

サルファ剤の生物学的活性濃度測定法ならびに 2, 3

サルファ剤についての測定成績

金 沢 裕・倉 又 利 夫

新潟鉄道病院

(昭和 35 年 5 月 23 日受付)

サルファ剤は一般に体内に摂取されると一部は肝臓でアセチル化され、遊離型とアセチル型になり、さらに遊離型は血清蛋白との結合により、蛋白結合体および非蛋白結合体にわかれ、また Sulfadimethoxine はグルクロン酸抱合体となり排泄されることも知られている。アセチル化型と、グルクロン酸抱合体および血清蛋白結合型は、そのままの状態では抗菌力がほとんどないと言われている。

従来サルファ剤の体内薬剤濃度は多く、BRATTON-MARSHALL, FRISK, 津田氏等による比色定量法が行なわれている。これらの比色定量法では遊離型とアセチル型とは分離測定することは出来るがその遊離型の量は血清蛋白との結合度には無関係であるので直ちに抗菌力をあらわす薬剤濃度とは言い難い。したがって体液中の生物学的活性濃度を測定することは遊離型の測定より一歩すすんでサルファ剤の治療効果に直結する活性値の体内分布状態を推定し得る可能性があると考えられる。

サルファ剤の生物学的活性濃度測定法として最近¹⁾西村氏等はグルコース、シモンズの合成培地を用い、普通カップ法で *E. coli* K-12 株を検定菌として測定する方法を報告している。

私どももこの方法を追試したが、私どもの技術が充分でなく、菌株が培地に出来ないため十分な阻止円をうるができなかつた。そこで私どもは抗サルファ剤物質のすくなく、しかも菌の発育のよい市販の培地を用い、普通カップ法の代りに薄層⁴⁾⁵⁾カップ法(宮村)を応用し精度をあげ、色素還元法を併用し阻止円を一層明確に現出させる一般的なサルファ剤の微量定量法をこころみた。また一部に比色法による生物学的活性濃度測定法についても実験を行つたので報告する。

実験方法ならびに実験成績

薄層カップ法による測定法

実験方法

使用菌株：大腸菌 *E. coli* K-12 を Sulfisoxazole, Sulfisomezole, Sulfamethoxy-pyridazine, Sulfamethizole に、ブドウ球菌 209P を Sulfadimethoxine, Sulfaphenazole に試験菌として用いた。

培地：MUELLER-HINTON の金沢¹⁰⁾変法培地(日産研究所より感性ディスク用粉末培地として市販)牛心臓浸出液 300, カザミノ酸 16.5, ブドウ糖 2.0, 可溶性澱粉 1.5, 精製寒天粉末 15, 水を加えて 1,000, pH 7.4

可溶性澱粉は除いてもよく pH も厳密を要しない。MUELLER-HINTON 原法培地でもよいが本培地の方が菌の発育がややよい。

平板作製：24 時間培養菌苔 1 白金耳を生理的食塩水 2 ml に充分均等に浮游し、48°C 前後の溶解寒天培地に 0.1% の割に加え、水平にした底の平らなシャーレに 5 ml 宛平等に分注する。Sulfadimethoxine, Sulfaphenazole には感度がやや低いので 0.02% 宛接種する。

検体ならびに標準の調製：被検血漿、血清は 20 倍に、尿は 5~100 倍(後述のように各サルファ剤により異なる)に pH 7.0 の M/15 磷酸 Buffer で稀釈し、濃度が 10~0.2 mcg/ml の範囲程度にあるようにする。標準も被検体と可及的同一条件になるように、たとえば血漿の場合は 20 倍稀釈血漿に 10, 2.5, 0.625, 0.15625 mcg/ml の濃度を含有させるように調製する。

培養：菌接種平板にカップを数コ立て、カップに標準ならびに被検体を入れる。平板を 6 時間冷室に放置し、その後 37°C に 14~16 時間培養する。

測定：カップを除いて、0.3% Triphenyl-tetrazolium-

第 1 表 サンプルの pH による阻止円の影響 (ブドウ球菌 209P)

磷酸緩衝液の pH		6.4	7.0	7.7	8.0
Sulfisoxazole	0.5 mcg/ml	14.5mm	15 mm	15 mm	15.5mm
Sulfamethoxy-pyridazine	"	13 "	15 "	14 "	14.5 "
Sulfadimethoxine	"	15.25 "	15.75 "	15.5 "	15 "

chloride(T. T. C.) 溶液約 1 ml 宛を平板上に流し、2~3 分後に余分の液をすて 10~20 分後に呈色によりあらわれた阻止円直径を垂直な 2 方向より 1/4 mm まで計測する。

多くの場合 T. T. C. 呈色を行なわなくても阻止円を計測することが出来るが呈色により阻止円境界は一層鮮明となる。

濃度計測：半対数方眼紙上に、阻止円直径を整数目盛で、薬剤濃度を対数目盛でとり、標準の測定値の坐標を求め、標準曲線を描き、その上に被検体の阻止円に相当する点をプロットして、被検体濃度をよみとる。標準曲線は多くの場合直線に近くなる。

