

放線状菌の抗生物質に関する研究

抗生物質の抽出並に精製について

金沢大学医学部細菌学教室(主任 谷教授)

中 村 正 夫

Masao Nakamura

(昭和25年4月4日受附)

第1章 緒 言

Streptomycin-Streptothricin 様物質の抽出法について Waksman 及び Woodruff¹⁾の最初の報告には Streptomycin は水溶性である事を述べ、Fried 及び Wintersteiner²⁾等は化学的性質につき詳細を發表し、ライネッケ塩として結晶を分離する事を述べ、これは 162~164°C で分解し、370~410u/mg の力価を有してゐると報告した。

抽出の方法については Cartor³⁾ 梅沢⁴⁾, Brook & Wick⁵⁾等の方法が用いられるが、活性炭を用いる吸着法が最もよいとされ、この場合の収量については、Herbert & Cartor の法、Brook & Wick の方法で収量 30~50%である。

また粉末は 200~600u/mg の純度のものが得られたといふ。又 Cartor¹⁾等はクロマトグラフ法を報告し、この方法を用いて 900u/mg の Streptomycin が得られたといふ。

私は土壌より分離した放線状菌の一株 S-80 株の抗生物質につき抽出過程に於ける種々の影響、即ち温度、水溶液の各種 pH に対する抵抗性、及び吸着剤に対する被吸着性、吸着物より溶離する各種要因、溶剤等につき種々検討を加え、大体梅沢等の方法にならない炭末吸着法により抽出を行い、更にクロマトグラフ法により精製を試み、二三その性状についても検討を加えた。

第2章 実験方法並に実験成績

実験材料: S-80 株を 2%ブドウ糖ブイヨンを用いて表面培養を行い、最高力価を示した時これを採取して実験を行つた。

抗菌価測定法: 検定菌として大腸菌(学生株)を使用し、稀釈法によつて抗菌価を測定し、単位は Streptomycin に用いられる S 単位にならない 1cc の培養基中で大腸菌学生株の発育を阻止するに必要な最少量を 1 単位とした。

第1節 抗生物質の各種耐性

第1項 各種温度に於ける耐性

1. 100°C 加熱の場合

加熱に際し、その抗菌価の変動は培養液の

pH により影響を受ける事が考えられるので、培養液を夫々 pH 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 に修正し、夫々 100°C に 5 分, 10 分, 20 分, 30 分加熱した後その抗菌価を測定した。

即ち 320u/cc の培養液を用いた場合、pH 3.0 では 20 分加熱迄変化なく 30 分では 160u/cc に低下し、pH 5.0 では 30 分加熱するも低下を認め得なかつた。pH 7.0 の場合は 5 分では変化ないが、10 分, 20 分では 160u/cc に、30 分では 80u/cc に低下した。pH 9.0 の場合も、5 分では低下せず、10 分では 80u/cc. 30 分では 40u/cc

に低下する。即ち、アルカリ性側では破壊され易く、pH 5.0 では最も安定な事を知つた。(第1表参照)

第1表 100°C 加熱に於ける耐性

pH	培養液当初の抗菌価(u/cc)	加熱時間			
		5分	10分	20分	30分
3.0	320	320*	320	320	160
5.0		320	320	320	320
7.0		320	160	160	80
9.0		320	80	80	40

前頁の表(註)* 数字は残存抗菌価(u/cc)を示す。(以下同じ)

次に培養液の pH を 5.0 となし、100°C 加熱に於ける時間的影響を 20分、30分、1時間、1

時間30分、2時間目に観察すると、当初の力価 320u/cc のものが、30分迄は変化なく、1時間1時間30分では 80u/cc。2時間目では 40u/cc に低下した。即ち 100°C 加熱するも30分迄はその抗菌価に及ぼす影響はないと思はれる。(第2表参照)

2. 80°C 加熱の場合

pH 5.0 に於て 80°C 加熱の時間的影響をみると、30分迄は低下を示さず、1時間目では当初の力価 320u/cc のものが 80u/cc となり、1時間30分でも 80u/cc、2時間では 40u/cc となる。即ち、この程度の時間範囲では 80°C 加熱も 100°C 加熱の場合と同様の結果を得た。(第2表参照)

