本研究の研究費の一部は昭和 38 年度文部省科学研究費 (各個研究) によった。元素分析を施行された当薬学部馬詰久子氏および実験に協力された下田久子, 白浜欣和, 田中博輝の諸兄に感謝します。

長崎大学薬学部

〔薬学雑誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
85 (2) 95 ~ 100 (1965)

UDC 547.875 : 615.761

17. 井上博純, 武田幹男, 檜垣 鴻, 釘田博至: Benzothiadiazine 誘導体の
合成と利尿作用 (利尿剤の研究 (第3報^{*1}))

Hirozumi Inoue, Mikio Takeda, Ko Higaki, and Hiroshi Kugita :
Synthesis and Diuretic Activity of Benzothiadiazine
Derivatives. (Diuretics. III).

(Osaka Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.^{*2})

Reactions of 5-chloro(and trifluoromethyl)-2,4-disulfamylaniline with both glyoxal and methylglyoxal gave 1,2,4-benzothiadiazine derivatives (II), while reaction of I (X=Cl) with phenylglyoxal produced ketonic dihydrobenzothiadiazine (IV). NaBH₄ reduction of II and IV afforded dihydro-1,2,4-benzothiadiazine derivatives, III and V. Reaction of I (X=Cl) with some phenylglyoxal derivatives and reduction of the products (VII) and (VII') were also investigated.

V showed high diuretic activity of about four times as much as chlorothiazide.

(Received May 22, 1964)

利尿剤として有用な 1,2,4-benzothiadiazine 系化合物の一般的な製法は aminobenzenedisulfonamide 誘導体をアルデヒド類と縮合閉環せしめることである。著者等は今回ジカルボニル化合物である glyoxal, および α -ケトアルデヒドを用いて同様反応を行ない, 強力な利尿作用を示す新しい benzothiadiazine 系化合物を得た。

4-amino-6-chloro-*m*-benzenedisulfonamide¹⁾ (I) を含水アルコール中 glyoxal および methylglyoxal と反応させると得られた化合物はいずれの場合も, IR スペクトルでカルボニルの吸収を示さず水酸基の吸収を示す。UV スペクトルは別途合成した 3-methyl-6-chloro-7-sulfamyl-1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide (II') と類似の吸収を示し, 生成物が 1,2,4-benzothiadiazine 環を持つことを示す。Topliss 等²⁾ は 4,5-dichloro-*m*-benzenedisulfonamide を 95% エタノール中 30% glyoxal と反応させてその生成物に同じく 3-hydroxy-methyl-1,2,4-benzothiadiazine の構造を与えている。II を NaBH₄ で還元すると dihydro 体 (III) が得られ, その UV スペクトルは dihydrobenzothiadiazine 類の UV スペクトル³⁾ と一致する。

一方 I (X=Cl) を phenylglyoxal と同様縮合閉環せしめると, 得られる化合物は IR スペクトルでカルボニルの吸収を示し UV スペクトルは dihydrobenzothiadiazine 環と phenyl ケトンの加成された吸収を示し明らかに IV の構造である。^{*3} IV を NaBH₄ で還元すると III に対応する dihydro 体 (V) が得られる。III を酸化して IV に相当するカルボニル化合物を得る目的で酢酸中無水クロム酸による酸化を行なったところ, 得られたものは R=H, CH₃ いずれの場合も 6-chloro-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide (VI) で, これは別途合成のサンブ

*1 第2報: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 10, 1008 (1962).

*2 Kashima-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

*3 Topliss らは I と phenylglyoxal diethylacetal の反応で II 構造の化合物 (R=Ph) を得たと報告している。²⁾

1) F. C. Novello, S. C. Bell, E. L. A. Abrams, C. Ziegler, J. M. Sprague: J. Org. Chem., 25, 965 (1960).

