UDC 547.826.1:576.851.095.18

141. 中島辰巳, 宇都宮則久, 旭 哲也, 五十川泰郎: フザール酸及び

其の類似化合物に関する研究 (第7報)

試験管内に於ける数種のアシルピコリン酸類の抗菌作用

Tatsumi Nakashima, Norihisa Utsunomiya, Tetsuya Asahi, and Yasuo Isogawa:

Studies on Fusaric Acid and Analogous Compounds. VII.

Antibacterial Activity of Several Alkylpicolinic Acids *in vitro*.

(Osaka Branch, National Hygienic Laboratory.)

Antibacterial activity *in vitro* of 21 kinds of alkylpicolinic acid differing from one another in the size and position of their alkyl groups and of picolinic acid against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, and *Escherichia coli* was examined. The relationship between the chemical structure of these compounds and their antibacterial activity was studied.

(Received March 15, 1958)

ピリジンカルボン酸の抗菌力については既にいくつかの報告がある。有働¹⁾は納豆菌 *Bacillus Natto* の代謝産物として 2,6-pyridinedicarboxylic acid を発見, この酸は枯草菌, 大腸菌, 清酒酵母に対して抗菌力があると報じ, uvitonic acid²⁾ (6-methyl-2,4-pyridinedicarboxylic acid) や carbocinchomeric acid³⁾ (2,3,4-pyridinetricarboxylic acid) はその強い防腐力で知られている。Böttinger³⁾ は uvitonic acid を加熱して 2-methylisonicotinic acid を得たが, この酸は Shorey²⁾, Schreiner⁴⁾ 等によつてハワイ及び北米の不毛地の腐植質土壌中から抽出されたが, その 1 万倍水溶液でもなお植物の生育を阻害することが認められた。安江⁵⁾ はフザール酸即ち 5-butylicpicolinic acid を使用して黄色葡萄球菌, チフス菌, 及び大腸菌に対する抗菌力試験を行い 2000 倍まで抗菌力を有しているが, 5000 倍以上になるとその効力が全く認められないと報じている。また玉利等⁶⁾ はフザール酸の植物生育阻害作用について研究を行い, この阻害作用は植物繊維中のカタラーゼ及びペルオキシダーゼの形成を妨害することによつて起ることを認めた。即ち植物繊維中で微量の金属イオン (Fe, Cu) がフザール酸とキレートを作り Fe-porphyrin oxidase 形成を阻止することに基づくものであると論じている。

以上ピリジンカルボン酸中で抗菌力乃至防腐力のあるものは何れも 2 位または 4 位にカルボキシル基を有している。これに反し 3 位にカルボキシル基を有するニコチン酸は周知の如く抗ペラグラ性ビタミンで微生物に対して発育促進物質として働く。

著者等は alkylpicolinic acid のアルキル基の位置と大きさが抗菌力に及ぼす影響を調べる目的で著者等の一人中島⁷⁾ が合成した化合物について試験管内で黄色葡萄球菌 (寺島 209 P), 大腸菌及びチフス菌に対する抗菌力試験を行い, 且つその化学構造と抗菌力との関係について検討した。

抗菌力の試験及び判定方法 検体を滅菌ブイオンで 1000 倍濃度に溶解, シャンペラン細菌ろ過器でろ過, 無菌操作で希釈, 滅菌小試験管に 1.5 cc 宛分注, 37° 孵卵器内に 24 時間放置, 雑菌混入の有無を確かめた後, 黄色葡萄球菌 (寺島 209 P), 大腸菌及びチフス菌の普通ブイオンで 3 代継代培養した 18 時間培養の新鮮なものを滅菌生理食塩水で 10⁻³ 倍まで希釈, その 0.01 cc を接種, 37° 孵卵器に収め 24, 48, ……168 時間即ち 1 週間観察, その最高発育阻止濃度より一白金耳宛後培養を行い発育陰性を以て抗菌力の力価とした。

1) 有働: 農化 **12**, 386(1936).

2) E.C. Shorey: Ann. Rept. Hawaii Agr. Expt. Sta., 1906, 37(1907).

3) C. Böttinger: Ber. **14**, 67(1881).4) O. Schreiner, E.C. Shorey: J. Am. Chem. Soc. **30**, 1295(1908).5) 安江: ペニシリン **2**, 255(1949).6) 玉利, 加治: 農化 **26**, 223, 295, 298, 345, 349(1952); **27**, 245, 249, 302(1953).7) 中島: 本誌 **75**, 1010, 1012(1955); **76**, 215(1956); **77**, 698(1957); 第 5, 6 報: 本誌 **78**, 661, 666(1958).

Table I.

