[薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
97 (8) 883-889 (1977)]

UDC 547.466.1.04.09:615.32.011.5.015.11

**β -ラクタム系抗生物質の薬学的研究 (第 1 報) D(-)- α -[(Monooxo)-1-piperazinecarboxamido] benzylpenicillin 誘導体の合成
ならびに構造—抗菌活性¹⁾**

才川 勇, 高野俊太郎, 吉田長作, 高島億太, 桃井海秀, 保田 隆, 加須屋興子
富山化学工業株式会社総合研究所²⁾

**Studies on β -Lactam Antibiotics for Medicinal Purpose. I. Synthesis of
D(-)- α -[(Monooxo)-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillins
and Structure—Antibacterial Activity¹⁾**

ISAMU SAIKAWA, SHUNTARO TAKANO, CHOSAKU YOSHIDA, OKUTA TAKASHIMA,
KAISHU MOMONOI, TAKASHI YASUDA and KYOKO KASUYA

Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.²⁾

(Received February 15, 1977)

D(-)- α -[4-Substituted 1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin (I), D(-)- α -[4-substituted 2-oxo-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin (II), and D(-)- α -[4-substituted 3-oxo-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin (III) were prepared. *In vitro* antibacterial activity of these compounds against *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, and *K. pneumoniae* was examined and the activity decreased in the order of II, I, and III. These compounds were found to have a stronger antibacterial activity against *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* than aminobenzylpenicillin or carbenicillin.

Keywords—semisynthetic penicillins; antibiotics; structure-antibacterial activity; MIC; (monooxo)piperazine; (monooxo)piperazinecarbonyl chloride; D(-)- α -[(monooxo)-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin

β -ラクタム系抗生物質のうち特に緑膿菌に有効なものとして carbenicillin³⁾ (CB-PC) や sulbenicillin⁴⁾ (SB-PC) が知られている。しかしながらこれらの緑膿菌に対する抗菌力は未だ十分とはいえず、さらに抗菌力が強くしかも低毒性の抗生物質が望まれている。

最近, aminobenzylpenicillin (AB-PC) 誘導体である BL-P 1654⁵⁾ や mezlocillin⁶⁾ がグラム陰性桿菌に対し CB-PC より強い抗菌力を示すことが報告されている。

著者らは、これらの α -ureidopenicillin に興味をもち、さらに強い抗菌力を有する半合成ペニシリンの開発を目的として、AB-PC のアミノ基に piperazinecarbonyl 基および monooxopiperazinecarbonyl 基を導入した Chart 2 に示される化合物をデザインした。本報告では、これらの化合物の合成ならびに構造—抗菌活性について若干の知見を得たので報告する。

まず、D(-)- α -[4-substituted 1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin (I), D(-)- α -[4-substituted 2-oxo-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin (II) および D(-)- α -[4-substituted 3-oxo-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin (III) の合成法を Chart 3 に示す。

I は 1-substituted piperazine 類 (IV) に直接ホスゲンを作用させて 4-substituted 1-piperazinecarbonyl chloride 類 (V) を得、ついで V と AB-PC を CH_2Cl_2 または含水テトラヒドロフラン中で反応させて合成し

1) 日本薬学会第 96 年会, 名古屋, 1976 年 4 月発表。

2) Location: 2-4-1, Shimoookui, Toyama.

3) G.P. Body, L.M. Terrell, *J. Bacteriol.*, **95**, 1587 (1968).

4) K. Tsuchiya, T. Oishi, C. Iwagishi, T. Iwaki, *J. Antibiotics*, (Tokyo), **14**, 607 (1971).

5) R.E. Vanscoy, E. Warren, J.A. Washington, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1970**, 12.

6) Bayer A.-G., Ger. Offen., 2152967 [*C. A.*, **79**, 32047t (1973)].