2) J. G. Topliss, M. H. Sherlock, F. H. Clarke, M. C. Daly, B. W. Petterson, J. Lipski, N. Sperber: *Ibid.*, 26, 3842 (1961).

3) F. C. Novello, S. C. Bell, E. L. A. Abrams, C. Ziegler, J. M. Sprague: *Ibid.*, 25, 970 (1960).

Chart 1.

ルと比較して確かめた。V も同様な酸化により VI を与えた。

以上合成した化合物のうち、3-(2-hydroxybenzyl)-6-chloro-3,4-dihydrobenzothiadiazine-7-sulfonamide (V) が強力な利尿作用を示すことがわかったので、さらにその phenyl 基に置換基を有する化合物を合成すべく、2, 3 の phenylglyoxal 誘導体を I と反応せしめついでそれを還元して V の誘導体を合成する実験を行なった。その結果置換基 R' の種類および位置によって、I との縮合生成物の構造およびその還元に対する挙動に相異のあることがわかった。

Chart 2.

まず I と置換 phenylglyoxal との縮合生成物をその IR スペクトル、および UV スペクトルより構造 (VII または VII') に帰属した。前述のように VII 型の構造と VII' の構造はことにその UV スペクトルにおいて特徴的な差異を認めることができ、構造の分別が可能である。その結果 $R' = p\text{-Cl}$ の場合は $R' = \text{H}$ の場合と同様ケトン構造 (VII) をとり、 $R' = o\text{-Cl}$ の場合はカルビノール構造 (VII')、そして $R' = m\text{-CF}_3$ の場合は両者の混合物であることがわかった。さらにその還元については、 $R' = \text{H}$ である IV が水酸化ナトリウムアルカリ性、 NaBH_4 により V に還元されたのに比し、同様条件下の還元では $R' = p\text{-Cl}$ 、 $m\text{-CF}_3$ の場合 VII' 構造への変換が起こり、 $R' = o\text{-Cl}$ の場合は同じく VII' が回収されいづれの場合も dihydro 体 (VIII) は生成しなかった。そこで IV も含めて還元反応の検討を行なったところ、IV はもっとも還元容易で水酸化ナトリウムアルカリ性、 NaBH_4 還元のほか、エタノール中 NaBH_4 中性還元、および Pd-C による接触還元によっても dihydro 体 (V) が得られた。一方当初よりカルビノール型構造 (VII') をとる $R' = o\text{-Cl}$ 化合物では上記還元法では VII' の回収に終わり、ただ Pd-C 接触還元では VII' の脱クロル化合物が得られた。また VII 型と VII' 型の混合物である $R' = m\text{-CF}_3$ 化合物

も還元に対する挙動は $R'=o\text{-Cl}$ の場合とほとんど同様で, VII' 型化合物が得られた. $R'=p\text{-Cl}$ 化合物の場合は水酸化ナトリウムアルカリ性, NaBH_4 還元では VII' 型への転換が起こるのみで VIII は得られないが, アルコール中 NaBH_4 中性還元では VIII を得ることができた. 以上を要約するとつぎのごとくである.

以上の結果より考えられることは, 還元により dihydro 体 (VIII) が得られるためにはケトン型構造 (VII) をとることが必要条件で, 当初よりまたは反応の途中カルピノール型構造 (VII') をとるものは VIII への還元が進行せず VII' の回収に終わる.

TABLE I.

