6 $\pm$ 2.8	5
5-FU	0.08	7.0 $\pm$ 1.4	36	13.5 $\pm$ 2.4	5

Table 4 Effect of FD-1 on YOSHIDA sarcoma

Donryu rats were inoculated subcutaneously or intraperitoneally with  $5 \times 10^6$  cells of YOSHIDA sarcoma on Day 0. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Percentage of inhibition in tumor growth and of increase in lifespan were calculated from the mean tumor weight on Day 10 and from the median survival period of treated group to that of the control group, respectively.

Group	Dose (mmole/kg/day)	Inhibitory effect (s. c. -p. c.)		Survival effect (i. p. -p. o.)	
		Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)
Control	—	6.1 $\pm$ 1.2	—	8.6 $\pm$ 0.5	—
FD-1	0.45	2.5 $\pm$ 0.9	59	9.1 $\pm$ 0.4	6
	0.15	3.4 $\pm$ 1.1	44	8.6 $\pm$ 0.7	0
	0.05	4.5 $\pm$ 0.6	26	8.8 $\pm$ 0.7	2
FT	0.45	2.9 $\pm$ 1.3	52	9.0 $\pm$ 0.8	5
	0.15	4.1 $\pm$ 0.9	33	8.9 $\pm$ 1.0	3
	0.05	4.4 $\pm$ 1.2	28	8.5 $\pm$ 0.5	-1
5-FU	0.08	3.6 $\pm$ 0.9	41	8.6 $\pm$ 0.9	0

群の平均腫瘍径を測定することにより行なった。

#### 実験結果

1. EHRlich carcinoma, Sarcoma 180, AH 130, 吉田肉腫および Walker 256 に対する効果

これら allogeneic な腫瘍に対する FD-1, FT および 5-FU の抗腫瘍効果を Table 1~5 に示した。FD-1 は FT と同様に、この投与量においては腹水型に対してはほとんど効果がみられず、わずかに Sarcoma 180 に対して 0.15mmole (40.5mg)/kg および 0.45mmole (121.5mg)/kg で約 30% の延命がみられただけであった。一方、固型に対しては、FD-1 は投与量に応じた効果がみられ、

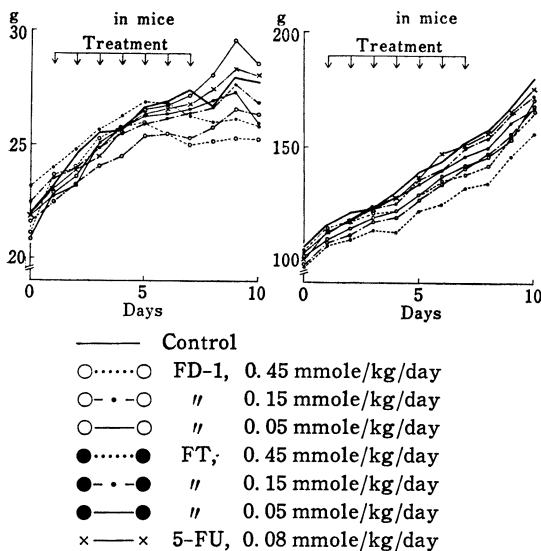
0.45mmole (121.5mg)/kg において Walker 256 に対しては 37% の抑制率で若干効果が弱かったが、EHRlich carcinoma, Sarcoma 180 および吉田肉腫に対してはいずれも約 60%、また AH 130 に対しては 44% と強い抑制効果がみられた。FD-1 の効果を等モル投与量で FT と比較した場合、いずれの腫瘍についてもその抑制率は FT のそれよりも約 10% 高い値を示し、また 5-FU と比較すると 5-FU 0.08mmole (10mg)/kg にくらべ FT 0.15mmole (30mg)/kg ではわずかに効果が劣るが、FD-1 0.15mmole (40.5mg)/kg では同等かそれ以上の効果が認められた。

Table 5 Effect of FD-1 on WALKER carcinosarcoma 256

Wistar rats were inoculated subcutaneously with 0.1 ml of brei of Walker carcinosarcoma 256 on Day 0. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Percentage of inhibition in tumor growth was calculated from the mean tumor weight of treated group to that of the control group on Day 10.

