



Title	抗結核剤の研究(第19報) : 抗結核剤の解析
Author(s)	柿本, 七郎; KAKIMOTO, Shichiro; 関川, 勲 他
Description	
Citation	結核の研究, 19, 1-11
Issue Date	1963
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/26737">https://hdl.handle.net/2115/26737</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	19_P1-11.pdf



# 抗 結 核 剤 の 研 究 (第 19 報)\*

## 抗 結 核 剤 の 解 析

柿本七郎 関川 勲 西江 純

刀祢郁子 山本健一

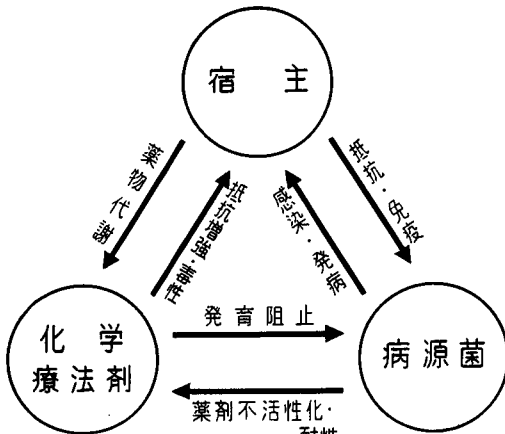
(北海道大学結核研究所)\*\*

(昭和38年11月11日受付)

結核の化学療法剤としてはもっぱら結核菌の発育阻止剤にのみ現在は依存している。近時病原菌によらざる疾病に対しても化学療法剤という言葉が広い意味で使用されて来た。それと同様に結核という一つの疾病の治療にも種々の広い意味の化学療法剤が使用される事が望ましい。その事は過去に於いても金又は銅の製剤が宿主の結核に対する抗体産生の能力を増強するという意味で経験的に高く使用された時代があった。これ等の事も又新しい知識を以って広い意味の結核の化学療法剤として研究されねばならない事である。

いずれにしても薬剤を使用する場合第1表の如く、宿主、病原菌及び化学療法剤の間には三角関係が成立して相互間に種々の作用をしあうのである。そしてその各々の関係が非常に複雑であり、生体の種類によって異なり、又更に個体によっても異なる。その一つの例を上げれば

第 1 表



Cycloserin がいわゆる動物実験に於いてあまり有効でなかったにもかかわらず、臨床実験では有効であった事は既知の事実であるが、それは第2表の如く血中の最高濃度になってから、その濃度の減少する速度が動物によって異なる事を示すものである<sup>1)</sup>。即ち人間の場合はマウスの場合より、5倍も永く血中濃度が保たれている。この事が人間の場合に有効であった事の一つの説明と考えられる。即ち一つの薬剤の動物実験と単に言っても、動物の種類によっても異なるという一つの例である。これは血中よりの排泄速度の相違であるが、又各薬剤によってその血中への吸収速度も相違があるはずである。したがって各薬剤を連続投与する場合、特に毒性の強い薬剤に於いては、その投与方法も充分研究されなければならない。

したがって抗結核剤の研究をする、殊に新しい優秀な

第2表 *Eliminationshalbwertszeiten  $t_{50\%}$  des Cycloserins, bestimmt aus Blutkonzentrationskurven*

Art	$t_{50\%} = \frac{0.6931}{k_2}$	
	Mittelwert	Bereich
Maus	1,8	0,6~ 3,7
Ratte	1,8	
Meerschweinchen	1,3	0,7~ 1,7
Kaninchen	2,1	1,4~ 2,4
Huhn	3,5	
Hund	1,9	1,1~ 3,4
Affen, mehrere Arten	8,0	2,1~16,4
Mensch	10,0	7,0~15,0

\* 前報 Jap. J. Tuber. 7, 76 (1959)

\*\* 札幌市北11条西5丁目 北海道大学結核研究所

薬剤を探索するという事は実に容易なことでないのであるが、細菌学をはじめ薬理学、及び人並びに菌の生理学等、種々の分野の協力によって、初めて有用なる薬剤が発見されるのである。

しかし、これ等の全ての事を考慮しての新しい抗結核剤を理論的に作って行くという事はあまりにも必要条件が多くして一時に全てを満足させながら研究するという事は許るされない事である。したがって必要条件を何処かにしばって研究して行かなければならない。その最も必要な条件は薬剤が結核菌を殺すか乃至その発育を阻止するという事である。そして勿論試験管内で抗菌力がなくても生体内で薬剤が変化して、有効に仿らうという場合もあるが、その反対の事即ち試験管内で有効でも生体内で無効という事が多く見られるが、先ず最も大切な必要条件は薬剤が菌に作用する事であり、その最終段階は薬剤と菌の生命現象に大切な物質との化学反応であるにちがいない。したがって反応するためには質量作用の法則によって、なるべく濃い濃度で薬剤が菌に近づき乃至菌体内に入っていくべきである。その為には化学的乃至生化学的な性質は勿論、その物理的性質もその化学構造の変化によって、どの様に変化して行くか、又その事が抗菌力といかなる関係があるかという事を研究する事が抗結核剤の新しい発見を求め、又それを理論的に探求する上に先ず第一の必要条件である。しからざれば我我は何時まで新しい薬剤の目くら探しを続けて行かなければならない。又一方、その研究方針というものは、他の疾病に対する化学療法剤の発見にも寄与するものである。

扱て上述の一つの薬剤即ち純化学物質がその分子構造の変化によって、種々の物理的又化学的性質が変化してくるが、それを結核菌の側から大ざっぱに考えれば、その分子が菌に、より高い濃度で近づく事、即ちその分子の菌に対する親和性が必要である。もう一つはその分子が菌の物質代謝か何か菌の生命にとって大切な部分に作用する、即ち作用性とに2大別出来ると考えられる。そしてこれは分子の全体としての性質にはちがいないけれど、分子内に親和基と作用基が別々に存在するという、研究を進めて行くうえの一つの仮定をおいて研究を進めた。これは一つの漠然とした研究仮定であるが、著者等はそれによって或る程度の成果を上げる事が出来た。

