

Determination of a Pain Substance Produced by the Photodegradation of Dacarbazine

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/6723

Dacarbazine の光分解によって生成する発痛物質の探索

河原 昌美*¹ 石田 智之*¹ 江本 千恵*¹
松下 良*² 市村 藤雄*¹ 片岡 治*²
向 智里*² 花岡 美代次*² 石崎 純子*¹
旭 満里子*¹ 宮本 謙一*¹

(受付：2000年7月13日)

Determination of a Pain Substance Produced by the Photodegradation of Dacarbazine

Masami KAWAHARA*¹ Tomoyuki ISHIDA*¹ Chie EMOTO*¹
Ryo MATSUSHITA*² Fujio ICHIMURA*¹ Osamu KATAOKA*²
Chisato MUKAI*² Miyoji HANAOKA*² Junko ISHIZAKI*¹
Mariko ASAHI*¹ and Ken'ichi MIYAMOTO*¹

*¹ Department of Hospital Pharmacy, School of Medicine, Kanazawa University
13-1 Takara-machi, Kanazawa 920-8641, Japan

*² Department of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University

The anticancer drug, dacarbazine, is known to be photosensitive, and its photodegradation products have been pointed out as the causes of side effects including local venous pain of injection site. In this study, we attempted to clarify the causative substance of pain after photodegradation of dacarbazine. We synthesized five photodegradation products of dacarbazine; dimethylamine, 5-diazoimidazole-4-carboxamide (Diazo-IC), 4-carbamoylimidazolium-5-olate, 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo)imidazolium-5-olate and 2-azahypoxanthine, and examined pain reactions induced by these substances in mice. Mice were intraperitoneally administered each photodegradation product, then number of stretching reactions or writhing reactions as types of pain behaviors was counted. Only Diazo-IC clearly induced the pain reactions in mice in a concentration-dependent manner; the other products caused no pain reaction. The pain threshold of Diazo-IC in mice was estimated at between 0.1 mg/ml and 0.2 mg/ml. While diclofenac sodium significantly reduced acetic acid-induced pain reactions in mice, it did not influence the reactions induced by Diazo-IC. This result suggests that Diazo-IC-induced pain reactions represent a different mechanism from acetic acid-induced inflammatory pain. Degradation rate constant of 0.1 mg/ml of dacarbazine solution was 10 times larger than 1 mg/ml of dacarbazine. Dacarbazine solution for drip infusion should be sufficiently shielded from light.

Key words : dacarbazine, photodegradation product, pain substance, mouse

*¹ 金沢大学医学部附属病院薬剤部 〒920-8641 金沢市宝町 13-1

*² 金沢大学薬学部

緒 論

Dacarbazine は悪性黒色腫，進行性ホジキン病，小児固形癌の治療に用いられる抗癌剤で，軟部悪性腫瘍に対しても他剤と併用して使用される¹⁾。しかし，dacarbazine の水溶液は極めて安定性が低く，遮光しない条件では時間経過とともに赤桃色を呈することが知られており，dacarbazine の分解生成物を同定する試みがされてきた^{2,3)}。

我々は1995年に泌尿器科において軟部悪性腫瘍に対する dacarbazine, cyclophosphamide, adriamycin, vincristine を併用する CYVADIC 療法施行時，患者から激しい血管痛の訴えを受けた。患者は後腹膜腫瘍摘出後の28歳の男性で，治療第1日目に vincristine 2 mg, 第2日目に adriamycin 70 mg と cyclophosphamide 700 mg を投与，第1～5日目にかけて dacarbazine 350 mg を投与するプロトコルを3週間ごとに繰り返す予定であった。しかし，患者から dacarbazine 投与時にのみ激しい血管痛の訴えがあった。初回の dacarbazine 投与は添付文書に従い精製水で100 mg/10 ml に溶解して行われたが，添付文書(1994年3月改訂)には併用投与群で8.8%に血管痛の副作用の報告があり，適用上の注意として血管痛が見られた場合には投与速度を遅くすると記載があったため，生理食塩水で250 ml に希釈して30分かけて投与した。しかし，血管痛は少し軽減されたものの投与時間が長くなり患者の苦痛は変わらず，患者はほとんど会話もできない状況であった。このとき dacarbazine 溶液の分解の目安となる着色は見られなかった。CYVADIC 療法を継続するためには，この dacarbazine 投与時の苦痛を軽減することが必須であると考えられたため，dacarbazine 投与に関する文献検索を行った。

