

オメガ位に環状物質を有する脂肪酸の抗結核作用 (1)

化学療法剤の研究 (第3報)

戸田忠雄・徳永徹

九州大学医学部細菌学教室

(昭和33年11月7日受付)

序 論

脂肪酸または油脂類が抗酸菌に対しある程度の発育抑制作用をもっていることは、既に1890年 R. KOCH¹⁾ が発表しているところであり、著者の1人戸田²⁾も1927年各種 oil emulsion の抗結核菌作用を検討して hydrocarpus-oil その他が強い発育阻止を示すことなどを認めている。それと相前後して LINDENBERG ら³⁾, ISABOLINSKY ら⁴⁾, BOISSEVAIN^{5,6)}, 遠藤⁷⁾, 八谷⁸⁾, 林田⁹⁾, 百瀬¹⁰⁾ などの研究があり、その後更に広範な研究が、若林¹¹⁾, IJIMA¹²⁾, 貝田¹³⁾, DUBOS^{14~17)}, ADAMS^{18~21)}, NEGRE²²⁾, 日置一門²³⁾, 渡辺^{24,25)}, 宮川^{26,27)}, 藤田^{28~30)}, 橋本³¹⁾ などによつて行なわれている。

直鎖脂肪酸の結核菌に対する発育阻害作用は、橋本³⁶⁾によると C₆ より炭素原子数の増加と共に増大し、C₁₄ または C₁₈ を頂点として C₁₈ 以上の酸には殆ど抗菌力は認められないという。このような炭素数の増大に伴つて抗菌力が山型を画く現象は、 ω 位に環状物質を有する脂肪酸の場合にも見られている。この種脂肪酸の抗結核作用に関しては、Chaulmoogra 酸とその誘導体について古くから多数の研究がなされているのを始め^{3,23,26)}, 極めて多くの研究が活潑になされているが、ADAMS^{18~21)}によると、この場合環状核は大きな意義をもたず、重要な因子はむしろ全炭素数にあると考えた。渡辺^{24,25)}は Alkyl 化合物の Alkyl 基炭素数と抗菌作用との関係を検討し、各化合物はいずれも山型曲線を描くことを示したが、このような現象は、例えば浮田^{32,33)}, 浅野³⁴⁾, FEISTONE ら³⁵⁾, 日置³⁶⁾, 野津^{37,38)}, 石館³⁹⁾ によつても夫々確かめられている。

著者らは先に 4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone 及び 4-hydroxycoumarin の3位側鎖の炭素数とその末端構造を種々変化せしめることによる抗菌力の変化についての報告したが⁴⁰⁾, 今回は種々の活性環状部を ω 位に有する脂肪酸について試験管内抗菌力を検討し、その中の2,3化合物についてマウスに対する毒性試験, 実験結核の治療を行なったので報告する。

実験方法

試験管内抗菌試験に関する実験方法は全て前報^{40,41)}と同様である。

供試薬剤は熊大薬学部 藤田教授及び田辺製薬より合成提供を受けた新物質 27 種である。これらの構造式及び薬剤番号は第1表に示した通りである。

毒性試験は 5% プロピレングリコールに suspend せしめた薬剤の所要量を ddN 系マウス (δ , 体重 17 g) の腹腔内に1回注射を行なつて 48 時間内の生死を観察した。

Table 1. Derivatives examined.