さて、先ずその親和性の内容については、それが単なるイオン結合の場合もあるだろうし、もっと複雑な場合も考えられる。例えば Streptomycin (以下 SM) の場合は、その分子中の Streptidin の cyclohexane の部分に hydroxyl 基及び guanidine 基のつく立体配置が菌体に

含まれる Inositol と同じであるとか、又或いは p-aminosalicylic acid (以下 PAS) は菌が p-aminobenzoic acid から Co-enzym F を作る場合に拮抗的に入って来るとか、その各々の薬剤分子の親和性の内容は複雑なものであると考えられる。そして抗結核剤の場合はそれが結核菌特有のものである事が望ましい。そうでない場合のもっとも簡単な例は、同じ試験管内の抗菌試験といっても、その培地によってもその抗菌力が異なり、又血清のない場合は非常に有効であっても、血清を加えると著しく抗菌力の低下を見る場合が多く見られるが、これは結核菌に親和力があるが、同時にその薬剤が血清蛋白にも親和力があり、結核菌に高濃度に到達する前に血清蛋白と何等かの結合をすることを考えるのが妥当であろう<sup>2)</sup>。又著者等の実験によるとピリジン核は勿論、クマロン核<sup>3)</sup>、インドール核<sup>4)</sup>、アミノ酸類<sup>5)</sup>、ベンズイミダゾール核<sup>6)</sup>、その他何等かの菌に対する親和力を有する核に、後述の種々の作用基を導入すると抗菌力のある化合物が得られる。又其の他の多数の抗結核剤についてもその事を了解する事が出来る。又一方、同一の Mycobacterium でもその Stamm によって薬剤の親和力に差がある事により抗菌力の差がある事が認められるが、特に興味のあるのはチオフェン-2-カルボン酸ヒドラチッドが牛型(実験例52株)のみに有効で、他の人型(70株)、鳥型(5株)の他、チモテー菌、恥垢菌等に無効であり、この事によって牛型菌が他の菌株から区別が出来るという事実<sup>7)</sup> からしても、これは菌に対する親和力の相違に起因するものと考えられる。勿論前述の如く親和力の内容については細胞膜の透過性又は酵素系の相違等も考えられるが、その正確なる実験的の説明はなく、又 Bromkresolpurpur-Test<sup>8)</sup>、Niacin-Test<sup>9)</sup>、その他の改良法<sup>10)</sup>等の菌の鑑別法も実験的の可能性のみで、その内容に対する説明は明らかにされていない。著者等はこれ等を総括して親和力となづけおくものである。そしてそれは薬剤の分子の菌に対しての、何等かの型の化学結合であり、薬剤の分子構造によって変化してくるものであると考える。

この分子中の親和基と作用基についてこれを比較的 low molecular weight のイソニコチン酸ヒドラチッド (以下 INH) について考えると、ピリジン核が菌に対するよい親和基である。その事は第3表の如く、ピリジン核に種々の作用基と考えられる、なんらかの原子団を導入すると抗菌力のある化合物が得られる<sup>11)</sup>。又 INH に関しては作用基は酸ヒドラチッド基 (-CONHNH<sub>2</sub> 基) である。一方その親和性をもつピリジン核を第4表に於ける如く、もう一つ増加して  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  位のピリジン-アルデヒドと縮合して、相互の組合わせで4つの物質を合成して見ると<sup>12)</sup>

第 3 表 *Minimale Hemmkonzentrationen von Pyridinderivaten gegenüber normalen und Isoniazid-resistenten humanen und bovinen Tuberkelbakterien*  
( $\mu\text{mol}/\ell$ ); Dubos-Medium, 28 d, 37°C

Substituent Stamm Ring							
		Isoniazid- sens. res.	Isoniazid- sens. res.	Isoniazid- sens. res.	Isoniazid- sens. res.		
	H 37 Rv	1,8	>1867	32	2048	12	$\geq$ 785
	BCG-32	1,8	>1867	32	2048	25	$\geq$ 98
	H 37 Rv	467	1867- 3733	$\geq$ 1024	$\geq$ 1024	$\geq$ 6277	$\geq$ 6277
	BCG-32	29- 233	933- 1867	$\geq$ 1024	$\geq$ 1024	$\geq$ 6277	$\geq$ 6277
	H 37 Rv	58	3733	256	256	196	1569
	BCG-32	29	1867	128	128	196	785










Substituent Stamm Ring									
		Isoniazid- sens. res.	Isoniazid- sens. res.	Isoniazid- sens. res.	Isoniazid- sens. res.	Isoniazid- sens. res.			
	H 37 Rv	>39800	>39800	463	926	$\geq$ 4160	$\geq$ 4160	256	256
	BCG-32	>39800	>39800	463	463	$\geq$ 4160	$\geq$ 4160	256	256
	H 37 Rv	39800	>39800	512	1024	$\geq$ 8320	$\geq$ 8320	256	256
	BCG-32	>39800	>39800	512	1024	$\geq$ 8320	$\geq$ 8320	256	256
	H 37 Rv	16384	>16384	256	256	2080	2080	256	256
	BCG-32	>16384	>16384	256	256	2080	2080	64	64

第 4 表 *Hemmwirkung der N-Pyridincarbonsäure-N'-pyridinaldehyd-hydrazone gegenüber humanen Tuberkelbakterien*

	4,4	4,4	4,4
	442,0	442,0	442,0
	221,0	221,0	44,2

MHK in  $\mu\text{mol}/\ell$ , Kirchner-Medium mit 10% Serum, H 37 Rv

第 5 表 Kreuzresistenzversuch mit Pyridincarbonsäurehydraziden, Pyridincarbothionamiden und Thiosemicarbazonen. Minimale Hemmkonzentrationen in  $\mu\text{mol/l}$ , Kirchner-Medium mit 10% Serum. Resistenzverhältnis (kursive Zahlen) = minimale Hemmkonzentration der resistenten Variante : minimale Hemmkonzentration des normal sensiblen Stammes H 37 Rv. (Kakimoto u. Yamamoto, 1958).

