ニトロフラン誘導体の化学構造と抗微生物作用との関係について. III

試験管内真菌発育阻止作用

藤本克郎・清水当尚・高瀬善行
中西 功・中村信一
大日本製薬株式会社中央研究所

(昭和 42 年 2 月 6 日受付)

緒 言

ニトロフラン誘導体の抗真菌作用に関しては，かなり古くから検討されているが[1,2]，抗菌作用の研究にくらべてその数は非常に少なく，とくに化学構造と抗真菌作用との関連性については比較的限られた構造のものについて若干検討されているに過ぎず[1,2]，種々の構造を有する多数の化合物については未だ余り広く検討されていない。

著者等はニトロフラン誘導体 171 化合物について抗真菌作用を検討し，その結果より化学構造との関連性について若干の考察を行なつた。

実験材料及び実験方法

供試薬物及び被検液の調製：抗菌作用試験(前報〔I〕)と同様である。

抗真菌試験法：培地は 4% Glucose-SABOURAUD 培地を使用し，菌接種量は発育可能最少量の 100～1,000 倍を用いた。*Candida albicans* は 37℃, 48 時間, *Hansenula anomala* は 37℃, 72 時間, その他の真菌は 30℃, 7 日間培養後それぞれ真菌発育の有無を観察し，最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。

〔註〕 使用菌株は伝染病研究所菌株保管室より分与せられた。

実 験 結 果

I. 化学構造と抗真菌作用との関連性

171 種のニトロフラン化合物について，*Candida albicans* 及び *Trichophyton asteroides* に対する抗真菌作用を検討した結果，上記いずれかの 1 株に対し 3 mcg/ml 以下の MIC を示した化合物は 23 種であつた。それらの化学構造式と MIC を Table 1 に示す。またそれら化合物の化学構造別内訳は Table 2 に示す如くで，23化合物はすべて Heterocyclic vinyl type のものであつた。

次に化合物を化学構造別に Acid hydrazone type, Heterocyclic vinyl type 及びそれ以外のすべての type を含む other types の 3 群に分類して，それらの抗真菌作用と化学構造との関連性を考察した。

Table 3 及び Table 4 は横軸にこれら各群の *Candida albicans* 及び *Trichophyton asteroides* に対する MIC を，縦軸に化合物数のパーセントを表示したものである。

Table 3, 4 に示す如く，Heterocyclic vinyl type 以外のものはこの両株に対し，殆んどの化合物が 30 mcg/ml 以上の MIC を示し，10 mcg/ml の MIC を示す化合物に非常に少なく，3 mcg/ml 以下の MIC を示すものは全く存在しなかつた。それにくらべ Heterocyclic vinyl type のものでは両株に対し 3 mcg/ml 以下の MIC を示す化合物が 30～40% を占めており，検討した化合物の中ではこの type に属するもののみに強い抗真菌作用を示す化合物が存在した。このことは一般細菌及び結核菌に対する検討の場合にも認められた傾向であるが，真菌に対しては，なお一層この傾向が明らかであるように思われる。

以上 171 種のニトロフラン化合物について抗真菌作用を検討した結果を化学構造との関連性の面から大別的に考察したが，一般細菌，及び結核菌に対する抗菌作用の場合と同様，Heterocyclic vinyl type の化合物に抗真菌作用の強い化合物が多く見出されたことより，この系統の化合物について，更に個々の化学構造と抗真菌作用との関連性を検討考察した。