Chart 1

Chart 2

Chart 3

た. II は 4-substituted 2-oxopiperazine 類 (VI) を trimethylchlorosilane または N,O-bis(trimethylsilyl) acetamide でトリメチルシリル化したのち、ホスゲンを作用させて 4-substituted 2-oxo-1-piperazinecarbonyl chloride 類 (VII) を合成し、I と同様に AB-PC と反応させて得た。また III は、1-substituted 2-oxopiperazine 類 (VIII) にホスゲンを作用させて 4-substituted 3-oxo-1-piperazinecarbonyl chloride (IX) を得、ついで I と同様に AB-PC と反応させて合成した。

本報告で得られた I—III の物性を Table I に示した。ペニシリンの精製法としては、酢酸エチルまたはアセトンなどの有機溶媒処理によるか、精製困難なものについては Sephadex LH-20 カラムクロマトグラム (Fine Chemicals 製、展開溶媒: テトラヒドロフラン) によって精製した。

つぎに、出発原料である monooxopiperazine 類の合成法を Chart 4 に示した。1-Alkyl (or acyl)-3-oxopiperazine 類 (VI) は、2-oxopiperazine⁷⁾ (X) にアシルハライドまたはアルキルハライドを反応させて得た。しかし 1-methyl-3-oxopiperazine (VI, $R_1=CH_3$) は上記方法で合成できなかったため、別途合成法について検討を加えた。その結果、トリエチルアミンを脱酸剤として N-メチルエチレンジアミンとクロロ酢酸エチルとを加熱反応させる方法で、比較的収率よく VI ($R_1=CH_3$) を得ることができた。

また、1-alkyl-2-oxopiperazine (VIII) は X をホルミル化して 1-formyl-3-oxopiperazine (XI) を得、これをジメチルホルムアミド (DMF) 中で水素化ナトリウムで XI のナトリウム塩となし、アルキルハライドを反応させて 1-alkyl-4-formyl-2-oxopiperazine (XII) を得、ついでこれを加水分解して合成した。しかし 1-methyl-2-

7) S.R. Aspinall, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 1202 (1940).

TABLE I.

Comp. No.	Type of comp.	R ₁	mp (°C) (dec.)	Formula	Analysis Calcd. (Found)		
					C	H	N
1	I	CH ₃	189—190	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₅ S·H ₂ O·HCl	49.85 (50.18)	6.09 5.89	13.21 13.12
2	I	C ₂ H ₅	132—134	C ₂₃ H ₃₁ N ₅ O ₅ S·H ₂ O·HCl	50.78 (51.47)	6.30 6.29	12.87 12.48
3	I	C ₆ H ₅ CH ₂	181—182 ^a	C ₂₈ H ₃₃ N ₅ O ₅ S·H ₂ O	59.04 (59.51)	6.19 6.03	12.29 12.05
4	I	CH ₃ CO	183—184	C ₂₃ H ₂₉ N ₅ O ₆ S	54.86 (55.03)	5.81 5.99	13.91 13.61
5	I	CH ₃ SO ₂	163—164	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₇ S ₂	48.96 (48.92)	5.42 5.54	12.98 12.88
6	I	C ₆ H ₅	150—151	C ₂₇ H ₃₁ N ₅ O ₅ S	60.32 (59.97)	5.81 5.71	13.03 12.87
7	II	CH ₃	160—164 ^a	C ₂₂ H ₂₇ N ₅ O ₆ S·H ₂ O	52.06 (52.47)	5.76 5.72	13.80 13.47
8	II	C ₂ H ₅	169—170 ^a	C ₂₃ H ₂₉ N ₅ O ₆ S·H ₂ O	52.96 (53.19)	5.99 5.79	13.43 13.23
9	II	C ₃ H ₇	164—165 ^a	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₆ S	55.69 (56.03)	6.04 6.02	13.53 13.26
10	II	C ₄ H ₉	146—147 ^a	C ₂₅ H ₃₃ N ₅ O ₆ S	56.48 (56.64)	6.26 6.13	13.17 13.03
11	II	C ₆ H ₅ CH ₂	146—147 ^a	C ₂₈ H ₃₁ N ₅ O ₆ S	59.46 (59.94)	5.52 5.42	12.38 12.21
12	II	CH ₃ CO	165—166	C ₂₃ H ₂₇ N ₅ O ₇ S	53.38 (53.21)	5.26 5.29	13.53 13.18
13	II	C ₂ H ₅ CO	166—167 ^a	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₇ S	54.23 (54.49)	5.50 5.30	13.17 13.00
14	II	C ₃ H ₇ CO	151—152 ^a	C ₂₅ H ₃₁ N ₅ O ₇ S	55.04 (55.48)	5.73 5.51	12.84 12.65
15	II	C ₄ H ₉ CO	142—143 ^a	C ₂₆ H ₃₃ N ₅ O ₇ S	55.80 (55.86)	5.94 5.69	12.51 12.24
16	II	ClCH ₂ CO	164—165	C ₂₃ H ₂₆ N ₅ O ₇ SCl	50.05 (50.37)	4.75 4.62	12.69 12.46
17	II	CH ₃ SO ₂	163—164	C ₂₂ H ₂₇ N ₅ O ₈ S	50.67 (50.77)	5.22 5.16	13.43 13.21
18	III	H	172—173	C ₂₁ H ₂₅ N ₅ O ₆ S	53.04 (53.23)	5.30 5.24	14.73 14.55
19	III	CH ₃	196—197	C ₂₂ H ₂₇ N ₅ O ₆ S	53.98 (53.88)	5.59 5.67	14.31 14.25
20	III	C ₂ H ₅	190—191	C ₂₃ H ₂₉ N ₅ O ₆ S	54.86 (54.77)	5.81 5.84	13.91 13.98
21	III	C ₃ H ₇	165—166 ^a	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₆ S·1/2H ₂ O	54.74 (54.57)	6.13 6.20	13.30 13.21
22	III	iso-C ₃ H ₇	168—169 ^a	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₆ S·1/2H ₂ O	54.74 (54.45)	6.13 6.04	13.30 12.84
23	III	C ₄ H ₉	144—146 ^a	C ₂₅ H ₃₃ N ₅ O ₆ S·1/2H ₂ O	55.54 (55.53)	6.34 6.30	12.95 12.77
24	III	CH ₂ =CHCH ₂	138—139 ^a	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₆ S·1/2H ₂ O	54.95 (55.36)	5.76 5.71	13.35 13.47
25	III	C ₆ H ₅ CH ₂	148—149 ^a	C ₂₈ H ₃₁ N ₅ O ₆ S·1/2H ₂ O	58.52 (58.28)	5.61 5.59	12.19 11.97