実験条件の検討

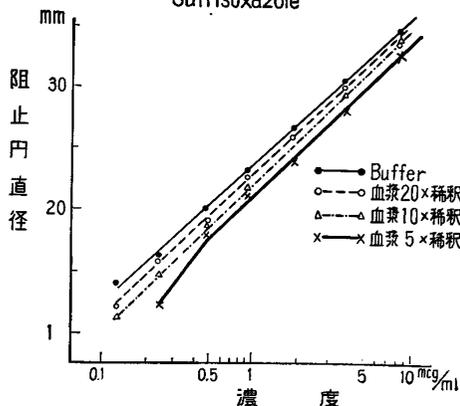
サンプルの pH による阻止円の影響：カップに入れるサンプルの pH による阻止円の影響を検討したところ、第 1 表のようで、pH 6.4~8.0 の間ではほとんど差はみられなかつた。

接種菌量による影響：2 ml に 1 白金耳を均等に浮游した菌液を用いて接種菌量の阻止円出現に対する影響をみたところ、0.1% 以下の稀薄な方が適当なことが判明した。

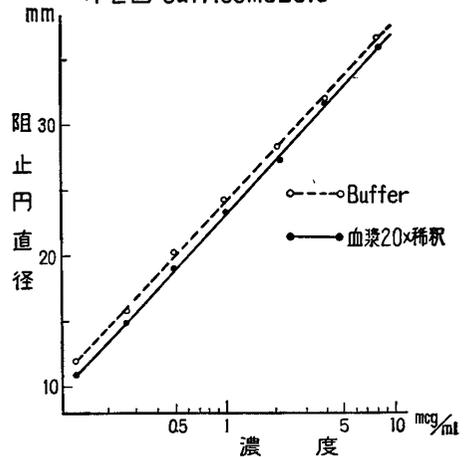
第 2 表 接種菌量と阻止円の鮮明度
(*E. coli* K 12 株)
2 ml に 1 白金耳浮游液

混和量	接種菌数/ml	阻止円の鮮明度
2 %	1×10^7	—
0.5 %	2.5×10^6	±
0.2 %	1×10^6	+
0.1 %	5×10^5	++
0.05%	2.5×10^5	+++

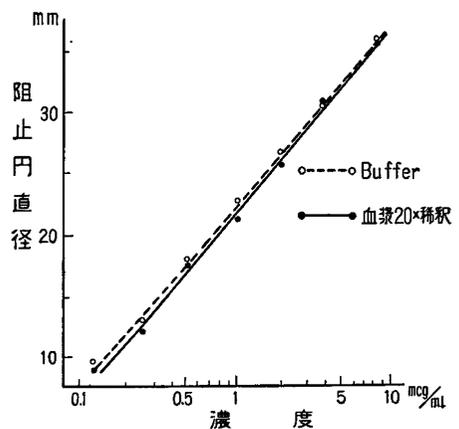
第 1 図 薬剤濃度と阻止円の関係
Sulfisoxazole



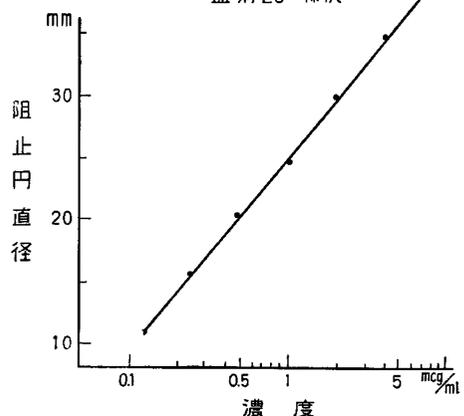
第 2 図 Sulfisomezole



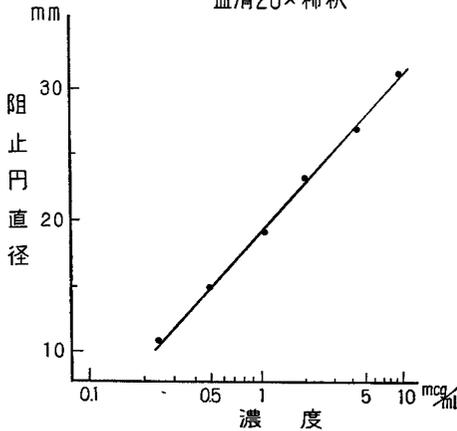
第 3 図 Sulfamethoxypridazine



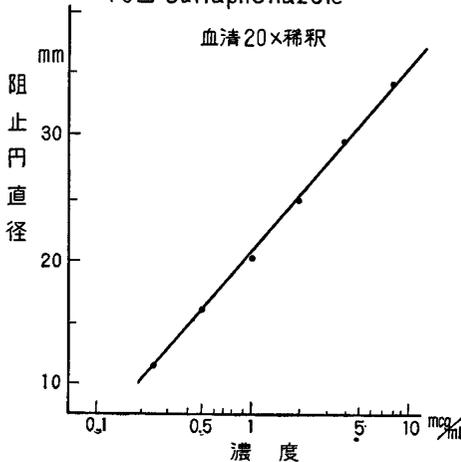
第 4 図 Sulfamethizole
血清 20x 稀釈



第5図 Sulfadimethoxine
血清20×稀釈



第6図 Sulfaphenazole
血清20×稀釈



各種サルファ剤についての薬剤濃度と阻止円の関係：Sulfisoxazole について Buffer 及び血漿の稀釈液について濃度と阻止円直径の関係を求めた(第1図)。血漿は稀釈度の高い方がやや阻止円が大きく、また10倍以上稀釈すれば低濃度まで直線関係を呈する傾向がみられた。

