

## 抗真菌剤の研究 第1報

各種化合物の抗菌、抗黴性

石田秀式・松田 明・川村良夫・山中国夫

日本化薬株式会社 王子製薬工場

(昭和 35 年 1 月 7 日受付)

## 緒 言

抗生物質、サルファ剤の進歩に伴い、細菌を対照とした化学療法剤の研究は一応極限に達したかの観を呈しているが、一方広域抗生物質や副腎皮質ホルモンの汎用に併つて真菌症が増加し、これに対する抗真菌剤が強く要望されている。しかしながら、その研究の多くは我国では岡崎<sup>1)</sup>、小菅<sup>2)</sup>等の研究にみられる如く表在性の皮膚及び粘膜の真菌症の治療剤が主であり、内科的真菌症<sup>3)</sup>にはわずかにトリコマイシン、ナイスタチン、アンフォテリシンB等の抗生物質が使用されているに過ぎず、現在の段階では未だ満足すべき状態ではない。近年化学療法剤の検索において、構造作用相関が重要視されて来た。即ち、ある化合物の生物活性を示すに必要な構造を見出して、それを強調或は減弱させて<sup>4)</sup>、選択毒性を念頭に入れて合理的に新化合物を見出してゆく方法が多く行なわれて来た。ポーリングはその事情を次の様に述べている。「薬物、酵素等の生物学における多くの基礎的問題の解析は分子構造と分子間反応との知識の中に求められる(抄)<sup>5)</sup>」。本研究においては、研究室に保存されてある有機化合物の比較的多数を選び出し、新抗真菌剤を見出す目的から上述した構造作用相関の方法論によつて検討を行なつた。

## 実験方法

検体：表に示す如き、脂肪族、芳香族フェノール、アルデヒド、ケトン酸及びその誘導体。

被検菌：

細菌 <i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i> 209 P	[No. 1]
<i>Escherchia coli</i>	[No. 2]
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	[No. 3]
<i>Candida albicans</i>	[No. 4]
<i>Willia anomala</i>	[No. 5]
<i>Torula utilis</i>	[No. 6]
<i>Aspergillus usami</i>	[No. 7]
<i>Penicillium chrysogenum</i> Q 176	[No. 8]
<i>Saccharomyces sake</i>	[No. 9]

培地：細菌用

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 2.0 g	Glucose 2.0 g
Vitamin B <sub>1</sub> 10 mg	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.35 g
Casamino acid 2.0 g	Aq. dest 1,000 cc
NaCl 5.0 g	Tryptophan 5 mg
Agar 20~30 g	$\text{MgSO}_4$ 0.1 g
Nicotinic acid 2~10 mg	

## 真菌用

$\text{NaNO}_3$ 3.0 g	$\text{MgSO}_4$ 0.01 g	Agar 20~30 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ 1.0 g	$\text{FeSO}_4$ 0.01 g	
Glucose 30.0 g	KCl 0.1 g	
Peptone 10.0 g	Aq. dest 1,000 cc	

方法：寒天平板画線法によつた。即ち、薬剤の一定量を秤量しアルコール等の溶媒を用いて溶解し、稀釈系列を作り、その一定量(通常 0.5 cc 以下)をシャーレに入れ、培地寒天 20 cc を流して均等に混和後、固めて薬剤加平板を作製した。

接種菌量、培養、観察：

細菌 プイオン普通寒天斜面 24 時間培養の 1 白金耳量を生理的食塩水 10 cc に懸濁せしめ、その 1 白金耳量を各平板に塗抹接種し、37°C に培養し 24 時間、48 時間後に観察し、その時の発育阻止最大稀釈倍数をもつて被検薬剤の抗菌力を表わした。

真菌 前記 1% ペプトン加変法 CZAPEK-DOX 寒天斜面培地に 7 日間培養したものを、径 4 mm の白金耳で 1 cc 約 1 白金耳量になる如くかき取り、生理的食塩水に懸濁せしめた菌液を各平板に塗抹接種し、27°C に培養し、3 日、5 日、7 日に観察し、その時の発育阻止最大稀釈倍数をもつて被検薬剤の抗黴力を表わした。

## 実験結果

被検菌の 1 種以上に 2 千倍以上の抗黴性を示した化合物を表 1 に一括した。

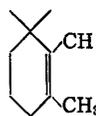
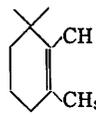
フェノール化合物<sup>6)</sup>の抗黴性を示す化学構造の法則性は、従来から認められている如く、菌に対する作用に選択性少く、アルキル基の導入によつて抗黴力は増強し、フェノール性水酸基の増加は減少を示した。カルボン酸系化合物において、サリチル酸 (No. 11)、パラオキシ安息香酸 (No. 12) は古くから食品防腐剤等に用いられて



