β -ラクタム系抗生物質の薬学的研究 (第 2 報¹⁾) D(-)- α -[Dioxo-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin 誘導体の
合成ならびに構造-抗菌活性²⁾

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, 小松美和子
富山化学工業株式会社 総合研究所³⁾

Studies on β -Lactam Antibiotics for Medicinal Purpose. II¹⁾. Synthesis of
D(-)- α -[Dioxo-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillins
and Structure-Antibacterial Activity²⁾

ISAMU SAIKAWA, SHUNTARO TAKANO, CHOSAKU YOSHIDA, OKUTA TAKASHIMA,
KAISHU MOMONOI, TAKASHI YASUDA, KYOKO KASUYA
and MIWAKO KOMATSU
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.³⁾

(Received February 15, 1977)

D(-)- α -(4-Substituted 2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)benzylpenicillin (I), D(-)- α -(4-substituted 2,5-dioxo-1-piperazinecarboxamido)benzylpenicillin (II) and D(-)- α -(4-substituted 3,5-dioxo-1-piperazinecarboxamido)benzylpenicillin (III) were prepared. These compounds showed *in vitro* antibacterial activity against *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, and *S. marcescens*, the activity being in the order of I > II, III. These compounds were found to have a stronger antibacterial activity against gram-negative bacilli than aminobenzylpenicillin or carbenicillin.

Keywords—semisynthetic penicillins; antibiotics; structure-antibacterial activity; MIC; dioxopiperazine; dioxopiperazinecarbonyl chloride; D(-)- α -[(dioxo)-1-piperazinecarboxamido]benzylpenicillin

著者らは前報¹⁾で aminobenzylpenicillin (AB-PC) のアミノ基に monooxopiperazinecarbonyl 基を導入し

Chart 1

た α -ureidopenicillin について報告し、その中で D(-)- α -(4-substituted 2-oxo-1-piperazinecarboxamido)benzylpenicillin が緑膿菌などのグラム陰性桿菌に強い抗菌力を示すことを報告した。

今回、著者らは Chart 1 に示す如く AB-PC のアミノ基に dioxopiperazinecarbonyl 基を導入した α -ureidopenicillin をデザインし、これらの合成法と構造-抗菌活性について検討した。

その結果、D(-)- α -(4-substituted 2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)benzylpenicillin 類 (I) がグラム陽性菌ならびに *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* などのグラム陰性桿菌に対し、強い抗菌力を示すことを見出し得たので報告する。

1) 第 1 報：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, 薬誌, 97, 883 (1977).

2) 日本薬学会第 96 年会で発表, 名古屋, 1976 年 4 月.

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

Chart 2

著者らの合成した化合物，すなわち D(-)- α -(4-substituted 2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido) benzylpenicillin (I)，D(-)- α -(4-substituted 2,5-dioxo-1-piperazinecarboxamido) benzylpenicillin (II) および D(-)- α -(4-substituted 3,5-dioxo-1-piperazinecarboxamido) benzylpenicillin (III) の合成法を Chart 2 に示す。

1-substituted 2,3-dioxopiperazine 類 (IV) を trimethylchlorosilane でトリメチルシリル化したのち，trichloromethylchloroformate ($\text{ClCO}_2\text{CCl}_3$) を作用させて，4-substituted 2,3-dioxo-1-piperazinecarbonyl chloride 類 (V) を合成した。ついで水-酢酸エチルの系で炭酸水素ナトリウムを脱酸剤として，AB-PC と V とを反応させて I を得た。

II は，1-substituted 2,5-dioxopiperazine 類 (VI)⁴⁾ より対応する 4-substituted 2,5-dioxo-1-piperazinecarbonyl chloride (VII) を得，ついで含水テトラヒドロフラン溶媒中で，VII と AB-PC とを反応させて得た。また III は，4-substituted 3,5-dioxo-1-piperazinecarbonyl chloride (IX) を合成し，ついで含水テトラヒドロフラン溶媒中で，IX と AB-PC とを反応させて得た。