同様にして他のサルファ剤について稀釈血漿、又は血清に薬剤を含有させ、薬剤濃度と阻止円の大きい関係の求め、半対数方眼紙上に両者の関係をあらわす標準曲線を描いた(第2, 3, 4, 5, 6図)。Sulfisoxazole, Sulfisomezole, Sulfamethoxyppyridazine, Sulfamethizole では8~0.125 mcg/ml, Sulfaphenazole, Sulfadimethoxine では8~0.25 mcg/ml の範囲内でいずれも阻止円直径と薬剤の対数濃度の間にほぼ直線関係が成立することが認められた。

阻止円直径を d , 薬剤濃度を C , α, β を定数とすれば $d = \alpha \log C + \beta$ の関係式が成立し、抗生物質のカップ

法と同様に標準曲線法、またはつぎの力価計算式を適用して被検力価を計測することができるわけである。

標準液の高濃度の方の阻止円直径を Sh , 低濃度の方のを Sl , 被検液の高濃度の阻止円直径を Uh , 低濃度のを Ul とし、高濃度と低濃度の比を A , 被検力価の標準高濃度に対する比を $\theta(\%)$ で示すと

$$\log \theta = \frac{(\sum Uh + \sum Ul) - (\sum Sh + \sum Sl)}{(\sum Uh + \sum Sh) - (\sum Ul + \sum Sl)} \log A$$

および被検体が一濃度でその阻止円直径を U とすれば

$$\log \theta = \frac{\sum U - \sum Sh}{\sum Sh - \sum Sl} \log A$$

$$\text{或いは } \log \theta = \frac{\sum U - \sum Sl}{\sum Sh - \sum Sl} \log A$$

の式がそれぞれ適用され、その計算は宮村⁹⁾のノモグラフ、計算尺、またはFDAのチャート、或いは前述の標準曲線法により容易に算出することが出来る。

本測定法の実験誤差に関する検討：いま Sulfisomezole に関して行なつた実験成績(第3表)において、2.0 mcg/ml と 0.5 mcg/ml を標準、1.0 mcg/ml と 0.25 mcg/ml を被検体とみなして計算した力価について梅沢⁷⁾氏の方式にしたがって実験誤差を検討した。

危険率 1%, 分散不偏推定量 = u

標本平均 = \bar{m} , とすると

$$\text{平均値信頼限界} = \bar{m} \pm u\sqrt{F/N}$$

$$u = 0.1337$$

$$n_1 = 1$$

$$F(0.01) = 12.25 \text{ で平均値に対する誤差の最大値を}$$

$$n_2 = 7$$

求めると

$$\frac{\sigma^2}{u^2} = F \frac{n_1 = \infty}{n_2 = 7} (0.01) = 5.65$$

$$\sigma = 0.31784 \text{ となるので}$$

1枚の平板を用いた時の最大実験誤差は

$$\frac{\sigma}{\bar{m} - u\sqrt{F/N}} > \text{Max } E_{r_1} > \frac{\sigma}{\bar{m} + u\sqrt{F/N}}$$

$$143\% > \quad > 71\%$$

5枚の平板を用いたときの最大実験誤差 Max E_{r_5} は

$$\frac{\sigma}{\sqrt{5}} \frac{1}{\bar{m} - u\sqrt{F/N}} > \text{Max } E_{r_5} > \frac{\sigma}{\sqrt{5}} \frac{1}{\bar{m} + u\sqrt{F/N}}$$

$$119\% > \quad > 87\%$$

となつた。

すなわち本法を行なつて得た成績の平均値から離れる誤差は1枚の平板を用いた時は最大143~71%, 5枚の平板を用いた時は119~87%という結果で、抗生物質のカップ検定法の精度に劣ることはなく充分使用しようと

第3表 Sulfisomezole について行つた実験の薬剤濃度阻止円の大きさと計測した力価

プレート	濃度 mcg/ml					計測した力価 mcg/ml	
	2.0	Sh	1.0	Uh	0.5		
	mm		mm		mm		
1	30.25		27		25.5	21	0.7364
2	30		28		24.75	21.75	1.0944
3	29.5		29		26.5	22.5	1.0610
4	30		28.5		25	21.5	1.1222
5	30		27		25	22	0.8704
6	30		28		26	22	0.8704
7	29.75		27.75		25.5	22.25	0.9480
8	29.75		28		25.75	22.5	0.8962
平均	29.91		27.91		25.5	21.94	0.9498

