

京 都 大 学

結 核 研 究 所 紀 要

第 8 卷 第 2 号 増刊号

原 著

2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline の 試験管内結核菌発育阻止作用に就て

京都大学結核研究所化学療法部（主任 教授 内藤益一）

川 合 日 出 雄

（昭和34年6月30日受付）

〔内 容 抄 録〕

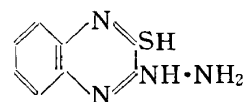
新化合物 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline について試験管内結核菌発育阻止作用を検した所、3.13~1.56 γ /cc の発育阻止最低濃度を示し、感受性菌にも、従来繁用される SM, PAS, INAH 等の耐性菌にも、殆んど同程度の発育阻止力で、SM, PAS, INAH と交叉耐性を有しないと考えられる。又 SM, pAS, INAH と併用効果を有し、TB1 とは尚検討を要する。

第 1 章 緒 論

Streptomycin（以下 SM）に続いて p-Amino-salicylic acid（以下 PAS）や Isonicotinic acid hydrazide（以下 INAH）が登場して、結核の化学療法は著るしい進展を遂げては来たが、結核が慢性疾患で、結核菌が生存を続ける限り化学療法剤に対して必須的に耐性を獲得するから、SM, PAS, INAH を大量に使用して然も臨床的治癒に到らない結核症で外科的療法の適応でない患者の治療には、耐性を異にする抗結核剤の強力なものを期待せねばならず、先に Kanamycin の発表もあり、著者も TB1・Tetracycline 系誘導体の併用²⁾を報告したのであるが、私共の研究室で既に数年前より諸種系統化合物の人間型結核菌に対する抗菌作用の研究を

続けている中で、浅野¹⁾等に依つて合成された 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline が試験管内結核菌に対して相当の発育阻止作用を有し、SM, PAS, INAH と交叉耐性を有せず、SM, PAS, INAH と併用効果を有する事を認めたので、その実験成績を報告する。

2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline の化学構造式は下記の如くである。



第 2 章 試験管内感受性菌及び各種耐性菌に対する発育阻止実験

第 1 節 実験方法

1) 供試培地

10%牛血清加 Kirchner 培地³⁾。

2) 被検薬物溶液

2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline を 70% Ethanol で 1000 倍に加温溶解し使用した。

3) 供試菌液

10% 牛血清加 Kirchner 培地を入れた普通試験管に有毒人間型結核菌 H37Rv 株の菌苔 1 白

金耳を移植培養し、菌膜が液面全体に発育し、次いで管壁に約 5mm 程度の高さに迄波及せる頃を見計つて菌を採取し、肉厚コルベンに移し小硝子球により可及的菌塊を磨碎し、0.1 mg/cc になる如くに滅菌生理食塩水を以て稀釈し、菌平等浮游液として使用した。

有毒人型結核菌 H37Rv の一般感受性株 SM 100 γ 耐性株, PAS 100 γ 耐性株, INAH 100 γ 耐性株, 以上 4 株について実験した。

4) 実施方法

硝子キャップ付き小試験管10本を架列し、キャップを取除いた後、第 I 管には培地 1.9cc 被検液 0.1cc (1000倍溶液), 第 II 管以下には培地 1cc を分注し第 I 管内容をピペットにてよく混和しその 1cc を第 II 管に移し、以下 1cc を順次送り第 IX 管に至る。第 X 管は被検液を全く含まぬ対照培地である。次いで前項の菌平等浮游液を標準ピペットで 1 滴宛滴下しキャップを施し 37 $^{\circ}$ C 恒温器に納める。結局第 I 管の被検物質は 50 γ /cc で以下は倍数に稀釈されている訳である。実験回数は一般感受性菌については 5 回, 耐性菌については 2 回, 対照薬剤は SM, PAS, INAH である。

5) 成績判定

培養 4 週後に肉眼で各管の集落発生の有無及びその程度を対照培地と比較しながら判定した。

第 2 節 実験成績

実験成績は肉眼的に全く結核菌の発育を認めない培地の内の最低濃度をもつて発育阻止最低濃度とした。一般感受性菌では第 1 表の如く 1.56 γ /cc 2 回, 3.13 γ /cc 2 回, 6.25 γ /cc 1 回であった。耐性菌については第 2 表の如く, SM 耐性菌, PAS 耐性菌については 1.56 γ /cc 1 回, 3.13 γ /cc 1 回, INAH 耐性菌は 1.56 γ /cc 2 回であった。

従つて, SM, PAS, INAH と 2-Mercapto-3-hydrazino-quinioxaline とは交叉耐性を有せず, その発育阻止最低濃度は, 1.56 γ /cc ~ 3.13 γ /cc と本実験条件では考えられる。

第 1 表 感受性菌発育阻止最低濃度 (単位は γ /cc)

| | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinioxaline | SM | PAS | INAH |
|-------|-------------------------------------|------|------|------|
| 第 1 回 | 1.56 | 1.56 | 0.63 | 0.06 |
| 第 2 回 | 6.25 | 1.56 | 1.25 | 0.25 |
| 第 3 回 | 3.13 | 1.56 | 0.31 | 0.12 |
| 第 4 回 | 1.56 | 1.56 | 0.31 | 0.06 |
| 第 5 回 | 3.13 | 1.56 | 0.63 | 0.06 |

