

1-Ethyl-7-Methyl-1,8-Naphthyridin-4-one-3-Carboxylic acid

(Win 18320) の抗菌作用について

(特に赤痢菌を中心として)

大久保 暢 夫・小林 富 二 男

東京都立衛生研究所細菌部

(昭和 39 年 1 月 13 日受付)

はじめに

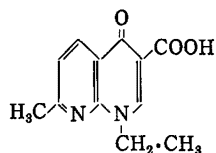
近年化学療法剤の発達はめざましく、抗生物質はもとより持続性サルファ剤、クロルヘキシジン、新規ニトロフラン化合物など種々の合成産物をあげることが出来る。ところが新しい抗菌性物質の出現と共に、常にその耐性菌が問題となり、そのためにさらに有効な薬剤を得るための探究が行なわれているのが現状である。最近米国の Sterling-Winthrop Research Institute で得られた新しい合成産物 1-Ethyl-7-Methyl-1,8-Naphthyridin-4-one-3-Carboxylic acid (Win 18320) もその一つである。この化合物は Naphthyridin 骨格を持つ抗菌性物質でグラム陰性菌群に特異的に抗菌作用を示すといわれ、この点従来の抗菌剤に比較して興味あるところである。

今回我々は Win 18320 を入手し、その抗菌作用を検討する機会を得たので、赤痢菌を中心にその概要を報告する。

I. 実験材料及び方法

i. 供試薬剤

Win 18320 は化合物名 1-Ethyl-7-Methyl-1,8-Naphthyridin-4-one-3-Carboxylic acid で下記の構造式



Win 18320

表 1 Win 18320 の 抗 菌 作 用

供 試 菌 株	最少発育阻止濃度 (mcg/ml)			
	CM	SM	TC	Win 18320
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Hirayama)	25	>100	25	50
<i>Salmonella typhi</i> (T-287)	1.56	25	0.78	6.25
<i>Escherichia coli</i> (C-1)	3.12	3.12	1.56	6.25
<i>Streptococcus faecalis</i> (3945)	3.12	25	0.78	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> (STP-213)	3.12	1.56	0.39	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (STP-19)	3.12	0.39	0.39	50
<i>Bacillus subtilis</i> (PCI)	3.12	1.56	0.39	3.12

を有する白色結晶である。この結晶は pH 9.0 以上のアルカリ水に溶解する。その他、対照抗生物質として Chloramphenicol (CM), Dihydrostreptomycin (SM), Tetracycline (TC) を用いた。

これら薬剤は重量単位 (mcg/ml) で使用し、抗生物質は滅菌蒸留水で、また Win 18320 は 1/2 N NaOH の少量にそれぞれ溶解した後、さらに滅菌蒸留水を加えて培地中における最高濃度を 100 mcg/ml とし、以下これを倍数希釈した。

ii. 培 地

抗菌力の測定には腸菌法を用い、培地はすべて Heart infusion agar (栄研) を使用した。人工耐性化の実験には Brain heart infusion Broth (Difco) を使用した。

iii. 供試菌株

赤痢菌は昭和 37 年 9 月より約 1 年間に都立衛生研究所で分離した菌株 50 株、および同所保存の Ew 40(2b) を標準株として用いた。

その他、抗菌力測定の対照として同所保存の黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、腸球菌、枯草菌、チフス菌、大腸菌、緑膿菌を供試した。これらの菌株は常時血液寒天斜面または流動パラフィン重層の普通寒天高層に穿刺保存し、用に望んで pH 7.0 のペプトン水に 2 代継代培養し供試した。

iv. 培養及び判定

18 時間づつ 2 代培養した各菌株を 1 白金耳量培地に劃線し、37°C、24 時間培養後の完全発育阻止濃度を感受性として記録した。

v. 血球添加の影響

1,000 mcg/ml の薬剤生理食塩水溶液に洗滌ウマ血球を 10% の割合に添加し、37°C の恒温槽中で 1 時間反応させた後、その上清について抗菌作用を検討した。