思われた。

生物学的測定法による蛋白結合率の測定：まづサルファ剤を加えた血漿をセロファンバッグ法により透析を行ない、その血漿をカップに入れたが阻止円の形成はほとんどなく、蛋白結合サルファ剤自体の抗菌力はほとんどないことが確かめられた。

サルファ剤の蛋白（アルブミン）との結合率は薬剤の濃度により大差はないと言われているので一応同一のものと仮定して、蛋白結合率を P 、薬剤濃度を C 、血漿を 20 倍稀釈して後にサルファ剤を加えた検体と、サルファ剤を加えた血漿を 20 倍稀釈した検体の力価の差を D とすると

$$\frac{D}{20} \left(1 - \frac{P}{20} \right) - \frac{C(1-P)}{20} = D$$

から $P = \frac{20}{C} D \times 1.05$ となる。

そこで Sulfisomezole, Sulfisoxazole, Sulfamethoxypyridazine について本法による蛋白結合率を測定し、一方セロファンバッグ透析法後、BRATTON-MARSHALL 法により蛋白結合率を測定した。Sulfisomezole は 3 者のうちで蛋白結合率が低い傾向がみられたが比色定量による方法と生物学的測定値には多少の差があつた。

サルファ剤投与時の血中ならびに尿中濃度測定成績：各種サルファ剤投与時の血漿または血清ならびに尿中のサルファ剤濃度を本法により測定し、同時に同一検体について BRATTON-MARSHALL 法により化学的定量

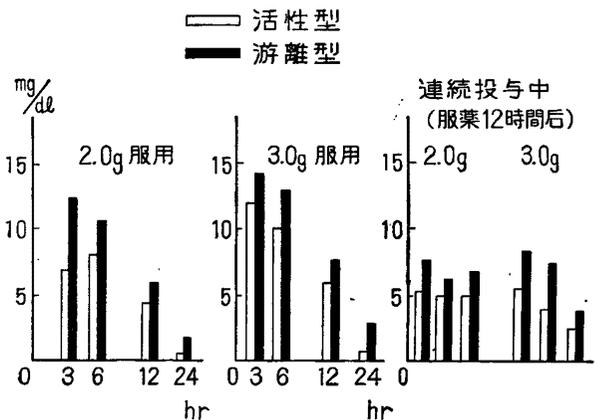
第4表 蛋白結合率測定成績

サルファ剤	測定法	生物学的的方法	セロファンバッグ透折 B. M 法
		Sulfisomezole 15mg/dl	40%
Sulfisoxazole	15 mg/dl	57%	61%
	5 mg/dl	63%	82%
Sulfamethoxypyridazine	15 mg/dl	54%	70%
	5 mg/dl	50%	83%

を行なつた。なお一部の検体についてはセロファンバッグ透析法による蛋白結合率を測定し、非蛋白結合濃度を求めた。各サルファ剤についてのそれぞれの測定値を図示すると（第 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 図）のようであつた。

化学的定量値と生物学的測定値は大体並行関係にあり、

第7図 Sulfisoxazole 血漿中濃度



第8図 Sulfisomezole 血漿中濃度

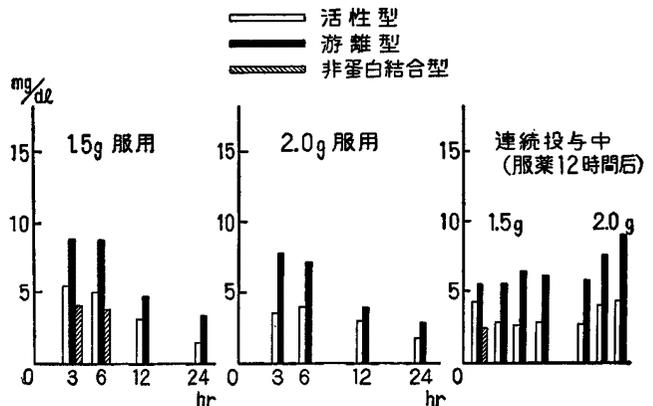


表9図 Sulfamethoxypridazine 血漿中濃度

表10図 Sulfadimethoxine 血漿中濃度

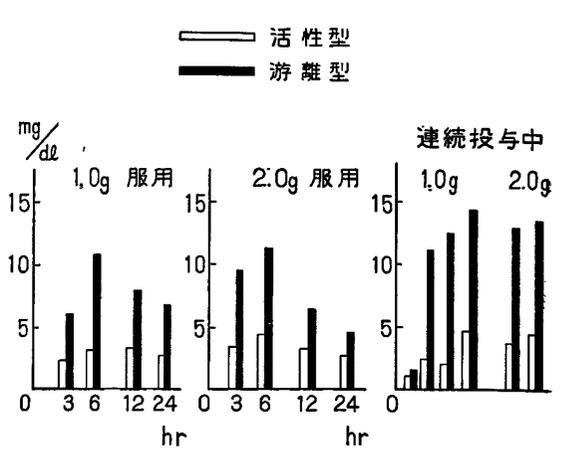
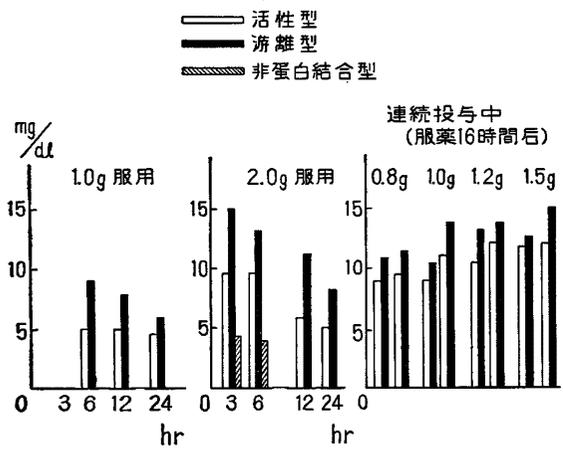


