U. D. C. 547.814 : 615.778.587.51 : 576.85.095.18

23. 井口定男, 久恒和仁 : ピロン誘導体の研究 (第1報)

Ethyl 4-Hydroxy-*l*-oxo-6-methyl-2-pyrone-3-decanoate 及び
関係化合物の合成と抗菌性Sadao Iguchi and Kazuhito Hisatsune : Studies on Pyrone Derivatives. I.
Syntheses and Antibacterial Properties of Ethyl 4-Hydroxy-*l*-oxo-
6-methyl-2-pyrone-3-decanoate and Related Compounds.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyushu*)

Relationship between chemical structure and antibacterial activity was examined with the dehydroacetic acid-type and 3-acyl-4-hydroxycoumarin-type compounds, which are pyrone derivatives. It is known that the introduction of an acyl group in the 3-position of triacetic acid lactone and 4-hydroxycoumarin results in marked increase of antibacterial action. In the present series of experiments, the effect of change in acyl side chain into 3-position of pyrone derivatives, which possess all the requisite conditions thought to be necessary for the appearance of antibacterial activity, on antibacterial activity was examined. The compounds synthesized and submitted for antibacterial tests were 12 kinds of substances possessing ethoxycarbonyl group or carboxyl group at the terminal end of the acyl group in 3-position of triacetic acid lactone and 4-hydroxycoumarin. It was thereby found that these pyrone derivatives possessed lower antibacterial activity than that of corresponding acyl compounds and the degree of such lowering was the more marked in the carboxyl series.

(Received November 12, 1956)

pyrone 誘導体の一つである DHA (dehydroacetic acid) が比較的抗微力強く、しかも 毒性の少い長所を有するため、食品医薬部門に広く実用に供せられるに及び、これ等 pyrone 誘導体に関する研究は一段と盛んになり関係化合物の合成や作用機構の検討に関する報告が多数発表されている¹⁻³⁾。ところでこれ等の報告から窺える事は γ -pyrone である DHA の母核即ち triacetic acid lactone (P) を中心に各種の置換基を導入した誘導体を合成した場合、抗菌力発現のための共通条件として挙げられる事は、いずれも 3 位メチン基を中心 3 個のカルボニル基の共軛した group を保持する事である。これは既に benzopyrone 誘導体の 3-acyl-4-hydroxycoumarin 系の研究に際して浮田等によつて見出されかつ重点を置かれた tricarbonylmethane group で、同氏等によりその系列中では 3-decanoyl-4-hydroxycoumarin が極めて抗菌力強力であると発表されている。⁴⁾

著者の一人井口はかつて 4,7-dihydroxycoumarin 誘導体の合成を行い、その抗菌性を検討したが⁵⁾、更に今回 4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (P) 及び 4-hydroxycoumarin (C) をそれぞれ基本骨格とする pyrone 誘導体の検討を行い、先ずかかる pyrone 誘導体中で従来最も優れていると考えられる前記 DHA と 3-acyl-4-hydroxycoumarin 系(以下3-acyl-(C)と略記)の諸性質を比較対照して、これ等系列の抗菌性発現のための必須条件

* Katakasu, Fukuoka.

1) 竝木, 他: 農化 25, 472, 476(1951); 26, 178, 211(1952).

2) 宮木, 他: 本誌 73, 985(1954); 75, 43(1956). 3) 玉利, 他: 農化 29, 190(1955).

4) 浮田, 他: 本誌 70, 66(1950); 71, 234(1951); 72, 800(1952).

5) 井口: 本誌 72, 122, 128, 131(1952).

である tricarbonylmethane group をそのまま具有し, また 3 位アシル側鎖も従来の分子構造のバランスを考慮して余り大きく変形することなく, ただアシル側鎖の末端に新たな基を導入した場合の効果影響を観察し, 構造と抗菌性との関係を一層数値検討する目的で本実験を行った. そこで先ず最初に (P) 核及び (C) 核の 3 位アシル側鎖の末端にエトキシカルボニル基 ($-\text{COOEt}$) 及びカルボキシル基 ($-\text{COOH}$) を有する一連の新誘導体を合成し, その抗菌性を検討した.

