薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
106 (9) 782-787 (1986)

ピリドンカルボン酸系抗菌剤の研究 (第2報¹⁾) 1-(4-Hydroxyphenyl)-6-substituted-4-pyridone-3-carboxylic Acid 類の合成と構造-活性相関

成田弘和,* 小西義憲, 新田 純, 小林順子, 渡辺泰雄,
南 新三郎, 才川 勇
富山化学工業株式会社総合研究所

Pyridonecarboxylic Acids as Antibacterial Agents. II.¹⁾ Synthesis and Structure-Activity Relationship of 1-(4-Hydroxyphenyl)-6-substituted-4-pyridone-3-carboxylic Acids

HIROKAZU NARITA,* YOSHINORI KONISHI, JUN NITTA, YORIKO KOBAYASHI,
YASUO WATANABE, SHINZABURO MINAMI, and ISAMU SAIKAWA
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd., 2-4-1,
Shimookui, Toyama, 930, Japan

(Received April 9, 1986)

1-(4-Hydroxyphenyl)-4-pyridone-3-carboxylic acid and its congener (2'-methyl- and 2'-fluoro-4'-hydroxyphenyl) bearing alkyl, cycloalkyl and aryl groups at C-6 have been prepared in order to verify and develop the structure-activity relationship obtained in the preceding paper. Excellent *in vitro* activity against gram-positive *S. aureus* FDA 209P (minimum inhibitory concentration < 0.05 μ g/ml) was observed with 4''-(2-thienyl)phenyl, 2''-naphthyl, 2''-thianaphthenyl and 1''-methyl-5''-indolyl derivatives. As expected, these compounds also showed broad and good effects on gram-negative bacteria. The origin of the observed low urinary recovery of this class of compounds in oral administration to mice has been investigated with **81** (2''-thianaphthenyl) through oral and intravenous administrations in rats, leading to the conclusion that low intestine absorption (*ca.* 20%) and glucuronate conjugation (predominantly at the phenolic hydroxyl group) are responsible for the *in vivo* result.

Keywords—4-pyridone-3-carboxylic acid 1-hydroxyphenyl; antibacterial activity; urinary recovery; structure-activity relationship

前報¹⁾において、各種の 1-aryl-6-(4-dimethylaminophenyl)-4-pyridone-3-carboxylic acid を合成し、それらの抗菌活性を調べた結果、1-(4'-hydroxyphenyl) 体 (**1**), 1-(4'-hydroxy-2'-methylphenyl) 体 (**2**) が, gram 陰性菌はもとより, gram 陽性菌に対しても顕著な抗菌活性を示すことが明らかとなった。このことは、従来から pyridone 骨格の核置換基として, ethyl 基又は, 立体的にそれと同等の基が重視されてきたことに²⁾ 疑義をもたせる発見である。そこで今回、1-(4-hydroxyphenyl)-4-pyridone-3-carboxylic acid の 6 位の各種置換体 (**3**) を合成し、それらの抗菌活性の検討を行うことにした。

Chart 1

合成

Aldehyde 類 (4) に (2-methoxy-3-methoxycarbonylallylidene)triphenylphosphorane を反応させたあと酸処理によって, β -keto- Δ^2,δ -carboxylate (5) を得, ついで Chart 2 に示すように, 前報の方法に従って pyridone 環を形成させることによって新規化合物 8g, i-l, n, o, 9a-f, h, m, 10n を合成した. このようにして合成した化合物の性状, 収率等を Table I に示す.

抗菌活性と尿中回収率

合成した化合物 (16 種) 及び 1 について, gram 陽性菌 (*Staphylococcus aureus* FDA 209P), gram 陰性菌 (*Escherichia coli* NIHJ, *Klebsiella pneumoniae* Y-50, *Serratia marcescens* IID 620, *Proteus vulgaris* GN 3027, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3445) に対する *in vitro* 抗菌活性を測定し, 最小発育阻止濃度 (MIC, $\mu\text{g/ml}$) を Table II にまとめた.