No.	Compounds
ω 1	ω -Phenyl amino undecanoic acid
ω 2	ω -(<i>o</i> -Methyl)-phenyl amino undecanoic acid
ω 3	ω -(<i>m</i> -Methyl)-phenylamino undecanoic acid
ω 4	ω -(<i>p</i> -Methyl)-phenylamino undecanoic acid
ω 5	ω -(<i>o</i> -Methoxy)-phenylamino undecanoic acid
ω 6	ω -(<i>m</i> -Methoxy)-phenyl amino undecanoic acid
ω 7	ω -(<i>p</i> -Methoxy)-phenylamino undecanoic acid
ω 8	ω -(<i>p</i> -Hydroxy)-phenylamino undecanoic acid
ω 9	ω -(<i>m</i> -Chlor)-phenylamino undecanoic acid
ω 10	ω -Sulfanyl undecanoic acid
ω 11	ω -Sulfanyl caproic acid
ω 12	ω -Acetosulfanyl undecanoic acid
ω 13	ω -Acetosulfanyl caproic acid
ω 14	4-Ethyl malonato amino salicylic acid
ω 15	4-Ethyl succinato amino salicylic acid
ω 16	4-Ethyl glutarato amino salicylic acid
ω 17	4-Ethyl adipato amino salicylic acid
ω 18	4-Ethyl subericato amino salicylic acid
ω 19	4-Ethyl sebacato amino salicylic acid
ω 20	4-Sebacato amino salicylic acid
ω 21	<i>N</i> ² -isonicotinyl ethyl sebacic acid hydrazide
ω 22	Ethyl- ω -(thiazyl-2-amino)-sebacate
ω 23	ω -(Thiazyl-2-amino)-sebacic acid
ω 24	Dipropionyl diamino diphenyl sulfone
ω 25	Dibutyryl diamino dipropionyl sulfone
ω 26	Ethyl- ω -(<i>N</i> ⁴ -sulfamino)-sebacate
ω 27	ω -(<i>N</i> ⁴ -sulfamino)-sebacic acid

治療実験においては、同様マウスの腹腔内に 1.5×10^6 の生菌を接種、その翌日より治療を開始し、薬剤 2mg/四/日を週 6 日、30 日間皮下注射し、35 日目に剖検、型の如く肺脾の定量培養を行なった。肺脾はいずれも全臓器を使用した。

実験成績

試験管内抗菌作用は第 2 表に、毒性試験は第 3 表に、実験結核の治療成績は第 4 表に、夫々一括表示した。

Staph. aureus-209 Ps, *Esch. coli*-OGAWA に対しては、第 2 表に見る如く、全て 1 万倍稀釈で発育抑制作用を認めなかつたが *Myc. tbc.*-H 37 Rv に対する試験管内発育抑制はかなり高い薬剤が認められた。即ち $\omega 1 \sim \omega 9$, $\omega 14 \sim \omega 23$, $\omega 26 \sim \omega 27$ の 21 薬剤はいずれも 1 万倍以上で抑制作用を示しており、就中環状物質として PAS 及び INAH を導入した $\omega 14 \sim \omega 23$ は 16 万倍又はそれ以上の抗菌力を示した。

毒性試験では、対照の INAH がマウス体重当り 400 mg/kg で 48 時間以内に全匹死亡したのに比べ、使用した $\omega 1$, $\omega 19$ は 1 例も死亡せず $\omega 1$ は 800 mg/kg で全数生存し毒性が極めて少いことが認められた。尚 2mg/日皮下連続注射したマウスは 35 日目剖検時まで体重増加が認知され、全身皮下に脂肪沈着が著明であつた。

治療成績は $\omega 1$, $\omega 19$ 治療群ともに肉眼的病変の程度はかなり著しく、臓器定培成績も、第 4 表に示した如く、Control に比し必ずしも好成績を示さなかつた。

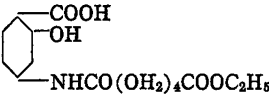
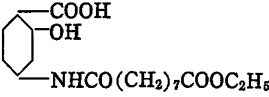
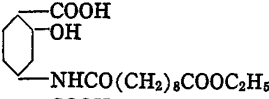
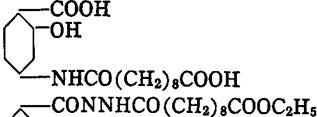

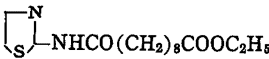
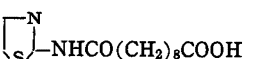
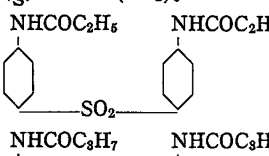
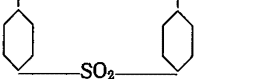
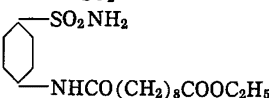
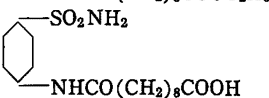
Table 3. Toxicity of [$\omega 1$] and [$\omega 19$].

