図の左よりまず histamine を添加し腸管の収縮が最高に達し弛緩し始めた時直ちに Magnus cup を 3 回洗浄する。洗浄後 3 分 (最初の histamine 添加より 5 分) に histamine を添加し同様の収縮を描記する。このように histamine 単独による腸管の収縮が一定となるまで 5 分間隔で 3~4 回繰返し添加する。ついで検体の一定量 (図においては 10^{-5} mM) を添加し、2 分後に histamine を添加して検体の存在下における収縮を描記する。洗浄後再び histamine 単独を 5 分間隔で繰返し添加すると腸管の収縮度は検体を作作用させる前とほぼ同一の反応性を回復する。このように histamine と検体を交互に添加し同一の腸管により一定間隔を有する 3~4 量について検体存在下における収縮度を描記し、これと検体添加前の histamine 単独の収縮度を比較し抑制率を求めた。この抑制率をグラフ上にプロットし、ほぼ適合せる直線を引き抑制率が 50% となる量を求め検体相互間の比から効力比を求めた。

田辺製薬大阪研究所

UDC 615.778.475-012 : 576.852.211.095.18

277. (故)野津龍三郎, 渡邊 熙, 桑田 蕃, 横山脩造: 結核化学療法の研究 (第 11 報*)

2-Alkoxy-4-aminobenzoic Acid および 4-Alkylaminosalicylic Acid の合成

並びにその結核菌に対する抗菌作用

(The late) Ryuzaburo Nodzu, Hiroshi Watanabe, Shigeru Kuwata, and Shuzo Yokoyama :

Studies on Chemotherapy of Tuberculosis. XI. Syntheses of 2-Alkoxy-4-aminobenzoic Acid and 4-Alkylaminosalicylic Acid, and Their Bacteriostatic Action against *Mycobacterium tuberculosis*.

(Chemical Institute, Kōnan University**)

Some of 2-alkoxy-4-aminobenzoic acid, 4-alkylaminosalicylic acid, and 2-alkoxy-4-nitrobenzoic acid (alkyl = methyl, butyl, octyl, dodecyl, hexadecyl) were prepared and their bacteriostatic action against tubercle bacilli (human type) was tested in Kirchner medium. In these three compound series, it was found, as in other alkyl compounds already reported, that antibacterial activity increased with the number of carbon atoms in the alkyl, reached the maximum at around C_{12} , and decreased again over that number. The dodecyl derivatives of not only PAS but also of 4-nitrosalicylic acid, which by itself showed no remarkable activity, were as strongly antituberculous as PAS. This fact seems to suggest that, in some cases, even non-active compound may acquire strong antitubercular activity by introduction of alkyl group into it. The order of activity was: 4-alkylaminosalicylic acid > 2-alkoxy-4-aminobenzoic acid > 2-alkoxy-4-nitrobenzoic acid.

(Received April 21, 1959)

前報で報告した如く, PAS の脂溶性誘導体中に結核に有効な化合物のあることを期待して, その acyl 化合物を検索した結果, 4-lauroylaminosalicylic acid が *in vitro* で強力な抗結核性を有することを知った。この臨床への応用を試みたが, 膿胸の洗浄薬としては著効の認められる例もあつたが, 経口投与では良好な結果を得ることが出来なかつた。この原因はあるいは薬剤が消化管内で加水分解を受けることにあるかも知れないと考えたので, PAS に, 加水分解され難い形で alkyl 基を導入することを計画し, PAS の O-alkyl および N-alkyl 化合物を検討することとした。前者の合成は Sannié, Lapin²⁾ および Clinton 等³⁾ にならい, 次の順序によつた。

* 第 10 報: 本誌 **76**, 843(1956).

** Okamoto, Motoyama-cho, Higashinada-ku, Kobe.

1) 第 3 回日本化学療法学会 (昭和 30 年 4 月 4 日).

2) M. C. Sannié, M. H. Lapin: Bull. soc. chim. France **1950**, 322.

3) R. O. Clinton, et al.: J. Am. Chem. Soc. **74**, 592(1952).