第2表 pH 5.0 に於ける 100°C, 80°C 加熱の影響

加熱温度	培養液当初の抗菌価(u/cc)	加熱時間				
		20分	30分	1時間	1時間30分	2時間
100°C	320	320	320	80	80	40
80°C		320	320	80	80	40

3. 37°C 加熱の場合

次に pH を 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 となし、37°C の孵卵器内に放置し、24時間、48時間、3日、5日、10日、20日目に於けるそれぞれの抗菌価を測定すると、pH 3.0, 5.0 に於ては、5日迄変化なく、10日目、20日目に於て当初 320u/cc のものが 160u/cc となり、pH 7.0 に於ては 5

日迄は変化なく、10日目に於て 80u/cc に低下し、pH 9.0 では24時間で既に 160u/cc に低下し、3日目以後は抗菌作用をみる事は出来なかつた。即ち pH 3.0, 5.0 は殆んど差はなく比較的安定であつた。(第3表参照)

4. 25°C の場合

37°C の場合と大差ないが pH 9.0 に於ては、

第3表 37°C, 25°C に於ける耐性

温度	pH	培養液当初抗菌価(u/cc)	加熱時間					
			24時間	48時間	3日	5日	10日	20日
37°C	3.0	320	320	320	320	320	160	160
	5.0		320	320	320	320	160	160
	7.0		320	320	320	320	80	80
	9.0		160	160	—	—	—	—
25°C	3.0	320	320	320	320	320	320	160
	5.0		320	320	320	320	320	160
	7.0		320	320	160	160	160	80
	9.0		160	80	80	80	40	—

第4表 25°C に於ける耐性(寺島株に対し)

pH	培養液当初の抗菌価	経過日数		
		5日	10日	30日
3.0	10 ⁸ *	10 ⁷	10 ⁵	10 ³
5.0		10 ⁹	10 ⁶	10 ⁶
7.0		10 ²	10 ²	10 ²
9.0		10	10	—

(註) * 数字は発育阻止の最大稀釈倍数を示す。

37°C の場合に比し稍長期に亘り抗菌力を保持し、24時間で 160u/cc に減少するが、10日に

至るも猶存在し、20日にて全く消失した。

pH 5.0 に於て安定な事は寺島株を以て検定した場合をみると、第4表に示す如く一層明らかである。(第3表、第4表参照)

5. 氷室保存の場合

氷室(4°C)の中に保存した場合第6表の如く pH 3.0 では15日目にも変化なく45日目に於て半減するが、その後の変化は著しくない、pH 9.0 に於ても100日経過後も猶わづかに存在するが、酸性側殊に pH 5.0 にて安定な事はこゝに於ても明らかである。

第6表 氷室保存に於ける耐性

pH	培養液当初抗菌価(u/cc)	経過日数				
		15日	45日	60日	70日	100日
3.0	640	640	320	320	320	160
5.0		640	320	320	320	320
7.0		320	320	320	160	80
9.0		160	160	80	40	10

第2項 酸, アルカリに対する耐性

塩酸を用い、濃度を10%, 5%, 2%, 1%として 50°C. 30分間加熱した後にその抗菌価を測定すると第7表の如く、1%にて既に約半減する。

苛性ソーダを用いて同様10%, 5%, 2%, 1%に於て 50°C 30分間加熱し、その抗菌価をみると、いずれも全く破壊されてゐる。そこで1%濃度に於て加熱時間を5分、10分、20分、30分としてその抗菌価をみると、5分加熱で既

II. 苛性ソーダに対する耐性の時間的關係

培養液当初の抗菌価(u/cc)	経過時間			
	5分	10分	20分	30分
320	40	40	40	—

(註) NaOH=濃度は1%

に相当破壊されるが、その後20分迄その力価は大差なく、30分にては全く認められなかつた。

(第7表参照)

第2節 吸 着

第1項 活性炭による吸着

1. 吸着と pH との關係

培養液に活性炭を1%及び3%に加え、pH を夫々 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 となし、30分振盪後、培養液の抗菌価をみると、第8表に示す如く一般に酸性側では吸着性劣り、1%炭末添加の場合では pH 3.0 で殆んど吸着されず、pH 5.0, 7.0 では比較的よく吸着されるが猶完全ではない。pH 9.0 も不良である。3%炭末添加の場合

