

# 破傷風毒のフェノール, オキシカルボン酸, 酸 アミド, ヒドラチッド等による解毒について

金沢大学医学部日置内科教室(主任 日置教授)

小 矢 崎 直 美

*Naomi Koyasaki*

(昭和29年12月25日受附)

## 緒 論

先に教室與儀<sup>1)</sup>は破傷風毒の解毒に関する研究において主として種々なる含硫化合物の作用を検討したる結果, その行える条件において嘗て多少効果あるべしと報告<sup>2)</sup>された Glutathion はいうに及ばず, その他 Methionin, Cystin 製剤, チオ硫酸ソーダ, チオ乳酸ソーダ, 2-Thiol-6-hydroxypyrimidin には殆んど効力が認められないか, 又は多少の影響があつたように思えても余り採るに足らなかつたに拘わらず, 特に Thiosalicylsäure において一定量の毒素に対し明らかにこれを完全解毒するの成績を確認した.

Thiosalicylsäure そのものの毒性はマウスにて行える試験において比較的少なきが故に, 本業績は破傷風抗毒血清を措き, 薬剤として破傷風に対し解毒作用を営み得るものの存在を創めて見出したものとして頗る注目に値したものであるといふことが出来る.

本文はこれに引続き数種のフェノール, オキシカルボン酸, 酸アミド, ヒドラチッド等につき同様破傷風毒に対する解毒作用の如何を問うたものであるが, 結局 Salicylamid において先に與儀の提案した Thiosalicylsäure に匹敵する効果を見出すことが出来た. 而もこのものの毒性は Thiosalicylsäure 以上に少なきを以て, 吾々の破傷風毒素解毒に関する将来への希望は愈

々明るい. 周知の如く破傷風毒は頗る猛毒であるが, その毒性は pH に関係することが頗る大で, 殊に酸性側において頗る敏感なるが故に, 眞に薬剤そのものの効力を認めるには可及的に中性に近い溶液において有効であらねばならぬが, この意味において Salicylamid が Thiosalicylsäure 同様毒素が pH の影響を蒙らざる条件において有効性を発揮し得ることを証明し得たことは無論である. 今日既に一般薬剤として用いられている本物質にして斯の如き特殊の作用を営むことが見出されたことは臨床の實際上吾々に重要な参考資料を提供すること Thiosalicylsäure におけるよりも一層大であると信ずる.

なお, 與儀はその報告において前述の Thiosalicylsäure に次ぐものとして Vitamin B<sub>1</sub> (Thiamin) を挙げた. これ又 Vitamin として今日吾々の常時医薬として用いる所のものであるが, 本剤を比較的毒素の少量と混和して与え試験をしてよく死から免れしめ得た場合でも, 一時麻痺症状の発現することを阻止し得なかつたことに比べ, Salicylamid 投与が試験をして殆んど全く無症状に終らしめたことは, 兩者等しく既に実用に供せられている薬物とはいへ, 又後者のより強力なることを語るものである.

## 実験材料並びに実験方法

### 1. 実験動物

体重 18~20 グラムのマウスを使用した.

## 2. 破傷風毒素液

本学細菌学教室保存の破傷風菌  $T_3$  株を肝片加ブイヨンにて  $37^{\circ}\text{C}$ , 48時間培養せる全培養液をザイツ氏細菌濾過器にて濾過し, 該濾液を毒素液として用いた。 $T_3$  株においては毒素の生産が甚だ迅速で, 従つて48時間の培養により試用に供し得る十分なる毒素を得ることが出来た。又本毒素液は1ヶ月間の保存によつて聊かも毒力の減弱を認めしめなかつた。

## 3. 稀釈毒素液の調製

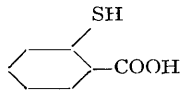
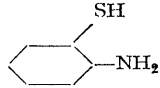

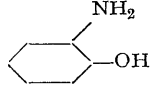
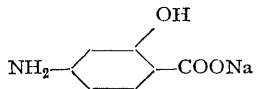
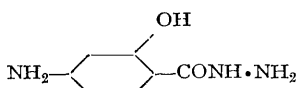
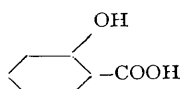
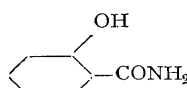
上記操作により得られた本菌毒素液のマウスに対する最小致死量は, 本菌毒素液の10万倍稀釈液0.1乃至0.2cc 附近に存した。即ち上記量の注射後3乃至5日にして試獣は定型的破傷風症状を発現して確実に斃れたが, 該量以下では症状を発現せしめ得るも試獣は終に死に至らしめるには足りなかつた。

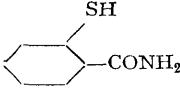
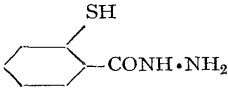
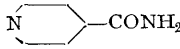
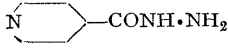
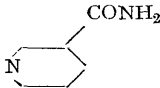
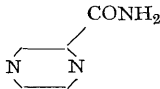
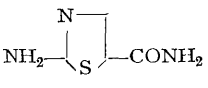
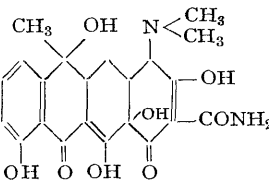
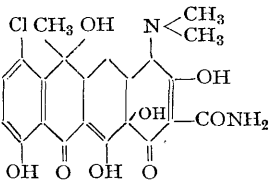
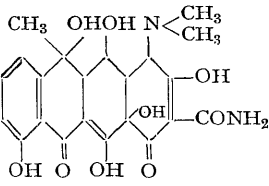
而して実験に当つては上記最小致死量の10倍乃至100倍量の毒素液, 即ち1千倍(注射後24時間以内に試獣を確実に斃す量)乃至1万倍(同じく48時間以内に試獣を確実に斃す量)の破傷風稀釈毒素液を調製使用した。

