

Yellow No. 1 Naphthol Yellow S	++ ##	++ ##	## ##	## ##	++ ++	## ##	++ ##
No. 4 Tartrazine	- ++	- - +	+ ++	+ ++	- ++	+ ++	- ++
No. 5 Sunset Yellow FCF	- ++	- ++	- - +	+ ++	- ++	+ ++	- ++
Green No. 1 Guinea green B	+ ++	+ ++	+ ++	+ ++	- ++	+ ++	+ ++
No. 2 Light green SF Yellowish	++ ##	++ ##	++ ++	+ ##	- ##	++ ++	++ ++
Blue No. 1 Brilliant Blue FCF	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
No. 2 Indigo carmine	++ ##	## ##	## ##	## ##	++ ##	## ##	++ ##
Violet No. 1 Acid Violet	- - +	- - +	- - +	- - +	- - +	- - +	- - +

- ; no change + ; gel cloudy by Bacteria ++ ; slightly change ## ; considerably change.

奥田高千代, 北村二郎, 味香喜代子: *p*-Aminothiobenzamide 誘導体の抗菌性 (第一報)
合成と試験管内抗菌力試験.

Takachiyo Okuda, Zirō Kitamura and Kiyoko Azika : Antibacterial
Activity of *p*-Aminothiobenzamide Derivatives I.
Syntheses and Antibacterial Activity *in vitro*.

スルフォンアミド剤 (S 剤) の作用機作については多くの研究がなされ種々の仮説が提出されている。¹⁾ そのうちで主なものは Wood-Fieldes のパラアミノ安息香酸 (PABA) 拮抗説である。即ち PABA が S 剤の菌阻止力に対し拮抗作用を示す事実と、PABA が或る種の細菌に対し顕著な増殖促進作用を有し、いわゆる発育素又は必須代謝基質ともいべき物質であるという事実に基礎をおく仮説であつて、細菌の細胞内において酵素との結合を PABA と S 剤とが競り合い PABA と酵素との結合、或るいはその利用を S 剤が阻害するため、葉酸の合成やメチオニンの合成過程が阻害され、その結果細菌の増殖が阻止されるとするものである。

また化学構造と抗菌作用との関係²⁾ についても多数の研究がなされているが今だ共通的原理を見出すには至っていない。はじめ多くの研究者によつて S 剤の作用に対し $\text{—HN—} \langle \text{C}_6\text{H}_4 \rangle \text{—SO}_2\text{NH—}$ 基の骨格の不可欠性が唱えられたが、これは系統的に化学構造と抗菌性の関係を研究したものでもなく、且つ PABA との関係において立証されたものでもなかつた。

S 剤の抗菌力の強さは PABA による拮抗作用を打消す能力に比例することは多くの研究者の認めるところであるが、R. Kuhn は³⁾ *p*-aminobenzamide (I), *p*-aminothiobenzamide (II) を含む一連の *p* 位に —NH_2 基を有する化合物について *Streptococcus plantalum* を用い PABA との拮抗比を調べ拮抗比の減少と発育阻

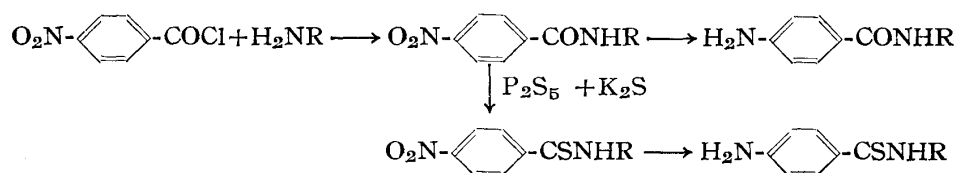
1) 紫田: “季刊薬学”, 2, No. 1, 41 (1948) 参照

2) 鶴岡: 薬誌, 71, 336 (1951).

3) R. Kuhn, et al: Ber, 75, 711 (1942); *ibid.*, 76, 406 (1943).

