acetylsalicylic acid に protective coating を施した後重曹と混合して、同じく 37°, 85% RH の恒温恒湿下に放置してその含量変化を観察した。Fig. 12 はその結果を示している。

田辺製薬株式会社大阪研究所

UDC 547.583.5.07 : 542.97

60. 鈴木 信：Raney Nickel を触媒とするパラアミノサリチル酸，
同誘導体ならびにその類似体の合成 (第2報*)

Makoto Suzuki: Syntheses of *p*-Aminosalicylic Acid, its Derivatives
and Analogous Compounds with Raney Nickel. II.

(Osaka Municipal Hygienic Laboratory**)

Aryl esters (aryl=*m*-tolyl, *o*-methoxyphenyl, 4-isopropyl-3-methylphenyl, and 2-isopropyl-5-methylphenyl) of *p*-aminosalicylic acid (PAS) and 4-amino-2-chlorobenzoic acid (*o*-Cl-PABA), and their *p*-succinamido compounds, *p*-maleylamidosalicylic acid, and *p*-phthalylamidosalicylic acid were prepared and their *in vitro* tests were carried out with tubercle bacilli, using Dubos medium and strains E₅, H₃₇Rv, and H₃₇Rv-R-PAS. The aryl ester of *o*-Cl-PABA had antibacterial activity against the H₃₇Rv-R-PAS strain, differing from PAS compounds, but its *p*-succinamido compounds, with the exception of *p*-isopropyl-*m*-cresyl and thymyl esters, had almost no such antibacterial activity. *p*-Maleylamidosalicylic and *p*-phthalylamidosalicylic acids showed comparatively good antibacterial activity.

p-Succinamido compounds, whose *in vitro* antibacterial power was weaker than that of sodium-PAS and which was expected to increase the antibacterial power by inhibiting the TCA-cycle of tubercle bacilli, did not show any better antibacterial activity than the free amino compounds.

(Received July 29, 1958)

第1報で *p*-aminosalicylic acid aryl ester (以下 PAS-aryl と略記) および PAS の合成並びにそれ等の抗菌力を報告した*。さて細菌の呼吸系に関して TCA-cycle 理論の存在が確認されていることは周知の事実であり、この見地から PAS-aryl, PAS およびその類似体の *p*-succinamido compd. および *p*-maleamido compd., さらに *p*-phthalamido compd を合成しすでに発表した²⁾ が 2-chloro-4-aminobenzoic acid (以下 *o*-Cl-PABA と略記)-aryl ester (aryl=*m*-tolyl, *o*-methoxyphenyl, 4-isopropyl-3-methylphenyl, 2-isopropyl-5-methylphenyl) 並びにその *p*-succinamido compds. をも合成し Dubos 培地³⁾ の変法培地⁴⁾ による抗菌試験につき発表した⁵⁾。この培地は PAS の結合物質として知られている血清 albumin を含んでいないから PAS を不活性化せしむることによる抗菌力の低下を招来する懸念なく⁶⁾ かつ比較的短期間 (約 10 日間) でしかも均等培養出来る好個な検定培地と考えられる。

一方合成中間物質である 2-chloro-4-nitrobenzoic acid は 2-chloro-4-nitrotoluene を酸化して得られるがむしろ *p*-nitroanthranilic acid をジアゾ化し熱時 CuCl₂・2H₂O を触媒とする Woodward の方法⁷⁾ で約 80% の収率で容易に得られる mp 141~143° の無色針状晶 (熱湯) である。これを POCl₃ による常法で aryl 化しさらに接触還元法 (Raney Ni)⁸⁾ で amino 体とした。 *p*-succinamido compds., *p*-maleamido compd. あるいは

* 第1報; 鈴木: 本誌 74, 703(1954) 並びに第74回日本薬学会年会で講演 (1954)。

** Kita-ō-gi-machi, Kita-ku, Osaka.

1) H. A. Krebs: Adv. Enzymology 3, 191(1943).

2) 第75回日本薬学会年会で講演 (1955).

3) R. Dubos, B. D. J. Davis: Exptl. Med. 83, 409(1946).

4) 大阪市立大学医学部細菌学教室 (未発表).

5) 日本薬学会近畿支部総会で講演 (1957 年 10 月).

6) J. Biol. Chem. 204, 289(1953).