## 4. 使用薬物

次に示す19種の薬物を使用した。含硫化合物は5種あるが, 中 Thiosalicylsäure は前回興儀が破傷風毒素解毒の効を認めたものであり, ために今回実験をなすに当り対照として用いたもの, 他の2種はフェノール体で今回の実験に初めて使用せるもの, 残る2種は夫々 Thiosalicylsäure の Amid, Hydrazid であるが, これは結局今回の実験によつて Salicylamid の効が認められたので, 同じく新たにこれが検討を企図せられるものである。(但し上記薬物中 Ortho-aminothiophenol は強酸には可溶なるも, 水, アルカリには難溶で, その酸性溶液では試獣をして尽く死より免れしめ得たが, その理由は専ら酸性なるがために外ならなかつたのであつて, 薬物そのものの効力を論ずるのは不適當であつたので, 以下記載からはこれを除外した。

次に Thiosalicylamid 並びに Thiosalicylhydrazid は強アルカリには溶解したが, 水, 酸には不溶で, 実験を行い得る適当 pH の範囲を逸脱しているため, これ亦動物実験を進めるには不適當であつた。)

* Thiosalicylsäure	Fp. $162^{\circ}\text{C}$	
* Ortho-aminothiophenol	Fp. $222^{\circ}\text{C}$	
* Para-aminothiophenol	Fp. $205^{\circ}\text{C}$	
Ortho-aminothiophenol	Fp. $170^{\circ}\text{C}$ (pH. 4.4 Lösung)	
Para-aminosalicylsäure-Na (第一製薬社製)		
* Para-aminosalicylhydrazid	Fp. $199.5^{\circ}\text{C}$	
Salicylsäure	Fp. $157^{\circ}\text{C}$	
Salicylamid	Fp. $140^{\circ}\text{C}$	

* Thiosalicylamid	Fp. 95°C	
* Thiosalicylhydrazid	Fp. 96°C	
* Isonicotinylamid	Fp. 155°C	
Isonicotinylhydrazid (第一製薬社製)	Fp. 170~173°C	
* Nicotinylamid	Fp. 121°C	
** Pyrazinamid	Fp. 189°C	
* 2-Aminothiazolyl-5-amid	Fp. 229°C	
Achromycin-HCl 純品 "Lederlé"		
Aureomycin-HCl 純品 "Lederlé"		
Terramycin-HCl "Pfizer" 力価 875mcg/mg		
Glycyrrhizin (ミノファーゲン社製)	Fp. 205°C	$C_{41}H_{55}O_7(OH)_6-(COOH)_3$

註： \*印は当教室合成。

\*\*印は本学薬学部水野教授より譲渡せられたることを謹謝する。

Ortho-aminophenol (pH 4.4 に調製) は本学岡本教授より譲渡せられることを謹謝する。

Achromycin, Aureomycin はその純品を Lederlé 社より, Terramycin は Pfizer 社より共にこれを贈られたることを謹謝する。

Glycyrrhizin はミノファーゲン社よりその純品を譲渡せられたることを謹謝する。

又 Salicylamid の有効性が尻に見出された結果は爾余の多くの O-Oxycarbonsäureamid, 非含硫フェノール類, 芳香性 Carbonsäure, 従つてその Amid, Hydrazid の検討に迄吾々の研究を延長せしめた。

その他本報告において Glycyrrhizin を試験に加えた所以のものは, 同薬物のデフテリー毒素に対する解毒作用が既に市川・斎藤<sup>9)</sup>によつて記載されており, 即ち本毒素に対するその効用如何を Salicylamid のそれと比較検討せんと欲したに外ならない。

而して各薬物の毒性乃至解毒力の強弱の程度に応じて1頭当り 5mg, 3mg, 1mg を使用することとし, 或はこれを滅菌蒸溜水に溶解し, 又或は苛性曹達を若干加えて溶解し, 可及的 pH を中性の近辺に在らしむるよう努め, その注射量も1頭当り 0.6cc を超えざるよう(多くは 0.4cc)に計つた。因に破傷風毒素の温度, 酸及びアルカリに対して甚だ過敏なることに關しては尻に北里の報告せる所であり, 尠くとも中性に近い状態で薬液の影響を検しなければ薬液による直接の影響を云々し得ない。曩に典儀は再びこれを追試して使用せる毒素液に対する pH 1より10迄の影響, 温熱の影響を些か詳しく検討した。即ち本実験において薬液の pH をしてその直接の影響を被らざる範囲内に在らしめ, 又後述これを毒素液と接触せしむるに當つて作用温度を 37°C, その時間を1時間と定めたる理由もここに存する。但し供試薬物の夫々の使用量及び溶解の方法に關する更に詳細は以下成績を述べるに際して再びこれを詳記する。

### 5. 実験の方法

上述の如く調製せる1千倍乃至1万倍の破傷風稀釈毒素液 0.1cc と上述の如く溶解せる各種薬物溶液とを試験管内で混和し, 37°C で1時間放置せしめた後, その全液量をマウス各頭の右側腰背部皮下に注射した。なお同一の試験をなすに當つて3頭のマウスを以て1群とし, これを使用した。