第7表 酸, アルカリに対する耐性

I. 塩酸及苛性ソーダの各種濃度に於ける耐性

濃度(%)	培養液当初の抗菌価(u/cc)	HCl	NaOH
10	320	<10	—
5		10	—
2		100	—
1		170	—

も pH 3.0 は不良, pH 5.0, 9.0 も完全でなく, pH 7.0 に於て完全に吸着された。

30分では全く認められず, 即ち完全に吸着された事を知る。(第10表参照)

第8表 吸着と pH との関係

pH	当初の 抗菌価 (u/cc)	炭 末 量	
		1 %	3 %
3.0	640	640	80
5.0		160	40
7.0		160	—
9.0		320	40

2. 吸着と活性炭量との関係

次に活性炭を 0.5%, 1%, 2%, 3%, 5% の割に添加し, 培養液の pH を 7.0 として室温 30分間振盪した後, その残存する抗菌価を検定すると, 2%添加迄は不十分で3%添加に於て完全に吸着された。(第9表参照)

第9表 吸着と活性炭量との関係 (pH7.0)

当初抗 菌価 (u/cc)	活 性 炭 量 (%)				
	0.5	1	2	3	5
640	80	40	20	—	—

3. 吸着と時間との関係

活性炭量を3%添加し, 培養液の pH を 7.0 として室温で10分, 20分, 30分, 1時間振盪して吸着せしめ, 猶残存する抗菌価を検すると,

第10表 吸着と時間との関係

当初の 抗菌価 (u/cc)	振 盪 時 間			
	10分	20分	30分	1時間
640	80	20	—	—

4. 活性炭の種類

3種の活性炭を用い, 夫々1%, 3%を添加し培養液の pH を 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 となし室温30分振盪後その抗菌価を検すると, 第11表に示す如く, 第1例は1%では全く吸着されず, 3%では pH 9.0 に於てよく吸着され, 吸着率 96.9%, 次いで pH 7.0 が良好で吸着率 93.8% であつた。

第2例では1%加えた場合 pH 9.0 が最もよく 98.4% 吸着され, 3%加えた場合では pH 5.0, 7.0, 9.0 共に完全に吸着され, pH 3.0 は稍劣り, 溶液中に猶 40u/cc の抗菌価がみられた。

第3例に於ては1%添加の場合 pH 5.0, 7.0, 次いで 9.0 がよく pH 3.0 では吸着されなかつた。3%添加では pH 7.0 に於て完全に吸着され, 次いで pH 5.0, 9.0 が良好であつた。

即ち, 炭末の種類により吸着能力に相当の差のある事がみられる。

第11表 活性炭の種類

活性炭 種 類	活性炭 添加量 (%)	当初の 抗菌価 (u/cc)	pH			
			3.0	5.0	7.0	9.0
1	1	640	640	640	640	640
	3		160	160	40	20
2	1		320	80	40	20
	3		20	—	—	—
3	1		640	80	80	160
	3		80	20	—	20

第2項 酸化アルミニウムによる吸着
吸着用酸化アルミニウム(メルク)を夫々0.5

%, 1%, 2%, 3%, 4%の割に添加し, 培養液 pH を 7.0 として室温30分振盪後酸化アル

ミニウムを濾別し、その濾液について抗菌価を測定すると、0.5%添加では全く吸着されず、1%添加では猶 160u/cc が吸着されず、添加

量を増加してもそれ以上吸着させる事は出来なかつた。即ち酸化アルミニウムは吸着には不適なる事を知る。(第12表参照)

第12表 酸化アルミニウムによる吸着

pH	当初の抗菌価 (u/cc)	添 加 量 (%)				
		0.5	1	2	3	4
7.0	640	640	160	160	160	160

第3節 吸着剤よりの溶離

第1項 溶 離 剤

溶離には Penicillin の実験に於てみられる如く⁶⁾。各種の溶媒が用いられるが、こゝに於ては Streptomycin 或は Penicillin の溶媒として屢々用いられるメタノール、アセトン、エタノールについて実験を試みた。