^a) Purify with Sephadex LH-20 column chromatography (Fine Chemical Co., Eluent solvent : Tetrahydrofuran).

TABLE II. Antibacterial Activity of D(-)- α -[(Monooxo) piperazinecarboxamido]benzylpenicillin
MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Comp. No.	Type of comp.	R ₁	Organism				
			<i>Staphylococcus aureus</i> FDA209P	<i>Escherichia coli</i> NIHJ	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3345	<i>Proteus</i> ^{a)} <i>vulgaris</i> GN3027	<i>Klebsiella</i> ^{a)} <i>pneumoniae</i> Y50
1	I	CH ₃	3.13	0.39	12.5	1.56	50
2	I	C ₂ H ₅	3.13	0.39	12.5	1.56	50
3	I	C ₆ H ₅ CH ₂	0.78	0.78	50	3.13	6.25
4	I	CH ₃ CO	1.56	1.56	25	3.13	100
5	I	CH ₃ SO ₂	0.78	0.78	25	3.13	100
6	I	C ₆ H ₅	0.78	1.56	25	3.13	12.5
7	II	CH ₃	0.78	0.39	12.5	1.56	25
8	II	C ₂ H ₅	0.78	0.39	12.5	1.56	12.5
9	II	C ₃ H ₇	0.39	0.39	12.5	1.56	6.25
10	II	C ₄ H ₉	0.78	0.39	12.5	1.56	1.56
11	II	C ₆ H ₅ CH ₂	0.39	0.39	25	0.78	1.56
12	II	CH ₃ CO	1.56	0.39	12.5	1.56	25
13	II	C ₂ H ₅ CO	1.56	0.78	12.5	1.56	12.5
14	II	C ₃ H ₇ CO	0.78	0.78	25	1.56	6.25
15	II	C ₄ H ₉ CO	0.78	0.39	25	1.56	3.13
16	II	ClCH ₂ CO	0.78	0.39	12.5	1.56	12.5
17	II	CH ₃ SO ₂	1.56	0.78	12.5	3.13	12.5
18	III	H	1.56	1.56	25	3.13	100
19	III	CH ₃	3.13	1.56	25	6.25	100
20	III	C ₂ H ₅	3.13	0.78	25	3.13	50
21	III	C ₃ H ₇	1.56	0.78	25	3.13	50
22	III	iso-C ₃ H ₇	1.56	1.56	25	3.13	50
23	III	C ₄ H ₉	1.56	0.78	50	6.25	25
24	III	CH ₂ =CHCH ₂	1.56	0.78	25	3.13	50
25	III	C ₆ H ₅ CH ₂	0.78	1.56	50	6.25	6.25
26	AB-PC		0.1	0.39	200	25	50
27	CB-PC		0.39	0.78	50	1.56	200