Table II の結果から明らかなように, 6-alkyl 体 (9a-c) 及び 6-quinolyl 誘導体 (8o) を除いた化合物では, 全菌種に対して良好な抗菌活性が認められた. 注目すべき点としては, (1) cyclopentyl 体 (9d), cyclopentenyl 体 (9e), cyclohexyl 体 (9f) が phenyl 体 (8g) と同程度の活性を示すこと, (2) 4''-(2-thienyl)phenyl 体 (8j), 2''-

Chart 2

TABLE I. Physical Data for 1-(4-Hydroxyphenyl)-6-substituted-4-pyridone-3-carboxylic Acids

Compd.	mp (°C)	Recrystn. solvent	Yield ^{a)} (%)	Formula	Elemental analysis (%)		
					Calcd	Found	
					C	H	N
8g	>280	EtOH	4	C ₁₈ H ₁₃ NO ₄ · 1/2H ₂ O	68.35 (68.69)	4.46 (4.79)	4.42 (4.20)
8i	>280	iso-PrOH	33	C ₂₄ H ₁₇ NO ₄	75.18 (74.92)	4.47 (4.59)	3.65 (3.77)
8j	>280	EtOH	15	C ₂₂ H ₁₅ NO ₄ S	67.85 (67.62)	3.88 (4.28)	3.59 (3.51)
8k	>280	EtOH	6	C ₂₂ H ₁₅ NO ₄ · 1/4H ₂ O	73.02 (73.11)	4.31 (4.42)	3.87 (3.93)
8l	>280	CHCl ₃ -MeOH	14	C ₂₀ H ₁₃ NO ₄ S	66.10 (65.98)	3.60 (4.09)	3.85 (3.68)
8n	>280	EtOH	13	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₄ · 1/2H ₂ O	68.29 (68.07)	4.64 (4.79)	7.58 (7.39)
8o	>280	MeOH	3	C ₂₁ H ₁₄ N ₂ O ₄ · H ₂ O	67.01 (67.01)	4.29 (4.49)	7.44 (7.13)
9a	219—220	iso-PrOH	19	C ₁₄ H ₁₃ NO ₄ · 1/4H ₂ O	63.75 (63.89)	5.16 (4.96)	5.31 (5.26)
9b	>280	CHCl ₃ -EtOH	22	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄ · 1/5H ₂ O	66.06 (66.28)	6.02 (5.91)	4.81 (4.90)
9c	175—176	iso-PrOH	12	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	69.28 (69.13)	7.04 (7.12)	4.25 (4.31)
9d	261—262	MeOH	24	C ₁₈ H ₁₆ NO ₄ · 1/2H ₂ O	67.07 (66.66)	6.25 (6.32)	4.34 (4.33)
9e	212—213	iso-PrOH	27	C ₁₈ H ₁₇ NO ₄	69.44 (69.26)	5.50 (5.66)	4.49 (4.49)
9f	279—281	iso-PrOH	25	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	69.71 (69.24)	6.47 (6.61)	4.28 (4.29)
9h	274—277	EtOH	7	C ₂₁ H ₁₇ NO ₄	72.61 (72.49)	4.93 (5.12)	4.03 (4.15)
9m	>280	EtOH-NH ₄ OH	7	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₄	69.99 (69.63)	4.47 (4.69)	7.77 (7.79)
10n	278—283	MeOH	41	C ₂₁ H ₁₅ FN ₂ O ₄ · 1/3H ₂ O	65.63 (65.64)	4.11 (3.91)	7.28 (7.02)

a) Overall yield from 4.