7) P. H. Groggins: "Unit Processes in Organic Synthesis," 4th Ed. 135.

8) 鈴木: 本誌 74, 703(1954).

Table I.

Sodium glutamate (or Asparagine)	2.0000 (g.)
Bacto-Casamino acids	0.5000
Monopotassium phosphate	1.0000
Ferric ammonium citrate	0.0500
Disodium phosphate	2.5000
Calcium chloride	0.0005
Zinc sulfate	0.0001
Copper sulfate	0.0001
Magnesium sulfate	0.0100
Tween 80	0.2000
Distilled water	1000 cc.

pH 7.2; 15 lbs., 15 min., sterilize.

p-phthalamido compd. は PAS-aryl, *o*-Cl-PABA-aryl あるいは PAS と当 mol の無水コハク酸⁹⁾, 無水マレイン酸あるいは無水フタル酸を乾燥クロロホルムを溶媒として水浴上加熱せしむることによつて得られるがこの際一旦溶媒に溶解しついで急激に結晶析出する¹⁰⁾. これから溶媒を留去し希メタノールまたは希エタノールから再結晶した. これ等物質中 phenyl-*p*-succinamidosalicylate は甘味発現原子団である水酸基およびイミド基を有し甘味度ショ糖の約 13 倍に相当する特有の甘味性物質である. また *p*-succinamidosalicylic acid については Drain 等は mp 230°(decomp)¹¹⁾ と報告しているが, 著者の得たものは mp 206~207°(decomp) であつて *p*-maleamidosalicylic acid (mp 184~185°(decomp)) を水素添加 (Raney Ni) して得られるものとまったく一致し混融するも融点降下を示さず Ferreira 等の報告¹²⁾ に一致した.

p-succinamido compds. は遊離アミノ体より水に溶け易くアルカリ性水溶液にはさらに溶解度が高まる. そこで本物質含有培地の熱処理の場合の安定度試験として *o*-methoxyphenyl-*p*-succinamidosalicylate を試料として炭酸ナトリウムで pH 7.6 に修正した試料を含む Table I の培地を 100°, 3 時間加熱したものをペーパークロマトグラフィーで検索するに *p*-succinamidosalicylic acid, PAS および微量の *m*-aminophenol (以下 MAP と略記) を検出した 88~89° に 45 分間処理したものは試料の他に *p*-succinamidosalicylic acid および微量の PAS を検出した. これらの事実から試料は加水分解し PAS からさらに脱炭酸し MAP にまで分解することが判明した. これに対し試料 0.33%, propylene glycol 50% 含有の培地を 100°, 30 分 および 60 分加熱したものについては共に分解を認めなかつた. なおこれら検出には Pauly (但し sulfanilic acid を *p*-nitroaniline で代用) および Ehrlich 試薬によつた.

抗菌試験については Russell 等の報告¹³⁾ に明らかなように propylene glycol 0.5% 以上含有の場合は菌の発育を阻害するためそれ以下の濃度で使用した. 本方法を適用した物質は *o*-Cl-PABA-aryl (aryl=*m*-tolyl, *o*-methoxyphenyl, 4-isopropyl-3-methylphenyl, 2-isopropyl-5-methylphenyl) および *p*-phthalamidosalicylic acid であつて, 小川の方法¹⁴⁾ により PAS-Na·2 H₂O を対照として E₅,¹⁵⁾ H₃₇Rv, および H₃₇RvR-PAS の 3 株を用いた試料の 10⁻⁴~10⁻⁸ M の *in vitro* の成績は Table II のとおりであり培養 15 日の成績では *o*-Cl-PABA-aryl (aryl=*m*-tolyl, *o*-methoxyphenyl, 4-isopropyl-3-methylphenyl, 2-isopropyl-5-methylphenyl) は前記 3 株に対し特に注目に値する抗菌力を示さなかつたが PAS 耐性株対しては培養 10 日の場合 10⁻⁴~10⁻⁵ M でも若干抗菌性を示し PAS-compds. との相違を示した. またその *p*-succinamido compds. に至つては

9) Org. Syntheses 12, 66.

10) 但し 2-chloro-4-succinamidobenzoic acid 4-isopropyl-3-methylphenyl ester および 2-isopropyl-5-methylphenyl ester は溶解する.

11) D. J. Drain, et al.: J. Chem. Soc. 1949, 1498.

