

Sulfadimethoxine および関連化合物の抗菌作用に関する研究 第3報

Sulfadimethoxine の抗菌作用に及ぼす諸因子の影響、特にその血漿内濃度
と生体内抗菌作用に関する意義

大家 宏・倉石弘一・武本紀久子・丸山ふじ子・佐野 肇

中外製薬株式会社研究所

岩 田 和 夫

東京大学医学部細菌学教室

(昭和 36 年 1 月 10 日受付)

第1報¹⁾及び第2報²⁾において、sulfadimethoxine (以下、S と略す) が試験管内及び生体内にて従来のサルファ剤と全く遜色のない抗菌作用を有すること、特にマウス肺炎球菌感染防禦効果が他のサルファ剤よりすぐれていることを述べたが、本報ではサルファ剤の生体内における不活性化に関して検討を加えた。西村³⁾、真下⁴⁾等はSはサルファ剤中最も血漿蛋白との結合率が高いことを指摘しているが、この結合体が全く活性を示さないものとすれば、その試験管内抗菌作用及び血中濃度から推して、第2報に述べたような生体内抗菌作用はえられないものと思われる。しかるに本剤が諸種感染症に有効であるという点から、この蛋白結合体は、1) それ自体は抗菌作用を示さなくても、ある条件下では抗菌作用を発揮する、2) 抗菌作用はあるが試験方法に誤りがありそれを見出されないと考えられる。これらの点を明らかにするため、諸種の定量法によりSの血漿蛋白との結合をしらべ、この結合が生体内のみで起こり試験管内では殆んどおこらないこと、腎においてこの結合がきれることなどを知った。また諸因子の本剤の抗菌作用に及ぼす影響をもしらべ、生体内抗菌作用における意義について検討を加えたので報告する。

実 験

I. Sulfadimethoxine の抗菌作用に及ぼす諸因子の影響

1. 薬剤: Sulfadimethoxine および対照として sulfamethoxypyridazine, sulfisomidine, sulfisoxazole の4検体。

2. 拮抗物質: 肉エキス (Difco), ペプトン (ポリペプトン), 馬血清及びパラアミノ安息香酸 (PABA) の4種。

3. 培地: 組成は次の通りである。

KH ₂ PO ₄	4.5 g	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.04 g
glucose	2.5 g	niacin	0.01 g

vitamine B ₁	0.001 g	tryptophane	0.01 g
l-cystine	0.05 g	casamino acid	4.0 g
sodium citrate	3.0 g	aq. dist.	1,000 ml

4. 菌株: *Shigella flexneri* 2a

各薬剤を上記組成の10/9倍濃度の培地で倍数希釈し、各試験管内の培地量を4.5 ml ずつに分注した後、100°C 30分3回間歇滅菌した。ついで予め滅菌した5%肉エキス溶液、5%ペプトン溶液、0.01% PABA 溶液及び非働性化馬血清をそれぞれ無菌的に0.5 ml ずつ加えた後、上記培地に37°C 24時間培養した菌液を1白金耳ずつ接種し、37°C 24時間培養後に発育阻止状態を観察した。

II. Sulfadimethoxine の血漿蛋白との結合

サルファ剤は生体内で血漿蛋白とよく結合することが知られているが、試験管内にても生体内と同様に結合するか否かをしらべた。

Sを体重2 kg 前後のウサギに経口投与し、一定時間後に採血して、血漿内濃度を化学的方法で定量し、ついでそれと同濃度になるように試験管内で正常ウサギ血漿にSを溶解し、諸種定量法で遊離量を測定した。すなわち化学的定量法ではその活性濃度を、ペーパークロマトグラフィー法では遊離S量を、また透析法では蛋白結合量を求めた。

1) 化学的定量法: BRATTON-MARSHALL 法によつた。

2) 生物学的定量法: 抗菌性物質製剤基準, 201. AI 記載の方法に準じておこなつた。ただし培養は MÜLLER-HINTON medium (Difco) を用い、また感度を上げるため基層は省略した。

