品). $C_{29}H_{42}O_6$ 計算値 C 71.57, H 8.70, 実験値 C 71.60, H 8.82.

3) 3-decanoyl-4,7-dihydroxycoumarin (XIV_B). mp 169~170°. 無色針状品 (70% アルコールより再結晶). $C_{19}H_{24}O_5$ 計算値 C 68.65, H 7.28, 実験値 C 68.73, H 7.29.

4) 7-dodecanoyl-4,7-dihydroxycoumarin (XV_C). mp 149~150°. 白色小針状品 (70% アルコールより再結晶). $C_{21}H_{28}O_5$ 計算値 C 69.97, H 7.83, 実験値 C 70.04, H 7.89.

5) 3,7-didodecanoyl-4,7-dihydroxycoumarin (XV_A). mp 111~112°. 白色針状品 (アルコールより再結晶). $C_{33}H_{50}O_6$ 計算値 C 73.03, H 9.29, 実験値 C 73.01, H 9.16.

6) 3-dodecanoyl-4,7-dihydroxycoumarin (XV_B). mp 167~163°. 無色針状品 (70% アルコールより再結晶). $C_{21}H_{28}O_5$ 計算値 C 69.97, H 7.83, 実験値 C 70.32, H 7.81.

尙 $FeCl_3$ 呈色反応は A 型 C 型では淡橙黄色, B 型は深紅色を示した.

直接閉環法による 3-butyryl-4-hydroxy-7-acetoxycoumarin (XVI) の合成. 此の場合は β -ketocapronic ester 6 g (0.038 mol) を用い β -resorcylic acid diacetate 3 g (0.0126 mol) より誘導せる chloride と, 前報の場合と全く同様に 12 時間反応させた. 成績体のエーテル溶液を重曹水で抽出し此の部分より得た粗結晶を更にアルコールから再結晶する. mp 129~130°. 淡黄色針状品 (得量 1.2 g). (XIII_B) をアセチル化して得た物質を混融して融点降下しないが, (XIII_A) と混融すると顯著に降下するのを認めた.

東京大学傳染病研究所第六研究部

Summary

The acylation of 4,7-dihydroxycoumarin by the use of butyryl, decanoyl and dodecanoyl chlorides in pyridine gave products different from the case of the use of acetyl chloride, the products being 4-hydroxy-7-acyloxy-coumarin (C-type) and 3-acyl-4-hydroxy-7-acyloxycoumarin (A-type). The objective compounds possessing acyl in the 3-position alone, i. e. 3-acyl-4,7-dihydroxycoumarin (B-type), were obtained only after saponification of the A-type products. Consideration of the present and the previous reactions using acetyl chloride seems to point that under such conditions, the acylation of 4,7-dihydroxycoumarin takes place first in the phenolic hydroxyl at 7-, followed by attack on the 3-position, the enolic hydroxyl at 4-position remaining indifferent to acylation.

(Received October 23, 1951)

43. 井口定男：ベンゼン核に置換基を有する 3-アチル-4-ヒドロキシクマリン類について その 3 (トリカルボニルメタン原子団を有する化合物の抗菌性 第 7 報)

Sadao Iguchi: The Antibacterial Properties of Compounds containing the Tricarbonyl-methane Group. VII*. On 3-Acyl-4-hydroxycoumarins containing Substituents in the Benzene Nucleus.

(Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo**)

今回は 3-acyl-4-hydroxycoumarin の 7 位にニトロ基を有する 3-acyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin 類の合成を行い, ニトロ基の如き electronegative radical をベンゼン核に導入した場合に抗菌性に及ぼす影響を検討する目的で実験を行つたので, その結果を報告する. 合成法は Justoni, Terruzzi, Pirola 等¹⁾ が *p*-aminosalicylic acid の合成に際して用いた方法を踏襲し, 先ず *p*-nitrosalicylic acid を作り此のアセタートの酸クロ

* For the previous papers in this series see foot-note 1) 2) 3) of (VIA).

