

培地置換培養法による諸種 結核化学療法剤の静菌作用の検索

〔第4篇〕 Sulfisoxazole, Tetracycline, Cyanoacetic acid hydrazide, Isopropyl cyanoacetic acid hydrazone 及び S-Ethyl-L-cysteine の静菌作用に就いて

京都大学結核研究所化学療法部（主任 教授 内藤益一）

神 田 瑞 雄

【内 容 抄 録】

Sulfisoxazole (SI), Tetracycline (TC), Cyanoacetic acid hydrazide (CAH), Isopropyl cyanoacetic acid hydrazone (IPCAH) 及び S-Ethyl-L-cysteine の静菌作用を、培地置換培養法にて検索した結果、SI, TC 及び CAH は置換を行なった方が静菌力がやや強くあらわれたが、IPCAH 及び S-Ethyl-L-cysteine は置換を行なつても静菌力の増強を認めなかつた。

緒 言

本論文第2編¹⁾及び第3編²⁾に引き続き、本編に於いては最近抗結核剤として臨床的にその効果を検討されている5種の結核化学療法剤に就いて培地置換培養法（以下置換培養法）により静菌作用を検索した。

Sulfisoxazole（以下 SI）は昭和29年結核病学会に於いて内藤が INH の併用剤として有効な事を報告して以来、その抗結核作用が注目され、SI 単独の抗結核菌作用も斎藤³⁻⁴⁾、牛場⁵⁾、小酒井⁶⁾、小川政等⁷⁾により次々と発表された。当教室⁸⁾に於いても最近 SI の静菌作用を詳細に検討し、SI の発育阻止最低濃度（以下 MIC）は種々の因子により非常に動揺し易いことを明らかにした。即ち10%血清加 Kirchner 培地、pH 6.4~6.6、接種菌量培地 1 cc 当り 0.01 mg、培養開始後4週判定という条件では MIC は 62.5 γ /cc を示す事が最も多いが、この阻止力は培地 pH が酸性になる程強くなり、接種菌量が多い程弱くなる。又卵培地では 31.3 γ /cc、

Dubos 培地では 15.6 γ /cc で阻止力はやや増強されるが、実験条件のわずかの变化で 7.8~1.000 γ /cc の間の大きな動揺を示す可能性がある事がわかつた。このように SI は抗結核剤としては、第2¹⁾及び第3編²⁾で検討した INH, Streptomycin, Kanamycin 等の主要抗結核剤に比して甚だ弱い静菌作用しかもたないので SI 単独の静菌作用というよりも、INH の効果的な併用剤としてより大きな期待と興味をいだかれている。併し2~3瓦の投与量で血中濃度は40~50 γ /cc となるので、SI 自身の結核菌に対する静菌作用も或る程度期待してよいのではないかと思われる。事実、結核性潰瘍や結核性膿胸に SI を単独に局所使用してかなりの効果を認めた報告³⁾もある。

Tetracycline（以下 TC）は Boothe⁹⁾ 等によつて、Chlortetracycline と Oxytetracycline との二者から誘導合成された broad spectrum antibiotics で、抗結核剤というよりは、むしろ一般の伝染性疾患に繁用されている抗生物質である。結核に対しては、1950年 Miller 及びその共同研究者等¹⁰⁾が Streptomycin-Oxytetracycline 併用療法を試み、かなりの成績をおさめ、吾国に於いては、内藤¹¹⁾が Tetracycline を中心とした併用効果を詳細に検討し、TB1と併用効果のある事を発見、種々試験管内実験はもとより、動物実験、血中抗菌力及び臨床実験を行ない、X線像改善、喀痰中結核菌の陰性化等に相当な効果を認め、既に繰返し学会で報告している。

又当教室の河田¹²⁾は Kanamycin を中心とした試験管内併用実験で Kanamycin と Tetracycline との間に併用効果がある事を認め、当教室では既にその臨床実験を開始している。これ等の成績によると、Tetracycline の試験管内静菌力は10%血清加 Kirchner 培地では MIC 6.25~25 γ /cc^{11,13)} を示し、Tween-albumin 培地ではやや増強されるが¹³⁻¹⁴⁾、岡・片倉培地では $\frac{1}{4}$ に低下する¹³⁾。又当教室の伊藤¹⁵⁾は Tetracycline は培地 pH が酸性になると阻止力が増強するという成績を得ている。