本報告で得られた I の物性を Table I に示した。ペニシリンの精製は水-酢酸エチルの 2 層間でアルカリ・酸処理することにより針状または板状の結晶として得られた。しかし精製困難なものについては Sephadex LH-20 (Fine chemicals 製，展開溶媒：テトラヒドロフラン) を用いるカラム精製によった。

出発原料である 4-substituted 2,3-dioxopiperazine 類 (IV) のうち，1-(β -hydroxyethyl)-2,3-dioxopiperazine の合成法が知られ，N-(β -hydroxyethyl)ethylenediamine と diethyl oxalate とを塩酸の存在下加熱閉環して得ている。⁵⁾

著者らはこの方法に準じて，N-substituted ethylenediamine (X)⁶⁾ と diethyl oxalate とを加熱閉環して IV を合成した。

しかしながら，アミノ基とエステルとの間の反応性にあまり選択性がないため重合物が多く，収率 40—60% であった。そこで反応の選択性を増すため，さらに検討を加えた結果，EtOH 中 X に当モル量の CO_2 を導入して X の無水炭酸付加体と推定される化合物 (XI) を得た。これに diethyl oxalate を加えて反応させると CO_2 を発生しながら反応し，80—85% と高収率で IV を得た。

XI は空気中に放置すると吸湿して X の炭酸塩に変化することから，Chart 3 に示したように，X と CO_2 で分子内カルバミン酸塩を形成した XI で示される構造を有していると推定される。

著者らは，AB-PC と V ($\text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) の反応生成物 I ($\text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) を TLC [Silica Gel (Merck 製)，AcOH-BuOH- H_2O (1:4:1)] で展開すると目的物の上部に微量の副生成物を認めた。この副生成物は 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) によって単離すると，mp 179° を示す結晶が得られた。この結晶の核磁気共鳴吸収 (NMR) スペクトルでは phenyl 基が 2 個，アミドの NH が

4) a) R.G. Petrova, L.N. Akimova, N.I. Gavrilor, *Zhuk. Obshchei. Khim.*, **24**, 2230 (1954) [*C.A.*, **50**, 359 g (1956)]; b) W.O. Foye, D.H. Kay, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **49**, 705 (1960) [*C.A.*, **55**, 4522g (1961)].

5) E.I. dupont, U.S. Patent 2913496 [*C.A.*, **54**, 4391g (1960)].

6) F.Linsker, R.L. Evans, *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 1581 (1945).

TABLE I. $R_1-N \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ O \quad O \end{array} N-CONHCHCONH \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ O \quad S \end{array} \begin{array}{c} CH_3 \\ CH_3 \\ COOH \end{array}$

Comp. No.	R_1	mp (°C) (decomp.)	Formula	Analysis					
				Calcd.			Found		
				C	H	N	C	H	N
1	CH ₃	156—157	C ₂₂ H ₂₅ N ₅ O ₇ S·2H ₂ O	48.97	5.42	12.98	49.00	4.74	12.85
2	C ₂ H ₅	154—156	C ₂₃ H ₂₇ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	51.58	5.46	13.08	51.71	5.50	13.18
3	C ₃ H ₇	152—154	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	52.45	5.69	12.74	52.72	5.63	12.52
4	iso-C ₃ H ₇	158—160	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	52.45	5.69	12.74	52.14	5.68	12.39
5	C ₄ H ₉	143—145	C ₂₅ H ₃₁ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	53.28	5.90	12.43	53.26	5.82	12.22
6	C ₅ H ₁₁	130—131 ^a	C ₂₆ H ₃₃ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	54.06	6.11	12.12	54.51	6.07	12.08
7	C ₆ H ₁₃	122—123 ^a	C ₂₇ H ₃₅ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	54.81	6.30	11.84	55.27	6.26	11.79
8	C ₇ H ₁₅	120—122 ^a	C ₂₈ H ₃₇ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	55.52	6.49	11.56	55.79	6.21	11.42
9	C ₈ H ₁₇	126—127 ^a	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	56.21	6.67	11.30	56.48	6.49	11.41
10	C ₁₀ H ₂₁	126—127 ^a	C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	57.48	7.00	10.81	57.87	6.88	10.95
11	C ₁₂ H ₂₅	114—116 ^a	C ₃₃ H ₄₇ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	58.65	7.31	10.36	58.89	7.15	10.18
12	HOCH ₂ CH ₂	170—171	C ₂₃ H ₂₇ N ₅ O ₈ S·H ₂ O	50.08	5.30	12.70	50.41	5.27	12.82
13	ClCH ₂ CH ₂	151—153	C ₂₃ H ₂₆ ClN ₅ O ₇ S·H ₂ O	48.46	4.95	12.29	48.93	4.97	12.11
14	C ₆ H ₅ CH ₂	154—155 ^a	C ₂₈ H ₂₉ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	56.27	5.23	11.72	56.67	5.91	11.56
15	Cyclo-C ₆ H ₁₁	166—167 ^a	C ₂₇ H ₃₃ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	55.00	5.98	11.88	55.00	5.73	11.61
16	C ₆ H ₅	156—157 ^a	C ₂₇ H ₂₇ N ₅ O ₇ S·H ₂ O	55.57	5.01	12.00	55.91	4.86	11.84

