

# 結核化学療法剤の探求

## 〔第13報〕 p-Aminosalicyloylhydrazon系誘導体の試験 管内結核菌発育阻止作用について

京都大学結核研究所内科学I (教授 内藤 益一)

津久間俊次・川合 満・清水 明  
吉原宣方・田中健一

(昭和39年7月28日受付)

### 緒 言

昭和27年 INH が発見されてから、 $-NHNH_2$  基が、結核菌に対する強力な活性基として注目され、種々の化合物に  $-NHNH_2$  基を結合させて、結核菌に対する作用が検討された。

PASと  $-NHNH_2$  との結合物である p-Aminosalicyloyl-hydrazon(PAS-H)についても、1952から1955の間に、各方面から報告され、<sup>1-10)</sup> その後も毒性、動物に対する治療効果、及び少数乍ら臨床実験の成績が報告されている。これらの報告の中で、山本<sup>2)</sup>、T.S.Ma等<sup>3)</sup> A.Di Marco等<sup>4)</sup>は、PAS-Hの制菌最低濃度はINHのそれに匹敵するとのべ、三崎<sup>1)</sup>、W. Steenken<sup>8)</sup>、鈴木<sup>9)</sup>、J.J.D. Hart<sup>10)</sup>はPAS-Naと同程度で1.0~0.5 $\gamma$ であると記載している。

一方、W. Steenken<sup>8)</sup>、鈴木<sup>9)</sup>等は、共にPASと交叉耐性があるとのべ、F. Cugurra等<sup>11)</sup>は20 $\gamma$  PAS耐性菌を5 $\gamma$ で制菌したと報告しているが、いずれにせよPAS-HはPASと交叉耐性を示す報告であって、交叉耐性なしとする報告はみられなかった。しかるに、INHとの交叉耐性については、W. Steenken<sup>8)</sup>は否定しているが、山本<sup>2)</sup>、A.Di Marco<sup>4)</sup>は交叉耐性が認められたと報告しており、報告者によって相違がみられるのである。

又、PAS-Hについての報告は、かなりの数にのぼっているが、PAS-H誘導体については殆んど報告がない。しかし私共には<sup>12)</sup> PASの

種々のEsterの検討で、PASをAryleser化させると制菌力が著明に増強すると云う経験があり、PAS-Hに於ても、PAS-Hより強い制菌力を示す誘導体の存在も期待しうと思われる。

このような意味もあって、私共は京都薬科大学藤川研究室で合成された種々のPAS-H誘導体について結核菌に対する制菌作用を検討した。そして、これ等の誘導体の合成法、化学的性質と共に、制菌力についての抄録を1958年に薬学雑誌に報告した<sup>13)</sup>。

本論文に於いては、PAS-H及びその誘導体合計45検体の制菌力の詳細と、報告者によって差違のみられたPAS-HとPAS及びINHとの交叉耐性に関する実験成績を報告する。

### 実験材料及び実験方法

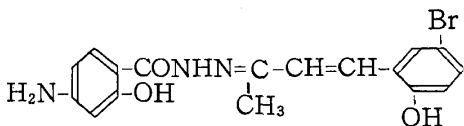
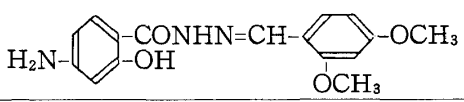
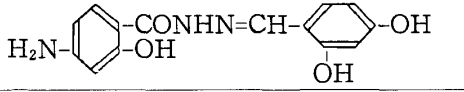
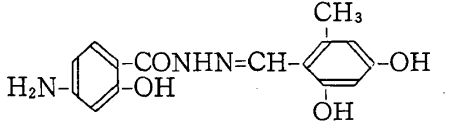
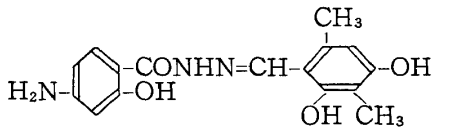
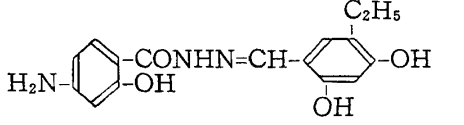
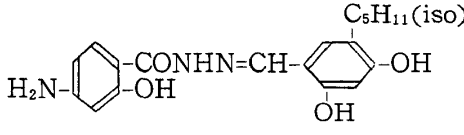
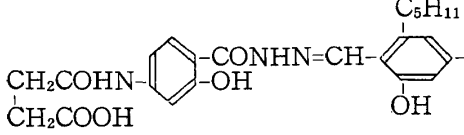
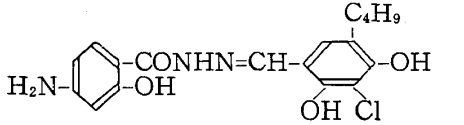
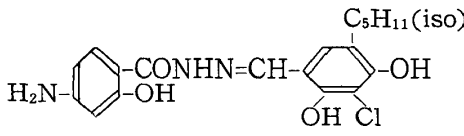
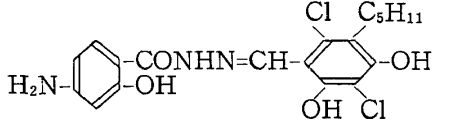
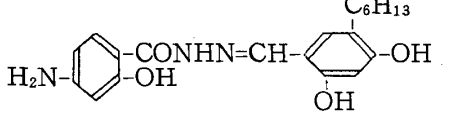
今回報告の検体は、p-Aminosalicyloyl-hydrazon及びその誘導体合計45検体で、HydrazidのAmino基に脂肪族並びに芳香族の種々のKeton類及びAldehyd類を反応せしめて製したものでいずれも京都薬科大学藤川研究室にて合成されたものである。

