

PAS-*N*-D-グルコシドの研究 (第 I 報)

山 辺 茂

1. ま え が き

パラアミノサリシル酸 (以下 PAS と略記する) がすぐれた抗結核菌作用をもち、ストレプトマイシンまたはイソニコチン酸ヒドラジドと併用されて臨床上一いじむるしい効果をおさめていることはよく知られている。ところで、PAS については多くの興味ある問題があって、その中には未だ解決されていないものもいくつかある。例えば、(i) どのようなメカニズムで一いじむるしい抗菌性をしめすのか、(ii) 近縁化合物において PAS より活性の大きいものがあるか、(iii) 生体において PAS は急速に不活性化されるが、その理由はなにか、などである。とくに (iii) の問題は临床上、多量の内服を回数多く必要とする点で大きな難点となっている。筆者はこの点を改良する目的をもって、PAS の *N*-D-グルコシド化を試みた。抗生物質にはストレプトマイシン・カナマイシン・プロマイシンなどが配糖体として存在するが、PAS-*N*-D-グルコシド (以下 PAS-G と略記する) はいわば化学療法剤の配糖体ということになる。本論文は第 I 報として、PAS-G の物理化学特性および抗菌活性について筆者の得た知見をのべるものである。

2. 解 離 定 数

PAS のアルカリ金属塩は中性水溶液での溶解性は大きいですが、酸性ではきわめて難溶になる。このため電位差滴定法によって酸としての解離定数 pK_a を測定することができない (図 1 の曲線 a)。しかし PAS-G はグルコース部分によって、酸性でも溶解性が大きく、図 1 の曲線 b にしめすように S 字形の電位差滴定曲線が得られる。その彎曲点から pK_a (すなわち $-\log K_a$) の値は 3.53 であることがわかる。PAS もほぼこれと等しい pK_a 値をもつと考えられる。

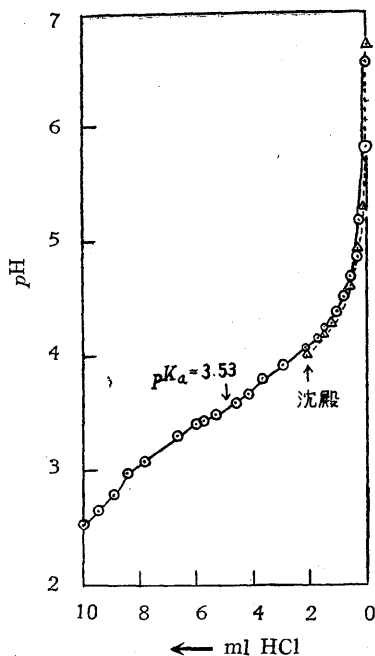


図1. PAS (点線) および
PAS-G (実線) の電位差
滴定曲線, 試料はいずれも
M/20, 50ml を用い, HCl
の濃度はN/2である.

(山辺原図)

3. 紫外吸収スペクトル

図2にPAS-G および PAS の紫外吸収スペクトル(中性水溶液) をしめす。
PAS は230m μ (肩状), 265m μ , 299m μ の3吸収帯をもっているが, これら
のうちすくなくとも 265m μ 吸収帯はベンゼン環についている NH₂ 基による
ものである。^{*} (すなわちベンゼン環を介して供電子性の NH₂ 基が求電子性
の COOH 基と π 電子系の共鳴をすることにもとづく)。PAS-G には 230m μ
(肩状), 268m μ , 299m μ の3吸収帯があるが, PAS とくらべると 268m μ
のみがことなっている。これは明らかに N-グルコシド化にともなう構造変化
によるものと考えられる。

* パラアミノベンゼン酸 (PABA) の λ_{\max} がほぼ同じ位置にあること, サリシル酸にはこの領域に λ_{\max} がないこと, PAS を酸性メジウムにすると 265m μ 吸収帯が消失するが, PABA でも同じことがみられるなどの諸点から推定できる。

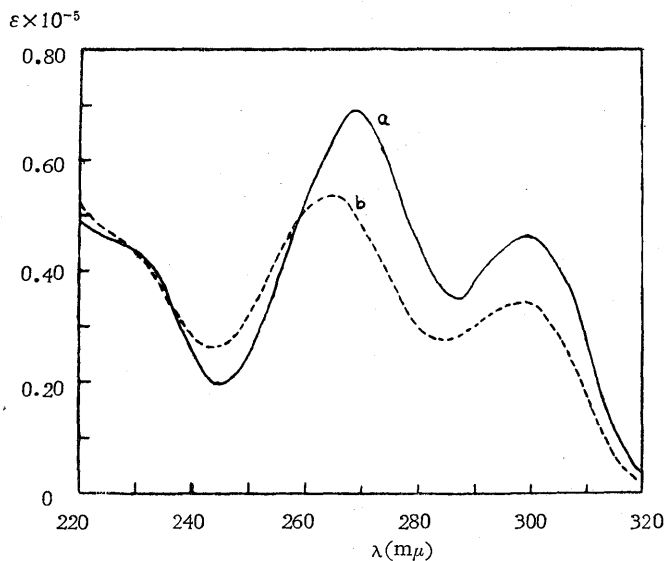


図2. PAS-G (曲線 a) および PAS (曲線 b) の紫外吸収スペクトル
〔溶媒：純水〕 (山辺原図)

