

Oxadiazole 環を有する新ニトロフラン化合物 第1報

抗菌性, 血中濃度, 尿中排泄及び毒性

唐 崎 正

藤沢薬品工業株式会社研究所

(昭和 38 年 7 月 26 日受付)

緒 言

ニトロフラン化合物は抗菌性物質として古くから多くの研究がなされて居るが、それ等の研究は強力な抗菌力を持つ新化合物の追求を主として居る様である。然し乍ら、化学療法剤への応用と言う見地からすれば、抗菌性物質は単に強い抗菌力を有するのみならず、生体内安定性、吸収性、毒性等の点に於いて全身投与剤として適するものでなければならない。従つてその様な適性を持つ新化合物を追求する事も重要な問題である。この考えから著者は先づ既往のニトロフラン化合物の一般生物学的性質を検討して来たが、その中で SHERMAN¹⁾ が発表した化合物 5-(5-nitro-2-furyl)-1,3,4-oxadiazolin-2-one が高血中濃度を示す特性のある事を知つた。この化合物は反面毒性が甚だ強い欠点を有して居たので、この関連化合物で毒性の低いものを探索した処、oxadiazole 環を有する新化合物が化学療法剤として有望な事が判つた。之を報告する。

実 験 の 部

実 験 法

本報でとり上げた新化合物及びその近縁化合物は第1表の如くである。新化合物は 2-(5-nitro-2-furyl)-5-methyl-1, 3, 4-oxadiazole (NF 76), 2-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-5-methyl-1, 3, 4-oxadiazole (NF 89) 及び 2-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-1, 3, 4-oxadiazole (NF 95) の3つで、この合成研究については担当者が別報で発表する予定である。NF 47 は SHERMAN¹⁾ の化合物であり、NF 44 は上野製薬 KK が得た新化合物である²⁾。この外に対照として Z-furan, NF 4³⁾, Panfuran⁵⁾, Furazolidone⁶⁾, Furaltadone⁷⁾, Nitrofurantoin⁸⁾, NF69⁹⁾等も検討した。之等の試料は何れも結晶を用い、Z-furan, NF 4, Panfuran, Furazolidone 等は上野製薬KK より提供されたもの、他は藤沢薬品 KK 研究所で合成されたものを用いた。

最低発育阻止濃度 (MIC) の測定。倍数稀釈法によつた。Escherichia coli NIHJ 株, Staphylococcus aureus FDA 209 株等の場合は、中性ブイオンを用い、10⁸ cells/ml の接種量で、37°C, 20 時間培養を行なつた。Trichomonas vaginalis 4 FM 株 (大阪大学微生物病研究所

保存株) の場合は、Vブイオン培地¹⁰⁾を用い、10⁴ cells/ml の接種量で、37°C, 48 時間培養を行なつた。Candida albicans Yu 1200 株の場合は、酵母エキス (Difco) 0.1%, 葡萄糖 2%, pH 5.8 の培地を用い、10⁶ cells/ml の接種量で、28°C, 20 時間培養を行なつた。Trichophyton interdigitale (大阪大学微生物病研究所) の場合は、酵母エキス 0.15%, ペプトン 0.5%, 葡萄糖 2%, 寒天 1.5%, pH 6.0 の培地に 28°C で 10~14 日培養した斜面培地菌を約 100 mg とり、10 ml の蒸留水に浮べ、20,000 r.p.m. 高速 Blender にて 2 分処理し、均等な菌糸碎片懸濁液となし、之を 1% の濃度に上記培地 (但し寒天はない) に接種した。この培地を用いて 28°C, 48 時間培養を行なつた。以上何れの場合も、発育判定は肉眼にて行ない、その生育を全く認めない培地の最低の薬剤濃度を MIC とした。試料は Dimethylformamide にて 1 mg/ml に溶解し、以下蒸留水にて望む濃度に希釈した。

血中濃度, 尿中濃度の測定。服部^{11,12)}の報告した方法で、E. coli を試験菌とする比濁法を適用したものである。試料は市水にて懸濁し、ゾンデを用いて胃内投与した。血清試料は耳静脈血より脱繊維法で調製し、又尿試料は導尿により得た。