表1 各種化合物の抗微生物スペクトル(2)

No.	被検菌 構造式	発育阻止最大稀釈倍数 $\times 10^4$								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
19		0.2	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
20		1.0	1.0	1.0	<0.2	<0.2	0.2	0.2	0.5	0.2
21		0.2	0.2	1.0	<0.2	0.2	0.2	0.5	0.5	0.2
22		0.5	0.5	1.0	<0.2	0.2	0.2	0.5	0.5	0.5
23		0.2	0.2	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
24		0.2	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
25		<0.2	<0.2	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
26		<0.2	0.2	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
27		2.0	2.0	8.0	0.2	0.5	0.2	1.0	1.0	1.0
28		0.2	0.2	1.0	0.2	0.5	0.2	0.5	0.5	0.2
29		<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
30		<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
31		<0.2	<0.2	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
32		16	16	8.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	16
33		0.5	<0.2	1.0	1.0	0.5	0.5	<0.2	<0.2	0.5
34		0.5	0.2	4.0	0.5	0.5	0.5	0.2	0.2	0.5
35	$\text{CH}_3\text{CH} : \text{CH} \cdot \text{CHO}$	0.2	0.2	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	0.2	0.2	0.2
36		0.2	0.2	>0.8	<0.2	0.4	<0.2	<0.2	0.4	0.4
37		0.4	0.4	>0.8	<0.2	<0.2	0.4	<0.2	<0.2	<0.2

表 1 各種化合物の抗黴スペクトル (3)

No.	被検菌 構造式	発育阻止最大稀釈倍数 $\times 10^4$								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
38	 CH : CH · COCH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> $\alpha$ -zonon	0.4	< 0.2	> 0.8	0.2	0.2	0.2	0.4	< 0.2	0.4
39	 CH : C COCH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	0.2	< 0.2	> 0.8	0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
40	 -CH : CH · CHO	0.2	0.2	8.0	0.5	0.5	0.5	* 0.5	1.0	1.0
41	 -CH=CHCO-	1.0	< 0.2	16	0.2	< 0.2	0.2	< 0.2	< 0.2	0.5
42	 -CH : CHCOCH <sub>3</sub>	< 0.2	0.2	4.0	0.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5
43	 -CH : C · COCH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0.5	0.2	5.0	< 0.2	0.5	< 0.2	0.2	0.2	0.5
44	 -NHCH : C · CHO Br	< 0.2	< 0.2	0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
45	 -NHCH : C · CHO NO <sub>2</sub>	0.2	0.2	1.0	0.2	0.2	0.5	0.2	0.5	0.5
46	 C=O	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
47	 CH <sub>3</sub> C=O	< 0.2	0.2	0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
48	 OH COCH <sub>3</sub> C=O	0.5	0.2	4.0	0.5	0.5	0.5	< 0.2	1.0	0.5
49	 D. H. A. CH <sub>3</sub> -C HC C=O	—	—	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
50	 V. K <sub>3</sub> C=O CH <sub>3</sub>	> 5.0	1.0	16	1.0	1.0	5.0	1.0	1.0	1.0
51	 CH <sub>2</sub> : CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	—	—	8.0	1.0	0.5	0.5	0.2	0.5	0.2

いるが抗微生物力は弱く、ウンデシレン酸(No. 51)も強力なものではない。一般にエステル(No. 13, No. 17)は対応する酸(No. 12, No. 16)に比して抗微生物力が強い。アルデヒド及びケトン誘導体においては、アルデヒドのハロゲン置換体(No. 19~No. 22), ニトロ置換体(No. 27), シアン置換体(No. 28)は対応するアルデヒドに比して抗微生物力を増強し、水酸基、メチル基の導入(No. 23~No. 24)は大きな変動を認めなかつた。

ケトン誘導体(No. 41~No. 43)も比較的強い抗微生物力を示し、No. 44, No. 45 の如き2重結合とベンゼン核の間に窒素をはさむ化合物は抗微生物力を減少した。No. 36~No. 40 の如き精油も中等度の抗微生物力を示し、中でも桂皮アルデヒド(No. 40)は最も強力で注目された。その他食品防腐剤として用いられるデヒドロ酢酸(No. 49), ビタミンK<sub>3</sub>(No. 50)は中等度の抗微生物力を示した。

