paper chromatography で糖を検討すれば、いずれの場合にも glucose のみが検出された。また純化したタンニン主成分を前報に準じて 5% 硫酸で加水分解し、同様に糖を検討したが glucose のみが認められた。

3. 考察：以上の事実よりあおみどろのタンニン主成分の構成糖は glucose のみであつて他の糖を含まず、従つてあおみどろタンニンは gallic acid と glucose とをその構成成分とするデブシード型タンニンであることは明かである。なおあおみどろを蒸熱する際、藻体を包んでいたと推定される粘性に富む非タンニン性の粘質物が得られるが、これを 5% 硫酸で加水分解し、生成糖を paper chromatography で検討すれば少量の pentose の他に著量の rhamnose 近似の R_f 値を示す spot が認められる。従つて前報で認めた rhamnose 類似の糖はゼリー状の未純化のタンニン主成分に混在したあおみどろの粘質物に由来したものであろう。この粘質物については別に報告の予定である。

本研究の一部は九大農学部生物化学研究室で行つたものであり、終始御懇篤な御指導を頂いた大島康義教授に深く愛謝すると共に、有益な御教示を頂いた東大理学部服部静夫教授、東京教育大理学部三輪知雄教授、並に広島女子短大沖増哲助教授に愛謝する。

(1) 中林, 波田 農化, 28, 387 (1954).	40, 471 (1953).
(2) 「植物生理学実習」(北大理学部植物生理学教室編): 41 頁.	(5) 大島, 中林, 石橋: 農化, 28, 269 (1954).
(3) 藤川, 中村, 浅見: 薬学雑誌, 62, 343 (1942).	(6) 大島, 中林: 農化, 26, 377 (1952).
(4) 三輪, 高野: J. Biochem., 37, 435 (1950);	(7) 大島, 中谷: 農化会臨時大会講演 (昭和 23 年 8 月)

Summary

When *Spirogyra arcta* is dipped in several organic solvents, which bring about the plasmoptysis, gallic acid and methyl gallate are detected by using 70% methanol, but gallic acid and ethyl gallate are by 70% ethanol. When absolute methanol, 70% propanol and acetone or 70% methanol after the pretreatment with 0.4 M sucrose solution are used, the plasmoptysis is not observed, and gallic acid and methyl gallate are not produced but spirogyra tannin is detected always on the paper chromatogram (Fig. 1). These phenomena are stopped by the steaming of *Spirogyra arcta*.

By the hydrolysis of spirogyra tannin, which is purified by the method of counter current distribution (Fig. 2), with 5% sulfuric acid or tannase, which is prepared from *Asp. niger*, glucose is detected alone as the sugar in depside-type tannin.

From above results, it is, therefore, concluded that the becoming of the gallic acid and methyl gallate are due to the enzymatic action of the spitted active plasma at the extraction of tannin from *Spirogyra arcta* by using 70% methanol, and that the spirogyra tannin is the depside-type tannin, which consists of gallic acid and glucose.

不飽和ケトンの抗生作用に関する研究 (第 2 報)

ハロゲン化不飽和ケトン (2)

鴨田 稔*, 伊藤 信夫 (北海道大学農学部農芸化学科)

昭和 29 年 6 月 30 日 受理

On the Antibiotic Action of Unsaturated Ketones. Part 2. Unsaturated Halogenated Ketones. (2)

By Minoru KAMODA and Nobuo ITÔ (Dept. of Agr. Chem., Hokkaido Univ.)

前報⁽¹⁾において 2, 4, 4, 6, 6-pentachlorocyclohexene (1) dione (3, 5) 及びその近縁化合物の抗菌作用を試験し, *m*-diketone が *p*-diketone, *o*-diketone に比し最も抗菌力が大であり, 抗菌作用はその構造上のカルボニル基に主として左右され, クロールには余り影響されない事を推論した。2, 4, 4, 6, 6-pentachlorocyclohexene (1) dione (3, 5) は種子消毒剤として卓効があると報告⁽²⁾されているので本報告においては亜麻立枯病菌, 菜豆炭疽病菌, 馬鈴薯輪腐病菌の growing cell に対する発育阻止作用及び殺菌作用並びに亜麻種子の消毒効果を