実験方法の詳細は第5報<sup>14)</sup>記載の通りである。即ち10%血清加Kirchner培地を用いて検体稀釈列を作り、これにTween-albumin培地に10日前後培養したH37Rv株培養液を10倍に稀釈して作成した菌液を、駒込ピペット1滴づつ接種、37°C 4週間培養後発育阻止最低濃度を判定した。1試験管当りの培地量は2ccで、接種菌量は培地1cc当り約0.01mgに相

表 1

検体番号	化学名	化学構造式	溶媒	MICin $\gamma$ /cc		対PAS比
				検体	PAS-Na	
1	p-Aminosalicyloylhydrazon		PG	0.625	0.313	2
2	Isopropyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PG	1.25	0.313	4
3	1-Methylpropyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PG	0.625	0.625	1
4	1-Methyl-3-oxybutyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PG	1.25	0.313	4
5	1-Methyl-2-aethoxycarbonyl ethyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	0.313	0.313	1
6	Cyclohexyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PG	2.5	0.313	8
7	Perillaaldehyd-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PD	>5.0	0.313	>16
8	$\alpha$ -Methylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	1.25	0.313	4
9	4-Methyl-alpha-methylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	1.25	0.313	4
10	4-Isopropylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	0.625	0.313	2
11	2-Oxybenzyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PD	2.5	0.313	8
12	3-Oxybenzyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PG	1.25	0.313	4
13	2-Oxybenzyliden-[4-bernstainsäure-monoamidosalicyloyl]hydrazon		PG	>10.0	0.313	>32
14	1-Methyl-3-(2-oxyphenyl)allyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	0.625	0.313	2
15	1-Methyl-3-(3-oxyphenyl)allyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	1.25	0.313	4
16	4-Methoxybenzyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PG	1.25	0.313	4

検体番号	化学名	化学構造式	溶媒	MIC <sub>in</sub> γ/cc		対PAS比
				検体	PAS-Na	
17	1-Methyl-3-(4-methoxyphenyl)allyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	1.25	0.313	4
18	2-Oxy-1-naphthyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PG	1.25	0.313	4
19	3-Nitrobenzyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PD	1.25	0.313	4
20	4-Nitrobenzyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PD	2.5	0.313	8
21	3-(3-Nitrophenyl)allyliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PD	2.5	0.313	8
22	1-Methyl-3-(4-nitrophenyl)allyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PD	5.0	0.625	8
23	4-Sulfamoylbenzyliden-p-amino-salicyloylhydrazon		PG	1.25	0.313	4
24	5-Bromfurfuryliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		PD	1.25	0.313	4
25	5-Nitrofurfuryliden-p-aminosalicyloyl-hydrazon		*			
26	Rhodanin-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	0.625	0.625	1
27	Usninsäure-p-amino-salicyloylhydrazon		PD	>10.0	0.313	>32
28	3-Methoxy-4-benzyliden-p-amino-salicyloylhydrazon		PG	1.25	0.625	2
29	3-Äthoxy-4-oxybenzyliden-p-amino-salicyloyl-hydrazon		PD	2.5	0.313	8
30	3-Carboxy-4-oxybenzyliden-p-amino-salicyloyl-hydrazon		PD	1.25	0.625	2
31	3-Oxy-6-brombenzyliden-p-amino-salicyloylhydrazon		PG	1.25	0.313	4

