

原 著

複素環式化合物を含む新テトラゾリウム塩の
結核菌による還元について

柿本七郎・山本健一

北海道大学免疫科学研究所

受付 昭和51年10月30日

REDUCTION OF SOME NEW TETRAZOLIUM SALTS CONTAINING
HETEROCYCLIC COMPOUNDS AT THEIR 5-POSITION
BY MYCOBACTERIA

Shichiro KAKIMOTO* and Ken-ichi YAMAMOTO

(Received for publication October 30, 1976)

In order to investigate the relationship among the chemical structure of tetrazolium salts their inhibitory activity against growth of mycobacteria and their reduction by mycobacteria, various tetrazolium salts containing heterocyclic compound at the 5-position of tetrazolium salt, were synthesized as pure hydrochloric acid salt. Most of them contained some moles of crystal water. Molecular formulas of them are as follows.

5-(2-thienyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (STC)	$C_{17}H_{13}N_4SCl \cdot H_2O$
5-(3-thienyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (β -STC)	$C_{17}H_{13}N_4SCl \cdot H_2O$
5-(2-furoyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (OTC)	$C_{17}H_{13}N_4OCl$
5-(3-furoyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (β -OTC)	$C_{17}H_{13}N_4OCl \cdot H_2O$
5-(2-pyridyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (α -PTC)	$C_{18}H_{14}N_5Cl \cdot 4H_2O$
5-(3-pyridyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (β -PTC)	$C_{18}H_{14}N_5Cl \cdot 7H_2O$
5-(4-pyridyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (γ -PTC)	$C_{18}H_{14}N_5Cl \cdot 6.5H_2O$
5-methyl-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (MDT)	$C_{14}H_{13}N_4Cl \cdot H_2O$
2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride (TTC)	$C_{19}H_{15}N_4Cl \cdot 2H_2O$

These compounds were examined on their inhibitory activity against growth of various kinds of mycobacteria on both Ogawa's solid egg medium and Kirchner's fluid medium, as well as on their capability of developing color as a result of their reduction by mycobacteria.

Only one of them, α -PTC, did not develop color on its reduction by various kinds of mycobacteria even in their logarithmic phase of growth, whereas this compound as well as the other compounds did on their reduction by various kinds of intestinal bacilli. α -PTC, as well as β -PTC, also showed a slight mycobacterio static effect for tubercle bacilli. In the reduction by mycobacteria, this particular nature of α -PTC seems to be related to its affinity with reducing enzymes in cell membrane of mycobacteria, because the reduction potential of α -PTC is not much different from that of the other compounds. From these results, it is concluded that in these compounds, their reduction by mycobacteria might be unrelated to their growth inhibitory effect against mycobacteria.

* From the Institute of Immunological Science, Hokkaido University, Kita-ku, Sapporo 060 Japan.

On the basis of these findings, and considering molecular optical absorption coefficient and maximum absorption of these compounds, STC and OTC were regarded as the best two for a rapid detection of growth of mycobacteria.

先に著者らは複素環式化合物を含む各種テトラゾリウム塩化水素酸塩 (以下 TC とする) を合成して、その結核菌による還元発色について報告した¹⁾⁻³⁾。これらの研究の所期の目的は化学構造と結核菌に対する発育阻止作用との関係を TC 系の化合物についても実験的に証明するためであった。その結果、それらの TC のあるものが結核菌によつて容易に、かつ鮮明な紫赤色に発色することを知り、発育が遅く、あるいはコロニーが微小なため肉眼で認めがたい結核菌に、この TC を作用させて、その発色によつて固型培地上のコロニーとして迅速に発

見することができ、かつコロニー数の計測が容易になることを見出した。更に、それらの TC を用いてヒト型とウシ型結核菌の異同鑑別も可能であることを併せて報告した。

このヒト型とウシ型結核菌の鑑別法を用いて、新しい TC の一部である 5-(2-thienyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (STC) [Fig.1 の (1)]¹⁾ および 5-(2-furoyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (OTC) (2)²⁾ を在来の 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride (TTC) (3) と比較すると、TTC はヒト型、ウシ型の両者の発育を阻止するが、STC および OTC はウシ型のみの発育を阻止したのである。