今回合成した物質は (P) 誘導体では, 先ずエトキシカルボニル系として 3-(3-ethoxycarbonylpropionyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (I), 3-(5-ethoxycarbonylvaleroyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (II), 3-(9-ethoxycarbonylnonanoyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (III), カルボキシル系では 3-(3-carboxypropionyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (IV), 3-(5-carboxyvaleroyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (V), 3-(9-carboxynonanoyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone (VI), 更に (C) 誘導体ではエトキシカルボニル系は 3-(3-ethoxycarbonylpropionyl)-4-hydroxycoumarin (VII), 3-(5-ethoxycarbonylvaleroyl)-4-hydroxycoumarin (VIII), 3-(9-ethoxycarbonylnonanoyl)-4-hydroxycoumarin (IX), カルボキシル系は 3-(3-carboxypropionyl)-4-hydroxycoumarin (X), 3-(5-carboxyvaleroyl)-4-hydroxycoumarin (XI), 3-(9-carboxynonanoyl)-4-hydroxycoumarin (XII) の以上 12 種である.

これ等の合成法としては今回はいずれも pyridine 中で縮合させる方法を用いた. 即ち母核たる (P) 或いは (C) を pyridine に溶解しておき, 次に dicarboxylic acid half ester chloride を滴加させ, その後加温を行つて縮

合反応を完結させ目的物を得る方法である. ところで (P) または (C) 核の酸クロリドによるアシル化反応の機構としては, 先ず最初に反応にあずかるのはエノール化した母核 4 位の OH であつて, これが酸クロリドと反応して OR 型となり, 次いでこのアシル基が更に転位して 3 位の活性メチレンと反応するという経過を取ると考えられ, Link⁶⁾, Klosa⁷⁾ 等も (C) 核のアシル化を行い 4 位反応成績体を捕捉してかかる機構を説明している. そこで今回行った縮合反応でも dicarboxylic acid half ester chloride は従来の酸クロリドによるアシル化の場合と同様に母核 3 位に結合して所期の物質が生成されているか念のため検討する必要がある, そのため先ず紫外外部吸収スペクトルを比較した.

アシル側鎖末端にカルボキシル基を有する (C) 系成績体を例にとつて検討を行つたが, これ等はいずれも従来発表されて来た 3-acyl-C に極めて類似した曲線を示した. 従つてかかる知見から先づ側鎖が 3 位に縮合している事がほぼ確実に判つたが, 更に一層明確にするため (C) と malonic acid half ester chloride の縮合によつて得られた 3-ethoxycarbonylacetyl-4-hydroxycoumarin (XIII) を用いてアルカリによるケトン分解を行つた. この場合 (XIII) の側鎖は β -ketonic acid である故, 当然ケトン分解反応の成績体としては 3-acetyl-4-

6) K. P. Link, H. R. Eisenhauer: J. Am. Chem. Soc. **75**, 2044 (1953).

7) J. Klosa: Arch. Pharm. **289**, 71 (1956).

hydroxycoumarin (XIV) が期待されるわけである。実験の結果は予想通りで (XIV) を得た。従つて今回 dicarboxylic acid half ester chloride を反応させて得た一連の成績体の構造も総べて所期の物質である事を確認し得た。

Fig. 1. Ultraviolet absorption spectra
(10^{-4} mol. in Ethanol)

- AP.....3-Butyryl-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone.
 II.....3-(5-Ethoxycarbonylvaleroyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone.
 V.....3-(5-Carboxyvaleroyl)-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone.
 AC.....3-Butyryl-4-hydroxycoumarin.
 VIII.....3-(5-Ethoxycarbonylvaleroyl)-4-hydroxycoumarin.
 XI.....3-(5-Carboxyvaleroyl)-4-hydroxycoumarin.

Table I. Antibacterial Properties

Bacteria									
Compound	Period of Incubation	<i>M. tuberc.</i>	<i>St. aur.</i>		<i>B. subtil.</i>		<i>E. coli.</i>	<i>S. dysent.</i>	<i>Candida</i>
		21	1	2	1	2	1	1	1
(C)-CO(CH ₂) ₂ CH ₃		2	<0.5		<0.5		<0.5	<0.5	
(C)-CO(CH ₂) ₂ COOC ₂ H ₅		<2	<1		<1		<1	<1	
(C)-CO(CH ₂) ₂ COOH		<1	<1		<0.5		<1	<1	<1
(C)-CO(CH ₂) ₄ COOC ₂ H ₅		2	5	1	<1	<0.5	<1	<1	
(C)-CO(CH ₂) ₄ COOH		<1	<0.5		1	<1	<0.5	<0.5	
(C)-CO(CH ₂) ₈ CH ₃		8	125	25	32	16	<1	<1	<1
(C)-CO(CH ₂) ₈ COOC ₂ H ₅		4	25	5	32	16	<1	<1	<1
(C)-CO(CH ₂) ₈ COOH		2	<1		1	<1	<1	<1	<1
(P)-CO(CH ₂) ₂ COOC ₂ H ₅		<1	<1		<1		<1	<1	<1
(P)-CO(CH ₂) ₂ COOH		<1	<0.5		<0.5		<0.5	<0.5	
(P)-CO(CH ₂) ₄ COOC ₂ H ₅		<1	<1		<0.5		<1	<1	<1
(P)-CO(CH ₂) ₄ COOH		<1	<0.5		<0.5		<0.5	<0.5	
(P)-CO(CH ₂) ₈ CH ₃		8	<0.5		4	2	<0.5	<0.5	
(P)-CO(CH ₂) ₈ COOC ₂ H ₅		1	1	<1	<0.5		<1	<1	<1
(P)-CO(CH ₂) ₈ COOH		<1	<1		<0.5		<1	<1	<1

