

Oxadiazole 環を有する新ニトロフラン化合物 第2報

生体内安定性及び抗菌作用態度

唐 崎 正

藤沢薬品工業株式会社研究所

(昭和 38 年 7 月 26 日 受付)

緒 言

前報に於いては新ニトロフラン化合物 2-[2-(5-Nitro-2-furyl)-vinyl]-5-methyl-1, 3, 4-oxadiazole 及び 2-[2-(5-Nitro-2-furyl)-vinyl]-1, 3-4-oxadiazole を中心として、種々なるニトロフラン化合物の一般生物学的性質を比較検討した。その中で、血中濃度及び急性毒性が化合物により著しく異つていた実験結果は、治療剤として検討する立場からは特に重要な問題である。そこで本報ではそうした差異の生ずる原因を追求する為、化合物の生体内安定性及び抗菌作用態度に就いての比較検討を行なつた。

実験の部

実験法

胃、回腸、血液等に対する安定性試験。服部^{1,2)}の方法に依つた。即ち、正常家兎の胃、回腸各器官の10%懸濁液に薬剤を加えて、37°C、2時間放置後、その残存率を *E. coli* を試験菌とする比濁法にて測定した。薬剤の添加量は、Z-furan, Panfuran, Furazolidone, NF 44 では160mcg/ml, 他は320mcg/mlである。血液に対する安定性試験は、正常家兎静脈血を試験管に採り、之に薬剤を8mcg/mlの濃度に添加し、直ちに脱繊維血清を調製し、この薬剤濃度を前記方法³⁾により測定した。この測定値の添加濃度に対する比率を求めた。

静脈注射時の血中濃度。家兎に500mcg/kgを静脈注射し、5分後の血清中濃度を前記方法³⁾により測定

した。

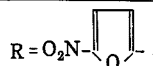
50% 阻止濃度 (IC₅₀) の測定。*E. coli* NIHJ を試験菌とし、肉エキス (ミクニ化学) 0.5%, ペプトン (武田薬品) 0.5%, 食塩 0.25%, pH 7.0 の培地を用い、服部の方法¹⁾により各試料の Dose-response curve を求め、その図上で対照培地 (無薬剤) 発育度の 1/2 の発育度に対応する薬剤濃度を求め、之を IC₅₀ とした。

血清の影響。*E. coli* NIHJ を試験菌として、第1報と同じ方法により、培地に家兎血清を10%添加した場合、しない場合の各 MIC を平行実験により測定した。

薬剤耐性獲得試験。上記と同じ方法で血清なし培地上

第1表 生体内安定性試験

名 称	化 学 構 造	力価残存率(%)			血清中濃度 (mcg/ml)	
		胃	回腸	血液	静脈注射	胃内投与*
NF 89		88	73	44	0	0.9
NF 95		79	47	32	0	0.3
NF 44		69	84	96	0	5.7
NF 47		68	92	110	4.7	51
Z-furan		85	59	7	0	0
Panfuran		21	25	58	0	0.06
Furazolidone		50	64	120	1.2	0.6
Furaltadone		65	62	100	0	3.5



* 第1報結果を引用した。投与6時間後迄の最高値である。

で試料の MIC を 37°C, 20 時間培養により測定し, この際得られる MIC の 1/2 濃度の薬剤を含有する培地に生育した試験菌を種菌に用いて, 10⁵ cells/ml の濃度に接種し, 2 回目の MIC 測定を行ない, 続いて同じ方法でこの実験を繰返した。

実験結果

安定性試験結果は第 1 表の如くである。消化管懸濁液では Panfuran が安定性悪く, 血液では Z-furan が非常に悪く NF 95, NF 89, Panfuran 等もやや悪い。静脈注射直後の血中濃度は NF 47, Furazolidone だけが之を測定し得て, 他は陰性であつた。この血中濃度は試料の血液及び臓器に対する安定性の如何により決せられる。従つて血液に対しては同等の安定性を示した NF 44, NF 47, Furazolidone, Furaltadone 等 4 試料の中で, NF 47 と Furazolidone だけが血中濃度を示した事は之等が他化合物より臓器に対する安定性で優れて居る事を表わして居る。以上の結果から NF 47 が最も安定性が良いと判定されるが, この化合物は胃内投与時に最高の血中濃度を示したものである。又, 明らかに他より安定性の劣ると判定される Panfuran, Z-furan は胃内投与時に血中濃度は殆ど示さかつた。之等の事から, 胃内投与時の血中濃度は生体内安定性と平行関係にある事が判る。