No.	mg/kg		
	800	400	200
[$\omega 1$]	4/4*	4/4	4/4
[$\omega 19$]		4/4	4/4
INAH		0/4	4/4

* mice survived 48hr. after injection
* mice injected intraperitoneally

Table 2. The antibacterial activity *in vitro*.

No.	Compound	Bacterial strain		Myc. tbc.	
		Incubation time	24 hr.		
$\omega 1$			<1*	<1*	4* 2
$\omega 2$			<1	<1	2 2
$\omega 3$			<1	<1	<2
$\omega 4$			<1	<1	4 2
$\omega 5$			<1	<1	1 0.5
$\omega 6$			<1	<1	4 2
$\omega 7$			<1	<1	1 0.5
$\omega 8$			<1	<1	4 4
$\omega 9$			<1	<1	4 4
$\omega 10$			<1	<1	<1
$\omega 11$			<1	<1	<1
$\omega 12$			<1	<1	<1
$\omega 13$			<1	<1	<1
$\omega 14$			<1	<1	16 16
$\omega 15$			<1	<1	16 8
$\omega 16$			<1	<1	16 8

No.	Compound	Bacterial strain	<i>Staph. aureus</i>	<i>Esch. coli</i>	<i>Myc. tbc.</i>
		Incubation time	24 hr.	24 hr.	3W 4W
ω 17			<1	<1	16 8
ω 18			<1	<1	16 8
ω 19			<1	<1	32 8
ω 20			<1	<1	16 8
ω 21			<1	<1	16 8
ω 22			<1	<1	4 4
ω 23			<1	<1	4 4
ω 24					<1
ω 25					<1
ω 26			<1	<1	4 4
ω 27			<1	<1	2 2
SM	Streptomycin		16 8	8 4	128 64

(* 1 : 10,000)

Table 4. Effect of [ω 1] and [ω 19] on experimental mouse tuberculosis.

Exp.	Drug	Mice used	Weight of spleen	Viable count of Tbc. bacilli	
				in spleen	in lung
I	ω 1	12	175*	55 × 10 ^{8*}	74 × 10 ^{8*}
		9	230	73 × 10 ⁸	104 × 10 ⁸
II	ω 19	6	225	48 × 10 ⁸	
		5	280	96 × 10 ⁸	

* Each figure in columns represents average value.

考 按

(i) 脂肪酸の炭素数と抗菌力との関係

ADAMS ら¹⁸⁻²¹⁾によると chaulmogrivic acid 及びその類似化合物において環状部の構造にはかなりの自由性があるが、脂肪酸の炭素の総数が C₁₆~C₁₈ の時に鼠類に対して最も有効であるという。渡辺^{25,26)} は各種の Alkyl 化合物について抗結核性を検討した結果、Alkyl 基炭素数と抗菌力との間には一定の関連性があり、多くの化合物が C₁₀~C₁₂ 或いは C₈ の附近にピークが存在することを認めている。同様の現象は、例えば Promin, Promizol などの DDS 系統の癩薬でも知られており、浅野ら⁴³⁾、日置ら^{36,37)} の 4-amino-4'-acylamino-diphenyl sulfone-N'-acylsulfamide の場合には C₁₁~C₁₂、また野津ら^{38,39)} の o-Aminophenyl-alkyl ether では C₁₂~C₁₈ が頂点であり、石館ら⁴⁰⁾ の p-Aminophenyl alkyl sulfone では C₅~C₆ の時が最高であった。浮田^{32,33)} の 3-Acyl-4-hydroxycoumarin 及び α-Benzyl fatty acid の場合、また浅野ら³⁴⁾ の α-Ethyl fatty acid の場合、また FEISTONE³⁵⁾ の 5-Amino-2-alkoxypyridine の場合などにも同様の現象が認められている。著者らも前報⁴¹⁾ において 4-Hydroxy-6-methyl-2-pyrone 及び 4-Hydroxycoumarin について C₁₀ の場合が最も抗菌価の高いことを報告した。