而して本方法によつて有効なるものが見出された場

合には毒素と薬液とを混合直後に同様皮下に注射して, 当該薬物による解毒力の強さについて更に検討を進めることとした。

### 6. 観察期間並びに症状の表示規準

観察期間は大体10日以内とした。又症状の程度を記載するために次の記号を使用し各成績を示す際に括弧中にこれを記したが, その意味は次の如くである。

(土)……尾根部が僅かに右方に偏倚し, 従つて歩行に際し尾部が体正中線よりも右方に転倚し, 注射部附近の皮膚に牽縮による2~3條の皺襞形成を認め, 尾を把握して持上げると軀幹を右方に屈曲するが如き運動をするもの。

(十)……上記症状が更に進み右下肢に強直性痙攣を来し, 従つて少しく跛行し, 両耳翼を少しく後方に翻転し, 僅かに過敏状態となり, 尾は益々右方に転倚す。

(++)……上記の程度が更に強くなり, 右下肢は臍部を下にして強直性に伸展し地に着け得ず, 軀幹は僅かに右方に屈曲し, 尾も亦尾根部より右方に屈曲している。更に又両耳翼を後方に翻転し, 全身の毛を逆立て過敏状態となつており, 尾を把握して持ち挙げると全身は痙攣を發し軀幹を右方に屈曲する運動をなす。

(+++)……症状が更に進み, 右下肢は臍部を上方向けて強く強直性伸展を来し, 体を僅かに弓状に反らし極めて過敏となる。

而してこの上病勢が更に進めば完全に両下肢共伸展を来し, 少しの刺戟によつても全身強直性に痙攣, 後弓反張を来す。これは死の直前の症状であつて絶対に死より免れない。

### 6. 結果の判定

上記の如き破傷風症状を何等起さず, 終始無症状に経過し生存する場合には無論これを卓効あるものと認めた。そのような群については表に示す如く大体10日, 時には20日間に亘つて観察決定した。なお, 対照群に比し死期の延長を認めるものはその延長時間の程度に従つて優劣を決定した。

## 実 験 成 績

a. Para-aminothiophenol, Ortho-aminophenol 並びに Para-aminosalicylsäure の1000倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

Para-aminothiophenol は初め試獣1頭当り 5mg 及び 3mg を用いた所, 注射後毒性強く現

われ, 共に12時間以内で斃死したるを以て, 毒性を認めざる 1mg を適量としてこれを使用した。

即ちその塩酸塩 1mg に滅菌蒸溜水 0.2cc の割合に加えて溶解しこれを1頭当りの使用量と

した。この時の本溶液の pH は 4.2 乃至 4.4 であつた。Ortho-aminophenol は滅菌蒸留水 1cc 中にその 50mg を含有せしめたるもの (pH 4 に調製) を使用し、1 頭当りその 5mg (0.1cc) を使用した。

Para-aminosalicylsäure はその曹達塩 5mg に滅菌蒸留水を 0.2cc の割合に加えて溶解し、これを 1 頭当り使用量とした。この時本溶液の pH は 7 であつた。

即ち前記量の薬液を上記稀釈毒素液 0.1cc と混合、37°C に 1 時間放置せしめたる後これを

注射せるに、その成績は第 1 表に示す如く、注射後 12 時間において薬剤処置群は何れも対照群に等しい程度に定型的破傷風症状の発現を認めしめ、14 時間、18 時間と全群同様に症状は進行したが、就中対照群が重篤で、遂に注射後 20 時間で 2 頭、24 時間で残り 1 頭が斃れた。然るに薬剤処置群は何れもその症状甚だ重篤化せるに拘わらず、なお生存し得たが、これ又 24 時間に至り略々時を同じうして斃死するに至つた。即ち薬剤処置群は対照群に比し約 4 時間の死期延長である。

第 1 表 Para-aminothiophenol, Ortho-aminophenol 並びに Para-aminosalicylsäure の 1000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注 射 後 経 過 日 数		1 日					生存率
		12時間	14時間	18時間	20時間	24時間	
Para-aminothiophenol 1mg	死					3	$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)	3 (+++)	3 (+++)		
Ortho-aminophenol 5mg	死					3	$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)	3 (+++)	3 (+++)		
Para-aminosalicylsäure 5mg	死					3	$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)	3 (+++)	3 (+++)		
対 照	死				2	1	$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (+++)	3 (+++)	1 (+++)		

b. Para-aminothiophenol, Ortho-aminophenol 並びに Para-aminosalicylsäure の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

前述の如く上記各薬剤は 1000 倍稀釈破傷風毒素に対しては見るべき効果を認めしめなかつたので、この度は更に 10000 倍稀釈破傷風毒素 0.1cc に対してその効果を検討した。而して各薬剤の溶解方法はすべて前の実験と同様である。

その成績は第 2 表に示す如く、注射後 14 時間において各群及び対照群に定型的破傷風症状の発現を見たが、就中対照群においてその症状は最も重篤であつた。次いで 18 時間後には各群何れもその症状の程度は同列となり、24 時間後並びに 30 時間後と症状は略々同等に進行したが、

36 時間後には対照群 3 頭中 2 頭が斃死し残り 1 頭が甚だしく重篤なるに比し、他の各群も等しく重症を呈したが、なお斃死するものなく、40 時間後において対照群の残り 1 頭が斃れ、これと略々時を同じうして爾余の薬剤処置群はその種類の如何を問わず全頭が斃死した。

c. Thiosalicylsäure 並びに Salicylamid の 100 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

曩に與儀の研究に示されている如く、Thiosalicylsäure はその性質上、試験 1 頭当り 5mg 並びに 3mg では夫々毒性が強いために毒性の認められない 1mg を使用することとし、Salicylamid も亦これに準じて 1 頭当り 1mg を使用して比較検討した。