4. 赤外吸収スペクトル

図3に PAS-G, PAS, グルコースの赤外吸収曲線をしめす. 3μ 領域(O-H および N-H 振動)において, PAS-G の主ピークは PAS よりも長波長側にあり, また 2.85μ に肩状の吸収をもつ. これらの変化は N-グルコシド化によってN原子の状態が変動し, それにつれて N-H 振動が変化したものと考えられる. PAS-G と PAS のもっともいちじるしい差は $8\sim 9\mu$ の構造領域にある. もちろんこの変化はグルコシド化にもとづく分子全体としての構造変形によると考えられる.

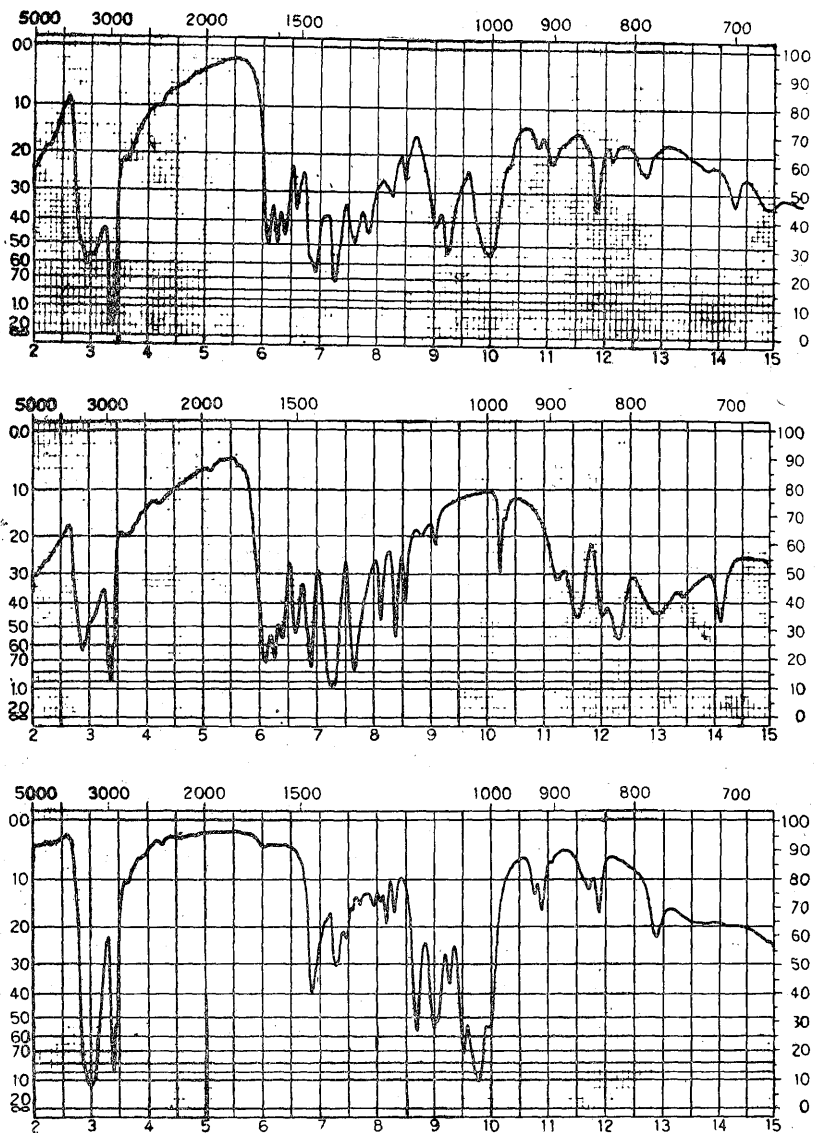


図3. PAS-G (上), PAS (中), グルコース (下) の赤外吸収スペクトル. それぞれのグラフの右側タテ軸は透過%, 左側はその逆数の対数, ヨコ軸は上側が波数 (cm^{-1}), 下側が波長 (μ) で溶媒はパラフィン油である.