* 現在 日本精糖工業会技術部

試験し、あわせてこれ等化合物の化学構造と抗生作用の関連性を考察したので、ここに報告する。

実 験 の 部

供試化合物は前報と同様で、記述の便宜上各化合物の名称を省略し、次の如き番号を以て表示する。

- (I) 4,5-dichlorocyclohexene (1) dione (3,6)
- (II) 1,4,5-trichlorocyclohexene (1) dione (3,6)
- (III) 2,3,5,6-tetrachlorocyclohexane dione (1,4)
- (IV) 2,4,4,6,6-pentachlorocyclohexene (1) dione (3,5)
- (V) 1,2,4,4,6,6-hexachlorocyclohexene (1) dione (3,5)
- (VI) 2,2,4,4,5,6,6-heptachlorocyclohexane dione (1,3)
- (VII) 1,2,3,3,6,6-hexachlorocyclohexene (1) dione (4,5)

供試菌株としては亜麻立枯病菌 *Fusarium lini*, 菜豆炭疽病菌 *Colletotrichum lindemuthianum*, 馬鈴薯輪腐病菌 *Corynebacterium sepedonicum* を使用した。これ等はそれぞれ帝國製麻株式会社原料部研究課, 北大植物病理学教室所蔵菌株である。

1. **Growing Cell に対する発育阻止作用試験** *Fusarium lini*, *Colletotrichum lindemuthianum* は potato-2% sucrose 培地, *Corynebacterium sepedonicum* は BURKHOLDER 培地を使用した。BURKHOLDER 培地の組成は、第2磷酸ソーダ 2g, 食塩 2g, クエン酸ソーダ 1g, アスパラギン 1g, デキストリン 6g, ペプトン 5g, 馬鈴薯 300g の煎汁を全容 1l とせるもので、pH 6.8 に調整し、透明濾過液を用いた。*Fusarium lini*, *Colletotrichum lindemuthianum* は potato-2% sucrose に1週間培養して1白金耳接種し、*Corynebacterium sepedonicum* は BURKHOLDER 培地に3日間培養して5白金耳接種し、それぞれ 30°, 23° に培養した。

Table 1. Fungistatic and Bacteriostatic Action of 2,4,4,6,6-Pentachlorocyclohexene (1) dione (3,5) and its Related Compounds upon Growing Cells.

Substance	Dilution Units per Gram of Substance		
	<i>Fusarium lini</i>	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	<i>Corynebacterium sepedonicum</i>
I	50,000	10,000	30,000
II	8,000	5,000	90,000
III	5,000	20,000	80,000
IV	90,000	80,000	100,000
V	100,000	80,000	200,000
VI	100,000	50,000	50,000
VII	10,000	8,000	60,000

実験方法は通常の稀釈法である。

即ち (IV), (V), (VI) は前報におけると同様に非常に強力な発育阻止作用を各菌株に対して示している。又 (I) 及び (III) も比較的強い阻止作用を示した。

2. Growing Cell に対する殺菌作用試験

殺菌作用の試験方法は前報と同様で、所要時間薬液と作用させた後、それぞれ正常培地に *Fusarium lini*, *Colletotrichum lindemuthianum* は1白金耳, *Corynebacterium sepedonicum* は5白金耳接種し、発育状態

を観察した。

即ち (IV), (V), (VI) は共に作用時間1時間迄に急激に殺菌作用を示し、その後作用時間が増加しても殆んど殺菌濃度は変化しない (I), (II), (III), (VII) は作用時間の増加と共に殺菌作用が進行している。

菌が発育し得ない培地中における殺菌作用の特性の定量的解析については多くの報告^{(3),(4)}、

^{(5),(6)} があり、一般に、殺菌が生菌に対して単分子反応的に起ること、又薬剤濃度と殺菌速度の間には一定の函数関係が成立し、この関係から殺菌作用の特性値として殺菌濃度指数が得られ、薬剤の殺菌性を比較検討し得ることが知られている。これに対し菌が発育し得る培地中での薬剤の影響は発育という要素が入つて来るため、その様式は前者と異り複雑化して来る。しかし MARSHALL⁽⁷⁾は細菌発育阻害作用の様式は、或る濃度では発育速度を抑制し、十分濃い濃度では殺菌を起し、用いた薬剤の濃度により変化すると報告しており、一般に殺菌作用

Table 3. Fungicidal Action of 2,4,4,6,6-Pentachlorocyclohexene (1) dione (3,5) and its Related Compounds upon *Colletotrichum lindemuthianum*.