検体番号	化学名	化学構造式	溶媒	MICin $\gamma$ /cc		対PAS比
				検体	PAS-Na	
32	1-Methyl-3-(2-oxy-5-bromophenyl)allylidene-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	1.25	0.625	2
33	3,4-Dimethoxybenzyliden-p-amino-salicyloylhydrazon		PG	1.25	0.625	2
34	2,4-Dioxybenzyliden-p-amino-salicyloylhydrazon		PD	>10.0	0.313	>32
35	2,4-Dioxy-6-methylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	>10.0	0.313	>32
36	2,4-Dioxy-3,6-dimethylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	2.5	0.313	8
37	2,4-Dioxy-5-ethylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	>10.0	0.313	>32
38	2,4-Dioxy-5-isoamylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	2.5	0.313	8
39	2,4-Dioxy-5-isoamylbenzyliden-(4-bernsteinsäure-monoamidosalicyloyl)hydrazon		PG	>10.0	0.313	>32
40	2,4-Dioxy-3-chlor-5-butylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	5.0	0.625	8
41	2,4-Dioxy-3-chlor-5-isoamylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	1.25	0.313	4
42	2,4-Dioxy-3,6-dichlor-5-isoamylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	1.25	0.625	2
43	2,4-Dioxy-5-hexylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	>10.0	0.313	>32

検体番号	化学名	化学構造式	溶媒	MICin $\gamma$ /cc		対PAS比
				検体	PAS-Na	
44	2,4-Dioxy-5-heptylbenzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	>10.0	0.313	>32
45	2,4-Dioxy-5-methoxycarbonyl-6-methyl-benzyliden-p-aminosalicyloylhydrazon		PG	5.0	0.313	16

MIC : Miminal Inhibitory Concentration

PAS : 検体の MIC/対照 PAS-Na の MIC

PG : Propylenglycol

PD : Pyridin

\* : PG, PD に難溶のため不検

当する。検体は、Propylenglycol 又は Pyridin で 1,000 $\gamma$ /cc に溶解し、Propylenglycol の場合のみ 100°C 30分間蒸気滅菌を行ない、その後ろに夫々所要濃度まで蒸留水で稀釈した。

対照薬剤としては、PAS-Na を用いた。

### 実験成績

検体の化学名、構造式、発育阻止最低濃度 (MIC) 及び対 PAS 比を表 1 に示した。対 PAS 比とは、同時に行った PAS-Na の MIC で、検体の MIC を除した値で、この値が大きい程制菌力は PAS-Na より劣り、1 のときは PAS-Na と同等、1 以下のときは PAS-Na より強いことを示している。又、検体の MIC が、薬剤稀釈列に同時に含まれる溶媒の制菌作用の影響をうける場合には、検体の MIC に不等号を付した。

No.1 は、今回報告検体の基本形である p-Aminosalicyloyl-hydrazon (PAS-H) であるが、MIC は 0.625 $\gamma$ /cc で、制菌力は対照の PAS-Na の 1/2 であった。No.2~5 の Alkyl 系置換体の中には PAS-Na と同程度の制菌力を示すものが見られるが、炭素数との関係は不明である。No.6~7 の Cyclohexyl 置換体では制菌力は低下した。No.8 の Benzyl 置換体及び Alkylbenzyl 置換体の制菌力も、母体の PAS-H よりもすぐれたものではなかった。No.11~18 は大体 Hydroxy-benzyl 置換体で凡て母体より制菌力がよわく、Hydroxy 基の位置や Alkoxy 化の影響

はみられなかった。No.12 の PAS の Amino 基へ Berrnstein-saeure をつけた No.13 は、制菌力が著しく低下した。No.19~22 は、Nitrobenzyl 置換体であるが、制菌力はむしろ低下している。No.23~27 の種々の置換体の中では No.26 の Rhodanin 置換体がすぐれているが、PAS-Na をしのぐものではなかった。No.28~33 の他の 1ヶ所に置換体をもつ Hydroxybenzyl 置換体には、母体と同程度の制菌力を示すものもみられるが、とくにすぐれたものはなかった。No.34~45 までは、主として Dihydroxybenzyl 系置換体で、側鎖に Cl があるもの以外は、制菌力は著しく弱く、みるべきものはなかった。

表 2 は、母体である PAS-H の INH 耐性菌及び PAS 耐性菌に対する制菌作用を示したものである。PAS-H の MIC は、H37R $\nu$  感性株には、0.625 $\gamma$ /cc、同 INH 耐性カタラーゼ陽性株には、0.313 $\gamma$ /cc、同じく INH 耐性カタラー

表 2 p-Aminosalicyloyl-hydrazid (PAS-H) の INH 及び PAS 耐性菌に対する発育阻止最低濃度 ( $\gamma$ /cc)

