

## 日本化学療法学会第5回総会一般講演要旨 I

昭和 32 年 5 月 24 日 (第 1 日)

(1) 抗生物質 G-72 の  $T_3$  phage 増殖に対する作用

金子 保

東北大学医学部細菌学教室  
(指導: 黒屋教授)

核 phage 物質 G-72 は放線菌 No. G-72 株の培養液より、単離された chartreusin 類似の物質であり、T-system の大腸菌ファージ及びグラム陽性菌、抗酸性菌、組織培養に於ける Influenza virus の増殖を阻止する。今回は此の物質のファージ増殖に及ぼす影響について述べる。用いられたものは宿主細菌として大腸菌 B 株を 37°C 3 時間振盪の young culture であり、phage は  $T_3$  phage, medium は総べて普通ブイオンを使用した。大腸菌 B 株に対する最小発育阻止濃度は、agar dilution で 50 mcg/ml であるが、 $T_3$  ファージの増殖に対しては、6.3 mcg/ml で完全に阻止するので、以下の実験は凡て此の濃度を使用した。其の他は、各実験で簡単に説明する。尚此の物質は free phage に対して直接の不活化作用も、ファージの宿主細菌に対する吸着、阻害作用も全く示さない。

此の薬剤がファージ合成の何れの時期に作用するかを検討する為、感染後各時間毎に G-72 を添加した場合には、感染早期に添加する程 latent period は長くなり burst size は小さくなり、従つてファージ増殖に及ぼす影響も大であり且 infective center の減少も大である。

更に作用時期を精しく知る為、感染と同時に G-72 を添加し各時間毎に除去して、その増殖カーブを画いて見た。感染後 5 分で薬剤を除去した場合 infective center の減少はあるが、latent period は control と同じであり且 burst size もこれより長い場合に比し大きくなる。

然し 10 分と 15 分で除去した場合は latent period は 6 分延長し且、burst size は非常に小さくなる。即ち、感染後 10 分及び 15 分となつても infective center の減少は 5 分迄の場合と差はなく burst size に及ぼす影響は 5 分から 15 分迄の間がより大である。併し薬剤との接触時間が長い為であるかもしれない。それで次に感染後 latent period 中の各時間毎に 5 分の一定時間だけ作用させて見た所、感染後 5 分と 10 分、10 分と 15 分の間薬剤が存在する場合は infective center の減少は無いが latent period は 6 分延長し且 burst size は最も小さくなる。0 分から 5 分迄の場合は infective

center の減少はあるか、burst size は前のものに比し大きくなり latent period は control と略同程度となる。15 分~20 分迄の場合は infective center の減少も無く前のものに比し burst size も更に大きくなり latent period は 2 分延長する。以上から、ファージ増殖は感染後 5 分~15 分の間がこの薬剤に対して最も sensitive であり、infective center の減少は感染早期に添加する程大であり、infective center の減少とファージ増殖に及ぼす影響とは異つた反応と思われる。

次に此の burst size が小さい事は lysis の阻害に依るものかどうかを検討する為、次の実験を行つて見た。感染後 10 分で薬剤を添加した場合の lysis の程度を各時間毎に optical density で観察した。一方は感染後、10 分で薬剤を添加した場合の one step growth curve である。Lysis の初まりは one step に於ける latent period の 5、6 分の延長と同程度の遅延はあるが lysis は殆んど control と同程度に起る。即ち phage 産生は非常に少いが lysis は完全に起る。Premature lysis でも無く lysis inhibition に依るものでもない。

次に此の濃度は host の発育にどのような影響を与えるかを見る為、37°C で振盪培養し各時間毎に optical density で観察した所、この物質の 6.3 mcg では略 control と同程度に発育する。即ち phage 増殖に及ぼす影響は host cell の発育阻止によるのではない。

次に此の薬剤で宿主細菌を前処置した場合の phage 合成に於ける作用を検討した所、host cell を 6.3 mcg で 27°C 及び 0°C でそれぞれ 20 分 pretreat して、その菌を使用した所、ファージの合成を抑制した。27°C で pretreat した場合は 0°C の場合より強く抑制されるが latent period は control と同じである。又 27°C で 5 分、10 分、60 分、pretreat した場合も burst size は 20 分の場合と同程度であり、phage 合成に対する作用は pretreat の時間に対しては無く、温度に dependent である様に思われる。且此の pretreat 菌はブイオン中で菌の増殖に対して viable count 及び turbidity で何ら影響はない。

以上の結果から、G-72 の此の濃度は  $T_3$  ファージを完全に阻止する。Stage は 5 分~15 分の間が最も sensitive である。Premature lysis を起す事も、lysis を抑制する事も無く、早期に添加する場合には、感染中心の急速なる減少を示す。Host cell を此の薬剤で前処置すると、phage 合成は抑制されるが、此の菌の増殖に

は、何ら影響は見られない。

感染菌は G-72 の存在に於て対照と殆んど同程度に溶菌を起すが、細胞内 phage 合成は強く抑制される。此の事実から、感染菌の lysis は、細菌内に於ける、active phage particle の accumulation の為では無い事を示すのであろう。

## (2) Myxoviomycin の精製並びに諸性状について

小林 信雄

東北大学医学部細菌学教室

Myxoviomycin (以下、MVM) の精製並びに諸性状の大略は The Japanese Journal of Microbiology に黒屋等が発表しているが、MVM は *Streptomyces* No. E-212 の培養濾液に Toyocamycin 等と共に産生される塩基性白色水溶性物質である。