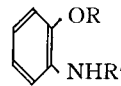
Stoffe	Bakterienstämme	M. tbc. H 37 Rv normal sensibel ( $\mu\text{mol/l}$ )	Resistenzverhältnis (MHK-resistent : MHK-normal)							
			Mycobacterium tuberculosis H 37 Rv resistent gegen							
			INH	NH	PH	Py-4-TA	Py-8-TA	Py-2-TA	Py-4-TSC	Conteben <sup>®</sup>
	INH	73	>20	>1	>5	1	1	1	1	1
	NH	1458	>10	>1	>1					
	PH	365	> 2	>1	2					
	Py-4-TA	362	1			4	4	4		
	Py-3-TA	724	1/2			2	>2	>2		
	Py-2-TA	362	1			2	2	2		
	Py-4-TSC	55	5			1	1	1	10	5
	Py-3-TBC	55	5			1	1	1	10	5
	Conteben <sup>®</sup>	42	5			1	1-5	1	10	5

親和基としては  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $r$  位によっては大差はないが、作用基はそれがピリジン核につく位置により大差の出る事が判る。又作用基が  $-\text{CONHNH}_2$  基、或いはそれに近い化学構造の原子団に於いては、やはり  $r$  位にある事が必要であるが全くちがった原子団が作用基になる場合は、例えばチオアミド基 ( $-\text{CSNH}_2$  基) では、必ずしも  $r$  位でなくともよい事は第3表でも了解出来る。

作用基には種々あり、また種々と新しい作用基が発見されて行かねばならないが、先ず  $-\text{CONHNH}_2$  基、 $-\text{CSNH}_2$  基およびチオセミカルバゾーン基 ( $=\text{N}\cdot\text{NH}\cdot\text{CSNH}_2$  基) をとりあげて見ると第5表に於けるごとく同一作用基をもつ薬剤の間には交差耐性があり、他の作用基の誘導体間には交差耐性がない<sup>13)</sup>。即ち  $r$  位に  $-\text{CONHNH}_2$  基をもつ化合物 INH はニコチン酸ヒドラチッド (NH) 及びピコリン酸ヒドラチッド (PH) の耐性菌には、その感性菌に対するよりは有効でなく、又 PH は INH, NH の耐性菌にはきかず、NH についても同様な事を実証した。又作用基  $-\text{CSNH}_2$  (TA) 及び  $=\text{N}\cdot\text{NHCSNH}_2$  (TSC) をもつ化合物間とも各々同様な事が判った。しかし他の作用基をもつ化合物では、即ち  $r$  位に  $\text{CONHNH}_2$  をもつ INH と  $r$  位に  $\text{CSNH}_2$  をもつ Py-4-TA 及び  $r$  位に  $=\text{N}\cdot\text{NHCSNH}_2$  をもつ Py-4-TSC との間には交差耐性がない。換言すると INH は Py-4-TA のみでなく、その同属体の耐性菌にも Py-4-TSC 同属体の耐性菌にも有効であり、その反対をも実証した。又更に臨床的にも有効な Conteben® (TB<sub>1</sub>) もこれは親和基としては  $p\text{-CH}_3\text{CONH-C}_6\text{H}_4\text{-}$  を、又作用基としては  $=\text{N}\cdot\text{NHCSNH}_2$  をもっているが、これはことなる親和基としてピリジン核をもっている Py-4-TSC 及びその同属体とは交差耐性が見られ、他の作用基をもつ INH

及びその同属体、Py-4-TA 及びその同属体とは交差耐性がない。よって著者等は菌が耐性を獲得するという事は菌がその薬剤の作用基に耐性をもって来るものであり、親和基に対しては耐性をもつものでないという結論に達した。

以上の実験から著者等は更にこの点に関し、再度新たに試験管内にて第6表に見る如き耐性菌を作り実証した。即ち在来の各種薬剤では作用基がことなるものでは交差耐性は見られない事は前述の実験と再度一致した。更に *o*-aminophenol (OAP) は抗結核剤として多数の誘導体と共に報告されているが<sup>14)</sup>、この化合物自体は近時殆んど臨床的に使用されてはいない。しかし多数の抗結核剤の使用により耐性菌の出現による種々の問題からすると第6表の結果から、この物質は再検討される可きものである。即ち現在使用されている各種薬剤とその作用基を全く異にし、したがって各種薬剤に対する耐性菌に対しても感性菌と同様に有効であるという事である。唯しかし、著者等の上述の仮定からすると菌に対する親和基がベンゼン核のみでは不充分と考えられる。即ち近時グラム陽性菌に有効なアクチノマイシン系の抗生物質も *o*-アミノフェノールの誘導体とも考えられ、これに親和性の性質をもつ部分として peptide がついていると考えてよらしい。したがって *o*-アミノフェノールに結核菌に特有な親和基を導入する事によって、優秀な抗結核剤が著者等の仮定によると得られてよいはずである。



これに関して、古く R を鎖状アルキル基の炭素数を増加した実験があるが<sup>15)</sup>、 $\text{C}_{10}\sim\text{C}_{11}$  でその抗菌力が最大に達した。