TABLE II. *In Vitro* Antibacterial Activity of 1-(4-Hydroxyphenyl)-6-substituted-4-pyridone-3-carboxylic Acids and Their Urinary Recovery in Mice

Compd.	Microorganisms ^{a)} /MIC, µg/ml ^{b)}						Urinary recovery (%) ^{c)}
	1	2	3	4	5	6	
8g	0.78	0.39	0.39	1.56	0.1	6.25	5.9
8i	≤0.05	0.2	0.39	100	0.2	25	6.3
8j	≤0.05	≤0.05	0.2	1.56	≤0.05	1.56	1.9
8k	≤0.05	0.1	0.39	1.56	0.1	6.25	≤1.25
8l	≤0.05	0.1	0.2	0.78	≤0.05	3.13	3.4
8n	≤0.05	≤0.05	0.2	1.56	0.1	3.13	4.0
8o	3.13	0.39	1.56	12.5	1.56	100	4.8
9a	>100	12.5	25	25	12.5	100	
9b	6.25	1.56	3.13	12.5	0.2	12.5	
9c	3.13	6.25	6.25	>100	0.39	>100	
9d	0.78	0.39	0.78	12.5	≤0.05	12.5	1.3
9e	0.78	0.2	0.39	6.25	0.1	6.25	<0.78
9f	0.78	0.78	1.56	25	0.2	50	<3.1
9h	0.1	0.2	0.39	6.25	0.1	25	<3.13
9m	0.1	0.1	0.2	3.13	0.2	6.25	0.78
10n	≤0.05	≤0.05	0.2	1.56	≤0.05	1.56	
I	0.2	≤0.05	0.2	1.56	0.1	3.13	1.2

a) 1, *S. aureus* FDA 209P; 2, *E. coli* NIHJ; 3, *K. pneumoniae* Y-50; 4, *S. marcescens* IID 620; 5, *P. vulgaris* GN 3027; 6, *P. aeruginosa* IFO 3445.b) Inoculum size: 1 loopful of 10⁶ cells/ml.

c) Oral administration of 50 mg/kg, 0—6 h.

TABLE III. Urinary and Biliary Recovery of **8l** in Rats^{a)}

Administration	Recovery species	Recovery (%) ^{b)}		
		Urinary	Biliary	Total
Intravenous	8l	0.6±0.12	2.5±0.20	3.1
	8l and carboxyl-conjugate ^{c)}	1.3±0.30	20.6±0.48	21.9
	8l and hydroxyl- and carboxyl-conjugates ^{d)}	10.9±3.8	88.1±3.1	99.0
Oral	8l	0.2±0.03	0.1	0.2
	8l and carboxyl-conjugate ^{c)}	1.1±0.4	1.5±0.46	2.6
	8l and hydroxyl- and carboxyl-conjugates ^{d)}	8.5±2.5	9.2±3.4	17.7

a) Non fasting rats ($n = 3, 8$ weeks); dose, 10 mg/kg. b) Recovery of 0—5 h.

c) Total amount was determined after alkaline hydrolysis of the sample.

d) Total amount was determined after acid hydrolysis of the sample.

naphthyl 体 (**8k**), 2"-thianaphthenyl 体 (**8l**), 1"-methyl-5"-indolyl 体 (**8n**, **10n**) が極めて高い抗菌活性を示すことがあげられる。

以上のように, *in vitro* 抗菌活性にすぐれた一群の化合物をみつけることができたので, 代表的なものについて, マウス経口投与 (50 mg/kg) での尿中回収率 (0—6 h) を測定した。その結果は, Table II に示すように, すべて 6% 以下の低値を示し, 難点のあることが分かった。

そこで, この原因が消化管吸収の悪さによるものか, 又はグルクロン酸抱合に原因するものかを明らかにするため, **8l** についてラットの経口投与時と静脈内投与時における尿及び胆汁中の回収率を求めた。Table III に示すデータを投与形式から解釈すると, 静脈内投与ではほとんどが抱合体となること, 経口投与では消化管吸収が 20% 程度であり, しかも吸収後はほとんどが抱合されることが分かった。更に, 抱合位置が, フェノール性水酸基≫カルボキシル基であることから, 他の化合物の低い尿中回収率の原因も同様であることが考えられる。

実 験 の 部³⁾

1-(4-Hydroxyphenyl)-6-substituted-4-pyridone-3-carboxylic Acid (3) の合成 代表例として, **8l** の合成法を示す。同様の方法によって合成した **8**, **9**, **10** の融点, 収率, 元素分析値は Table I に, また赤外線吸収スペクトル (IR), プロトン核磁気共鳴スペクトル (¹H-NMR) のデータは Table IV にまとめた。