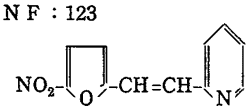
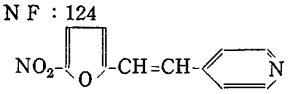
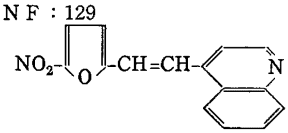
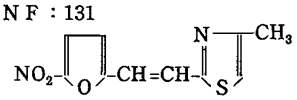
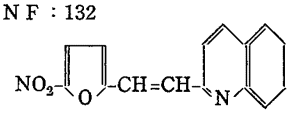
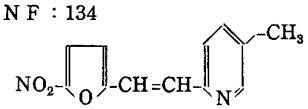
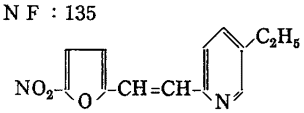
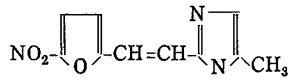
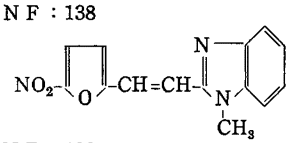
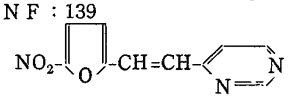
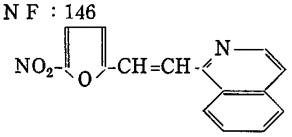
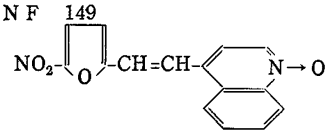
(1) ニトロ基の必要性：Table 5 に示す如く，5-位にニトロ基のない対応化合物は抗真菌作用を殆んど示さなかつた。従がつて細菌に対する場合と同様フラン環の 5-位のニトロ基の存在は必須である。

(2) フラン環の有効性．ニトロフラン環をニトロチオフェン環及びニトロベンゼン環に代えると Table 6 に示す如く，その抗真菌作用は著るしく低下した。この様相は一般細菌に対する場合と全く同様の傾向である。

(3) 含窒素異項環の N-oxide 化の影響：含窒素異項環の N を oxide 化した場合は，Table 7 に示す如く，その化合物によつて作用の増強される場合と減弱される場合，及びなんら変化なき場合の 3 様相が認められるが，一般にピリジン誘導体では作用が減弱し，キノリン誘導体では増強される傾向を示した。

(4) 含窒素異項環の N の 4 級化の影響：含窒素異項環の N を 4 級化した場合は，Table 8 に示す如く，キノリン誘導体では作用に変化は殆んど認められなかつた

Table 1 [μg/ml]

Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
NF : 123 	1	3
NF : 124 	1	1
NF : 129 	0.3	1
NF : 131 	1	1
NF : 132 	3	10
NF : 134 	0.3	3
NF : 135 	1	10
NF 136 	1	1
NF : 138 	1	3
NF : 139 	3	3
NF : 146 	1	30
NF 149 	0.3	3

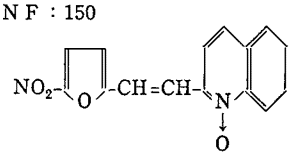
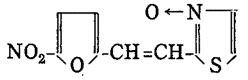
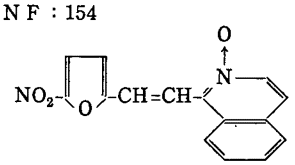
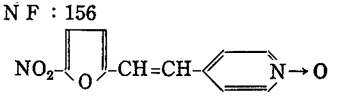
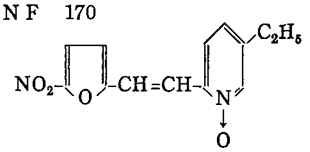
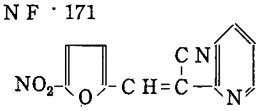
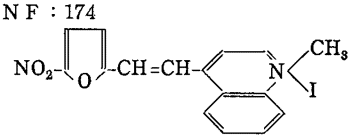
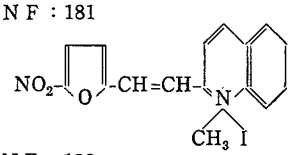
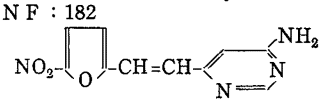
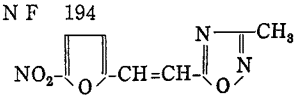
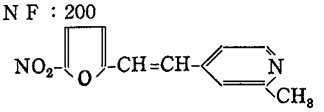
Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
NF : 150 	0.1	1
NF : 153 	3	3
NF : 154 	1	1
NF : 156 	3	30
NF 170 	3	3
NF : 171 	>100	3
NF : 174 	1	3
NF : 181 	3	10
NF : 182 	3	30
NF 194 	100	3
NF : 200 	0.3	1

