

「ヂフテリー」の実験治療学的研究

第 7 報

ヂフテリー菌に對するペニシリン作用の 他藥物に依る増強に就て

金沢大学医学部日置内科教室(主任 日置教授)

小 林 茂 和

Shigekazu Kobayashi

(昭和25年1月5日受附)

緒 言

大凡ヂフテリー症治療方針の大綱は菌を対象とするもの、毒素を対象とするものに分たれる。菌を対象とするもの、即殺菌的に作用する物質で的確なものがあれば夫はヂフテリー増悪の緩和に役立ち、保菌者の絶滅に資するところが寡くないであらう。

併しヂフテリーに於ける急速な中毒現象を防止し、之を死から免れしむるには今日毒素を中和すると信ぜられる血清療法を早期に施行するに若くはない。毒素中和能を有するものとして臨床に役立ち得るものには猶ビタミンC¹⁾をも挙げるべきである。而して最近にはグリチルリチン²⁾の解毒作用が報告されているが、その実地應用に至つては未だ成績の如何を知る処がない。斯くて今日ヂフテリー治療に於て最も抛るべきものとしては血清療法あるのみであるが、このものとても血清病の出現が氣遣はれ、保菌者、重症ヂフテリー等の問題を解決し得ざることを甚だ以て遺憾とする。翻つて殺菌的に作用するもの研究に就ては随分久しく研究が続けられているが、未だに之を適用して確實なものが知られていない。最近に属する報告では吾教室に於ける佐々木³⁾の論著に於て極めて興味あるものが見出された。即氏はウスニン酸

がヂフテリー菌感染海猿に對し治療効果あることを見出し、且夫がヂフテリー毒素をも中和し得る能力を有することを知つたのである。併し之とても迅速に吸収される毒素を生体内に於て瞬時に中和すると云ふのには稍、遠いのであつて、此意味に於てその臨床的成績を余り多く期待することは困難であらう。

更に近來の業績として検討さるべきものにヂフテリー菌に對するペニシリンの強力作用がある。即 Abraham⁴⁾, Chain⁵⁾, Fleming⁶⁾, はペニシリンが試験管内でヂフテリー菌に對し發育抑制作用あることを述べ、Paul⁷⁾ は咽喉部の局所へペニシリンを噴霧することにより保菌者の菌を除き得たと報告し、Kocher, Siemsen⁸⁾ は喉頭ヂフテリー保菌者の局所に之を塗布してその75%を1—10日以内に菌陰性ならしめたと報告してゐる。但筋注にて7日連用してもその効はなかつた。又 Reilly¹⁰⁾ はヂフテリーの場合ペニシリンはその最も起し易い第二次感染を予防して結局ヂフテリー症に好影響を及ぼすものではないかと云つてゐる。斯くてペニシリンのみに依つてヂフテリーを征服し去るには依然遠いものを感じずにはいられないのがその実情であると云はなければならぬ。

併し未だ之を全然用ふるに足らずとして放棄するにも及ばない。吾教室の佐々木¹¹⁾は曩に Pyrimison がデフテリー菌に対し強力なペニシリン増強作用あることを試験管内に於て見出した。然るに本物質は元來水に難溶性のものであつたので、次で著者¹²⁾は易溶性の誘導体 Pyrimisol を使用し、同様共同効果の期待せら

れるものであるやに就き検討したのであつたが、このものでは共同作用が比較的弱力であつたので遂に生体実験に迄及ぶことをしなかつた。本報文では斯くの如き方面の研究に猶主力を注ぎ、若しや上掲物質の如きペニシリン増強物質が他に存在するや否やに就き追究を企てた。

実 験

実験材料及実験方法

- (1) ペニシリン; タケダ製ペニシリン Na 鹽。
- (2) 菌種; デフテリー菌(Park-Williams, No. 8)。
- (3) 培養液; 普通ブイオン (pH=7.4)。
- (4) 被檢藥物; 後述の豫備試験成績表を参照せられたい。

(5) 菌液の調製法; 「抗菌性物質の増強に関する研究」第6報¹²⁾に同じ。

(6) 被檢藥物の仕込;