止能力の増大が大體平行することを認めるとともに (I) は 1 mg/cc で發育促進的に作用するが 2 mg/cc では既に抑制的に働くことを、また (II) は 0.02 mg/cc で抑制的に働き、この作用は PABA によつて殆んど拮抗されないことを認め、興味ある基本構造を有する化合物であることを示唆している。更に H. Schmidt⁴⁾等は Thioacetazon の化学構造中の —NHCS— を抗菌作用の一つの中心をなすものと考え、*p,p'*-diethoxythiocarbanilde が *in vitro*, *in vivo* において強い抗結核作用を有することを見出した。このような見地から、著者等は (I) 及び (II) を基本骨格として、S 剤の發展にみられたような誘導体の合成を企図した。

Thiobenzamide 類の合成法としては数種の方法⁵⁾があるが著者等は酸アミドを五硫化磷及び硫化カリの混合微粉末と混じキシロール中で反応を行う水野⁶⁾等の thioacetanilide の合成法を応用した。またニトロ基の還元はパラジウム炭素を触媒として、メタノール或はアセトン溶媒中で接触還元を行つた。しかしチアゾール誘導體では原料回収に終り目的物を得る事が出来なかつた。反応過程を示せば次の如くである。



ここに使用した異項環アミン類は 2-aminothiazol, 2-amino-4-methylthiazol, 2-aminopyrimidine 及び 2-amino-3,4-dimethylisoxazol であり、多数の S 剤のうち現在繁用されている S 剤が、その構造中に持つ異項環アミン類である。著者等の合成した化合物を示せば Table I の様なものである。

Table I.

(III) R = —H	(XI) R = —H	(I) R = —H	(II) R = —H
(IV)	(X)	(XIV)	(XVIII)
(V)	(XI)*	(XV)	(XVIII)*
(VI)*	(XII)*	(XVI)*	
(VII)	(XIII)*		
(VIII)*			

(*は文献未知の化合物)

4) H. Schmidt, et al: Am. Rev. Tuberc. **64**, 1 (1951); G. Domagk, et al: Ibid., **61**, 8 (1950); C. F. Huebner, et al: J. Am. Chem. Soc. **75**, 2274 (1953).

5) H. Rivier, J. Zeltner: Helv. **20**, 691 (1937); K. Kindler: Ann. **431**, 209 (1932).

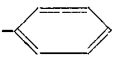
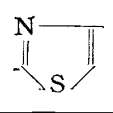
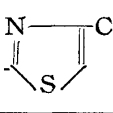
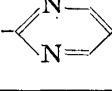
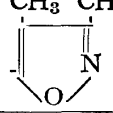
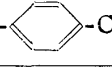
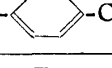
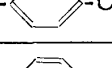
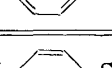
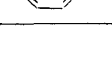
6) 水野, 渡辺: 薬誌 **68**, 247 (1948).

目的とした *p*-aminothiobenzamide 誘導体としては isoxazol 誘導体 (XVIII) を得たにすぎなかつたが, 多くの研究者が *p*-nitrobenzoic acid の誘導体, 特にチオエステル類に強い抗菌作用を認めているので, Table I. の化合物 18 種類について *in vitro* の黄色ブドウ球菌及び大腸菌に対する抗菌作用を調べた. その結果は Table II. に一括表示した.

Table II から, 化合物 (II), (XVII), 及び (XVIII) に於て僅かに *p*-aminobenzensulfonamide に匹敵する作用を認めたのみで, 他はいづれもその作用が僅微であるか殆んど認められず, S 剤の場合には N⁴ を異項環基で置換した場合には抗菌作用が著しく増強せられるのに反し, (II) の場合には全く逆の現象を示し (XVIII) は (II) の 1/2 の作用しか示さなかつた. また thiobenzamide 誘導体では *p*-位の -NO₂ を -NH₂ とすることにより作用の増強をみたが, benzamide 誘導体では殆んど変化がみられなかつた. 尙実験の部に記した方法でこれら薬剤の作用は発育阻止濃度全域に涉つて静菌的なものであることを認めた.

本実験にあたり御便宜を賜つた宮道学長に謹謝し, 種々御助言を戴いた本学千田博士, 岐阜衛生研究所長栗本博士に深謝する. 又元素分析を行はれた京大薬学科岩田秀子氏に謝意を表す.