(VI)を得るには(IV)を dialkyl 化した後部分水解すればよいが、長鎖アルキルの場合は生じた alcohol と (VI) との分離が厄介となり、アルキル化剤も多量を要するので予かじめ COOH 基を低級アルキル基でエステル化する方法を採つた。ただしその K-phenolate に脂溶性を与えるためにアルキルとしてブチルを選んだ。後者の合成は主として Ferreira⁴⁾により、PAS をアルキル化して得た(ただし alkyl = $n\text{-C}_4\text{H}_9$, $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$, $n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$, $n\text{-C}_{16}\text{H}_{33}$)。両者共低級アルキル体(ブチル迄)は既知物質であるが、この中 N-butyl 体の融点を Grimme 等⁵⁾は 134°, Ferreira⁴⁾は 120~122° と報告している。著者等は追試した結果 Grimme の値が正しいとの結論に達した。

これら O-alkyl 体、N-alkyl 体および中間体として得られた 2-alkoxy-4-nitrobenzoic acid の結核菌に対する抗菌作用は Fig. 1 に示す如くで、筆者等が既に報告したアルキル化合物の諸例⁶⁾と同じく、何れも抗菌力はアルキル基の炭素数の増加と共に漸増大し、 C_{12} 付近で極大となり、それ以上では却つて低下している。かつ極大値での抗菌力は何れも強く、PAS と同程度あるいはそれよりも強力である。殊に興味あることは 4-nitrosalicylic acid 自体にはさ程の抗菌性は認められないにも拘らず、その alkyl ether はアルキル基が適当の大きさの時に強い抗菌力を有することで、この例は無効とせられている化合物もアルキル基の導入により抗結核性を持つことのありうることを示すものと考え。また三者の抗菌力は 4-alkylaminosalicylic acid > 2-alkoxy-4-aminobenzoic acid > 2-alkoxy-4-nitrobenzoic acid の順であつた。

本研究に協力せられた寺尾昭子、古賀城一の両氏に感謝する。

実 験 の 部

A 合 成

2-Methylbenzoxazole (I) *o*-nitrophenol (工業用) 252 g を Ac_2O 900 cc に溶解し活性炭処理後、その 1/3 を 1 L オートクレイヴに入れ、Raney Ni (合金 60 g より作り Et_2O に懸濁) を全量の約 1/3 加え、水素初圧 70 kg/cm² で約 15 分常温で振盪すれば還元は終る。触媒を沈降させて反応液を抜き、再び各 1/3 量の原料および触媒を加え同様に還元。計三回反応後全液を集め、逕過して蒸留し bp 150° 以上の部分を集め、アルカリ洗浄後 Na_2SO_4 脱水、減圧蒸留、bp₂₄ 96~99°。収量 172 g (71.3%)。

5-Nitro-2-aminophenol (II) Sannié 等²⁾にしたがい (I) 70 g を冷 conc H_2SO_4 175 cc に溶解、conc H_2SO_4 70 cc + 発煙 HNO_3 60 cc で 20~25° でニトロ化し 6-nitro-2-methylbenzoxazole を得。これを約 12% HCl と加温水解して橙赤色の粗製 (II) を得。収量約 82 g。水より再結晶。黄色針状晶。150~165° で赤変後次第に暗変し 198~201° で分解 (文献値²⁾ 198~201° 分解)。

4-Nitro-2-hydroxybenzonitrile (III) Sannié 等にしたがい粗製 (II) 60 g より (III) 14.5 g (45%) を得。

4-Nitrosalicylic acid (IV) Sannié 等²⁾にしたがい粗製 (III) 40 g を H_2SO_4 と処理し (IV) 32.5 g (73%) を得。水より再結晶。帯黄色長針状晶。mp 229~231° (文献値²⁾ 232~234°)。

Butyl 4-nitrosalicylate (V) 粗製 (IV) 10 g, BuOH 60 g, H_2SO_4 10 g を約 16 時間還流し、減圧下 BuOH を留去後水を加えて汙別、2% Na_2CO_3 溶液で洗浄後含水 EtOH より反覆活性炭処理して再結晶。収量 8.9 g (68%)。mp 35.5~36.5° (文献値⁷⁾ 35~36°)。 Na_2CO_3 洗液より (IV) 1.3 g を回収。