1. メタノール

培養液に3%の割に炭末を加え、室温にて30分振盪し、吸着せしめた後、炭末を濾別し、これに最初の液量に等しく、それぞれの濃度のメタノールを加え10%塩酸にてpHを2.0に修正し、30分間室温で振盪し、抗菌性物質を溶離せしめた。最初100%、70%、50%、30%メタノール及び酸性水にて溶離せしめると、第13表I

の如く、70%の濃度に於て最もよい成績を示した。更に75%、80%、85%、90%について同様操作を行うと同表IIの如く70%~80%の間で最も能率よく、それ以上濃度を高めてもよい成績を得る事は出来なかつた。酸性水による抽出は不良であつた。

2. アセトン

メタノールの場合同様100%、70%、50%、30%にて溶離せしめると矢張70%に於て最も良い成績を示し、殆んど完全に溶離せしめる事が出来る。この成績はメタノールに於ける場合よりも良好である。更に60%、75%、80%、85%、90%にて溶離を行うと、75~85%の間が最適で、この範囲の濃度に於ては、差異は認められず、完全に溶離し得た。

第13表 メタノール、アセトン、エタノールによる溶離
実 験 I

溶 離 剤	当初の力価 (u/cc)	濃 度 (%)			
		100	70	50	30
メ タ ノ ー ル	640	40	80	20	20
ア セ ト ン		160	640	320	320
エ タ ノ ー ル		320	640	160	160

実 験 II

溶 離 剤	当初の力価 (u/cc)	濃 度 (%)				
		90	85	80	75	60
メ タ ノ ー ル	640	20	20	40	40	20
ア セ ト ン		160	640	640	640	320
エ タ ノ ー ル		160	320	640	640	320

3. エタノール

エタノールに於ても75~80%の間で吸着剤よりの溶離は最もよく完全に行はれ、アセトンに於ける場合と殆んど差はみられなかつた。(第13表参照)

第2項 溶離時間

70%~85%のアセトン、エタノールは溶離剤として適当である事を知つたので、70%のアセ

トンを用いて、次の実験を行つた。即ち抗菌性物質を吸着せしめた後活性炭に70%アセトンを使用培養液と等量に加え、pHを2.0となし、10分、20分、30分、1時間、2時間、3時間振盪後アセトン中に溶離した抗菌価を測定すると、第14表に示す如く、20分後に於て最もよく、それ以上振盪する時はかえつて抗菌価は低下した。

第14表 溶離時間

当初の 抗菌価 (u/cc)	振 盪 時 間					
	10分	20分	30分	1時間	2時間	3時間
640	320	640	160	160	160	160

第3項 溶離時の pH の影響

70%アセトンを使用し、そのpHを1.0, 2.0, 5.0, 7.0, 9.0となし、室温20分間振盪した後、アセトンに溶離された抗菌価を測定すると、第15表に示す如く、pH 2.0に於て完全に溶離される事を知る。

第15表 pH の影響

当初の 抗菌価 (u/cc)	pH				
	1.0	2.0	5.0	7.0	9.0
640	320	640	160	160	160

第4項 溶離剤の量について

pH 2.0の70%酸性アセトンを使用し、室温20分間振盪、アセトン量は夫々培養液に対し等量、3倍量、6倍量及び炭末1gに対し10ccの割合等に加えて溶離すると、使用培養液と等量に加えた場合最も收率よく、この場合完全に溶

第16表 溶離剤の量

当初の 抗菌価 (u/cc)	溶 離 剤 の 量			
	炭末1gに 対し10cc	等量	3倍	6倍
640	480	640	480	320

(註): 単位は元の培養液の容量に換算した価である。

離出来た。3倍量、6倍量加えた場合はかえつて不良な成績を示した。(第16表参照)

第4節 抽出並に精製

以上の実験により Streptomycin, Streptothricin 様物質の抽出法により抽出可能であることを知つたので、大体梅沢の炭末吸着法⁹⁾によつて抽出を試みた。