^a) Purify with Sephadex LH-20 column chromatography (Fine Chemicals Co., eluent solvent: tetrahydrofuran).

4 個認められ、4-ethyl-2,3-dioxopiperazine ring が 1 個存在する。また、元素分析値が C₃₉H₄₆N₈O₁₁S₂ に一致することから、I (R₁=C₂H₅) と AB-PC とが反応した Chart 4 で示される α-[6-[p(-)-α-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanoylamino]benzylpenicillin (XII) の monohydrate と推定した。そこで別途合成法として I (R₁=C₂H₅) に ClCO₂Et を作用させて混合酸無水物となし、AB-PC と縮合したところ XII と融点、TLC、赤外線吸収 (IR) および NMR スペクトルが一致した。

XII の生成は上記反応系で生成した I (R₁=C₂H₅) のカルボキシル基に V が反応し、カルボキシル基が活性化された後、AB-PC のアミノ基と反応したものと推定される。

著者らは溶媒として水-酢酸エチルのかわりに CH₂Cl₂ を用い、AB-PC のカルボキシル基とアミノ基をトリメチルシリル化したのち、V (R₁=C₂H₅) と反応させたところ、XII は全く副生せず I (R₁=C₂H₅) を高収率で得た。

また I の NMR スペクトルでは、α 位の NH プロトンが dimethyl sulfoxide (DMSO)-d₆ 中 δ 9.80 と予想される位置より非常に低磁場に現れている。そこで α-ureidopenicillin のメチルエステルおよび α-ureidophenylacetic acid のメチルエステルの合成をおこない、代表例について 6 位および α 位の NH プロトンの chemical shift を CDCl₃ 中および DMSO-d₆ 中で測定、その結果を Table II に示した。

すなわち、6 位の NH プロトンは、いずれの penicillin も CDCl₃ 中では δ 7.0 付近に現れ、DMSO-d₆ 中

TABLE II. NH Proton Shift (δ)

Comp. No.	R	6-Proton (H_β)		Δ	α -Proton (H_α)		Δ
		CDCl ₃	DMSO- <i>d</i> ₆		CDCl ₃	DMSO- <i>d</i> ₆	
1		6.92	8.85	1.93	5.93	7.05	1.12
2		6.95	9.92	2.97	10.0	9.92	0.08
3		6.96	8.76	1.80	6.06	7.25	1.19
4		6.96	9.25	2.29	9.90	9.82	-0.08
5					5.81	7.20	1.39
6					9.84	9.78	-0.06

$\Delta = \delta \text{DMSO-}d_6 - \delta \text{CDCl}_3$.

では, DMSO と分子間水素結合を形成するため,⁷⁾ 低磁場に Shift して δ 9.0 前後に現れている. また α 位 NH プロトンはピペラジン誘導体 (comp. No. 1) および 3-oxopiperazine 誘導体 (comp. No. 3) では, CDCl₃ 中 δ 6.0 前後に, DMSO-*d*₆ 中では δ 7.0 付近に現れた. しかしながら, 2-oxopiperazine 誘導体 (comp. No. 2) および 2,3-dioxopiperazine 誘導体 (comp. No. 4) では CDCl₃ 中で δ 10 と非常に低磁場に shift していることがわかった. また, これらの化合物は DMSO-*d*₆ 中では CDCl₃ 中とくらべてほとんど shift していない.