#### 総括及び考察

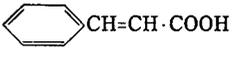
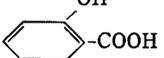
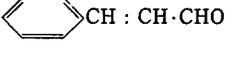
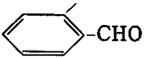
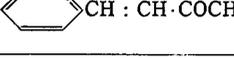
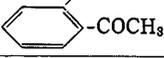
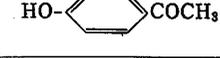
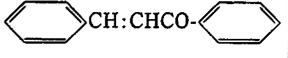
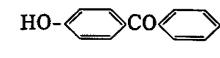
実験の部に示した様に本研究においては化合物の抗微生物スペクトラムを同時に多数検討する目的から寒天平板法を採用したが、これら被検菌全体に発現する抗微生物性を構造作用相関として求めるには、菌の分類学的位置の差、菌体構造、菌体成分、生化学的態度の差等から困難であるので、比較的化学構造の変化によく対応した感受性の変動を示す *Trichophyton mentagrophytes* についての実験成績及び文献に示された成績を中心に考察を加えてみる。

生体内における種々の物質代謝を一見すると、その中に多くのカルボニル化合物が関与し、しかもそれが重要な意義を有して居る事がわかる。例えば  $\alpha$  アミノ酸のトランスアミナーゼの如き Transferase<sup>7)</sup> におけるカルボニル基の移動の意義や、脂肪酸の生体内酸化の分解過程の解析における活性カルボニルの意義等があげられよう。又サルファ剤の拮抗物質としてのパラアミノ安息

香酸の発見を契機として FILDERS<sup>9)</sup> が代謝拮抗物質の中から化学療法効果を示す化合物を求め得る事を示唆して以来、トリプトファンとインドールアクリル酸<sup>10)</sup>, サリチル酸とパラアミノサリチル酸<sup>11)</sup> の如き研究が行なわれているが、これらはいずれも構造中にカルボニル基を含んでいる。この様に生物の生活過程にも重要な意義を持つと考えられる化合物の中から、抗真菌剤を求める事は機作的には種々異なる点もあるであろうが興味ある事と考えられる。以上の如き見地からスクリーニングに用いた検体をみると、多くのカルボニル基を含む化合物が見出される。その中で鎖状カルボン酸及びその同族体、誘導体、種々の安息香酸及び同族体、誘導体、アルデヒド、ケトン類の抗微生物性は薬剤の lipidophilic な性質との関連が認められる。即ち、一般にカルボン酸は相当する脂溶性エステル、ケトン、アルデヒドに比して抗微生物力の劣るのはカルボニル基の反応性と共に分子全体の lipidophilic な性質も影響していると考えられよう(表2参照)。ベンツアルデヒド誘導体では、ニトロ基の如き電子吸引基によつて抗微生物力は増強する。又  $-\text{CH}=\text{CH}-$  (vinyl 基) を  $>\text{C}=\text{O}$  (carbonyl 基) の隣りに挿入する事によつて、抗微生物性が顕著に増大する事が認められた(表3参照)。

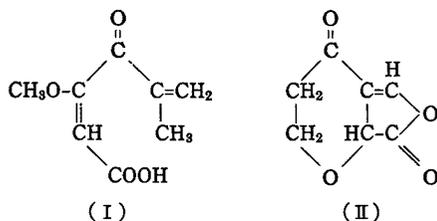
この点はチトラール(No. 36),  $\alpha$ -ヨノン(No. 38),  $\beta$ -ヨノン(No. 37), メチルヨノン(No. 39), 3-アセチル-4-オキシクマリン(No. 48), デヒドロ酢酸(No. 49), ビタミンK<sub>3</sub>(No. 50) の如くその構造中に  $>\text{C}=\text{CH}\cdot\text{CO}$  原子団を有する化合物が可成りの抗微生物性を示している点から法則性として認められる。即ち  $>\text{C}=\text{O}$  化合物の抗微生物活性は、 $-\text{CH}=\text{CH}-$  基の挿入によつて増強され、一般的には  $>\text{C}=\text{O}$  基は脂溶性グループに2重結合をへだてて最も近い事が望ましい。この様に  $>\text{C}=\text{O}$  基の抗微生物作用が  $>\text{C}=\text{CH}-$  によつて増強されるという知見は、

表 2 化学構造と抗微生物作用(その2)

No.	構造式	効力比	No.	構造式	効力比	No.	構造式	効力比
10		1.0	11		1.0	12		1.0
40		8.0	23		1.0			
42		4.0	30		1.0	31		> 1.0
41		16				34		> 20