X	R	m.p. (°C) (decomp.)	Formula	Analysis (%)						
				Calcd.			Found			
				C	H	N	C	H	N	
1	Cl	H	281~282	C ₈ H ₈ O ₅ N ₃ S ₂ Cl	29.49	2.48	12.90	28.98	2.70	12.80
2	Cl	CH ₃	311	C ₉ H ₁₀ O ₅ N ₃ S ₂ Cl	31.81	2.91	12.37	31.99	2.95	12.03
3	CF ₃	H	284~285	C ₉ H ₈ O ₅ N ₃ S ₂ F ₃	30.08	2.25	11.70	30.25	2.48	11.69
4	CF ₃	CH ₃	287~288	C ₁₀ H ₁₀ O ₅ N ₃ S ₂ F ₃	32.17	2.70	11.25	32.47	2.70	10.85
5	Cl	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	280~281	C ₁₄ H ₁₁ O ₅ N ₃ S ₂ Cl ₂	38.54	2.54	9.63	38.66	2.50	9.90
6	Cl	<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₄	249~250	C ₁₄ H ₁₁ O ₅ N ₃ S ₂ Cl ₂	38.54	2.54	9.63	38.68	2.54	9.84
7	Cl	<i>m</i> -CF ₃ -C ₆ H ₄	260~262	C ₁₅ H ₁₁ O ₅ N ₃ S ₂ ClF ₃	38.34	2.36	8.94	38.44	2.47	9.01

8	Cl	C ₆ H ₅	259~260	C ₁₄ H ₁₂ O ₅ N ₃ S ₂ Cl	41.84	3.01	10.46	42.00	2.95	10.43
9	Cl	<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₄	260~261	C ₁₄ H ₁₁ O ₅ N ₃ S ₂ Cl ₂	38.54	2.54	9.63	38.99	2.40	9.57

10	Cl	H	224~225	C ₈ H ₁₀ O ₅ N ₃ S ₂ Cl	29.30	3.07	12.82	29.83	3.14	12.89
11	Cl	CH ₃	223~224	C ₉ H ₁₂ O ₅ N ₃ S ₂ Cl	31.62	3.54	12.29	31.53	3.86	12.18
12	CF ₃	H	224~225	C ₈ H ₁₀ O ₅ N ₃ S ₂ F ₃	29.92	2.80	11.63	30.08	2.82	11.55
13	Cl	C ₆ H ₅	225~227	C ₁₄ H ₁₄ O ₅ N ₃ S ₂ Cl	41.63	3.49	10.41	41.68	3.22	10.32
14	Cl	<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₄	227~228	C ₁₄ H ₁₃ O ₅ N ₃ S ₂ Cl ₂	38.36	2.97	9.36	38.32	2.99	9.84

TABLE II.

Compd. No.	UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$	$m\mu$ (ϵ)	Compd. No.	UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$	$m\mu$ (ϵ)
1	224.5~225.5(34800),	276(11500)	8	225(27000),	266~267(23380)
2	224.5~225.5(31400),	277(11600)	9	224~225(39600),	268.5~269.5(35000)
3	275~276(10800)		10	225~225.5(38600),	269.5(20100)
4	275(12400)		11	225.5(38900),	269.5(20400)
5	220~224(36400),	278~279(12000)	12	271.5(21400)	
6	226(40700),	276~277(13200)	13	225~226(35500),	269.5~270.5(17100)
7	226~227(34400),	278.5~279.5(13000)	14	227.5(39400),	271~272(18500)
II'	225.5(30900),	275~276(12000)	dihydro II'	225.5~226(38000),	270(21700)

利尿作用 まずハツカネズミを用いる利尿検定法⁵⁾により利尿作用を検定した。すなわち検体の水懸濁液を 50 mg./kg. の割合で体重 18±1 g. の dd 系雄性ハツカネズミに経口投与し、その効力を hydrochlorothiazide (HC) と比較してそれと同等またはそれ以上の効力を示す化合物を選定した。これらの化合物をさらに Astor,⁶⁾ Light⁷⁾ 等の方法に準じてシロネズミを用いる利尿検定法で dose response を出し、対照薬剤との効力比較を行った。

シロネズミに対する利尿効果 体重 170~230 g. の Wister king 系雄性シロネズミを使用し実験前 15~20 時間絶食、その間水は自由に与えた。実験当日は水、餌ともに除去した。薬物投与後体重の 5% の滅菌生理食塩水を腹腔内に負荷した。薬物はすべて水懸濁液として体重 100 g. 当たり 1 ml. の割合に調製、対照群には生理食塩液を経口投与した。投与量は Table III に示すとおりで、まず 5 mg./kg. 経口投与し、HC より強力と認められた検体についてはさらに投与量を下げた。