2-Thianaphthenylaldehyde (**4l**) (4.86 g, 0.030 mol) 及び (2-methoxy-3-methoxycarbonylallyl) triphenylphosphonium bromide⁴⁾ (15.5 g, 0.033 mol) を MeOH (60 ml) に溶解, 室温 (約 20°C) で攪拌しながら, 28% MeONa-MeOH (6.36 g, 0.033 mol) を 10 min で滴下。20 min 後, MeOH を減圧下に留去し残分に H₂O (60 ml) を加え CHCl₃ (60 ml) で 3 回抽出。抽出液を H₂O 及び飽和食塩水で洗浄後, MgSO₄ 乾燥。CHCl₃ を留去して得られた油状物をカラムクロマト (シリカゲル 60 g, 溶出液 benzene-hexane=3:1) によって精製。得られた固形物を dioxane (36 ml) に溶解し, 0.1 N H₂SO₄ (36 ml) を加え 100°C で 1.5 h 加熱。反応混合物を室温にもどし, H₂O (60 ml) を加え NaHCO₃ で中和 (pH=7)。析出した結晶を濾取, 水洗, 乾燥して methyl 3-oxo-5-(2-thianaphthenyl)-4-pentenoate (**5l**) を 3.46 g (44.5%) 得。IR (KBr): 1625 (CO) cm⁻¹. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 3.65 (1.3H, s, CH₂), 3.75 (3H, s, OCH₃), 5.16 (0.7H, s, vinyl H), 6.23 (0.7H, d, *J*=16 Hz, vinyl H), 6.60 (1.3H, d, *J*=16 Hz, vinyl H), 7.07—8.00 (6H, m, Ar-H, vinyl H)。

5l (3.0 g, 0.012 mol) を乾燥 benzene (30 ml) に溶解, *N,N*-dimethylformamide dimethylacetal (2.06 g, 0.017 mol) を加えて, 除湿下に 70°C で 1.5 h 加熱。反応液を室温 (約 20°C) にもどし 4-hydroxyaniline (1.26 g, 0.012 mol) を加え 1.5 h 攪拌。Et₂O を加え析出した結晶を濾取, benzene-iso-PrOH より再結して methyl 2-(4-hydroxyphenylaminomethylene)-3-oxo-5-(2-thianaphthenyl)-4-pentenoate (**6l**) 3.20 g (73.2%) を得。mp 198—199°C. Anal. Calcd C₂₁H₁₇NO₄S: C, 66.47; H, 4.51; N, 3.69. Found: C, 66.65; H, 4.50; N, 3.59. IR (KBr): 1695 (CO) cm⁻¹. ¹H-NMR (Me₂SO-*d*₆) δ: 3.77 (3H, s, OCH₃), 6.48—8.52 (12H, m, Ar-H, vinyl H)。

6l (3.1 g, 0.008 mol) を *N,N*-dimethylformamide (DMF) (30 ml) に溶解し 4 h 加熱還流。DMF を減圧下に留去し, 得られた油状物をカラムクロマト (シリカゲル 100 g, 溶出液 benzene-AcOEt=3:1) によって精製した

あと、MeOH より再結して methyl 1-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-6-(2-thianaphthenyl)-1,4,5,6-tetrahydronicotinate (7l) 2.2 g (71.0%) を得。mp 187–190°C. Anal. Calcd $C_{21}H_{17}NO_4S$: C, 66.47; H, 4.51; N, 3.69. Found: C, 66.12; H, 4.90; N, 3.46. IR (KBr): 1700, 1680 (CO) cm^{-1} . 1H -NMR (Me_2SO-d_6) δ : 2.60–3.50 (2H, m, CH_2), 3.63 (3H, s, OCH_3), 5.40–6.00 (1H, m, CH), 6.82 (2H, d, $J=9$ Hz, Ar-H), 7.00–8.00 (7H, m, Ar-H), 8.40 (1H, s, C_2 -H), 9.66 (1H, s, OH).