表11図 Sulfamethizole 血清中濃度

表12図 Sulfisoxazole 尿中濃度

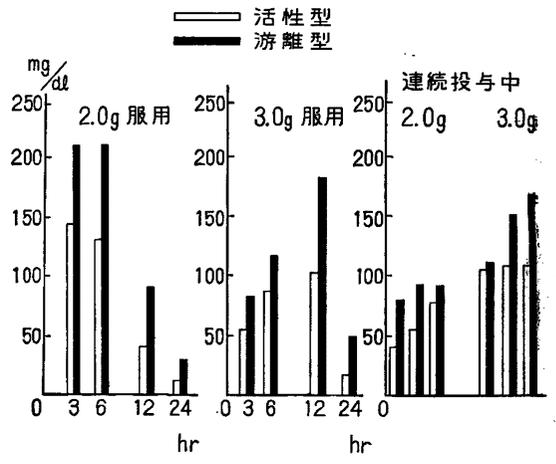
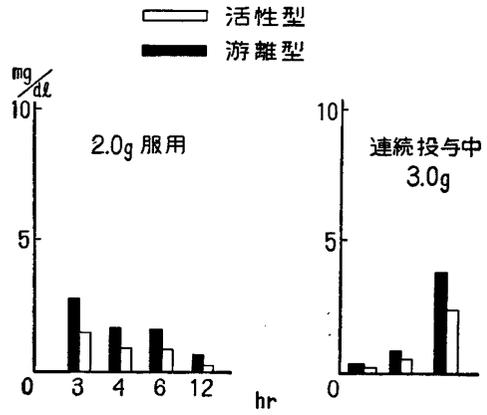
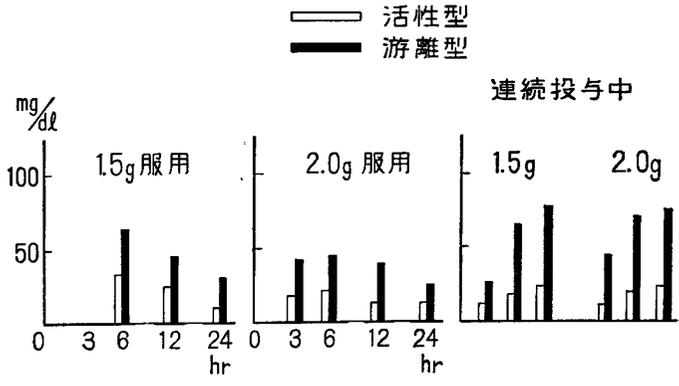


表13図 Sulfisomezole 尿中濃度



の中間の値を示す傾向がうかがわれた。また尿中活性濃度は常に遊離型濃度より低く、その程度も薬剤により大体の傾向がみられ、Sulfamethizole, Sulfisoxazole が高く、Sulfamethoxypridazine, Sulfadimethoxine が低く、とくに Sulfadimethoxine の活性値は遊離型定量値の1/10程度以下の低値を示すようであった。

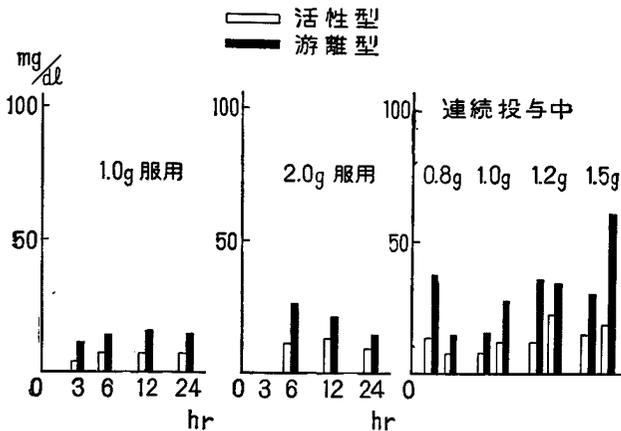
実験例数もすくなく、また検体採取時の条件も必ずしも同一でないので厳密な意味での各薬剤間の比較に

化学的測定値の高いときは生物学的測定値も高く、低いときは低い傾向がみられた。また例数がすくなく各種薬剤間の血中活性濃度の比較を行なうまでには至っていないが、一般に活性濃度は遊離型濃度と非蛋白結合型濃度