vi. 血清添加の影響

培地に 10% の割合でウマ血清を添加した。

表 2 Win 18320 の赤痢菌に対する抗菌作用

No.	菌 型	CM	SM	TC	Win 18320	No.	菌 型	CM	SM	TC	Win 18320
1	1 b	0.78	3.12	0.78	3.12	26	3 a	>100	>100	>100	6.25
2	3 a	1.56	1.56	1.56	3.12	27	3 a	1.56	3.12	3.12	3.12
3	2 a	0.78	3.12	0.78	3.12	28	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12
4	2 a	0.78	3.12	0.78	3.12	29	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12
5	2 a	0.39	3.12	0.78	3.12	30	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12
6	2 a	0.39	3.12	0.78	3.12	31	4	3.12	3.12	3.12	3.12
7	2 a	0.39	3.12	0.78	3.12	32	4	3.12	3.12	1.56	6.25
8	2 a	0.39	3.12	0.78	3.12	33	4	1.56	3.12	1.56	3.12
9	2 a	0.39	3.12	0.78	3.12	34	4	3.12	6.25	1.56	6.25
10	2 b	0.39	3.12	0.78	3.12	35	4	3.12	3.12	3.12	6.25
11	2 b	0.78	3.12	>100	3.12	36	Y	0.78	3.12	0.78	3.12
12	2 b	0.78	3.12	0.78	3.12	37	Y	0.78	3.12	0.78	3.12
13	2 b	0.78	3.12	0.78	1.56	38	Y	0.78	3.12	0.78	3.12
14	2 b	0.39	3.12	0.78	1.56	39	Y	0.78	3.12	0.78	3.12
15	2 b	1.56	3.12	1.56	3.12	40	Y	1.56	3.12	0.78	3.12
16	2 b	0.78	3.12	0.78	3.12	41	Sonne I	6.25	3.12	3.12	3.12
17	2 b	0.78	3.12	0.78	1.56	42	Sonne I	3.12	3.12	1.56	3.12
18	2 b	0.78	3.12	0.78	1.56	43	Sonne I	6.25	3.12	3.12	3.12
19	2 b	0.78	3.12	0.78	3.12	44	Sonne I	3.12	3.12	1.56	3.12
20	3 a	1.56	3.12	0.78	3.12	45	Sonne I	3.12	3.12	3.12	3.12
21	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12	46	Sonne I	3.12	3.12	3.12	3.12
22	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12	47	Sonne I	3.12	3.12	3.12	3.12
23	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12	48	Sonne I	3.12	3.12	1.56	3.12
24	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12	49	3 b	0.78	3.12	0.39	3.12
25	3 a	1.56	3.12	1.56	3.12	50	Sonne I	6.25	3.12	3.12	6.25

vii. デソキシコール酸ソーダの影響

デソキシコール酸ソーダを 0.2% の割合に添加した。

viii. -SH 基の影響

-SH 系薬剤としてシスチン塩酸塩、システイン塩酸塩および 3-Dimercaptopropanol (BAL) を各々 1/200 モルの割合に添加した。

ix. 菌株の人工耐性化

赤痢菌および大腸菌の感受性株を用い、培地中の薬剤濃度を段階的に増量して人工的に耐性を獲得させ、耐性獲得経過および交叉耐性の有無について検討した。

x. 殺菌作用

厚生省編さん「衛生検査指針」の一部を改変しておこなった。この際標準赤痢菌として Ew 40 (2b) を供試した。

II. 実験成績

i. 抗菌作用

Win 18320 の抗菌作用を表 1, 表 2 に示す。これらの成績から興味ある点は、この薬剤が球菌群にはほとんど効果がないことである。これに対して桿菌群には緑膿菌を除いて比較的著効を示した。特に赤痢菌には CM,

SM, TC 3 剤耐性菌を含めて、その感受性分布は 1.56 ~ 6.25 mcg/ml であった。

ii. 抗菌力に影響を及ぼす諸因子の検討

表 2 に示した菌株中 20 株を用いて抗菌力に影響を及ぼす諸因子の検討をおこなった。その成績を表 3 に示す。

接種菌量が厳密に一定でないために成績にばらつきがみられたが、ウマ赤血球への薬剤の吸着、デソキシコール酸、シスチンおよびシステインなどによる抗菌力の低下はほとんど認められなかった。しかしウマ血清の添加ではわずかに、また BAL の添加では明らかに抗菌力の低下が認められた。

iii. 耐性

増量法による耐性獲得の経過を図 1 に示す。大腸菌及び赤痢菌の耐性獲得経過にはほとんど差違が認められず、大腸菌では 14 代、赤痢菌では 15 代の継代によって比較的容易に 100 mcg/ml の高度耐性を獲得した。

これら菌株の CM, SM, TC に対する感受性を表 4 に示す。Win 18320 の高度人工耐性株は、抗生物質に対してやや感受性の低下をきたしたが、表 2 の結果と相