これらの実験事実はこれらの化合物の化学構造の差異に基づく抗菌力の相違のみによるものであるか否かを検討するために STC および OTC と比較すべく Fig.1 に示したテトラゾリウム環の 5 位の水素をピリジン環の位置を異にして置換した化合物を合成して、その還元発色性と結核菌に対する抗菌力を比較した。また、これらの作用に関係すると思われる還元電位の測定および還元物の可視部の最大吸収とその分子吸光係数をしらべた。

実験材料と方法

1) 各種テトラゾリウム塩

STC と β -STC および OTC と β -OTC それに 5-methyl-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (MDT) は

Fig. 1

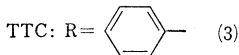
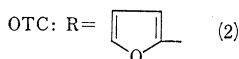
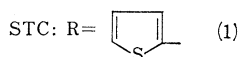
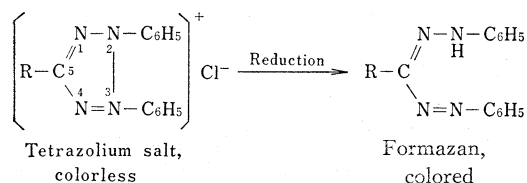


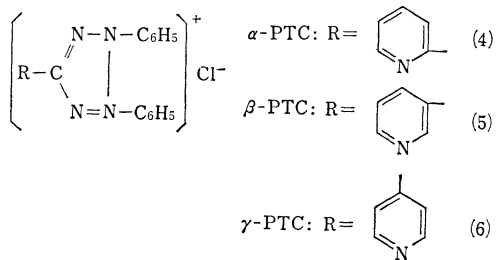
Table 1.

Tetrazolium salt	Mp. of raw material (phenylhydrazine) °C	Oxydation method	Mp. °C	Decomp. p. °C	Mol. formula	Element. analy.		
						C	H	H ₂ O
STC	135 ²⁾	A		263	C ₁₇ H ₁₃ N ₄ SCl·H ₂ O	Cal. 59.93*	3.82*	5.02
β -STC	137 ³⁾	A		245	C ₁₇ H ₁₃ N ₄ SCl·H ₂ O	Found. 59.65	4.08	5.20
OTC	97	A		260	C ₁₇ H ₁₃ N ₄ OCl	Cal. 62.87	4.03	
β -OTC	149.5 ³⁾⁹⁾	A	132~136	236~238	C ₁₇ H ₁₃ N ₄ OCl·H ₂ O	Found. 62.68	4.12	
MDT	57	A	104	243	C ₁₄ H ₁₃ N ₄ Cl·H ₂ O	Cal. 59.56	4.41	5.25
α -PTC	176	B	81~91	237	C ₁₈ H ₁₄ N ₅ Cl·4H ₂ O	Found. 59.47	4.30	5.37
β -PTC	158	B	140~143	239~240	C ₁₈ H ₁₄ N ₅ Cl·7H ₂ O	Cal. 57.85	5.20	6.20
γ -PTC	179	B	128	218	C ₁₈ H ₁₄ N ₅ Cl·6.5H ₂ O	Found. 57.60	5.38	6.31
						Cal. 53.00	5.43	17.67
						Found. 52.94	5.33	17.72
						Cal. 46.80	6.11	27.30
						Found. 46.92	6.25	27.07
						Cal. 47.72	6.01	25.86
						Found. 47.70	6.04	25.97

A: Oxidised with amyl nitrite, B: Oxidised with yellow mercuric oxide, *: Dried substance.