Table 2

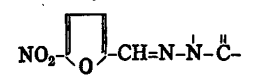
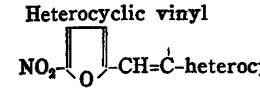
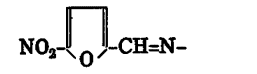
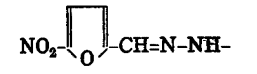
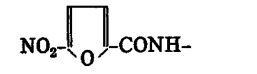
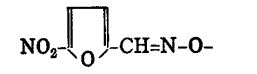
Type	Test number	Selected number
Acid hydrazone 	56	0
Heterocyclic vinyl 	52	23
Schiff's base 	15	0
Hydrazone 	16	0
Acid amide 	13	0
Oxime 	4	0
Others	15	0
Total	171	23

Table 3

Conc.(μg/ml) / Nitrofuran	≧100	30	10	3	1	0.3	≦0.1
Acidhydrazone	98.2		1.8				
Heterocyclic vinyl	38.5	7.7	13.5	11.5	17.3	11.5	
Other	87.3	12.7					

Table 4

Conc.(μg/ml) / Nitrofuran	≧100	30	10	3	1	0.3	≦0.1
Acidhydrazone	75.0	21.4	3.6				
Heterocyclic vinyl	38.5	15.4	11.5	23.1	11.5		
Other	82.5	15.9	1.6				

Table 5 [μg/ml]

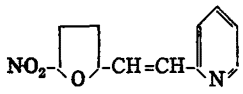
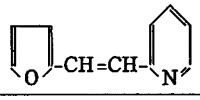
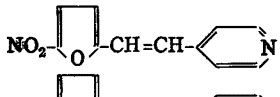
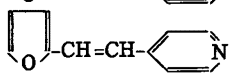
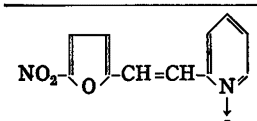
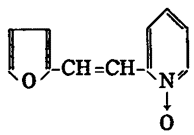
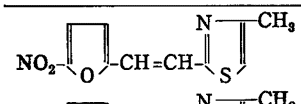
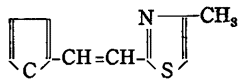
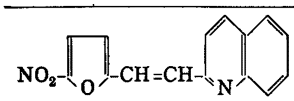
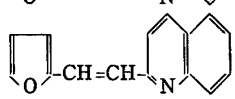
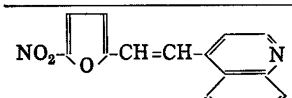
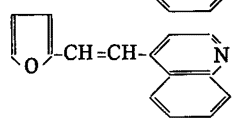
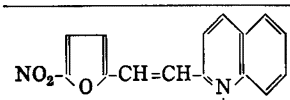
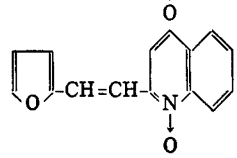
Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
	1	3
	100	30
	0.3	1
	>100	>100
	10	10
	>100	>100
	1	3
	>100	100
	3	10
	100	100
	0.3	1
	30	30
	0.3	1
	>100	100

Table 6 [μg/ml]

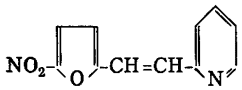
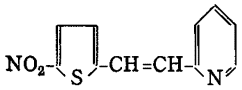
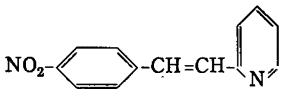
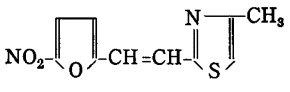
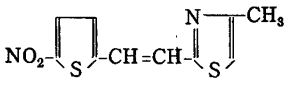
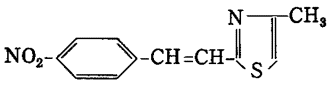
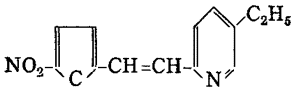
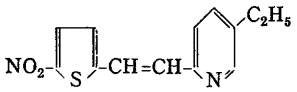
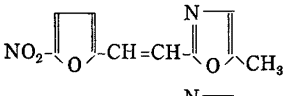
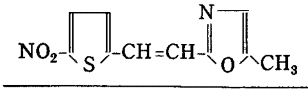
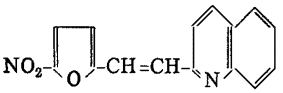
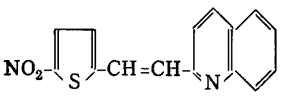
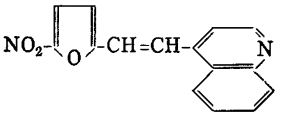
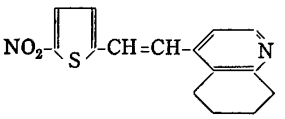
Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
	1	3
	>100	100
	>100	>100
	1	3
	>100	100
	>100	>100
	1	3
	>100	>100
	1	1
	>100	100
	3	10
	>100	>100
	0.3	1
	>100	100