演者は MVM の粗塩酸塩より更に精製を加え MVM ライネケートを単離し純粋な MVM 塩酸塩を得たので諸性状を検討した。

### I. 精製

キノコ培地、27°C、振盪培養 5 日 (pH 7.2) その濾液を "IRC-50" に吸着、N/5 HCl で溶出、力価部を pH 4.0 で濃縮し pH 7.4 でブタノール等量と振盪すると Toyocamycin 等の溶媒糸の物質がブタノール層に転溶し水層には MVM のみが残る。之を pH 4.0 で濃縮乾固メタノール抽出、アセトン沈降、乾固、このものを炭末クロマトグラフィーを行い 2% アセトンで溶出すると MVM の粗塩酸塩を得る。

粗塩酸塩の水溶液にアンモニウムライネケートの飽和溶液を沈澱の生じなくなる迄加え沈澱に就て 40°C の少量の水で前処理すると可溶性の不純物を除き得、次で 60°C の水に不溶部を溶かし 5°C に 1 晩放置すると MVM ライネケートの板状結晶の沈澱を得る。D. P. 206~209°C、抗菌力 35%。

結晶に就き更に水、水メタノール (1:1) の溶媒にて再結晶を行なうと D. P. 207~210°C で一定となり抗菌力は初めよりそれ以上の増加が見られず純粋なものと考えられる。

MVM ライネケートの結晶を更に 50°C の水に溶かしピリジン塩酸を反応必要量の約 10 倍加え複分解を行い 5°C に 1 晩放置し生じたピリジン、ライネケートの沈澱を除き水の部分を濃縮 pH 8.0 ベンゾール等量で振盪過剰のピリジンを除去、pH 2.0 1% 炭末にて脱色濃縮乾固しメタノール抽出アセトン沈降を数回繰返し純粋な MVM 塩酸塩の白色粉末を得た。

粗塩酸塩よりの収量は約 17% *B. subtilis* P. C. Z-219

を用い Pulp disc 法により粗塩酸塩の約 3 倍の抗菌力の上昇を示した。

## II. 性状

### 1) 生物学的性状

A. 抗菌像：Agar dilution 法に依りグラム陰性菌、カビ、*Mycobacterium* に対する抗菌力は認められずグラム陽性菌に対しては *B. subtilis* PCI-219 62.5 mcg/cc, *S. lutea* (Hata) 62.5 mcg/cc (Hosoya) 250 mcg/cc で発育を阻止する外は抗菌力は認められない。

B. 抗ウイルス像：細菌に対する抗菌力は非常に弱い物質であるにかかわらず MNI グループのウイルスに対しては Maitland 法で赤血球凝集物質産生を阻害する最小阻止濃度で現わすと Influenza A の PR<sub>8</sub> 12.5 mcg/cc FM<sub>1</sub> 50 mcg/cc Influenza B の Lee 12.5 mcg/cc HVJ の Fushimi 50 mcg/cc N. D. V. の Enders 12.5 mcg/cc である。

C. 毒性：ddD マウス 14 g~19 g の腹腔内注射で LD<sub>50</sub> は 50 mg/kg~37.5 mg/kg である。

### 2) 物理化学的性状

A) m. p. 183~185°C

B)  $[\alpha]_D^{20} = 2.8$  (水 1.06%)

C) C: 26.96% H: 5.34% N: 13.86%

Cl: 17.80%

### D) 紫外吸収像

末端吸収のみにて外には見られない。

### E) 赤外吸収像

(1) 3.1  $\mu$  の幅の広い吸収は  $-\text{NH}_2-\text{NH}=\text{NH}-$   
OH グループ

(2) 3.3  $\mu$  の吸収は芳香核水素

(3) 5.92  $\mu$  の鋭い吸収は酸アミドの第 I バンド

(4) 6.06  $\mu$  の吸収は  $-\text{CONH}$  の第 I バンド

(5) 6.21  $\mu$  の吸収は酸アミドの第 II バンド

(6) 6.46  $\mu$  の吸収は  $-\text{CONH}$  の第 II バンド

以上のものの存在が考えられる。

### F) 呈色反応

Ninhydrin (—) FeCl<sub>3</sub> (—)

Biuret (—) Fehling (—)

Millon (—) Maltol (—)

Molisch (—) Elson-Morgan's (—)

Sakaguchi (—) Pauli yellow

塩基性白色水溶性物質であるストレプトマイシン、ストレプトスライジン、ネオマイシン等とは呈色反応等でも全く異つた性格を示している。

### G) 加水分解

MVM 塩酸塩に 6N·HCl を加え封管中にて 120°C 10 時間加水分解を行い塩酸を飛ばし乾固したものは白色ア

メ状中に針状結晶状のものを含んでいる。之のものの反応は Ninhydrin (+) Fehling (-) 銀鏡反応 (-) であり Ninhydrin (+) のものに就きペーパークロマトグラフィーで解析を認めると3つの陽性スポットあり、1つはβアラニンに一致し、1つはメチオニンヴァリンの位置に一致し更に黄色を呈するスポットの位置には該当するアミノ酸なく未知物質と考えられる。

### III. 要 約

(1) MVM の精製を進め MVM 塩酸塩の純粋な白色粉末を得た。

(2) 塩基性白色水溶性物質で抗菌力は僅かにグラム陽性菌の中の *B. subtilis*, *S. lutea* (Hata) (Hosoya) に見られるに過ぎない。MNI グループのウィルスの増殖の阻害は Maitland 法で PR<sub>3</sub> 12.5 mcg/cc Lee 12.5mcg/cc N. D. V 12.5 mcg/cc であつた。

(3) 化学的性状特に赤外加水分解等より構造の一部に2,3のアミノ酸を含むペプチド構造が考えられる。

### (3) 放線菌の産生する新抗生物質について

加藤 博・林浦 真三

東北大学医学部細菌学教室  
(指導 黒屋政彦教授)