** Shirokanedai-machi, Minato-ku, Tokyo.

1) R. Justoni, M. Terruzzi, C. Pirola: C. A. 43, 2189 (1949).

リドと β -ケトン酸エステルを縮合させて閉環反応を行い一挙に 3-acetyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin に導いた。即ち *o*-toluidine をニトロ化して得た *p*-nitro-*o*-toluidine を無水醋酸でアセチル化してアセタート²⁾ (I) とし、次に之を過マンガン酸カリで酸化すると *N*-acetyl-4-nitroanthranilic acid³⁾ (II) が得られる。之を塩酸と加熱して脱アセチルすると容易にアセチル基は離脱して 4-nitro-anthranilic acid³⁾ (III) となる。此処迄は平均得量 90% で極めて良好であつたが、次に (III) をデアゾ化して此のデアゾ溶液を 50% H_2SO_4 と加熱して 4-nitrosalicylic acid³⁾ (IV) に導く段階は反応中、極めて脱炭酸が行われ易く、平均得量は約 40% に過ぎなかつた。斯くて得た *p*-nitrosalicylic acid は熱湯より再結晶し $Fp\ 234\sim 235^\circ$ 白色針状晶でアルコール溶液は $FeCl_3$ 液により濃赤色を呈する。次いで更に之を無水醋酸でアセチル化し *p*-nitrosalicylic acid acetate (V) に導き、 $SOCl_2$ を用いて酸クロリドとなしてから β -ケトン酸エステルのナトリウム塩と無水エーテル中で縮合反応を実施した。用いた β -ケトン酸エステルはアセト醋酸エステル、 β -ケトカプロン酸エステル、及び β -ケトラウリン酸エステルで 3 位のアチル基としては acetyl, butyryl, decanoyl 基を夫々有する化合物を合成した。此の場合の縮合得量はアセト醋酸エステルの場合は約 70% で、3-acetyl 化合物を得たが、 β -ケトン酸エステルが漸次大きくなるに従つて得量は低下し、3-butyryl 化合物は約 62%、3-decanoyl 化合物は 25% の得量であつた。尚熔融点は夫々 $mp\ 203\sim 204^\circ$, $mp\ 169\sim 170^\circ$, $mp\ 158\sim 159^\circ$ でいずれもアルコールに難溶性であるが、アルコールから再結晶し白色小針状結晶となり、 $FeCl_3$ 液による呈色反応は淡橙黄色を呈しエノール性反応陽性である。又此等物質の紫外外部吸収スペクトル曲線は 3 者とも極めて一致して

R	CH ₃	C ₃ H ₇	C ₉ H ₁₉
物質番号	VI	VII	VIII

Fig. 3

溶媒：アルコール

濃度： 10^{-4} mol

(Beckman Spectrophotometer により測定)

VI ——— R = CH₃
 VII R = C₃H₇
 VIII ——— R = C₉H₁₉
 NS *p*-Nitrosalicylic acid
 NSA " -acetate

2) Noelting : Ber. 17, 269.

3) Wheeler : Am. Chem. J. 20, 219; Ullmann : Ber. 36, 1801; Seidel : Ber. 34, 4352.

おり 255 m μ 及び 320 m μ に極大値を有する比較的なだらかな曲線を示し、従来の 4-hydroxycoumarin 系統のものとは全然型を異にしており、又 *p*-nitrosalicylic acid 及びそのアセタートとも相違した型を示している (Fig. 3 参照)。

以上合成した 3-acyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin 及び前報*の 3-acyl-4,7-dihydroxycoumarin 及び 3,7-diacyl-4,7-dihydroxycoumarin に就いて *Staphylococcus aureus* 及び *Escherichia coli* に対する抗菌性を検討した。その結果を一括すれば別表 (抗菌性表) の如くである。