7l (2.20 g, 0.006 mol), chloranil (1.71 g, 0.009 mol) を dioxane (90 ml) に加え、1 h 加熱還流。放冷後、析出した結晶を濾取、MeOH より再結して、methyl 1-(4-hydroxyphenyl)-6-(2-thianaphthenyl)-4-pyridone-3-carboxylate 1.50 g (68.5%) を得。mp $>280^\circ C$. Anal. Calcd $C_{21}H_{15}NO_4S$: C, 66.83; H, 4.00; N, 3.71. Found: C, 66.79; H, 4.12; N, 3.68. IR (KBr): 1720, 1700 (CO) cm^{-1} . 1H -NMR (Me_2SO-d_6) δ : 3.72 (3H, s, OCH_3), 6.50–8.00 (10H, m, Ar-H, C_5 -H), 8.24 (1H, s, C_2 -H), 9.86 (1H, s, OH).

このようにして得た 8l のメチルエステル (1.5 g, 0.004 mol) を MeOH (15 ml) と 1 N NaOH (15 ml) の混液に溶解。室温で 30 min 攪拌後、反応液に AcOH を加えて pH=5.5 とする。析出した結晶を濾取、水洗、乾燥して 8l 1.2 g (83.1%) を得。

尿及び胆汁の採取 マウス (ICR 系, 雌性, 体重 19–21 g, 1 群 5 匹) 及びラット (Wister 系, 雌性, 体重

TABLE IV. Spectral Data for 1-(4-Hydroxyphenyl)-6-substituted-4-pyridone-3-carboxylic Acids

Compd.	IR (KBr) cm^{-1}	1H -NMR δ (Me_2SO-d_6)
8g	1720	6.60–7.00 (2H, m, Ar-H), 6.90 (1H, s, C_5 -H), 7.10–7.60 (7H, m, Ar-H), 8.67 (1H, s, C_2 -H)
8i	1720	6.80 (2H, d, $J=9$ Hz, Ar-H), 6.94 (1H, s, C_5 -H), 7.17–7.87 (11H, m, Ar-H), 8.62 (1H, s, C_2 -H), 9.96 (1H, s, OH)
8j	1720	6.80–7.95 (12H, m, Ar-H, C_5 -H), 9.35 (1H, s, C_2 -H) ^{a)}
8k	1720	6.80–8.25 (12H, m, Ar-H, C_5 -H), 9.45 (1H, s, C_2 -H) ^{a)}
8l	1695	6.60–8.10 (10H, m, Ar-H, C_5 -H), 8.50 (1H, s, C_2 -H)
8n	1710	3.74 (3H, s, NCH_3), 6.30–7.50 (10H, m, Ar-H, C_5 -H), 8.47 (1H, s, C_2 -H), 9.72 (1H, s, OH)
8o	1720	7.13 (2H, d, $J=10$ Hz, Ar-H), 7.53 (2H, d, $J=10$ Hz, Ar-H), 7.85–8.85 (5H, m, Ar-H, C_5 -H), 9.25–9.60 (3H, m, Ar-H, C_2 -H) ^{a)}
9a	1710	1.95 (3H, s, CH_3), 2.04 (3H, s, CH_3), 6.50–7.40 (4H, m, Ar-H, C_5 -H), 8.31 (1H, s, C_2 -H), 9.92 (1H, s, OH)
9b	1700	1.09 (3H, d, $J=7$ Hz, CH_3), 1.19 (3H, d, $J=7$ Hz, CH_3), 1.96 (3H, s, CH_3), 2.85–3.95 (1H, m, CH), 6.55–7.65 (3H, m, Ar-H), 6.86 (1H, s, C_5 -H), 8.27 (1H, s, C_2 -H), 9.92 (1H, s, OH)
9c	1680	0.60–1.75 (11H, m, CH_3 , $(CH_2)_4$), 2.00 (3H, s, CH_3), 2.15–2.70 (2H, m, CH_2), 6.70–7.10 (3H, m, Ar-H, C_5 -H), 7.30–7.60 (1H, m, Ar-H), 8.43 (1H, s, C_2 -H), 10.13 (1H, s, OH)
9d	1700	1.00–2.10 (8H, m, $CH_2 \times 4$), 1.96 (3H, s, CH_3), 2.90–3.60 (1H, m, CH), 6.55–7.50 (3H, m, Ar-H), 6.86 (1H, s, C_5 -H), 8.25 (1H, s, C_2 -H)
9e	1720	1.40–2.70 (9H, m, CH_3 , $(CH_2)_3$), 5.80–6.15 (1H, m, vinyl H), 6.50–7.20 (3H, m, Ar-H, C_5 -H), 7.20–7.70 (1H, m, Ar-H), 8.50 (1H, s, C_2 -H), 10.02 (1H, br s, OH)
9f	1700	0.90–2.10 (10H, m, $(CH_2)_5$), 2.00 (3H, s, CH_3), 3.10–3.70 (1H, m, CH), 6.65–7.00 (3H, m, Ar-H, C_5 -H), 7.25–7.60 (1H, m, Ar-H), 8.38 (1H, s, C_2 -H)
9h	1700	2.00 (3H, s, CH_3), 6.42 (1H, d, $J=17$ Hz, vinyl H), 6.75–7.10 (3H, m, Ar-H, C_5 -H), 7.25–7.65 (6H, m, Ar-H), 7.79 (1H, d, $J=17$ Hz, vinyl H), 8.52 (1H, s, C_2 -H), 10.13 (1H, s, OH)
9m	1710	1.85 (3H, s, CH_3), 6.25–7.75 (9H, m, Ar-H, C_5 -H), 8.38 (1H, s, C_2 -H), 11.20 (1H, br s, NH)
10n	1700	3.76 (3H, s, CH_3), 6.25–7.70 (9H, m, Ar-H, C_5 -H), 8.56 (1H, s, C_2 -H)