Group	Dose (mmole/kg/day)	Inhibitory effect (s. c. - p. o.)	
		Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)
Control	—	16.0 $\pm$ 3.9	—
FD-1	0.45	10.1 $\pm$ 5.0	27
	0.15	11.7 $\pm$ 2.0	27
	0.05	12.6 $\pm$ 5.0	21
FT	0.45	11.0 $\pm$ 4.5	31
	0.15	11.6 $\pm$ 5.3	28
	0.05	13.9 $\pm$ 3.3	13
5-FU	0.08	12.2 $\pm$ 5.7	24

Fig. 2 Changes in body weight after oral administration of FD-1, FT and 5-FU to mice or rats



FD-1, FT および 5-FU 投与群ともに, Fig. 2 に示すように対照群との間に体重増加の差はほとんどみられなかった。

## 2. マウス白血病に対する効果

L 1210 は 5-FU に対して感受性があり i. p. - i. p. の投与形式での 5-FU の至適有効量は 25 mg/kg であるといわれている。従って我々は, 経口投与であることを考慮して 5-FU の投与量を 0.24 mmole (30 mg)/kg とし, FD-1 および FT においてもさらに高い投与量 0.90 mmole (FD-1 : 243 mg, FT : 180 mg)/kg についても

検討した。結果を Table 6 および 7 に示した。

L 1210 に対しては, 腹腔内移植では FD-1, FT ともに 0.90 mmole (243 mg, 180 mg)/kg でそれぞれ 48% および 43% の延命率を示し, 5-FU 0.24 mmole (30 mg)/kg の 55% とほぼ同程度の効果であった。また皮下移植に対する延命効果は, FD-1, FT の各 0.90 mmole (それぞれ 243 mg, 180 mg)/kg および 5-FU 0.24 mmole (30 mg)/kg で同程度であり (約 30% 延命), 腫瘍抑制効果は FD-1 ; 63%, FT ; 54%, 5-FU ; 41% と強い効果を示した。脳内移植に対する延命効果は弱いものであったが, FD-1 > FT > 5-FU の順序で延命がみられた。

P 388 に対しては, その延命効果は腹腔内, 皮下移植のいずれにも FD-1, FT および 5-FU ともにほとんど認められなかったが, 腫瘍抑制効果は皮下移植にて L 1210 の場合と同様に強い効果がみられ FD-1 0.90 mmole (243 mg)/kg で 84%, FT 0.90 mmole (180 mg)/kg で 87%, また 5-FU 0.24 mmole (30 mg)/kg で 84% とほぼ同程度であった。

FD-1 の投与方式について L 1210 を用いて検討した。FD-1 の総投与量はマウスにおける LD<sub>50</sub> 値の約 1/2 である 4.90 mmole (1323 mg)/kg および約 1/4 である 2.45 mmole (661.5 mg)/kg の 2 dose とし, これを移植後 1 日目の 1 回投与, 1, 4, 7 日目での間歇投与 (それぞれ 1.63 mmole (441 mg)/kg/day  $\times$  3 および 0.82 mmole (220.5 mg)/kg/day  $\times$  3) および 1~7 日間の連続投与 (それぞれ 0.70 mmole (189 mg)/kg/day  $\times$  7 および 0.35 mmole (94.5 mg)/kg/day  $\times$  7) にてその効果を比較した。結果を Table 8 に示した。

腹腔内移植に対する延命効果は間歇投与においてだけ

Table 6 Effect of FD-1 on murine leukemia L 1210

L 1220 leukemia was implanted ip ( $5 \times 10^5$  ascitic cells), sc ( $10^6$  ascitic cells) or ic (0.05ml of leukemic blood,  $10^5$  cells) in BDF<sub>1</sub> mice on Day 0. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Median survival period was examined and percentage of increase in lifespan was calculated from the median survival period of treated group to that of the control group.