而してこれらの薬剤を溶解するに当つては便

第2表 Para-aminothiophenol, Ortho-aminophenol 並びに Para-aminosalicylsäure  
の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日						生存率
		14時間	18時間	24時間	30時間	36時間	40時間	
Para-aminothiophenol 1mg	死 生	3(+)	3(++)	3(###)	3(###)	3(###)	3	$\frac{0}{3}$
Ortho-aminophenol 5mg	死 生	3(+)	3(++)	3(###)	3(###)	3(###)	3	$\frac{0}{3}$
Para-aminosalicylsäure 5mg	死 生	3(+)	3(++)	3(###)	3(###)	3(###)	3	$\frac{0}{3}$
対 照	死 生	3(++)	3(++)	3(###)	3(###)	1(##)	2 1	$\frac{0}{3}$

宜上4頭分の溶液を作成することとした。即ち Thiosalicylsäure はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.3cc とを加えて溶解し、溶液 pH を 7 ならしめた。又 Salicylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液

0.4cc とを加えて溶解し、pH 8.2 なるを得て、これを使用した。

上記毒素液 0.1cc と薬液混合後の措置は前回同様である。その成績は第3表に示す如く、両薬剤処置群共注射後14時間において何れも定型

第3表 Thiosalicylsäure 並びに Salicylamid 各 1mg の 10000 倍  
稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日		2 日		3 日	5 日	10 日	生存率
		14時間	24時間	40時間	48時間	73時間	120時間	240時間	
Thiosalicylsäure	死 生	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	$\frac{3}{3}$
Salicylamid	死 生	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	$\frac{3}{3}$
対 照	死 生	3(+)	3(###)	3(###)	3				$\frac{0}{3}$

的破傷風症状の発現を何ら認めしめなかつたのに対し、対照群では明らかに症状の発現を認めそれは注射後24時間、40時間と時間の経過するに従い重篤化するに至り、遂に48時間後に尽く斃死するに至つた。然るに、Thiosalicylsäure 群並びに Salicylamid 群共にこれらの時間の経過に拘わらず終始全く無症状に経過し、最終観察日たる10日後にてもなお且つ症状の発現を来さず、極めて元気なるを確認した。

d. Thiosalicylsäure 並びに Salicylamid の 10000倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について（薬液毒素混合直後動物に接種する場合）

毒素に薬液として Salicylamid 或は Thiosalicylsäure を混合し、これを孵卵器中に1時間放置したる後、同混合液を動物に接種して以上の如き好成绩を得たが、薬液による解毒作用が若しもこれよりも頗る迅速に行われるとしたならばその効果は正に臨床的に絶大なものがある

う。これを知る目的を以て特に本項においては、薬液と毒素を混合するや否や直ちにこれを動物に注射してその結果を按じた。

薬液の調製法並びに毒素との混合の割合は曩に述べた如くであるから詳細を省略する。毒素は前同様に10000倍稀釈液0.1ccを用い、これに配するに Salicylamid 1mg, Thiosalicylsäure 1mg を以てし、これを動物1頭当りの接種量とした。

その成績は第4表に示す如く、注射後14時間

において Salicylamid 群には症状の発現を認めなかつたが、Thiosalicylsäure 群と対照群とは症状の発現を認め、しかし対照群がより重篤であつた。時間の経過と共に対照群、Thiosalicylsäure 群共症状愈々重篤化し、対照群は注射後42時間で全頭斃死、Thiosalicylsäure 群は48時間後2頭、51時間後には残りの1頭が遂に斃死するに至つた。一方 Salicylamid 群は注射後24時間に至つて始めて症状の発現を認め、その後時間の経過につれて症状は進行したが、その

第4表 Thiosalicylsäure 並びに Salicylamid 各 1mg の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績 (薬液、毒素混合直後動物に接種する場合)

注射後経過日数		1 日			2 日		3 日		4 日	5 日
		14時間	18時間	24時間	42時間	48時間	51時間	72時間		
Thiosalicylsäure	死 生	3 (+)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	2 1 (++)	1			
Salicylamid	死 生	3 (-)	3 (-)	3 (+)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)
対 照	死 生	3 (++)	3 (++)	3 (++)						

注射後経過日数		6 日	7 日	8 日	10 日	20 日	24 日	30 日	生存率
注射後経過時間									
Thiosalicylsäure	死 生								0/3
Salicylamid	死 生	3 (++)	1 2 (++)	1 1 (++)	1 (++)	1 (++)	1 (+)	1 (-)	1/3
対 照	死 生								0/3

速度は概して緩慢で、注射後7日、8日に夫々1頭宛斃れ、最後の1頭は症状重篤なるもなお生存を続け、20日後より症状は寧ろ次第に軽快し、遂にこの1頭は全く回復するを得た。かくて毒素薬液混合直後においては毒物に対する解毒が甚だ完全ではなかつたが、それでも生存期間の延長並びに3頭の中1頭遂に回復することさえ出来たということは少なくとも Salicylamid の解毒作用の軽視すべからざるものがあるを思

わしめる。

e. Salicylamid 並びに Thiamin の 1000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

曩に與儀の実験において、Thiamin 1頭当り 1mg が 10000 倍稀釈破傷風毒素 0.1cc に対し解毒的に有効なりしを以て、前記実験にて等しく有効性を示せる Salicylamid と更めて比較実験を試みることにし、夫々1頭当り 5mg を使用して1000倍稀釈破傷風毒素 0.1cc に挑むこと

とした。

例により予め4頭分に当る量の薬剤溶液を夫々調製した。即ち Salicylamid はその 20mg に滅菌蒸溜水 1.2cc と N/10 NaOH 液 1.1cc とを加えて全溶せしめた (pH 8.8) ものを使用した。