Table 7 [μg/ml]

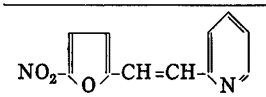
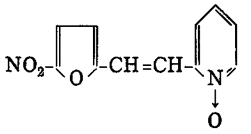
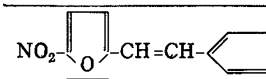
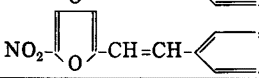
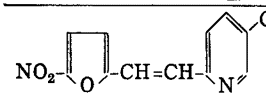
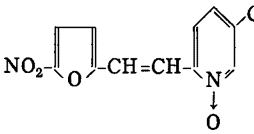
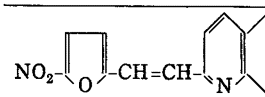
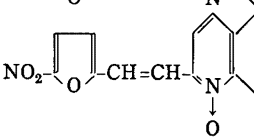
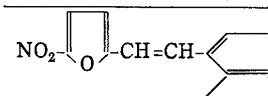
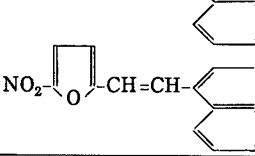
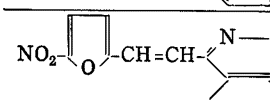
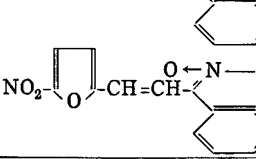
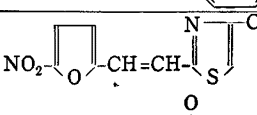
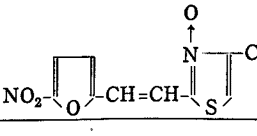
Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
	1	3
	10	10
	0.3	1
	3	30
	1	3
	3	3
	3	10
	0.3	1
	0.3	1
	0.3	3
	1	30
	1	1
	1	3
	3	3

Table 8 [μg/ml]

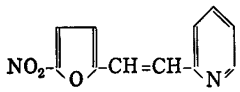
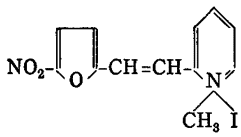
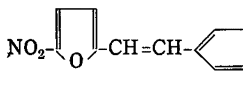
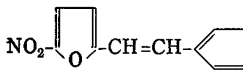
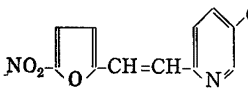
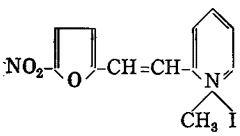
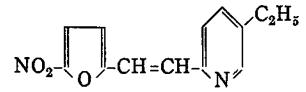
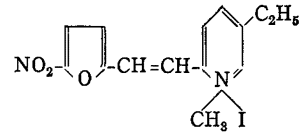
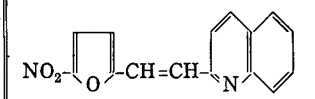
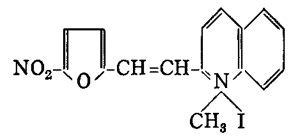
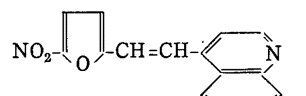
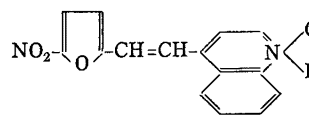
Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
	1	3
	>100	>100
	0.3	1
	30	30
	0.3	3
	>100	30
	1	3
	>100	30
	3	10
	3	10
	0.3	1
	1	3