Group	Dose (mmole/kg/day)	i. p. -p. o.		s. c. -p. o.				i. c. -p. o.	
		Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)	Tumor weight* (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)
Control	—	8.2 $\pm$ 0.4	—	9.1 $\pm$ 0.3	—	0.86 $\pm$ 0.18	—	7.9 $\pm$ 0.6	—
FD-1	0.90	12.1 $\pm$ 2.1	48	12.1 $\pm$ 0.7	33	0.31 $\pm$ 0.09	63	10.6 $\pm$ 1.3	34
	0.45	10.1 $\pm$ 2.6	23	9.4 $\pm$ 0.5	7	0.46 $\pm$ 0.13	46	10.4 $\pm$ 0.7	32
	0.15	9.0 $\pm$ 2.1	10	9.3 $\pm$ 0.5	2	0.70 $\pm$ 0.21	18		
	0.05	8.0 $\pm$ 0	-2	9.3 $\pm$ 0.5	2	0.88 $\pm$ 0.19	-2		
FT	0.09	11.7 $\pm$ 2.2	43	12.0 $\pm$ 0.6	33	0.39 $\pm$ 0.06	54	10.0 $\pm$ 1.0	27
	0.45	9.2 $\pm$ 1.9	12	9.7 $\pm$ 0.8	3	0.55 $\pm$ 0.11	36		
	0.15	8.2 $\pm$ 0.4	0	9.3 $\pm$ 0.5	2	0.83 $\pm$ 0.18	3		
	0.05	8.1 $\pm$ 0.3	-1	9.4 $\pm$ 0.5	2	0.84 $\pm$ 0.18	2		
5-FU	0.24	12.7 $\pm$ 2.0	55	11.8 $\pm$ 0.4	30	0.50 $\pm$ 0.05	41	9.8 $\pm$ 0.9	24

\* Tumor weight was determined at death.

Table 7 Effect of FD-1 on murine leukemia P 388

P 388 leukemia was implanted ip ( $5 \times 10^5$  ascitic cells) or sc ( $10^6$  ascitic cells) in BDF<sub>1</sub> mice on Day 0. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Median survival period was examined and percentage of increase in lifespan was calculated from the median survival period of treated group to that of the control group.

Group	Dose (mmole/kg/day)	i. p. -p. o.		s. c. -p. o.			
		Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)	Tumor weight* (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)
Control	—	10.1 $\pm$ 0.3	—	17.3 $\pm$ 2.0	—	1.11 $\pm$ 0.34	—
FD-1	0.90	10.0 $\pm$ 0	-1	13.3 $\pm$ 3.8	-23	0.18 $\pm$ 0.46	84
	0.45	10.6 $\pm$ 1.1	5	19.5 $\pm$ 1.1	13	0.63 $\pm$ 0.20	43
	0.15	10.1 $\pm$ 0.3	0	18.5 $\pm$ 1.5	7	0.98 $\pm$ 0.27	12
	0.05	10.1 $\pm$ 0.3	0	19.3 $\pm$ 1.7	12	1.30 $\pm$ 0.28	-17
FT	0.90	10.3 $\pm$ 0.9	2	12.3 $\pm$ 2.1	-29	0.14 $\pm$ 0.16	87
	0.45	10.4 $\pm$ 0.5	3	20.7 $\pm$ 1.7	20	0.77 $\pm$ 0.28	31
	0.15	10.1 $\pm$ 0.3	0	17.8 $\pm$ 0.8	3	0.89 $\pm$ 0.32	20
	0.05	10.0 $\pm$ 0	-1	18.3 $\pm$ 1.0	6	0.92 $\pm$ 0.22	17
5-FU	0.24	10.1 $\pm$ 0.3	0	15.9 $\pm$ 5.0	-8	0.36 $\pm$ 0.34	84

\* Tumor weight was determined at death.