著者らは以上のことから, piperazine 環の 2 位に oxo 基をもつ化合物は, Chart 5 に示したように α 位の NH プロトンと分子内水素結合を形成しているものと推定した.

この報告で合成された新規な α -ureidopenicillin (I—III) および対照として AB-PC, carbenicillin (CB-PC) の *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Escherichia coli* NIHJ, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3345, *Proteus vulgaris* GN 3027, *Klebsiella pneumoniae* Y50 および *Serratia marcescens* W2 に対する抗菌力 (MIC) を Table III に示すが, 構造と抗菌作用の関係を要約すると次の通りである.

1) 構造 I, II, および III の抗菌力を比較すると一般に I > II, III の順で, I に非常に強い抗菌力が認められた.

2) 構造 I は AB-PC および CB-PC と比較すると広範囲な抗菌スペクトルを有し, 特に *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae* および *S. marcescens* などのグラム陰性桿菌に対して強い抗菌力を示した.

Chart 5

7) R.D.G. Cooper, P.V. Demarco, J.C. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 1408 (1969).

TABLE III. Antibacterial Activity of D(-)- α -(Dioxopiperazinecarboxamido)benzylpenicillin MIC (μ 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	<i>Serratia</i> ^{a)} <i>marcescens</i> W2
1	I	CH ₃	0.78	<0.1	3.13	0.39	6.25	50
2	I	C ₂ H ₅	0.78	<0.1	3.13	0.39	3.13	25
3	I	C ₃ H ₇	0.78	<0.1	3.13	0.39	1.56	12.5
4	I	<i>iso</i> -C ₃ H ₇	0.78	<0.1	3.13	0.39	1.56	6.25
5	I	C ₄ H ₉	0.78	<0.1	3.13	0.39	1.56	6.25
6	I	C ₅ H ₁₁	0.78	<0.1	6.25	0.39	0.78	3.13
7	I	C ₆ H ₁₃	0.39	<0.1	6.25	0.39	0.39	1.56
8	I	C ₇ H ₁₅	0.39	<0.1	6.25	0.39	0.39	0.78
9	I	C ₈ H ₁₇	0.39	<0.1	6.25	0.39	0.39	0.78
10	I	C ₁₀ H ₂₁	0.39	<0.1	6.25	0.39	0.39	0.78
11	I	C ₁₂ H ₂₅	0.39	<0.1	12.5	0.78	0.78	0.78
12	I	HOCH ₂ CH ₂	0.78	<0.1	3.13	0.39	3.13	50
13	I	ClCH ₂ CH ₂	0.78	<0.1	3.13	0.39	1.56	12.5
14	I	C ₆ H ₅ CH ₂	0.39	<0.1	6.25	0.78	0.78	12.5
15	I	Cyclo-C ₆ H ₁₁	0.39	<0.1	6.25	0.78	0.78	6.25
16	I	C ₆ H ₅	0.39	<0.1	3.13	0.78	0.78	6.25
17	II	CH ₃	1.56	6.25	25	12.5	200	—
18	II	C ₆ H ₅ CH ₂	0.78	6.25	25	25	50	—
19	II	CH ₃ CO	0.78	3.13	12.5	12.5	200	—
20	III	H	0.78	1.56	25	3.13	200	—
21	III	C ₆ H ₅ CH ₂	1.56	3.13	25	6.25	50	—
22	AB-PC		0.1	0.39	200	25	50	200
23	CB-PC		0.39	0.78	50	1.56	200	100

a) Clinical isolated strain.