5. タンパク質にたいする結合

PAS の生体内での急速な不活性化の原因の1つとして、血清タンパク質との結合が考えられている。図4はメチルオレンジ (MO) のメタクロマジーを利用して、PAS-G のウシ血清アルブミンにたいする結合をしらべたものである。MO の可視部吸収スペクトルはアルブミンを加えると曲線 a → b の変化 (いわゆるメタクロマジー) をする。いまこの MO メタクロマジー系に有機酸を比較的低い濃度で加えると、そのタンパク質にたいする結合能に比例して吸収曲線は b から a のほうへと逆行する。図4の曲線cは PAS-G を $2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ 共存させたときのメタクロマジーの逆行をしめす。まったく同じことが PAS についてもみとめられるので、結合能の点で両者には差がないと考えられる。

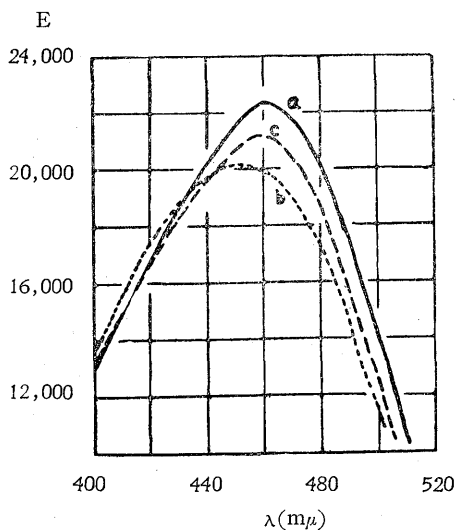


図4. MOメタクロマジー
を指標としたPAS-Gの結合
(a) MOのみ (b) ウシ血清
アルブミン (0.1%) 共存
(c) さらにPAS-G ($2.5 \times$
 10^{-2}M) 共存 (山辺原図)

6. 抗 菌 活 性

PAS-G の *in vitro* 抗結核菌活性は PAS とまったく同じである。表1は KIRCHNER 液体培地による $H_{37}Rv$ 株 (人型強毒株) にたいする3週間目の培養判定である。一符号は完全抑制をしめす。このように *N*-グルコシド化によ

っても活性が十分保存されていることは、実用的な見地からきわめて好ましいとともに、PAS の分子構造のうちサリシル酸部分（とくにそのキレート能）が作用にとってもっとも重要なことがわかる。

表1. PAS-G と PAS との抗結核菌活性の比較

濃 度*	0	0.1	0.5	1	5	10
化合物						
PAS-G	卅	卅	—	—	—	—
PAS	卅	卅	—	—	—	—

* γ /ml 培地

7. 実験装置および試料

装置 解離定数の測定は、島津：自動電位滴定装置を用いた。紫外および可視部吸収スペクトルは、日立：分光光電光度計を用いた。赤外吸収スペクトルは Perkin-Elmer：自記赤外分光光度計によった。

試料 PAS は結晶水2分子をふくむ Na 塩、PAS-G は結晶水1分子をふくむ Na 塩の各純品を用いた。いずれも住友化学研究部の合成による。

8. む す び

PAS-G はそのすぐれた溶解性とともに、PAS におとらない抗結核菌活性をもっているので化学療法剤としての条件はそなえている。さらに、(i) グルコシド型であるため、生体内ではまず遊離型に加水分解されてから、PASと同じような解毒機構による代謝をうける、(ii) 分子量がPAS より大きいので、細胞膜透過性がおとる、(iii) PAS-G のグルコース部分が生体内で特異的に（とくに血糖調整サイクルに）はたらくことが考えられる。このような因子から必然的に、PAS-G の血中濃度の高レベル持続を期待することができるが、予備の実験では明らかにこれを見とめることができてい。なお人体実験は臨床研究者の協力をえて進行中であり、この点についての詳細なデータは別誌に発表の予定である。

本稿を終えるにさいし、PAS-G の合成および注射薬の作製をして頂いた住友化学工業株式会社大阪製造所 山口由美所長、森山弘明研究部次長にたいし厚く感謝の意を表する。また抗菌テストをして頂いた大阪大学医学部第3内科 伊藤文雄博士に深く感謝する次第である。

9. 文 献

- (1) 山辺 茂：神戸女学院大学論集，**4**, No. **3**, 1 (1958)
- (2) Klotz, I.M. : J. Am. Chem. Soc., **68**, 2299 (1946)

Résumé

Para-aminosalicylic acid-*N*-D-glucoside
(I) Physico-chemical Properties and
Antituberculous Activity

In this report, the author shows some properties of para-aminosalicylic acid-*N*-D-glucoside (PAS-G) as a new antituberculous agent. Since PAS-G has a large solubility even in highly acidic media, potentiometric titration can be performed, from which the dissociation constant is determined to be 3.53. Ultraviolet absorption curve (λ_{max} : 230m μ , 268m μ , 299m μ) and infra-red absorption curve are also examined. Binding experiments by means of methylorange-metachromasy show that PAS-G has as large affinity as PAS with serum albumin. Because of a high antituberculous activity (minimum inhibitory concentration: 0.5 γ /ml of Kirchner media) and a long duration in human blood stream by intravenous administration, PAS-G seems to be a promising chemotherapeutic agent against human tuberculosis.