Table II. Antibacterial Activities
The highest dilution inhibiting the growth.
(Incubation time: 24 hrs.) x 1,000

-R Strain	-H											
	St. a.	E. coli	St. a.	E. coli	St. a.	E. coli	St. a.	E. coli	st. a.	E. coli	St. a.	E. coli
O ₂ N-  -CONHR	< 1	< 1	2	2	< 1	< 1	< 1	< 1	2	2	< 1	1
H ₂ N-  -CONHR	< 1	< 1	4	2	—	—	—	—	2	2	4	4
O ₂ N-  -CSNHR	2	< 1	< 1	2	2	< 1	1	2	—	—	< 1	< 1
H ₂ H-  -CSNHR	32	16	32	16	—	—	—	—	—	—	16	8
H ₂ N-  -SO ₂ NHR	32	16	—	—	64	32	—	—	128	32	128	64

実験の部

(I) 合成の部

2-(*p*-Nitrobenzoyl)-amino-4-methylthiazol (VI) 2-amino-4-methylthiazol 5.5g をアセトン 30cc にとかし, 重炭酸ナトリウム 5g を加え *p*-nitrobenzoylchloride 9g のアセトン溶液 (30cc) を除々に加える. 発熱, 発泡して反応は進む. 急激な反応が静まつてから更に 1 時間還流下に加熱し反応を完結させた後, アセトンを溜去し水を加えて沈殿を濾取, 水洗後 キシロールから再結晶する. mp 218~219°. 黄色針状晶. 収量 10g (79%). C₁₁H₉O₃N₃S 計算値 N 15.96, 実験値 N 15.79.

7) I. G.: J. P. 149766; 151391; 松川, 伴, 今田: 薬誌 71, 477 (1951).

2-(*p*-Nitrobenzoyl)-amino-3·4-dimethylisoxazol (VIII) (VI) の 2-amino-4-methylthiazol の代りに 2-amino-3·4-dimethylisoxazol を用い、同様に反応させる。メタノールから再結晶。mp 200°。白色針状晶。収量 9 g (71%) $C_{12}H_{11}O_4N_3$ 計算値 N 16.09, 実験値 15.89.

2-(*p*-Nitrothiobenzoyl)-aminothiazol (IX) (V) 4.5 g をテトラリン 80 cc に熱時とかす。反応液を攪拌しつつ 150° に保ち、十分乾燥した P_2S_5 1.1 g 並びに K_2S 1.6 g の混合微粉末を 20 分間に加えた。尚 30 分間 150° に於て攪拌を続けた後、温時濾過し固形物と分離した。冷後濾液から赤橙色板状晶 2.5 g (53%) を得た。大量のトルエンより再結晶 mp 248~249°。 $C_{10}H_7O_2N_3S_2$ 計算値 N 15.84, 実験値 N 15.36.

2-(*p*-Nitrothiobenzoyl)-amino-4-methylthiazol (XII) (III) 2 g をキシロール 100cc に加熱してとかし、激しく攪拌しながら徐々に P_2S_5 5 g を加え、3 時間加熱攪拌を続けてから放冷し、沈澱を濾取する。5% NaOH 溶液 100cc で抽出し、酢酸で酸性となし、生じた沈澱をメタノールから再結晶する。mp 243°。橙色柱状晶。収量 1.0 g (48%)。 $C_{11}H_9O_2N_3S_2$ 計算値 N 15.04, 実験値 14.66

2-(*p*-Nitrothiobenzoyl)-amino-3·4-dimethylisoxazol (XIII) (XII) と同様処理し、リグロインから再結晶することにより mp 153~154° の赤橙色針状晶を 57% の収率で得た。 $C_{12}H_{11}O_3N_3S$ 計算値 N 15.15, 実験値 N 14.88.

2-(*p*-Aminobenzoyl)-amino-3·4-dimethylisoxazol (XVI) (VIII) をメタノールに溶かし、パラジウム炭素を触媒として接触還元を行つた。mp 174°。白色針状晶。 $C_{12}H_{13}O_2N_3$ 計算値 N 1817, 実験値 N 17.94.

