

重層法による Tetracycline 誘導体の金属錯塩の抗菌力に就いて

坂口 武一・真下 啓明

千葉大学薬学部, 東京大学医学部田坂内科教室

(昭和 30 年 8 月 25 日受付)

著者等は Tetracycline の金属キレート化合物の錯塩化学的研究¹⁾並に比色定量^{2,3)}への応用に関してすでに報告したが, Chlortetracycline, Oxytetracycline の金属錯塩の抗菌力についても興味を感じ 2, 3 の実験を行ったので報告する。

元来 Tetracycline の金属キレート化合物の抗菌力については研究が極めて少い。A. ALBERT⁴⁾ は金属錯塩の安定度と抗菌力との関係を論じ, J. F. WEIDENHEIMER⁵⁾ 等は一定の処方で作った Chlortetracycline の金属錯塩は Chlortetracycline 自身より抗菌作用が大きいことをアメリカ特許において述べている。

又 KÄMMER⁶⁾ の実験によれば Chlortetracycline は Co^{++} の共存で効力が減少し, Oxytetracycline は無影響であることが報告されている。

著者等は Tetracycline 誘導体の主として稀土類元素とのキレート化合物について溶血性連鎖球菌 (Cook 株) を用い重層法によつて抗菌作用を検した。即ち Al, Zr, Th, UO_2 , その他の金属イオンを Chlortetracycline, Oxytetracycline の各標準液に加えて得た錯塩溶液を重層し, 阻止帯の長さから抗菌力を検査した。その結果 Al, Zr, Th 等の如くこれらの抗生物質と安定な金属キレート化合物を作る場合に Chlortetracycline, Oxytetracycline の効力が減少し, これに Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) を加えて Zr, Th 等を隠蔽すると効力が復活することを見出した。而して UO_2 と Chlortetracycline の如くキレート結合の弱いものでは効力の減少は見られない。

以上の実験によつて Tetracycline の carbonyl と peri 位にある OH 基¹⁾, 即ちキレート作用原子群は少くとも抗菌作用の一部を分担していることを明らかに知り得るのである。即ち本実験は Chlortetracycline 分子中のキレート作用原子群と抗菌性原子群とが密接な関係にあることを指示するものである。

但し, この重層法は一種の拡散法であるから, 洗滌を生じたり又生じなくても拡散を変ずるようなコロイド生成によつても影響を蒙るであろうが, 一応阻止帯の長さを以て抗菌力の尺度として実験したことを附記する。

何れにしてもこれら抗菌性物質と金属との関係は興味ある問題である。

実験の部

1. Chlortetracycline

Chlortetracycline 標準液の系列

50 mg% の Chlortetracycline HCl の水溶液各 cc をとり 0.01 N HCl 1 cc を加えた後全容積を 25 cc とする (pH3)。

重層法の処理 (鳥居法⁷⁾ の処法に準ずる)

寒天培地

肉汁 1,000 cc (肉 500 g を水 1,000 cc で熟浸)

食塩 5 g

ペプトン 10 g

寒天 20~30 g

この寒天培地を 46~48°C の水浴上で攪拌溶解しその 40 cc に就き 4 cc の脱纖素血液 (人血) と 0.02 cc の菌液 (溶血性連鎖球菌の 5% 血液ブイヨン, 24 時間培養液) を加え均等に混和した後, 0.7~0.9 cc 宛重層用小試験管 (4.0~4.5×80 mm) に分注する。培地が固まつたら 0.2~0.3 cc 宛の被検液を重層する。被検液を重層した後 5°C 氷室内で 6 時間拡散後 37°C の孵卵器に入れ, 12~16 時間培養後, 阻止帯の長さを測る。

Chlortetracycline 標準液に金属イオンを加えた場合

第 1 表

Chlortetracycline (mcg/cc)	10	30	50
その阻止帯の長さ (mm)	10.3	12.6	13.9
金属イオンその他を加えた場合の阻止帯の長さ (mm)			
Zr	6.1	8.9	10.5
Th	6.8	10.6	10.6
UO_2	8.9	11.5	12.1
H_3BO_3	10.1	13.4	14.2

註 0.5% Zr, 0.5% Th, 0.2 UO_2 及 0.5% H_3BO_3 を夫々 0.2 cc, 0.6 cc, 1.0 cc とし, 25 cc のメスフラスコに入れ, Chlortetracycline について 10 mcg, 30 mcg, 50 mcg の検液を作る。