a) Clinical isolated strain.

oxopiperazine (VIII) は、前記方法では合成できなかったため、XI を DMF 中 $\text{Ag}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{I}$ でメチル化⁸⁾ し、目的物を得た。

本報告で合成された新規な α -ureido penicillin (I—III) および対照として AB-PC, CB-PC の *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Escherichia coli* NIHJ, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3345, *Proteus vulgaris* GN 3027 および *Klebsiella pneumoniae* Y50 に対する抗菌力を測定した。その結果は Table II に示すが構造と抗菌力の関係を要約すると次のとおりである。

1) 構造 I, II および III は、AB-PC と比較して *S. aureus* に対しては若干弱い、*P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae* などのグラム陰性桿菌に対して強い抗菌力を示した。

2) 構造 I, II および III は、CB-PC と比較して *P. aeruginosa* および *K. pneumoniae* に対して強い抗菌力を示した。

3) 構造 I, II および III の抗菌力を比較するとほぼ $\text{II} \geq \text{I} \geq \text{III}$ の順で、特に II の type に強い抗菌活性が認められた。

4) 構造 I, II および III のいずれにおいても 4 位の置換基 R_1 の炭素数の増加とともに *K. pneumoniae* に対する抗菌力が増強する傾向がみられた。

Piperazine 骨格は、すでに抗菌剤の moiety として rifampicin⁹⁾ や pipemidic acid¹⁰⁾ で用いられている。しかし oxopiperazine は新しい moiety であり本報告で一部抗菌力の増強が認められたことは興味深い。

今後さらにこの moiety を中心として、構造—抗菌活性を追求する予定である。

実験の部¹¹⁾

4-Ethyl-1-piperazinecarbonyl Chloride ($\text{V}, \text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) ホスゲン 12 g を 0—5° で benzene 110 ml に溶解する。ついで 1-ethylpiperazine 11.4 g をゆっくり (約 1 hr) 滴下し、析出する結晶をろ取すれば V の HCl 塩 16.9 g (91.5 %) を得る。mp 290—292° (dec.)。この結晶を H_2O 15 ml に溶解し CHCl_3 50 ml を加え、かきまぜながら K_2CO_3 5.6 g を添加して中和する。 CHCl_3 層を NaCl 水で洗浄後、無水 MgSO_4 で乾燥、 CHCl_3 を留去し、減圧蒸留し無色油状物質 bp 95—98° (3 mmHg), 収量 7.5 g (62 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1740 ($\text{C}=\text{O}$)、同様に $\text{R}_1=\text{CH}_3$ ¹²⁾ および $\text{R}_1=\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ を得。

4-Acetyl-1-piperazinecarbonyl Chloride ($\text{V}, \text{R}_1=\text{CH}_3\text{CO}$) ホスゲン 3.7 g を CH_2Cl_2 30 ml に溶解し、−20° で 1-acetyl-piperazine 3.84 g, Et_3N 4.3 ml および CH_2Cl_2 10 ml の溶液を 10 min で滴下し、同温度で 1 hr 反応させる。反応後 CH_2Cl_2 を留去し残留物に dioxane 12 ml を加え不溶部をろ別し、ろ液より dioxane を留去して淡黄色油状物を得。収量 5.1 g (89.5 %)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1720, 1620 ($\text{C}=\text{O}$)。同様に $\text{R}_1=\text{CH}_3\text{SO}_2$ および $\text{R}_1=\text{C}_6\text{H}_5$ を得。