第 2 表 a. SM 100 γ 耐性菌 (単位は γ /cc)

| | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinioxaline | SM |
|-------|-------------------------------------|-------|
| 第 1 回 | 3.13 | > 100 |
| 第 2 回 | 1.56 | > 100 |

b. PAS 100 γ 耐性菌

| | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinioxaline | PAS |
|-------|-------------------------------------|-------|
| 第 1 回 | 3.13 | > 100 |
| 第 2 回 | 1.56 | > 100 |

c. INAH 100 γ 耐性菌

| | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinioxaline | INAH |
|-------|-------------------------------------|-------|
| 第 1 回 | 1.56 | > 100 |
| 第 2 回 | 1.56 | > 100 |

第 3 章 一般感受性菌に対する SM, PAS, INAH, TB1 と 2-Mercapto-3-hydrazino-quinioxaline 併用による発育阻止実験

結核化学療法に於て併用が多く用いられるのは, 単独で十分な効果を上げ得ない為で, SM・PAS, INAH・PAS, SM・PAS・INAH, 等現在繁用されている化学療法が併用療法である事は常識化している。そこで一応 SM, PAS, INAH, TB1 と本剤との併用を試みた。

第 1 節 実験方法

- 1) 供試培地
10%牛血清加 Kirchner 培地³⁾。
- 2) 被検薬物溶液

SM・PAS・INAH は滅菌蒸留水で溶解し、TB1 は、Propylene glycole で溶解し、2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline は Ethanol で溶解の上、単独は1000倍溶液にする。

併用は 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline は 250倍液と 500倍液とを調製し、SM, PAS, INAH, TB1 は 500倍液として等量併用混和し被検液とする。

3) 供試菌液

第2章第1節 3) の一般感受性菌液に準ずる。

4) 実施方法

第2章第1節 4) に準ずる。耐性菌については実施していない。

5) 成績判定

第2章 第1節 5) に準ずる。

第2節 実験成績

第2章の如く発育阻止最低濃度をもつて示した。

1) SM との併用

等量併用では第3表の如く併用効果を一応認めないようではあるが不完全阻止帯が広く、SM とその2倍量の 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline との併用では充分の併用効果を示す。

第3表 SM との併用による発育阻止最低濃度 (単位は γ/cc)

| SM | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline | SM | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline |
|-----|------------------------------------|------|------------------------------------|
| 単 独 | | 1.56 | / |
| | 単 独 | / | 6.25 |
| 1 | : 1 | 1.56 | 1.56 |
| 1 | : 2 | 0.39 | 0.78 |

第4表 PASとの併用による発育阻止最低濃度 (単位は γ/cc)

| PAS | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline | PAS | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline |
|-----|------------------------------------|------|------------------------------------|
| 単 独 | | 1.25 | / |
| | 単 独 | / | 6.25 |
| 1 | : 1 | 0.63 | 0.63 |
| 1 | : 2 | 0.31 | 0.63 |

2) PAS との併用

第4表の如く PAS との等量併用でも、2倍量併用でも充分に相乗効果を認む。

3) INAH との併用

第5表の如く等量併用では殆んど併用効果なく、2倍量併用では相加効果を認めた。

第5表 INAH との併用による発育阻止最低濃度 (単位は γ/cc)

| INAH | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline | INAH | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline |
|------|------------------------------------|------|------------------------------------|
| 単 独 | | 0.25 | / |
| | 単 独 | / | 6.25 |
| 1 | : 1 | 0.25 | 0.25 |
| 1 | : 2 | 0.13 | 0.25 |

4) TB1 との併用

第6表の如く等量併用のみであるが、之は併用の効果を認め得なかつた。再検討を要する。

第6表 TB1 との併用による発育阻止最低濃度 (単位は γ/cc)

| TB1 | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline | TB1 | 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline |
|-----|------------------------------------|------|------------------------------------|
| 単 独 | | 50. | / |
| | 単 独 | / | 1.56 |
| 1 | : 1 | 1.56 | 1.56 |

第4章 総括並びに考按

新抗菌物質 2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxaline を試験管内結核菌に作用させた所、結核菌が一般感受性であると SM, PAS, INAH 等の耐性菌であるとを問わず、殆んど発育阻止最低濃度に変化なく、交叉耐性を有しないものと考えられる。従つて毒性やその他の投与条件が人体に利用出来る範囲なれば、動物実験を行う事は決して無駄ではないと考えられる。又発育阻止最低濃度も SM に近い程度の強力なものである。薬学的検討については 浅野¹⁾の検討を引用すれば、2-位の -SH 基による抗菌力が 3-位に -NH \cdot N= 基を導入した為に強められたものと考えられるとの意見で、2-Mercapto-quinoxaline に関する結核化学治療剤の研究⁴⁾を参照

されればその理由も否定されない事と思う。繁用の抗結核剤 SM, PAS, INAH とも併用効果を認め有望と考える

第5章 結 論

2-Mercapto-3-hydrazino-quinoxalineの試験管内結核菌発育阻止実験を行なつて次の結論を得た。

1) 本検体の発育阻止最低濃度は3.13 γ /cc~1.56 γ /cc である。

2) 従来繁用の SM, PAS, INAH の各種耐性菌についても同様の発育阻止最低濃度を示し、前3者と交叉耐性を有しないものとする。

3) SM, PAS, INAH とは幾分併用効果を有し、TB1 とは尙検討を要する。

(本研究に合成を担当された浅野博士、浅井氏に深く謝意を表す)。

文 献

- 1) 浅野他；薬学雑誌，79巻1号，24頁（昭和34年1月）
- 2) 川合；京大結研紀要掲載予定，第33回日本結核病学会総会にて報告
- 3) Kirchner; Zbl. Bakter. I., Orig. 124巻, 403頁（1932）
- 4) 川合；未発表