第 1 表から Zr, Th の添加は Chlortetracycline の抗菌作用を著しく弱めていることが分る。 UO_2 の阻止作用は少い。 H_3BO_3 は無影響である。

次に EDTA を加えると阻止された抗菌力の復活が見られる (第 2 表)。

その他の金属に対する抗菌作用を検すれば第 3 表の如くなる。

第 2 表

Chlortetracycline (mcg/cc)	50	10
Chlortetracycline (CT)	15.0	11.3
CT+Zr	11.2	7.5
CT+Zr+EDTA	15.5	12.0
CT+EDTA	15.5	12.0

註 1% Zr 1cc/25cc, 1% EDTA 3cc/25cc

第 3 表

重 層 液 (CT)	阻止帯の長さ (mm)	pH	阻止帯の長さ (mm) +EDTA	pH
Chlortetracycline mcg/cc	13.3	3.9	14.2	3.7
CT+CuSO ₄	13.6	4.0	14.7	3.2
" FeCl ₃	10.8	3.4	14.4	3.2
" ZnSO ₄	13.9	4.2	14.2	3.4
" NiSO ₄	13.3	4.0	14.5	3.5
" CoCl ₂	13.1	4.2	14.7	3.0
" Al-alum.	10.7	3.7	14.1	3.4

註 1% 金属塩 0.5cc/25cc, 1% EDTA 1cc/25cc

第3表より, Fe 及 Al が CT の抗菌力を減少せしめ, Cu, Co, Ni, Zn は無影響なことが分る。この上に EDTA を加えれば阻止帯長の増加があるが, これは重層液の pH の差にもある程度よると考えられる。

以上の実験によりキレートの安定度がキレートの抗菌作用抑制と密接な関係にあることが示される。

2. Anhydrochlortetracycline

50mg% の Anhydrochlortetracycline を用い 40mcg/cc の検液を作り上法に従い阻止帯の有無を検した。この場合抗菌力は全くない。EDTA を加えても抗菌力を殆ど示さない。(これは Anhydrochlortetracycline が溶連菌に対して抗菌性がないことを示すもので他の菌に対しては未知である)。

anhyd. CT (mcg/cc)	40
anhyd. CT 阻止帯長 (mm)	0
anhyd. CT+EDTA 阻止帯長 (mm)	2.3

3. Oxytetracycline

Oxytetracycline 標準液系列 (OT): 50mg% OT に 0.01N HCl を加えて pH2.5 としたものにて稀釈系列を作り阻止帯の長さを測る。

TM 標準液の系列に各金属を加えた場合の阻止帯の長さは第4表の如くなる。

第4表から Zr, Th, UO₂, Al 等は OT の抗菌作用を著しく弱めているのが認められる。この場合も H₃BO₃ は無影響である。

第 4 表

OT (mcg/cc)	10	30	50
OT 阻止帯 (mm)	11.0	14.2	15.5
金属イオンその他を加えた場合の阻止帯の長さ (mm)			
Zr	6.2	10.0	11.5
Th	5.0	9.5	11.5
UO ₂	9.0	13.0	14.5
Al			8.0
H ₃ BO ₃	11.0	14.7	16.2

註 1% Zr, 0.5% Th, 0.2% UO₂ 及 1% H₃BO₃ 各々 1cc/25cc

本研究に際し, 有益な御助言を賜つた東大石館教授, 田坂教授に深謝する。又本実験に協力された田口, 黒田, 清水の諸君に感謝する。

文 献

- 1) ISHIDATE, M. & T. SAKAGUCHI; Pharm. Bull. 3, 147 (1955).
- 2) SAKAGUCHI, T. & K. TAGUCHI; Pharm. Bull. 3, 166 (1955).
- 3) SAKAGUCHI, T.; Pharm. Bull. 3, 171 (1955).
- 4) ALBERT, A., *et al.*; Nature 172, 201 (1955).
- 5) WEIDENHEIMER, J. F.; *et al.*; U. S. 2, 640, 842 June 2 (1953).
- 6) KÄMMERER, H.; *et al.*; Klin. Wochenschr. 30, 1083 (1952).
- 7) 鳥居敏雄; 医学検査法 Vol. 17 p. 158-163.