3) ペーパークロマトグラフィー法: 東洋濾紙 No. 51 に被検血漿 0.1 ml を spot し、n-propyl alcohol, n-butyl alcohol 及び 0.2 N-NH₄OH よりなる溶媒 (それぞれの容量比 2:1:1) で上昇法で展開後、遊離Sの展

開部分 (Rf 値: 0.64) を切りとり, 0.1 N-NaOH で抽出し, トリクロール 醋酸で中和後, BRATTON-MARSHALL 法で定量した。

4) 透析法: 3% NaOH 溶液中で約 12 時間膨潤化させた後十分水洗したセロファンバッグを内容 25 ml の広口瓶にとりつけ, バッグ内に磷酸緩衝液 (KH_2PO_4 6.8 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.0 g, aq. dist. 1,000 ml, NaOH で pH 7.4 に修正) 10 ml を入れ, 10 ポンド 10 分間減菌し, 冷後滅菌蒸留水で 5 倍に稀釈した血漿 10 ml をバッグの周囲に無菌的に加え, 37°C で 12 時間振盪透析した。透析内液及び外液を BRATTON-MARSHALL 法で測定し, S の透析率より蛋白結合率を求めた。なお対照として血漿内濃度と同濃度に S を溶かした緩衝液を外液とし, バッグ内には緩衝液を充たして透析し補正を加えた。ウサギに S 100 mg/kg を経口投与し, 3, 5, 7 時

間後に採血, 遠心分離して血漿を集め化学的方法で総薬剂量を定量した。別に試験管内で血漿濃度と同じ量を正常ウサギ血漿に加え, 両者中の S 量を上記諸種定量法で比較検討した。

III. Sulfadimethoxine の血漿蛋白結合の時間的消長

S の生体内での不活性化の主な原因として, アセチル化, グルクロン酸抱合等の解毒化の他に, 血漿蛋白及び血球との結合が知られている。血漿内での S の血球への移行, アセチル化及びグルクロン酸抱合は少く, 大部分は血漿蛋白との結合であると云われている^{3), 4)}。

著者等は本剤の血漿蛋白との結合と経口投与後の時間的關係について検討した。

ウサギに S 100 mg/kg を経口投与し, 1 時間毎に採血し, 分離した血漿につき透析法により結合率の時間的消長をしらべた。

IV. 血漿蛋白結合 Sulfadimethoxine の生体内運命

ラッテ (呑竜 2 カ月令, 体重約 180 g) の肝及び腎を剔出し, 5 倍量 (W/V) の緩衝生理的食塩水 (1/15 M 磷酸緩衝液生理的食塩水等量混合物, pH 7.0) を加え, 氷片で 5°C 以下に冷却しつつ homogenize した。別にウサギに S 100 mg/kg を経口投与し, 5 時間後に採血, 血漿を分離し, 前記乳剤を 2 倍量加え十分混和し, 37°C 2 時間放置後, それぞれの試料を遠心分離し, 上清中の遊離 S 量を paperchromatography 法及びカップ法で総 S 量を BRATTON-MARSHALL 法で測定した。

成 績

I. Sulfadimethoxine の抗菌作用に及ぼす諸因子の影響

図 1 に示すように, S は他のサルファ剤と同様に諸種拮抗物質の影響をかなりよく受けるが, sulfisomidine ならびに sulfisoxazole よりやや拮抗され難く, sulfamethoxypyridazine とほぼ同程度であつた。なお拮抗物質の中, 一般的に云えばペプトン, PABA の影響が最も強く, 血清がこれに次ぎ, 肉エキスの

