

4-Nitropyridazine 1-Oxide およびその誘導体の抗菌作用について (1)

宮 沢 文 雄・橋 本 泰 而

国立衛生試験所衛生微生物部

(昭和 36 年 9 月 22 日 受付)

著者らは種々の Pyridazine 化合物について、その生物学的作用を検討し既に抗菌性及び抗癌性のスクリーニング試験成績について報告したり。このうち 4-nitropyridazine 1-oxide 及びその 3,6-dialkyl 及び 3,6-dialkoxy 置換体の抗菌作用について更に実験を進めたので報告する。

実験に用いた薬剤

本実験に用いた薬剤は総て当所製薬研究部で合成されたもので、4-nitropyridazine 1-oxide 及びその 3,6 位に methyl, methoxy, ethoxy, propoxy 或は butoxy 基で置換した 5 種、計 6 種である。

試験管内抗菌作用

実験方法：薬剤を種々の濃度に含有するように調製した寒天平板培地に 25 種の菌を劃線培養した。使用培地は普通寒天培地を用いたが、特に栄養要求の高い *Streptococcus pyogenes*, *Diplococcus pneumoniae* 1, *Corynebacterium diphtheriae* の 3 供試菌には Brain Heart Infusion Agar を用いた。

実験成績：各薬剤の発育阻止濃度を第 1 表に示した。すなわち 4-nitropyridazine 1-oxide, 3,6-dimethyl または、3,6-dimethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide はグラム陽性菌及び *Salmonella*, *Shigella* などのグラム陰

第 1 表 4-Nitropyridazine 1-oxide およびその誘導体の抗菌作用

| 菌 種 | 4-nitropyridazine-1-oxide | 3,6-dimethyl-4-nitropyridazine 1-oxide | 3,6-dimethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide | 3,6-diethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide | 3,6-dipropoxy-4-nitropyridazine 1-oxide | 3,6-dibutoxy-4-nitropyridazine 1-oxide |
|---------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|
| <i>Salmonella paratyphi</i> A | 1×10^{-4} | 1×10^{-4} | 7×10^{-5} | 4×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| " <i>typhi murium</i> | 2×10^{-4} | 2×10^{-4} | 1×10^{-4} | 4×10^{-4} | 4×10^{-4} | 4×10^{-4} |
| " <i>typhi</i> | 1×10^{-4} | 2×10^{-4} | 7×10^{-5} | 4×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| <i>Shigella dysenteriae</i> 1 (Shiga) | 9×10^{-5} | 6×10^{-5} | 5×10^{-5} | 9×10^{-5} | 4×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ |
| " <i>flexneri</i> 2a (EW-10) | 9×10^{-5} | 6×10^{-5} | 5×10^{-5} | 4×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| " " 2b (KBIII) | 7×10^{-5} | 6×10^{-5} | 5×10^{-5} | 1×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| " " 6 (Mita) | 7×10^{-5} | 6×10^{-5} | 5×10^{-5} | 8×10^{-5} | 8×10^{-5} | 7×10^{-5} |
| " <i>sonnei</i> (Sumida) | 9×10^{-5} | 6×10^{-5} | 7×10^{-5} | 4×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| <i>Escherichia coli</i> (NIHJ) | 9×10^{-5} | 1×10^{-4} | 5×10^{-5} | 9×10^{-5} | 1×10^{-4} | 1×10^{-4} |
| " " O 1 | 2×10^{-4} | 2×10^{-4} | 1×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| " " O 75 | 2×10^{-4} | 2×10^{-4} | 1×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| " " O 111 | 9×10^{-5} | 2×10^{-4} | 1×10^{-4} | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ |
| " " O 125 | 2×10^{-4} | 6×10^{-5} | 7×10^{-5} | 9×10^{-5} | 4×10^{-5} | 1×10^{-4} |
| <i>Proteus vulgaris</i> | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | 1×10^{-4} | 4×10^{-4} | 4×10^{-4} | 4×10^{-4} |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | 4×10^{-7} |
| <i>Serratia mercerscens</i> | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | $>4 \times 10^{-4}$ | 4×10^{-4} |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (209 P) | 1×10^{-4} | 1×10^{-4} | 5×10^{-5} | 9×10^{-7} | 8×10^{-7} | 4×10^{-6} |
| " " (Terashima) | 7×10^{-5} | 6×10^{-5} | 1×10^{-5} | 6×10^{-7} | 5×10^{-7} | 5×10^{-6} |
| " " (Heatley) | 1×10^{-4} | 6×10^{-5} | 5×10^{-5} | 1×10^{-6} | 8×10^{-7} | 1×10^{-5} |
| " <i>epidermidis</i> | 1×10^{-4} | 2×10^{-4} | 5×10^{-5} | 9×10^{-7} | 8×10^{-7} | 7×10^{-5} |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 9×10^{-5} | 6×10^{-5} | 5×10^{-5} | 1×10^{-7} | 1×10^{-6} | 4×10^{-6} |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 7×10^{-5} | 3×10^{-4} | 1×10^{-4} | 4×10^{-6} | 1×10^{-5} | 7×10^{-7} |
| <i>Diplococcus pneumoniae</i> 1 | 2×10^{-6} | 3×10^{-4} | 5×10^{-5} | 4×10^{-6} | 1×10^{-5} | 1×10^{-7} |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | 9×10^{-5} | 6×10^{-4} | 1×10^{-5} | 4×10^{-6} | 5×10^{-7} | 4×10^{-7} |
| <i>Mycobacterium</i> 607 | 1×10^{-4} | 6×10^{-4} | 5×10^{-5} | 4×10^{-5} | 8×10^{-5} | 4×10^{-5} |