(A) 試験開始に當つて先藥物そのものの抗菌力を檢せねばならぬ。被檢物質中水に可溶のものは滅菌蒸溜水 0.5c.c に藥物 50mg を溶解した10倍稀釋液を原液として滅菌する。水に不溶のものは96%アルコールに、アルコールに難溶のものはピリヂン、デオキサンを溶媒として夫々10倍稀釋液となし、原液を調製した。(但時には溶媒 1cc に藥物 10mg を溶解して 100倍稀釋液を原液とした)。

次に滅菌小試験管を1列用意し、第2管以下には培養液 2cc 宛分注し置き、第1管には培養液 3.6cc を入れ、更に之に被檢藥物の原液10倍又は 100倍稀釋液 0.4cc を混加して全量を 4.0cc となし、その 2.0cc を第2管に移し順次に遞減的倍々稀釋を行ひ、之に前記菌浮游液の 1 滴宛を滴下し、37°C の孵卵器内に納めて抗菌力を檢する。此の場合第1管の藥物稀釋倍数は 100倍又は 1000倍になつてゐる。

(B) 上述の豫備試験に依つて被檢藥物の抗菌力を知り、藥物の發育抑制作用を認めない最初の試験管に相当する稀釋倍数以上に被檢藥物の稀釋倍数がなる如く普通ブイオン (pH=7.4) に添加して置く。但若し抑制作用が溶媒の作用を超過し得なかつた場合には溶媒の影響を及ぼさない適宜の稀釋倍数を使用した。斯くすれば菌の發育に対するブイオンの藥物添加に依る影響は毫末も存しない。猶具体的に云へば、例へば豫

備試験に於て 16,000 倍に於て最早菌の發育を抑制するに足る作用が認められなかつた場合には之より以上の稀釋倍数即 1:20,000 又は 1:40,000 倍に本物質を含有する培養液を用意するのである。

(7) 本試験;

前記 (B) の藥物添加培養液を 1 列の小試験管の第 1 管に 3.6cc 第 2 管以下に何れも 2.0cc 宛分注する。又別に対照として同じく 1 列の小試験管を用意し、之に藥物を添加しない培養液を全く前同様に分注し置く。次に夫々第 1 管にペニシリン 0.4cc を加へて全量 4.0cc となし、ペニシリン原液に対する稀釋度を 10 倍となす。斯くてその 2.0cc を第 2 管に移し、同様第 3 第 4 管へと移して遞減的に倍々稀釋を行ふ。最後に各試験管に菌液を滴下して發育阻止及殺菌作用を檢し、兩試験管列の成績を比較する。

(8) 判定;

「抗菌性物質増強に関する研究」第 6 報に同じ。

註; 豫備試験により藥物そのものの抗菌價を檢する際、被檢物質を溶解するに用ひる溶媒それ自身の菌に対する抗菌價を先以て檢する必要がある。即 96% alcohol, pyridine, dioxan の菌發育阻止力及殺菌力は夫々 1:20 倍 1:10 倍、1:80 倍及 1:40 倍、共に 1:10 倍である。依つて藥物の 1:10 倍稀釋液を原液とする藥物の豫備試験に於ける第 1 管の溶媒の濃度は 1:10 倍なる故 alcohol は第 2 管 (1:20 倍)、pyridine は第 4 管 (1:80 倍)、dioxan は第 2 管 (1:20 倍) 迄溶媒の作用に過ぎない。言換へれば、豫備試験に於ける第 1 管の藥物濃度が 1:100 倍 (又は 1:10000 倍) のときは第 2 管の藥物濃度 1:200 倍又は 1:2,000 倍迄は alcohol, dioxan, 第 4 管の藥物濃度 1:800 倍又は 1:8,000 倍) 迄は pyridine の作用である。