それぞれ前報^{1)~3)}で示した方法によつて合成したものを、また TTC は市販品の水より再結晶したものを実験に用いた。新たに本実験に用いたピリジン環をテトラゾリウム⁺の5位に含むものを作るための原料はピリジンのアルデヒドのフェニールヒドラゾンである。これのアルコール性溶液をアルコール性苛性カリ溶液中に0~5°Cに冷却しつつアニリンのジアゾ化液と同時に滴下する。反応後、液が常温になるまで放置し、水を加えて約12時間放置、沈殿した粗ホルマザンを再度アルコールに溶解し水で再沈殿を行なうか、あるいはニトロメタンにて再結晶して精製する。粗結晶ないし純結晶をメタノールに溶解し、黄色酸化水銀を加えて攪拌し、色がなくなつてから濾過して母液に濃塩酸を加え乾涸し、その残渣を水より再結晶を行なう。Table 1 に本実験に用いた各種 TC の原料とそれ自身の融点、酸化方法、分解点、分子式、炭水素分析および結晶水の定量を示したが、ピリジン環を含むこれらのテトラゾリウム塩は α -PTC、 β -PTC および γ -PTC であつて、この構造式は Fig. 2 に示した。

Fig. 2



2) テトラゾリウム塩の抗菌および還元発色試験

i) *Mycobacteria* に対する試験：固型および液体培地で行なつた。前者における試験は前報¹⁾に示したと同様にして行なつたが、要約すると、小川培地に培養し logarithmic な増殖期の終期にあると思われる被検 *mycobacteria* の菌苔から蒸留水浮遊液を調製、その 10^{-5} mg を 0.1 ml に含ませて中試験管小川斜面培地に接種、その接種した培地斜面を水平にして37°Cで培養を続ける。そして、培養2日および14日後に各種 TC の0.5%水溶液の0.1mlをこの培養面の全体をおおうように流して、更に培養を行なう。培養16および21日目に発色コロニー数を測定する。実験に用いた *mycobacteria* は *M. tuberculosis* の H₃₇Rv、青山B、黒野および今村弱毒株と *M. bovis* の Ravenel、三輪、牛 No.1 および BCG のそれぞれ4株ずつである。また、特に α -PTC の発色試験に上記の菌株の他に実験結果の項で示す各種の *mycobacteria* 10株を用いた。

一方、液体培地における試験には牛血清10%を含むキルヒナー培地を用いた。5mlの培地に被検 TC を結晶水

を加算した分子量の 1.2×10^{-7} mol/ml, 6×10^{-7} mol/ml, 1.2×10^{-7} mol/ml, 0.6×10^{-7} mol/ml, および 0.3×10^{-7} mol/ml となるように 0.1ml の水溶液として添加した。そして、H₃₇Rv および BCG の小川培地に発育した菌苔から調製した蒸留水浮遊菌液 1mg/ml を 0.1ml 宛接種して3週後に発育阻止の程度を判定した。その基準は前報²⁾に従つた。また還元発色は培地の呈色を観察して記載した。

ii) 腸内細菌その他の菌に対する発色試験：実験結果の項で示す被検菌を普通寒天培地に接種後、適当に発育したコロニーに α -PTC および STC の 5mg/ml 濃度の水溶液をそれぞれ培地全面をおおうように添加し、更に培養を続けてコロニーの発色をしらべた。

3) 各種 TC の還元電圧の測定

燐酸緩衝液で pH 6.85 に調節した50%メタノール水溶液に各種 TC を 5×10^{-4} モル溶液として、柳本 P-8 式ポーラログラフ装置で測定し、中点法によつて $-E_{1/2}$ (V vs S.C.E.) を求めた。測定温度25°C。50%メタノール水溶液を通過した窒素ガス気流中、滴下速度 m : 純水中 1.50mg/sec、滴下時間 t : 測定液中 4.91sec、水銀高 h : 79.0cm、感度：50nA/mm の諸条件下で行なつた。

4) 各種 TC の分子吸光計数の測定

各種 TC の分子吸光計数を測定するにあたり、市販の TTC を水より再結晶し、その結晶水を含む純品を作り、これらを下記のごとき直接法で TTC より別に調製したフォルマザンと比較検討して差のないことを確認した後、測定した。測定機器は日立 124 型ダブルビーム分光光度計である。

試料を 0.5×10^{-5} モルを秤量し、水 1ml に溶解、アスコルビン酸を試料の約2倍量加え、これに20%苛性カリ水溶液 0.1ml を加え、フォルマザンが析出した溶液にアルコールを加えて 50ml とする (1×10^{-4} モル溶液)。この際、生成したフォルマザンは溶解し、塩化カリが析出する。塩化カリを濾別し、濾液の適量をアルコールで更に10倍に希釈し、 1×10^{-5} モル溶液として吸光度を測定し分子吸光係数を計算した。同時に可視部の最大吸収の波長を記載した。