Thiamin は武田薬品製の 2cc 中 20mg 含有の注射液を用い、これに N/10 NaOH 液 0.6cc を加えて pH 7 ならしめてこれを使用した。

即ち薬液、毒素液を 37°C に1時間接触せ

しめて、後これを皮下に注射せるに、その成績は第5表に示す如く、注射後14時間にして Salicylamid 群並びに Thiamin 群において稍々重篤なる定型的破傷風症状の発現を認めたと、対照群においては更に一段重篤な症状を呈していた。而して18時間後においては Salicylamid 群並びに Thiamin 群共に同程度に症状の進行を認め次第に重症化した。一方対照群にあつては先ず1頭が斃れ、残り2頭も甚だしき症状の重篤化を示した。次いで24時間後においては

第5表 Salicylamid 並びに Thiamin 各 5mg の 1000 倍  
稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日					生存率
		14 時間	18 時間	24 時間	26 時間	30 時間	
Salicylamid	死					3	$\frac{0}{3}$
	生	3 (++)	3 (++)	3 (++)	3 (++)		
Thiamin	死			3			$\frac{0}{3}$
	生	3 (++)	3 (++)				
対 照	死		1	2			$\frac{0}{3}$
	生	3 (++)	2 (++)				

対照群の残り2頭が遂に斃れ、その時 Thiamin 群の全頭が時を同じうして斃死せるを認めた。一方 Salicylamid 群にあつても漸次症状の重篤化を認めたと、注射後24時間にはなお1頭の斃死せるものを出さず、30時間後に遂に3頭同時に斃死したことは、たとえ試獣の生命を救い得なかつたにしろ少なくとも対照群に比し6時間乃至12時間の死期延長を来せるものであつて、Thiamin 群に比較しても亦約6時間の死期延長であつた。

f. Salicylamid, Nicotinylamid 並びに Isonicotinylamid の 1000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

各薬剤何れも1頭当り夫々 1mg を使用することとし、例により夫々その4頭分の溶液を予め調製した。即ち Salicylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.4cc と

を加えて溶解 (pH 8.2)、Nicotinylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.02cc とを加えたる溶液 (pH 7) を使用した。更に Isonicotinylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.04cc とを加えて溶解したが、その pH は7に該当した。薬液・毒素の混合措置は前項におけると同様である。その成績は第6表に示す如く、注射後14時間において各群共に定型的破傷風症状の発現を認めしめたが、その発現程度は対照群において最も顕著であつた。18時間後では Salicylamid, Nicotinylamid 並びに Isonicotinylamid の各群共に略々同程度に症状の進行を認めしめたが、対照群においては早くも3頭中1頭が斃れ、残り2頭も甚だ重篤な症状を呈するに至つた。次いで24時間後対照群の残り2頭も遂に斃れ、これと略々時を同じうして Nicotinylamid 群、



Isonicotinylamid 群全頭の斃死せるを認めた。いわばこれらは対照群に対し死期の延長殆んど認めしめるに足りなかつたが、一方 Salicylamid 群では24時間後において症状重篤なるに拘わら

ず未だ斃死せるものを出さず、漸く40時間後に至つて初めて全頭の犠牲を認め、ここに対照群に比し少なくとも16時間乃至22時間の死期延長を確認した。

第6表 Salicylamid, Nicotinylamid 並びに Isonicotinylamid 各 1mg の 1000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日				生存率
		14 時間	18 時間	24 時間	40 時間	
Salicylamid	死				3	$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)	3 (###)		
Nicotinylamid	死			3		$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)			
Isonicotinylamid	死			3		$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)			
対 照	死		1	2		$\frac{0}{3}$
	生	3 (++)	2 (###)			

g. Thiosalicylsäure, Nicotinylamid 並びに Isonicotinylamid の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

各薬剤 1 頭当り夫々 1mg を使用することとし例によつてその 4 頭分に当る溶液を予め調製す。即ち Thiosalicylsäure はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.3cc とを加え

て溶解 (pH 7), Nicotinylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.02cc とを加えて溶解し pH 7 ならしめてこれを使用した。Isonicotinylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.04cc とを加えて溶解したが、これ又その pH は正に 7 なるに該当した。

第7表 Thiosalicylsäure, Nicotinylamid 並びに Isonicotinylamid 各 1mg の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日			2 日		4 日	6 日	8 日	10 日	生存率
		14 時間	18 時間	24 時間	40 時間	48 時間					
Thiosalicylsäure	死										$\frac{3}{3}$
	生	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	3 (-)	
Nicotinylamid	死				3						$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)	3 (###)							
Isonicotinylamid	死				3						$\frac{0}{3}$
	生	3 (+)	3 (++)	3 (###)							
対 照	死				3						$\frac{0}{3}$
	生	3 (++)	3 (###)	3 (###)							

斯くして上記薬液を 10000 倍稀釈毒素液 0.1 cc と混じ 37°C に 1 時間接触せしめて後試験の皮下に注射せるに、その成績は第 7 表に示す如く、注射後 14 時間において Thiosalcyssäure 群は無症状なりしに拘わらず、Nicotinylamid 群、Isonicotinylamid 群並びに対照群においては定型的破傷風症状の発現を認め、就中対照群においてその症状の最も重く且つ顕著なるを認めた。次いで 18 時間後及び 24 時間後と時間の経過に伴い Nicotinylamid、Isonicotinylamid 並びに対照群において何れもその症状は悪化する一方で、遂に 40 時間後この 3 群共略々同時に全試験の斃死を来した。即ち Nicotinylamid 群、Isonicotinylamid 群共に対照群に比して何ら死期の延長を認めしめなかつたに拘わらず、Thiosalcyssäure 群においては最終観察日たる 10 日後に至つても全頭無症状、元気なるを確認した。

h. Salicylamid、Isonicotinylhydrazid 並びに Para-aminosalicylhydrazid の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