毒性。市販の白色マウス (15g ± 1g, dd 系と称する

第1表 新化合物

$\begin{array}{c} \text{HC}-\text{CH} \quad \text{N}-\text{N} \\ \parallel \quad \parallel \quad \parallel \quad \parallel \\ \text{O}_2\text{N}-\text{C} \quad \text{C} \quad \text{C} \quad \text{C}-\text{CH}_3 \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	NF 76
$\begin{array}{c} \text{HC}-\text{CH} \quad \text{N}-\text{N} \\ \parallel \quad \parallel \quad \parallel \quad \parallel \\ \text{O}_2\text{N}-\text{C} \quad \text{C}=\text{CH}=\text{CH}-\text{C} \quad \text{C}-\text{CH}_3 \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	NF 89
$\begin{array}{c} \text{HC}-\text{CH} \quad \text{N}-\text{N} \\ \parallel \quad \parallel \quad \parallel \quad \parallel \\ \text{O}_2\text{N}-\text{C} \quad \text{C}=\text{CH}=\text{CH}-\text{C} \quad \text{CH} \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	NF 95
$\begin{array}{c} \text{HC}-\text{CH} \quad \text{N}-\text{NH} \\ \parallel \quad \parallel \quad \parallel \quad \parallel \\ \text{O}_2\text{N}-\text{C} \quad \text{C} \quad \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	NF 47 (SHERMAN, 1961 年)
$\begin{array}{c} \text{HC}-\text{CH} \quad \text{N}-\text{NH} \\ \parallel \quad \parallel \quad \parallel \quad \parallel \\ \text{O}_2\text{N}-\text{C} \quad \text{C}=\text{CH}=\text{CH}-\text{C} \quad \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	NF 44 (上野製薬, 1961 年)

もの)を用い、胃内投与後の72時間死亡率からLD₅₀を算定した。

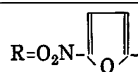
実験結果

抗菌力。MICは第2表の如くである。新化合物NF76, NF89, NF95は*E. coli*に対するMICは10~40mcg/mlで、ニトロフラン化合物としては抗菌力の強いものとは言えない。然し、*E. coli*よりも*Trichomonas vaginalis*に強い抗生力のある事、又他の化合物では効き難い*Trichophyton*や*Candida*にも抗菌力のある事

等がこの化合物の特長である。*Trichomonas*に対しては供試の化合物すべてが*E. coli*と同程度の抗生力を示して居る。他の抗生物質では、ペニシリン、ストレプトマイシンは勿論、Broad spectrumのクロラムフェニコールやテトラサイクリンでも*Trichomonas*に対しては殆ど無効であるから、ニトロフラン化合物のこの抗*Trichomonas*性はその大きな特長の1つと言い得る。NF47とNF44、或はNF76とNF89とを比較するならば、側鎖の-CH=CH-が抗菌力を高める効果があり、

第2表 最低発育阻止濃度

名称又は No.	試料 化学構造	MIC, mcg/ml				
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>T. vaginalis</i>	<i>T. interdigitale</i>	<i>C. albicans</i>
NF 76		40	>80	10	40	80
NF 89		10	40	2.5	10	80
NF 95		10	40	2.5	10	40
NF 44		1.25	1.25	1.25	10	80
NF 47		5	10	5	40	>80
Z-furan		2.5	5	5	40	>80
NF 4		0.25	1.25	0.25	20	40
Panfuran		0.25	2.5	0.5	5	80
Furazolidone		2.5	10	2.5	>80	>80
Furaltadone		5	5	10	>80	>80
Nitrofurantoin		10	40	40	>80	>80
NF 69		>80	>80	5	>80	>80



かつそれは何れの微生物に対しても同じ位に高める。即ち抗菌スペクトラムは変えない事が判る。

血中濃度及び尿中排泄。試料を 100 mg/kg, 家兎に胃内投与した場合の血中, 尿中の薬剤濃度を測定した結果は第 3 表の如くである。血中濃度は NF 47, NF 76 が非常に高濃度であるのが目立ち、之に次いで Nitrofurantoin, NF 44, Furaltadone 等が中等度であり, NF 89, Furazolidone, NF 95 等は 1 mcg/ml 以下で下位にある。Panfuran は辛うじて測定し得る程度であり, Z-furan, NF 4 と共に血中濃度陰性群に属する。次に尿中排泄は Nitrofurantoin が著しく良く, Furaltadone, NF 47 等が之に次ぎ, NF 44, NF 76, NF 95 は下位にある。Furazolidone, NF 89 は血中濃度は示したが尿中排泄は認めなかつた。同時刻の血中濃度と尿中濃度を比較すると Furaltadone, Nitrofurantoin, NF 95 では尿中濃度の方が約 10 倍高いが, NF 47, NF 44 では同程度である。この結果が, 各試料測定時の尿量の多寡に依るものでない事は確かであるので, この血中濃度と尿中濃度の比率はその化合物の特性を示すものと思われる。