3) 構造 I の *K. pneumoniae* および *S. marcescens* に対する抗菌力は 2,3-dioxopiperazine ring の 4 位の置換基の炭素数の増加 (脂溶性の増加) とともに増強し C₆—C₇ を境として一定の値を示した。

AB-PC に 2,3-dioxopiperazinyl 基を導入した新規ペニシリン (I) が、特にグラム陰性桿菌に対して強い抗菌力を示したことは極めて興味深い。従来 piperazinyl 基を助作用団とする医薬品は極めて多いが、2,3-dioxopiperazine を医薬品の moiety として利用した報告は皆無であり今後の応用が期待される。

実験の部^{a)}

1-Ethyl-2,3-dioxopiperazine (IV·R₁=C₂H₅) (A 法) Diethyl oxalate 14.6 g を EtOH 15 ml に溶解し、15—20° で N-ethylethylenediamine 8.8 g をゆっくり滴下する。滴下後 50° で 1 hr 反応後、内温が 120° になるまで加熱し EtOH を系外に留去する。残渣を dioxane 15 ml より再結晶、mp 113° を示す白色プリズム結晶を得、IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3230, 3125 (NH), 1680—1660 (C=O). NMR (CDCl₃) δ : 1.16 (3H, t, *J*=7 Hz, CH₃CH₂), 3.47 (2H, q, *J*=7 Hz, CH₂CH₂), 3.57 (4H, s, 5 and 6-CH₂), 8.56 (1H, s, *J*=7 Hz, NH) Anal. Calcd. C₆H₁₀N₂O₂: C, 50.47; H, 7.08; N, 19.61. Found: C, 50.58; H, 7.10; N, 19.64.

(B 法) N-Ethylethylenediamine 14.6 g と EtOH 50 ml の溶液に氷冷下に炭酸ガスを導入すると白色結晶を析出する。発熱がやむまで炭酸ガスを導入し、ついで 20° で diethyl oxalate 14.6 g を添加し同温度で 1.5 hr, 50° で 1 hr 反応させる。反応後、内温が 120° になるまで加熱し EtOH を系外に留去する。残渣を dioxane 20 ml より再結晶すると mp 113° を示す白色プリズム晶 11.8 g (83.2%) を得、同様に次の化合物を得た。

R₁, mp, 再結晶媒; Me, 158°, *iso*-PrOH; Pr, 98—100°, dioxane; *iso*-Pr, 166—167°, dioxane; Bu, 111—113°, CCl₄; C₅H₁₁, 104—106°, (*iso*-Pr)₂O-EtOH; C₆H₁₃, 111—112°, (*iso*-Pr)₂O-EtOH; C₇H₁₅, 114—115°, (*iso*-Pr)₂O-EtOH; C₈H₁₇, 116—120°, (*iso*-Pr)₂O-EtOH; C₁₀H₂₁, 122—124°, MeCO; C₁₂H₂₅, 119—121°, *iso*-PrOH; C₆H₅CH₂, 239—240°, EtOH; cyclo-C₆H₁₁, 218°, EtOH; C₆H₅, 202—204°, *iso*-PrOH.

4-Ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarbonyl Chloride (V·R₁=C₂H₅) IV (R₁=C₂H₅) 11.4 g, trimethylchlorosilane 13 g を CH₂Cl₂ 110 ml に溶解し -5—0° で Et₃N 12 g を滴下し 1 hr 反応する。ついで -15—20° で

8) 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 R24 型を用い内部標準物質として Si(CH₃)₄ を使用した。

trichloromethyl chloroformate 11.9 g を滴下し, 30 min を要して 20° まで昇温する. 溶媒を留去し, 残渣に dioxane 50 ml を加え不溶部を濾別したのち濾液より溶媒を留去すると粗結晶 18.8 g (92%) を得, この結晶を CH_2Cl_2 -ether より再結晶, mp 95—96° を示す白色針状結晶を得. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1780, 1660 ($\text{C}=\text{O}$). 同様にし て次の化合物を得. (いずれの化合物も CH_2Cl_2 -ether より再結晶) R_1 , mp (dec.); CH_3 , 94—95°; C_3H_7 , 74—75°; iso- C_3H_7 , 153—154°; C_4H_9 , 73—74°; C_5H_{11} , 66—70°; C_6H_{13} , 71—73°; C_7H_{15} , 68—71°; C_8H_{17} , 72—73°; $\text{C}_{10}\text{H}_{21}$, 60—61°; $\text{C}_{12}\text{H}_{25}$, 76—78°; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$, 128—129°; cyclo- C_6H_{11} , 129—130°; C_6H_5 , 135—137°; ClCH_2CH_2 , 84—85°.