各薬剤 1 頭当り夫々 1mg を使用、但し予め夫々その 4 頭分を調製すべく、即ち Salicylamid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.4cc とを加えて溶解し、pH 8.2 ならしめ、isonicotinylhydrazid はその 4mg に滅菌蒸溜水

0.8cc を加えて溶解せる pH 7 の溶液を使用した。又 Para-aminosalicylhydrazid はその 4mg に滅菌蒸溜水 0.8cc、N/10 NaOH 液 0.2cc を加えて (pH 8.4) これを溶解使用した。

薬液と毒素混和後の処置は前項におけると同様である。その成績は第 8 表に示す如く、注射後 14 時間において対照群では明らかに破傷風症状の発現を見たが、Salicylamid 群、Isonicotinylhydrazid 群並びに Para-aminosalicylhydrazid 群においては何れも未だ全く症状の発現を認め得なかつた。而して 24 時間において対照群は症状重篤化の一途を辿つたが、Isonicotinylhydrazid 群においてはこの時漸く症状の発現を認め得るに止まり、Salicylamid 群及び Para-aminosalicylhydrazid 群においては未だなお症状の発現を来すことがなかつた。次いで 40 時間後対照群は症状愈々重篤となつたが、Isonicotinylhydrazid 群、Para-aminosalicylhydrazid 群は両者略々同程度に症状徐々に進行、48 時間後に至り対照群は遂に全頭略々同時に斃死、Para-aminosalicylhydrazid 群、Isonicotinylhydrazid 群は漸く症状の重篤化を来したが、今回も Salicylamid 群において恰も曩の成績を更に確認せしめるものの如く。終始無症状に経過しつつあるを認めた。而して Isonicotinylhydrazid 群、Para-aminosalicylhydrazid 群においては両者共に注

第 8 表 Salicylamid、Isonicotinylhydrazid 並びに Para-aminosalicylhydrazid 各 1mg の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数	1 日		2 日		3 日		4 日	5 日	10 日	20 日	生存率
	14 時間	24 時間	40 時間	48 時間	62 時間	72 時間					
Salicylamid	死 生	3(-) 3(-)	3(-) 3(-)	3(-) 3(-)	3(-) 3(-)	3(-) 3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3/3
Isonicotinylhydrazid	死 生	3(-) 3(+)	3(++) 3(++)	3(++)	3(++)	3(++)	3				0/3
Para-aminosalicylhydrazid	死 生	3(-) 3(-)	3(++) 3(++)	3(++)	3(++)	3(++)	3				0/3
対 照	死 生	3(+)	3(++)	3(++)	3						0/3

射後4日迄生存したが遂に略々時を同じうして全頭が斃死，後二者の死期延長は対照群に比して48時間の永きに及んだ。それにしても試獣の生命を結局救い得なかつたのであるが，一方 Salicylamid 群はこの時間を経てなお全頭無症状，元気に経過し，その後20日目に及んでも更に発病するものを見なかつた。

i, Salicylsäures Natrium 5mg 並びに 1mg の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について既に施行せる数次の実験において，Thiosalicylsäure 並びに Salicylamid が破傷風毒素解毒に顕著な成績を挙げ得ることを確認したので，ここに対照として Salicylsäures Natrium の 100

00倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について検討した。

Salicylsäures Natrium はその 5mg と 1mg を夫々型の如く 10000 倍稀釈毒素液 0.1cc と予め 37°C に 1 時間接触せしめた後注射したのであるが，先ず薬物を溶解するに当つては 4 頭分として夫々 20mg 及び 4mg を滅菌蒸溜水 0.8cc に溶解し，1 頭当りその 0.2cc 宛を使用した。溶液の pH は 7 で何らの修正を必要としなかつた。

その成績は第 9 表に示す如く，注射後 14 時間において対照群にあつては既に可成り重い定型的破傷風症状の発現を認めたるも，5mg, 1mg

第 9 表 Salicylsäures Natrium の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日			2 日		3 日		生存率
		14時間	20時間	24時間	36時間	48時間	63時間	72時間	
5mg	死 生	3 (±)	3 (++)	3 (++)	3 (+++)	3 (+++)	1 2 (++)	2	$\frac{0}{3}$
1mg	死 生	3 (±)	3 (++)	3 (++)	3 (+++)	3 (+++)	3 (+++)	3	$\frac{0}{3}$
対 照	死 生				3				$\frac{0}{3}$

薬物処置群では極めて軽い症状の発現を認めたるに過ぎず，但し注射後 20 時間，24 時間を経るに従い，対照群に遅れ乍ら漸次症状の進行を呈した。而して 36 時間後において対照群は全頭斃死，薬物処置両群は重篤なる症状を呈しつつなおよく生命を保持したが，これも 63 時間後には 5mg 薬物処置群中の 1 頭が斃死，本群の残り 2 頭と 1mg 薬物処置群の全頭は注射 72 時間後にその生命を断つに至つた。

かくて 5mg 薬物処置群では 27 乃至 36 時間，1mg 薬物処置群では 36 時間の死期延長を認めたとになる。

j, Pyrazinamid 並びに Glycyrrhizin の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

各薬剤共夫々 1mg を以て 稀釈毒素液 0.1cc

と混和する量となし，各々のマウスに注射した。而して各薬剤を溶解するに当つて Pyrazinamid は 4 頭分としてその 4mg を滅菌蒸溜水 1.2cc で溶解したが，その pH は 7 で正に使用に値した。Glycyrrhizin はその 4mg に N/10 NaOH 液 0.2cc を加えて溶解，更に滅菌蒸溜水 1.0cc を混和せる後各頭当りその 1/4 を使用した。溶液の pH は 7 となることが出来た。

