化学療法剤の研究(第3報¹⁾)

濱田喜樹, 富田扶美子, 松岡(旧姓 内山)英子
名城大学薬学部²⁾

Studies on Chemotherapeutics. III¹⁾

YOSIKI HAMADA, FUMIKO TOMITA, and HIDEKO MATUOKA (née UTIYAMA)

Faculty of Pharmacy, Meijo University²⁾

(Received January 16, 1969)

1) Azo compounds (II to VII) were synthesized by diazotization of 4-thiocyanatoaniline, *p*-chloroaniline, *p*-nitroaniline, and 2,6-dichloro-4-nitroaniline, followed by coupling with *p*-chloro- or *p*-bromo-phenol, or 1- or 2-naphthol in neutral or weakly alkaline reaction.

2) Nitro compounds (VIII to XII) were synthesized by the reaction of 2,4-dichloronitrobenzene with *p*-chloro-, *p*-bromo-, or *p*-fluoroaniline, *p*-methoxyaniline, and 2-amino-4-chloropyridine in pyridine solution. These nitro compounds were reduced with stannous chloride and hydrochloric acid to the corresponding amino compounds (XIII to XVII), and further thiocyanated with ammonium thiocyanate to the thiocyanate compounds (XVIII to XXII).

3) Antibacterial action of these azo, amino, and thiocyanate compounds was tested *in vitro*. Further, pK_a values of the 11 kinds of thiocyanate compounds reported previously were measured to examine the relationship between these values and antibacterial action of these compounds.

著者等は新しい抗菌剤開発を目的として種々の SCN 含有のアゾ化合物およびジフェニールエーテル誘導体を合成してその化学構造と抗菌性につき報告した。すなわち下記のアゾ化合物 (A 型)³⁻⁵⁾ が真菌類 *Staphylococcus aureus*, さらに *picularia oryzae* などに対して強い抗菌価を有し, またジフェニールエーテル誘導体 (B 型)^{1,6,7)} は白癬菌や *Staphylococcus aureus* などに対し有効なことを明らかにした。一方, 山添⁸⁾ 等も A 型化合物の SCN 基を NO₂ や Cl 基にした化合物が強い抗菌価を示すこと, また 4-chlorophenol⁹⁾ の 2 位に置換基を導入した化合物や Diphenylamine 誘導体¹⁰⁾ が真菌類に対して有効と報告しており, また Bell¹¹⁾ 等はスルファミン系化合物の pK_a 値とその抗菌性の間に重要な関係があることを指摘した。しかし SCN 化合物の pK_a と抗菌性との関係についての報告は見られない。以上の知見と報告を基礎として, 今回著者は 2 位に azophenyl 基を有する 4-chlorophenol (C 型) と B 型の -O- を NH 基に変化した D 型の化合物を系統的に合成してその抗菌性を比較検討した。さらに抗菌性と pK_a との関連性について調査した。以上その結果について述べる。

まず C 型化合物の合成として, 4-aminophenyl thiocyanate, *p*-chloroaniline, *p*-nitroaniline, 2,6-dichloro-4-nitroaniline をジアゾ化して中性または弱アルカリ性で, *p*-chlorophenol, *p*-bromophenol, α -naphthol, β -naphthol にカップリングして 2-(*p*-chlorophenylazo)-4-chlorophenol(II), 2-(*p*-nitrophenylazo)-4-chloro-

1) 第 2 報: 濱田喜樹, 富田扶美子, 薬誌, **88**, 1362 (1968).

2) Location: Yagoto-Urayama, Tempakuchō, Showa-ku, Nagoya.

3) 浜田喜樹, 杉原久義, 薬誌, **83**, 921 (1967).

4) 浜田喜樹, 塩津 普, 薬誌, **84**, 309 (1964).

5) 浜田喜樹, 上田国博, 薬誌, **88**, 1097 (1968).

6) 浜田喜樹, 伊藤義雄, 薬誌, **87**, 797 (1967).

7) 濱田喜樹, 杉原久義, 伊藤義雄, 伊藤賀祐, 友松滋夫, 薬誌, **87**, 591 (1967).