実験結果

1) TC のテトラゾリウム環の5位の水素をピリジン環によつて置換した化合物の還元発色および抗菌能

先の報告^{1)~3)}で明らかにしたごとく、TC のテトラゾリウム環の5位の水素をチオフエン環あるいはフラン環で置換した際に、これら複素環式化合物の置換の位置が異なる化合物では結核菌による還元発色性およびヒト型とウシ型結核菌に対する抗菌力に相違がみられたので、ピリジン環の置換位置の異なる新しい TC、すなわち5-

Table 2. Bacteriostatic Effects of Tetrazolium Salts on Growth of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis*

	Strain	Time of addition: Days after inoculation	α -PTC		β -PTC		γ -PTC			
			Days after inoculation		16	21	16	21	16	21
			16	21	16	21	16	21		
Human	Aoyama	2	0.01	77	0.01	77	0.01	89		
		14	100	136	125	110	125	137		
	H ₃₇ Rv	2	37	109	20	86	29	100		
		14	70	100	48	103	52	100		
	Kurono	2	1.6	13	2.5	13	2.4	17		
		14	100	91	122	113	100	95		
Imamura	2	6	20	6	30	12	36			
	14	133	93	50	98	113	86			
Bovine	Ravenel	2	20	80	5.5	88	26	140		
		14	118	100	94	104	131	100		
	Ushi No. 1	2	0.01	4.2	0.01	10	0.05	51		
		14	40	92	63	73	87	73		
	Miwa	2	0.01	20	0.01	3.0	0.01	3.0		
		14	79	105	89	120	100	100		
	BCG	2	0.01	0.01	0.01	0.1	0.01	0.12		
		14	93	94	72	107	114	107		

The values represent percentage of colonies compared to the control (Aq.dest.) taken as 100 per cent.

(2-pyridyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (α -PTC) [Fig. 2 の (4)], 5-(3-pyridyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (β -PTC) (5), および 5-(4-pyridyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (γ -PTC) (6) を合成して, これら TC の小川培地上でのヒトおよびウシ型結核菌それぞれ 4 株に対する抗菌力をしらべた。その成績を発育コロニー数で示したのが Table 2 である。この表に明らかなように, いずれも培養の初期 (2 日目) に添加した場合にのみ抗菌力を示すが, STC あるいは OTC のように明確にはヒト型, ウシ型に対する抗菌力の差をあらわさなかつた。

この際, 意外にも α -PTC のみがいずれの結核菌によっても還元発色せず, コロニーは対照培地のそれと同様であつた。しかも, なおヒト型およびウシ型に対して菌接種後 2 日目に添加すると, ある程度の発育阻止作用があつた。

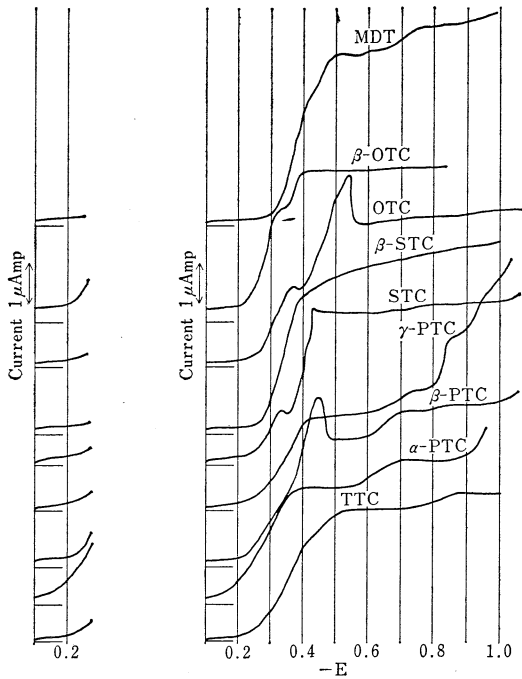
これらの還元発色の現象と結核菌に対する抗菌力を定量的に検討するために, ヒト型およびウシ型結核菌の代表株として, それぞれ H₃₇Rv と BCG を用い, キルヒナー培地にこれらの菌接種前に STC, OTC および TTC など各種 TC とともに α , β および γ -PTC の種々の濃度を添加して, 結核菌発育阻止能をしらべた結果を Table 3 に示した。これによると, H₃₇Rv に対しては本実験ではいずれも大差はないが, BCG に対しては TTC は著しく発育を阻止した。そして, 5-(3-thienyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (β -STC)²⁾, α -PTC, β -PTC は中程度であり, 5-methyl-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium

chloride (MDT)³⁾, STC, OTC, 5-(3-thienyl)-2,3-diphenyl-2H-tetrazolium chloride (β -OTC)³⁾ および γ -PTC などは発育阻止の程度は低い値を示していた。また還元による培地の発色程度は濃赤紫色から淡桃色まで α -PTC 以外は菌の発育程度に比例していた。

Table 3. Bacteriostatic Effects of Tetrazolium Salts on Kirchner's Medium

Compound	Strain	Mol. concent.					
		10 ⁻⁷	12	6	1.2	0.6	0.3
TTC	BCG	-	-	-	+	++	+++
	H ₃₇ Rv	++	+++	+++	+++	+++	+++
MDT	BCG	++	++	+++	+++	+++	+++
	H ₃₇ Rv	++	++	+++	+++	+++	+++
STC	BCG	+	++	++	++	++	++
	H ₃₇ Rv	++	+++	+++	+++	+++	+++
β -STC	BCG	-	++	++	++	++	++
	H ₃₇ Rv	++	++	++	++	++	++
OTC	BCG	++	++	++	++	++	++
	H ₃₇ Rv	+++	+++	+++	+++	+++	+++
β -OTC	BCG	++	++	++	++	++	++
	H ₃₇ Rv	++	+++	+++	+++	+++	+++
α -PTC	BCG	-	+	++	++	++	++
	H ₃₇ Rv	+++	+++	+++	+++	+++	+++
β -PTC	BCG	-	+	+++	+++	+++	+++
	H ₃₇ Rv	++	+++	+++	+++	+++	+++
γ -PTC	BCG	+	++	+++	+++	+++	+++
	H ₃₇ Rv	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Fig. 3. Polarograms of Tetrazolium Salts



The conditions of measurement were as follows: concentration, 5×10^{-4} mol. in aqueous methyl alcohol (50% v/v), pH 6.8, buffer $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$, under N_2 gas (through the aqueous methyl alcohol), 25°C ; mercury flow rate in deionized water m , 150 mg/sec, drop time in supporting electrolyte at open circuit t , 4.91 sec., at mercury height h , 79.0 cm, sensibility s , 50 nA/mm, measured on the Yanagimoto P-8.

Table 4. Half-wave Potentials of Tetrazolium Salts at 25°C in aqueous methylalcohol (50% v/v) at pH 6.8. $-E_{1/2}$ (V vs S.C.E.)

Tetrazolium Salt	$-E_{1/2}$ (V vs S.C.E.)	$-E_{1/2}$ (V vs S.C.E.)	$-E_{1/2}$ (V vs S.C.E.)
TTC	0.346	0.466	0.778
	*0.400	—	0.784
α -PTC	0.280	0.604	—
	*0.376	0.688	—
β -PTC	0.358	0.646	—
	*0.358	0.634	—
γ -PTC	0.346	0.658	0.826
	*0.382	0.658	0.826
STC	0.286	0.400	0.724
	*0.322	0.424	0.724
β -STC	0.346	—	—
	*0.388	—	—
OTC	0.304	0.442	—
	*0.334	0.400	—
β -OTC	0.274	0.364	—
	*0.256	—	—
MDT	0.382	0.688	—
	*0.424	0.700	—

*: Value in the second measurement at the same solution; calculated by middle point method on the Fig. 4.