急性毒性。マウス胃内投与時の 72 時間判定による LD₅₀ は第 4 表の如くである。血中濃度の著しく高い NF 47 や, 抗菌力の最強である NF 4 は毒性も強い。一方, 抗菌力のない NF 69 や抗菌力は中等度で血中濃度は下位にあつた NF 89, Furazolidone 等は毒性が弱い。更に, 抗菌力, 血中濃度共に中等度の Furaltadone や, 抗菌力は下位で血中濃度は上位の NF 76 は中等度の毒性である。之等の事から, 毒性は抗菌力と血中濃度の相加したものと考えられ, Z-furan や Panfuran の毒性結果もこの考え方に矛盾していない。然しこの例外も見られる。NF 95 が NF 89 に較べて抗菌力, 血中濃度が同等であり乍ら前者の方が遙かに毒性の強い事, 又 Nitrofurantoin が NF 44 に較べて抗菌力は弱く血中濃度は同等, 従つて上記考え方からすれば Nitrofurantoin の方が毒性が弱い筈であるが実験結果では同等となつている事, である。しかして之等の場合は何れも予想よりも毒性の強かつた方, NF 95, 或は Nitrofurantoin が NF 89 或は NF 44 より尿中排泄が良い。尿中排泄が良いと毒性も高まる事を思わせる結果である。

考 察

或る薬効を期待して 1 つの新化合物を合成しようとする

第 3 表 血中濃度及び尿中排泄 (家兎, 100 mg/kg 胃内投与)

試 料	血 中 濃 度 (mcg/ml)		尿 中 濃 度 (mcg/ml)		尿 排 泄 率* (%)
	3 時	6 時	3 時	6 時	
NF 76	21	10	71	48	0.38
NF 89	0.6	0.9	0	0	0
NF 95	0.3	0.2	19	10	0.12
NF 44	3.4	5.7	10	6.3	0.15
NF 47	51	34	67	27	0.8
Z-furan	0	0	0	0	0
NF 4	0	0	0	0	0
Panfuran	0.02	0.06	1.0	1.5	0.008
Furazolidone	0.5	0.6	0	0	0
Furaltadone	3.5	1.8	120	27	2.0
Nitrofurantoin	6.5	9.2	600	600	7.2

* 6 時間後迄の総排泄量の投与量に対する比率。

第 4 表 急性毒性 (胃内投与)

試 料	LD ₅₀ (mg/kg)
NF 76	620
NF 89	>2,400
NF 95	510
NF 44	410
NF 47	160
Z-furan	1,100
NF 4	290
Panfuran	490
Furazolidone	2,200
Furaltadone	650
Nitrofurantoin	410
NF 69	>2,400
クロラムフェニコール*	1,960
テトラサイクリン*	>2,400

* 参考の為測定した。

る際に, 化学構造と生物学的性質との関連性は大きな関心事であるが, 本報の実験結果からニトロファン化合物のそれに就いて 1, 2 の知見が得られる。先づ NF 47 と NF 76, 或は NF 44 と NF 89 を各比較すれば, oxadiazolone の C=O を C-CH₃ とする事により抗菌力, 毒性が低下する事が判る。又 NF 47 と NF 44, 或は NF 76 と NF 89 を各比較すれば, 直鎖の -CH=CH- が抗菌力を高め, 血中濃度を下げ, 毒性を低下さす効果のある事が判る。このような知見がニトロファン化合物にのみ限つてもどの程度の普偏性を持つかは疑問であるが, NF 89 の合成に際しては, とに角それが 1 つの推定としてその化学構造式立案に役立つ事は否み難いのである。尚 -CH=CH- が抗菌力を高める効果のある事に