2-Alkoxy-4-nitrobenzoic acid (I) (IV) 0.033 mol, K_2CO_3 末 0.051 mol を脱水キシレン 170 cc と攪拌下遊離する水を分離しながら水が遊離しなくなる迄還流 (約 2 時間)。これに alkyl *p*-toluenesulfonate 0.1~0.3 mol を加え、攪拌下遊離する水を分離しながら赤色の消失するまで還流 (7~13 時間)。冷後結晶を汙別、キシレンで洗浄、汙洗液を 20% NaOH で洗浄、活性炭処理後溶媒を減圧留去、alkyl 4-nitro-2-alkoxybenzoate を

4) P. C. Ferreira: Arquiv. biol. **34**, 134(1950); C. A. **45**, 6604 f (1952).

5) W. Grimme, H. Schmitz: Ber. **84**, 734(1951).

6) 渡辺: 本誌 **76**, 696(1956).

7) I. Kh. Fel'dman, A. M. Eidlin, Sbornik Statei: Obschchei Khim. Akad. Nauk S. S. R. **1**, 504 (1953); C. A. **49**, 959(1955).

得. そのまま 50% EtOH 120 cc に溶解し, Na_2CO_3 約 9 g を加え攪拌還流して加水分解 (約 1 時間で終る). EtOH を減圧留去し conc HCl を加えて生ずる沈殿を集める. 収率約 60%. EtOH より再結晶. 本法により methyl ether, mp 148~151° (文献値³⁾ 148.4~149.8°, 淡黄色針状晶, および butyl ether, mp 126~127.5° (約 120° で sinter) (文献値³⁾ 120.9~122.8°, 淡黄色針状晶を得.

(2) (V) 0.01 mol, K_2CO_3 末 0.017 mol を脱水キシレン 40 cc と攪拌下遊離する水を分離しながら約 2 時間還流し, alkyl *p*-toluenesulfonate 0.011 mol を加え, 赤色の消えるまで同上反応 (5~15 時間). 後同上処理して butyl 4-nitro-2-alkoxybenzoate を得. そのまま (1) と同じく加水分解し, EtOH より再結晶. 収率約 55%. 本法により octyl ether, mp 81~82° (約 70° で sinter), $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{N}$ 計算値 N 4.75, 実験値 N 4.71; dodecyl ether, mp 167.5~168.5°, $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}_5\text{N}$ 計算値 N 3.99, 実験値 N 4.25; hexadecyl ether, mp 99.5~102.5°, $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{O}_5\text{N}$ 計算値 N 3.44, 実験値 N 3.66 を得. 三者とも淡黄色針状微結晶.

2-alkoxy-4-nitrobenzoic acid はすべてアルカリ水溶液にとけ, octyl 以上は起泡性が著るしい.

2-Alkoxy-4-aminobenzoic acid nitro 化合物 100~600 mg を EtOH 20 cc に溶解, Ranney Ni 約 0.4 g を加え, 水素初圧 40~90 kg/cm², 約 70° で 2.5~3.5 時間振盪して還元, 触媒を濾別し, 窒素気流中で減圧乾固後 EtOH より再結晶. 本法によりつぎの化合物を得. methyl ether, mp 149~150° (decomp) (文献値³⁾ 150.5~151.4° (decomp)), 無色針状晶, 収量 200 mg より 100 mg; butyl ether, mp 165.5~167° (decomp) (文献値 167.6~169.9° (decomp)), 無色短立方体晶, 収量 600 mg より 370 mg; octyl ether, mp 73~74.5°, 無色針状晶, 収量 500 mg より 400 mg, $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}$ 計算値 N 5.28, 実験値 N 5.01; dodecyl ether, mp 86~88°, 無色針状微晶, 収量 100 mg より 50 mg, $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{O}_3\text{N}$ 計算値 N 4.36, 実験値 N 4.19; hexadecyl ether, mp 97.5~100°, 無色粉末状, 収量 500 mg より 340 mg, $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{O}_3\text{N}$ 計算値 N 3.71, 実験値 N 3.63. いずれも空气中では酸化され易い. アルカリ水溶液にとけ, octyl 以上は起泡性が著るしい.