実験成績

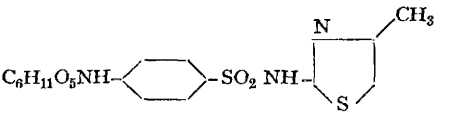
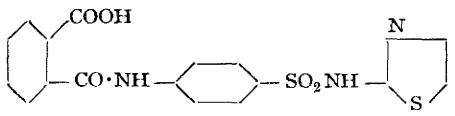
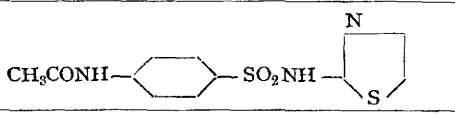
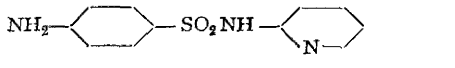
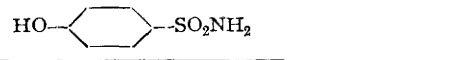
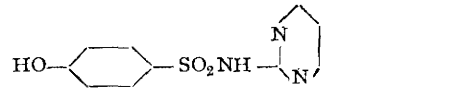
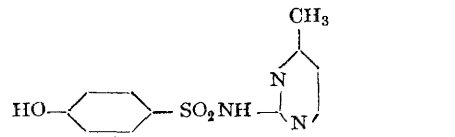
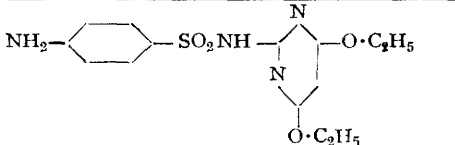
(I) 予備試験

供試薬物56種の中龔に本研究に於て佐々木¹³⁾が指摘した 3,6-Diamino-10-methylacridinium-chloride, 同 bromide, 同 jodide, 2-Aethoxy-6,9-diamino-acridinlactate, Usnic acid, Thiazine, Phenoxazine 誘導体及 8-Oxyquinoline の如くデフテリー菌に対して強力な抗菌力を有するものはなく, 比較的高い抗菌力を示したものでは Guanofuracine (発育阻止力 1:64,000倍,

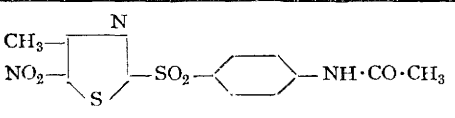
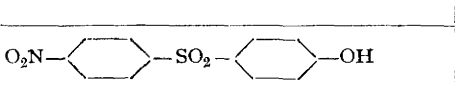
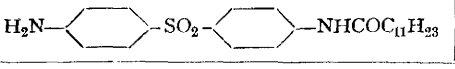
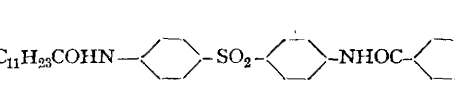
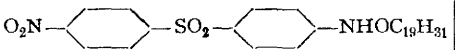
殺菌力 1:32,000 倍) を挙げ得るのみであつた。次で N⁴-Acetylsulfathiazole, N⁴-Phthalylsulfathiazole, 4,6-Diethoxypyrimidyl (2)-4'-Aminophenylsulfonamide, 2-Amino-4-chloropyrimidyl (6)-4'-nitrophenylether, 2-Aminopyrimidyl(4)-5-nitropyridylether, n-Amylresorcine 及 Thymoquinone が孰れも発育阻止力 1:32,000 倍, 殺菌力 1:16,000 倍を示した。而して爾余のものは阻止, 殺菌共に 1:10,000 倍以下であつた。詳細は表示の如くである(第1表)。

第1表 予備試験成績 Sulfonamides

番 號	分 子 式	構 造 式	溶 媒	24時間菌 發育阻止 限界度濃 (同殺菌力)
1	4-Sulfonamide-2', 4'- diaminoazobenzole (Prontosil rubrum)		(A)	2.000
2	Sulfamine		(P)	8.000
3	N ¹ -Acetoaminobenzene- sulfonamide		(W)	<200
4	Sulfaguanidine		(A)	800
5	N ⁴ -Aminomethyl- benzenesulfonamide (Marfanile)		(A)	1.600
6	Sulfamerazine		(P)	8.000
7	Na-Salt of sulfamerazine		(W)	<200
8	Sulfathiazole		(A)	2.000
9	Na-Salt of sulfathiazole		(W)	<200