6-[D(−)- α -(4-Ethyl-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanic Acid Hydrochloride Monohydrate ($\text{I}, \text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) AB-PC 3.5 g を CH_2Cl_2 60 ml に懸濁し、 N , O -bis(trimethylsilyl)acetamide 2.4 ml を加え室温で 2.5 hr かきまぜ溶解させる。ついで V ($\text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) 3.5 g を加え同温度で 15 hr 反応させる。溶媒を留去し MeOH 50 ml を加え 2 hr かきまぜたのち白色析出晶をろ取。収量 3.05 g (57.1 %)。mp 132—134° (dec.)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1760, 1660—1600 ($\text{C}=\text{O}$)。NMR (DMSO- d_6 - D_2O) δ : 1.10 (3H, t, $J=7\text{Hz}$, CH_3CH_2), 1.42 (3H, s, 2- CH_3), 1.53 (3H, s, 2- CH_3), 2.52 (2H, m, CH_2CH_2), 2.75 (4H, m, piperazine ring 3 and 5- CH_2), 3.50 (4H, m, piperazine ring 2 and 6- CH_2), 4.07 (1H, s, 3-H), 5.3-5.5 (3H, m, 5, 6 and α -H), 7.30 (5H, s, C_6H_5)。同様に $\text{R}_1=\text{CH}_3$ および $\text{R}_1=\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ を得。

6-[D(−)- α -(4-Acetyl-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanic Acid ($\text{I}, \text{R}_1=\text{CH}_3\text{CO}$) AB-PC $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1g を 80 % 含水テトラヒドロフラン 15 ml に懸濁し Et_3N を加えて pH 8.0—8.5 に調整する。この溶液に 5—10° で V ($\text{R}_1=\text{CH}_3\text{CO}$) 0.57 g を添加する。その間、 Et_3N を加えて pH 7—8 に保持する。同温度で 1 hr 反応後、テトラヒドロフランを留去し残留物に H_2O 10 ml および AcOEt 15 ml を加え溶解し、2N HCl を加えて pH 2.0 に調整する。AcOEt 層を分取し十分水洗後溶媒を留去しエーテルを加え粗結晶をろ取する。収量 1.1 g (88 %) この結晶 1 g を H_2O 10 ml に懸濁し NaHCO_3 を加え溶解し、これに AcOEt 15 ml を加え

8) R. Kuhn, H. Trischmann, I. Low, *Angew. Chem.*, **67**, 32 (1955).

9) N. Maggi, C.R. Pasqualucci, R. Ballotta, P. Sensi, *Chemotherapy*, **11**, 285 (1966) [*C. A.*, **66**, 94902h (1967)].

10) J. Matsumoto, S. Minami, *J. Med. Chem.*, **18**, 74 (1975).

11) 融点はすべて未補正。IR spectrum は日立製 215 型で測定、元素分析は日立製 026 型で測定、NMR spectrum は日立製 R 24 型を用い内部標準物質として $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ を使用した。

12) Tanabe Pharmaceutical Co., Ltd., Japan Patent 4929 (1951) [*C. A.*, **47**, 9369a (1953)].

2N HCl で pH 2.0 に調整する。AcOEt 層は水洗後、減圧下に濃縮し、析出する白色の結晶を得。mp 163—164°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1775, 1725, 1620 (C=O). NMR (DMSO-*d*₆) δ : 1.43 (3H, s, 2-CH₃), 1.55 (3H, s, 2-CH₃), 2.01 (3H, s, CH₃CO), 3.40 (8H, s, piperazine ring 2, 3, 5 and 6-CH₂), 4.21 (1H, s, 3-H), 5.3—5.6 (3H, m, 5, 6 and α -H), 6.90 (1H, d, $J=8\text{Hz}$, NH), 7.32 (5H, s, C₆H₅), 8.83 (1H, d, $J=7.5\text{Hz}$, NH). 同様に R₁=CH₃SO₂ および R₁=C₆H₅ を得。