8) 山添 寛, 岩科六之助, 薬誌, **82**, 718 (1962).

9) 泰 順治, 鶴岡正夫, 加久間元之助, 田辺年報, **I**, 325 (1956); C.A., **48**, 7780 (1954).

10) S. Sakat, G. Satto, A. Satō, J. Science Research, Instit., **51**, 68 (1957).

11) H. Bell, O. Roblin, J. Am. Chem. Soc., **64**, 2905 (1943).

phenol (III), 2-(2,6-dichlorophenylazo)-4-chlorophenol (IV), 2-(4-nitro-2,6-dichlorophenylazo)-4-bromophenol (V), 1-(4-nitro-2,6-dichlorophenylazo)-2-naphthol (VI), 4-(4-nitro-2,6-dichlorophenylazo)-1-naphthol (VII) を合成した. ついで D 型化合物の合成を企てた. *p*-Chloro-, *p*-bromo-, *p*-fluoroaniline, *p*-methoxyaniline, 2-amino-4-chloropyridine にピリジン溶媒中 2,4-dichloronitrobenzene を作用して 2-nitro-4,4'-dichloro-(VIII), 2-nitro-4-chloro-4'-bromo-(IX) 2-nitro-4-chloro-4'-fluoro-(X), 2-(2-nitro-4-chloroanilino)-4-chloropyridine (XI), 2-nitro-4-chloro-4'-methoxydiphenylamine (XII) を合成し, ついでこれらのニトロ体 VIII—XII を SnCl_2 と塩酸で還元してアミノ体 (XIII)—XVII とし, ついで酢酸溶媒中 NH_4SCN と Br_2 により thiocyanato 化して thiocyanato 体 (XVIII)—XXIII を合成した. XVIII などのロダン基の位置に関しては Pohlder^{12,13)} などの報告からしても NH_2 基のパラ位がもっとも置換しやすく, また赤外線吸収 (IR) スペ

TABLE I. Growth Inhibitory Concentration ($\times 10^4$)

Compound		Microorganism				
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
C type	I	1	1	1	1	10
	II	1	1	1	1	1
	III	1	1	1	1	1
	IV	1	1	1	1	1
	V	1	1	1	1	10
	VI	1	1	1	1	10
	VII	1	1	1	1	10
D type and its materials	XIII	10	10	1	<1	10
	XIV	10	10	1	<1	10
	XV	10	10	1	<1	10
	XVI	<1	<1	<1	<1	<1
	XVII	10	10	10	<1	10
	XVIII	10	100	10	10	10
	XIX	10	100	10	10	10
	XX	10	10	10	10	10
	XXI	10	1	1	1	1
	XXII	1	<1	<1	<1	<1
Contrast	chloramphenicol	100	100	100	<1	<1
	bis(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl)sulfide	100	100	100	10	1000

12) R. Pohloodek, L. Lob, *Ar. Chem. Pharmazie*, **299**, 866 (1966).13) J. Wood, *Organic Reaction*, **3**, 242 (1956).

Chart 1

クトルによってもアミノ基，ロダン基の確認されることにより，いずれもアミノ基のパラ位に導入されたことは明らかである。以上合成した化合物の抗菌性を Table I に示す。

また以前に合成した A, B 型化合物 11 種の pK_a の測定結果を Table II に示す。

Table I の結果より C 型のアゾ化合物においては 4 位に SCN 基を有する I とナフタリン類に結合した VI, VII においてのみ抗白癬菌性を呈したが他は無効であった。また D 型においてはアミノ基を持っている (XIII, XIV, XVII は *Staphylococcus aureus* に抗菌性を呈し, さらに SCN 化した XVIII, XIX などは *Staphylococcus aureus* と *Bacillus subtilis* など広い抗菌性を示し特に *Micrococcus flavus* に対しては XIX, XVIII は Chloramphenicol などと *in vitro* で同等であった。

Table II の結果よりベンゼン系およびアゾフェノール誘導体の pK_a 値は, いずれもアミノ基およびフェノール性水酸基の pK_a 値をしめし, ロダン基が導入されても, その影響はほとんど現われなかった。そして pK_a 値と抗菌性との関係も表 II のとおりであって, Bell がスルファミンで指摘したような明確な関連性を認めなかった。