以上の結果から、5 mg./kg. 経口投与したとき HC と同等またはそれ以上の効力を有するものは 13, 14 の 2 検体で、さらに投与量を下げたとき 14 は HC より若干弱く、13 は HC の 1 mg./kg. 投与に 0.25 mg./kg. が匹敵し HC の約 4 倍の効力を持つと考えられる。なお 13 は尿電解質中 Na⁺, Cl⁻ の排泄も強力であるが、それに反し K⁺ の排泄はたいしたことはなく HC の排泄傾向と類似しており尿 pH にもたいした変動を認めなかった。

毒性試験 検体 13 のハツカネズミに対する経口急性毒性を調べた。

体重 18±1 g. の dd 系雄性ハツカネズミ 10 匹に 2000 mg./kg. 経口投与し、投与後 72 時間のマウスの一般状態ならびに死亡の有無を観察した。その結果薬物投与による異常所見は認められず死亡例もなかった。したがって経口投与の LD₅₀ は 2000 mg./kg. 以上と推定され市販されている thiadiazide 系利尿剤の毒性と変わらないものと思われる。

5) 林, 檜垣, 中上, 甲和: 薬学研究, **31**, 706 (1959).

6) R. Astor: Toxicol. Appl. Pharmacol., **1**, 277 (1959).

7) A. E. Light: J. Am. Pharm. Assoc., **48**, 335 (1960).

TABLE III. Mean Oral Diuretic Activity and Electrolyte Content in Urine (Rats)

Compound No.	Dose mg./kg.	No. of rats	Urine totals for 5 hr.				pH
			Volume ml./kg.	Electrolyte Na ⁺	mEq./kg. Cl ⁻	K ⁺	
5	5	8	18.7	2.5	2.8	1.2	5.7
8	5	8	20.5	3.3	3.0	1.0	5.4
9	5	8	8.6	1.2	1.3	1.0	5.7
13	5	8	31.0	4.7	4.6	1.5	5.7
	1	8	30.2	4.6	5.3	1.5	5.8
	0.25	16	23.9	3.5	4.1	1.5	5.9
	0.05	8	14.1	2.6	2.2	0.9	6.4
	0.025	8	11.8	2.1	1.8	0.7	5.9
14	5	8	24.8	3.7	4.5	1.4	5.7
HC	5	24	25.8	3.6	4.3	1.5	5.4
	1	8	23.5	3.0	3.7	1.2	5.7
	0.25	16	18.1	2.7	2.8	1.2	6.1
	0.05	8	9.1	1.1	1.7	0.7	5.8
Control	—	40	10	1.5	1.8	0.9	5.8

実験の部*

3-Hydroxyalkyl-6-chloro(and trifluoromethyl)-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide-1,1-dioxide (II)

4-amino-6-chloro-*m*-benzenedisulfonamide (I: X=Cl) 2.9 g., 40% glyoxal 1.5 g., 10% HCl 1.5 ml. および EtOH-水 (1:3) 50 ml. の混液を沸騰水中加熱する. 約 15 min. 後結晶は溶解する. 4 hr. 加熱後析出する結晶を濾別し母液はさらに 4 hr. 加熱する. 冷後析出する結晶を濾取しさらに得られた結晶と合わせて MeOH-水より再結晶し無色鱗片状晶, m.p. 281~282°(decomp.) の II (X=Cl, R=H) 2.4 g. を得る (Table I, 1). 同様にして Table I, 2, 3, 4 の化合物を合成した.