毒素と混合後注射迄の措置は前項における如くである。その成績は第 10 表に示す如く，注射後 14 時間において各群共に定型的破傷風症状の発現を認めたるが，その程度は対照群に最も重く，Pyrazinamid 群これに次ぎ，Glycyrrhizin 群は最も軽微であつた。注射後 18 時間，24 時間，36 時間と時を逐つて症状は次第に進行し，特に

第10表 Glycyrrhizin 並びに Pyrazinamid 各 1mg の 10000 倍  
稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日				2 日		3日	4日	5日	6日	7日	生存率
		14時間	18時間	24時間	36時間	40時間	48時間						
Glycyrrhizin	死 生	3(±)	3(±)	3(+)	3(++)	3(###)	3(###)	3(###)	3(###)	1 2(##)	2(##)	2	$\frac{0}{3}$
Pyrazinamid	死 生	3(+)	3(++)	3(###)	3(###)	3(###)	3						$\frac{0}{3}$
対 照	死 生	3(++)	3(###)	3(###)	3(###)	3							$\frac{0}{3}$

対照群, Pyrazinamid 群において症状は甚だ重篤化せるを認めしたが, Glycyrrhizin 群はこれらに比しなお症状幾分軽く, 元気を保持していた。而して40時間後に対照群は尽く殆んど時を同じうして斃れたが, Glycyrrhizin 群, Pyrazinamid 群はなお斃れることなく, 48時間後に至つて Pyrazinamid 群が先ず同時に斃れ, Glycyrrhizin 群においては3日, 4日と重篤なる症状の下になお生命を保持しつつ, しかし遂に注射後5日に至り1頭, 7日後に残り2頭が斃死するに至つた。

即ち Pyrazinamid 群においては8時間, Glycyrrhizin 群においては実に80時間乃至128時間の死期延長を来したことになり, 特に後者の使用毒量に対する部分的解毒作用の強力なるを明らかに認めることが出来た。

k, Salicylamid 並びに 2-Aminothiazolyl-5-

amid の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

各薬剤1頭当り夫々 1mg を使用, 予め夫々その4頭分を調製すべく, 即ち Salicylamid はその 4mg に滅菌蒸留水 0.8cc と N/10 NaOH 液 0.4cc とを加えて溶解し, pH 8.2 ならしめ, 2-Aminothiazolyl-5-amid はその 4mg に滅菌蒸留水 0.8cc を加えて溶解せる pH 7 の溶液を使用した。毒素と混合後注射迄の措置は前項における如くである。その成績は第11表に示す如く, 注射後14時間において対照群並びに 2-Aminothiazolyl-5-amid 群には明らかに症状の発現を認めしたが, 対照群の方がより重篤であつた。しかし Salicylamid 群では注射後48時間に至つて始めて軽度乍ら症状の発現を認めたに過ぎなかつた。前二者は時間の経過と共に症状進行し, 対照群は注射後30時間において全頭尽く

第11表 Salicylamid 並びに 2-Aminothiazolyl-5-amid 各 1mg の  
10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数		1 日				2 日		3日	5日	10日	15日	生存率	
		14時間	19時間	24時間	30時間	48時間	63時間						67時間
Salicylamid	死 生	3(-)	3(-)	3(-)	3(-)	3(±)	3(+)	3(+)	3(+)	3(+)	3(±)	3(-)	$\frac{3}{3}$
2-Aminothiazolyl-5-amid	死 生	3(+)	$\frac{1(+)}{2(++)}$	3(##)	3(##)	3(##)	2 1(##)	1					$\frac{0}{3}$
対 照	死 生	3(++)	3(###)	3(##)	3								$\frac{0}{3}$

略と同時に斃死したのに較べ、2-Aminothiazolyl-5-amid 群では症状の進行は概して緩慢に推移し、注射63時間後に2頭、67時間後には残り1頭が遂に斃死するに至り、ここに対照群に比して15時間乃至19時間の死期延長を認めた。一方 Salicylamid 群は症状の発現後もその進行程度は中等度を越えることなくやがて停止するに至つてそのまま経過し、注射後15日目よりは症状は寧ろ次第に軽快し、遂に全頭全く回復するを得た。即ちここに Salicylamid 群がたとえ一時症状の発現を見たとはいえ中等度を越えることなく停止して些かも重篤化を認めしめず、やがて全頭回復するを得たことは、前述数次の実験成績と共に本薬剤の有効性を更に確認せしめたものといふことが出来る。

1, Achromycin, Aureomycin 並びに Terramycin の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響について

化学構造上一種の Salicylamid とも目すべき Achromycin, Aureomycin 並びに Terramycin

の解毒力を検討することは一種の興味を喚起する。

即ち Achromycin-HCl, Aureomycin-HCl, Terramycin-HCl (但し後者は力価 875mcg/mg) を試獣1頭当り上記稀釈の毒素 0.1cc に作用せしむるに際し 1mg 宛を使用することとし、何れもその純末 (4mg) に滅菌蒸溜水 (1.5cc) と N/10 NaOH 液 (0.4cc) とを加えて溶解し、pH 7 となして使用した。

毒素と混合後注射迄の措置は前項におけると同様である。その成績は第12表に示す如く、注射後14時間において例の如く対照群は既に可成りの破傷風症状を発現していたが、他の3群共にこれに較ぶれば遙かに軽微な症状を認めるに過ぎず、17時間後も略と変化なく経過したが、20時間後に至り俄然4群共に症状の進行を来した。但し尤も対照群は症状の発現が早かつた丈に最も重く、Achromycin, Aureomycin 処置群の順でこれに続き、Achromycin 処置群において最も軽微であつた。而して注射後48時間に