その結果，赤色写真光下で dacarbazine を投与したところ副作用が著しく軽減したことから，光による分解物が副作用の原因となる可能性を指摘した Baird らの報告⁴⁾が USP-DI に記載されており，この報告に基づいて2クール目の dacarbazine 投与時には点滴バッグ，点滴ルートをすべて遮光し，部屋のカーテンを引いてできるだけ暗

くし，dacarbazine 100 mg を250 ml の生理食塩水に溶解して30分かけて投与したところ，患者からの痛みの訴えはなくなり，CYVADIC 療法の継続が可能となった。

この時点では日本の添付文書には遮光投与を勧める記載はなかったが，dacarbazine の光分解物が血管痛に関与していることが強く示唆された。しかし，dacarbazine の分解は，濃度，pH および光の有無でさまざまに変化するため^{5,6)}，どの物質が疼痛の原因となるのかは，いまだ明らかではない。我々は dacarbazine 光分解物のうち疼痛原因となる物質を特定し，その疼痛発生機序および dacarbazine 溶解後の分解について若干の検討を加えて報告する。

Dacarbazine の分解様式

Fig. 1 に1981年に Horton らが報告した dacarbazine の分解様式を示す⁵⁾。Dacarbazine (I) は光の存在下で速やかに dimethylamine (II) と 5-diazoimidazole-4-carboxamide (Diazo-IC) (III) に分解し，その後，Diazo-IC は光存在下かつ $1 < \text{pH} < 7.4$ ではさらに反応活性の高い carben 体を経て 4-carbamoylimidazolium-5-olate (IV) になり，最終的には，Diazo-IC と 4-carbamoylimidazolium-5-olate のカップリング体である 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo) imidazolium-5-olate (V) を生成する。この最終産物であるカップリング体は赤桃色を呈する。一方，光の存在下 $\text{pH}=1$ または $7.4 \leq \text{pH}$ の条件，あるいは $1 < \text{pH} < 12$ の遮光下では Diazo-IC (III) は 2-azahypoxanthine (VI) へと反応が進むことが報告されている。

試薬および実験方法

Dacarbazine 分解物のうち Diazo-IC (III)，2-azahypoxanthine (VI) は，Shealy ら⁷⁾の文献をもとに合成した。4-carbamoylimidazolium-5-olate (IV) は，Horton ら⁵⁾の報告をもとに合成した。光分解物の最終産物である 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo) imidazolium-5-olate (V) は，Horton ら⁵⁾の文献を参考に水