この炭素の数の事は著者等が早くに指摘した<sup>4)</sup> 如く、約  $\text{C}_5$  の場合と約  $\text{C}_{10}$  の場合がある。特に  $\text{C}_{10}\sim\text{C}_{12}$  の場合は

第 6 表

Substanz Stamm	SM ( $r/m\ell$ )	PAS ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	INH ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	TB <sub>1</sub> ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	1314-Th ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	OAP ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	PAP ( $\mu\text{mol}/\ell$ )
H 37 Rv	2,5	16,3	36,5	58,3	82,8	22,9	25
H 37 Rv R-PAS	2,5	>326	36,5	58,3	82,3	45,9	25
H 37 Rv R-INH	2,5	16,3	>365	58,3	82,3	22,9	12,5
H 37 Rv R-SM	25	16,3	36,5	58,3	82,3	22,9	12,5
H 37 Rv R-TB <sub>1</sub>	2,5	16,3	36,5	>212	82,3	22,9	25
H 37 Rv R-1314 Th	2,5	16,3	36,5	58,3	188	22,9	12,5
SW-503	>50	>326	>365	42,4	82,3	9,2	12,5
SW-504	>50	>326	>365	42,4	82,3	9,2	5
SW-505	25	>326	183	106	82,3	22,9	5
SW-506	25	>326	183	10,6	82,3	22,9	12,5

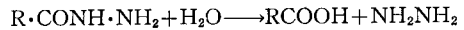
結核菌に対する脂肪溶性の適性のためと考えられる。最近にも PAS, INH のアチル誘導体に於いても  $C_{10}\sim_{12}$  にその最大値のある事が発見されている<sup>16)</sup>。著者等は手はじめとしてピリジン基が前述の如く、結核菌に対してはよき親和基である事にかんがみ、*o*-(4-pyridylmethyl)aminophenol (PAP) を作って見たが、第 5 表に於ける如く、*o*-aminophenol より試験管内では、やはりやや有効であり、他の耐性菌に対しても、感性菌同様に有効であった。

初てここで問題になる事は TB<sub>1</sub><sup>®</sup> と 1314 Th<sup>®</sup> との片側の交差耐性である。即ち TB<sub>1</sub> の耐性菌は 1314 Th によって发育阻止させられるが、1314 Th の耐性菌は TB<sub>1</sub> によって阻止されない。この片側交差耐性はチオアニリド誘導体 (Isoxyl<sup>®</sup>, Ethoxyl<sup>®</sup>等) との間にもあり得ると考えられる。即ちチオアミド類  $R\cdot CS\cdot NH_2$ , チオセミカルバゾン類  $R=N\cdot NH\cdot CS\cdot NH_2$ , 及びチオアニリド類  $R-NH\cdot CS\cdot NH\cdot R'$  の誘導体間には、 $-CS\cdot NH-$  の部位が共通であり、この部分の炭素に窒素がつながっているか、炭素がつながっているか、又はこの部分の窒素に水素がつながっているか、炭素がつながっているかの差であるが、この差によって、これ等が結核菌によって代謝される上に多少の差があるという事であると考えられる。又これ等と INH 等の他の薬剤との間に交差耐性がないという事は、これ等の作用基の代謝の仕方がちがっている事である。従ってそれ等の耐性菌とはおそらくはその作用基の代謝に変化が来たものと考えられる。又第 1 表に於いて INH 同属体は  $\alpha, \beta, \gamma$  位によって抗菌力がことなるが、チオアミド類に於いては大差がない事も作用基の代謝の仕方がちがうという事に起因するものであろう。

第 5 表に於いて試験管内で作った耐性菌は一剤耐性であるが、SW-503~SW 506 は患者より分離したもので、二剤或いは三剤耐性が見られる。此の如く自然分離の際に重耐性の結核菌があるのは事実だが、その耐性の根本的の性質が試験管内によって出来た一剤耐性菌の耐性そのものの性質と差があるのか否かは判らない。グラム陰性の腸内細菌間の R 因子の伝達の如く、生体内に於いて他の生存力の弱い菌が媒介として伝達されて重耐性菌が出来ののかも知れない。したがって現在の研究仮定では試験管内で出来た一剤耐性菌についてのみに於いて、その耐性であるという事はその薬剤の作用基に耐性を示すのであると結論した。

初てしからば、この作用基は如何にして菌の发育を阻止し或いは殺すのかという問題であるが、それは各作用基によってことなる事は上述の如く代謝の仕方が相違するのであるから、おのずから明らかである。しかしその



各々が如何なる機構で菌に作用するのかという事は、近時頻繁に使用されている INH に就いてさえも明らかでない。INH 及びその同属体ではピリジン核の  $\gamma$  位に酸ハイドラチッド基がついている事、又 INH に NH が拮抗作用をするという事から、INH が有効なのは、これが菌体内での加水分解乃至酸化分解が行なわれ、出来たイソニコチン酸がその重要な役目をする、即ち菌体内でニコチン酸から酸アミドを経て Co-enzyme I をつくる過程で拮抗するという仮定を提出した<sup>7)</sup>。しかし上述せる如く、著者等は早くより種々の実験例より、分子中結核