はならないが、上記の測定値を集計平均して、薬剤ごとに血中ならびに尿中の生物学的活性濃度と遊離型濃度の比を一応計算して大体の傾向を推定した(第5表)。

比色法によるサルファ剤活性濃度測定法

表14図 Sulfamethoxypridazine 尿中濃度



第5表 2, 3 サルファ剤の生物学的活性濃度と遊離型濃度との比

	生物学的活性濃度 %	
	血漿(清)	尿
Sulfamethoxypridazine	73%	41%
Sulfadimethoxine	28%	6.4%
Sulfisomezole	48%	26%
Sulfisoxazole	71%	74%
Sulfamethizole	59%	59%

すでに金沢¹²⁾¹³⁾がペニシリン濃度測定法に応用したと同様にサルファ剤のブドウ球菌に対する発育阻止程度を、菌の 2-6 Dichlorophenolindophenol 還元度を比色してしり、サルファ剤濃度を測定しうるかについて実験を行なった。

実験方法

表15図 Sulfadimethoxine 尿中濃度

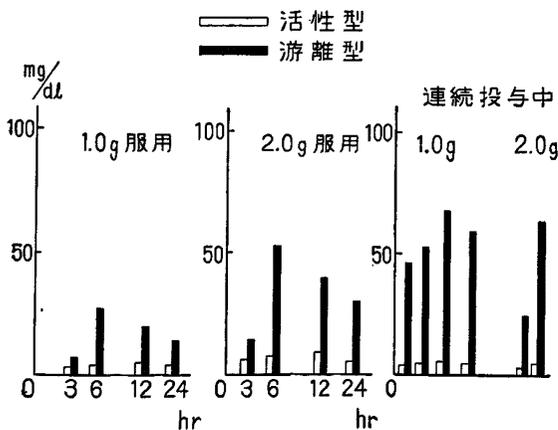
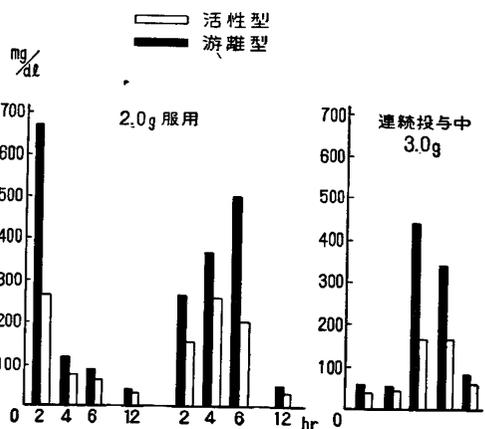


表16図 Sulfamethizole 尿中濃度



検定菌・ブドウ球菌 FDA 209 P 株
 培地：牛心浸出液 150, カザミノ酸 8,
 ブドウ糖 10 水を加えて 1,000, pH 7.0~
 7.4

前述寒天培地より寒天をのぞきブドウ糖を追加して調製してもよい。

試験管系列の調製：血漿はブドウ球菌のコアグラーゼにより凝固するので血清を被検体とした。

209 P 株 24 時間培養液を充分振盪し、新鮮培地に 0.1% の割に加えて菌接種培地とする。第 6 表のように、菌接種培地で被検血清を 1/20, 1/40, 1/80 に稀釈し、後 2 本の試験管には薬剤不含有血清を追加して 1/20 稀釈試験管と同一条件となるよう

にし被検体試験管系列をつくる。ついで菌接種培地に 1/20 に薬剤不含有血清を加え、5 ml 宛の 8.~0.0625 mcg/ml 含有の倍数稀釈系列、及び薬剤不含有の対照試験管を調製し、標準ならびに対照とする。

培養：37°C の恒温槽でときどき振盪しながら約 4 時間半培養する。

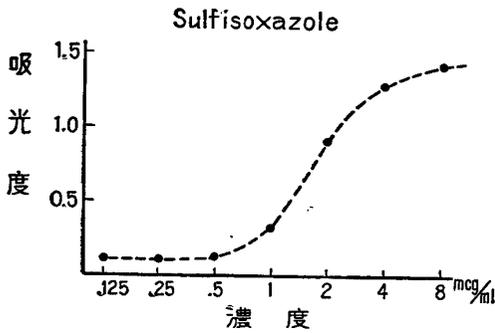
測定：各試験管の内容を試験管型の同一の吸尿管にうつし、0.1% 2-6 Dichlorophenolindophenol 0.2 ml 宛を同時にすばやく加え、振盪放置し観察する。10~20 分後対照のサルファ剤を含まない試験管の完全脱色寸前に全試験管を試験管台ごとに氷水中につけ、ただちに試験管(吸尿管)を 1 本づつ取り出して、波長 610 mμ のフィルターで、対照の試験管の透過率を 80% に合せて、各試験管ごとに透過率を測定し吸光度を求める。