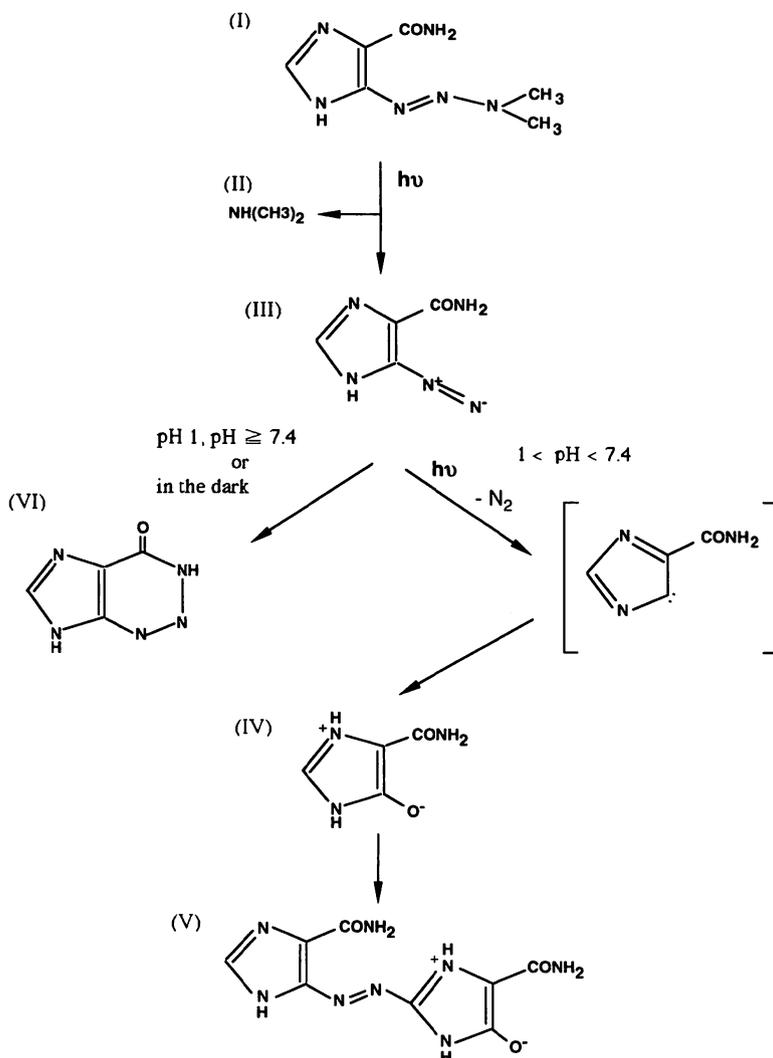


Fig. 1 Dacarbazine 溶液の分解様式

Dacarbazine (I) 溶液は光によって速やかに dimethylamine (II) と 5-diazoimidazole-4-carboxamide (Diazo-IC) (III) に分解し、その後暗所あるいは pH 1, pH ≥ 7.4 の条件で速やかに環化し、2-azahypoxanthine (VI) を生成する。一方、光の存在下、 $1 < \text{pH} < 7.4$ の条件では、reactive carbene を経て 4-carbamoylimidazolium-5-olate (IV) を生成する。(IV) は時間とともに (III) とのカップリング体 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo)imidazolium-5-olate (V) を生成し赤色を呈する。(文献 5) より)

dimethylsulfoxide (98 : 2) 中, Diazo-IC (III) と 4-carbamoylimidazolium-5-olate (IV) をクエン酸存在下, 100 W 高圧水銀灯 (Pyrex Filter) (理工科学産業, 千葉) を使用し, 10 時間照射し合成した。それぞれの化合物は合成後, 精製して用い

た。吸収スペクトルおよび分解速度の測定には dacarbazine (和光純薬, 大阪) を, 疼痛反応実験については dacarbazine 注協和(協和発酵, 東京) を用いた。その他の試薬については市販特級品を用いた。

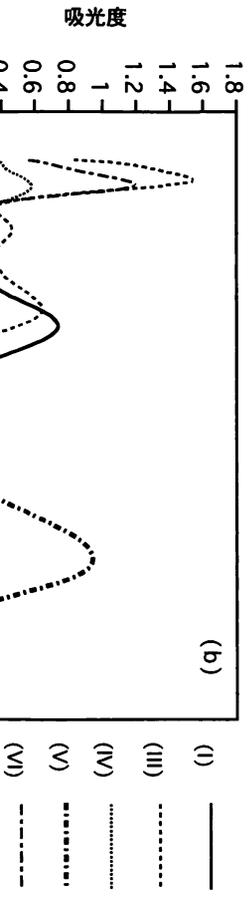
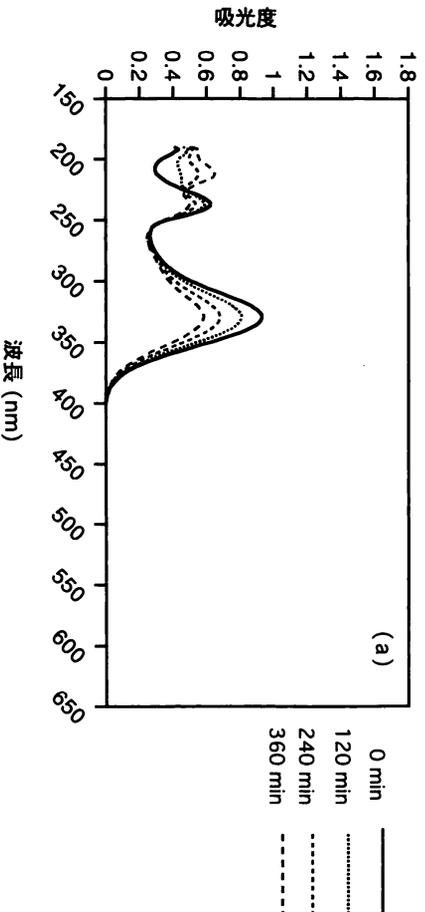