2) α -PTC に対する還元発色の検討

α -PTC 添加培地で結核菌の発育をみた場合でも発色が見られなかったが、このことは今まで知られた TC にはみられなかった。TC は強電解質であるために菌体内に入るものでなく、菌膜に対して作用すると考えるのが妥当であろう。したがって TC の還元発色も菌の細胞膜表面の酵素によると考えられ、 α -PTC およびその他の複素環式化合物を含む各種 TC の還元電圧の差から α -PTC のこのような性質が説明できると期待して、還元電圧を測定した。しかし結果は Fig. 3 および Table 4 に示すごとく、著しい差はみられなかった。

更に α -PTC の無発色性がヒト型およびウシ型結核菌に限られるか否かを検討するため各種 mycobacteria についてしらべた。すなわち *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. avium* Flamingo, *M. kansasii* P4 および P8, *M. marinum* B-439, *M. scrofulaceum* P6, *M. intracellulare* P42 および蒲生, *M. xenopi* についても α -PTC はなんら還元発色されなかった。

また Mycobacteria 以外の腸内細菌その他の菌、すなわち *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Arizma*, *Proteus*, *Vibrio parahaemolyticus* によつては強く発色し、*E. coli*, *Salmonella paratyphi* B, *Staphylococcus* では弱く発色することがわかった。

3) TC の還元物フォルマザンの可視部の最大吸収と分子吸光係数

結核菌の微小コロニーの迅速測定に用いる TC は還元されて鮮明な色を呈するフォルマザンを形成するものでなければならない。そこで種々のフォルマザンの分子吸光係数と可視部の最大吸収を測定した。その結果は Table 5 に示した。この表によると、可視部の最大吸収は STC のフォルマザンが最も大きく、次いで OTC のそれであった。しかし両者はともに分子吸光係数は小さかった。

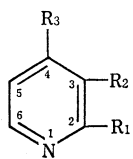
Table 5.

Tetrazolium salt	Visible spectral absorption peak of formazan (NM)	Molecular extinction coefficient
STC	520	14050
β -STC	492	16040
OTC	513	14120
β -OTC	495	16080
MDT	410	30270
α -PTC	466	20910
β -PTC	475	20770
γ -PTC	470	23050
TTC	480	16150

考 察

先にわれわれは TC において、そのテトラゾリウム環の5位の水素をチオフェン環あるいはフラン環で置換された STC および OTC を合成し、これらをヒト型およびウシ型結核菌の固型培地接種の2日目に添加すると、後者に対してのみ発育阻止作用を示すこと、しかも、その作用はチオフェン環あるいはフラン環の置換位置によつて差を生ずることを見出した。ところで、われわれが提唱しているように、抗結核剤は菌に対する親和基と抗菌作用を示す活性基とからなっている。それによると、ピリジンカルボン酸ヒドラチッドの場合、ピリジン核は親和基であり、酸ヒドラチッド基-CONHNH₂が活性基になる。そして、この活性基の置換されている位置によつて抗菌力が相違してくるのであつて、Fig. 4 に示

Fig. 4



Isonicotinic acid hydrazide (INH)
R₁, R₂=H, R₃=-CONHNH₂ (7)

Nicotinic acid hydrazide (NH)
R₁, R₃=H, R₂=-CONHNH₂ (8)

Picolinic acid hydrazide (PH)
R₂, R₃=H, R₁=-CONHNH₂ (9)

すイソニコチン酸ヒドラチッド (INH) はピリジン核の4位 (またはγ位) の水素と置換されたものであり抗菌力が最も強い。ピコリン酸ヒドラチッド (PH) がこれに次ぎ、ニコチン酸ヒドラチッド (NH) は最も弱い。また活性基が別の原子団の場合は、その位置によつて、抗菌力が違つてくる。例えばピリジンのチオカルバアニリド誘導体の場合はその位置によつては差がみられない⁵⁾⁶⁾。

そこで、本研究では TC のテトラゾリウム環の5位の水素をピリジン環で置換した場合の位置によつて抗菌力の差および還元発色性をしらべたのであるが、α-, β-, γ-PTC とともに、つまり置換位置と関係なく、固型培地では培養初期に添加すると同程度の阻止作用をヒト型とウシ型結核菌に示した。また液体培地の成績にも著しい差はみられなかつた。その理由については今後の研究に待たなければならない。