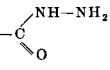


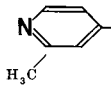
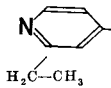
菌に何等かの親和性をもつ部分に  $-CONH\cdot NH_2$  基を導入すると有効なる物質が得られる事を示し、又他の多くの報告にも見られる事実である。INH が有効である事はイソニコチン酸が必ずしも必要でなく、INH がよき薬剤であるという事は、そのイソニコチン酸を生ずるピリジン核のよき親和性にあるものと考えられる。これは勿論、分解しない前の INH 自体の分子中のピリジン核の部分という意味である。そして作用基の方はその抗菌力は酸ハイドラチッドの加水分解乃至酸化分解のされ方がその有効度に関係すると考えられる。その一つの例証実験として第 7 表の如く、右項は早くに Bernstein<sup>18)</sup> がベンゼン核についての実験を BCG 菌についてその抗菌力を検討したものであり、又左項は著者等が INH 同属体について検討したものである<sup>19)</sup>。これは著者等の考えによると作用基である  $-CONHNH_2$  基の分解能は、ベンゼン核又はピリジン核の芳香性と  $-CO-$  とが、共軛系である事が分解能に関係があり、その事が抗菌力に関与すると考えられる。即ち  $-CH_2-$  或るいは  $-CH_2\cdot CH_2-$  でその共軛系が遮断されると抗菌力がなくなり、 $-CH=CH-$  で連がると抗菌力が出て来る、この事は INH が有効なのはイソニコチン酸そのものであるという仮定を否定し、その分子中の作用基の分解能に関係し、その分解能は分子全体の電子の分布状態に関係して来るという事である。

しかし、それはその作用基ごとに菌体内に於いて分解される様子がことなるから即ち代謝のされ方が異なるから、ある一つの薬剤に置換基を入れて分子全体の電子の分布状態を変化させても、作用基の種類によって、その抗菌力は異なって来る。その事は第 8 表に示す実験<sup>20)</sup>の如く、ピリジン核の  $\alpha$  位に  $-C_2H_5$  を入れると  $-CONH\cdot NH_2$  系即ち INH 系では抗菌力の減弱を示し、 $-CSNH_2$  系、即ち Aethioamide<sup>®</sup> 系では抗菌力の上昇を見る。

第7表 *Hemmwirkung einiger Isoniazid-Analoga gegen Tuberkelbakterien.*  
 Minimale Hemmkonzentration in ( $\mu\text{mol}/\ell$ ).

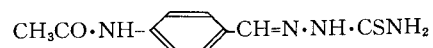
Substituent	Ring		
-CO-NH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>		7,3	4,4
-CH <sub>2</sub> -CO-NH-NH <sub>2</sub>		>331	80
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CO-NH-NH <sub>2</sub>		>303	
-CH=CH-CO-NH-NH <sub>2</sub>		153	2,5
-CH-CO-NH-NH <sub>2</sub>		>207	
Testbedingungen		H 37 Rv Kirchner-Med. +10% Serum	BCG Kirchner-Med.

第8表 *Hemmwirkung von 2-alkylsubstituierten Pyridin-4-carboxyhydrazinen und -carbothionamiden gegenüber normalen und Isoniazid-resistenten Tuberkelbakterien*  
 MHK in  $\mu\text{mol}/\ell$ , Dubos-Medium, 28 d, 37°C

Substituent					
Ring	Stamm	Isoniazid-		Isoniazid-	
		sens.	res.	sens.	res.
	H 37 Rv	1	1024	512	512
	BCG-32	0,5	$\geq 512$	256	256
	H 37 Rv	6,6	1690	128	1024
	BCG-32	0,4	423	256	512
	H 37 Rv	24,5	775	32	512
	BCG-32	3,0	388	64	256

-CH<sub>3</sub> 基の場合は大差はない。又興味あることは著者等が INH について行なった事実によく似ている。実験は Liebermann<sup>21)</sup> 等のチオアミド類の仕事の中で、 $\alpha$  位に phenyl 基がついていると有効でないが、その間に -CH<sub>2</sub>- 及び -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- が入ると有効になる事は興味のある事である。

作用基を異する2つの系統の薬剤について、各々の作用基が菌によって代謝のされ方がちがうので、その各々に他の同一の置換置を分子中に入れる事によって、その抗菌力の相異が反対になる事もある。そのよい例として著者等は次の様な事実も発見した<sup>20), 22)</sup>, 即ち Conteben<sup>19)</sup> (TB<sub>1</sub>)



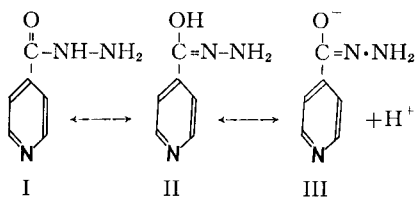
はその分子中、著者等の仮定によると、CH<sub>3</sub>CO-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(p) の部分は親和基であり、=N-NH-CS-NH<sub>2</sub> 基が作用基である。従って親和基である CH<sub>3</sub>CO-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(p) に、他の作用基即ち -CONH-NH<sub>2</sub> 或いは -CSNH<sub>2</sub> を入れれば有効なる化合物が得られるはずである。しかるに p-CH<sub>3</sub>CONH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CSNH<sub>2</sub> は余り有効でないが、アセチル基をはずした p-aminobenzcarbothioamid p-NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CSNH<sub>2</sub> の方が有効であった。カルボチオアミドとチオセミカルバゾン誘導体の抗菌力の大小と、アセチル基の有無とは両誘導体間では丁度反対になって

第9表 *Hemmwirkung einiger Benzolderivate gegenüber normalen und Isoniazid-resistenten Tuberkelbakterien*  
MHK in  $\mu\text{mol}/\ell$ , Dubos-Medium, 28 d, 37°C

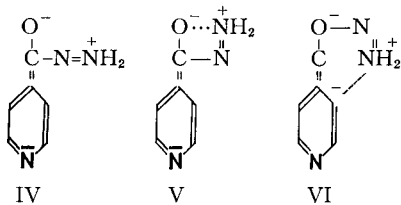
Ring	Stamm	Substituent		Isoniazid-		Isoniazid-	
				sens.	res.	sens.	res.
	H 37 Rv	470	$\geq 3760$	2048	2048		
	BCG-32	235	$\geq 3760$	2048	2048		
	H 37 Rv	128	1024	64	64	256	256
	BCG-32	8	1024	64	64	256	256
	H 37 Rv	256	1024	512	512	16	32
	BCG-32	32	512	256	256	16	16