効果がみられ、1.63mmole (441mg)/kg/day  $\times$  3 にて 36% の延命 ( $P < 0.001$ ), 0.82mmole (220.5mg)/kg/day  $\times$  3 にて 35% の延命 ( $P > 0.05$  にて有意差なし) を示した。皮下移植に対する延命効果は 4.90mmole (1323mg)/kg/day の 1 回投与および 0.70mmole (189mg)/kg/day  $\times$  7 の連続投与においてそれぞれ 36% および 29% の延命が認められ (いずれも  $P < 0.01$ ), 腫瘍抑制

効果は全投与群でみられた。

### 3. MC-tumor に対する効果

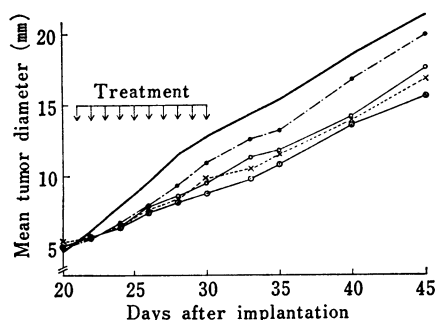
Syngeneic な系として C57BL/6 系マウスに誘発した MC-tumor を同系マウスに 1 代移植し、FD-1, FT および 5-FU の腫瘍抑制効果を経時的に観察した結果を Fig. 3 に示した。各薬物投与群ともに投与 4 日目頃から腫瘍の増殖は抑制され始め、8 日目では FD-1 および

Table 8 Effects of single, intermittent and consecutive treatments of FD-1 on L 1210 L 1210 leukemia was implanted ip ( $5 \times 10^5$  ascitic cells) or sc ( $10^6$  ascitic cells) in BDF<sub>1</sub> mice on Day 0. FD-1 was administrated on the indicated treatment schedules. Survival effect was assessed by the median increase in lifespan (ILS) relative to control.

Group	Dose (mmole/kg)		Treatment schedule	i. p. - p. o.		s. c. - p. o.			
	Total	Daily		Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)	Survival time (day, mean $\pm$ SD)	ILS (%)	Tumor weight* (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)
Control	—	—	—	8.1 $\pm$ 0.5	—	9.6 $\pm$ 0.6	—	0.82 $\pm$ 0.10	—
FD-1	4.90	4.90	Day 1	9.0 $\pm$ 1.7	11	13.1 $\pm$ 2.3	36	0.48 $\pm$ 0.17	41
	4.90	1.63	Day 1, 4, 7	11.0 $\pm$ 0.8	36	11.4 $\pm$ 0.8	19	0.30 $\pm$ 0.10	63
	4.90	0.70	Day 1-7	9.4 $\pm$ 0.8	16	12.4 $\pm$ 1.0	29	0.25 $\pm$ 0.10	70
	2.45	2.45	Day 1	10.0 $\pm$ 0.8	23	10.7 $\pm$ 1.2	11	0.35 $\pm$ 0.14	57
	2.45	0.82	Day 1, 4, 7	10.9 $\pm$ 3.6	35	11.0 $\pm$ 1.0	15	0.60 $\pm$ 0.22	27
	2.45	0.35	Day 1-7	9.1 $\pm$ 0.5	12	10.3 $\pm$ 0.9	7	0.43 $\pm$ 0.17	48

\* Tumor weight was determined at death.

Fig. 3 Growth curves of MC-tumor in each treatment groups



A crude brei of MC-tumor was implanted sc (0.1 ml) into the back of C57BL/6 mice. Drugs were given daily at indicated doses for consecutive 10 days from Day 21. The growth rate of MC-tumor was determined by measuring the maximum and minimum diameters of the tumor with callipers.