α-PTC が mycobacteria によつて還元されない事実が明らかになつた。そして菌が増殖しているながら還元発色のないことから、菌の増殖と還元発色に関係がないこと、それに TC の結核菌発育阻止作用も還元フォルマザンにあるのでないことも明らかである。TC そのものが阻止作用を有すると考えられ、しかも本実験系からすると、結核菌の発育増殖の初期に作用するものである。更に TC 類が強電解質であることから菌膜に作用すると思われる。

この点を考えて各種 TC の還元電圧をしらべたが、そ

の間に大差はなく、結核菌によつて発色しない α-PTC が特別に高い値を示したわけではなく、α-PTC が結核菌に対して還元発色しないことは還元電圧とは別に理由があるものと思われる。また α-PTC は各種の mycobacteria によつて還元発色しないが、腸内細菌のほか、しらべた2, 3の細菌によつて還元発色した。Mycobacteria は各種の TC を還元するのに α-PTC のみを還元しない理由は不明である。

最後に、TC を用いて結核菌の固型培地上に発育した微小コロニーを迅速かつ容易に見出すための臨床検査上の応用に関しては、その還元呈色の鮮明なことが第1に要求される。それで TC の還元物質のフォルマザンの可視部の最大吸収とその分子吸光係数をしらべたのであるが、分子吸光係数の大きいものでも最大波長の短いものはコロニーの培地における色が鮮明でなく、その有する結核菌の発育阻止能の小さいことと併せ考えると、コロニーの迅速測定には STC および OTC が最も適当であると思われる。

む す び

テトラゾリウム塩の化学構造とその結核菌による還元発色および結核菌の発育阻止作用との関係をしらべるため、テトラゾリウム塩の5位にピリジン環を含む化合物を新たに合成し、先に合成したと同様にチオフェン環あるいはフラン環を含む化合物と比較し、これらの化合物の固型および液体培地における結核菌の発育阻止作用と還元発色を検討した。ピリジン環の置換位置による抗菌力の差異はほとんど見出されなかつた。特にピリジン環のα位で置換されたもの (α-PTC) は各種腸内細菌によつて還元されるが、各種ミコバクテリアでは全く還元発色をみながつたことが興味ある事実として見出され、還元電圧をしらべたが、他のものと大差がなかつた。また α-PTC はわずかながら結核抗菌作用を示し、還元発色と抗菌作用とは別の問題であることを示唆した。

終りに臨み各種化合物の合成実験に関し、新谷裕子、田中美也子、岡田信子、田代美穂子の諸嬢に感謝の意を表す。またポーラログラフィーに関しては北海道大学理学部化学科神原富民教授の指導のもとに菅原正典博士のご援助を頂いたこと、更に mycobacteria 以外の菌株についての還元発色試験について、北海道大学医学部細菌学教室飯田広夫教授のご援助を頂いたことを併せて深謝いたします。

文 献

- 1) Kakimoto, S., Yamamoto, K., Arima, J. and Kuze, A.: Am. Rev. Resp. Dis., 104: 754, 1971.
- 2) Kakimoto, S. and Yamamoto, K.: Am. Rev. Resp. Dis., 107: 142, 1973.

- 3) 柿本七郎・佐藤恒久・山本健一：北大免疫研紀要，
36 : 13, 1976.
- 4) Ariëns, E. J.: *Molecular Pharmacology*, Academic
Press, New York and London, p.12, 1964.
- 5) Kakimoto, S. and Yamamoto, K.: *Jap. J. Tuberc.*,
6 : 32, 1958.
- 6) Kakimoto, S., Seydel, J. and Wempe, E.: *Arzneim.-
Forsch.*, 12 : 127, 1962.
- 7) Weston, W. and Michaels, R.: *Organic Syntheses*,
31 : 108, 1951.
- 8) Campaigne, E., Bourgevis, R. and McCarthy, W.:
Organic Syntheses, 33 : 93, 1953.
- 9) Gilman, H. and Burtner, R. R.: *J. Am. Chem.
Soc.*, 55 : 2908, 1933.