1. 抽出

2%ブドウ糖ブイヨンに10日間培養し、大腸菌に対し3,200倍、ブドウ球菌寺島株に対し 10^{12} 倍稀釈迄その發育を阻止する抗菌価を有する培養液500ccを用い、160°C. 1時間加熱した活性炭を3%の割に加え、溶液のpHを7.0に修正し室温にて30分間振盪し吸着せしめる。炭末を濾別し、これに70%のアセトンを使用した培養液と同量500cc加えpHを2.0に修正、室温にて20分振盪する。この時のアセトン中の抗菌価は大腸菌に対し3200倍迄發育を阻止し、完全に溶出された事を知る。

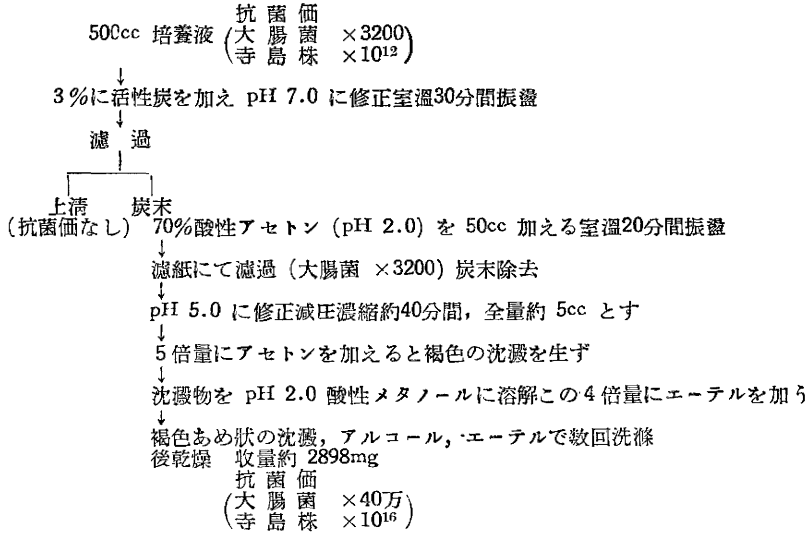
これを濾過して炭末を除去し、pHを5.0に修正し、60~70°Cの間で減圧濃縮を約40分間行い、全量5cc程度に濃縮せしめる。

以上の濃縮液にその5倍量にpH 6.4程度の無水アセトンを加えると褐色あめ状の物質が沈澱し、これを再びpH 2.0の酸性メタノールに

溶解する。この溶解した液にその4倍量エーテルを加えると沈澱を生ずるので、これをアルコール、エーテルで数回洗滌し、後乾燥すると約2898mgの物質が得られた。

この物質の抗菌価は大腸菌に対し40万倍稀釈迄、ブドウ球菌寺島株に対しては 10^{16} 倍稀釈迄その發育を阻止した。

抽 出 法



2. クロマトグラフ法による精製

a) アルミナ筒は日本アルミニウム株式会社製 BL 6 活性アルミナを用い、0.5% 稀硫酸に約15分間浸漬し、後硫酸イオンの反応がなくなる迄水洗し、これをガラス円筒に流し込み、直径 16mm, 長さ 330mm のアルミナ筒を調製する。使用に当つては蒸留水で水洗後90%メタノールで洗滌した。

b) 実験成績: 活性炭吸着法により抽出した200u/mgの粗粉末 3000mgを90%メタノール20ccに溶解せしめ、10%苛性ソーダを以てpHを6.3となし、沈澱物を濾別した後クロマトグラフ法で精製した。展開には80%のメタノールを用い、通過液を10cc宛分けて取り通過液について坂口反応とCl⁻イオンの反応を検し、坂口反応が弱くなつた時から水にて展開を続けると再び坂口反応は陽性に現れる。

本実験に於ては水にて展開を始めてから多量の抗菌性物質の溶出がみられた。各部分に於ける通過液の抗菌価、坂口反応及びCl⁻イオンの

第17表 クロマトグラフによる展開

溶出番号	液量 (cc)	坂口反応	Cl ⁻ 反応	抗菌価 (u/cc)
1	30	—	—	—
2	10	+	##	10
3	10	+	##	10
4	10	+	##	10
5	10	+	##	10
6	10	+	##	30
7	10	+	+	30
8	10	+	+	40
9	10	+	+	40
10	10	+	+	40
11	10	+	+	40
12	10	+	+	40
13	10	+	+	30
14	10	±	##	10
15	10	##	##	160
16	10	##	##	640
17	10	##	##	1280
18	10	##	##	2560
19	10	##	##	160
20	10	+	+	20
21	10	+	+	—
22	10	+	+	—
23	10	+	±	—