Staph. aur. に対しては 7-hydroxy 及び 7-nitro 化合物はそれらの基を有しない 3-acyl-4-hydroxycoumarin⁴⁾ の場合と同様に 3 位のアチル基の長さを増大するに従つて抗菌性も増大する傾向を有している。そして 7-hydroxy 化合物では 3 位が dodecanoyl 基になると decanoyl 基の場合より活性を減少する事も 3-acyl-4-hydroxycoumarin の場合と同様である。然し此等の抗菌性の絶対値は 7 位に此等の置換基が導入された場合は置換基のないものよりも一般に低下する。そして此の低下の程度はニトロ基よりも水酸基の方が影響が大きい。

ところが此処に興味ある事は 3 位のアチル基の小さい場合のニトロ置換体の示す変則的な態度であつて、即ち、*Staph. aur.* の場合に 3-acetyl- 化合物に限つてニトロ基の導入は明かに抗菌性を高めているし、又一般的に此等系統の化合物が見るべき抗菌性を示さない *E. coli* に対しても 7 位 nitro- 置換体は 3-acetyl、及び 3-butyryl 基の場合には之に対応するものよりも高い抗菌性を示している。

更に今回此等化合物を合成中に副生的に得られた 7 位の水酸基及び 3 位の活性メチレン基に同じアチル基を有する 4-hydroxycoumarin 類に就き *Staph. aur.* に対する抗菌性を檢したところ、それらの 7 位の水酸基がアチル化されないものと比較すると、アチル基が acetyl の場合では変化が見られないが butyryl 基では明らかに抗菌性は大きくなつて居り、恰も此の水酸基の抗菌性低下効果を減少せしめて居るかの様に見えるが、decanoyl 及び dodecanoyl 基になると物質が水に難溶性の為か事実上抗菌性は無くなつてしまう。

最後に抗菌性の大きさから言えば 3-decanoyl-4-hydroxycoumarin の 6400 万倍 (*Staph. aur.*) を凌駕する

抗 菌 性 表

Staphylococcus aureus

Escherichia coli

	R'	R	CH ₃	C ₃ H ₇	C ₉ H ₁₉	C ₁₁ H ₂₃
	H		0.4	6.4	6400	3200
<i>Staph. aur.</i>	OH		0.4	0.4	200	10
	NO ₂		4.0	4.0	800	—
	CH ₃ CO·O		0.4	—	—	—
	C ₃ H ₇ CO·O		—	2.0	—	—
	C ₉ H ₁₉ CO·O		—	—	<1.0 (SL)	—
	C ₁₁ H ₂₃ CO·O		—	—	—	<1.0 (SL)
	H		0.2	<0.1	<1.0	<1.0
<i>Esch. coli</i>	OH		<0.1	<0.1	<1.0	—
	NO ₂		0.4	0.4	<1.0	—

Knight's Synthetic Medium 使用。倍数稀釈法により判定す。表中の数字は細菌の發育を阻止する最大稀釈倍数を示す (單位 1 万倍)。<1.0, <0.1 は夫々 1 万倍以下及び 1 千倍以下を示し、又 (SL) は物質の難溶性を示す。

* 4) 浮田, 水野, 山川: 本誌 71, 234 (1951)。

ものは得られず今回の最高は 3-decanoyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin の 800 万倍 (*Staph. aur.*) であったが、ベンゼン核に置換基を導入した場合の相対的な抗菌性の値の上では微妙な変化がうかがわれる此等物質の抗菌性の作用機構に関しては更に目下研究中である。

本研究中御指導御鞭撻を賜った秋谷教授、浮田助教授に謹しんで感謝する。尙原料の合成に熱心に協力された宇都木允之君、抗菌試験を担当された田村とみえ嬢、元素分析を実施された太田礼子、近藤瑩子の両嬢及び栗原文平君に感謝すると共に終始御援助を戴いた浮田桂造氏に厚く御礼申上げる。

実 験 の 部

***p*-Nitro-*o*-toluidine acetate (I)²⁾** *p*-nitro-*o*-toluidine を 3 倍量の無水醋酸と 2 時間加熱沸騰せしめてから氷水中に注入し析出する結晶を濾取して熱湯より再結晶。mp 150~151°, 白色針狀晶。得量 (95%)。