10	4-Methylsulfathiazole glucoside		(W)	<1.000
11	Phthalylsulfathiazole		(P)	32.000 (16.000)
12	N ⁴ -Acetylsulfathiazole		(P)	32.000 (16.000)
13	Sulfapyridine		(P)	8.000
14	4-Hydroxybenzenesulfonamide		(W)	1.000
15	4-Hydroxybenzenesulfone-(2') pyrimidylamide		(W)	1.000
16	4-Hydroxybenzene-(2') -4'-methylpyrimidylamide		(W)	<1.000
17	4,6-Diethoxypyrimidyl(2) -4'-aminophenylsulfonamide		(P)	32.000 (16.000)

Sulfones

1	4-Methyl-5-nitrothiazolyl(2) -4'-acetaminophenylsulfone		(P)	2.000
2	4-Nitro-4'- hydroxydiphenylsulfone		(A)	4.000
3	4-Amino-4'- laurylamino-diphenylsulfone		(A)	2.000
4	4-Laurylamino-4'-phthalyl -(1)amino-diphenylsulfone		(W)	1.000
5	4-Nitro-4'-chaulmoogryl -aminodiphenylsulfone		(A)	2.000

6	4,4'-Diaminodiphenylsulfone -N ⁴ , N ^{4'} -diglucoside		(W)	1.000
---	---	--	-----	-------

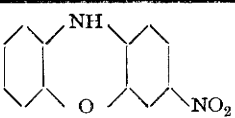
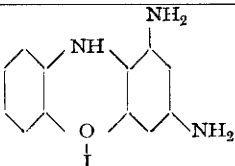
Ethers

1	2-Aminopyrimidyl(4) -5'-nitropyridylether		(P)	32.000 (16.000)
2	2-Amino-4-chloropyrimidyl(6) -4'-nitrophenylether		(P)	32.000 (16.000)
3	2-Amino-4-chloropyrimidyl(6) -4'-nitro-2',6'-dibromo- -phenylether		(P)	8.000
4	2-Amino-4-chloropyrimidyl(6) -4'-methylsulfathiazolyether		(P)	8.000

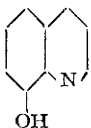
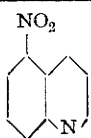
Thiazine derivatives

1	Thiazone		(A)	1,024,000 (256.000)
2	Phenothiazine		(P)	128,000 (64,000)
3	3-Nitrophenothiazine		(P)	128,000 (64,000)
4	1,3-Diaminophenothiazine		(W)	128,000 (64.000)

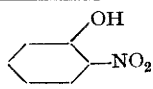
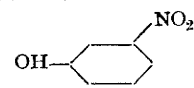
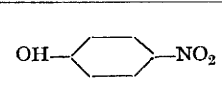
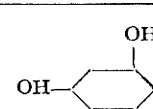
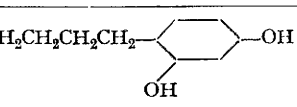
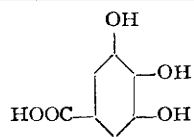
Phenoxazine derivatives

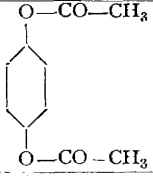
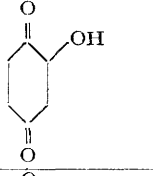
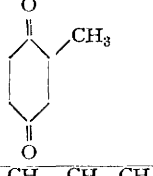
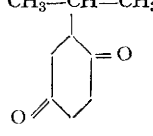
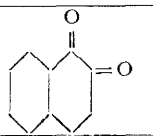
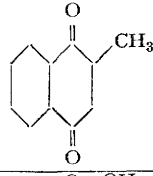
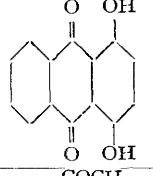
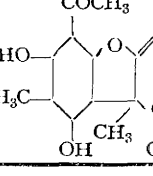
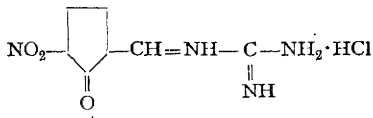
1	3-Nitrophenoxazine		(P)	64,000 (32,000)
2	1,3-Diamino-10-iodophenoxazine		(W)	64,000 (64,000)