出現は第17表に示す如くである。

3. ライネッケ塩

この溶出液の15番目より19番目迄をとり、総量 50cc を減圧濃縮して 1.2cc とする。これにアンモニウム、ライネッケカート の飽和水溶液 20cc を加えるとライネッケの塩として沈澱し、このものの抗菌価は 400u/mg であつた。併し今迄の 実験では未だ結晶にする迄には至らない。

第5節 抽出物質の化学的性状

本物質は稍褐色を呈する吸湿性の粉末で、水

によく溶解し、アルコール、アセトン、クロホルム、エーテル等の有機溶媒には難溶である。その化学反応を検すると次の如くである。

Biuret	+
Millon	-
Xanthoprotein	+
坂口	+
Molisch	+
Ninhydrin	+
硫黄反応	-

第3章 総括並に考按

以上の成績を総括し、考按を加えると、

1. 温度に対しての抵抗性は溶液の pH と密接な関係を有し、酸性側に於て一般に安定である。即ち 100°C に加熱した場合では pH 5.0 では30分の加熱でも何等減少を示さないが、pH 9.0 に於ては10分で既に $\frac{1}{2}$ にその力価は下る。この事は 37°C、25°C、氷室に放置した場合も同様で、37°C では pH 3.0 では10日目に於て半減するのに対し、pH 9.0 では24時間で既に半減する。100°C と 80°C 及び 37°C と 25°C の間には温度の影響による差は少い。

Streptomycin について Regna⁷⁾ 等の報告によれば、その溶液の安定の最適条件は pH 3~7 で pH 3 以下及び pH 8 以上では失効し、熱に対しては 120°C に於て20分にて力価の約60%を失うといふ。又 F. Wolinsky 及び W. Steenken⁸⁾ は Streptomycin は pH 3.5 のブイオン中で2時間半で破壊はみられないといふ。これに反し、Penicillin⁹⁾ では pH 6.5 が最も安定で 5.9, 7.0, 7.4 では同程度で、8.2 が最も不安定である。

酸及びアルカリに対する抵抗では塩酸に対しては比較的耐える事を知る。

2. 活性炭に対する吸着性についても pH に影響し、pH 5.0~9.0 に於て殊に 7.0 に於て最もよい成績を示した。pH 3.0 に於ては炭末 1

%添加の場合では全く吸着されなかつた。且吸着能力は活性炭の種類により非常な差を示し、この事は Penicillin についても同様に云はれる事である^{10) 11)}。

酸化アルミニウムを吸着剤として用いた場合は 4%添加に於ても猶完全に吸着する事は出来なかつた。これは Streptothricin 系の如き塩基性物質は吸着し難いものと考えられ、Chloromycetin¹²⁾ に於ても活性白土に対し全く吸着されないと述べられてゐる。

3. 吸着剤より抗菌性物質を溶離する場合は、アセトン、エタノールが良好で、使用した培養液と同量の pH 2.0 濃度70%のものが最適で、20分間室温にて振盪すれば、100%溶離可能であつた。秦等¹³⁾も Penicillin について、エタノールがアセトンと同程度に溶出良好であるが、これに反しメタノールは不良なる事を指摘し、一般にメタノール、デオキササン等の例外を除いては水に可溶性の溶媒が溶出に良好であると述べ、且80%が最適で pH は 7.0、容量は活性炭の20倍量が最も良いと述べてゐる。又細谷等¹³⁾の Penicillin に対する中央研究所業績の報告によるとエタノールは稍アセトンに劣り、エタノールの最適濃度は炭末の種類により多少異なる事を示してゐる。

4. 抽出には梅沢の方法⁴⁾にならつて行い、

抗菌価は大腸菌に於て3200倍稀釈迄その発育阻止を示すものについて行つた結果抽出物は40万倍稀釈迄に上昇した。猶收量は500ccの培養液を用い約2898mgを得た。