TABLE II

Compound	Minimal inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
	Dissociation constant	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
4.6
3.50	<100	<100	10
3.30	25	25	10
3.27	25	25	10
3.35	100	100	10
3.35	100	100	10
2.95	100	100	10
9.98
9.60	12.5	12.5	10
8.65	6.25	6.25	10
9.23	12.5	100	10
8.45	6.25	100	1
8.95	12.5	100	1
Bithionol		0.78	0.78	0.1

実験の部

2-Phenylazo-4-chlorophenols (I—V) 原料アミン (約 1 mole) を, conc. HCl (約 15 ml) または無水 H_2SO_4 (10 ml) に冷却下溶解し, NaNO_2 でジアゾ化しついで CH_3COONa で中性にして, *p*-chlorophenol または *p*-bromophenol に作用せしめて 2—3 hr 攪拌後, NH_4OH で中和。析出物を濾過。EtOH で再結晶。得量は約 70%。結果は Table III に示す。

4-Nitro-2-6-dichlorophenylazonaphthalene (VI, VII) 4-Nitro-2-6-dichloroaniline 1 mole を無水 H_2SO_4 (約 10 ml) に溶解し, 一方 NaNO_2 を冷却下 H_2SO_4 に溶解した溶液を加えジアゾ化し, ついでアンモニアで中和する。 α -Naphthol, β -naphthol に上記と同様に加え同様処理する。EtOH で結晶。得量 70%, 結果は Table IV に示す。

Compound	X	Ar	Appearance	mp °C	Formula	Analysis (%)					
						Calcd.			Found		
						C	H	N	C	H	N
I	Cl		yellow needles	145	C ₁₃ H ₈ ON ₃ SCl	53.89	2.76	14.56	33.76	2.51	14.41
II	Cl		yellow needles	151	C ₁₂ H ₈ ON ₂ Cl ₂	53.93	3.00	10.49	53.91	3.11	10.11
III	Cl		black yellow	148	C ₁₂ H ₈ O ₃ N ₃ Cl	51.80	2.88	15.11	51.91	2.77	15.00
IV	Cl		black yellow	213	C ₁₂ H ₆ O ₃ N ₃ Cl ₃	41.50	1.73	12.10	41.51	1.72	11.81
V	Br		orange needles	189	C ₁₂ H ₆ ON ₃ Cl ₂ Br	36.83	1.53	10.74	36.99	1.52	9.51

Compound	X	Appearance	mp (°C)	Formula	Analysis (%)					
					Calcd.			Found		
					C	H	N	C	H	N
VI	2-OH	black yellow	226	C ₁₈ H ₉ O ₃ N ₃ Cl ₂	53.04	2.49	11.66	53.11	2.48	11.55
VII	1-OH	pale black needles	206	C ₁₆ H ₉ O ₃ N ₃ Cl ₂	53.04	2.49	11.60	53.02	2.58	11.51

Compound	Ar	Appearance	mp (°C)	Formula	Analysis (%)					
					Calcd.			Found		
					C	H	N	C	H	N
VIII		orange needles	145	C ₁₂ H ₈ O ₂ N ₂ Cl ₂	50.88	2.83	9.89	50.77	2.68	9.81
IX		pale orange	143	C ₁₂ H ₈ ON ₂ ClBr	43.98	2.44	8.58	43.92	2.11	8.43
(X)		pale orange	58	C ₁₂ H ₈ O ₂ N ₂ ClF	54.05	3.02	10.51	54.01	3.11	10.50
X		yellow needles	130	C ₁₁ H ₇ O ₂ N ₃ Cl ₂	45.83	2.47	14.87	45.83	2.48	14.37
XII		black needles	120	C ₁₃ H ₁₁ O ₃ N ₂ Cl	56.12	3.90	10.07	56.10	3.92	10.12

2-Nitro-4-chloro-4'-halo(or methoxy)diphenylamine (VIII—XII) 各種アニリン類 (1 mole) にピリジン溶解中に少量の K_2CO_3 を加えて, 1,4-dichloronitrobenzene (1 mole) とともに 190—200° 3 hr 加熱する。放冷後水中に注ぎ析出物を EtOH で再結晶する。得量は約 60—70%。結果は Table V に示す。