— Control

○—○ FD-1, 0.90 mmole/kg

○—○ FD-1, 0.45 mmole/kg

●-● FT, 0.45 mmole/kg

×.....× 5-FU, 0.24 mmole/kg

5-FU 投与群と FT 投与群との間で効果の差が明らかとなった。FD-1 は強い抑制効果を示し 10 日目ではその抑制率は 0.90 mmole (243 mg)/kg で 51.3%, 0.45 mmole (121.5 mg)/kg で 40.0% であり、これは FT 0.45 mmole (90 mg)/kg の 22.5% にくらべ約 2 倍の値であった。また 5-FU 0.24 mmole (30 mg)/kg では FD-1 とほぼ同じ 45.0% の抑制率を示した。

#### 4. FD-1 代謝物質の抗腫瘍効果

FD-1 中間代謝物質のうち、フッ化ピリミジン骨格をもつものとして FT, 3-FT および 5-FU が、また tetrahydrofuryl 基の代謝物質として GHB が確認され

ている<sup>9)</sup>。そこでこれら代謝物質の抗腫瘍効果を 0.45 mmole (それぞれ 90 mg, 90 mg, 59 mg および 56.7 mg)/kg の投与量にて Sarcoma 180 および AH 130 について調べた。結果を Table 9 に示した。フッ化ピリミジン骨格を有する代謝物質の全てに抗腫瘍効果が認められ (5-FU は高投与量のため全例死亡)、とくに 3-FT では Sarcoma 180 に対し 77%, AH 130 に対し 91% の抑制率を示した。しかしながら、FD-1 および FT では体重増加における抑制がほとんどみられなかったのに対し、3-FT では約 50% の抑制がみられた。

#### 5. FD-1 異性体の抗腫瘍効果

FD-1 には N<sub>1</sub> および N<sub>3</sub> 位の tetrahydrofuryl 基の配置の仕方により 4 つの異性体が考えられるが、今回、N<sub>1</sub> 位だけが R および S の異性体であり N<sub>3</sub> 位は racemic mixture である R-FD-1 と S-FD-1 について Sarcoma 180 および AH 130 に対する抗腫瘍効果を FD-1 (N<sub>1</sub> 位, N<sub>3</sub> 位ともに racemic mixture) と比較した。結果を Table 10 に示した。FD-1, R- および S-FD-1 とともに両腫瘍に対してその腫瘍抑制効果に有意差はなく、いずれも 0.45 mmole (121.5 mg)/kg にて約 60% 程度の抑制率であった。

#### 考 察

5-FU の新しい誘導体である FD-1 の抗腫瘍効果について FT および 5-FU と比較検討した。

マウスおよびラットの継代移植腫瘍である EHRlich carcinoma, Sarcoma 180, AH 130, 吉田肉腫および WALKER 256 に対する FD-1 の抗腫瘍効果は、FT と同様に腹水型ではほとんど効果が認められず、固型で強い腫瘍抑制効果が認められた。等モル投与量で FD-1 と FT の効果を比較すると、全ての腫瘍について FD-1 のほうが優れていた。また 5-FU との比較においては、

Table 9 Effects of FD-1 and its metabolites on Sarcoma 180 or AH 130

ICR mice or Donryu rats were inoculated subcutaneously with  $5 \times 10^6$  cells of Sarcoma 180 or AH 130 on Day 0, respectively. Drugs were given daily at 0.45 mmole/kg/day for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Inhibitory effect was assessed by the mean tumor weight relative to control on Day 10.

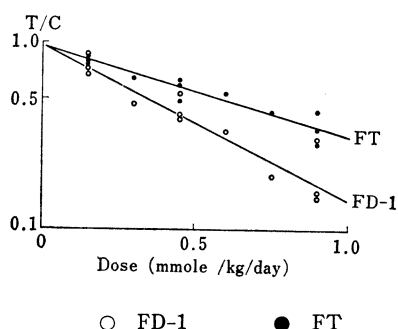
Group	Administration route	Sarcoma 180		AH 130	
		Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)	Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)
Control	—	0.97 $\pm$ 0.33	—	10.3 $\pm$ 2.2	—
FD-1	p. o.	0.31 $\pm$ 0.13	68	4.0 $\pm$ 1.8	61
FT	i. p.	0.37 $\pm$ 0.13	62	4.9 $\pm$ 1.8	52
3-FT	i. p.	0.22 $\pm$ 0.09	77	0.9 $\pm$ 0.5	91
GHB	i. p.	1.10 $\pm$ 0.24	-13	10.0 $\pm$ 2.8	3
5-FU	i. p.	toxic		toxic	

Table 10 Effects of the R and S isomers of FD-1 on Sarcoma 180 or AH 130

ICR mice or Donryu rats were inoculated subcutaneously with  $5 \times 10^6$  cells of Sarcoma 180 or AH 130 on Day 0, respectively. Drugs were given orally at 0.45 mmole/kg/day for consecutive 7 days from Day 1 to 7. Inhibitory effect was assessed by the mean tumor weight relative to control on Day 10.