4-Butylaminosalicylic acid^{*1)} 1) *m*-butylaminophenol^{*2)}: *m*-aminophenol 6.4 g, butyl *p*-toluenesulfonate 14.7 g, NaHCO_3 7.3 g, 水 15 cc, AcOEt 15 cc を 30~55° で 5 時間攪拌後 65° に上げ CO_2 の発生なくなるまで (計泡器による) 加熱. AcOEt で抽出, 1N HCl で逆抽出し, NaOH でリトマス中性とし Et_2O で抽出, 乾燥, Et_2O を留去後蒸留し bp₁₃ 175~179° の部分を集める. 収量 5.5 g. これは未反応の *m*-aminophenol を含有するので C_6H_6 に加熱溶解し, 析出する *m*-aminophenol を除き母液を乾固してそのままつぎの反応に利用. 収量 3.9 g.

2) 4-butylaminosalicylic acid⁵⁾: 上記 *m*-butylaminophenol 5 g, KHCO_3 10 g, KOH 1.8 g, 水 10 cc を 0.1 L オートクレイヴに入れ, 固形炭酸を入れて 35 気圧にし, 70~100° で 14 時間振盪. 反応液は AcOEt で洗浄後 HCl で pH 4 とし生ずる沈殿を集めて EtOH より再結晶. mp 134°, 収量 0.9 g (13.4%). $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}$ 計算値 N 6.70, 実験値 N 6.40.

4-Octylaminosalicylic acid PAS (市販 Na 塩) 3.5 g, *n*- $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{I}$ 4.8 g, EtOH 20 cc を水浴上 7 時間還流後 EtOH を留去し, Et_2O で抽出, 水洗後アルカリ水溶液に転溶し, 濾過後中和して Et_2O で抽出, Et_2O を留去して得られるシロップに C_6H_6 を加えると鱗片状結晶を析出. EtOH より再結晶. mp 118~121°, 収量 0.7 g. $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}$ 計算値 N 5.28, 実験値 N 5.86. 酸およびアルカリに可溶で溶液は起泡性がある.

4-Dodecylaminosalicylic acid PAS (同上) 3.5 g, *n*- $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{Br}$ 2.5 g, EtOH 16 cc, 水 5 cc を水浴上 6 時間還流後溶媒を留去し, Et_2O で抽出, Et_2O 留去後 C_6H_6 に加熱溶解し冷却すれば鱗片状晶を析出. EtOH より再結晶. mp 124~126°, 収量 0.5 g. $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{O}_3\text{N}$ 計算値 N 4.36, 実験値 N 4.44. 酸およびアルカリに可溶で溶液は起泡性が著るしい.

4-Hexadecylaminosalicylic acid dodecyl 化合物と同様にして得. mp 130~131°. $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{O}_3\text{N}$ 計算値

Fig. 1.

Bacteriostatic Power

- 2-alkoxy-4-nitrobenzoic acid
- ×-----× 2-alkoxy-4-aminobenzoic acid
- △---△ 4-alkylaminosalicylic acid

*1 PAS をベンゼン中 *n*- $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{COH}$, AcOH, Zn 末で還元アルキル化し mp 120~122° のものを得たが, 分析値が理論値に一致しない.

*2 Grimme 法を S. Hünig: Ber. 85, 1056(1952) にしたがって改良した.

N 3.71, 実験値 N 3.90. 酸およびアルカリに可溶で溶液は起泡性が著るしい.