6-[D(-)- α -(4-Ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido) phenylacetamido] penicillanic Acid Monohydrate ($\text{I} \cdot \text{R}_1 = \text{C}_2\text{H}_5$) (A 法) AB-PC $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 4 g, H_2O 40 ml および AcOEt 20 ml を混合し, かきまぜながら NaHCO_3 1.7 g を加える. 2—3° で V ($\text{R}_1 = \text{C}_2\text{H}_5$) 2 g を加え 30 min 反応させる. 反応後, 水層に AcOEt 55 ml を加え 20° で 2N HCl を加えて pH 2.0 に調整し同温度で 5 hr かきまぜ析出する結晶を濾取すれば, mp 154—156° (dec.) を示す白色プリズム晶を得, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1775, 1735, 1705, 1680, 1665 ($\text{C}=\text{O}$). NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.09 (3H, s, 2- CH_3), 1.56 (3H, s, 2- CH_3), 3.38 (2H, q, $J=8$ Hz, CH_3 -CH₂), 3.51 (2H, m, piperazine ring 6-CH₂), 4.17 (1H, s, 3-H), 5.36 (1H, d, $J=4$ Hz, 5-CH), 5.47 (1H, q, $J=4$ Hz and $J=7$ Hz, 6-H), 5.68 (1H, d, $J=7$ Hz, α -H), 7.31 (5H, s, C_6H_5), 9.24 (1H, d, $J=7$ Hz, NH), 9.80 (1H, d, $J=7$ Hz, NH).

(B 法) AB-PC 3.5 g, Et_3N 2 g および CH_2Cl_2 35 ml の懸濁液に 5—10° で Me_3SiCl 2.2 g を滴下 10—15° で 1 hr かきまぜる. これに V ($\text{R}_1 = \text{C}_2\text{H}_5$) 2 g を加え 1 hr 反応させる. 反応後 H_2O 30 ml 中に NaHCO_3 で pH を 7—7.5 に調整しながら導入する. 水層を分取し AcOEt で洗浄後, 再び AcOEt 50 ml を加え 20° で 2N HCl を加えて pH 2.0 に調整する.

同温度で 5 hr かきまぜ析出する結晶を濾取. mp 154—156° (dec.) の白色プリズム晶 4.20 g (81.6%) を得.

4-Acetyl-2,5-dioxo-1-piperazinecarbonyl Chloride ($\text{VII} \cdot \text{R}_1 = \text{CH}_3\text{CO}$) 1-Acetyl-2,5-dioxopiperazine VI ($\text{R}_1 = \text{CH}_3\text{CO}$) 8.0 g, trimethylchlorosilane 6.0 g を CH_2Cl_2 80 ml に溶解し, -5—0° で Et_3N 5.0 g を滴下し 1 hr 反応する. ついで -15—-20° で trichloromethyl chloroformate 6 g を滴下し 30 min を要して 20° まで昇温する. 溶媒を留去し, 残渣に dioxane 50 ml を加え不溶部を濾別したのち濾液より溶媒を留去し, 無色油状物 10.0 g (89.3%) を得. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{neat}}$ cm^{-1} : 1795, 1740—1700, ($\text{C}=\text{O}$).

6-[D(-)- α -(4-Acetyl-2,5-dioxo-1-piperazinecarboxamido) phenylacetamido] penicillanic Acid Monohydrate ($\text{II} \cdot \text{R}_1 = \text{CH}_3\text{CO}$) AB-PC $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 2 g を 80% 含水テトラヒドロフラン 20 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 VII ($\text{R}_1 = \text{CH}_3\text{CO}$) 1.3 g を含むテトラヒドロフラン溶液を滴下する. 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 20 ml および AcOEt 30 ml を加え溶解し, 2N HCl を加えて pH 2.0 に調整する.