Fig. 2 紫外線照射によるdaccarbazine溶液の経時的吸収スペクトル変化 (a) と daccarbazine 溶液およびdaccarbazine分解物の吸収スペクトル (b)

(I) daccarbazine, (III) Diazo-IC, (IV) 4-carbamoylimidazolium-5-olate,
 (V) 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo)imidazolium-5-olate,
 (VI) 2-azahypoxanthine

1. 吸光度測定

Daccarbazine および各分解物の吸収スペクトルを調べるため、それぞれの化合物を精製水で 10 $\mu\text{g/ml}$ に溶解し、190~900 nm の吸光度を吸光度計 UV-260 (Shimadzu, 京都) で測定した。さらに daccarbazine 溶液 (1 mg/ml, pH 6.8) に紫外線 (4 J/m²) を照射し、吸収スペクトルの経時的変化を 360 分まで調べた。

2. 疼痛反応実験

ddy 系雄性マウス (4 週齢, 体重約 30 g) に各試験溶液を 0.1 ml/10 g ずつ腹腔内投与し、透明なプラスチック製の行動観察用ケージに入れ、室温で疼痛反応を 40 分間観察した。疼痛反応について

は、マウスが伸展運動 (stretching reaction), よじり運動 (writting reaction) をした回数を疼痛の強度として測定した。Daccarbazine およびその分解物は生理食塩水に溶解して用いた。Diazo-IC (III), 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo)imidazolium-5-olate (V), 2-azahypoxanthine (VI) は溶解度が低いため、それぞれ 1, 0.05, 1 mg/ml の濃度で、その他の化合物は 10 mg/ml の濃度で用いた。疼痛反応陽性のコントロールとしては、daccarbazine 溶液 (10 mg/ml) に紫外線 (4 J/m²) を 120 分間照射して光分解物を生成させたもの、および炎症性の疼痛反応を起こすことが知られている希酢酸 (0.6%) を、疼痛反応陰性のコントロールとしては、生理食塩水を用いた。

Table 1 Dacarbazine およびその分解物によるマウス疼痛反応

経過時間 (分)		0~5	6~10	11~15	16~20	21~25	26~30	31~35	36~40	陽性 マウス (匹)
薬物名	濃度	疼痛回数* (回)								
生理食塩水	0.9%	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0
(I)	10 mg/ml	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0
120分紫外線照射(I)	10 mg/ml	6.8±3.6	3.6±1.4	3.0±2.3	2.6±1.6	1.6±1.9	1.0±1.1	1.2±1.6	0.4±0.8	5
(II)	10 mg/ml	0.0±0.0	0.8±1.6	0.0±0.0	0.0±0.0	0.2±0.4	0.2±0.4	0.0±0.0	0.0±0.0	1
(III)	1 mg/ml	14.4±4.7	8.4±4.0	5.4±2.6	3.4±2.2	2.6±2.2	2.4±1.6	1.8±1.6	1.8±2.2	5
(IV)	10 mg/ml	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0
(V)	0.05 mg/ml	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0
(VI)	1 mg/ml	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0
希酢酸	0.6%	1.8±3.1	6.2±9.0	8.8±9.2	7.4±4.8	7.8±7.5	4.8±4.5	5.0±4.0	2.0±2.0	5

n=5, *: mean±S. E. M.