Values $\times 10^4$ are expressed as the maximum dilution at which the test organisms failed to grow. Culture medium: Kirchner's and nutrient broth.

一方 (P) を母核とした場合も一般のアシル化反応機構は (C) 核と同様である事が従来より知られており、既に得られている 3-acyl- (P) と今回の成績体の吸収スペクトルが (C) 系の如く両者ほぼ一致しているので、同様に側鎖は母核 3 位に反応縮合して所期の物質を形成しているものと考えられる。

次に 3 位側鎖末端のエトキシカルボニル基をカルボキシル基に誘導する方法としては、先に得られた一連のエトキシカルボニル系化合物を極めて緩和な条件で鹼化する方法をとり成功を取めた。次にかくして得られた 3 位アシル基末端に置換基を有する (P) 系, (C) 系新誘導体に就いて抗菌試験を行つた (Table I)。

抗菌試験に用いた菌株は黄色葡萄球菌, 枯草菌, 大腸菌, 赤痢菌, 人型結核菌及び *Candida* である. その結果標準とした 3-acyl 系よりいずれも効力は低下しておりしかも低下の度合はエトキシカルボニル型よりもカルボキシル型の方が著しい事が観察された. 即ちグラム陰性菌及び *Candida* に対してはこれ等検体は殆んど見るべき作用はなかつたが, この点は対照の 3-acyl-(C) 及び 3-acyl-(P) でも既に同様の事実が認められているところである. 一方グラム陽性菌に対しては上記対照群よりは幾分弱いながらも今回の検体中でエトキシカルボニル型がかなり有効で, しかも同系列中では 3 位側鎖が C_{10} 即ち 9-ethoxycarbonylnonanoyl 基の場合が優れていた. 即ち *Staph. aur.* に対しては対照として用いた 3-decanoyl-(C) は 125 万倍希釈でその発育を阻止したが, 今回の 3-(9-ethoxycarbonylnonanoyl)-(C)(IX) は 25 万倍, 側鎖の短い 3-(5-ethoxycarbonylvaleroyl)-(C)(VIII) は 5 万倍でそれぞれ有効, 更に側鎖がカルボキシル型となつた 3-(9-carboxyvaleroyl)-(C)(XII) では 1 万倍以下となり顕著に効力が低下している. ただ些か興味があるのは 3-(9-ethoxycarbonylnonanoyl)-(C)(IX) が枯草菌に対しては対照の 3-decanoyl-(C) と同等の効果を示している事である. また結核菌に対しては全般的に見るべきものがなかつた. 以上を総合して結局今回合成したアシル側鎖末端に $-COOEt$ 及び $-COOH$ 基を有する (P) 系, (C) 系誘導体はいずれも対照とした 3-acyl 系に及ばず, 側鎖の性質の変化が効力低下を来している事を知つた.

本研究を通じ御鞭撻を賜つた松村教授, 御指導を戴いた東大浮田博士に謹謝する. 抗菌試験は九大細菌学教室に依頼したもので戸田教授並びに徳永 徹氏に深く感謝の意を表する. また元素分析を担当された服部, 蓬来, 多田の諸氏に感謝する. なお本研究費の一部は文部省科学研究費によつた.

実 験 の 部

Ethyl 4-hydroxy- γ -oxo-6-methyl-2-pyrone-3-butylate (I) triacetic acid lactone (P) 0.7 g を pyridine 7 cc に溶解, 氷冷下コハク酸半エステルクロリド 1.5 g を加え 1 時間氷冷. 次に室温で 1 時間放置後沸騰水浴上で 3 時間加温. 反応終了後冷水中に注入し塩酸性としてからエーテルで抽出, エーテル溶液を希炭酸ソーダ溶液で抽出し, これを塩酸性とし生ずる沈澱を濾取乾燥してから希エタノールより再結晶, 白色針状晶. mp 78.5~79.5°, 得量 0.3 g. $C_{12}H_{14}O_6$ 計算値 C 56.69, H 5.55, 実験値 C 56.05, H 5.31.