Quinoline derivatives

1	8-Oxyquinoline		(A)	256,000 (128,000)
2	5-Nitroquinoline		(A)	4,000

Phenols & Quinones

1	o-Nitrophenol		(A)	<u>2,000</u>
2	m-Nitrophenol		(A)	<u>2,000</u>
3	p-Nitrophenol		(A)	<u>2,000</u>
4	Catechol		(W)	8,000
5	n-Amylresorcine	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ 	(A)	32,000 (16,000)
6	Pyrogallic acid		(A)	<u>2,000</u>

7	Diacetylquinone		(A)	<u>2.000</u>
8	2-Hydroxy-p-benzoquinone		(A)	<u>2.000</u>
9	Toluquinone		(A)	8.000
10	Thymoquinone		(A)	32.000 (16.000)
11	β -Naphthoquinone		(A)	8.000
12	2-Methyl-1,4-naphthoquinone		(A)	<u>2.000</u>
13	Quinizarine		(A)	<u>2.000</u>
14	Usnic acid		(W)	250,000 (125,000)
Furanderivative				
1	Guanofuracine		(W)	64.000 (32.000)

Others

1	Urea	<chem>O=C(N)N</chem>	(W)	<100
2	Diphenylamine	<chem>c1ccc(cc1)Nc2ccccc2</chem>	(A)	8.000
3	Acetanilide	<chem>c1ccc(cc1)NC(=O)C</chem>	(D)	800
4	Phenylacetic acid	<chem>c1ccc(cc1)CC(=O)O</chem>	(A)	2.000
5	4-Aminobenzoic acid	<chem>Nc1ccc(cc1)C(=O)O</chem>	(A)	2.000
6	4-Acetaminophenylsulfonic acid	<chem>CC(=O)Nc1ccc(cc1)S(=O)(=O)O</chem>	(A)	8.000

- 註 1. (W), (A), (P), (D) は夫々溶媒の滅菌蒸溜水, alcohol, pyridine, dioxan を示す。
 2. —印は溶媒の作用を超過し得なかつたことを示す。
 3. <200, <1000 は夫々既に 1:200 倍, 1:1000 倍溶液にて菌の發育阻止作用を有さなかつたことを示す。
 4. 24時間菌發育阻止限界濃度欄中 () 内は24時間目の殺菌力を表す。

(II) 本試験成績

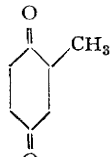
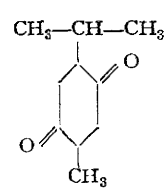
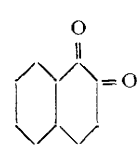
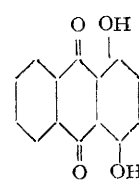
被檢物質56種の中 Sulfonamide 誘導体の Sulfamine, Marfanile, Sulfathiazole, Na-salt of sulfathiazole 及 Sulfapyridine, Quinone 誘導体の Toluquinone, Thymoquinone, β -Naphtho-

quinone, Quinizarine 並 Phenol 誘導体の Pyrogallallic acid の10種がデフテリー菌に対して2—4 倍の Penicillin 増強作用を認めたのでその詳細を次に表にて示す(第2表)。

第2表 本 試 験 成 績

番 號	薬 物 (溶 媒)	24時間菌 發育限界 濃度	抗 菌 價	薬物添 加濃度	ペニシリンの抗菌價							増 強 倍 數			
					時 間	10	20	40	80	160	320		640	對照	
	Penicillin		阻 止 作 用		24	—	—	—	+	+	++	++	++		
					48	—	—	—	+	+	++	++	++		
					24	—	—	—	+	+	++	++	++		
					48	—	—	—	+	+	++	++	++		
1	Sulfamine (P)	8.000	阻 止 作 用	20,000	24	—	—	—	—	—	±	++	++	4	
					48	—	—	—	—	—	±	++	++	4	
					24	—	—	—	—	—	±	+	++	4	
					48	—	—	—	—	—	±	+	++	4	
	<chem>Nc1ccc(cc1)S(=O)(=O)N</chem>	8.000		殺 菌 作 用	20,000	24	—	—	—	—	—	+	++	++	4
						48	—	—	—	—	—	+	++	++	2
						24	—	—	—	—	—	+	++	++	2
						48	—	—	—	—	—	+	++	++	2