(I) : dacarbazine, (II) : dimethylamine, (III) : 5-diazoimidazole-4-carboxamide (Diazo-IC), (IV) : 4-carbamoylimidazolium-5-olate, (V) : 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo)imidazolium-5-olate, (VI) : 2-azahypoxanthine

3. 鎮痛実験

強力な抗炎症作用と鎮痛作用を持つ diclofenac sodium 溶液 (5 mg/ml), 0.1 ml/10 g をマウス背部皮下に投与し, 15 分間行動観察用ケージで観察後, 希酢酸 (0.6%) および Diazo-IC (1 mg/ml) を 0.1 ml/10 g ずつ腹腔内投与し, 40 分間疼痛反応を観察した. Diclofenac sodium 濃度は, 高島らの報告⁹⁾した酢酸 stretching 法での ED₅₀ 値を参考にした.

4. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による dacarbazine 分解速度の測定

5 ml の dacarbazine 溶液を共栓付きガラススピッツ管に入れ, 紫外線 (4 J/m²) を照射した. その後, 試料を一定時間ごとに遮光スピッツ管に採取後, 速やかに氷冷し, 1 N-HCl を加えて希釈し, Fiore ら¹⁰⁾の報告を参考にして HPLC で測定した. HPLC 装置は Shimadzu HPLC システム (ポンプ: LC-6 A, システムコントローラー: SCL-6 A, UV 検出器: SPD-6 A, 自動記録計: C-R 3 A, オートインジェクター: SIL-6 A, カラム: C₁₈, Shimpac 4.6×15 cm, φ 5 μg) を用い, 室温で行った.

結 果

1. Dacarbazine の吸光度時間変化

Fig. 2 (a) は, dacarbazine 溶液 (1 mg/ml) に

紫外線を照射し, 経時的に測定した吸収スペクトルである. また Fig. 2 (b) は, それぞれ 10 μg/ml の dacarbazine および各光分解物水溶液の吸収スペクトルを示す. Fig. 2(a) に示すように 240 および 330 nm 付近の吸光度が経時的に減少し, かわって 210 nm 付近の吸光度が増加した. Fig. 2 (b) で明らかなように 240 および 330 nm の波長は dacarbazine の吸収極大であることより dacarbazine が紫外線によって分解し, 代わりに 210 nm 付近に吸収極大をもつ Diazo-IC (III), 4-carbamoylimidazolium-5-olate (IV) あるいは 2-azahypoxanthine (VI) が増加していることが推察された. Dacarbazine 溶液は紫外線照射により赤桃色を帯びてくるが, 500 nm 付近の吸光度変化は微小であり, 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo)imidazolium-5-olate (V) の生成量は極めて少ないものと思われた.

2. Dacarbazine および各分解物の疼痛反応

各溶液をマウス腹腔内に投与後, 疼痛反応を観察した結果を Table 1 に示す. すべてのマウスに疼痛反応が観察されたのは, Diazo-IC (III), 120 分紫外線照射後 dacarbazine 溶液, 希酢酸の 3 種類のみであり, 他の溶液では全く疼痛反応が見られなかった. Diazo-IC (III) と 120 分紫外線照射