***N*-Acetyl-4-nitroanthranilic acid (II)³⁾** (I) 10 g を熱湯 1.5 L に溶解させ湯浴上で加温攪拌しながら、KMnO₄ 30 g を 300 cc の水に溶解せる溶液を徐々に加えて 2 時間反応を行う。放冷後、塩酸々性にとすると直ちに結晶が析出する。之を濾取し熱湯より再結晶。mp 215~216°, 淡黄色針狀晶。得量 10 g (90%)。

4-Nitroanthranilic acid (III)³⁾ (II) 10 g にアルコール 30 cc 及び濃塩酸 120 cc を加え湯浴上で 2 時間加温する。次いで水を加え稀釈すると多量の沈澱が析出する。之を濾取し熱湯より再結晶。mp 263~264°, 橙黄色針狀晶。得量 7.5 g (90%)。

4-Nitrosalicylic acid (*p*-Nitrosalicylic acid) (IV)³⁾ (III) 5 g に濃硫酸 13 g, 水 150 cc を加え 0~5° に冷却して攪拌しつつ亜硝酸ソーダ 3 g を水 6 cc に溶解せる溶液を徐々に加えジアゾ化すると内容は淡黄色澄明となる。此のジアゾ溶液を沸騰せる 50% H₂SO₄ 200 cc 中に滴下して加熱を継続し内容が微紅色を呈するに至れば反応を終了して放冷する。冷却と共に小針狀晶が析出するが更に水を加えて稀釈し結晶を濾取する。熱湯から再結晶。mp 234~235°, 白色小針狀晶。得量 2.2 g (44%)。FeCl₃ 液により濃赤色を呈する。

***p*-Nitrosalicylic acid acetate (V)³⁾** (IV) 3.5 g を無水醋酸 10 g と加熱しアセチル化する。稀アルコールから再結晶。mp 161~162°, 淡黄白色針狀晶。得量 2.5 g (60%)。C₉H₇O₆N 計算値 C 47.99, H 3.13, N 6.25, COCH₃ 19.12, 実験値 C 48.21, H 3.06, N 6.03, COCH₃ 19.58。

3-Acetyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin (VI)³⁾ (V) 2.25 g (0.01 mol) に SOCl₂ 4 g を加え 1 時間室温に放置してから湯浴上で 30 分加温すると内容は均一な褐色溶液となり盛んにガスが発生する。次いで減圧で過剰 SOCl₂ を回収すると褐色粘稠性の粗製クロリドを残留する。之をそのまま縮分反応に使用する。

無水エーテル 30 cc 中で粒狀ナトリウム 0.69 g (0.03 アトム) とアセト醋酸エステル 3.9 g (0.03 mol) を反応させ、予め作ったナトリウムアセト醋酸エステル中へ攪拌しながら上記クロリドの無水エーテル溶液を徐々に滴下すると直ちに黄褐色となり盛んにエーテルは還流して反応を開始する。次いで浴温を 50° に保ち沸騰状態を続け攪拌を継続すると漸次エーテル不溶性の沈澱物を析出する。8 時間反応をつづける。反応終了後放冷し、次いで水を加えてエーテル層を分離し、更に水層部をエーテルでよく抽出して先のエーテル部と合一する。エーテル溶液は 5% 重曹液、5% 苛性ソーダ液で順次振盪しアルカリ可溶部を移行させ、之を塩酸で酸性にとすると淡黄色の沈澱少量を得。尚先の水層部 (弱アルカリ性) を酸性にとすると此の部分から最も多量に析出物を得た。此等はいずれもアルコールに難溶性であるが多量の熱アルコールから再結晶し白色小針狀晶。いずれも同じ融点を示した。Fp 203~204°。得量 1.8 g (70%)。FeCl₃ 液により淡橙黄色を呈しエノール性反応陽性である。C₁₁H₇O₆N 計算値 C 53.0, H 2.83, N 5.65, 実験値 C 52.78, H 2.81, N 5.68。