2-(*p*-Aminothiobenzoyl)-amino-3·4-dimethylisoxazol (XVIII) (XVI) に記載の様に (XIII) を接触還元し橙黄色針状晶 mp 219° を得た。 $C_{12}H_{13}ON_3S$ 計算値 N 16.99, 実験値 N 16.57.

(II) 試験管内抗菌力試験

i) 基礎培地

基礎培地として次の組成のものを用いた。

E. coli communior		St. aureus	
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.5 g	Pepton	10 g
NaCl	1.5 g	Meat-ext.	10 g
Na. glutamate	1.9 g	NaCl	2 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.02 g	Aq. dest.	1000 cc
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	0.02 g	PH	7.0
KH ₂ PO ₄	1.5 g		
Glucose	2.0 g		
Aq. dest.	1000 cc		

上記試料を秤量し、各々を予め別個に蒸留水にて溶かし次いで各水溶液を合して 1,000 cc となし、Bouillon-Pepton 液は 4% NaOH で PH 7.0 となる様に修正した。

ii) 被検薬物の原液調製 a) 水溶液の場合 (Na 塩として) 被検薬物の 0.02 g を秤取しこれに当量の NaOH を N/10 NaOH により計算量とり水を加へて全量 2 cc とした。(従つて 100 倍溶液である)

b) アセトン溶液の場合 (アルカリ不溶の物) 被検薬物を 0.02 g 秤取しアセトンを加へて 100 倍溶液とした。

iii) 稀釈列の調製 一般遁下稀釈法によつた。即ち基礎培地を第一の試験管には 3.6 cc (アセトン溶液の場合は 4 cc) その他には 2 cc 宛を滅菌試験管に分注し、次いで被検薬物を第一の試験管に 0.4 cc 加へ (原液の 10 倍となる) その 2 cc を他の試験管に移し、更にこれを繰返して稀釈列を作つた。

iv) 被検菌 岐阜県衛生研究所保存株の *Escherichia coli communior* 及び *Staphylococcus aureus* を用いた。寒天斜面培地に 18~20 時間 38°C に培養しその一白金耳を普通 Bouillon 液 10 cc 中に移植したものを菌液として被検薬品の稀釈列に一白金耳宛接種して、24 時間 37°C に培養後菌発育による混濁を肉眼により検し、全く透明なる濃度を最小有効稀釈濃度とした。(Table 1 参照) 更に一部のものにつき判定後普通寒天平板に一白金耳を移し菌種を確認するとともに薬物の発育阻止作用が殺菌的であるが静菌的なものであるかを調べた。

北村二郎, 奥田高千代: *p*-Aminothiobenzamide 誘導体の抗菌性 (第二報)¹⁾

Resting Cell の呼吸に対する影響

Zirō Kitamura and Takachiyo Okuda: Antibacterial Activity of
p-Aminothiobenzamide Derivatives II. Influence upon
Respiration of Resting Cell.

前報で *p*-aminobenzoic acid (PABA) 拮抗物質として *p*-aminothiobenzamide (PATA) 誘導体の合成を企図し、その中間体をも含めて *in vitro* の抗菌試験を行つたが、基本骨格とした PATA より有効な物質は得られなかつた。然し前報に於てもふれたが既に R. Kuhn が *Streptococcus plantalum* について認めたように PATA が PABA に拮抗されないことから此等誘導体が S 剤とはその作用機作を異にするものではないかと考えられる。またこれ等誘導体の作用が静菌的なものであつて殺菌的には働かないことが認められたことから、その作用は細胞の組織に決定的な障害を与へ直接生命を奪う形のものではなく、何らかの形で正常な代謝反応のある過程が中断され、呼吸作用が阻害をうけ、二次的に増殖が抑制され、その結果としての静菌作用であらうことも十分考えられるところであり、もし細胞の組織そのものを全く破壊することなく、しかも呼吸系を阻害するものとするれば当然呼吸に関与する酵素系の一つ或いはそれ以上が阻害をうけるわけである。

以上のような観点から Table 1 にあげた化合物につき細菌の呼吸に対しどのような影響を与えるかを調べた。

1) 奥田, 北村, 味香: 本誌 5, 32 (1955)