Group	Sarcoma 180		AH 130	
	Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)	Tumor weight (g, mean $\pm$ SD)	Inhibition (%)
Control	0.97 $\pm$ 0.33	—	10.3 $\pm$ 2.2	—
FD-1 (racemic mixture)	0.31 $\pm$ 0.13	68	4.0 $\pm$ 1.8	61
R-FD-1	0.46 $\pm$ 0.20	53	4.5 $\pm$ 1.9	56
S-FD-1	0.38 $\pm$ 0.13	61	4.6 $\pm$ 2.0	55

Fig. 4 Comparison of antitumor activity of FD-1 with FT on AH 130 (s. c. - p. o.)



0.15 mmole (FD-1 : 40.5 mg, FT : 30 mg)/kg の投与量で FT は 5-FU 0.08 mmole (10 mg)/kg よりも若干効果が劣るが、FD-1 では同等もしくはそれ以上であった。FD-1 と FT の抗腫瘍効果をさらに詳細に比較するため AH 130 の固型腫瘍に対し各投与量で検討したところ、Fig. 1 に示されるように FD-1、FT ともに投与量と腫瘍抑制効果 (T/C) の間に相関関係が得られた。両薬物の 50% 腫瘍抑制量 ( $ED_{50}$ ) は FD-1 で 0.35 mmole (94.5 mg)/kg、FT では 0.58 mmole (116 mg)/kg で

あり、その抗腫瘍活性比はモル比で約 1.7、また重量比で約 1.2 と FD-1 のほうが優れていた。さらに治療係数 ( $LD_{50}/ED_{50}$ ) は FD-1 で 18.3、FT では 10.6 であり FT にくらべ FD-1 は約 2 倍の値を示した。

マウス白血病については L 1210 において腹腔内移植に対し FD-1、FT の各 0.90 mmole (それぞれ 243 mg, 180 mg)/kg でそれぞれ 48% および 43% の延命効果があり、これは 5-FU 0.24 mmole (30 mg)/kg の 55% とほぼ同程度であった。また、L 1210 の皮下および脳内移植に対し延命効果および腫瘍抑制効果を調べたところ (脳内移植については延命効果だけ)、延命効果はいずれも約 30% 程度であったが、腫瘍抑制効果は FD-1 ; 63%、FT ; 54%、5-FU ; 41% と強い効果がみられた。とくに脳内移植に対し若干ではあるが FD-1 の延命効果があったことは、藤田ら<sup>10)</sup> のように FD-1 が容易に血液-脳関門を通過し得るためであるかもしれない。一方、P-388 については FD-1、FT、5-FU とともに腹腔内移植に対しては、皮下移植で強い腫瘍抑制効果があるにもかかわらず、延命効果は得られなかった。GARIBJANIAN ら<sup>11)</sup> は P 388 が 5-FU に強い感受性を示すと報告しているが、今回の我々の実験では感受性が認められず PALLAVICINI ら<sup>12)</sup> の成績に一致するものであった。また、FD

-1 が L 1210 に対し連続投与だけでなく 1 回投与および間歇投与においてもほぼ同程度の腫瘍抑制効果を示したことは、FD-1 から放出される 5-FU は FT からのそれにくらべて高濃度であり、しかもとくに腫瘍組織中ではこれが長時間持続するという FD-1 の Pharmacokinetics に加え、腫瘍細胞の cell kinetics を考慮した投与計画の重要性が示唆され、これについてはさらに検討中である。