3-Hydroxyalkyl-6-chloro(and trifluoromethyl)-3,4-dihydro-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide-1,1-dioxide (III) II (X=Cl, R=H) 5 g. を水 100 ml. に懸濁し結晶が溶解するまで氷冷下 10% NaOH を加える. これに NaBH₄ 2.7 g. を加え室温で 22 hr. 放置, 後 10% HCl を加えて pH 7 とする. 析出する結晶を濾取し 50% EtOH より再結晶して無色プリズム晶, m.p. 224~225°(decomp.) の III (X=Cl, R=H) 3.3 g. を得る (Table I, 10). 同様の還元方法により Table I, 11, 12 を合成した.

3-Methyl-6-chloro-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide-1,1-dioxide (II') Klosa⁸⁾ の方法により I (X=Cl) より合成した. 無色板状晶 (50% EtOH), m.p. 340~342°(decomp.).

3-Benzoyl-6-chloro-3,4-dihydro-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide-1,1-dioxide (IV) I (X=Cl) 3.0 g., phenylglyoxal 1.6 g., 10% HCl 1.5 ml., EtOH-水 (1:3) 60 ml. の混液を水中 7 hr. 加熱する. 冷後結晶を濾取し Me₂CO-水より再結晶して, 無色針状晶, m.p. 259~260°(decomp.) の IV 3.0 g. を得る. IR ν_{Nujol} cm⁻¹: 1680 (C=O) (Table I, 8).

3-(α -Hydroxybenzyl)-6-chloro-3,4-dihydro-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide-1,1-dioxide (V) IV 1 g. を水 20 ml. に懸濁せしめて 10% NaOH を加えて結晶を溶解せしめる. これに NaBH₄ 0.25 g. を加え 1 夜室温に放置後 10% HCl を加えて pH 7 とし, 結晶を濾取する. EtOH-水より再結晶して m.p. 225~227°(decomp.) の無色プリズム晶 0.8 g. を得る (Table I, 13).

III のクロム酸酸化 III (X=Cl, R=H) 0.5 g. を AcOH 50 ml. に加温溶解せしめ, 後 CrO₃ 0.15 g. の AcOH 3 ml. 溶液を加えて 50~60° に 1 hr. 攪拌する. AcOH を減圧下に濃縮し水を加えて放置し析出する結晶を濾取し 0.2 g. を得. 水より再結晶して無色針状晶, m.p. 342~343°(decomp.) が得られる.

III (X=Cl, R=CH₃) および V を CrO₃ で同様酸化しても同一の結晶が得られる. これらの結晶は I (X=Cl) と HCOOH の反応で合成した³⁾ VI と, IR, UV が完全に一致した.

I と phenylglyoxal 誘導体の反応 i) *p*-chlorophenylglyoxal I (X=Cl) 3 g., *p*-chlorophenylglyoxal⁹⁾ 3.0 g., 10% HCl 1.5 ml. および EtOH-水 (1:3) 60 ml. の混液を 8 hr. 加熱, 還流せしめる. 1 夜放置後結晶を濾取し Me₂CO-水より再結晶し無色針状晶, m.p. 260~261°(decomp.) 2.8 g. を得る. IR ν_{Nujol} cm⁻¹: 1680 (C=O)

*³ 融点は未補正.

8) J. Klosa: J. Prakt. Chem., 18, 225 (1962).

9) P. Karrer, C. Musante: Helv. Chim. Acta, 18, 1140 (1935).

(Table I, 9).

ii) ***o*-Chlorophenylglyoxal** *o*-chlorophenylglyoxal は *p*-chloro 体と同様の方法で *o*-chloroacetophenone の SeO_2 酸化により製した. $b.p_{10}$ $106\sim 110^\circ$ の黄色油状物として得られ, *o*-phenylenediamine と縮合して得られる 2-(2-chlorophenyl)quinoxaline は $m.p.$ $96\sim 96.5^\circ$ の無色羽毛状晶 (MeOH-水) である. $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_2\text{Cl}$ Anal. Calcd.: C, 69.85; H, 3.77; N, 11.64. Found: C, 69.64; H, 3.57; N, 11.36.