当教室にて新たに分離された *Streptomyces aureus* 類の1放線菌 F-256 を2% glucose Waksman 又は Corn steep liquor 培地に振盪培養して得られた濾液より、培養1~2日目にて第2物質が生じ、3~4日目に第1物質が産生される。このとき濾液は pH 7.2 で透明な暗茶色を呈する。この濾液を pH 2.0 にて2%活性炭末に吸着後、pH 6.8 にて80%アセトンで溶出する。アセトンを溜去した水層を醋酸エチルにて抽出すると、醋酸エチルに抽出される第1物質と水層に残存せる第2物質とに分たれる。第1, 2物質は互に相乗作用を有し被検菌に *E. coli* を用いた場合第1物質は明白なる阻止像を来すが、第2物質は僅かに刺戟像を示すのみである。第2物質を浸潤させたパルプ片に第1物質を噴霧するときは明白な阻止像を示す。

両物質を等量混合した場合は第1物質の力価に比して混合液は約2倍の力価を示し、混合液の pH を検討した場合 pH 2.0 にて相乗作用が最も著明に表われる。第2物質の各種ペーパーグラムの像も第1物質の噴霧なきときはその存在が認められない。

第1物質は酸性溶媒系物質であり、第2物質は塩基性吸着系物質で、共に酸性安定、塩基性不安定である。

第1物質は更に水洗後、クロロフォルム、ベンゾールに転溶、濾紙粉末のクロマトグラフィによるベンゾール

有効成分分割を放置後白色針状結晶が得られた。

本物質は *E. coli*, *B. subtilis*, *M. pyog. var. aureus* 及びその他のグラム陰性、陽性細菌に対し著明なる抗菌力を有する。

第1, 2物質の詳細なる生物学的、物理化学的性状については後に報告する。

### (4) Gramicidin J の誘導体に関する研究

大谷 象平・平松慎一郎

大阪市立大学医学部生化学教室

Peptide antibiotic である Gramicidin J が先に当教室で分離され、化学構造が決定し、臨床的に実用化されて今日に到っている。Gramicidin J の作用機序を検討するに当つて、その構造を見ると、このものは5種類のアミノ酸から成る cyclohexa, 或いは hepta peptide である。この中で2個の Ornithin 残基の δNH<sub>2</sub> を除く他のアミノ酸残基は比較的不活性の原子団から成つて居り、従つてこの2つの NH<sub>2</sub> が Gramicidin J の生物学的性状にとつて重要な役割を果すものと想像される。そこで先に教室の湯川はこの NH<sub>2</sub> に対し oxidative deamination を行つた Hydroxyl Gramicidin J 又その酸化物である Carboxyl Gramicidin J 及びアミノ基を Guanidyl 基で置換した Guanidyl Gramicidin J を合成し、その生物学的性質を検討した結果、Gramicidin J の遊離アミノ基の陽性荷電がその作用と密接な関係を有することがわかつた。今回演者はこのアミノ基に対し種々の置換基を結合させた誘導体を作り、その物理化学的、生物学的性質について検討を加えたので茲に報告する。作つた誘導体は8種類で茲にその Ornithin 残基のみを表示するが、即ち NN'-Dimethyl, "-Diethyl, "-Glucoside, "-Acetyl, "-Lauroyl, "-Benzoyl, "-p-Tluene sulfonyl, "-Nicotinoyl の各誘導体である。本実験に用いた Gramicidin J はすべて submerged culture に依り培養した菌体から得られたもので、元素分析に依り Gramicidin J<sub>1</sub> と確認されたものを用いた。Preparation の精細については省略するが、アルキル化には Dialkyl-sulfate を、アセチル化には無水酢酸を、又他のアシル化には、夫々の acid chloride を使つて反応させ、又 Glucoside 化は無水ブドウ糖と脱水条件下に反応させた。これらの誘導体の元素分析値は略誤差範囲内で計算値に一致している。

物理化学的性質を一括表示したが、この中で水溶性は Dimethyl, Diethyl, Glucoside の各誘導体は、何れも Gramicidin J<sub>1</sub> よりも高くなつて居るが、他の Acyl 誘導体は著しく水に難溶性乃至は不溶性である為以下述べ

る生物学的性質の検討が不可能に終っている。

各菌株に対する抗菌価を稀釈法に依り求めた結果、各誘導体共 Gramicidin J<sub>1</sub> より幾分抗菌価が低下している。検定培地としては *Mycobacterium* には 3% Glycerin bouillon を用い、それ以外のものには無食塩 Bouillon を用いた。

Gramicidin J はその構造からも推定される様に、Cationic detergent の様な性質を有するので副作用として或程度の溶血性が認められる。

次に各誘導体について溶血価を比較した。即ち山羊赤血球の生理食塩水浮遊液に種々の濃度の試料を作用させ 37°C に incubate し、完全溶血をおこすに要する時間と濃度との関係を記録した。その結果、Dimethyl-, Diethyl-Gramicidin J<sub>1</sub> に於て略同様に著しい溶血価の低下が認められ、又 Glucoside derivative でも相当の低下が見られた。

各誘導体の毒性を比較する為 15g マウスの腹腔内に 0.5 ml の水溶液として注射し LD<sub>50</sub> を求めた結果、Glucoside derivative に於て幾分 LD<sub>50</sub> が高くなっているが、Dimethyl, Diethyl derivative では前記の様に著しい溶血価の低下が見られたにもかかわらず LD<sub>50</sub> にはほとんど認むべき変化がなかつた。尚この場合は中毒状態の推移が著しく迅速であつたが、これはこのものの水溶性の高いことに起因するとも思われるが、或いは又別の毒性の出現に依るものかとも思われる。

### (5) Nitrofuran 誘導体の抗菌作用並びにその毒性について (特に化学構造との関係)

木村 廉・大山昭夫・湯井健次郎

京都大学医学部微生物学教室

従来迄 Nitrofuran 誘導体の化学療法への応用を推進せしむべく新らしく合成された誘導体の抗菌作用の比較検討、作用機序の解析の為の紫外線スペクトル、或いはポーログラムに依る実験、更に耐性獲得現象の究明等、系統的に研究を重ねて来た。