B 抗菌試験

使用菌株は強毒人型菌 Frankfurt 株である. 菌は 3~4 週間岡一片倉培地に培養したもの 1 白金耳量を水約 2 cc に浮遊させ, 硝子玉で磨砕, 遠沈してその上澄約 0.02 cc を使用した. 培地は 10% 山羊血清加 Kirchner 培地 (培地量 10 cc) である. 薬剤はすべて Na 塩の形で使用した. 判定は 3~4 週間同時培養した後に行なつた. 結果は Fig. 1 に 2-alkoxy-4-nitrobenzoic acid を ○ 印で, 2-alkoxy-4-aminobenzoic acid を × 印で, 4-alkylaminosalicylic acid を △ 印で示す. 但し図は縦軸に 10 倍希釈濃度の希釈度を, 横軸にアルキル基炭素数をとつたもので, 曲線は各同族列化合物の抗菌力とアルキル基炭素数との関係を示す. なお 4-nitrosalicylic acid および対照としての PAS の抗菌力はそれぞれ 1:4,000 および 1:32,000 であつた.

甲南大学化学科

UDC 615.779.931-011:541.486

278. 坂口武一, 田口清水: テトラサイクリン誘導体の金属キレート化合物 (第 11 報*)

テトラサイクリンの金属キレートの単離およびその性状について

Takeichi Sakaguchi and Kiyomi Taguchi: Metal Chelate Compounds of Tetracycline Derivatives. XI. Studies on the Behavior of Separated Metal Chelate Compound of Tetracycline.

(Pharmaceutical Faculty, University of Chiba**)

Tetracycline-metal chelates were prepared with Th^{4+} , Zr^{4+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Al^{3+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , and UO_2^{2+} . Their properties, especially their solubility, and method of preparation are described. Tetracycline-Al chelate has a tendency to change rapidly into anhydrotetracycline-Al chelate when it is wet. This change is delayed on the storage of tetracycline-Al chelate shut off from air oxygen. The reason is not fully understood. The chelates isolated are as follows: Tetracycline- Th^{4+} , yellow-orange powder; tetracycline- Zr^{4+} , yellow-orange vitreous mass; tetracycline- Al^{3+} , yellow-orange powder which gradually changes to red; tetracycline- Cu^{2+} , yellow-brown powder; tetracycline- Co^{2+} , yellow-brown powder; tetracycline- Mn^{2+} , brown-yellow powder; tetracycline- UO_2^{2+} , red vitreous mass; tetracycline- Fe^{3+} , black-brown powder.

Infrared spectra of tetracycline-Th and -Zr indicated disappearance of carbonyl of C-11 in the tetracycline molecule, and the presence of metal chelate in C=O of C-11, which previously had been suggested by the present authors.

(Received May 7, 1957)

著者等は, テトラサイクリン類の金属キレートにつき種々研究を行なつて来ており, クロルテトラサイクリン (CT) およびオキシテトラサイクリン (OT) の単離およびその性状については先に報告した¹⁾.

今回はテトラサイクリン (TC) の Th^{4+} , Zr^{4+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Al^{3+} , Co^{2+} , Mn^{2+} および UO_2^{2+} 等の金属キレートを単離し, その mol 比, 溶解性等につき研究を行ない, あわせて TC 類の過塩素酸塩の性状および Th^{4+} , Zr^{4+} キレートの赤外部吸収スペクトルにつき研究を行なつた.

単離法: TC は強酸, アルカリ, 熱等に不安定な物質であるので, キレート化合物の単離は弱酸性にて行ない緩やかな条件のもとで反応せしめた. すなわち TC 塩酸塩の水またはエタノール溶液に金属の硝酸塩 (Fe^{3+} , Al^{3+} は塩化物を使用) の水またはエタノール溶液を加えて反応せしめ特に酸, アルカリの添加は行なわない. 金属キレートは溶液または沈殿として得られるから, 溶液の場合はエタノールおよびエーテルによりキレートを沈殿せしめる. 精製は再結晶が困難であつたので, 再沈殿および洗浄を繰返して行なつた.

単離した金属キレート化合物は特有な色 (TC- Th^{4+} 黄橙色, TC- Zr^{4+} 黄色, TC- Fe^{3+} 褐色, TC- Cu^{2+} カー

* 第 10 報: 本誌 79, 461(1959).

** Inohana-cho, Chiba.

1) 坂口, 田口, 福島, 小尾: 本誌 78, 177(1958).