図 1 諸種拮抗物質の諸サルファ剤の抗菌作用に及ぼす影響

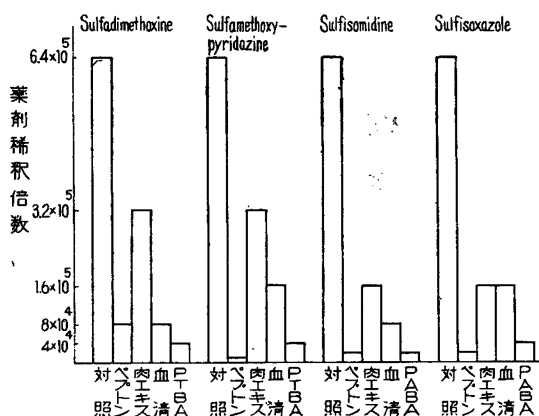
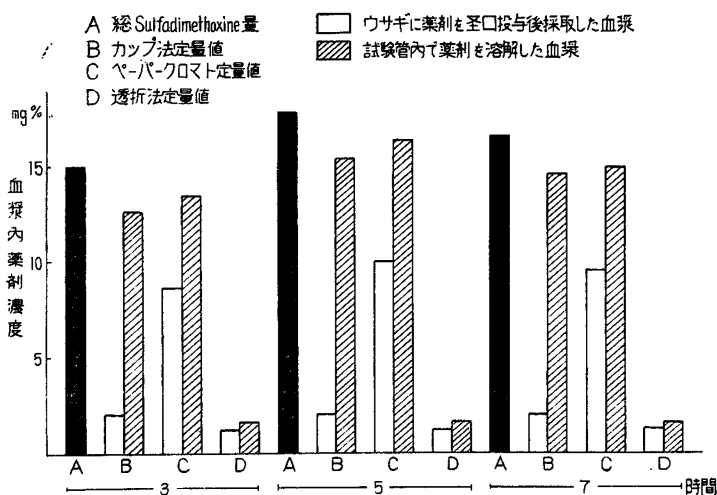


図 2 Sulfadimethoxine の血漿蛋白との結合—試験管内と生体内の比較並びに諸種定量法による血漿内濃度



影響が最も軽度であつた。

II. Sulfadimethoxine の血漿蛋白との結合

血漿内の遊離S量は、図2に示すように、経口投与した場合と試験管内で溶解した場合ではかなりの相違が認められ、特にカップ法では生体内で著るしく活性濃度が低下していることが認められる。ペーパークロマトグラフィー法でもカップ法と同様両者の間にかかなりの差が認められたが、透析法では経口投与した場合と試験管内で溶解した場合とで殆んど差を認めなかつた。このように血漿内遊離量は測定法により異つた値がえられ、かつ経口投与時は血中遊離量はかなり低いことが認められる。

III. Sulfadimethoxine の血漿蛋白結合の時間的消長

図3に示すように、薬剤投与後の時間に関係なく遊離S量は10%前後で、90%が血漿蛋白との結合もしくはなんらかの形で血漿内に吸着されているものと考えられる。

IV. 血漿蛋白結合 Sulfadimethoxine の生体内運搬遊離型への転換率をもつて示せば図4にみるごとく、S結合血漿は肝乳剤によつてSを遊離しないが、腎乳剤によつては遊離することをカップ法及びペーパークロマトグラフィー法により認めた。すなわち本剤の血漿蛋白との結合は可逆的なものであり、本剤の血中濃度の持続に役立つものと考えられる。

考 察

著者等はSの抗菌作用に諸因子の存在が大なり小なり拮抗することを試験管内でまず明らかにしたが、しかし他のサルファ剤に比較すれば影響が幾分か少ないという事実はその抗菌作用と照らして、Sはサルファ剤として水準が高くはあつても決して低いものでないと思ふべきであろう。しかしこのような試験管内で明かな影響のみられるという事実は、本剤もまた生体内において諸因子によりその抗菌作用がかなり拮抗されることが当然推察された。臓器成分により拮抗のされ方が異なるであろうから、病原菌の感染部位により投与量を適宜変える必要のあることを示唆するものであろう。