いる事を知った。即ちカルボチオアミドの場合は  $-\text{NH}_2$  基の電子をおしやる様な作用を反対にアセチル基によってひばられると、その作用基の分解される様子に変化をきたして抗菌力がなくなると考えられる。チオセミカルバゾーンの場合は反対である。この事は又この両作用基の菌による代謝が異なり、交差耐性（乃至片側耐性のみ）がない事を示すものと考えられる。

一つの化合物が種々の電子状態に存在し得るが、そのいずれの状態でもっとも菌の作用点に反応しやすいかという事は、未だ明らかにする実験はない。例えば INH について次の如き状態が存在し得る。

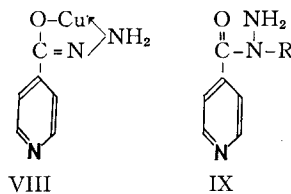


更にアルカリ性では INH がヒノン型も持っている事が吸収スペクトルから見られるので III は更に IV, V, VI の様な型をとり得る<sup>22)</sup>



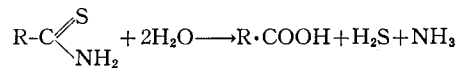
といわれている。この様な状態のいずれのものが有効で

あるかは未だ不明である。又 III の状態で VIII の如きキレート化合物を作り、したがっての IX の如き化合物は



キレート化合物を作り得ないから有効でないのであると研究<sup>24)</sup>もある。しかし NH も PH もキレート化合物を作るのに INH より有効でない事、又キレート化合物が菌体内でつくられるのか外でつくられるのかも知られていず、キレート説も目下の所、進展しない現状である。しかし多数の存在し得る型のどれかが、菌体内のいずれかの酵素系か又は生命現象に大切な部分と化学反応をおこす事は事実である。この事は他の置換基を導入する事によって、これ等の型の存在する確率に変化をおこす事によって、又更にそれによって作用基の分解される能力に変化をきたして抗菌力に変化をきたす事は明らかである。しかしいずれの型が大切な生命現象を阻害する律連段階になるかは不明である。

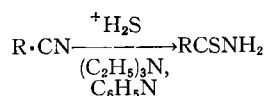
カルボチオアミド類に関しても終局に於いては



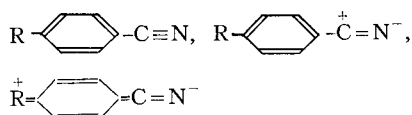
の如く分解していくが、そこまで行く段階で何れが大切な作用があるか解らない。しかしその出来た酸が主要な役目をするのであれば、やはり  $r$  位のものが INH の場合と同様、一番抗菌力がなければならぬはずであるが

第3表の如く  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  位で大差がない。しかし前述の如く p-アミノ化合物にアセチル基を入れると、抗菌力に変化をきたすという事は前述の如くアセチル基によって電子が吸引されるからと説明したが、INH と同様に何個か共鳴構造の存在確率に変化をきたす。したがって上記の式の分解速度にも変化をきたすものと考えられる。これを各種誘導体について直接比較するために、 $>C=S$  自体の赤外吸収を検討したが困難をきわめた<sup>22)</sup>。しかし又置換基の影響は Hamett の  $\sigma$  の既知のものについてはそれと平行する<sup>25)</sup>。

著者等はカルボチオアミドを下記の如く



ピリジン及びトリエチルアミンの存在下に  $\text{H}_2\text{S}$  を附加する場合にその収量が各誘導体によって著しく難易のある事から、ニトリル基  $-C \equiv N$  の共鳴構造の存在確率の相違によるものであり、その事が遠くチオアミドの分解される能力、更に抗菌力に関係なきかを検討した。



$-C \equiv N$  基の  $2300 \sim 2000 \text{ cm}^{-1}$  の伸縮振動の強度はこの結合の極性を示す<sup>26)</sup>とされている。その強度の絶対値は使用された機器によって異なるが、

$$E^a = \frac{1}{cl} \log_{10} \left[ \frac{I_0}{I} \right]_v$$

$E^a$ : みかけの分子吸光係数

$c$ : モル濃度

$l$ : セルの厚さ, cm

$I_0$  と  $I$ : 入射光と透過光の強さ

ニトリル類についてもその溶剤の選定は困難であったので、KBr 1g 中に  $10 \mu\text{mol}$  を含む錠剤を作って  $c$  を恒数とし、 $l$  は大体一定と見てベースライン計算法によって  $\log_{10} \left[ \frac{I_0}{I} \right]_v$  を測定した。しかし錠剤製型の場合磨砕中或いは減圧中に物質が逃げる場合があり、その各々の時間により著しく差のあるものは第10, 11表中特に\*をつけた。第10表と第11表とは抗菌試験を別の時に行なった。又表中抗力菌に( )をつけたものは、これも別の時に行ったものである。機器は島津製のインフラコードである。ここで得られた  $\log_{10} \left[ \frac{I_0}{I} \right]_v$  はみかけの分子吸光係数に比例し、更にニトリルの極性に関するものであ