Dilution Units per Gram of Substance

Time (hrs.)	1	2	3	4	5	24
Substance						
I	8,000	20,000	30,000	30,000	30,000	30,000
II	40,000	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000
III	30,000	30,000	30,000	30,000	30,000	30,000
IV	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000
V	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000
VI	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000
VII	5,000	5,000	5,000	10,000	20,000	50,000

Table 4. Bactericidal Action of 2,4,4,6,6-Pentachlorocyclohexene (6) dione (3,5) and its Related Compounds upon *Corynebacterium sepedonicum*.

Dilution Units per Gram of Substance

Time (hrs.)	1	2	3	4	5	24
Substance						
I	3,000	3,000	3,000	4,000	5,000	10,000
II	3,000	3,000	3,000	8,000	10,000	50,000
III	3,000	3,000	3,000	6,000	10,000	20,000
IV	3,000	6,000	8,000	10,000	10,000	30,000
V	5,000	7,000	7,000	10,000	20,000	50,000
VI	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000
VII	10,000	20,000	30,000	30,000	30,000	30,000

Fig. 1. Antimicrobial Characteristics for 2,4,4,6,6-Pentachlorocyclohexene (1) dione (3,5) and its related Compounds ($\log t - \log C$)

(A): *Fusarium lini*

(B): *Colletotrichum lindemuthianum*

(C): *Corynebacterium sepedonicum*

C: Effective concentration, dilution units per gram of substance

t: Disinfectational time in minutes.

(I): 4,5-Dichlorocyclohexene (1) dione (3, 6)

(II): 1,4,5-Trichlorocyclohexene (1) dione (3, 6)

(III): 2,3,5,6-Tetrachlorocyclohexanedione (1, 4)

(IV): 2,4,4,6,6-Pentachlorocyclohexene (1) dione (3, 5)

(V): 1,2,4,4,6,7-Hexachlorocyclohexene (1) dione (3, 5)

(VI): 2,2,4,4,5,6,6-Heptachlorocyclohexanedione (1, 3)

(VII): 1,2,3,3,6,6-Hexachlorocyclohexene (1) dione (4, 5)

を有する薬剤も或る低濃度では発育速度を抑制し、又発育阻止作用を有する薬剤も高濃度では殺菌作用を示すことが認められている。筆者等の得た結果は発育し得る培地中で薬剤と作用させ、正常培地に移植後長時間観察しているので所謂殺菌作用域における有効濃度を示していると考えられる。薬剤作用時間が1時間以上では薬剤濃度と殺菌速度の間には一定の関係は成立せず、1時間以内では各菌株に対し非常によく一致した値が得られたので、 $\log t - \log C$ 関係を取り、各化合物の殺菌特性を比較した (Fig. 1)。t は薬剤作用時間、C は有効稀釈倍数を示す $\log C$ 軸に対する傾斜が殺菌濃度指数を意味し、この値の大なる程殺菌速度が大である。

Fig. 1 に見る如く殺菌速度は各菌株に対して (VI) > (IV), (V) > (I), (II), (III) > (VII) で、菌によりそれぞれの殺菌速度は僅に異なるが大体 (IV) と (V) は同様の傾向を示し、又 (I), (II), (III) は共に類似せる殺菌速度を示し、(VI) と (VII) は全く異つている。即ち殺菌特性の異同を示しているものと思われる。しかし殺菌作用力は前報の結果と同様に *m*-diketone は *o*-diketone, *p*-diketone よりも大で、*m*-diketone の3化合物は共に類似した殺菌価を示している。

3. 亜麻種子の殺菌試験

供試化合物中 (I), (IV), (VI), (VII) を用い、立枯病菌保菌亜麻種子に対し、その殺菌効力及

び亜麻種子の発芽に及ぼす影響を試験した。比較的均一な大きさ、光沢の亜麻種子 (サギノ-1号) を選び、*Fusarium lini* の孢子懸濁液を噴霧した後、塩化カルシウム上で乾燥し保菌種子をつくり、所要濃度の各薬液に100粒/10 cc の割合に浸漬した。20°, 20 時間処理した後、potato-2% sucrose agar の平面上に移して 28°, 7 日間培養し、種子から発生した菌数及び種子の発芽率を調査した。Table 5 の結果は500粒の平均を示した。

(I) は $1.11 \times 10^{-3} M$ で発芽率 90%, 菌の発生数 12, (IV) は $7.08 \times 10^{-5} M$ で発芽率 92%, 菌数 20, (IV)

Table 5. Experiments on Flax seed Disinfections with 2, 4, 4, 6, 6-Pentachlorocyclohexene (1) dione (3, 5) and its Related Compounds.