Table 9 [μg/ml]

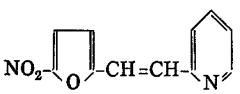
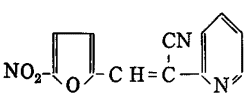
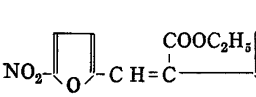
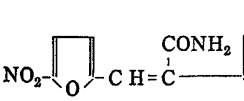
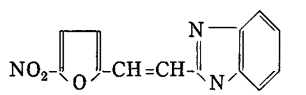
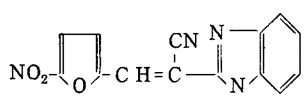
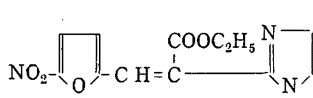
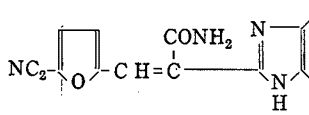
Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
	1	3
	>100	3
	>100	100
	>100	>100
	30	100
	>100	>100
	>100	>100
	>100	>100

Table 10 [μg/ml]

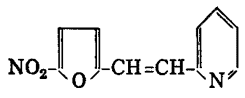
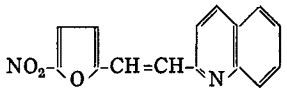
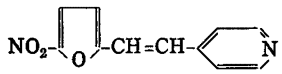
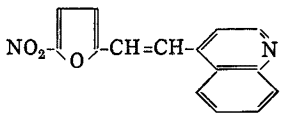
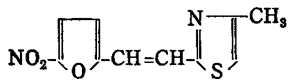
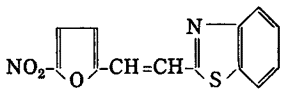
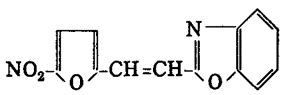
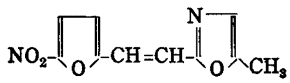
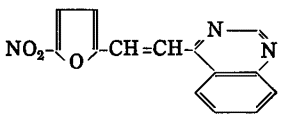
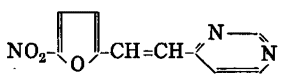
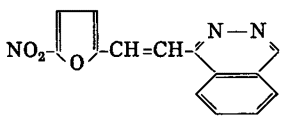
Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*	Structure \ Organism	*Candida albicans*	*Trichophyton asteroides*
	1	3		3	10
	0.3	1		0.3	1
	1	3		100	100
				>100	100
	1	1		100	30
	3	3		30	10

Table 11(a) [μg/ml]

Organism \ Compound	NF123	NF124	NF129	NF131	NF132	NF134	NF135	NF136	NF138	NF139	NF146	NF149
Mucor jansseni	1	1	0.3	1	1	0.3	0.3	0.3	0.3	1	0.3	1
Aspergillus terreus	3	3	3	3	100	3	10	1	10	10	>100	>100
Aspergillus niger	10	3	3	3	30	3	10	3	3	3	10	10
Cryptococcus neoformans	0.3	0.03	0.1	0.3	1	0.3	1	0.1	0.3	0.3	1	0.3
Candida albicans ATCC 10257	1	1	0.3	1	3	0.3	1	1	1	3	1	0.3
Candida albicans Ozawa	1	1	0.3	1	3	0.3	1	1	1	3	0.3	0.3
Saccharomyces rouxii	3	1	1	3	>100	3	10	3	10	10	>100	3
Hansenula anomala	3	1	0.3	3	1	1	10	1	1	3	1	1
Microsporum gypseum	1	1	0.3	1	1	3	10	1	1	1	0.3	0.3
Trichophyton asteroides	3	1	1	1	10	3	10	1	3	3	30	3
Trichophyton gypseum	3	1	1	1	1	3	10	1	1	3	0.3	0.3
Trichophyton mentagrophytes	3	1	1	1	3	10	10	1	3	3	3	3
Trichophyton interdigitale	3	1	1	1	3	3	10	1	1	3	3	3

Table 11(b) [μg/ml]