第10表

Substituent	MHK	$E_{\max}$
	$R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CSNH}_2$ ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	$R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CN}$ $\log \left[ \frac{I_0}{I} \right]$
$\text{NH}_2-$	425	0,387
$\text{CH}_3\text{CONH}-$	500	0,124
$\text{CH}_3\text{NH}-$	425	0,499
$\text{CH}_3 \searrow \text{N}-$ $\text{CH}_3 \nearrow$	350	0,465
$\text{C}_2\text{H}_5\text{NH}-$	425	0,459
$n\text{-C}_3\text{H}_7\text{NH}-$	425	0,577
$\text{iso-C}_3\text{H}_7\text{NH}-$	500	—
$n\text{-C}_4\text{H}_9\text{NH}-$	350	0,342
$\text{iso-C}_4\text{H}_9\text{NH}-$	425	—
$n\text{-C}_5\text{H}_{11}\text{NH}-$	150	0,602
$\text{iso-C}_5\text{H}_{11}\text{NH}-$	150	0,453
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{NH}-$	175	—
$\text{C}_6\text{H}_5-\text{NH}$	150	—

第11表

Substituent	MHK	$E_{\max}$
	$R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CSNH}_2$ ( $\mu\text{mol}/\ell$ )	$R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CN}$ $\log \left[ \frac{I_0}{I} \right]$
$o\text{-OH}$	625	0,146
$m\text{-OH}$	500	0,088
$p\text{-OH}$	625	0,332
$p\text{-OCH}_3$	438	0,107
$o\text{-NH}_2$	875	0,009*
$o\text{-NO}_2$	375	0,050
$p\text{-NO}_2$	—	0,060
$p\text{-Cl}$	750	0,085*
$m\text{-NH}_2$	(202)	0,080*
$m\text{-NHCOCH}_3$	(227)	0,099
$m\text{-NO}_2$	—	0,049

る。これはチオアミドになった場合に、その分解能に更にその抗菌力に関係する値である事は、その近縁化合物に於いてはある程度比例するものである事が判った。大きいものほど抗菌力が大である。そのもっとも著しいものは  $-\text{NH}_2$  基のアセチル化による変化はもっとも顕著である。

以上の如く著者等は化学構造と試験管中の抗菌作用に

ついてある程度めやすを立て、又解析をし、有用なる化学療法剤を発見するのに、唯めくら探しをするのではなく、可及的に理論的に探求する上に示唆を与える事が出来た事を信ずる。又動物実験については別に報告するとし、又それは冒頭に述べた如く著者等もそれが終局に於いて重要な事である事は知っているが、あまり多くの変数をとると実験仮定が複雑になる事を一応さけて仕事を進めたものである。

本研究は文部省科学研究費を受け、又過去に於いて北海道科学研究補助金を受けた事をここに感謝する。又第一製薬株式会社より種々御高配を受けた事も付記して感謝の意を表する。

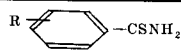
### 実験の部

#### o-(4-pyridylmethyl) amino phenol ……ア-クロルメ


チルピリジン塩酸塩 3.1g, o-アミノフェノール 2.2g をトリメチルアミン 200 ml, メタノール 100 ml 中に加え湯浴上で6時間還流した後、減圧にて溶媒を留去し、水 20 ml を加えると内容物は固化する。これをエタノール 30 ml より再結晶する。収量 1.2g, 融点 176°~178°C, 分析値: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>ON<sub>2</sub> としての計算値 N 13.99%, 実験値 N 13.05%, 14.11%。

**各種チオアミドの合成**……該当せるニトリルを2~3倍のトリエチルアミン及びピリジンを加え、場合によっては等量のアルコールを加えて、常温或いは65°~75°Cに加熱して硫化水素を3~8時間通ずる。溶媒を留去して水を加えると結晶を析出する。得たる結晶を二硫化炭素にて混在する少量の硫黄を溶出して、残査をアルコールより再結晶する。新しいチオアミドの融点及び分析値は第12表の如し。

第 12 表

R-  -R	mp (°C)	分析 値 (%)				
		実 験 値		計 算 値		
		C	H	C	H	
HO-	p	196	55,07	4,56	54,88	4,61
HO-	m	135	54,68	4,80	54,88	4,61
CH <sub>3</sub> NH-	p	170	58,14	6,19	57,80	6,06
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NH-	p	165	60,46	6,69	59,96	6,71
n-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NH-	p	164	61,84	7,43	61,81	7,26
iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NH-	p	172	61,68	7,32	61,81	7,26
n-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NH-	p	131	63,42	7,96	63,42	7,74
iso-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NH-H <sub>2</sub> O	p	183	58,45	7,96	58,37	8,02
n-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NH-	p	142	64,06	8,07	64,82	8,16
iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NH-	p	154	64,61	8,31	64,82	8,16
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> NH-	p	178	69,06	6,05	69,38	5,82
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -NH-	p	174	68,77	5,71	68,39	5,30
CH <sub>3</sub> CONH-H <sub>2</sub> O	m	180	50,92	5,92	50,94	5,70

第 13 表

R-  -R	mp (°C)	分析 値 (N%)	
		実験値	計算値
CH <sub>3</sub> NH-	86	21,42	21,20
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NH-	74	19,12	19,16
n-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NH	52	17,25	17,49
n-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NH-	41	16,16	16,08
n-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NH-	60	14,92	14,88
iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NH-	44	15,00	14,88

**各種ニトリルの合成**……各種チオアミドの原料として合成したが、文献に記載のないものについては第13表の如く融点と分析値を記した。メチル及びフェニル誘導体以外はp-アミノニトリルを直接、或いはピペリジンの存在下にてハロゲンアルキルを作用せしめて作った。p-メチルアミノベンズニトリルの場合は原料とデメチル誘導体が混成して分離が困難であるが塩酸塩(融点175°C)として単離して後遊離し、融点86°Cの純品を得た。p-アミノベンズニトリル(融点86°C)と混融すると60°~66°Cで融ける。又p-アセチルアミノベンズニトリルをトルオール中にてナトリウムアミドでNa-塩としてハロゲンア