AcOEt 層を水洗後 2/3 量まで濃縮し析出結晶を濾取, mp 162—164° を示す白色プリズム晶を得. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1770, 1730—1660, ($\text{C}=\text{O}$). NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.40 (3H, s, 2- CH_3), 1.52 (3H, s, 2- CH_3), 2.43 (3H, s, CH_3CO), 4.21 (1H, s, 3-H), 4.53 (4H, s, piperazine ring 3 and 6-CH₂), 5.3—5.7 (3H, m, 5, 6 and α -H), 7.36 (5H, s, C_6H_5), 9.22 (1H, d, NH), 9.62 (1H, d, NH). Anal. Calcd. $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_8\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 50.27; H, 4.95; N, 12.75. Found: C, 50.18; H, 4.63; N, 12.78. 同様にし $\text{R}_1 = \text{Me}$: mp 179—181° (dec.) および $\text{R}_1 = \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$: mp 134—135 (dec.) を得.

3,5-Dioxo-1-piperazinecarbonyl Chloride ($\text{IX} \cdot \text{R}_1 = \text{H}$) 2,6-Dioxopiperazine 2.28 g Et_3N 2.4 g および CH_2Cl_2 20 ml の溶液に -20° で trichloromethyl chloroformate 2.38 g を滴下し同温度で 1 hr 反応後, 溶媒を留去する. 残留物に dioxane 20 ml を加え不溶部を濾別したのち濾液より dioxane を留去すると mp 185—187° の淡黄色結晶 3.1 g (88.1%) を得. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1730, 1690 ($\text{C}=\text{O}$).

6-[D(-)- α -(3,5-Dioxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanic Acid ($\text{III} \cdot \text{R}_1 = \text{H}$) AB-PC $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 2 g を 80% 含水テトラヒドロフラン 20 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 IX ($\text{R}_1 = \text{H}$) 0.9 g を添加し, 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 20 ml および AcOEt 30 ml を加え溶解し, 2N HCl を加えて 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結晶を濾取, mp 179—181° (dec.) の白色プリズム晶 2.0 g (81.3%) を得. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1765, 1710—1630 ($\text{C}=\text{O}$). NMR ($\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 1.44 (3H, s, 2- CH_3), 1.55 (3H, s, 2- CH_3), 4.22 (1H, s, 3-H), 4.28 (4H, s, piperazine ring 2 and 6-CH₂), 5.38—5.53 (3H, m, 5, 6 and α -H), 7.42 (5H, s, C_6H_5). Anal. Calcd. $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_7\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 49.70; H, 4.97; N, 13.80. Found: C, 49.96; H, 5.20; N, 13.94. 同様にし $\text{R}_1 = \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$: mp 157—158° (dec.) を得.

α -{6-[D(-)- α -(4-Ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido) phenylacetamido]penicillanoylamino} benzylpenicillin (XII) I ($\text{R}_1 = \text{C}_2\text{H}_5$) 5 g, N-methylmorpholine 50 mg, CH_2Cl_2 35 ml 中に -20° で ClCO_2Et 1 g を滴下し -5—-10° で 1.5 hr 反応させる. ついで -40° に冷却し, この中に AB-PC の Et_3N 塩 4.1 g を含む CH_2Cl_2 35 ml 溶液を加え昇温し, 0—5° で 1 hr 反応させる. 反応後, 溶媒を留去し, 残留物に H_2O 50 ml を加え溶解し, これに AcOEt 60 ml および AcOMe 20 ml を加え 2N HCl を加えて pH 2.0 に調整する. 有

機層を分取し十分水洗後溶媒を留去し、残渣に Et_2O を加え結晶を汙取, mp 179° (dec.) の白色結晶 7.34 g (96%) を得. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1770, 1710, 1660, ($\text{C}=\text{O}$). NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.08 (3H, t, $J=7$ Hz, CH_3CH_2), 1.35 (3H, s, 2 or 2'- CH_3), 1.38 (3H, s, 2 or 2'- CH_3), 1.50 (6H, s, 2 or 2'- $\text{CH}_3 \times 2$), 3.2—3.7 (4H, m, CH_2 - CH_2 and piperazine ring 5- CH_2), 4.18 (1H, s, 3 or 3'-H) 4.47 (1H, s, 3 or 3'-H), 5.3—5.58 (4H, m, 5, 5', 6 and 6'-H), 5.71 (2H, d, $J=7$ Hz, α and α' -H), 7.34 (10H, s, $\text{C}_6\text{H}_5 \times 2$), 8.72 (1H, d, NH), 9.04—9.45 (2H, d, NH $\times 2$), 9.82 (1H, d, NH) Anal. Calcd. $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{O}_{10}\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 54.03; H, 5.35; N, 12.93. Found: C, 53.82; H, 5.23; N, 12.50.