Furan 誘導体が抗菌作用を示す為には、STILMAN 及び DODD 或いは其の後の、当教室に於ける数多くの実験にも示される如く、5位に、Nitro 基を有する事が必須の条件となつている。併し乍ら、5位の Nitro 基の必要性もさる事ながら、同時に2位の側鎖の化学的性状に依つても抗菌価の変動、抗菌スペクトラムの異同が著明に認められる。

従来迄、2-(5-Nitro)-furfurylidene 系、-furylacrylolefin 系、-furylacrylic amide 系、-furoic amide 系、

-furfurylidene crotone 系及び、その他の Nitrofuran 誘導体、更に Furan 核と同じく異節環状化合物である Thiophene 核を有する化合物等 170 余種の抗菌作用を比較検討するに及んで、2-(5-Nitro)-furyl acrylic acid と脂肪属アミンとの縮合物及び同じく 2-(5-Nitro)-furyl acrylic acid の  $\alpha$  位に Methyl 基をつけた  $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic acid と脂肪属アミンとの縮合物に於て抗菌作用の比較的顕著な誘導体数種を見出したので、Nitrofuran 誘導体に於ける抗菌作用と化学構造との相関々係を追求すると共に、之等の抗菌作用と毒性、並びに臓器に及ぼす組織学的変化をも併せて検討し、従来まで一般に用いられていた 2-(5-Nitro)-furfural semicarbazone, (Furacin), 2-5-Nitro-furfurylidene aminoguanidine hydrochloride (Guanofuracin) 及び 2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide (z-Furan) と比較を行つた。

#### 実験方法

##### 1) 抗菌作用

薬剤の 5,000~20,000 倍の濃度の Bouillon 基礎溶液 (pH 7.2) を作り、適宜階段的に稀釈を行つて、夫々の菌 18~24 時間培養のものを大約  $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^6$  個接種、一定時間 37°C にて静置培養した後、菌の発育の有無を肉眼的濁りに依つて観察、その完全発育阻止最小濃度を判定した。

##### 2) 毒性検査

Nitrofuran 誘導体は水に対して難溶性である為 10% アラビヤゴム生理的食塩水に平等に浮遊せしめ、その 0.05 cc~0.4 cc の中に夫々の薬剤の所要量が含まれる様に調製して経口投与、その 50% 致死量を求めた。

更に、急性中毒症にて斃死したマウスについては、肝、脾及び腎を摘出、夫々の病理学的組織標本を作製し、薬剤による組織像の変化を検討した。

#### 実験成績

##### I) 抗菌作用

##### 1) 2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide 系誘導体

Methyl amide の抗菌作用が最も顕著であり、黄色葡萄球菌に対しては 290,000 倍、大腸菌には 360,000 倍、チフス菌には 200,000 倍、志賀赤痢菌には 60,000 倍、及び駒込 BI 菌には 240,000 倍の抗菌作用を示した。更に Ethyl amide, n-Propyl amide, Ollyl amide 2-oxypropan amide 及び 2-3-oxypropan amide の抗菌作用も優れた抗菌作用を示したが特に Ethyl amide 及び n-Propyl amide は Methyl amide と共に顕著であつた。

更に Propyl amide 及び Butyl amide については normal 及び iso-type の mono amide 並びに diamide

の抗菌作用を検討したが何れの amide に於ても normal type の mono-amide の抗菌作用が著明であつた。

2)  $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic amide 系誘導体

2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide 系誘導体と比較すると、ややその抗菌作用は劣るが amide は黄色葡萄球菌には 240,000 倍、大腸菌には 200,000 倍、チフス菌には 400,000 倍、志賀赤痢菌には 240,000 倍及び駒込 BI 菌には 360,000 倍の抗菌作用を示し、その他 Methyl amide, Ethyl amide, Ethanol amide, 及び Paraoxy amilide も従来迄使用されている Nitrofurantoin 誘導体に優るとも劣らない抗菌作用を示した。

## II) 毒性検査

$\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic amide 系誘導体の方が 2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide 系誘導体に較べて毒性が強く、何れの誘導体に於ても酸アミド基の窒素原子と結合した炭素の数が多くなる程毒性は低下した。

## 総 括

以上の実験を総括するに、

2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide 系化合物及び  $\alpha$  位に Methyl 基をつけた  $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitro-furyl-(2)]-acrylic amide 系化合物に於て、酸アミド基の窒素原子に結合した炭素の数が増すに従つて難溶性になると共に抗菌価の減少する傾向が認められる。又、酸アミド基の窒素原子に結合した炭素の数と同じである両系化合物の誘導体であつても後者が前者に比しやや難溶であり、且つ抗菌価がやや低いのは、acrylic acid の  $\alpha$  位に Methyl 基が入り、既に酸アミド基と結合する炭素の数が 1 つ減少している為と思われる。即ち 2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide 系化合物では炭素数 3 個の Propyl amide 迄、 $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic amide 系化合物では炭素数 2 個の Ethyl amide 迄が顕著な抗菌作用を示し、従来まで用いられて来た Nitrofurantoin 誘導体に優るとも劣らない効果を示した。Nitrofurantoin 誘導体は一般に難溶性である為、-OH を附して幾分でも水溶性を高めるべく合成を試みたが、-OH を附す事により水溶性は幾分高められるが、却つて抗菌価の減弱を示した。2-(5-Nitro)-furylacrylic amide 系化合物がグラム陰性の腸内細菌に比較的高い抗菌価を示すのに反し、 $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic amide 系化合物は黄色葡萄球菌に優れた抗菌価を認めた。

又、西海枝等の報告によると、二重結合を増す事により抗菌価は上昇する事を詳めているが、吾々の行つた 2-(5-Nitro)-furfurylidene croton の実験によれば、抗