この粗粉末を更にクロマトグラフ法により精製し、ライネック塩として沈澱せしめ得たが、これを結晶にする迄に至らなかつた。この沈澱物の抗菌価は大腸菌に対し、160万倍稀釈でその発育を阻止した。クロマトグラフ法について Cartor³⁾は221u/mgのものを用いて900u/mgといふ純粋度のものを得ており、梅沢等¹⁴⁾は253u/mgのStreptomycin塩酸塩を用いて398

u/mg程度の物質を得、半田等¹⁵⁾もクロマトグラフ精製後ライネック塩としてとり出し約500u/mgのものを得てゐる。

5. 本物質は一般に有機溶媒に難溶で坂口反応は稍褐色を呈する赤色で、Streptothricin様物質のそれと類似してゐる。StreptomycinではMillon, Xanthoprotein, Biuret反応は陰性であるが、本物質ではXanthoprotein, Biuret反応は陽性であり、関¹⁶⁾のそれとはXanthoprotein, Biuret反応に於て異り、細谷¹⁷⁾の報告したものでは坂口反応陰性であつたといふ。

第4章 結 論

1. 温度に対する抵抗性は比較的強く、殊に酸性側に於て安定である。

2. 活性炭にpH 7.0でよく吸着され、培養液に対し3%加え室温30分間振盪で完全に吸着されるが、炭末の種類によつて能力に非常な差がある。酸化アルミニウムは本物質の吸着には不適であつた。

3. 本物質は70%、pH 2.0の酸性アセトン、エタノールにより20分間室温振盪にて殆んど完全に吸着剤より溶離され得る。

4. 梅沢等の活性炭吸着法によるStreptomycin抽出の方法により抽出され、クロマトグラフ法により更に精製する事が出来、ライネック塩として沈澱する。

5. 一般に有機溶媒に難溶で、水、酸性メタノールにはよく溶け、化学反応の結果では今迄報告されたStreptomycin-Streptothricin系のものと一致したものはみられなかつた。

稿を終るに当り終始御懇篤な御指導と御校閲の勞を賜つた恩師谷教授に深甚の謝意を表する。

文 献

- * 1) Waksman, S. A. & Woodruff, H. B.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 49, : 207. (1942).
 * 2) Fried, J. & Wintersteiner, O.: Science 101, : 613. (1945). * 3) Cartor, H. E., Clark, R. K., Dickman, S. R., Loo, Y. H., Schell, P. S. & Strong, W. A.: J. Biol. Chem. 160, : 337. (1945). 4) 梅沢: ストレプトマイシン, 薬学新書2, 薬事振興会版: 21, (昭23). 5) Brook, J. D. & Wick, A. N.: J. Biol. Chem. 165, : 463-468. (1946). 6) 秦, 横山, 小口: ペニシリンその他抗生物質, 2, 3, : 157. (1948). 7) Regna, Warselle, & Solomons: J. Biol. Chem. 165, : 631 (1946). 8) Wolinsky, F. & Steenken, Tr. W.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 62, 2, : 162. (1946). 9) 秦, 横山: ペニシリン,

- ン, 1, 10, : 670. (1948). 10) 細谷その他: 中央研究所業績(V), ペニシリン, 1, 5, : 311. (1947). 11) 細谷その他: 中央研究所業績(VIII), ペニシリン, 1, 8, : 551. (1948). 12) 梅沢, 前田: ペニシリンその他抗生物質, 3, 1, : 41. (1949). 13) 細谷その他: 中央研究所業績(VII), ペニシリン, 1, 9, : 618. (1948). 14) 梅沢, 金城: ペニシリンその他抗生物質, 2, 5, : 292. (1949). 15) 半田, 内山, 平出, 保坂, 中村, 坂上: ペニシリンその他抗生物質, 2, 9, : 590. (1949). 16) 関: 基礎と臨床 1, 5, : 172. (1947). 17) 細谷その他: ペニシリンその他抗生物質, 3, 1, : 61. (1949). (1) 2) 3) は Herrell, W. E. Penicillin and other Antibiotic Agents 1946. より引用).