Substance	Concentration Mol./l	Germination %	Appeared Fungi
Control	water	81	100
	1% Ethyl alcohol	84	100
I	1.11×10^{-2}	0	4
	5.58×10^{-3}	0	6
	1.86×10^{-3}	88	9
	1.11×10^{-3}	90	12
	6.97×10^{-4}	91	18
	5.58×10^{-4}	89	28
IV	7.08×10^{-3}	0	0
	3.54×10^{-3}	0	0
	1.18×10^{-3}	0	0
	7.08×10^{-4}	5	1
	4.42×10^{-4}	14	4
	3.54×10^{-4}	25	8
	1.18×10^{-4}	41	18
	7.08×10^{-5}	92	20
VI	5.52×10^{-3}	0	0
	2.76×10^{-3}	0	0
	9.21×10^{-4}	0	0
	5.52×10^{-4}	0	0
	3.45×10^{-4}	17	3
	2.76×10^{-4}	31	9
	9.21×10^{-5}	31	22
VII	6.31×10^{-3}	0	0
	3.15×10^{-3}	56	0
	1.05×10^{-3}	94	3
	6.31×10^{-4}	91	3
	3.93×10^{-4}	95	7

は $9.21 \times 10^{-5} M$ で発芽率 91%, 菌数 22, (VII) は $1.05 \times 10^{-3} M$ で発芽率 94%, 菌数 3 を示した. 即ち種子の殺菌剤としての効果は (VII) が最大と考えられる. 又薬害作用は (IV), (VI) が (I), (VII) より非常に大であり, 抗菌作用力の傾向とよく一致している.

要 約

2, 4, 4, 6, 6-Pentachlorocyclohexene (1) dione (3, 5) 及び近縁化合物の *Fusarium lini*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Corynebacterium sepe-donicum* に対する抗菌試験並びに亜麻種子の殺菌試験を行つた. *m*-diketone は *o*-diketone, *p*-diketone に比し発育阻止作用, 殺菌作用は共に大であつた. 又 2, 4, 4, 6, 6-pentachlorocyclohexene (1) dione (3, 5), 1, 2, 4, 4, 6, 6-hexachlorocyclohexene (1) dione の殺菌特性は 2, 2, 4, 4, 5, 6, 6-heptachlorocyclohexanedione (1, 3), 1, 2, 3, 3, 6, 6-hexachlorocyclohexene (1) dione (4, 5) とは異なるものと思われる. 亜麻種子に対する薬害作用は *m*-diketone が最大であり, 抗菌作用の傾向とよく一致している.

本研究を行うに際し御助言, 御援助を賜つた北大, 大谷吉雄助教授, 帝国製麻株式会社原松次氏に深く謝意を表します.

(本報告の 1 部は昭和 25 年 11 月 11 日, 日本農芸化学会北海道支部例会で発表した.)

- (1) 伊藤信夫, 森 量夫, 渡辺 稔 農化, 26, 61 (1952).
- (2) BONRATH, W. : D. R. P. 534597 (1931).
- (3) RAHN, O. : J. Bact., 45, 41 (1943).
- (4) RAHN, O. : Injury and Death of Bacteria by Chemical Agents (1945).

- (5) MADSEN, T. and M. NYMAN : Z. Hyg., 57, 388 (1907).
- (6) PORTER, J. R. : Bacterial chemistry and physiology (1947).
- (7) MARSHALL, M. S. and A. R. HRENOFF : J. Infect. Dis., 61, 42 (1937).

Summary

The antibiotic activities of 2, 4, 4, 6, 6-pentachlorocyclohexene (1) dione (3, 5) (I) and six of its related compounds were tested, and the antibiotic characteristics of these compounds were traced.

1. (I) and 2, 2, 4, 4, 5, 6, 6-heptachlorocyclohexanedione (1, 3) (II) showed strong antibiotic activity against *Fusarium lini*, *Colletotrichum lindemuthianum* and *Corynebacterium sepe-donicum*. But the antimicrobial characteristic obtained from log *t*-log *C* relationship was different in these two compounds.

2. The disinfectional effects of (I), (II), 4, 5-dichlorocyclohexene (1) dione (3, 6) and 1, 2, 3, 3, 6, 6-hexachlorocyclohexene (1) dione (4, 5) against the spores of *Fusarium lini* on flax seed were compared. All compounds inhibited the germination of flax seed evidently and (I) and (II) were most powerfull inhibitors. Results obtained indicated that there was some relation between the germination inhibiting action of the diketones and these antimicrobial activities.