使用菌株	薬 剤		
	INH	PAS-Na	PAS-H
H37R $\nu$	0.0313	0.313	0.625
H37R $\nu$ R-INH(+)*	3.13	0.156	0.313
H37R $\nu$ R-INH(-)	12.5	0.313	0.156
H37R $\nu$ R-PAS	0.0313	50.0	50.0

\* (+)…Katalase (+), (-)…同 (-)

ゼ陰性株には、0.156 $\gamma$ /cc で、高度耐性程PAS-H 感受性がつよくなる傾向が認められた。PAS 耐性株には、PAS-Na と同様に 50 $\gamma$ /cc で完全に交叉耐性を示した。

### 総括並びに考按

以上の実験成績をみると、PAS-H の制菌作用は、PAS-Na と同等もしくはやや弱く、PAS とは交叉耐性があるが、INH とは交叉耐性がないようである。

制菌力検査で、試験管 1 本の差を実験誤差と考えると、45種の PAS-H 系化合物の中、PAS-H より明かにすぐれた制菌作用を示したものは 1 検体もなく、ほぼ同じ制菌作用を示したものは 26 検体で、その他の 19 検体は明かに弱い制菌作用を示した。

構造式との関係については、検体数が少く、又化合物の構造が必ずしも系統的でないので、はっきりした傾向と云うものを把握出来なかった。唯概括的には、PAS-H と種々の Aldehyd 又は Keton 類を結合させた化合物が、Alkyl 系のもので、Aryl 系のもので、又 Heterocycl 系のもので、制菌作用が著明に増強することはないが、これらの中では、Cyclohexyl 系及び 2,4-Dioxy-benzyl 系のもので結合させたものは、制菌力の低下がみられることと、PAS の amino 基に Bernsteinsaeure を結合させると制菌力に著しい低下がおこることとは、明らかに認められた現象である。

PAS の ester 類の検討<sup>12)</sup> では、制菌作用は Alkyl ester では低下し、Arylester では著しく増強する現象がみられたが、PAS-H では、この様な傾向を認め得なかったわけである。

要するに、検討した範囲内では、PAS-H 誘導体の中には制菌作用の点で PAS をしのぐものはないのであるから、PAS-H に今後追求すべき課題があるとすれば、それは制菌作用自身ではなく、恐らくアセチル化に対して競合的に働き得る -NHNH<sub>2</sub> 基をもつ PAS-H の特殊性

についてであろうと思われる。

### 結 論

10%血清加Kirchner培地を用いて、p-Aminosalicyloyl-hydrazon及びその誘導体45種のH37 Rv株に対する制菌作用を検討したが、対照薬剤のPAS及びこれら誘導体の母体であるp-Aminosalicyloyl-hydrazonよりも強い制菌作用を示したものは認められなかった。又、p-Aminosalicyloyl-hydrazonは、PASとは交叉耐性を示すが、INHとは交叉耐性を全く認めなかった。

終りにのぞみ、検体を合成された京都薬科大学藤川福二郎教授及び平井邦夫助教授に深謝すると共に、実験にあたって協力された住友化学工業株式会社、並びに当研究室宮崎晃一氏に謝意を表す。

### 文 献

- 1) 三崎孝蔵, ほか: 医学と生物学, 25: 38, 1952.
- 2) 山本健一, ほか: 薬学雑誌, 72: 1646, 1952.
- 3) Bernstein, J., et al: Amer. Rev. Tuberc., 65: 357, 1952.
- 4) DiMarco, A., et al: Sperimentale, 102: 218, 1952., Chem. Abst., 47: 11531, 1953. より引用
- 5) Ma, J. S., et al: Antibiotics & Chemotherapy, 3: 491, 1953.
- 6) 加来天民: 薬学雑誌, 73: 531, 1953.
- 7) 山本健一: 医学と生物学, 28: 103, 1953.
- 8) Steenken, W., et al: Proc. Exp. Biol. Med., 87: 245, 1954.
- 9) 鈴木信: 薬学雑誌, 74: 703, 1954.
- 10) Hart, J. J. D., et al: Antibiotics & Chemotherapy, 4: 809, 1954. Chem. Abst., 49: 3400, 1955. より引用
- 11) Cugurra, F., et al: Arch. ital. sci. farmcol. [3] 5, 243, 1955., Chem. Abst., 50: 14979, 1956. より引用
- 12) 津久間俊次, ほか: 京大結研紀要, 12: 59, 1963.
- 13) 内藤益一, ほか: 薬学雑誌, 78: 559, 1958.
- 14) 津久間俊次, ほか: 胸部疾患, 2: 448, 1958.