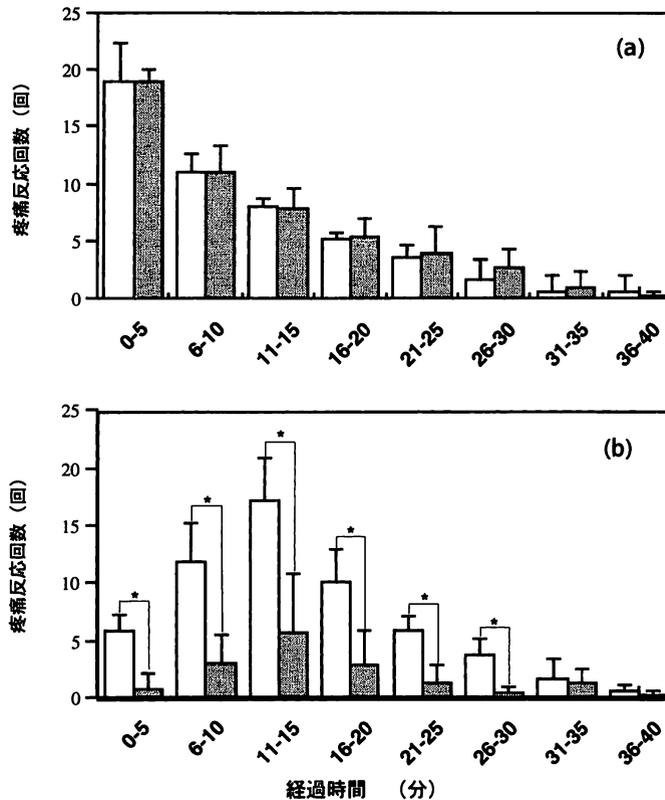


Fig. 3 Diazo-IC と希酢酸によるマウス疼痛反応に及ぼす diclofenac sodium の効果
Diclofenac sodium (5 mg/ml), 0.1 ml/10 g をマウス背部皮下に投与し, 15 分後に (a) Diazo-IC (1 mg/ml), および (b) 希酢酸 (0.6%) を 0.1 ml/10 g ずつ腹腔内投与した。

□: diclofenac なし, ■: diclofenac 併用
n=5, mean±S. E. M., *: 有意差有り, p<0.05

後 dacarbazine 溶液は, 同じ疼痛反応-時間経過を示し, 投与直後の 0~5 分間にそれぞれ 14.4 ± 4.7 回と 6.8 ± 3.6 回と最も多くの疼痛反応が観察され, その後は時間の経過とともに減少していった。一方, 同じく疼痛反応が陽性であった希酢酸では, 0~5 分間にも疼痛反応は観察されたが 1.8 ± 3.1 回と少なく, 疼痛反応のピークは遅れて観察され, 11~15 分に 8.8 ± 9.2 回であった。

これらのことから疼痛反応を引き起こす原因物質は, dacarbazine の光分解後に生成する Diazo-IC (III) であることが明らかとなった。また, Diazo-IC (III) の疼痛反応は投与直後に観察され, 希酢酸で見られる遅発性の炎症による疼痛とは異なる機序で引き起こされることが強く示唆された。

3. Diclofenac sodium による鎮痛実験

Fig. 3 は, 強力な抗炎症作用と鎮痛作用を持つ diclofenac sodium をマウスに前投与し, Diazo-IC (III) あるいは希酢酸を投与して疼痛反応を測定した結果である。希酢酸では, diclofenac sodium を投与することにより, 有意な ($p < 0.05$) 疼痛反応の減少が観察されたが, Diazo-IC (III) では疼痛反応には全く変化が見られなかった。このことから, Diazo-IC (III) による疼痛は, diclofenac sodium で抑制される炎症によるものとは異なる発生機序であることが示唆された。

4. Diazo-IC の疼痛反応閾値

Diazo-IC (III) が実際にはどの程度の濃度でマ

Table 2 Diazo-IC 濃度とマウス疼痛反応の関係

濃度 (mg/ml)	陽性/実験数 (匹)
1	5/5
0.5	7/8
0.25	5/5
0.2	4/5
0.1	2/5
0.05	0/5

ウスに疼痛反応を引き起こすのかを調べるため 0.05 mg/ml から 1 mg/ml までの濃度の Diazo-IC をマウスに投与し、疼痛反応を測定した結果を Table 2 に示す。0.25 mg/ml から 1 mg/ml の Diazo-IC 溶液では、ほぼすべてのマウスで疼痛反応が見られたが、0.1 mg/ml の濃度では疼痛反応を示したマウスは 5 匹中 2 匹であった。また、投与直後の 5 分間で観察された疼痛反応の回数は、1, 0.5, 0.25, 0.2, 0.1 および 0.05 mg/ml でそれぞれ 14.4 ± 4.7 , 6.8 ± 5.1 , 7.0 ± 3.8 , 4.2 ± 3.2 , 1.8 ± 2.2 , 0.0 ± 0.0 回であった。これらの結果から、Diazo-IC に対するマウスの疼痛反応の閾値は 0.1 mg/ml から 0.2 mg/ml の間にあることが示唆された。