第12表 Achromycin, Aureomycin, Terramycin 各 1mg の 10000 倍稀釈破傷風毒素に及ぼす影響についての成績

注射後経過日数	1 日			2 日			3 日			5 日			生存率
	14時間	17時間	20時間	24時間	30時間	48時間	64時間	72時間	88時間	91時間	120時間		
Achromycin	死 生	3(±)	3(±)	3(++)	1(+) 2(++)	1(+) 2(++)	3(++)	2 1(++)	1				0 3
Aureomycin	死 生	3(±)	3(±)	1(+) 2(++)	2(+) 1(++)	1(+) 2(++)	3(++)	1 2(++)	1 1(++)	1			0 3
Terramycin	死 生	3(±)	3(±)	3(+)	3(++)	3(++)	3(++)	3(++)	3(++)	1 2(++)	1 1(++)	1	0 3
対 照	死 生	1(+) 2(++)	1(+) 2(++)	3(++)	3(++)	3(++)	3						0 3

至り対照群の3頭が略と同時に斃死、この時他の3群においてはなお斃れたものがなかつたが、64時間に至つて Aureomycin 処置群の2頭と Achromycin 処置群中の1頭が、次いで72時間に至つて Achromycin 処置群と Aureomycin 処置群中残りの各1頭が、88時間には Aureo-

mycin 処置群中の最後の1頭が斃れ、ここに対照群に対し Achromycin 処置群は16時間乃至24時間、Aureomycin 処置群は16時間乃至40時間の死期延長を認めしめた。然るに Terramycin 処置群にあつては症状の重篤化に拘わらずなお生存を続け、88時間後に始めて1頭、91時間後

に他の1頭が斃れ、残る1頭は注射後120時間において斃死せるを認めた。かくて Terramycin

処置群において40時間乃至72時間の死期延長を観察し得た。

## 考 按

以上、本研究の企図する所、即ち破傷風毒素を生体内において解毒し得る物質探究の第一歩として曩に同僚與儀は Thiosalicylsäure の注目すべき作用に触れた。今本毒素を以て体重18~20グラムのマウスを充分に斃すに足る量、即ち10000倍稀釈破傷風毒素液 0.1cc に対し本物質 1mg を反応中性、温度 37°C、接触時間1時間という条件において作用せしむる時は、試獣をして完全に中毒から免れしめることが出来た。而して本物質はこの量において単独にも試獣をして中毒せしむることがなかつた。従来、文献によれば Glutathion に若干に斯かる作用の保有せられることが報告されていたが、その成績は甚だ不定で、Thiosalicylsäure に及ぶべくもなかつた。

然るに今回の報告によつて、著者は新たに Salicylamid において同一条件の下に、Thiosalicylsäure に勝るとも劣らざる解毒力を発見することが出来た。著者は更に数種の芳香族、酸 Amid、Hydrazid 並びに二三異項環化合物、同じく酸 Amid、酸 hydrazid にも検討の手を伸べ、これらを以て予め毒素と接触せしめ解毒的傾向、言いかえれば試獣の死期を延長せしめ得ることを見出したが、何れもその力は甚だ劣り、前記 Salicylamid のそれを以て最とした。なお所謂今日抗生剤として知られ Tetracyclin 化合物に属する Achromycin, Aureomycin, Terramycin 等は一種の Salicylsäure 系 Amid に属するが、これらにも明らかに若干の解毒傾向が認

められたことは甚だ興味深い。それにしても強力なる解毒力を發揮するには單なる Salicylamid に若くはないのである。更にこの Salicylamid が曩に與儀により見出された Thiosalicylsäure と化学構造上甚だ相似せる点は注目すべきものである。(Thiosalicylsäure の Amid に関しては pH の関係から藥物特有の解毒力に関し、これを立証することが出来なかつた。)

唯、惜しむらくは本物質の毒素中和力は 37°C、1時間において一応認められたとはいえ、左程迅速とはいひ難く、かくて同物質を毒素と混和直後に動物に注射しても動物をして中毒死から免れしめることは容易ではなかつたのであるが(但し死を免れ得た試獣もないことはなかつた)、曩にも触れたように、斯かる方面の研究を遂行せる報告において著者等が今回見出し得た以上物質は初めてその確實なる成績を与えたものとして、本研究の最終目的に向つて将来の發展を約束するであろうことを切に信じた。又一面に斯様な研究が毒素の作用簇に関する実体について何らの寄与をなさずとは誰がこれを予測し得るであろうか。又最後に一言すべきは、破傷風毒素に対する Glycyrrhizin の解毒作用が最近の文献に記載されているが、今回の吾報告において破傷風毒素の解毒に関し本物質の為す所甚だ寡なく、少なく共 Salicylamid のそれには到底及び得ざることが明らかになつたことである。

## 結 論

本研究において著者は各種フェノール、オキシカルボン酸、酸アミド、ヒドラゼッド等化合物の破傷風毒素解毒力について検討し、一定の条件においてその力の最も強きものに Salicyla-

mid を加えることが出来た。

拙筆するに臨み御懇篤な御指導と御校閲とを賜つた恩師日置教授に深甚の謝意を表す。

文 献

- 1) 奥儀 : 十全医学会雑誌, 56, 591, 1954.  
2) Léon Binet, Charles Jaulmes et George Weller : C. r. Acad. Science, 204, 1761, 1937.  
3) 市川収・斎藤保二 : 医学と生物学, 14, 268, 1949.
-