菌価は減少すると共に、益々難溶性の傾向を示した。

毒性を検討する意味で経口投与により 50% 致死量を求めたが、2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide 及び  $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic amide は、何れも Methyl amide 或いは Ethyl amide よりも毒性が認められ、抗菌価とは逆に酸アミド基の窒素と結合した炭素数が増すに従い、一般的に毒性が低下する傾向を示した。又、2-(5-Nitro)-furyl acrylic amide 系化合物の方が  $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic amide 系化合物より毒性は少ない。斃死後の肝、脾及び腎の組織変化を鏡検したが、DODD 等の報告する如く各臓器には特記すべき著変は認められなかつた。併し乍ら、一般に云つて、肝に於ては、鬱血、腎に於ては鬱血並びに細尿管上皮の硝子様変性が程度の差こそあり僅かに認められた。之等の変化は、両系統の化合物共酸アミド基の窒素と結合する炭素の数が少い程軽少である。50% 致死量から考察するに、従来から用いられている Nitrofurantoin 誘導体に較べ毒性が少い事が明らかとなつた。

## 結 論

2-(5-Nitro)-furfurylidene 系、-furylacrolein 系、-furyl acrylic amide 系、-furoic amide 系、-furfurylidene croton 系及びその他の Nitrofurantoin 誘導体及び Thiophene 化合物等 170 余種の誘導体の抗菌作用を検討した結果、2-(5-Nitro)-furyl acrylic acid 及び  $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic acid との丈夫の脂肪属アミンとの縮合物特に 2-(5-Nitro)-furyl acrylic methyl amide, ethyl amide,  $\alpha$ -Methyl- $\beta$ -[5-nitrofuryl-(2)]-acrylic amide, methyl amide 等数種類に於て、抗菌作用並びに毒性の点から観ても従来の Nitrofurantoin 誘導体よりも優れた誘導体を見出した。

## (6) 感受性ディスクの基礎的検討

高村長司・武石展代

川崎市立川崎病院内科

茅野秀孝

慶応大学医学部細菌学教室

所謂ディスク法が果して信頼の出来るものかどうか一考を要すると思えるので、以下多少の検討を試み、また実験の途中であるが、二三報告する。

実験目的並に実験成績

感受性ディスク“栄研”を用い、初めにディスク法は常に一定の値を示し得るか否か、又培地の種類及び量の変化、菌の側の条件の変化がその阻止帯形成に如何なる変動を与えるかを検討した。

培地は普通寒天、Heart Infusion Agar, Muller-Hinton Agar を用い、菌は主としてブドウ球菌 209P、

其の他チフス菌, Ballarup, Besethder, 及び2~3の大腸菌を使用した。

先ず菌を斜面に1夜培養し, 生理的食塩水にて1回洗滌後, 1 mg/cc の菌液を作り, 0.5 mg/dl の割合に培地に混積, 之を15 cc 宛シャーレに分注感受性ディスクをのせて1夜培養後, 其の阻止帯形成の有無及び直径を測定した。

A) 培地, 菌共に全く同一なる条件の下に行つた場合のディスクの示す阻止帯直径の差は同一 Lot. No. に於ては誤差  $\pm 2$  mm の程度である。

B) 次に之に混積する菌量を, 2 mg/dl から0.2 mg/dl迄, 6段階にかえて比較すると大体に於て菌量の少い程阻止帯は大きくなる。

C) 菌の年齢については, 培地に混積する前の培養時間を夫々24時間及び48時間とし, 両者の阻止帯を比較すると, 48時間培養せる菌を使用した方が24時間培養の夫よりも阻止帯が大となる場合9例, 小となる場合3例, 両者に差のないもの6例あつた。

D) 薬剤の拡散係数の差により, 阻止帯直径が異なると言われているので, それに関係の深い培地の量, 即ち厚さを10 cc ( $\approx 1.3$  mm), 20 cc ( $\approx 2.7$  mm), 40 cc ( $\approx 6.0$  mm) とし比較すると各薬剤共量の少い程, 即ち厚さの薄い程阻止帯は大きくなる傾向にある。

E) 次に培地の組成により, Sulf 剤に対しては, 培地中の Peptone が拮抗的に働くと言われているのでそれが阻止帯形成にどの程度影響するかを検べた所, 普通寒天, Heart Infusion, Muller Hinton の3培地に於ては, すべての薬剤で阻止帯形成の有無には影響なく阻止帯の大きさでは Muller Hinton 培地の夫, 最も大きく次いで普通寒天, Heart Infusion 培地は最も小さい直径を示し, 特に Sulf 剤にのみ特異な影響を与えるとは見られなかつた。

F) 最後に Disk-method と Dilution-method とを比較検討すると, 各菌共総べての培地に於て, 抗生物質とは両方法良く一致するが, Sulf 剤に於ては各菌共一致しない。そこで大腸菌を用い Chlortetracycline (AM), Chloramphenicol (CM), Streptomycin (SM) の種々の段階の抵抗株を作り, Disk-method を行つたところ, AM に於ては150 mcg の抵抗株でも10 mcg Disk に於ても阻止帯形成があり, CM に於ては30 mcg 抵抗株にて始めて10 mcg Disk に阻止帯形成を見ず, 又 SM にては, 2 mcg 抵抗株にて1 mcg Disk に阻止帯形成なく50 mcg 以上抵抗株にては100 mcg Disk にも阻止帯形成がなかつた。

要するに Disk 法によつて抵抗菌, 感性菌の測定をするには条件を一定にするよう考慮する必要がある。

## (7) 主として産科領域より分離したブドウ球菌の薬剤耐性並びにファージ型

水野重光・松田静治・高田道夫  
井橋 力・陳 以烜

順天堂大学医学部産婦人科学教室

新生児皮膚疾患, 産褥乳腺炎, 骨盤内感染症等の産科領域疾患及び尿路感染症, 子宮頸癌等より分離したブドウ球菌182株並びに対照として正常妊婦, 褥婦, 健康非妊婦の陰, 新生児鼻腔その他より分離した292株について, PC, SM, CM, TM, EM に対する耐性試験を寒天平板割線法で測定し, 薬剤耐性と生物学的性状, 特にファージ型別との関係を観察した。なお耐性限界は PC 1 u/cc, SM 10 mcg/cc, CM 10 mcg/cc, TM 3 mcg/cc, EM 3 mcg/cc とした。