今回は炭素数の異なる脂肪酸の ethyl-ester に PAS を縮合せしめた化合物 ω 14~ω 20 についてこの点を検討したが、わずかに C₁₀ の 4-Ethyl sebacato amino salicylic acid に他より高い抗結核菌作用を認めただけで他は C₈~C₁₁ の間に差が認められなかった。

(ii) 脂肪酸エステルのアルコール部分をエチル基に換えた場合の抗菌力

前報⁴¹⁾ において著者らは脂肪酸エステルのアルコール部分をメチル基またはエチル基に換えた場合、その結核菌発育阻止力は



の順序で上昇することを述べた。今回は $\omega 19$ と $\omega 20$, $\omega 26$ と $\omega 27$ とにおいて同様にエチル基にしたものの方が抗結核作用の強いことを認めた。

(iii) ω 位に結合せしめた環状物質の種類と抗菌力

$\omega 1 \sim \omega 9$ は同一の脂肪酸 undecanoic acid に amino-phenyl 誘導体を結合せしめたものであるが、一般に benzen 核の para 位に $-CH_3$, $-OCH_3$, $-OH$ などの基の入つたものでは、ortho 位に同様の基の入つたものよりも抗菌価が高いように思われた。然しこの系の化合物は benzen 核の構造の差異による抗菌力の大きな変化は認められなかつた。

$\omega 10 \sim \omega 13$, $\omega 26$, $\omega 27$ は脂肪酸と sulfamin 系の縮合物である。これらに関しては CLIMENCO ら⁴⁴⁾, 河合⁴⁵⁾ などの研究があるが、著者らの成績では $\omega 10 \sim \omega 13$ は全て 1 万倍で抗結核作用を認めなかつた。日置²⁸⁾ は既に N^4 の NH_2 基を蔽うてはならぬことを指摘しているが、このことは $\omega 26$ と $\omega 27$ とが 4 万, 2 万で夫々発育阻止を示していることと較べると著者らの成績でも認められるところである。

ω 位の環状物質が PAS ($\omega 14 \sim \omega 20$), INAH ($\omega 21$), 2-aminothiazyl ($\omega 22$, $\omega 23$) の場合は一般に高い抗菌力を示した。然し PAS 又は INAH 単独の抗菌力にはいづれも及ばなかつた。

Diphenylsulfone に関しては HINSHAW ら⁴⁶⁾, 日置^{28, 36)} の広範な研究があるが、著者らの試みた薬剤 $\omega 24$, $\omega 25$ は無効であつた。

(iv) 毒性と治療実験

$\omega 1$ 及び $\omega 19$ は共にマウスに対する毒性が低い。容解度が低いので高濃度の毒性を見ることができなかつたが、 $\omega 1$ は 800 mg/kg, $\omega 19$ は 400 mg/kg で急性毒性を示さなかつた。従つて、鼠類⁴⁷⁾ 並びに結核に対する治療実験を行なつたのであるが、結核に対しては臓器内生菌数がコントロールの約 1/2 位に減少している程度で、著明な効果は認められなかつた。

結 語

ω 位に種々なる環状物質を有する脂肪酸など 27 種の新化合物について試験管内抗菌試験, マウス毒性試験, マウス結核治療実験を行ない, 次の如き結論を得た。

(i) これら化合物はブドウ球菌, 大腸菌に対しては抗菌力をもたない。

(ii) ω -phenylaminoundecanoic acid の誘導体及び PAS, INAH, 2-amino thiazyl, sulfamine などの脂肪酸またはそのエチルエステルとの縮合物は結核菌に対し試験管内で抗菌力を示した。特に 4-Ethyl-sebaco-amino salicylic acid 系と, N^2 -isonicotinyl ethyl sebatic acid hydrazide とは高い抗菌力を示した。

(iii) 供試薬剤の化学構造と抗菌力との関係について若干の考按を試みた。

(iv) 一般に毒性は弱く, ω -Phenyl amino undecanoic acid では 800 mg/kg, 4-Ethyl sebacato amino salicylic acid では 400 mg/kg でマウスに対し急性毒性を示さず, また連日 2 mg/匹, 週 6 日, 30 回皮下注射によりマウスは一般状態良好で皮下脂肪の沈着が著明であつた。