については既に生垣氏¹³⁾が報告して居る。

新化合物 NF 89 及び NF 95 は抗菌力の強い化合物を目標としたのではなく、血中濃度を示す事、及び毒性の低い事、換言すれば全身投与剤としての適性のある事を目標としてその合成が企てられたものである。即ち既往の化合物 NF 47 が血中濃度の異状に高い点に注目し、その毒性が強いと言う欠点を低減さす為、先づ NF 76 が合成され、更に NF 89, NF 95 等が合成されたのである。この中 NF 89 は血中濃度では母型の NF 47 に劣つて居たが、毒性は遙に低くなつて居て既存の実用抗生物質並であり、一応所期の目標にかなつたものと認められた。その抗菌力は既存の化合物に較べると寧ろ弱かつたが、この可否は後に行なう治療作用力の試験で明らかになると思われたので、この段階では不問としたのである。

要 約

新しいニトロフラン化合物 2-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-5-methyl-1,3,4-oxadiazole 及び 2-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-1,3,4-oxadiazole の生物学的性質を既存のニトロフラン化合物と比較した。

抗菌力は、*E. coli* に対する MIC が 10 mcg/ml でありニトロフラン化合物としては強いものではないが、他の化合物では効き難い *Trichophyton* や *Candida* に対しても抗菌力がある。

家兔に 100 mg/kg を胃内投与した場合の血清中濃度を、*E. coli* を試験菌とする比濁法で測定したが、0.3~0.9 mcg/ml であつた。尿中排泄は前者では認めず、後者では僅に認めた。マウス胃内投与時の LD₅₀ は前者が 2,400 mg/kg 以上であり、甚だ毒性は弱く、後者は 510 mg/kg であつた。

供試の種々なるニトロフラン化合物はすべて *Trichomonas vaginalis* に対して顕著な抗生作用を示した。

参 考 文 献

- 1) SHERMAN, WILLIAM R.: 5-Nitro-2-furyl-substituted-1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles, and 1,3,5-triazines. *J. Org. Chem.* 26, 88, 1961.
- 2) 大山昭夫, 堀田 進: 異節環を有する Nitrofurran 誘導体の抗菌作用並びに毒性について。日本化学療法学会第 10 回総会, 昭和 37 年 6 月。
- 3) 西海枝東雄: ニトロフルフロール概説。薬学研究 20, 24, 1948.
- 4) 服部哲也: ニトロフラン化合物の生物学的研究, III, 各種化合物の生物学的性質の比較。Juntendo Med. J. 6, 568, 1960.
- 5) 三浦孝次, 池田政男, 大橋富次, 市村圭子, 五十嵐良子: フラン誘導体の化学的並びに実験化学療法的研究, 23. 3-amino-6-(5-nitrofuryl-2-ethyl)-1,2,4-triazin hydrochloride (Panfuran) の薬理作用について。金沢大学薬学部研究年報, 11, 14, 1961.
- 6) YURCHENCO, J. A., M. C. YURCHENCO. & C. R. PIEPOLI: Antimicrobial properties of Furoxone (N-5-nitro-furfurylidene-3-amino-2-oxazolidone). *Antib. & Chem.* 3, 1035, 1959.
- 7) KEFAUVER, D. F., I. PABERZS. & T. F. MCNAMARA. Furaladone, a new antibacterial nitrofurran. *Antibiotic Ann.* 1958/1959: 81~87, 1959.
- 8) WAISBREN, B. A., & W. CROWLEY: Nitrofurantoin, clinical and laboratory evaluation. *A. M. A. Arch. Int. Med.* 95, 653, 1955.
- 9) 杉原 明, 伊藤真純: ニトロフラン誘導体の合成研究, I, 5-nitro-2-furaldehyde pyrimidinylhydrazone 類の合成。第 12 回日本薬学会近畿支部総会, 昭和 37 年 11 月。
- 10) 浜田義雄: *Trichomonas vaginalis* の生物学的研究, 第 1 報, 純培養について。大阪大学医学雑誌 5, 429, 1952.
- 11) 服部哲也: ニトロフラン化合物の生物学的研究, I, 比濁法によるニトロフラン化合物の定量。Juntendo Med. J. 6, 557, 1960.
- 12) 服部哲也: ニトロフラン化合物の生物学的研究, II, ニトロフラン化合物の生体内濃度。Juntendo Med. J. 6, 563, 1960.
- 13) 生垣 賢: ニトロフラン誘導体の抗菌作用に関する研究。薬学研究, 22, 293, 1950.