### 実験成績

疾患群の PC 及び SM 耐性株はそれぞれ 52.2%, 35.2% であり対照群の 30.5%, 14.4% に較べて高く, CM 及び TM は疾患群で 4.5% 及び 8.2%, 対照群では何れも 1.0% と非常に低く, また EM 耐性株は殆んど認められていない。生物学的性状のうち色素産生 (P), コアグラゼ産生 (C), マンニト分解 (M) の3者を組合せ, 抗生物質の耐性率を比較すると, P, C, M 3者が何れも (+) のものは 48.4% を占め最も高率であり, 且 PC, SM 耐性株は 79.5%, 50.0% と最も高率であるが P, C, M 3者が何れも (-) のものは 22.5% であり, PC 耐性は僅か 9.8% である。疾患群の耐性型をみると, PC だけに耐性のものは 25.2%, 交叉耐性では PC-SM 2重耐性が 22.5% を占め最も高く, その他の2重耐性は少なく, 3重耐性では PC-SM-TM 耐性 3.8%, SM-CM-TM 耐性 2.2% であり, その他 PC-SM-CM-TM 4重耐性が1株認められた。

疾患別では PC 及び SM 耐性率は, 新生児皮膚疾患で 76.2%, 57.1%, 産褥乳腺炎膿瘍で 85.7%, 57.1% と甚だ多いが, 尿路感染症では 17.4%, 8.7% と低率であり, また子宮頸癌や非特異性炎症よりの分離株では寧ろ CM, TM に耐性率の上昇が認められる。

コアグラゼ陽性株 (疾患群 110 株, 対照群 66 株) についてファージ型別を行つたが, 疾患群 62.7%, 対照群 16.7% が型別可能であり, 疾患群では I 群 50.7%, II 群 23.2%, III 群 23.2%, 混合群 2.9% であるが, 対照群では III 群が最も多く 63.6% であり, 次いで混合群, I 群及び II 群の順である。疾患別では新生児皮膚疾患 77.4%, 産褥乳腺炎 90.5%, 骨盤内感染症 80.0% と高率に型別可能であり, 尿路感染症, 子宮頸癌では 33.2

%, 25.0%と非常に低率である。群別では新生児疾患、乳腺炎にI群多く、その他の疾患群ではII群が比較的多く認められる。ファージ型と薬剤耐性との関係を疾患群で観察すると、型別株ではPCに87.0%, SMに55.1%が耐性であり、且この両者の2重耐性は52.2%である。

#### 結 論

1) 疾患群では52.2%がPCに、35.2%がSMに耐性であり、CM, TM, EMに対する耐性株は非常に低率である。

2) 2種以上の抗生剤に耐性のものはPC・SM 2重耐性株が最も多く認められた。

3) 疾患群では62.7%, 対照群では16.7%がファージ型別可能であり、その群別は疾患群ではI群が、対照群ではIII群が多く認められた。

4) ファージ型別株の耐性は型別不能株に較べ非常に高率である。

### (8) ブドウ球菌の化学療法剤感受性に関する研究

永井吉造

東京大学医学部清水外科教室

昭和31年6月より昭和32年2月までの間、主として膿汁から分離されたコアグラゼ陽性ブドウ球菌100株、コアグラゼ陰性ブドウ球菌15株について、11種の化学療法剤に対する感受性、生物学的性状、およびファージ型別を検査した。

#### 実験材料並びに実験方法

東京大学医学部附属病院臨床検査部細菌室において、各種臨床材料より分離したブドウ球菌115株を用いた。採取材料の区分は膿汁が大部分であるが、喀痰、咽頭分泌物、十二指腸液、血液、尿、帯下より分離した少数のものも含まれている。

これら材料より、普通寒天培地または山羊血液寒天培地で分離した菌集落のうちただ1個を採取し、斜面寒天に37°C、18~24時間培養し、それを2°Cの水室に保存して用いた。

使用した11種の化学療法剤は、ペニシリン(PC)、エリスロマイシン(EM)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(ACM)、クロルテトラサイクリン(オーレオマイシン)(AM)、オキシテトラサイクリン(テラマイシン)(TM)、クロラムフェニコール(CM)、ノボピオシン(アルバマイシン)(AI)、バントラシン(BC)、ロイコマイシン(LM) サルファイソキサゾール(Sulfa)で、PC, CM, SMは予研標準品を、その他もすべて標準品を用いたが、アルバマイシンのみは市販品より力価

を計算して用いた。

感受性の測定は、腸内細菌研究班提案の「赤痢菌のストレプトマイシン、クロラムフェニコール耐性測定法」に準じて行つた寒天平板希釈法で、サルファ剤のみはミューラーヒントン培地(pH 7.4)を用い、その他は普通寒天培地(pH 6.8~7.2)を用いた。希釈系列はPC, SMに、100, 10, 1, 0.1の4段階、他は、100, 30, 10, 3, 1, 0.3, 0.1の7段階(PC, BCはu/cc, その他はmcg/cc)を用いた。

色素生産は牛乳寒天培地で37°Cに24時間培養した後、5日間室温に放置して検査した。コアグラゼは家兔の血漿をBHIで10倍に希釈した1.0ccに18時間培養のブイオンを0.1cc加え、37°Cの水浴中に3時間、それ以後は37°Cのフラン器におき24時間観察し、24時間までに凝固するものを陽性とした。糖分解はグルコゼ、サクロゼ、ラクトゼ、マンニト、イヌリン、ザリチンの6種を用い、14日間観察した。溶血は山羊血液寒天平板により、ゼラチンの液化は5日間観察した。