Ethyl 4-hydroxy- ϵ -oxo-6-methyl-2-pyrone-3-hexanoate (II) (P) 0.4 g を用いアジピン酸半エステルクロリド 0.9 g を加え同様に反応. 白色針状晶 (希エタノールより再結), mp 80~82°, 得量 0.35 g. $C_{14}H_{18}O_6$ 計算値 C 59.56, H 6.43, 実験値 C 60.06, H 6.58.

Ethyl 4-hydroxy- ι -oxo-6-methyl-2-pyrone-3-decanoate (III) (P) 0.6 g とセバチン酸半エステルクロリド 1.8 g を pyridine 中で反応. 油浴上 12 時間加温, 白色針状晶 (希エタノールより再結), mp 52~53°, 得量 0.8 g. $C_{18}H_{26}O_6$ 計算値 C 63.88, H 7.74, 実験値 C 64.00, H 7.25.

Ethyl 4-hydroxy- β -oxo-3-coumarinpropionate (XIII) (C) 1 g を pyridine に溶解し, 氷冷下マロン酸半エステルクロリド 1.4 g を滴加. なお 1 時間冷却後, 次に 37° で 48 時間放置反応. 粗反応成績体をベンゼンで冷浸し, ベンゼン留去残渣を希エタノールより再結, 黄色針状晶, mp 96~97°. $C_{14}H_{12}O_6$ 計算値 C 60.84, H 4.92, 実験値 C 61.24, H 4.53.

Ethyl 4-hydroxy- γ -oxo-3-coumarinbutyrate (VII) (C) 1 g とコハク酸半エステルクロリド 1.5 g を pyridine 中で反応. 沸騰水浴上で 3 時間加温. 白色針状晶 (希エタノールから再結), mp 102~103°, 得量 1 g. $C_{15}H_{14}O_6$ 計算値 C 62.10, H 4.86, 実験値 C 62.60, H 4.97.

Ethyl 4-hydroxy- ϵ -oxo-3-coumarinhexanoate (VIII) (C) 1 g, アジピン酸半エステルクロリド 1.8 g を用い同様に反応. 白色針状晶 (希エタノールより再結), mp 88.5~89.5°, 得量 1.3 g. $C_{17}H_{18}O_6$ 計算値 C 64.14, H 5.70, 実験値 C 64.39, H 5.95.

Ethyl 4-hydroxy- ι -oxo-3-coumarindecanoate (IX) (C) 1 g, セバチン酸半エステルクロリド 2.2 g, pyridine 8 cc の混合液を油浴上で 12 時間加温縮合. 白色針状晶 (エタノールより再結), mp 94.5~95°, 得量 2.0 g. $C_{21}H_{26}O_6$ 計算値 C 67.36, H 7.00, 実験値 C 66.92, H 7.29.

4-Hydroxy- γ -oxo-6-methyl-2-pyrone-3-butylic acid (IV) (I) 0.4 g を 3% メタノール性 KOH 液 6 cc に溶解, 25 分間軽く加温還流, 冷後水で希釈して塩酸性とし, 生ずる沈澱を濾取乾燥. 希エタノールより再結. 白色針状晶, mp 105~106°. $C_{10}H_{10}O_6$ 計算値 C 53.10, H 4.46, 実験値 C 53.16, H 4.45.

4-Hydroxy- ϵ -oxo-6-methyl-2-pyrone-3-hexanoic acid (V) (II) 0.3 g と 3% メタノール性 KOH 液 6 cc を用い, 同様に鹼化. 白色針状晶 (希エタノールから再結), mp 118~119°, 得量 0.2 g. $C_{12}H_{14}O_6$ 計算値 C 56.69, H 5.55, 実験値 C 56.72, H 5.58.

4-Hydroxy- ι -oxo-6-methyl-2-pyrone-3-decanoic acid (VI) (III) 0.5 g を 3% メタノール性 KOH 液 7.2 cc に溶解し, 45 分間加温還流して鹼化. 淡黄色板状晶 (希エタノールより再結), mp 113~114°. 得量 0.4 g. $C_{16}H_{22}O_6$ 計算値 C 62.32, H 7.33, 実験値 C 61.92, H 7.15.