12) I. P. Carvalho Ferreira et al.: C. A. 44, 2954(1950).

13) M. Russell, et al.: Am. Rev. Tuberc. 62, 638(1950).

14) 小川: 最新医学 6, (4) 5(1951).

15) K. A. Jensen より大阪市立大学医学部細菌学教室に送付されたもの.

(XIII)		E ₅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ Rv	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ RvR-PAS	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
(XIV)		E ₅	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ Rv	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ RvR-PAS	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
(XV)		E ₅	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ Rv	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ RvR-PAS	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
PAS-Na·2 H ₂ O		E ₅	-	-	-	-	±	+	+	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ Rv	-	-	-	-	+	+	卅	卅	卅	卅	卅
		H ₃₇ RvR-PAS	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
Control		E ₅											
		H ₃₇ Rv											
		H ₃₇ RvR-PAS											

以上 *o*-Cl-PABA-aryl および PAS-aryl, *o*-Cl-PABA-aryl の succinate 等の一連の物質は *in vitro* では PAS-Na·2H₂O より劣る成績が得られ当初の予想に反した結果が得られ遊離 amino 体により抗菌的に作用することを認めた。

終りに臨み本研究に御鞭撻を賜わった茶珍所長, 衛生化学部主任岡原国男博士, Jensen の推奨する人型結核菌 E₅ 株使用便宜と御指導を賜わった大阪市立大学医学部細菌学教室桑島謙夫教授, 増井正幹助教授, 細菌試験を担当された教室員本田嘉秀, 岩田恒夫, 東条正仁, 渡辺千秋, 元素分析を実施された大阪大学薬学部元素分析研究室の方々並びに協力された所員志賀セイ, 谷口 繁の諸氏に厚く感謝する。

実 験 の 部

合成実験 2-chloro-4-aminobenzoic acid aryl ester, *p*-nitroanthranilic acid をジアゾ化し, これを CuCl₂·2H₂O 過剰を溶存する熱 HCl 酸性溶液 (80° 以上) の撈拌液中に滴加して約 80% の収率で得られる 2-chloro-4-nitrobenzoic acid とフェノール類各 1 mol の混合物を油浴中 100~130° で POCl₃ 1.3 mol を少量ずつ加えて反応せしめて得られるエステルを MeOH または EtOH 溶媒中 Raney Ni を触媒として水素添加して得られた。

p-succinamidosalicylic acid aryl ester, 2-chloro-4-succinamidobenzoic acid aryl ester, PAS-aryl または *o*-Cl-RABA-aryl と無水コハク酸 当 mol を乾燥 CHCl₃ と共に煮沸還流せしめ冷後希 MeOH または希 EtOH から再結晶。

2-Chloro-4-nitrobenzoic acid aryl ester

化 合 物	収率(粗) %	mp (°C)	再結晶溶媒	結 晶 形
phenyl ester	95	65	EtOH	淡黄色柱状または鱗片状晶
<i>m</i> -tolyl ester	90	64~65	EtOH	帯淡黄の白色小柱状晶
<i>o</i> -Methoxyphenyl ester	72	83~85	EtOH	黄色柱状晶
4-Isopropyl-3-methylphenyl ester	57	95~96	EtOH	淡黄色鱗片状晶
2-Isopropyl-5-methylphenyl ester	48.3	61~62	EtOH	淡黄色板状晶

I. *p*-Succinamidosalicylic acid: 無色の針状晶 (dil MeOH), mp 206~207° (decomp). C₁₁H₁₁O₆N·H₂O 計算値 C 48.71, H 4.83, N 5.17, 実験値 C 49.11, H 5.05, N 5.28.

II. *p*-Maleamidosalicylic acid: 黄色針状晶 (Me₂CO), mp 184~185° (decomp). C₁₁H₉O₆N 計算値 C 52.59, H 3.61, N 5.58, 実験値 C 52.67, H 3.71, N 5.66. 本物質を水素添加 (Raney Ni) して得る物質は mp 206~207° (decomp) で (I) と混融, 融点降下を認めず同一物質である。

III. *p*-Phthalamidosalicylic acid: 無水フタル酸, PAS 当 mol から同様にして得られる mp 228~230° (decomp) の無色小針状晶 (MeOH). C₁₅H₁₁O₆N 計算値 N 4.65, 実験値 N 4.93.