Organism \ Compound	NF150	NF153	NF154	NF156	NF170	NF171	NF174	NF181	NF182	NF194	NF200
Mucor jansseni	0.3	1	1	3	3	30	1	1	3	100	0.1
Aspergillus terreus	10	10	>100	30	30	>100	10	>100	>100	>100	1
Aspergillus niger	0.3	1	10	30	3	>100	10	3	100	100	1
Cryptococcus neoformans	0.03	0.3	1	1	0.3	3	1	1	0.3	3	0.1
Candida albicans ATCC 10257	0.3	3	1	3	3	>100	1	3	3	100	0.3
Candida albicans Ozawa	3	3	3	3	3	>100	1	3	3	30	1
Saccharomyces rouxii	10	30	>100	30	100	>100	10	>100	100	>100	1
Hansenula anomala	0.3	3	1	3	3	3	3	3	3	30	3
Microsporum gypseum	0.3	0.3	0.1	10	1	1	1	3	10	10	1
Trichophyton asteroides	1	3	1	30	3	3	3	10	30	3	1
Trichophyton gypseum	0.3	1	0.3	30	3	1	3	1	10	10	1
Trichophyton mentagrophytes	1	1	10	30	3	3	3	3	30	10	1
Trichophyton interdigitale	1	1	1	30	3	1	3	10	30	10	1

が，ピリジン誘導体では著るしく低下が認められた。

(5) -CH=C(X)-heterocycle の Xに置換基を導入した場合の影響：Table 9 に示す如く，Xに -CN, $-COOC_2H_5$, $-CONH_2$ を導入した場合は作用が低減した。

(6) 異項環の影響：Heterocyclic vinyl type の異項環部分の抗真菌作用に及ぼす影響で最も目立つた所見としては，ピリミジン誘導体の多くのものがその抗真菌作用の非常に弱かつたことである。Heterocyclic vinyl type の中，ピリミジン誘導体は一般細菌及び結核菌に対しては，他の異項環誘導体よりもその抗菌作用は強いが，真菌に対しては僅かに NF：139, 182 の2化合物のみが強い抗菌作用を示したに過ぎない。このことより本誘導体は，真菌に対しては細菌に対する場合とはかなり趣を異にする化合物であると云えよう。

また，キノリン環を除き，ベンゼン環の融合した異項環はこれに対応する異項環にくらべ，その抗真菌作用は著るしく減弱する傾向にあつた。即ち，Table 10 に示す如くベンツチアゾール誘導体とチァゾール誘導体，ベンツオキサゾール誘導体とオキサゾール誘導体，及びベンツピリミジン誘導体とピリミジン誘導体にそれぞれその関係がみられた。

以上，Heterocyclic vinyl type のニトロフラン化合物について，抗真菌作用と化学構造との関連性を検討して考察を行なつたが，その結果，全般的にみて細菌に対する場合とほぼ同様の関係が認められた。即ち，-CH=C(X)-heterocycle の Xに置換基を導入した場合，及び含窒素異項環の Nを4級化した場合は，それぞれ真菌に対してもその抑制作用が低減する傾向にあつた。しかし 1, 2 の化合物を除く殆んどのピリミジン誘導体が作用を示さなかつたことは，一般細菌及び結核菌に対する場合と些かその趣きを異にするところである。

II. 抗真菌スペクトル

Candida albicans 及び *Trichophyton asteroides* のいずれか1株に対し，3 mcg/ml 以下の MIC を示した23化合物について，その抗真菌スペクトルを検討する目的で 13 株の真菌に対する抑制作用を検討した。その結果は Table 11 に示す如くで，NF：123, 124, 129, 131, 134, 135, 136, 138, 139, 150, 153, 174, 200 の 13 化合物は抗真菌スペクトルの非常に広いことを認めたが，とくに NF：124, 129, 131, 136, 200 の5化合物は検討した 13 株に対し，すべて 3 mcg/ml 以下の極めて優れた MIC を示した。