Cyanoacetic acid hydrazide (以下 CAH) は 1952年 Valdecasas¹⁶⁾ 及びその共同研究者等によつて新抗結核剤として報告されたもので、当教室の河崎^{17,18)}は CAH 及びその誘導体53種の静菌力を検討し、更に CAH に就いて試験管内実験、動物実験及び単独投与時の慢性肺結核に対する臨床効果等に就いて詳細に報告し、喀痰量や喀痰中結核菌の減少には或る程度効果を認めたが SM や INH よりかなり劣つたものであると報告した。又当教室では、CAH が TB1 と著明な併用効果のあることを発見し¹⁹⁾、臨床的検討も行ないつつある。CAH の MIC は河崎¹⁷⁻¹⁸⁾によれば 100~50 γ /cc, Hartl²⁰⁾ は 10 γ /cc, 津久間等¹³⁾によると 31.3 γ /cc で、その阻止力は INH の概ね 1/100~1/1000 程度で、Dubos 培地でも変わらず、岡・片倉培地では $\frac{1}{8}$ に低下する成績を得ている。

Isopropyl cyanoacetic acid hydrazone (以下 IPCAH) は前述の河崎の基礎実験で注目された CAH 誘導体であつて 6.25 γ /cc の MIC を示したが、その後繰返えし行なわれた静菌力試験では MIC の動揺が著しく、一定した成績は得られなかつた。CAH 並びに IPCAH は共に培

地 pH がアルカリ性になると著しく抗菌力が増強され、pH 5.5 で 250 γ /cc, pH 7.5 で 15.6 γ /cc となる点が注目された。

S-Ethyl-L-Cysteine (以下 S-E-L-cysteine) は Solotorowsky²¹⁾, Brown 等により経口投与による動物実験では PAS, Pyrazinamide より優れ、SM, INH より劣る効果を認められた物質であるが、試験管内抗菌力は極めて弱く、100 γ /cc にても結核菌に対し活性を示さなかつたと報告されている。伊藤¹⁵⁾によればアルカリ性に於いて阻止力がやや増強するようである。

以上の抗結核剤は何れもその静菌力が著しく弱く、PAS や INH にくらべて静菌力が 1/100 にも及ばず、又 SI を除いては臨床投与量もすべて 1 瓦若しくはそれ以下であつて、生体内に於ける静菌効果の点からみると決して満足すべきものではなからうと推察されるが、単独でも或る程度の臨床効果が認められる点は興味深いものがある。

実験材料及び実験方法

培地、菌液、実験方法及び判定基準はすべて第 2 編¹⁾と同様である。

被検液の調製は次の如くである。

SI は山之内製薬の Thiasin 注射液を、その他の薬剤は 5 mg 前後化学天秤で秤取し、70% Ethanol で 1,000 倍に稀釈、溶解、滅菌したものを用いた。

実験成績

培養開始 4 週間後行なつた肉眼的判定成績は表 1 の如くであつて、SI, TC, CAH の発育阻止力は何れも置換培養法に於ける方が 1 管強くあらわれ、IPCAH は変わらず、S-E-L-cysteine

表 1 普通培養法と置換培養法との比較

薬 剤	培 養 法	第 1 管中 薬剤濃度 (γ /cc)	試 験 管 番 号										MIC (γ /cc)
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	対照	
S I	普 通 換	1000	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	125
		1000	—	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	62.5
T C	普 通 換	200	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	25
		200	—	—	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	12.5

C A H	普 置	通 換	1000	—	—	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	500
			1000	—	—	—	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	250
IPCAH	普 置	通 換	1000	—	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	500
			1000	—	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	500
S-E-L- cysteine	普 置	通 換	1000	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	>1000
			1000	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	>1000