3-Butyryl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin (VII)³⁾ β -ketocaproic ester 4.7 g (0.03 mol) とナトリウム 0.69 g (0.03 アトム) より ethyl sodiobutyrylacetate を作り、之に (VI) の場合と同様に *p*-nitrosalicylic acid acetate 2.25 g (0.01 mol) より誘導せるクロリドを加え、10 時間反応を行った。(条件は VI と同様)。次いで之を処理して得た粗結晶をアルコールから再結晶する。mp 169~170°。白色小針狀晶。得量 1.7 g (62%)。FeCl₃ 液により淡橙黄色を呈する。C₁₉H₁₁O₆N 計算値 C 56.32, H 4.0, N 5.05, 実験値 C 55.87, H 3.82, N 5.30。

3-Decanoyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin (VIII)³⁾ β -ketolauric ester 4.9 g (0.02 mol) とナトリウム 0.47 g (0.02 アトム) を無水エーテル中で反応させて常法通り ethyl sodidecanoylacetate をつくり、(VI), (VII) の場合と同様にクロリド (0.01 mol) を滴下して 10 時間反応を行った。アルコールから再結晶し mp 158~159°, 白色小針狀晶。得量 0.9 g (25%)。C₁₉H₂₃O₆N 計算値 C 63.15, H 6.41, N 3.49, 実験値 C 63.15, H 6.54, N 3.98。

β -ketonic ester. 浅野⁵⁾ 及び朝比奈, 中山⁶⁾ に依つて行われた方法に拠り、先ずナトリウムアセト醋酸エステルと脂肪酸クロリドを反応させてアチルアセト醋酸エステルを作り、次に之を無水エーテルに溶解し、乾燥アン

5) 浅野：本誌 44, 79 (1924)。

6) 朝比奈, 中山：本誌 45, 1059 (1925)。

モニアガスを導入して β -ケトン酸エステルに導いた。今回合成を行つたのは β -ketocaproic ester (ethyl butyrylacetate) 及び β -ketolauric ester (ethyl decanoylacetate) である。

R	Ethyl acylacetoacetate $\left(\begin{smallmatrix} \text{RCO} \\ \text{CH}_3\text{CO} \end{smallmatrix} > \text{CHCOOC}_2\text{H}_5\right)$				Ethyl acylacetate $(\text{RCOCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5)$			
	沸 点 °C	得量 %	FeCl_3 呈色反應		沸 点 °C	得量 %	FeCl_3 呈色反應	
C_3H_7	bp ₁₈ 118~120°	63	赤 色		bp ₁₇ 82~87°	68	赤 色	
C_9H_{11}	bp ₃ 137~141°	58	赤 色		bp ₁₃ 152~153°	40	赤 色	

東京大学傳染病研究所第七研究部

Summary

Following previous experiments, 3-acyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin was synthesized by the direct cyclization following condensation of *p*-nitrosalicylic acid acetate chloride with β -ketonic esters in absolute ether. The compounds synthesized were 3-acetyl-, 3-butyryl and 3-decanoyl compounds which all showed similar ultraviolet absorption curves. The antibacterial action of these 7-nitro and 7-hydroxy compounds against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was as follows:

1) Generally, the antibacterial action decreased with the introduction of a substituent as compared to that of non-substituted 3-acyl-4-hydroxycoumarin, the effect being greater in hydroxyl than in the nitro group.

2) In the presence of a substituent, the greater the acyl group substituted, the greater becomes the antibacterial action. The antibacterial action reaches the maximum with the decanoyl group in 7-hydroxy compounds.

3) When the acyl group in the 3-position of the 7-nitro compounds is small, i. e. in 3-acetyl compound, a slightly abnormal phenomenon is observed, the introduction of the nitro group heightening antibacterial action.

4) Of compounds substituted in the 7-position, 3-decanoyl-4-hydroxy-7-nitrocoumarin showed the strongest antibacterial action, being effective at 8,000,000 dilution against *Staph. aureus*.

(Received October 23, 1951)