4-Hydroxy- γ -oxo-3-coumarinbutyric acid (X) (VII) 0.3 g を 3% メタノール性 KOH 液 5.7 cc に溶解し, 25 分間加温還流. 白色針状晶 (希エタノールより再結), mp 198°, 得量 0.2 g. $C_{13}H_{10}O_6$ 計算値 C 59.54, H 3.84, 実験値 C 59.69, H 4.18.

4-Hydroxy- ϵ -oxo-3-coumarinhexanoic acid (XI) (VIII) 1 g を 4% メタノール性 KOH 液 21.7 cc に溶解し, 1 時間加温還流. 白色針状晶 (エタノールから再結), mp 172~174°, 得量 0.75 g. $C_{15}H_{14}O_6$ 計算値 C 62.06, H 4.80, 実験値 C 62.13, H 5.04.

4-Hydroxy- ι -oxo-3-coumarindecanoic acid (XII) (IX) 0.5 g と 4% メタノール性 KOH 液 8.0 cc に溶解し, 40 分間加温還流. 白色針状晶 (エタノールより再結), mp 151~152°, 得量 0.4 g. $C_{19}H_{22}O_6$ 計算値 C 65.88, H 6.40, 実験値 C 66.51, H 6.85.

Ethyl 4-hydroxy- β -oxo-3-coumarinpropionate のケトン分解 (XIII) 0.2 g を 3% メタノール性 KOH 液 3.6 cc に溶解し, 25 分間軽く還流煮沸した後常法通り処理. 淡黄色針状晶 (希エタノールより再結), mp 133.5°, 3-acetyl-4-hydroxycoumarin と混融, 融点降下を認めず.

抗菌試験 人型結核菌に対しては血清加キルヒナー培地を用い 21 日間培養を行つて判定した. 黄色ブドウ球菌, 枯草菌, 大腸菌, 赤痢菌に対してはブイヨン培地を使用. 24 時間及び 48 時間培養後判定. なおCandida に対しては Sabourauds ブイヨン培地で 24 時間培養後の判定を行つた.

九州大学医学部薬学科

U. D. C. 547.814 : 615.778

24. 井口定男, 久恒和仁: ピロン誘導体の研究 (第 2 報)

4-Hydroxy- ι -oxo-3-coumarindecenamide 及び関係化合物の合成と抗菌性

Sadao Iguchi and Kazuhito Hisatsune: Studies on Pyrone Derivatives. II. Syntheses and Antibacterial Properties of 4-Hydroxy- ι -oxo-3-coumarindecenamide and Related Compounds.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyushu)

4-Hydroxycoumarin derivatives possessing an acid amide group in the terminal end of acyl side chain in 3-position were prepared and submitted to antibacterial tests. These derivatives were prepared by the amination of 3-(ω -carboxyacyl)- and 3-(ω -ethoxycarbonylacyl)-4-hydroxycoumarins to the objective 3-(ω -carbamoylacyl)-4-hydroxycoumarins. The interesting phenomenon observed during this amination is that the oxygen atom of the carbonyl in α -position of 3-acyl group is extremely active and is easily substituted with an imino group when 3-(ω -ethoxycarbonylacyl)-4-hydroxycoumarin is reacted with conc. ammonia water to form 3-(α -imino- ω -ethoxycarbonylalkyl) derivative, followed by the reaction of the terminal ethoxycarbonyl group, affording 3-(α -imino- ω -carbamoylalkyl)-4-hydroxycoumarin. However, none of these α -imino and acid amide derivatives showed any marked antibacterial activity.

(Received November 12, 1956)

前報で著者等はデヒドロ酢酸型及び 3-acyl-4-hydroxycoumarin 型の化合物を対象として, かかる 3 位に acyl 基を有するピロン誘導体のアシル側鎖末端に新たな基を導入した場合, その抗菌性に如何なる変化が現われるかを検討した. その結果先ずアシル側鎖末端にエトキシカルボニル基, カルボキシル基の導入を試みたが, これ等一連の化合物は何れも対応する acyl 体よりもその抗菌力が全般的に低下する傾向を示し, その低下の度合はカルボキシル系の方が著しい事を知つた. 今回は前報に引きつづきアシル側鎖の末端に酸アミド基 (-CONH₂) を有するピロン誘導体の合成を試み, 先ず 4-hydroxycoumarin (C) 型のものにつき成功を取めたので, その合成法に関する知見と抗菌試験の結果を報告する.

4-hydroxycoumarin の 3 位に酸アミド基を有する化合物としては既に Anschütz¹⁾により合成された 3-carbamoyl-4-hydroxycoumarin が知られているが, 今回合成した化合物は 3-(9-carbamoylnonanoyl)-4-

1) Anschütz: Ann. **367**, 178(1909).