ルキルと作用せしめて p-アセチルメチルアミノベンズニトリル (融点 142°C の針状晶) を一旦分離したる後、これを弱加水分解して、上記の p-メチルアミノベンズニトリルと同一物を得た。他の大部分のものは塩基性の強弱により溶剤抽出により未反応 p-アミノベンズニトリルと分離したる後、減圧蒸留、次に再結晶によって精製した。p-フェニルアミノベンズニトリルは 4-ニトロジフェニルアミンを還元して得た、4-アミノジフェニルアミンの塩酸塩を常法にしたがいジアゾ化合物を経てニトリルとしたが、結晶性の純品を得られなかったが、直ちに H<sub>2</sub>S を通じてチオアミドの純品を得た。

**抗菌試験**……培地は特別の記載のなき場合は Kirchner 培地に 10% 牛血清を加えて使用した。菌株は 3 週間小川培地で培養した人型有毒結核菌 H 37 Rv を用いた。菌量は 1 mg/ml の菌浮遊液を 0.1 ml 宛、各試験管に接種して試験に供した。被検物質はプロピレングリコールに溶解減菌し、倍数希釈法によって各濃度にした。判定は 37°C で 3 週間目に試験管を振って、全く菌塊が管底より上るを認めないものをもって - とし、その発育したものをその程度により + ~ 卍 とした。而してこれより  $\mu$  mol/l に換算した。Dubos 培地としたものは同じく 10% 牛血清を添加して全く同様にして測定した。

**耐性株の分離**……H 37 Rv の各種薬剤耐性株は小川培地にて one step で分離して得た。即ち R-INH, R-SM, R-Th 及び R-TB<sub>1</sub> は夫々の薬剤 10 r/ml 含有の小川培地上に親株の H 37 Rv 約 10 mg/ml の蒸溜水浮遊液 0.1 ml 宛接種、培養 6~8 週間後に生じた集落を、更に薬剤を含まない小川培地上に継代培養したものである。

SW-503 より SW-506 までの耐性菌は国立札幌療養所にて、INH, SM, PAS の 3 者併用化学療法を受けている患者の喀痰より小川培地上で分離した菌株である。

## 文 献

- Freerksen E., E. Krüger-Thiemer und M. Rosenfeld: *Antibiotica et Chemotherapia*, **6**, 303 (1959).
- Kakimoto S. and K. Yamamoto: *Jap. J. Tuberc.* **6**, 27 (1957).
- Kakimoto S., I. Sekikawa and J. Nishie: *Jap. J. Tuberc.* **1**, 42 (1953), 柿本・関川・西江: *日化誌* **74**, 636 (1953).
- Kakimoto S. and J. Nishie: *Jap. J. Tuberc.* **2**, 334 (1954), *結核の研究*, **2**, 111 (1955).
- 柿本・関川・西江: *結核の研究*, **2**, 114 (1955).
- 柿本・関川: *日化誌*, **77**, 480 (1955).
- Bönicke, R.: *Naturwissenschaften*, **45**, 392 (1958).
- Wagner, K. und E. Mischerlich: *Tuberk.-Arzt.* **5**, 274 (1951).
- Konno, K.: *Science*, **124**, 985 (1956).
- Jensen, K. A.: *Bull. Inst. un. Tuberc.* **27**, 147, (1957), R. Bönicke und B. P. Lisboa: *Tuberk.-Arzt.* **12**, 380 (1958).
- Kakimoto, S.: *Jahresbericht Borstel* **5**, 233 (1960).
- Kakimoto, S. and K. Yamamoto: *Pharm. Bull.* **4**, 4 (1956).
- Kakimoto, S. and K. Yamamoto: *Jap. J. Tuberc.* **6**, 32 (1958).
- 岡本及び共同研究者: 金沢結核研究所年報, 1943 より 1947 に多数の論文がある。
- 野津及び共同研究者: *薬誌*, **71**, 713 (1953), **72**, 543 (1952), Nozu, R. and H. Watanabe: *Angew. Chem.* **73**, 662 (1961).
- Reiche, A. et al.: *Arch. Pharm.* **295**, 707 (1962).
- Krüger-Thiemer, E.: *Am. Rev. Tuberc.* **77**, 364 (1958).
- Bernstein et al.: *Am. Rev. Tuberc.* **65**, 357 (1952).
- Kakimoto, S., J. Nishie and K. Yamamoto: *Jap. J. Tuberc.* **7**, 76 (1959).
- Kakimoto, S., E. Krüger-Thiemer und E. Wempe: *Arzneim.-Forsch.* **10**, 963 (1960), *Jahresbericht Borstel* **5**, 233 (1961).
- Liebermann, D., N. Rist, F. Grumbach et S. Cals: *Bull. Soc. Chim. Biol.* **39**, 1195 (1957), Liebermann, D., M. Moynx et A. Ronaix: *Bull. Soc. Chim. Fr.* **5**, 687 (1958).
- Kakimoto, S., J. Seydel und E. Wempe: *Arzneim.-Forsch.* **12**, 127 (1962), *Jahresbericht Borstel* **5**, 240 (1961).
- Goldmann D. S.: *Science* **120**, 315 (1954), Metzler, D. E. and E. E. Snell: *J.A.C.S.* **77**, 2431 (1955), Nakamoto, K and A. E. Martell: *ibid.* **81**, 5859 *ibid.* **81**, 5863 (1959), Nagano, K. et al.: *Chem. Pharm. Bull.* **11**, 797 (1963).
- Cyermann-Craig and D. Willis: *Nature* **177**, 480 (1956), *J.C.S.* **1955**, 4315, Albert, A.: *Nature* **177**, 525 (1956).
- Seydel, J.: *Z. Naturforsch.* **16 b**, 419 (1961).
- Skinner, M. W. and H. W. Thompson: *J.C.S.* **1955**, 487, Ritchie C. D., B. A. Bierl and R. J. Honour: *J.A.C.S.* **84**, 4687 (1962).