I ($\text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) の Methyl Ester I ($\text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) 2-g を Me_2CO 40 ml に溶解し、ジアゾメタンの Et_2O 溶液を黄色が消失しなくなるまで加える。さらに 30 min かきまぜたのち析出結晶を汉取, mp 208° (dec.) の白色針状結晶 2.0 g (97.5%) を得. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1775, 1735, 1710, 1695, 1660, ($\text{C}=\text{O}$). NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.08 (3H, t, $J=7$ Hz, CH_3CH_2), 1.32 (3H, s, 2- CH_3), 1.52 (3H, s, 2- CH_3), 3.40 (2H, q, CH_3CH_2), 3.60 (2H, m, piperazine ring 5- CH_2), 3.68 (3H, s, COOCH_3), 3.88 (2H, m, piperazine ring 6- CH_2), 4.32 (1H, s, 3-H), 5.35—5.65 (2H, m, 5 and 6-H), 5.68 (1H, d, α -H), 7.34 (5H, s, C_6H_5), 9.25 (1H, d, $J=7$ Hz, NH), 9.90 (1H, d, $J=7$ Hz, NH).

同様にして methyl 6-[D(-)- α -(4-acethyl-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanate (Comp. No. 1) mp 114 — 115° (dec.), methyl 6-[D(-)- α -(4-acethyl-2-oxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanate (Comp. No. 2) mp 159 — 160° (dec.) および methyl 6-[D(-)- α -(4-ethyl-3-oxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetamido]penicillanate (Comp. No. 3) mp 105 — 106° (dec.) を得.

Methyl D(-)- α -(4-Ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetate (Comp. No. 6) D(-)- α -フェニルグリシン 4.5 g を CH_2Cl_2 45 ml に懸濁し, trimethylchlorosilane 7.9 ml を加え 4 — 5° で Et_3N 8.3 ml を滴下する。徐々に昇温し, 20° で 1.5 hr 反応後, V ($\text{R}_1=\text{C}_2\text{H}_5$) 6.7 g を添加し 20° で 2 hr 反応後, H_2O 45 ml を加え 1.5 hr かきまぜたのち析出晶を汉取すれば, D(-)- α -(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetic acid monohydrate 8.9 g (89%) を得. iso-PrOH より再結晶, mp 132 — 134° , IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1710, 1700, 1660, ($\text{C}=\text{O}$). Anal. Calcd. $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 53.40; H, 5.68; N, 12.46. Found: C, 53.73; H, 5.69; N, 12.28.

この結晶 1.0 g を MeOH 10 ml に溶解しジアゾメタンの Et_2O 溶液を黄色が消失しなくなるまで加える。さらに 30 min かきまぜたのち析出結晶を汉取すれば, Methyl D(-)- α -(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetate の白色針状結晶 0.92 g (93%) を得. iso-PrOH より再結晶. mp 112 — 113° . IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1735, 1710, 1700, 1680, ($\text{C}=\text{O}$). Anal. Calcd. $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$: C, 57.65; H, 5.75; N, 12.61. Found: C, 57.46; H, 5.70; N, 12.83.

同様にして D(-)- α -(4-Ethyl-3-oxo-1-piperazinecarboxamido)phenylacetic acid mp 164 — 166° . IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1730, 1630 ($\text{C}=\text{O}$). Anal. Calcd. $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 59.00; H, 6.27; N, 13.67. Found: C, 59.20; H, 13.36; N, 13.71.

Methyl D(-)- α -(4-ethyl-3-oxo-1-piperazinecarboxamido) phenyl acetate (Comp. No. 5). mp 140 — 142° IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1735, 1635, 1615 ($\text{C}=\text{O}$). Anal. Calcd. $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 60.17; H, 6.63; N, 13.16. Found: C, 60.27; H, 6.60; N, 13.21. を得.

抗菌力試験

最小発育阻止濃度 (MIC) は heart infusion agar を用い, 前報¹⁾ の方法に従い寒天平板希釈法で測定した.

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.