(v) マウス実験結核に対する治療実験では上記 2 薬剤は著明な治療効果を示さなかつた。

終りに臨み, 薬剤を合成提供して下さつた熊大薬学部 藤田穆教授及び田辺製薬株式会社に感謝する。

文 献

- 1) KOCH, R. . Gesammelte Werke von R. Koch., I, 650, 1912.
- 2) TODA, T. : 満洲医学雑誌, 7, 91, 1927.
- 3) LINDENBERG, A. *et al.* . Ztschr. Immf., 32, 66, 1921.
- 4) ISABOLINSKY, M. *et al.* : Ztschr. Immf., 40, 303, 1924.
- 5) BOISSEVAIN, C. H. : Am. Rev. Tbc., 12, 84, 1926.
- 6) BOISSEVAIN, C. H. . Zentralbl. ges. Tbk., 27, 356, 1927.
- 7) 遠藤繁清, ほか : 結核, 4, 595, 1926.
- 8) 八谷常太郎, ほか : 結核, 6, 1407, 1928.
- 9) 林田豊次 : 国民衛生, 5, 12, 1928.
- 10) 百瀬茂八 : 衛生伝染病学雑誌, 26, 609, 1931.
- 11) 若林宏 : 実験医学雑誌, 17, 753, 1933.
- 12) IJIMA, S. : Tohoku J. Exp. Med., 25, 424, 1935.
- 13) 貝田勝美, ほか : 結核, 21, 学会誌, 13, 1943.
- 14) DUBOS, R. J. *et al.* : Am. Rev. Tbc., 54, 204, 1946.
- 15)~17) DUBOS, R. J. : J. Exp. Med., 85, 9, 1947, Ibid., 88, 73, 1948., Ibid., 92, 319, 1950.,
- 18)~21) ADAMS, R. *et al.* : J. A. C. S., 48, 2385, 1926., Ibid., 51, 1261, 1929., Ibid., 52, 1289, 2540, 1930., Ibid., 55, 1548, 1932.
- 22) NEGRE, L. *et al.* : 結核菌の脂質と結核症, 共立出版, 1956.
- 23) 日置陸奥夫 : 結核の化学療法, 東西医学社, 1948.
- 24), 25) 渡辺照 : 薬学雑誌, 76, 696, 1956., Ibid., 76, 843, 1956.
- 26), 27) 宮川米次, ほか : 日本医事新報, 1643, 3, 1955., 同誌, 1688, 9, 1956.
- 28) 橋本達一郎, ほか : 医学と生物学, 44, 91, 1957.
- 29)~31) 藤田穆, ほか : 薬学雑誌, 74, 119, 1954., 同誌, 75, 371, 1955., 同誌, 76, 37, 1956.
- 32), 33) UKITA, T., *et al.* . J. Pharm. Soc. Japan, 71, 234, 1951., Ibid., 71, 289, 1951.
- 34) 浅野三千三, ほか : 薬学雑誌, 70, 202, 1950.
- 35) FEINSTONE, *et al.* : J. Pharm. Exp. Therap.,

- 89, 153, 1947.
- 36), 37) 日置陸奥夫, ほか 金沢大結研年報, 3, 107, 1954., Ibid., 17, 1945.
- 38), 39) 野津竜三郎, ほか : 薬学雑誌, 71, 713, 1951., Ibid., 72, 543, 1952.
- 40) 石館, ほか : 薬学雑誌, 72, 88, 521, 1952.
- 41) 戸田忠雄, ほか : 本誌, 6, 91, 1958.
- 42) 戸田忠雄, ほか : 本誌, 6, 96, 1958.
- 43) 浅野三千三, ほか : 薬学雑誌, 64, 1, 1944.
- 44) CLIMENCO, *et al.*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 43, 624, 1940.
- 45) 河合益男 : 金沢大結研年報, 2, 61, 1944.
- 46) HINSHAW, *et al.*: J. Am. Med. Ass., 117, 1066, 1941.
- 47) 戸田忠雄, ほか : レブラ, 印刷中, 1958.