2	Marfanile (A)	<chem>NH2CH2-C6H4-SO2NH2</chem>	1.600	阻止作用	10,000	24	-	-	-	-	±	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
			1.600	殺菌作用	10,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0
3	Sulfathiazole (A)	<chem>NH2-C6H4-SO2NH-C4H3N2S</chem>	2.000	阻止作用	10,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
			2.000	殺菌作用	10,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
4	Na-Salt of sulfathiazole (W)	<chem>NH2-C6H4-SO2NNa-C4H3N2S</chem>	<200	阻止作用	10,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
			<200	殺菌作用	10,000	14	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	±	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
5	Sulfapyridine (P)	<chem>NH2-C6H4-SO2NH-C5H4N</chem>	8.000	阻止作用	20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					40,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
			8.000	殺菌作用	20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					40,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	4
6	Pyrogallic acid (A)	<chem>HOOC-C6H2(OH)3</chem>	2.000	阻止作用	10,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	2
					48	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0	
			2.000	殺菌作用	10,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0
					20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0
					48	-	-	-	-	+	+	+	+	+	0	

7	<p>Toluquinone (A)</p> 	8.000	阻止作用	20,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
				40,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
			殺菌作用	20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
				40,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
8	<p>Thymoquinone (A)</p> 	32.000	阻止作用	67,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
				128,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
					45	-	-	-	-	-	+	+	+	++	2
			殺菌作用	64,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
				128,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
9	<p>β-Naphthoquinone</p> 	8.000	阻止作用	30,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
				60,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	++	4
			殺菌作用	30,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	4	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	4	
				60,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	4	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	4	
10	<p>Quinizarine (A)</p> 	2.000	阻止作用	10,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	++	2
				20,000	24	-	-	-	-	-	+	+	+	++	2
					48	-	-	-	-	-	+	+	+	++	2
			殺菌作用	10,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	2	
				20,000	24	-	-	-	-	+	+	+	++	0	
					48	-	-	-	-	+	+	+	++	0	

註：精製ペニシリン作用に際しては本試験前日その力価を検定し、稀釋法により本試験の第3管迄菌力を呈するやうペニシリン原液を調製した。

結論

1. デフテリー菌に対して Penicillin 増強作用を呈するものとして被検物質56種の中 Sulfamine, Marfanile, Sulfathiazole, Na-salt

of Sulfathiazole, Sulfapyridine, Toluquinone, Thymoquinone, β-Naphthoquinone, Quinizarine 及 Pyrogallic acid の10種を見出した。

2. 發育阻止作用に於て Sulfamine, Sulfathiazole, Sulfapyridine, Toluquinone, Thymoquinone 及 β -Naphthoquinone が強力な増強作用を示し、殺菌作用に於て Sulfamine, Sulfapyridine 並 β -Naphthoquinone が強い増強作用を呈した。

3. 従て發育阻止及殺菌共に 著明な 増強作用を呈するものとしては Sulfamine, Sulfapyridine 及 β -Naphthoquinone の 3 種を挙げ得る。

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

文

- 1) **Jungeblut, Zwemer:** Proc. Soc. exper. Biol. a. Med., 32, 1229, 1935. 2) **市川, 齋藤:** 医学と生物学, 14, 268, 1949. 3) **佐々木:** 十全会医学雑誌発表豫定. 4) **佐々木:** Jap. Med. Journ. 発表豫定. 5) **Abraham, Chain, et al.:** Lencet, 11, 177, 1941. 6) **Chain, Florey, et al.:** Lancet, 11, 226, 1440. 7) **Fleming:** Brit. Med. J., 1, 547, 1942. 8) **Paul:** Ann. Int. Med., 24,

献

- 413, 1946. 9) **Kocher, Siemsen:** Ann. Inst. Med., 24, 884, 1946. 10) **Reilly:** Am. Jour. Dis. Child., 74, 130, 1947. 11) **佐々木:** 金大研究年報, 6, 129, 1947. 12) **小林:** 十全会医学雑誌, 51, 340, 1948. 13) **佐々木:** 十全会医学雑誌, 50, 7, 227, 1947. 十全会医学雑誌, 50, 8, 278, 1447. 十全会医学雑誌, 50, 9, 322, 1947.