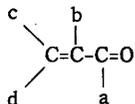
(被検菌・*Trichophyton*)

H. O. HETTICHE<sup>12)</sup> によつてブドウ球菌, 大腸菌に対する精油の殺菌効果の研究において, ベンツアルデヒド (No. 18) と桂皮アルデヒド (No. 40) との比較によつても認められている。その後 W. B. GEIGER 及び J. E. CONN<sup>13)</sup> がペニシリン酸 (I) 及びクラバシン(II)の如き  $\alpha, \beta$  不飽和ケトン構造を持つ抗生物質の研究において  $-\text{CH}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$  の如き原子



団が抗菌性を支配すると考え, それらの抗菌機作を SH 基を含む酵素系との関係において考察している。又他の抗生物質<sup>14)</sup>においても構造式が漸時確定されるに及んで, これらの中にもチトリン, フミガチン等の如く,  $\alpha, \beta$  不飽和カルボニル構造を持つものも少なくない。この様な研究は E. SCHRAUFSTÄTTER<sup>15)</sup>, 谷山<sup>16)</sup>等によつても行なわれている。

ある化合物の生物学的作用を理解する場合, これを構造作用相関の見地から整理して考えてみると, 活性を表わすに必須な構造, 即ちその構造を除くと活性が消失ないし減弱を起す原子団を主活性原子団と考え, 生物活性を示す化合物の細胞透過性, 拡散性, リピドへの分配率等の物理化学性を主として支配する原子団を副活性原子団と考えて, ある化合物の生物学的活性はこれらの協力的(綜括的)なものとして発現すると考えられる。以上の如き考えに基づいて  $\alpha, \beta$  不飽和カルボニル化合物を一般式で示す。



ここで a~d は副抗微生物活性原子団でこの位置に結合させる原子団の種類, 位置, 数によつて抗微生物活性が変化するものと推定される。

以上, 実験成績及び現在迄に得られている知見から考察すると, 可成りの抗微生物活性を示す化合物はいずれも先に示した構造を有し, しかもビタミン K<sub>3</sub> 等 2, 3 の例外を除いてはいずれも桂皮アルデヒドに類似の構造を分子内に有している事, 及び桂皮アルデヒド自体の抗微生物

表 3 化学構造と抗微生物作用 (その2)

No.	構造式	効力比	No.	構造式	効力比
18		1.0	40		40
29		1.0	42		> 20
33		1.0	41		40

(被検菌: *Trichophyton*)

が可成り強力である事及び合成化学上の観点からこれを母核として更に検討を進める事とした。

## 結 論

1. 研究室に保存されている各種化合物約 70 種の抗微生物性を寒天平板法によつて測定した。
2. 抗微生物性(主として白癬菌に対して)の発現には一定の法則性があり,  $> \text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$  の如き構造が必要と思われる。
3.  $> \text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$  構造を持つ化合物の多くが桂皮アルデヒドに, 構造上類似している事を認めた。

本研究に当り, 御懇篤なる御指導を賜つた秋葉教授, 岩田助教授に心から感謝いたします。

## 文 献

- 1) 岡崎寛蔵, 他: 薬誌 72, 1039 (1952), 72, 1040 (1952), 73, 80 (1953), 73, 156 (1953).
- 2) 小菅卓夫: 薬誌 73, 435(1953), 74, 819(1954), 74, 1086 (1954).
- 3) 北本治: 内科 1 (3), 69 (1958).
- 4) 梅沢純夫: 抗菌性物質 (1954).
- 5) 山口頼夫: 化学療法理論 (1948).
- 6) WALKER, G. C.; PORTER, C. L. & DEKAY, H. G.: J. A. P. A. 41, 77 (1952).
- 7) SUMNER, J. B. & SOMERS, G. F.: Chemistry and Method of Enzymes (1953).
- 8) BALDWIN, E.: Dynamic Aspects of Biochemistry (1952).
- 9) WOLLEY, O. W.: A Study of Antimetabolites (1952).
- 10) FILDES, P.: Brit. J. Exp. Path. 28, 212(1947).
- 11) IVANOVICS, G.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 76, 462 (1949).
- 12) HETTICHE, H. O.: Arch. Hyg. Bakt. 115, 303 (1936).
- 13) GEIGER, W. B. & CONN, J. E.: J. A. C. S. 67, 112 (1945).
- 14) SPECTOR, W. S.: Handbook of Toxicology Vol. II (1957).
- 15) SCHRAUFSTÄTTER, E.: Nature 164, 456(1949).
- 16) 谷山岳三, 他: 薬誌, 76, 154 (1956).