1-Chloroacetyl-3-oxopiperazine (VI·R₁=ClCH₂CO) 2-Oxopiperazine 3 g, Et₃N 3.6 g を CH₂Cl₂ 30 ml に溶解し氷冷下に chloroacetyl chloride 4.1 g を滴下する。室温で 1 hr かきまぜたのち CH₂Cl₂ を留去し、残渣を dioxane より再結晶, mp 130—132° を示す白色針状結晶を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1645, 1625 (C=O). Anal. Calcd. C₆H₉ClN₂O₂: C, 40.81; H, 5.14; N, 15.86. Found: C, 40.93; H, 5.15; N, 15.60. 同様に R₁=C₆H₅ の化合物を得。R₁, mp, 再結晶溶媒: CH₃CO¹³, 112—113°, iso-PrOH; CH₃SO₂, 165—166°, MeOH; C₂H₅CO, 油状物; C₃H₇CO, 油状物; C₄H₉CO, 油状物。

1-Methyl-3-oxopiperazine (VI·R₁=CH₃) N-Methylethylenediamine 14.83 g, Et₃N 20 g および benzene 40 ml の溶液に 10—15° で ClCH₂COOEt 24.5 g, benzene 40 ml の溶液を滴下する。滴下後 2 hr 還流して不溶部をろ別, 溶媒を留去し減圧蒸留, bp 120—125° (4 mmHg) の無色油状物 15 g (67 %) を得。mp 87—88° (iso-C₃H₇COCH₃). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1660 (C=O). Anal. Calcd. C₅H₁₀N₂O: C, 52.33; H, 8.90; N, 24.24. Found: C, 52.61; H, 8.83; N, 24.45.

1-Benzyl-3-oxopiperazine (VI·R₁=C₆H₅CH₂) 2-Oxopiperazine 2 g, benzyl chloride 2.66 g, Et₃N 2.1 g および CHCl₃ 10 ml の溶液を 1 hr 還流したのち反応液を水洗し, 溶媒を留去する。残渣を iso-PrOH より再結晶, mp 152—154° の結晶 2.96 g (77.9 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1655 (C=O). Anal. Calcd. C₁₁H₁₄N₂O: C, 69.45; H, 7.42; N, 14.73. Found: C, 69.39; H, 7.41; N, 14.68. 同様に R₁=C₆H₅ の化合物を得。R₁, mp, 再結晶溶媒: C₂H₅ (HCl salt), 251°, MeOH; C₃H₇ (HCl salt), 240°, EtOH; C₄H₉ (HCl salt), 180—182°, MeOH; CH₃SO₂, 165—166°, MeOH.

4-Acetyl-2-oxo-1-piperazinecarbonyl Chloride (VII·R₁=CH₃CO) VI (R₁=CH₃CO) 1.8 g を CH₃CN 15 ml に溶解し, N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide 4.6 ml を加え 4 hr 還流後減圧下に CH₃CN および N-trimethylsilylacetamide [bp 80° (15 mmHg)] を留去する。残留物を CH₂Cl₂ 10 ml に溶解し, ホスゲン 1.5 g を含む CH₂Cl₂ 15 ml 溶液中に -10—-15° で滴下し, 2 hr 反応させたのち溶媒を留去して, 淡黄色油状物 2.3 g (88.5 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1790, 1710, 1640 (C=O). 同様に R₁=C₂H₅CO, C₃H₇CO, C₄H₉CO, ClCH₂CO, CH₃SO₂, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉ を得。

6-[D(-)- α -(4-Ethyl-2-oxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanic Acid Monohydrate (II·R₁=C₂H₅) AB-PC 3.5 g を CH₂Cl₂ 70 ml に懸濁し, Et₃N 2.2 g を加え溶解し, 5—10° で VII (R₁=C₂H₅) 2.28 g を含む CH₂Cl₂ 10 ml を滴下する。さらに 1 hr 反応後, 溶媒を留去し, 残留物を NaCl 水 30 ml に溶解する。ついで CH₃CN 50 ml を加え, 2N HCl で pH 3.0 に調整する。CH₃CN 層を NaCl 水で洗浄後, 溶媒を留去し, 粗結晶 2.61 g (50 %) を得。この結晶をテトラヒドロフランに溶解し, Sephadex LH-20 (Fine Chemicals 製。展開溶媒: テトラヒドロフラン) を用いて精製し, mp 169—170° を示す白色結晶を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1765, 1700—1665 (C=O). NMR (DMSO-*d*₆) δ : 1.01 (3H, t, $J=7\text{Hz}$, CH₃CH₂), 1.40 (3H, s, 2-CH₃), 1.55 (3H, s, 2-CH₃), 2.50 (2H, m, CH₃CH₂), 2.7 (2H, m, piperazine ring 5-CH₂), 3.28 (2H, s, piperazine ring 3-CH₂), 3.60 (2H, m, piperazine ring 6-CH₂), 4.18 (1H, s, 3-H), 5.30—5.76 (3H, m, 5, 6 and α -H), 7.35 (5H, s, C₆H₅), 9.20 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, NH), 10.1 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, NH). 同様に R₁=CH₃, C₃H₇, C₄H₉, C₆H₅CH₂ を得。