ファージ型別は、ブドウ球菌ファージ型別研究会提案の方法により、29, 52, 52A, 79, 3A, 3B, 3C, 55, 71, 6, 7, 42E, 47, 53, 54, 70, 73, 75, 77, 42Dの20種類のファージを用い、100 R. T. D.で行つた。

#### 実験結果

コアグラゼ陽性100株で見ると

1) ペニシリンに対する感受性について、最少阻止濃度を1u/ccを含めそれ以下のものを感受性とするると23%が感受性で、昭和26年の成績と比較すると、1.6u/cc以下のものが73%であるから、感受性株が約1/3に減少した。

2) エリスロマイシン 最少阻止濃度1mcg/ccまでのものが96%で大部分をしめている。

3) ストレプトマイシン 最少阻止濃度10mcg/ccまでのものが27%で、昭和26年の成績では8mcg/ccまでのものが72%であるのに較べると耐性株が著しく増加している。

4) テトラサイクリン 最少阻止濃度3mcg/cc以下のものが85%である。オーレオマイシン、テラマイシンの昭和26年のものでは8mcg/cc以下のものが100%であつたのに較べると、やや耐性株が増加した。

5) クロラムフェニコール 最少阻止濃度10mcg/ccまでのものが91%で大部分をしめている。

6) アルバマイシン すべて最少阻止濃度0.3mcg/cc以下の株で、耐性株は見出されなかつた。

7) バントラシン、ロイコマイシン 最少阻止濃度について、前者が3u/ccまでのものが94%、後者は3mcg/cc

までのが 92% であった。

8) サルファイソキサゾール 最少阻止濃度 30 mcg/cc 以下のものが 18% で非常に少ない。

次にテトラサイクリン, オーレオマイシン, テラマイシンの感受性を比較して見ると, 交叉耐性があるといわれるように大体同じであるが, オーレオマイシン, テラマイシンが低濃度でテトラサイクリンよりやや感受性がある。

コアグラゼ陰性 15 株について見ると, ペニシリンでは, 1 u/cc 以下のものは 15 株中 11 株 (74%) でコアグラゼ陽性株より感受性のものが多く, アルパマイシンにやや感受性の低いものがあるほかは, 陽性の菌株と同じ傾向をもっている。

生物学的性状について

1) 色素生産では, コアグラゼ陽性のものは黄色が 94% で, コアグラゼ陰性のものでは逆に白色が 87% である。

2) 溶血も, コアグラゼ陽性のものは溶血性のものが 94%, コアグラゼ陰性の菌株は非溶血性のものが多かった。

3) ゼラチンの液化は, コアグラゼ陰性株 15 株中 7 株に認めなかつたのみである。

4) 糖分解 コアグラゼ陽性株についてはザリチンに弱分解を示す 1 株のほかはすべて一致し, グルコース, ラクトーゼ, サクローゼ, マンニットをすべて分解し, ザリチン, イヌリンは非分解である。コアグラゼ陰性の 15 株ではマンニット非分解, ザリチン分解のものも含んでいる。

5) ファージ型別については, コアグラゼ陰性株には溶菌が認められなかつたが, コアグラゼ陽性株にも 24% に認めることが出来なかつた。コアグラゼ陽性株について比較すると III 群が 28% で一番多く, II 群 17%, I 群 13%, 混合のもの 18% であった。ペニシリン耐性のもも III 群に多いが, 割合としては I 群にも同じくペニシリン耐性株がある。

結 論

- 1) ペニシリン耐性株の著しい増加。
- 2) エリスロマイシン感受性株が多い。
- 3) テトラサイクリン系のものは, 大多数の菌株が感受性をもっている。
- 4) コアグラゼ陽性菌株は比較的一致した糖分解を示した。
- 5) ファージ型別では, コアグラゼ陽性 100 株のうち III 群が 28% に見られ一番多かった。

(7)(8) に対する追加

児 島 秀 行 (慶大外科)

私は第 3 回化学療法学会東部支部会で外科的感染症に於ける *Micrococcus* の検討について報告したが, その中 Phage-typing に関して更に例数を重ねたのでここに追加する。

今回のファージ型分類に関しては 2 種の型に対して同程度の溶菌現象を示すものでその決定の困難なものが多かつたので一応 I+III, II+III として分類した。

全株数 87 株の中 typing できたものは 57 株, 65.5% で, 30 株 34.5% は typing できなかつた。これらはすべて硝酸塩還元能を有し, 合成培地を利用しないもので, typing し得た株はすべてコアグラゼ陽性株で, デラチン液化能, マンニット分解能の双方又はいづれかの一方を有するものであった。

外科的感染症を病院外感染症と術後感染を中心とする病院内感染症に分けてファージ型との関係をみると, 病院外感染症に多いのは第 II 型, 第 I 型であるが, 之に反し病院内感染症には特に第 III 型に多く, Cross-infection による術後感染に主役を演ずるのは, この群に属する *Micrococcus* であろうと推察される。

次にファージ型と PC 感受性との関係は表の如くで, 吾々の成績では第 III 型に圧倒的に耐性株発現が多く, 第 II 型に比較的感受性株が多い様に思われる。

病院外感染症の場合でも第 III 型には PC 耐性株の多い事から, ファージ型によりこれら病原性菌の PC に対する態度を異にする事が考えられ, 更に例数を重ねて検討を加えたい。

## (9) 細菌の薬剤耐性に関する研究 I

大腸菌の重金属耐性に関する研究

西 谷 定 一・片 山 胖

京都府立医科大学微生物学教室

細菌の薬剤耐性獲得及びその遺伝の機序は, 単に化学療法上のみでなく, 生物学上の問題としても大きな意味を持つものである。これに関して我々も, 重金属イオンに対する耐性菌を大腸菌に於て分離し, この問題の model system として実験し考察を行った。