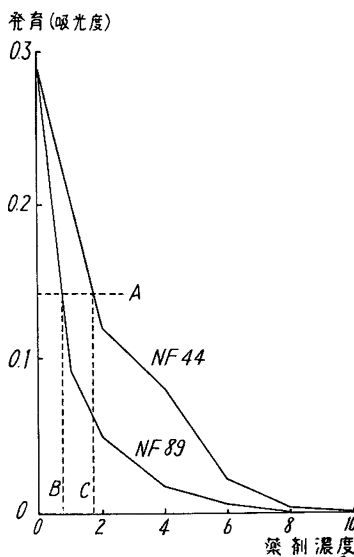
血清の抗菌力に与える影響を調べた。全試料を一斉に平行実験した。結果は第 2 表の如くである。生血清を培地に添加した場合は, MIC が何れの試料でも低くなり, 即ち抗菌力は強くなり, 非働化血清ではこの逆に抗菌力は弱くなつて居る。この抗菌力の増加, 減少の度合は各試料によつてまちまちである。

IC₅₀ の測定は, 試料を 2 群に分け, NF 44 を標準にして何れの群にも加え, 同群の試料は一斉に平行実験すると言う方法を採用した。得られた結果は第 3 表の如くである。又 Dose response curve の 1 例を示すと第 1 図の如くである。MIC が同じである試料でもそれ等の IC₅₀

は必ずしも同じでない事を示して居る。

第 2 表, 第 3 表を用いて試料の抗菌力価を算出した。即ち, NF 44 を仮に標準と定め, この力価を 100 とし, 他の試料の力価はその MIC から, 或は IC₅₀ から算出した。例えば, 試料 A の MIC が 4 mcg/ml であり, 同じ測定条件に於ける NF 44 の MIC が 2 mcg/ml であるならば, A の力価は 50 とした。この様にして算出した結果は第 4 表の如くである。1 つの試料が測定法により種々の力価を示して居る。この力価変化の度合は第 4 表右列の力価比率により表し得る。之は 1-1-1-1, 1-2-2-1, 1-4-2-1, 1-4-2-2, 1-8-4-2 と 5 つの相異なる数値である。この様に種々の値を示すのは, 一つの試料の血清による抗菌力変化の度合や IC₅₀ の MIC に対する

Fig. 1 感性曲線 (E. coli)



註: A は 50% 发育点
B は NF 89 の IC₅₀
C は NF 44 の IC₅₀
薬剤濃度は指数で示し, 指数 1 は NF 44 では 0.25 mcg/ml を, NF 89 では 1 mcg/ml を表わす。

第 2 表 血清による MIC の変化

試料	血清なし	生血清	非働化血清
NF 89	8	0.5	8
NF 95	8	0.5	8
NF 44	2	1	8
NF 47	4	2	16
Z-furan	2	0.25	4
Panfuran	0.2	0.0125	0.2
Furazolidone	2	0.25	4
Furaltadone	4	1	8

註: 培地に家兔血清を 10% 添加した場合の MIC (mcg/ml) の変化を測定した。

第 3 表 50% 阻止濃度 (mcg/ml)

		実験 1	実験 2	実験 3	平均値
群 1	NF 89	0.70	0.70	0.90	0.76
	NF 95	0.80	0.80	1.10	0.90
	NF 47	1.20	1.10	1.30	1.20
	NF 44	0.45	0.42	0.50	0.46
群 2	NF 44	0.43	0.40	0.42	0.42
	Z-furan	0.38	0.42	0.40	0.40
	Panfuran	0.018	0.015	0.018	0.017
	Furazolidone	0.25	0.25	0.20	0.23
	Furaltadone	0.85	0.70	0.70	0.75

比率が、NF 44 の場合（之は標準としてあるから1-1-1-1である）と同じでなかつた為である。即ち実験条件に対する抗菌性の感応のし方が試料により異なるのであり、之はそれ等の試料の抗菌作用態度が同一でない事を示して居る。従つて第4表の力価比率からすると、供試の8化合物を抗菌作用態度上5群に識別し得るのである。

E. coli の薬剤耐性獲得実験を行なつた結果は第5表の如くである。11代株のMIC上昇率は2~32倍であり、全般的に見て比較的耐性獲得のされ難い薬剤である事を示して居るが、その範囲内に於いても試料間の差異は認められる。例えば Panfuran は32倍の上昇率を示すのに対し、NF 89, NF 95 等では僅に2倍であり、前者とは有意差がある。而してこの様に差が生ずるのは両者間に抗菌作用態度上の差異がある事を示すものである。そこで、この結果と先の第4表の結果とを合すれば、供試の8化合物は抗菌作用態度から見て6群に識別し得るのである。

考 察

経口投与された薬剤が血中濃度を示す為には、それが消化管で吸収されるだけでなく、消化管、血液、臓器等により分解されない事、即ち生体内安定性が必要であると考えられる。この事を本報ではエトロフラン化合物について確かめたのであるが、果して血中濃度は生体内安定性に大きく左右されて居る事を示す実験結果を得