表中数値は抗菌濃度 (モル数) を示す。

性菌に対して、 10^{-4} ~ 10^{-5} M で発育阻止している。3,6-Diethoxy-又は 3,6-dipropoxy-4-nitropyridazine は、グラム陰性菌に対する抗菌作用は低下するが、グラム陽性菌に対する発育阻止力は 10^{-7} ~ 10^{-8} M と極端に強くなることが観察された。更に 3,6 位の側鎖の炭素数が増して 3,6-dibutoxy-4-nitropyridazine 1-oxide となると若干抗菌作用は低下するが、*Pseudomonas aeruginosa* には特に強く発育を阻止するようになった (第 1 表参照)。

4-nitropyridazine 1-oxide 及びその誘導体の

反応性

著者らは Pyridazine 誘導体の抗菌作用には N-oxide 基により活性化された Nitro 基が必須であることを明らかにしたが¹⁾、実験に用いた各薬剤の Nitro 基の活性度を SH 化合物との交換反応性をもつて検討した。

実験方法：Pyridazine 誘導体及び SH 化合物 Cysteine, Glutathion を次に挙げた割合で 20 分間、37°C で作用せしめ、直ちに等量の Diazo 試薬を加えて 1 時間、0°C に保ち、その色調を比色計にて測定して、亜硝酸の量を算出した。

| | |
|---------------------------------------------------------------|------|
| 1×10^{-3} M R-SH | 4 ml |
| 5×10^{-3} M (in absolute alcohol) Pyridazine Derivat | 4 ml |
| 1×10^{-2} M Ethylene diamine tetracetate | 1 ml |
| 1×10^{-1} M Phosphate buffer (pH 7.2) | 1 ml |

実験成績：Nitro 基と SH 化合物との置換反応により生じた亜硝酸量を第 2 表に挙げたが、3,6-dimethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide が最も nitro 基の活性度が強く、3,6 位の置換基 (alkoxy) の炭素数が増すと僅かながら活性度は低下するようである。4-Nitropyridazine 1-oxide の成績も同じ程度の値を示していた。これに反し 3,6-dimethyl-4-nitropyridazine 1-oxide の nitro 基の活性度は前者群に較べ非常に弱いものであつた (第 2 表参照)。

総 括

4-Nitropyridazine 1-oxide 及び 3,6 位を alkyl 化又は alkoxy 化した pyridazine 誘導体は板井、井下田²⁾らによつて始めて合成されたものであるが、非常に強い抗菌作用を持つ。それには nitro 基を必須とするが、4-nitropyridazine 1-oxide, 3,6-dimethyl 又は 3,6-dimethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide はグラム陽性菌及び *Salmonella*, *Shigella* 等のグラム陰性菌にも抗菌

第 2 表 4-Nitropyridazine 1-oxide およびその誘導体の SH 化合物との交換反応性

| SH-化合物 | Cys-teine | Gluta-thione |
|-----------------------------------------|-----------|--------------|
| 供試薬剤 | | |
| 4-Nitropyridazine 1-oxide | 16.5 | 19.5 |
| 3,6-Dimethyl-4-nitropyridazine 1-oxide | 4.2 | 2.4 |
| 3,6-Dimethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide | 25.8 | 20.4 |
| 3,6-Diethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide | 24.3 | 19.5 |
| 3,6-Dipropoxy-4-nitropyridazine 1-oxide | 24.5 | 19.5 |
| 3,6-Dibutoxy-4-nitropyridazine 1-oxide | 23.7 | 18.0 |

表中数値は亜硝酸量 (mcg) を示す。

作用を示した。この 3,6 位の置換基が ethoxy, propoxy, butoxy 等、炭素数が増加すると、グラム陽性菌への抗菌作用は非常に増強されるがグラム陰性菌に対しては逆に低下した。この傾向は 3,6-diethoxy 或は 3,6-dipropoxy-4-nitropyridazine 1-oxide に最も強くみられた。遠藤³⁾は数種の nitroquinoline 1-oxide に就て nitro 基の SH 化合物に対する交換反応活性度を測定し、岡林⁴⁾はこれに sodium thioglycollate を作用して 4-thioglycollyl quinoline 1-oxide を作った。著者らは前述の 6 種の 4-nitropyridazine 1-oxide 誘導体に SH 化合物を作用せしめ nitro 基の交換反応性を検討したが、3,6-dimethoxy-4-nitropyridazine 1-oxide は最も強い活性度を示し、3,6 位の alkoxy 基の炭素数が増すと幾分その強さは減少するようであつた。3,6 位を dimethyl 化した誘導体は前 5 者に比較すると非常に活性度は低かつた。以上の nitro 基の交換反応活性度と抗菌作用については nitro 基は抗菌性を示すのに必須とされるが、その活性度と抗菌濃度或は抗菌スペクトルとは特に関連性を見出し得なかつた。

終りに臨み種々実験に御指示を頂いた癌研究所 遠藤氏に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 中村・宮沢 岩原 板井・佐子・神谷・鈴木：衛試, 78, 157 (1960)
- 2) 板井・井下田：薬学雑誌, 75, 966 (1955)
- 3) ENDO, H. : Gann, 49, 151 (1958)
- 4) 岡林：薬学雑誌, 73, 946 (1953)