2-Amino-4-chloro-4'-halo(or methoxy)diphenylamine (XIII—XVII) VIII—XII の nitro 体 (1 mole) を $SnCl_2$ (1.5 mole) と conc. HCl (10 mole) に徐々に加え水浴上で 3 hr. 加熱攪拌後減圧濃縮, NaOH でアルカリ性としてエーテルで抽出, Na_2SO_4 で乾燥後濾過, エーテルを留去, 残渣をシクロヘキサンで再結晶。得量は約 70—80%, 結果は Table VI に示す。

TABLE VI. $Ar-NH-\text{C}_6\text{H}_3(NH_2)Cl$

Compound	Ar	Appearance	mp (°C)	Formula	Analysis (%)			
					Calcd.		Found	
					C	H	C	H
XIII		white needles	158	$C_{12}H_{10}N_2Cl_2$	56.94	3.98	56.51	3.81
XIV		white needles	140	$C_{12}H_{10}N_2ClBr$	48.43	3.38	48.31	3.51
XV		white needles	84	$C_{12}H_{10}N_2ClF$	60.98	4.26	60.53	4.11
XVI		white needles	130	$C_{11}H_9N_3Cl_2$	51.97	3.57	51.85	3.42
XVII		white needles	65	$C_{13}H_{13}ON_2Cl$	62.76	5.27	62.51	5.11

TABLE VII. $Ar-NH-\text{C}_6\text{H}_3(NH_2)ClSCN$

Compound	Ar	Appearance	mp (°C)	Formula	Analysis (%)						IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1}	
					Calcd.			Found				
					C	H	N	C	H	N	NH ₂	SCN
XVIII		white powder	126	C ₁₃ H ₉ N ₃ Cl ₂ S	49.48	2.91	13.59	49.52	2.90	13.52	3350 3200	2150
XIX		white powder	120	C ₁₃ H ₉ N ₃ ClSBr	44.01	2.56	11.85	43.91	2.55	11.84	3350 3200	2150
XX		white powder	150	C ₁₃ H ₉ N ₃ SClF	53.13	3.09	10.43	53.10	3.08	10.41	3200	2190
XXI		white powder	178	C ₁₂ H ₈ N ₄ SCl ₂	46.32	2.59	18.00	46.52	2.51	17.91	3100 3200 3400	2210
XXII		white powder	135	C ₁₄ H ₁₂ N ₃ ClOS	58.01	4.18	14.51	58.11	3.91	14.11	3300 3350	2160

2-Chloro-4-amino-5-(4-haloanilino)phenyl Thiocyanate 類 (XVIII—XXII) XIII—XVII の原料アミノ体 (約 0.01 mole), NH_4SCN (0.045 mole) を酢酸 15 ml に溶解, 冷却下 (10° 以下), Br_2 (約 0.01 mole) を酢酸 3 ml に溶解した液を徐々に加えた後さらに 2 hr 攪拌。水中に注加, 析出物を EtOH で再結晶。得量約 80%, 結果は Table VII に示す。

抗菌試験

- (1) 被検菌 細菌 *Staphylococcus aureus* 209 P., *Micrococcus flavus*, *Bacillus subtilis*
真菌 *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*

(2) 抗菌試験について

その 2¹⁾ と同一方法によった。

イオン定数：測定法は Albert¹⁴⁾ 等の分法参照 23° で測定した。

電位差滴定法。

Methohm potewtiggroph E-336-自記滴定装置 (電極 EA121-VX) を使用し、窒素気流中滴定。

謝辞 本研究に御助言を賜りました京大薬学部 上尾庄次郎教授、岡田寿太郎教授ならびに本研究に御便宜を賜った本学部長 高橋西蔵教授に謹謝いたします。また抗菌試験は山之内製薬研究所 宮本氏に、元素分析は名城大学元素分析センターに御願いました。謝意を表します。

14) A. Albert, Eperjeant, “イオン定数測定法と応用,” 30巻, 丸善, 1967, p. 72.