6-[D(-)- α -(4-Acetyl-2-oxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanic Acid (II·R₁=CH₃CO) AB-PC·3H₂O 1 g を 80 % 含水テトラヒドロフラン 15 ml に懸濁し, Et₃N を加えて pH 8.0—8.5 に調整する。この溶液に, 5—10° で VII (R₁=CH₃CO) 0.61 g を添加する。その間 Et₃N を加えて pH 7—8 に保持する。同温度で 1 hr 反応後, テトラヒドロフランを留去し, 残留物に H₂O 10 ml および AcOEt 15 ml を加えて溶解し, 2N HCl で pH 2.0 に調整する。AcOEt 層を水洗後, 2/3 量まで濃縮し, 析出する白色結晶をろ取。収量 1.0 g (78 %). mp 165—166°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1775, 1710—1680, 1620 (C=O). NMR (DMSO-*d*₆) δ : 1.37 (3H, s, 2-CH₃), 1.52 (3H, s, 2-CH₃), 1.97 (3H, s, CH₃CO), 3.50—3.85 (4H, m, piperazine ring 5 and 6-CH₂), 4.17 (2H, s, piperazine ring 3-CH₂), 5.25—5.55 (2H, m, 5 and 6-H), 5.66 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, α -H), 7.33 (5H, s, C₆H₅), 9.17 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, NH), 9.87 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, NH). 同様に R₁=C₂H₅CO, C₃H₇CO, C₄H₉CO, ClCH₂CO および CH₃SO₂ を得。

1-Formyl-3-oxopiperazine (XI) 2-Oxopiperazine 5 g および formamide 7.6 g を dioxane 25 ml に溶解し, 3 hr 還流後, 溶媒を留去する。残渣は dioxane 25 ml より再結晶し, mp 108—110° の結晶 5.7 g (89 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1650 (C=O). Anal. Calcd. C₅H₈N₂O₂: C, 46.78; H, 6.29; N, 21.86. Found: C, 46.90; H, 6.38; N, 21.71.

1-Ethyl-2-oxopiperazine (VIII·R₁=C₂H₅) XI 8 g を DMF 120 ml に溶解し, 氷冷下に NaH (純度 ca. 53 %) 3.4 g を添加し, 1 hr 反応後, EtBr 8 g を滴下し 5 hr かきまぜる。不溶物をろ別し, ろ液より溶媒を留

13) V.G. Granik, R.G. Glushkov., *Khim.-Farm. Zh.*, 1 (4), 16 (1967) [*C. A.*, 68, 68955z (1968)].

去する。残留物にエタノール性 KOH (KOH 4.8 g, EtOH 30 ml) を加えて溶解し, 30 min かきまぜた後不溶物をろ別する。ろ液より溶媒を留去し, 減圧蒸留。bp 97—100° (1 mmHg) の無色油状物 5.96 g (74 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{neat}}$ cm⁻¹: 1620 (C=O)。本品は iso-C₃H₇OH 中当量量の *p*-トルエンスルホン酸 (PTS) を加えると VIII の PTS 塩を得。mp 147—149°。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1625 (C=O)。Anal. Calcd. C₁₃H₂₀N₂O₄: C, 51.99; H, 6.71; N, 9.33. Found: C, 52.06; H, 6.77; N, 9.18。同様にして次の化合物を得。R₁, mp, 再結溶媒; C₃H₇ (PTS salt), 154—155°, iso-PrOH; C₄H₉ (PTS salt), 173—174°, iso-PrOH; C₆H₅CH₂ (PTS salt), 162—163°, iso-PrOH。