試験管内試験 培地に溶解する試料は直接培地に, 不溶の試料は Russell 等に従って propylene glycol にそれぞれ 10⁻³ M に溶解 80°, 30 分 2 回間歇滅菌して試料原液とし, つぎのごとく無菌的に 10⁻⁴~10⁻⁸ M 濃度含有薬剤加培地を調製した。あらかじめ加熱滅菌したところの Dubos 変法培地 4.4 cc に別にあらかじめ無菌的に作製しておいた 10⁻⁴~10⁻⁸ M 濃度含有検液をそれぞれ 0.5 cc ずつ無菌的に添加し, ついでこれに小川培地

に 4 週間培養の結核菌浮遊液 (湿菌量 5 mg/cc) 0.1 cc を接種し全量 5 cc とし, 管口を蠟封後 37° で 15 日間培養し菌の発育程度により -, ±, +, Ⅱ, Ⅲ と判定した. 供試結核菌は E₅, H₃₇Rv および H₃₇RvR-PAS (但し PAS-Na·2H₂O 10 γ/cc 含有培地に発育した菌) の 3 株である.

Table III.

2-Chloro-4-aminobenzoic acid aryl ester

No.	化 合 物	収率 (粗) %	mp (°C)	再結晶 溶 媒	結 晶 形	分 子 式	計 算 値 (%)			実 験 値 (%)		
							C	H	N	C	H	N
(IV)	<i>m</i> -tolyl ester	85.5	138	MeOH	無色小柱状晶	C ₁₄ H ₁₂ O ₂ NCI	64.25	4.62	5.35	64.31	4.58	5.36
(V)	<i>o</i> -methoxyphenyl ester	93	143~ 146	"	白色小針状晶	C ₁₄ H ₁₂ O ₃ NCI	60.55	4.36	5.04	60.66	4.29	5.06
(VI)	4-isopropyl-3-methylphenyl ester	85	145~ 145.5	dil EtOH	"	C ₁₇ H ₁₈ O ₂ NCI	67.21	5.97	4.61	67.07	5.99	4.95
(VII)	2-Isopropyl-5-methylphenyl ester	62	173~ 174	EtOH	無色無味の針状 または小柱状晶	C ₁₇ H ₁₈ O ₂ NCI	67.21	5.97	4.61	67.28	5.94	4.32

p-Succinamidosalicylic acid aryl ester

(VIII)	phenyl ester	85	180.5~ 181 (decomp)	dil EtOH	無色特有の甘 味ある針状晶	C ₁₇ H ₁₅ O ₆ N	62.00	4.59	4.25	61.80	4.55	4.30
(IX)	<i>o</i> -methoxyphenyl ester	83	175~ 176	dil MeOH	無色無味の針 状晶	C ₁₈ H ₁₇ O ₇ N	60.16	4.77	3.90	59.88	4.53	3.82
(X)	<i>m</i> -tolyl ester	80	180~ 181	"	白色無味鱗片 状様結晶	C ₁₈ H ₁₇ O ₆ N	62.97	4.99	4.08	62.96	4.84	4.05
(XI)	4-isopropyl-3-methylphenyl ester	82	157~ 158	dil EtOH	白色無味の 針状晶	C ₂₁ H ₂₃ O ₆ N	65.44	6.02	3.63	65.20	5.64	3.57

2-Chloro-4-succinamidobenzoic acid aryl ester

(XII)	<i>m</i> -tolyl ester	90	157	dil MeOH	白色小鱗片状 晶	C ₁₈ H ₁₆ O ₅ NCI	59.76	4.46	3.87	58.98	4.27	3.82
(XIII)	<i>o</i> -methoxyphenyl ester	85	97~ 98	"	無色小針状晶	C ₁₉ H ₁₆ O ₆ NCI	57.23	4.27	3.71	56.96	4.28	3.76
(XIV)	4-isopropyl-3-methylphenyl ester	90	150	"	無色針状晶	C ₂₁ H ₂₂ O ₅ NCI	62.45	5.49	3.47	62.72	5.66	3.49
(XV)	2-Isopropyl-5-methylphenyl ester	55	117	"	無色無味無臭 の結晶性末	C ₂₁ H ₂₂ O ₅ NCI	62.45	5.49	3.47	62.75	5.39	3.69

大阪市立衛生研究所