血中濃度の測定には化学的方法と生物学的方法があり、化学療法剤は主として前者を、抗生物質は主として後者を採っているが、サルファ剤のように生体内で不活性型のアセチル体、グルクロナイドあるいは蛋白結合体の生成される薬剤では、化学的方法ではこれら不活性体も同時に定量されるため、正しい活性濃度を示すものと

図3 Sulfadimethoxine の血漿蛋白結合の時間的消長

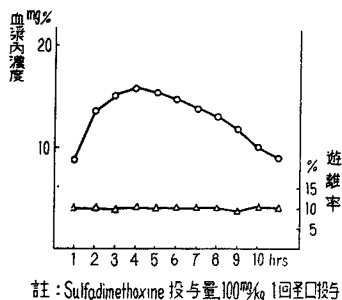
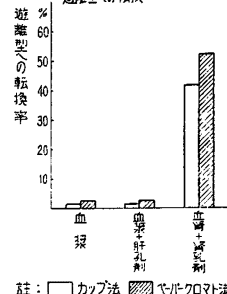


図4 臓器乳剤による Sulfadimethoxine 投与ツザギの血漿内結合型 Sulfadimethoxine の遊離型への転換



はいえない。この点化学療法剤の血中濃度も生物学的方法で測定するのが好ましいと考える。化学的方法は主として全血中濃度の測定に利用するのが合理的と思われる。

サルファ剤が血漿蛋白と結合することは前述の通りであるが、これは主としてアルブミンとの結合である⁹⁾。この結合率がSにおいて大きいということは、本剤の血中濃度の持続がよく、排泄が遅いという事実の一つの説明になろう。すなわち血漿蛋白と可逆的な結合をすることにより貯溜体となり、効力の持続性を発揮していると考えられる。また本剤はアセチル化率が小さく、逆にグルクロン酸抱合体が多いといわれるが、これは尿路結石の形成を防ぐのに意義があるものと考えられよう。

Sに限らず、サルファ剤の血漿蛋白との結合は余り強いものとは考えられず、腎において分解されるような可逆的な弱いものと考えられ、この分解は腎において産生される酵素によるものと推定される。

本実験成績からも血漿蛋白結合Sは抗菌作用がないように考えられるが、それにもかかわらず生体内において抗菌力を示す事実はいかなる機序によるのであろうか、この点に関しては第2報に述べた肺炎球菌並びにレンサ球菌感染防禦実験と考え合わせて今後さらに検討する予定である。

結 論

1) Sulfadimethoxine はペプトン、肉エキス、血清及びPABAにより拮抗されるが、その程度は sulfisoxazole, sulfisomidine よりやや軽度であり、 sulfamethoxypyridazine と同等である。

2) Sulfadimethoxine は生体内において血漿蛋白と結合するが、試験管内での結合は軽度である。血漿内濃度は定量法によりかなり異つた値がえられることを明らかにしたが、本剤の血中活性濃度の測定には生物学的方法によるのが好ましいと考えられる。

3) Sulfadimethoxine は血中に移行すると直ちに血漿蛋白と結合するように見受けられ、その結合率は薬剤

投与後の時間に関係なく、常に 90% 前後を示す。

4) 血漿蛋白結合体は腎において分解されるようで、遊離型となつて排泄される。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜つた中外製薬株式会社研究所 竜居五郎所長に衷心より感謝の念を捧げる。

文 献

- 1) 佐野肇・大家宏・武本紀久子・丸山ふじ子・岩田和夫：Chemotherapy 9：261, 1961
- 2) 佐野肇・大家宏・倉石弘一・丸山ふじ子・武本紀久子・岩田和夫：Chemotherapy 9：266, 1961
- 3) 西村治雄・岡本三郎・島岡登：Chemotherapy 8：14, 1960
- 4) 真下啓明：診断と治療, 48：119, 1960。
- 5) TOMPSETT, R.. J. Bact. 53：581, 1947