FD-1 は FT と同様な機構で活性化されると考えられており、*in vitro* でのラット肝 microsome を用いた活性化実験では FT の約 5 倍の 5-FU が生成し、*in vivo* でも経口投与した場合血中では FT の 5~7 倍、腫瘍組織中ではさらに 8~12 倍の高い 5-FU 濃度が持続することが示され、この高い 5-FU 濃度はその中間代謝物質である 3-FT を介して生成されるといわれている<sup>9)</sup>。このことから 3-FT の Sarcoma 180 および AH 130 の固型腫瘍に対する腫瘍抑制効果を調べたところ、いずれの腫瘍についても強い抑制効果が認められ、FD-1 の FT よりも強い抗腫瘍効果はこの 3-FT を介しての 5-FU によるものであろうと考えられる。また GHB には効果がみられず、FD-1 の tetrahydrofuryl 基の代謝物には抗腫瘍効果のないことが認められた。

FD-1 の N<sub>1</sub> 位の R および S 異性体の抗腫瘍効果はいずれも FD-1 と同程度であり、FT の R, S 異性体について *in vitro* での殺細胞作用に差がなかったという HORWITZ ら<sup>10)</sup>の報告と一致する。

FD-1 は allogenic な系だけでなく、C57BL/6 系マウスに誘発した MC-tumor の 1 代移植 (syngeneic な系) に対しても強い腫瘍抑制効果を示し、今後の検討として autochthonous な系での効果も期待された。

このように FD-1 は経口投与にて FT よりも強い抗腫瘍効果を示し、しかも毒性は低いという優れた性質を有することから、臨床での有用性が期待される。

### 結 論

1. FD-1 の抗腫瘍効果は FT と同様に腹水型よりも固型で強く認められ、この効果は等モル投与で FT の約 1.7 倍であり、しかも毒性は FT の 1/3~2/3 であることからその治療係数は FT の約 2 倍であった。

2. FD-1 はマウス白血病 L 1210 に対し効果が認められ腹腔内、皮下および脳内移植に対して延命効果があり、皮下移植では強い腫瘍抑制効果があった。また連続投与だけでなく 1 回投与および間歇投与においても有効であった。

3. FD-1 は allogenic な系だけでなく、syngeneic な系 (MC-tumor) に対しても強い腫瘍抑制効果を示した。

4. FD-1 とその R および S 異性体の間には抗腫瘍効果に差は認められなかった。

5. FD-1 の中間代謝物質の 1 つである 3-FT に強い腫瘍抑制効果がみられた。

### 文 献

- 1) 大平貞雄, 前沢 祥, 渡部一弘, 北田一浩, 佐久間正義, 斎藤達雄: 肝マイクロソーム薬物代謝誘導および lipid peroxidation 阻害による制癌効果増強に関する実験的知見, 第 34 回日本癌学会総会記事, 81, 1975
- 2) 大平貞雄, 前沢 祥, 渡部一弘, 北田一浩, 佐久間正義, 松岡 茂, 斎藤達雄: 肝マイクロソーム薬物代謝酵素 (cytochrome P-450) の動態からみた FT-207 の活性化と制癌効果増強に関する実験的知見, 第 35 回日本癌学会総会記事, 124, 1976
- 3) 大平貞雄, 前沢 祥, 渡部一弘, 北田一浩, 斎藤達雄: 肝薬物代謝酵素 (cytochrome P-450) による 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT-207) の活性化機構と制癌効果増強に関する実験的知見. 癌の臨床 22(11): 856~867, 1976
- 4) 腰塚 格, 藤本 茂, 赤尾建夫, 伊藤文二, 小谷野勝治, 橋川征夫, 南 智仁, 石神博昭, 高橋 誠, 宮崎 勝, 雨宮邦彦, 大山欣昭, 小野和則, 呉正信, 土屋俊一, 尹 良純, 伊藤健次郎: FT-207 投与に関する基礎的臨床的検討, 第 25 回日本化学療法学会総会記事, 128, 1977
- 5) 大平貞雄, 前沢 祥, 渡部一弘, 北田一浩, 佐久間正義, 松岡 茂, 斎藤達雄: FT-207 または Cyclophosphamide と肝薬物代謝酵素誘導剤 (Phenobarbital) の併用療法における臨床的知見, 第 25 回日本化学療法学会総会記事, 129, 1977
- 6) 采見憲男, 安本三治, 森田健一, 梶原大義: 新しい 5-FU 誘導体の抗腫瘍効果, 第 35 回日本癌学会総会記事, 132, 1976
- 7) 藤井節郎, 渡辺昭治, 安田行寛, 邦須 滋, 采見憲男: 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT-207) の抗腫瘍性に関する基礎的研究—経口投与による抗腫瘍効果—. 応用薬理 7(9): 1277~1292, 1973
- 8) 加藤武俊, 天羽弘行, 星野 章, 太田和雄: 吉田肉腫, L 1210 白血病に対する Carboquone の抗腫瘍効果および各種制癌剤との併用効果. 癌と化学療法 3(4): 697~703, 1976
- 9) 川口安郎, 中村芳正, 佐藤俊幸, 武田節夫, 丸中照義: 新制癌剤 1,3-Bis(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione (FD-1) の生体内運命 (第 1 報) 経口投与による吸収, 分布, 代謝および排泄. 薬学雑誌 (投稿中)
- 10) 藤田 浩, 小川カツイ, 加藤綾子, 森田健一, 山上邦夫, 北里健二, 安田昭男, 木村禮代二: 新しい弗化ピリミジン系 masked compound-FD-1 の生体内動態, 第 25 回日本化学療法学会総会記事, 127, 1977
- 11) GARIBJANIAN, BAGRAT T.; RANDALL K. JOHNSON, IRA KLINE, SRIKRISHNA VADLAMUDI,