1)  $\text{Co}^{++}$  は大腸菌の増殖を阻止するが,  $\text{Mg}$  塩を  $10^{-4}$  mol に含有する minimum medium に於て,  $10^{-5}$  mol の濃度で阻止効果を持つ。

2)  $\text{Co}^{++}$  は, 大腸菌の解糖過程に対しても, 阻止作用を持つ。

3)  $\text{Co}^{++}$  の, 此の阻止作用は, medium の  $\text{Mg}^{++}$  或は  $\text{Mn}^{++}$  との間に密接な相互関係があり, その働きは拮抗的であり,  $\text{Mg}^{++}$  を高濃度に加える事により,  $\text{Co}^{++}$  の阻止作用は或る程度は, 除去する事ができる。此の点より,  $\text{Co}^{++}$  の抗菌作用は, 細菌の Enzyme system の

Acitivation に必要な  $Mg^{++}$  乃至  $Mn^{++}$  に対する拮抗作用に基くものであると考えられる。

4)  $Cu^{++}$  及び  $Ni^{++}$  に於ても同様の抗菌作用があり、抗菌力及びその Mechanism に就ても同様の事が示されうる。

次に、我々は、大腸菌 K<sub>12</sub> 株を用いて、その  $Co^{++}$  耐性菌及び  $Cu^{++}$  耐性菌を分離した。耐性菌分離は Simon's glucose medium に対して  $Co^{++}$  を種々濃度に加え、耐性の度を次第に上昇せしめた。此の際、one-step で高濃度への耐性を獲得する事は不能である。斯うして、 $Co^{++} : 5 \times 10^{-4}$  mol に対する耐性菌を分離した。此の耐性菌に就ては

1) 獲得した耐性は安定であり、十数代の継代 ( $Co^{++}$  を含まぬ培地への) によつても、その耐性を維持する。

2)  $Co^{++}$  耐性菌は  $Ni^{++}$  に対しても交叉耐性を有する。Streptomycin, Penicillin 等に対する感受性の変化は見られない。

耐性菌の生理学及び遺伝学の問題についてもなお現在実験中である。

#### (10) 昭和31年京都府下並びに市内に於て発生した赤痢菌の薬剤耐性に就いて

中 沢 昭 三

京都薬科大学微生物学教室  
東大伝研第5研究部

昨年の総会に於て、過去5カ年間の推移に就て発表したが、今回は府下分離株43株、市内分離株51株との間の差異に就て報告する。

1) SM に就ては、市内分離株の48株中、2株のみは100 mcg/cc の高度耐性株で残り46株は何れも標準株と全く同じ感受性を示した。これに反し府下分離株に於ては中等度耐性株が多数認められた。

2) CM に就ては市内分離株51株何れも感受性高く、耐性株の存在は認めなかつた。これに反し府下分離株に於ては50 mcg/cc の如き高度耐性株並びに12.5~25 mcg/cc なる耐性株が2, 3認められた。

3) AM に就ては府、市分離株共に多数の耐性株の存在傾向が見られ、特に府分離株に於ては100~200 mcg/cc の如き高度耐性株が高率に認められた。

4) TM に於ては市分離株には全く耐性株は認められなかつたが、府分離株に於てはAMと同様100~200 mcg/cc の如き高度耐性株が多数認められた。

5) 分離株の交叉耐性

AM, TM間には完全な交叉耐性が認められ、更にCMとの3者交叉耐性を示すものも認めた。

#### (11) 抗生物質耐性赤痢菌の他種薬剤に対する感受性

間 宮 利 郎

大阪大学医学部第三内科

私は赤痢菌の種々の薬剤耐性菌につき、他種薬剤に対する感受性を比較検討した。

使用した菌株は *Sh. flex.* 菌型2a, 菌株 EW 10 の各種薬剤耐性菌及び感染症より分離せる各種耐性菌である。

使用した薬剤は、治療上日常広く使用される Sulfanilamido-isoxazole (SI), Chloramphenicol (CM), Tetracycline (TC) 及び Streptomycin (SM) の4種を選んだ。

実験方法：まず EW 10 株を用いて、平板法により各種薬剤耐性菌を作り、37°C 24 時間ペプトン水にて培養後、その培養液を適当に希釈し、抗生物質含有寒天(その酸性度に相当する種々な濃度と他の3種薬剤の最少発育阻止濃度の1/2~1/5を夫々同時に含有する)平板上に撒布し37°C 24 時間培養後、発生する集落数を比較した(one-step 法と仮称する)。

実験結果：SI 40 mg% 耐性 EW 10 株につき one-step 法を行なうと、TC 含有寒天平板上で耐性菌集落数は最も少数且低率である。又 SI 40 mg% 耐性白松株についても同様の結果がみられた。かかる現象は、SI 耐性菌は他の3種薬剤の中では TC に最も感受性を増しているものと考えられる。

同様のことを CM 8 mcg 耐性 EW 10 及び中東株について行なうと、SM に高い感受性を示すことを認めた。更に TC 耐性菌にては SM に、SM 耐性菌にては TC に高い感受性を示す結果を得た。

以上の結果をまとめると、SI 耐性赤痢菌は TC に感受性を増し、CM 耐性菌は SM に、TC 耐性菌も SM に、そして SM 耐性菌は TC に感受性の上昇を示すと考えられる。そしてかかる現象は、試験管内で得られた耐性菌株のみならず患者材料より分離された所謂 Wild の耐性菌株にても認めることが出来た。

臨床で、耐性菌感染症の治療に当つて、夫々の耐性菌が高感受性を示す抗生物質を選ぶことは意義あることと思う。

#### (12) リウマチ患者咽頭分離連鎖球菌について

—抗生剤感受性—

白 石 勲・本 間 光 夫

東邦大学阿部内科