a) In $F_3CCOOH-d_1$.

230—250 g, 1 群 3 匹) を背位に固定後, 試料を投与し, それぞれ 6 h, 及び 5 h までの自然排尿及び膀胱尿を採取した. また, エーテル麻酔下にラットの総胆管にカニューレーションを行い, 麻酔から醒めた後, 試料を投与し 5 h までの胆汁を採取した. 試料は経口投与では 0.5% カルボキシメチルセルロース (CMC) 懸濁液, 静脈内投与では当量の 0.1 N NaOH 水に溶解したものをを用いた.

抱合体の加水分解⁵⁾ カルボン酸型抱合体の加水分解には, ラットの尿または胆汁 1.0 ml に 1 N NaOH 1.0 ml を, カルボン酸+フェノール型抱合体の加水分解には 2 N HCl 1.0 ml を加え, 沸とう水中で 1 h 加温し室温まで冷却後, 当量の HCl あるいは NaOH で中和後, phosphate buffer (pH=8) で 5 ml にメスアップし濃度測定用試料とした.

Bioassay 各試料の濃度測定は, *E. coli* NIHJ を検定菌とするペーパーディスク法で行った. なお, 標準曲線は phosphate buffer (pH=8) で作成した.

謝辞 本論文の執筆にあたり, 御指導いただいた富山医科薬科大学 吉井英一教授に深甚の謝意を表します.

引用文献及び注

- 1) 第 1 報: 成田弘和, 小西義憲, 新田 純, 長木秀嘉, 北山 功, 渡辺泰雄, 才川 勇, 薬誌, **106**, 775 (1986).
- 2) R. Albrecht, *Prog. Drug Res.*, **21**, 9 (1977).
- 3) 一般操作法, 物性及び MIC の測定は前報¹⁾に従った.
- 4) F. Hoffman-La Roche, A.-G. Co. Ger. Offen. Patent 2901868 (1979) [*Chem. Abstr.*, **91**, 211273h (1979)].
- 5) G. Montay, Y. Goueffon, F. Roquet, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **25**, 463 (1984)