濃度算出：半対数方眼紙の整数軸に吸光度を対数軸に薬剤濃度をとり、標準についての座標を求め標準曲線を

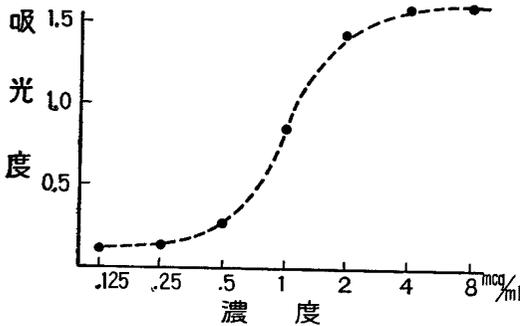
第6表 比色法における試験管系列の調製

	標準系列 (倍数希釈)								対照	被検系列 (希釈)		
	5	5	5	5	5	5	5	5		20×	40×	80×
1/20 血清含有菌接種培地 (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5			
サルファ剤濃度 (mcg/ml)	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0			
血清不含有菌接種培地 (ml)										4.75	4.75	4.75
被検血清 (ml)										0.25	0.125	0.0625
薬剤不含有血清 (ml)										0	0.125	0.1875

オ17図 比色法における薬剤濃度と吸光度の関係を示す標準曲線の1例



オ18図 Sulfadimethoxine



画く。ついで被検体の3階級の検体のうち標準曲線の傾斜の大きい部分に相当するものを求めもとの濃度に換算して被検体濃度を推定する。Sulfadimethoxine, Sulfisoxazole について行なつた実験でえた標準曲線の1例を示すと、第17, 18図のようであつた。

薬剤によっては菌の感受性に応じ標準濃度を多少変更する必要があることは勿論である。本比色法は前述のカップ法に比して操作が繁雑であるが、カップ法と異なり、薬剤の拡散によらず細菌と薬剤が直接接触する点、活性濃度測定上の意義があると考えられるので今後なお経験を積み必要があると考えている。

考 察

抗生物質の活性濃度は一般にカップ法、重層法、比濁法、希釈法などの生物学的方法で測定され、体内、体液中の活性濃度の分布をしり、体内消長の様子の解明、治療方針の決定に役立つている。

一方サルファ剤は化学的定量法が行なわれており生物学の定量法は不可能とされていた。その理由は生体内または測定時の培養基内にくまれている物質によりサルファ剤の抗菌力が著しく阻害されるからとされていた。しかしサルファ剤が生体内で抗菌力を発揮している事実から、血中のサルファ剤拮抗物質が多いとは考えられず、また抗サルファ剤物質を含有しない培地を用いれば理論的には可能と思われる。化学的除蛋白操作によつてサルファ剤の蛋白結合の状態が乱れ、そのままでは非蛋白結合型の測定は不能であり、また技術的にも回収率の問題が生ずる場合がある。これらの観点からも生物学の活性濃度の測定は可能であり、またその測定値の意義は大きいと考えられる。

西村¹⁾氏はこの意味で肉浸出液ペプトンを含有しないグルコース・シモンズの合成培地を用いて、普通カップ法を行なつて体液中活性濃度測定法に成功した。私も本法を追試したが、培地の栄養素のすくない為か、菌の発育不良で充分な阻止円がえられず、一般検査として多少の難点のある場合がうかがわれた。そこで市販の培地でサルファ剤拮抗物質のすくない MUELLER-HINTON 変法培地を用いて、菌の発育を良好にし、さらに薄層カップ法を行なつて精度を上げ、サルファ剤に生じやすい阻止円境界の不鮮明をふせぐ意味で、接種菌量を検討の上決定し、さらに T.T.C. 呈色法を併用し、つねに低濃度まで計測に充分な阻止円をうる測定法を考案した。

本法を行なつた場合の実験誤差範囲を Sulfisomezole を例にとつて抗生物質に準じて計測したところ、他の抗生剤の基準にくらべ必ずしも劣ることはないようである。これはサルファ剤は一般に培地中の拡散がよく標準曲線の傾斜が急なためにカップ法の精度が向上するため

と思われた。血漿（血清）は 10~20 倍に稀釈し、カップ内にはその 0.15 ml 以上を入れれば充分であるので、被検体が少量ですみ、除蛋白等の操作を要せず、また尿、喀痰などの汚染された検体もそのまま測定しうるのは本法の長所であると考えられる。

サルファ剤投与中の血漿（血清）について化学的定量法と本生物学的定量法によつて薬剤濃度を測定したが、一般に生物学的定量値は化学的測定の遊離型濃度より低い傾向がみられたが、これは血清蛋白との結合による抗菌力の低下と考えられた。一部にはセロファンバッグ透析法による非蛋白結合濃度を測定したが、生物学的濃度が非蛋白結合濃度をやや上まわる成績がえられたが、その原因は化学的測定法では回収率が充分でなかつたかまたはサルファ剤の蛋白結合が可逆性であるためのいつれかであろう。蛋白結合サルファ剤は菌接種平板上に置いたカップに入れても阻止帯形成がほとんどみられなかつたことから解離度は必ずしも高いものではないが、酒井²⁾氏等はすでに限外濾過法によつて蛋白結合の可逆性を証明している。したがつて本生物学的活性値は血漿（血清）中の抗菌力を遊離型濃度よりは良く表わしていると言えよう。サルファ剤の病巣組織での抗菌力発揮の機序などについてなお検討を要する問題で、今回は実験を行うに至つてないが、病巣組織の活性濃度の測定にも本法が使用され得るものと考えられる。サルファ剤服用中の尿中活性濃度を測定したがその値は一般に BRATTON-MARSHALL 法による遊離型濃度よりも低く、薬剤によりその差にはある程度一定の傾向がみられた。すなわち従来尿中游離型濃度として測定されていたものうちでも抗菌力を示さない部分が存在するか、または抗菌力の低下した型に変化しているのかと想像される。Sulfadimethoxine は大部分グルタロン酸抱合体として排泄され、そのグルタロン酸抱合体は抗菌力を有しないと考えれば尿中活性濃度の低いことは充分理解されるが他のサルファ剤の尿中游離型の抗菌力の低下は如何なる機序によるものか今後検討を要する問題であろう。