I ($\text{X}=\text{Cl}$) 4.0 g., *o*-chlorophenylglyoxal 4.0 g., 10% HCl 20 ml., EtOH-水 (1:1) 130 ml. を水浴中 8 hr. reflux, 1 夜放置後 EtOH 約 50 ml. を留去しさらに 8 hr. 加熱する. 冷後結晶を濾取し (4.5 g.) 70% EtOH より再結晶して $m.p.$ $280\sim 281^\circ$ (decomp.) の無色針状晶 3.0 g. が得られる. IR ν_{Nujol} cm^{-1} : 3400 (OH) (Table I, 5).

iii) ***m*-Trifluoromethylphenylglyoxal** *m*-trifluoromethylphenylglyoxal は同様に *m*-trifluoromethylacetophenone の SeO_2 酸化で製した. $b.p_5$ $73\sim 75^\circ$ の黄色油状物で diphenylhydrazone は $m.p.$ $144\sim 146^\circ$ の黄色針状晶 (EtOH-水) である. $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{F}_3$ Anal. Calcd.: C, 65.95; H, 4.48; N, 14.65. Found: C, 65.76; H, 4.35; N, 14.70.

I ($\text{X}=\text{Cl}$) と *m*-trifluoromethylphenylglyoxal を ii) と同様反応せしめて無色鱗片状晶 (Me_2CO -水), $m.p.$ $307\sim 308^\circ$ (decomp.) が得られる. IR ν_{Nujol} cm^{-1} : 1680 (C=O), 3500 (OH). 吸収強度より VII と VII' の混合物とみられる.

VII, VII' の還元反応の検討 i) 水酸化ナトリウム アルカリ性 NaBH_4 還元 *p*-chloro 体 (VII) 1 g. を IV の還元と同様反応, 処理して EtOH-水より再結晶, 無色針状晶, $m.p.$ $249\sim 250^\circ$ (decomp.) を得た (Table I, 6). IR ν_{Nujol} cm^{-1} : 3500 (OH), 1620 (C=N). 同様の還元により *o*-chloro 体, *m*-trifluoromethyl 体よりそれぞれ VII' 化合物が得られた (Table I, 5, 7).

ii) NaBH_4 (中性) 還元 *p*-chloro 体 (VII) 0.5 g. を EtOH 25 ml. に懸濁, NaBH_4 0.1 g. を加えて攪拌すると 5~10 min. で結晶が溶解する. AcOH 1 ml. を加えて 1 hr. 攪拌後減圧濃縮し水を加えて放置すると結晶が析出する. 結晶を濾取して EtOH-水から再結晶して無色針状晶, $m.p.$ $227\sim 228.5^\circ$ (decomp.) 0.35 g. を得る. IR ν_{Nujol} cm^{-1} : 3500 (OH) (Table I, 14).

iii) パラジウム-炭接触還元 *m*-trifluoromethyl 体 0.5 g. を MeOH-AcOH (1:1) 100 ml. 中 10% Pd-C 0.2 g. 触媒で接触還元すると水素約 0.9 当量を吸収する. 生成物は MeOH-水から再結晶して無色針状晶, $m.p.$ $265\sim 266^\circ$ (decomp.) (VII' の脱クロル体) 0.3 g. が得られる. $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_3\text{S}_2\text{F}_3$ Anal. Calcd.: C, 41.16; H 2.77; N, 9.65. Found: C, 41.14; H, 2.67; N, 9.90.

本研究に御助言をいただいた当研究所長 杉本典夫博士に感謝する. 元素分析を担当された東京研究所分析室の方々, ならびに IR, UV スペクトル測定のをとられた当研究所 小寺啓司博士にあわせて感謝する.

田辺製薬株式会社大阪研究所