5. Dacarbazine 分解速度

1 mg/ml, 0.1 mg/ml (pH 6.8~7.0) の dacarbazine 溶液の分解速度を HPLC を用いて測定した結果を Fig. 4 に示す。それぞれの溶液の分解速度は初期の直線性を示す部分において 0.51×10^{-3} , $0.59 \times 10^{-2} \text{min}^{-1}$ であった。とくに 0.1 mg/ml では分解反応は極めて速いため見かけ上 0 次反応で残存率が減少しており、1 時間で約 50% 近くが分解していることがわかった。

考 察

Dacarbazine の光分解物の有害作用やその回避方法についてはさまざまな報告^{4,5,11)}がなされている。また Kirk¹²⁾は、dacarbazine の光分解物による副作用回避のための点滴投与セットの有用性について報告している。しかし、光分解反応のう

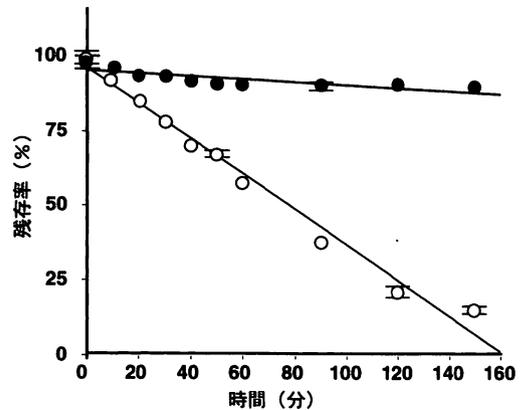


Fig. 4 Dacarbazine 溶液の分解速度
Dacarbazine 溶液に紫外線を照射し、HPLC で経時的に残存率を測定した。

○ : 0.1 mg/ml, ● : 1 mg/ml, n=3, mean ± S. D.

ちどの段階の生成物質が疼痛を引き起こす原因となるか、どのような条件でその原因物質が生成するかについてはこれまで明らかではなく、疼痛反応を起こすことなく dacarbazine 投与を行うための最適条件についての検討材料が少なかった。Dacarbazine 溶液に紫外線を照射後の経時的な吸収スペクトル変化と各分解物の吸収スペクトルを比較することによって、Diazo-IC (III), 4-carbamoylimidazolium-5-olate (IV) あるいは 2-azahypoxanthine (VI) が生成することが推測されたが、マウスを用いた疼痛反応実験によって、疼痛を引き起こす物質は Diazo-IC であることが明らかとなった。Horton らの報告⁵⁾でも光存在下 $1 < \text{pH} < 7.4$ では dacarbazine の分解は 2-azahypoxanthine を生成しない方向へ進むことがわかっており、痛みの原因物質は dacarbazine の最初の分解生成物である Diazo-IC であることを裏付けるものであった。

Dacarbazine は水溶液にすると暗所でもわずかながら分解する。しかし、光が存在するとその分解速度は著しく増加し、さらに濃度が低いと分解速度定数が大きくなることが知られている⁶⁾。我々の検討でも dacarbazine 溶液の分解速度は、0.1 mg/ml では 1 mg/ml の 10 倍以上の速さで

あり、濃度の低下とともに著しい分解速度の増加がみられた。さらに dacarbazine の分解は pH によっても大きく変化し、その分解の pH プロファイルは、光による分解速度と溶液中でのイオンの影響による分解速度の和となり、反応条件によって大きく異なることを Shetty らは報告している⁹⁾。Shetty らの報告をもとに dacarbazine (100 mg) を 250 ml の生理食塩水で希釈し、点滴用に調製した溶液 (0.4 mg/ml, pH 3.6~4.0) を室内散乱光下 (470 Lux), 30 分間保存すると、約 0.01 mg/ml の Diazo-IC が生成していると思われた。