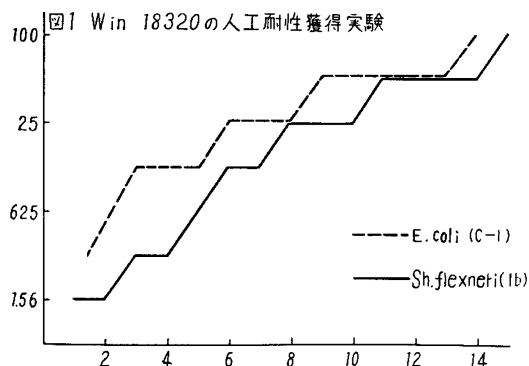
表 3 Win 18320 の赤痢菌に対する抗菌作用に及ぼす諸因子の影響

菌 株	菌 型	無 添 加	10% 血 清	10% 血 球	0.2% デソキ シコール酸塩	M/200 シス ティン	M/200 シス チン	M/200 BAL
1	1 b	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	6.25
2	3 a	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	12.5
3	2 a	3.12	6.25	3.12	3.12	3.12	1.56	6.25
4	2 a	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	6.25
5	2 b	3.12	6.25	3.12	3.12	3.12	1.56	12.5
6	2 b	1.56	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	6.25
7	2 b	1.56	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	6.25
8	2 b	3.12	3.12	3.12	1.56	3.12	1.56	12.5
9	3 a	3.12	6.25	3.12	1.56	3.12	1.56	12.5
10	3 a	3.12	6.25	3.12	3.12	3.12	1.56	12.5
11	3 a	3.12	6.25	3.12	3.12	3.12	1.56	12.5
12	3 a	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	12.5
13	4	3.12	6.25	3.12	3.12	3.12	3.12	25.0
14	4	6.25	6.25	3.12	3.12	3.12	3.12	12.5
15	4	6.25	6.25	3.12	3.12	3.12	3.12	25.0
16	4	6.25	6.25	3.12	3.12	3.12	1.56	12.5
17	Y	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	12.5
18	Sonne I	3.12	6.25	3.12	3.12	3.12	3.12	12.5
19	Sonne I	3.12	6.25	3.12	3.12	3.12	3.12	12.5
20	3 b	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	1.56	6.25

表 4 Win 18320 人工耐性菌の抗生物質に対する感受性

菌 株	Win 18320	CM	SM	TC
<i>E. coli</i> (C-1)	6.25	3.12	3.12	1.56
<i>E. coli</i> (C-1)*	>100	25	6.25	25
<i>Sh. flexneri</i> (1 b)	3.12	0.78	3.12	0.78
<i>Sh. flexneri</i> (1 b)	>100	3.12	6.25	25

* Win 18320 に対する人工耐性菌



共つて交叉耐性は成立しなかつた。

iv. 殺菌作用

表 5 に示すように、赤痢標準菌株に対して 500 倍で殺

表 5 Win 18320 の殺菌作用

薬 剤	時間 回数	2.5 分	5 分	10 分	15 分
Win 18320	500 倍	—	—	—	—
	1,000 倍	+	+	+	+
	1,500 倍	+	+	+	+
	2,000 倍	+	+	+	+
	2,500 倍	+	+	+	+
石 炭 酸	90 倍	—	—	—	—
	100 倍	—	—	—	—
	110 倍	+	—	—	—
	120 倍	+	+	—	—

供試菌株： *Sh. flexneri* 2 b (Ew 40)

菌作用を示し、石炭酸の約 4 倍であつた。Win 18320 の殺菌作用は発育阻止作用に比較して弱かつた。

III. 考 察

Win 18320 は対照として用いた供試菌株が少なく推定の域を出ないが、球菌群には抗菌作用が弱く、桿菌群には比較的濃度でその発育を抑制するという点で、従来の抗菌性物質にくらべて興味ある化合物である。しかしこの点に関してはさらに詳細な実験をする必要があるが、特に赤痢菌に対して著効を示し、かつ耐性菌に対しても感受性株同様の抗菌作用があり、交叉耐性も成り立たず、耐性赤痢菌の出現が問題になっている現在、赤痢

治療にかなり期待出来る薬剤であると思われる。またしばしば抗菌力に影響を与える種々の因子に対しても *in vitro* ではわづかまたはほとんど影響されず、したがって生体内での抗菌力も比較的維持出来るであろうと考えられる。人工耐性化の実験では、比較的容易に耐性を獲得する点が問題となりそうであるが、生体内では *in vitro* と全く同様の機作で耐性化されるとは思われないし、他の主要抗生物質に対して交叉耐性が認められない点などから赤痢治療上たいした支障をきたすものとは思われない。

Win 18320 の殺菌作用は比較的弱く、この薬剤の抗菌力は殺菌作用よりむしろ静菌作用にあるものと思われる。

IV. ま と め

新化合物 Win 18320 の *in vitro* での抗菌作用を検討し次の成績を得た。

i) Win 18320 は桿菌群に強い抗菌作用を示し、特に赤痢菌には 1.56~6.25 mcg/ml でその発育を阻止した。

ii) CM, SM, TC 3 剤耐性赤痢菌にも 6.25 mcg/ml で発育を阻止した。

iii) 抗菌力は血清成分および BAL の添加で低下をきたした。

iv) 赤痢菌及び大腸菌に対する耐性化は比較的容易で、赤痢菌には 15 代、大腸菌には 14 代の継代で 100 mcg/ml の耐性を獲得したが、3 剤耐性株との間には交叉耐性はみられなかった。

v) 赤痢菌に対する殺菌作用は石炭酸の約 4 倍であった。

終りに御指導を賜った 善養寺部長、東邦大学医学部 桑原教授に謝意を表し、試料を御恵与下さった Winthrop Laboratories にお礼申し上げます。

文 献

- 1) A revised summary of laboratory and clinical tolerance data on Win 18320. Sterling-Winthrop Research Institute, Feb. 1962.