- MIRIAM GANG, JOHN M. VENDITTI & ABRAHAM GOLDIN : Comparison of 5-Fluorouracil and Ftorafur. II. Therapeutic response and development of resistance in murine tumors. *Cancer Treatment Reports* 60(9) : 1347~1361, 1976
- 12) PALLAVICINI, MARIA G. & ARTHUR M. COHEN : The antitumor effect of ftorafur against leukemias and mammary tumors in mice. *Pharmacologist* 17 : 202, 1975
- 13) HORWITZ, JEROME P. ; J. JUSTIN MCCORMICK, KERSTIN D. PHILIPS, VERONICA M. MAHER, JAMES R. OTTO, DAVID KESSEL & JIRI ZEMLICKA : *In vitro* Biological evaluation of the R and S isomers of 1-(tetrahydrofuran-2-yl)-5-fluorouracil. *Cancer Res.* 35 : 1301~1304, 1975

## STUDIES ON THE ANTITUMOR ACTIVITY OF 1,3-BIS(TETRAHYDRO-2-FURANYL)-5-FLUORO-2,4-PYRIMIDINEDIONE (FD-1), A NEW ANTITUMOR AGENT. I

### ANTITUMOR ACTIVITY OF FD-1 BY THE ORAL ADMINISTRATION

NORIO UNEMI, SETSUO TAKEDA, KENJI KITASATO and MOTOYOSHI KAJIHARA  
Research Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd., Tokushima  
SETSURO FUJII  
Institute for Protein Research, Osaka University, Osaka

The antitumor activity of 1,3-Bis (tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione (FD-1) was compared with that of 1-(2-Tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT) or 5-Fluorouracil (5-FU) in a number of tumor systems.

FD-1 had significant activity against the solid forms but not the ascitic forms, and it produced a greater inhibition in tumor growth than FT. On AH 130 solid form, the therapeutic index(LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>) of FD-1 and FT were respectively 18.3 and 10.6.

FD-1 was evaluated against the ip and sc implanted L 1210 leukemia by single, intermittent or daily administration. FD-1 retained some degree of antileukemic activity against the ic implanted L 1210.

No significant difference in antitumor activity was observed between the R and S isomers or the racemic mixture (FD-1).

A higher activity of FD-1 compared to FT was possibly due to the increased 5-FU level in tumor through its metabolite, 3-(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluoro-2,4-pyrimidinedione (3-FT).