一方、dacarbazine 溶液の暗所での安定性は著しく高く、分解速度は明所の 100 分の 1 以下と報告されており⁹⁾、点滴用に調製した dacarbazine 溶液 (0.4 mg/ml) を 1 時間室温に放置しても生成する Diazo-IC は、非常に少ないと推測される。したがって暗所では、Diazo-IC の生成量は痛みを引き起こす閾値まで達していないのに対し、明所では Diazo-IC の生成量が閾値を超えてしまうことが推測される。我々のマウスを用いた検討では疼痛反応閾値は 0.1 mg/ml 付近にあったが、ヒトでは感受性の違いからこの閾値がさらに低いことが示唆された。また紫外線照射後、dacarbazine 溶液は赤桃色を帯びてくるが、光分解の最終生成物 4-carbamoyl-2-(4-carbamoylimidazol-5-ylazo)imidazolium-5-olate (V) は極めて微量で赤桃色から赤色を呈するため、発痛物質である Diazo-IC (III) が生成していることを考慮して、着色した dacarbazine 溶液は投与すべきではない。

Diazo-IC による疼痛の発生機序については、diclofenac sodium によって Diazo-IC (III) による疼痛が全く抑制できなかったこと、疼痛反応の発現が投与直後から見られたことより、酢酸に代表される炎症性の疼痛とは異なることが明らかとなった。しかし、どのような機序であるかについては今後の詳細な検討を要する。

Dacarbazine は光に不安定であり、その分解の初期段階で生成する Diazo-IC が疼痛の原因物質であったことより、dacarbazine 注射剤調製時ではできるかぎり暗所で速やかに行い、調製後は完全

に遮光して投与することにより、副作用を軽減し、かつ確実な抗腫瘍効果が期待できるものと考えられる。

文 献

- 1) Sutow, W. W. and Maurer, H. M.: Chemotherapy of sarcomas—A perspective. *Semin. Oncol.*, **8**: 207-214 (1981).
- 2) Shealy, Y. F., Krauth, C. A. and Montgomery, J. A.: Imidazoles. I. Coupling reactions of 5-diazoimidazole-4-carboxamide. *J. Org. Chem.*, **27**: 2150-2154 (1962).
- 3) Shealy, Y. F., Krauth, C. A., Clayton, S. J., et al.: Imidazoles V. 5 (or 4)-(3-Alkyl-3-methyl-1-triazeno)imidazole-4 (or 5)-carboxamides. *J. Pharm. Sci.*, **57**: 1562-1568 (1968).
- 4) Baird, G. M. and Willoughby, M. L. N.: Photodegradation of dacarbazine. *Lancet*, **2**: 681 (1978).
- 5) Horton, J. K. and Stevens, M. F. G.: A new light on the photodecomposition of the antitumour drug DTIC. *J. Pharm. Pharmacol.*, **33**: 808-811 (1981).
- 6) Shetty, B. V., Schowen, R. L., Slavik, M., et al.: Degradation of dacarbazine in aqueous solution. *J. Pharmaceut. Bio. Anal.*, **10**: 675-683 (1992).
- 7) Shealy, Y. F., Struck, R. F., Holum, L. B., et al.: Synthesis of potential anticancer agents. XXIX. 5-Diazoimidazole-4-carboxamide and 5-diazo-*v*-triazole-4-carboxamide. *J. Org. Chem.*, **26**: 2396-2401 (1961).
- 8) Horton, J. K. and Stevens, M. F. G.: Triazines and related products. Part 23. New photoproducts from 5-diazoimidazole-4-carboxamide (Diazo-IC). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.*: 1433-1436 (1981).
- 9) 高島俊行, 加堂洋一, 小野隆治ほか: GP 45840 の抗炎症作用。基礎と臨床, **6**: 1682-1689 (1972).
- 10) Fiore, D., Jackson, A. J., Didolkar, M. S., et al.: Simultaneous determination of dacarbazine, its photolytic degradation product, 2-azahypoxanthine, and the metabolite 5-aminoimidazole-4-carboxamide in plasma and urine by high pressure liquid chromatography. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **27**: 977-979 (1985).
- 11) Islam, M. S. and Asker, A. F.: Photostabilization of dacarbazine with reduced glutathione. *J. Pharm. Sci. Technol.*, **48**: 38-40 (1994).
- 12) Kirk, B.: The evaluation of a light-protective giving set. *Int. Ther. Clin. Monit.*, **5/6**: 78-86 (1987).