1-Methyl-2-oxopiperazine (VIII, R₁=CH₃) XI 12.8 g, Ag₂O 12.8 g, MeI 17.0 g および DMF 100 ml の混合物を 20 hr 室温でかきまぜたのち AgI をろ別する。ろ液より溶媒を留去し, 残留物はシリカゲルカラムクロマトグラフィー (和光純薬 C-200; CHCl₃ で溶出) を用いて精製をおこない, 1-methyl-4-formyl-2-oxopiperazine (XII, R₁=CH₃) 11.2 g を得。これを MeOH 20 ml に溶解し, メタノール性 KOH (KOH 4.9 g, MeOH 20 ml) を加えて, 30 min かきまぜたのち不溶物をろ別する。ろ液より溶媒を留去し減圧蒸留, bp 103—104° (4 mmHg) の無色油状物 7.74 g (67.9 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{neat}}$ cm⁻¹: 1620 (C=O)。

4-Ethyl-3-oxo-1-piperazinecarbonyl Chloride (IX, R₁=C₂H₅) ホスゲン 3.7 g を CH₂Cl₂ 30 ml に溶解し—20° で VIII (R₁=C₂H₅) 4 g, Et₃N 4.35 ml および CH₂Cl₂ 10 ml の溶液を滴下し, 同温度で 1 hr 反応させる。反応後溶媒を留去し, 残渣に dioxane 12 ml を加えて不溶物をろ別する。ろ液より溶媒を留去し, 無色油状物 5.35 g (90 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{neat}}$ cm⁻¹: 1730, 1640 (C=O)。同様にして R₁=H, CH₃, C₃H₇, iso-C₃H₇, C₄H₉, CH₂=CHCH₂ および C₆H₅CH₂ を得。

6-[D(-)-α-(4-Ethyl-3-oxo-1-piperazinecarboxamido) phenylacetamido] penicillanic Acid (III, R₁=C₂H₅) AB-PC·3H₂O 1 g を 80 % 含水テトラヒドロフラン 15 ml に懸濁し, Et₃N を滴下して pH 8.0—8.5 に調整する。これに 5—10° で IX (R₁=C₂H₅) 0.53 g を添加する。その間, Et₃N を加えて pH 7—8 に保持する。同温度で 1 hr 反応後, テトラヒドロフランを留去し, 残留物に H₂O 10 ml および AcOEt 15 ml を加えて溶解し, 2N HCl で pH 2.0 に調整する。AcOEt 層を分取し, 十分水洗後, AcOEt 層を 2/3 量まで濃縮, 析出する結晶を分取, mp 190—191° の白色結晶 1.0 g (80 %) を得。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1770, 1735, 1680, 1620 (C=O)。NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.02 (3H, t, *J*=7Hz, CH₃CH₂), 1.41 (3H, s, 2-CH₃), 1.53 (3H, s, 2-CH₃), 3.15—3.40 (4H, m, CH₂CH₂ and piperazine ring 5-CH₂), 3.45—3.65 (2H, m, piperazine ring 6-CH₂), 4.19 (1H, s, 3-H), 5.35—5.60 (3H, m, 5, 6 and α-H), 6.93 (1H, d, *J*=7Hz, NH), 7.31 (5H, s, C₆H₅), 8.75 (1H, d, *J*=7Hz, NH)。同様にして R₁=H, CH₃, C₃H₇, iso-C₃H₇, C₄H₉, CH₂=CHCH₂, C₆H₅CH₂ を得。

抗菌力試験 最小発育阻止濃度 (MIC) は, heart infusion agar 培地を用いて寒天平板希釈法によって測定した。Trypto-soy broth 中で前培養した菌液を 100 倍に希釈して約 10⁶ cells/ml とし, その 1 白金耳を, 抗生剤を含む寒天平板上に接種した。そして 37°, 18 hr 培養し, 試験菌の増殖が完全に阻止された最小濃度を MIC とした。

謝辞 本研究に際し, 終始御指導を賜りました群馬大学医学部微生物学教室 三橋 進教授に衷心より御礼申し上げます。