Stability Constants for Copper Chelates of Picolinic and 6-Methylpicolinic Acids

(Holmes)	$\log K_1$	$\log K_2$
Picolinic acid	—	6.0
6-Methylpicolinic acid	6.3	5.6
(Suzuki)		
Picolinic acid	8.6	7.4

Table II. Minimum Inhibitory Concentration

Strain	R	<i>Sal. typhi</i>	<i>Staph. aureus</i>		<i>E. coli</i>
			EDA 209 P	TERASHIMA
1500	1250	1000	1250
CH ₃	2500	2000	<2000	2500
	C ₂ H ₅	2500	2500	2500	3000
	C ₃ H ₇	3000	3000	2500	3000
	C ₄ H ₉	3000	4000	3000	4000
	C ₅ H ₁₁	4000	4000	5000	5000
CH ₃	1500	1500	1000	1500
	C ₂ H ₅	2000	2000	<2000	3000
	C ₃ H ₇	2000	2000	2000	3000
	C ₄ H ₉	4000	2500	2500	5000
	C ₅ H ₁₁	4000	5000	4000	5000
<i>sec</i> -C ₄ H ₉	3000	2500	2000	4000
	CH ₃	1000	1500	1000	1500
	C ₂ H ₅	<2000	<2000	<2000	2500
	C ₃ H ₇	2000	2500	<2000	2500
	C ₄ H ₉	2500	2500	2500	3000
C ₅ H ₁₁	2500	3000	3000	3000
	CH ₃	<1000	<1000	<1000	1000
	C ₂ H ₅	<1000	<1000	<1000	1500
	C ₃ H ₇	<1000	<1000	<1000	1500
	C ₄ H ₉	1250	1500	1250	1500
	C ₅ H ₁₁	1500	1500	1500	3000

アルキルピコリン酸と Cu²⁺ のキレートについて ピコリン酸類のキレート化合物については Weidel⁸⁾, Ley⁹⁾, Suzuki¹⁰⁾, Holmes¹¹⁾ 及び Green¹²⁾ の報告がある.

Suzuki 等によると, ピコリン酸と 2 価の金属イオンとの間には次の平衡式 (1) (2) が成立つ.

そして分光光度計法で, ピコリン酸銅キレートの安定度恒数を測定, Holmes は pH 法で同じくピコリン酸銅キレートの安定度恒数を測定している. その得られた値は両法で異なっているが Table I に示す通りである.

Holmes は 6-methylpicolinic acid のキレートの安定度が低いのは steric hindrance の関与していること

8) H. Weidel: Ber. **12**, 1989(1879).9) H. Ley, K. Ficken: Ibid. **50**, 1123(1817).10) K. Suzuki, M. Yasuda, K. Yamasaki: J. Phys. Chem. **61**, 229(1957).11) F. Holmes, W.R.C. Crimmin: J. Chem. Soc. **1955**, 1175.12) R.W. Green: J. Am. Chem. Soc. **79**, 5608(1957).

は疑いないと述べている。

著者等は各 alkylpicolinic acid の水溶液に Cu^{2+} の水溶液を加えた処, アルキル基が 3, 4, 5 位にある場合はピコリン酸銅と同じ青紫色のキレートを生ずるが, 6 位にある場合のみ青緑色のキレートを生じ肉眼的にも明らかに外観上の相違が認められた。

分析試薬である 8-hydroxyquinoline^{13,14)} や *o*-phenanthroline¹⁵⁾ 等が抗菌力を示し, 化学療法剤, 抗生物質の多くが次第にキレートまたは錯塩生成試薬であることが判つて来ており, キレート生成試薬または金属キレート化合物が細菌の発育阻止に密接な関係を持つことが明らかとなつた。alkylpicolinic acid の場合も前述した如く 2 価の金属イオンとキレートを形成する能力があり, これが抗菌力に関係があるのではないかと考えられ, 6-alkylpicolinic acid と他の alkylpicolinic acid の抗菌力の間には差があることが想像される。

これ等キレート化合物についての詳細な研究は後報する予定である。

実験結果 (Table II).

考 察 供試化合物 (22 種) の発育阻止限界濃度について試験してえた結果は Table II の通りで約 1000~5000 倍でさほど強い抗菌力を示さなかつた。特にどの菌に効くということはなくグラム陽性, 陰性には余り関係はないようである。

抗菌力と化学構造との関係を要約すると,

- 1) alkyl 基が picolinic acid の pyridine 核に入ると 3, 4, 5 位の場合は抗菌力が増強されるが, 6 位の場合は逆に減殺される。(alkyl 基が 6 位にあつて propyl 以下のときは picolinic acid そのものより弱い)。
- 2) alkyl 基の位置による差異
同じ alkyl 基が pyridine 核についているときその位置による抗菌力の順位は 5 位 $\approx$ 4 位 $>$ 3 位 $>$ 6 位となる。
- 3) alkyl 基の大きさによる差異

大きさの異つた alkyl 基が pyridine 核の同じ位置にあるとき抗菌力は alkyl 基が大きい程強い。

以上のことが alkylpicolinic acid について大体いえると思われる。ただ 6-alkylpicolinic acid の抗菌力が他の異性体より著しく弱いということは Holmes も述べているようにこの化合物が steric hindrance の影響を受けてキレートの安定度が低下していることと考え合わせると甚だ興味深いことである。

本研究に当り御鞭撻と御校閲を賜つた恩師菅沢先生に深謝する。また御好意を戴いた当所所長刈米博士, 支所長小川博士及び大阪府立大吉田道雄氏に併せて謝意を表する。

国立衛生試験所大阪支所

13) A. Albert: Brit. J. Exptl. Pathol. **26**, 160(1945); **28**, 69(1947); **31**, 425(1950); **34**, 119(1953).
14) H. Erlenmeyer: Helv. Chim. Acta **36**, 1736(1952); **38**, 96, 263(1955).
15) F. Blanx: Nature **168**, 516(1951).