第4表 各種測定法による力価

	MIC による			IC ₅₀ による	力価比率*			
	a 血清なし	b 生血清	c 非働 化血清	d 血清なし	a	b	c	d
NF 89	25	200	100	61	1	8	4	2
NF 95	25	200	100	61	1	8	4	2
NF 44†	100	100	100	100	1	1	1	1
NF 47	50	50	50	38	1	1	1	1
Z-furan	100	400	200	105	1	4	2	1
Panfuran	1,000	8,000	4,000	2,470	1	8	4	2
Furazolidone	100	400	200	183	1	4	2	2
Furaltadone	50	100	100	56	1	2	2	1

* a の力価を1として他の力価の比率を概算した

† 標準とした。この力価を常に100とした。

た。血中濃度を殆ど示さない化合物の生体内安定性は明らかに他化合物よりも劣つて居た。吸収性そのものが血中濃度に影響して居ると考えられたのは僅かに Furaltadone の1例のみである。Furaltadone は Furazolidone に較べて生体内安定性は臓器に対する点に於いて劣つて居たが、血中濃度は高値を示した。こうした場合に始めて、吸収性の良い事が高血中濃度の原因であると考え得るのであるが、この実例は1つしかなかつたのである。以上の事から、結局供試の化合物はすべて吸収性は充分有して居たのではないか、それが血中濃度を示さない場合はその化合物が生体内の何処かで分解される為ではないかと考えられる。

種々なるエトロフラン化合物の抗菌性を比較する際に、抗菌力の強弱と言う量的面のみならず抗菌作用態度と言う質的面に於ける検討も有意義であると思われる

第5表 *E. coli* の薬剤耐性獲得

	MIC (mcg/ml)			MIC上昇率	11代株のMIC (mcg/ml)*		
	初 代	6 代	11 代		ストレプト マイシン	クロラムフ エニコール	テトラサイ クリン
NF 89	8	8	32	4	1	2	4
NF 95	8	8	16	2	1	2	4
NF 44	2	32	128	64	1	4	4
NF 47	4	32	128	32	2	4	4
Z-furan	2	16	16	8	2	16	32
Panfuran	0.2	3.2	6.4	32	2	2	4
Furazolidone	2	32	64	32	2	4	8
Furaltadone	4	64	128	32	2	4	8
ストレプトマイシン†	2	>16,000	>16,000	>8,000			
クロラムフェニコール†	2	4	4	4			

* 他薬剤との交叉耐性を調べた。親株のMICはそれぞれ2, 2, 4 mcg/mlであつた。Z-furan 11代株のみ僅に交叉耐性が見られた。

† 参考の為、同じ方法で調べた。

が、今迄にその様な研究報告は殆ど見られない。而してこの様に問題とされるのは抗菌作用態度そのものがどうであるかと言う事ではなく、種々なる化合物間でこの面に於いて差があるのかと言う事である。本報では之を比較的簡単容易に判別し得る方法として2つの試験を行なった。その1つは種々な条件に於いて化合物の抗菌力を測定し、実験条件差による抗菌力変化の度合を調べた。もう1つは *E. coli* の薬剤耐性獲得実験を行ない、化合物の耐性獲得の難易さを測定した。之等の2つの実験結果に就いて化合物間の比較を行ない、その同、不同からそれ等化合物の抗菌作用態度の同、不同を判定した。この様にして、供試の8化合物を抗菌作用態度から見て6群に識別し得たが、之は要するにニトロフラン化合物の側鎖置換基が異なると抗菌作用態度も異なる事を示すものであつた。この知見は種々なる化合物の抗菌力比較に於いて想起さるべき事柄であり、又化合物の抗菌性と毒性、治療的作用等との関連性を解明するに有力な手掛り

を与えるものと思われる。

要 約

種々なるニトロフラン化合物の消化管、血液、臓器等に対する安定性を調べたが、胃内投与時に血中濃度を示さない化合物の安定性は明らかに悪く、又最高の血中濃度を示した化合物は安定性も最も優れて居た。

側鎖置換基がそれぞれ相異なる6種の化合物について、抗菌力の測定条件差による変化度合、及び *E. coli* の薬剤耐性獲得程度を測定したが、各化合物は種々なる結果を示し、それ等の抗菌作用態度はすべて相異なるものである事を認めた。

参 考 文 献

- 1) 服部哲也：ニトロフラン化合物の生物学的研究，I，比濁法によるニトロフラン化合物の定量。Juntendo Med. J. 6, 557, 1960.
- 2) 服部哲也：ニトロフラン化合物の生物学的研究，II，ニトロフラン化合物の生体内濃度。Juntendo Med. J. 6, 563, 1960.