は普通培養法及置換培養法に於いて共に第1管より結核菌の発育をみた。顕微鏡的判定も同時に行なつたが全く同様の成績であつたので記載を省略した。

総括及び考按

諸種サルファ剤の中でSIは毒性が最も少く、水溶性は最も大であり、温度に対しては安定で、192~196°Cにてはじめて分解熔融するといわれている。これ等の点からSIはかなり安定した物質であるようである。

TCはChlortetracycline, Oxytetracyclineにくらべて温度及びpHの変化に対して比較的安定であるといわれているが²²⁾、37°C弱酸性の条件では水又は生理的食塩水で100時間の間に力価が約1/10に低下するとの報告²³⁾がある。

CAH及びIPCAHは培地添加後1~2日で次第に褐色となるので、比較的不安定な物質と思われるが詳細な点はわからない。

又S-E-L-cysteineの安定性に就いても詳細は不明であつた。

著者の置換培養法による静菌力の検索成績では、SI, TC, CAHの静菌力は1管強くあらわれたにすぎなかつた。この事はこれ等の物質が培地内で左程大きな静菌力の低下を来たさないのではないと思われるのである。又当教室の河崎¹⁸⁾の実験で注目されたIPCAHは河崎の発表にもある如く、MICが著しく変動し、又保存により褐色化する等の点から、不安定な物質であろうと予想されたにもかかわらず、本実験成績は置換培養法を行なつても殆んど変化は認められなかつた。

S-E-L-cysteineは試験管内静菌力は弱く、動物体内に入つて始めて或る程度の治療効果が認められる点から、置換培養法によつて或は興

味深い成績が得られるのではないかと考えていたが、置換を行なつた場合も、第1管即ち1,000 γ /ccに於いて結核菌の発育が認められ少くとも著者の実験条件では強力な試験管内静菌作用を示すものとは考えられなかつた。

結 論

試験管内静菌力が弱く主として併用剤として用いられている数種の抗結核剤の静菌力を培地置換培養法で検索した結果、Sulfisoxazole, Tetracycline及びCyanoacetic acid hydrazideは置換を行なつた方が静菌力がやや強くあらわれたが、Isopropyl cyanoacetic acid hydrazone及びS-Ethyl-L-cysteineでは置換を行なつても静菌力の増強を認めなかつた。

(掲筆に当り、終始御指導及び御援助を賜つた当教室助手津久間俊次博士と実験に終始御協力を戴いた当教室東向一郎学兄とに深甚の謝意を表します。)

文 献

- 1) 神田：本論文第2篇
- 2) 神田：同 第3篇
- 3) 齊藤他：結核，増刊号 1954.
- 4) 齊藤他：ibid, 増刊号 1956.
- 5) 牛場他：日結，15：664，1956.
- 6) 小酒井他：ibid, 15：770，1956.
- 7) 小川政他：ibid, 15：778，1956.
- 8) 内藤他：胸疾，2：232，1958.
- 9) Boothe et al. : J. Am. Chem. Soc., 75 : 4621, 1953.
- 10) Miller et al. : Am. Rev. Tuberc., 66 : 534, 1952.
- 11) 内藤：文部省科学研究費結核化学療法班会議（昭和32年10月30日）
- 12) 内藤：文部省科学研究費結核化学療法班会議（昭和33年5月）
- 13) 津久間：胸疾，2：522，1958.

- 14) Hobby et al. : Am. Rev. Tuberc., 72 : 367, 1955.
- 15) 伊藤篤 : 京結紀要, 7 : 158, 1958.
- 16) Rothe : Beitr. Klin. Tub., 113 : 175, 1955.
- 17) 河崎 : 京結紀要, 5 : 111, 119, 123, 1956.
- 18) 河崎 : ibid, 5 : 129, 139, 1957.
- 19) 内藤他 : 結核, 32 : 459, 1957.
- 20) Hartl : Schweiz. Zschr. Tuberk., 11 : 65, 1954.
- 21) Solotorovsky et al. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 806, 1954.
- 22) Bohonos et al. : Antibiotics Annual, 49, 1953~54.
- 23) English et al. : ibid, 70, 1953~54.