臨床的に尿路感染にサルファ剤を使用した場合同一感受性を有する菌の感染についてみれば、菌の感染部位が尿路の組織の深部に及ばず表在性の病変に止まる際、或は上行性に感染の進展する時期などでは活性濃度の高くなるサルファ剤が一層有効なことが多いであろう。我々の実験結果からみれば、この意味では Sulfamethizole, つづいて Sulfisoxazole が有利と考えられた。しかしある程度組織内病変の進んだ場合は事情が異なり血中濃度の高くなるサルファ剤が治療上有力であろう。

以上より私どもの試みた生物学的活性濃度測定法はサルファ剤の生体内における抗菌作用の一面をしり、治療

方針決定上または作用機序の解明に有要な資料を提供する可能性が多いと考えられる。

結 語

サルファ剤の生物学的濃度測定法について実験を行い、

1) 抗サルファ剤物質のすくない市販の培地(MUELLER-HINTON 変法培地)を用い、サルファ剤に感性の強い大腸菌(またはブドウ球菌)を検定菌として、薄層カップ法を応用し、精度を上げ、T.T.C. 呈色を利用して阻止帯を鮮明としサルファ剤の微量定量がカップ法の算定方式にしたがつて出来ることを証明した。

2) 本薄層カップ法により、サルファ剤の血清蛋白結合率を測定し、また血漿、血清、或は尿中の活性濃度を測定し、BRATTON-MARSHALL 法による化学的定量値と比較した。

3) その結果血漿または血清中活性濃度値は化学的遊離濃度より明らかに低く、非蛋白結合型濃度をやや上まわる傾向がみられた。尿中活性濃度はいづれも化学的遊離型濃度より低く薬剤により一定の傾向を示した。

4) サルファ剤の菌発育阻止の程度を 2-6 Dichlorophenolindophenol の還元を標示として比色法で測定し血清中活性濃度測定の可能性を実験した。

文 献

- 1) 西村活雄, 下平正文, 岡本三郎, 磯野淳: 5-methyl-3-sulfanilamidoisoxazole について. *J. Antibiotics, Ser. B* 12(3): 186, June 1959.
- 2) 羽野義博, 岸和田康二: 新しいサルファ剤 5-methyl-3-sulfanilamidoisoxazole (Sinomin) の体液内濃度について. *Ibid* 12(3): 186, June 1959.
- 3) 酒中克活, 羽野義博, 岸和田康二, 楠本博一: Sulfisoxazole と Sulfisomezole の蛋白結合に関する 2, 3 の問題. *最新医学* 14(11): 3139, 1959 年 11 月.
- 4) 宮村定男, 金沢裕: 薄層カップ法によるペニシリン, ストレptomycin 濃度測定法. *J. Antibiotics* 3(7): 411, 1950.
- 5) 宮村定男, 金沢裕: カップ法による体液中抗生物質濃度測定法. *臨床* 4: 678, 1951.
- 6) 梅沢浜夫, 鈴木幸朗, 竹内富雄: ペニシリン検定法の研究, II. ペニシリン 1(4): 197, 1947.
- 7) 真下啓明, 黒田善雄, 原田敏雄, 清水喜八郎, 大河内一雄, 畠山正己, 国井乙彦, 中川真也, 陣立恒夫, 山田栄三郎, 加納寛一: 長時間サルファ剤. *総合臨床* 8(9): 56, 1959.
- 8) 宮村定男. 新ペニシリン検定用図表. ペニシリン 1(8): 512, 1948.
- 9) 金沢裕: 臨床応用を目的とした感性ディスク法の研究. *J. Antibiotics* 10(3): 85, 1957.
- 10) 金沢裕, 倉又利夫: 寒天平板拡散法によるサルファ剤の活性濃度測定法ならびに 2, 3 薬剤についての測定成績. *Chemotherapy* 8(1): 14, 1960.
- 11) 金沢裕: 2-6 Dichlorophenolindophenol を標示色素とする迅速検定法. ペニシリン 2(5): 315, 1949.
- 12) 金沢裕: 細菌の 2-6 Dichlorophenolindophenol 還元作用並にその応用に関する研究, その 2. *新潟医学会雑誌* 65(8): 533, 1951.