考察並びに総括

ニトロフラン化合物の抗真菌作用については，古くから細菌に対する抑制作用の研究に伴なつて行なわれて来ているが，それらの中の多くのものは，細菌に対する抑制作用の検討が主であり，真菌に対する抑制作用については系統的に研究せられたものは甚だ少ない。従がつてその化学構造と抗真菌作用との関連性についても過去において一貫して検討せられたものはなく，それぞれ個々のものについて断片的に若干の知見が得られているにすぎない。また，その抗真菌作用も細菌に対する場合に比較して強い作用を有するものは非常に少なく，現在市販されているニトロフラン系薬剤も，この範疇に入るもの

であり，従がつてその殆んどのものが真菌に対しては強い作用を有していない。

著者等はニトロフラン誘導体171化合物について，その抗真菌作用を検討し，化学構造との関連性の面から考察を行なつた。

その結果，*Candida albicans* 及び *Trichophyton asteroides* のいずれか1株に対して3 mcg/ml 以下の濃度で抗真菌作用を示した化合物は23種であり，これらの化合物はすべて Heterocyclic vinyl type に属する化学構造を有するものであつた。従がつてこの type に属するニトロフラン化合物では，細菌に対して強い抑制作用を有するのみならず，真菌に対してもかなり強い抑制作用を有する化合物を多く見出し得るのではないかと考えられる。

Heterocyclic vinyl type に属する化合物の個々のものについての化学構造と抗真菌作用との関連性については，含窒素異項環のNを oxide 化すると，一般にピリジン誘導体では作用が減弱すること，及び異項環がピリミジン核の場合において強い抗真菌作用を示す化合物が非常に少ないことを除いては，一般病原細菌及び結核菌に対する場合とほぼ同様の傾向が認められた。即ち，1)フラン環の5-位にニトロ基の存在は必須である。2)フラン環を他の環に代えるとその抗真菌作用は著るしく低下する。3)含窒素異項環のNを4級化すると一般に抗真菌作用は減弱する。4) -CH-C-heterocycle のXにH以外の置換基を導入すると抗真菌作用は低減する。5)異項環がベンゼン環と融合した誘導体は，キノリン誘導体の他は一般に抗真菌作用は著るしく低下する傾向にある。

抗真菌スペクトルに関しては，検討した2,3化合物の中，その過半数のものが13株の真菌に対して強い抑制作用を示し，しかもその中数種の化合物は全13株に対し3 mcg/ml 以下の濃度が抗真菌作用を示した。

擱筆に際し，御教示，御校閲を賜わつた神戸大学医学部 堀田進教授に深謝します。また，御鞭撻頂いた筒井清博士，於勢真輔博士，ならびに実験に御協力頂いた同所員各位に感謝します。

（本論文の要旨は昭和39年6月第12回日本化学療法学会総会において発表した。）

文　献

1) WARD, W. C.; J. P. PRYTHERCH & D. L. CRAMER: J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 37, 317 (1948)
2) SCHMIDT, E. G.; J. A., ALVAREZ-DE CHOUDENS, N. F. McELVAIN, J. BEARDSLEY & S. A. A. TAWAB: Arch. Biochem. 26, 15(1950)
3) M. DE LA BURDE & R. DE LA BURDE: Chemotherapia., 6, 382(1963)

STUDIES ON THE RELATIONSHIP BETWEEN CHEMICAL STRUCTURE AND ANTIMICROBIAL ACTION OF NITROFURAN DERIVATIVES. III

Antimycotic Activity *in vitro*

KATSURO FUJIMOTO, MASANAO SHIMIZU, YOSHIYUKI TAKASE, ISAO NAKANISHI and SHINICHI NAKAMURA
Research Laboratory, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.

Summary

In vitro antimycotic activities of 171 nitrofuran compounds having various chemical structures were tested.

It was found that heterocyclic vinyl compounds exhibited the superior antimycotic activity as well as the superior antibacterial activity. The relationship between structure and activity of these compounds was discussed and following results were shown.

1) The 5-nitro group was essential for the activity.
2) Substitution of the other ring for the furan ring markedly reduced the activity.
3) Conversion of tertiary N on heterocycles to quaternary ammonium salt reduced the activity.
4) Substitution in the 1-position of the vinyl chain reduced the activity.
5) Benzheterocycle compounds except for quinolines were less active than the corresponding heterocycle compounds.
6) Conversion of N on a pyridine ring to N-oxide reduced the activity.
7) When a heterocycle was a pyrimidine, the activity was weak.