

新サルファ剤 Sulfamethoxypyrazine に関する基礎的研究 第1報

中沢昭三・川辺晴英・久米 光

京都薬科大学微生物学教室

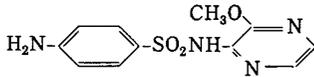
辻 明 良・板垣守正

東京大学伝染病研究所

(昭和 42 年 4 月 20 日受付)

本論文の要旨は昭和 42 年 4 月 9 日第 24 回日本薬学大会において報告した。

1961 年 Farmitalia 社の BERTAZZOLI らによつて新しく開発された新サルファ剤 Sulfamethoxypyrazine は化学名を 2-Sulfanilamido-3-methoxypyrazine と称し、次の構造式を有する。



分子量：280.3，融点：176~178°C，白色結晶性粉末で蒸留水にはほとんど溶けない。アルカリ性においては 100 mg/ml に溶解する。

私どもは今回 Sulfamethoxypyrazine の抗菌スペクトラム，臨床分離細菌の感受性分布，交叉耐性，耐性獲得状態およびマウス実験的感染症の治療効果について検討したので報告する。

第1表 抗菌スペクトラム (その1)

最小発育阻止濃度 mcg/ml

菌 種	Sulfamethoxy-pyrazine	Sulfamethoxy-pyridazine	Sulfisomezole
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	25	6.25	6.25
<i>Staph. aureus</i> Newman	>50	>50	>50
<i>Staph. albus</i>	25	12.5	12.5
<i>Staph. citreus</i>	0.19	0.19	0.78
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	6.25	3.12	3.12
<i>Diplococcus pneumoniae</i> III	12.5	25	25
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	1.56	0.35	1.56
<i>Bacillus anthracis</i>	12.5	12.5	6.25
<i>Escherichia coli</i> 伝研	3.12	1.56	1.56
" NIH	12.5	6.25	6.25
<i>Aerobacter aerogenes</i>	6.25	3.12	3.12
<i>Salmonella typhosa</i> T-287	25	12.5	3.12
<i>Salmonella typhosa</i> O-901	1.56	3.12	1.56

1. 抗菌スペクトラム

抗菌試験およびその菌液作製培地には MUELLER-HINTON 培地を用い寒天平板希釈法により検討した。ただし *Streptococcus hemolyticus*, *Diplococcus pneumoniae* III は MUELLER-HINTON 培地に 10% 血液を加えたものを使用し，*Clostridium welchii*, *Clostridium botulinum* は MUELLER-HINTON 培地にブドウ糖 (2%)，血液 (13%) を加えたものを使用した。対照薬剤として Sulfisomezole, Sulfamethoxypyridazine を使用した。その成績は第1表，第2表に示すごとく，他のサルファ剤と同様，グラム陽性菌，陰性菌に感受性を示し，その抗菌力についても大差を認めないが，一部の細菌についてはやや弱い傾向が認められた。

2. 臨床分離細菌の感受性

1966 年度患者から分離した病原ブドウ球菌約 100 株，大腸菌 18 株，および赤痢菌 10 株に対する感受性試験をおこない，その結果第3表，第1図に示されるような成績を得た。その1例病原ブドウ球菌の場合，標準株の

第2表 抗菌スペクトラム (その2)

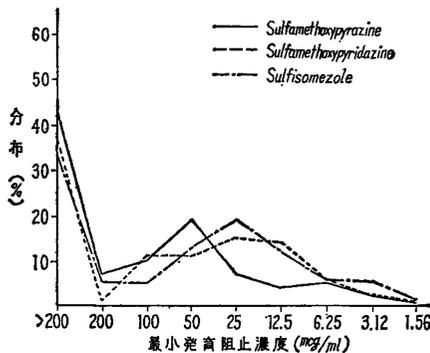
最小発育阻止濃度 mcg/ml

菌 種	Sulfamethoxy-pyrazine	Sulfamethoxy-pyridazine	Sulfisomezole
<i>Salmonella typhosa</i> H 901	>50	>50	>50
<i>Shigella dysenteriae</i>	12.5	12.5	12.5
" <i>flexneri</i> 2 a	6.25	3.12	3.12
" <i>boydii</i>	0.78	1.56	0.39
" <i>sonnei</i>	25	12.5	12.5
<i>Proteus vulgaris</i>	3.12	1.56	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 小林	>50	>50	>50
<i>Serratia marcescens</i>	>50	25	3.15
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.39	0.78	0.19
<i>N. meningitidis</i>	0.78	1.56	0.39
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (607)	1.56	1.56	0.78
<i>Clostridium welchii</i>	12.5	12.5	3.12
<i>Clostridium botulinum</i>	6.25	6.25	1.56

第3表 臨床分離細菌の感受性分布
最小発育阻止濃度 mcg/ml

薬 剤		>200	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56
ブドウ球菌	Sulfamethoxy-pyrazine	42	7	10	19	7	4	5	2	0
	Sulfamethoxy-pyridazine	36	1	11	11	14	14	6	2	1
	Sulfisomezole	32	5	5	12	18	12	6	5	1
薬 剤		>200	200	100	50	25	12.5	6.25		
大腸菌	Sulfamethoxy-pyrazine		12	0	1	5	0	0	0	0
	Sulfamethoxy-pyridazine		11	2	0	0	4	1	0	
	Sulfisomezole		12	0	0	2	1	3	0	
薬 剤		>100	100	50	25	12.5	6.25			
赤痢菌	Sulfamethoxypyrazine		9	0	0	1	0	0		
	Sulfamethoxypyridazine		10	0	0	0	0	0		
	Sulfisomezole		8	0	2	0	0	0		

ホ1図 臨床分離細菌の感受性分布
病原ブドウ球菌(約100株)



M-I.C. の10倍以上を耐性とみなすと、Sulfamethoxy-pyrazine 61%, Sulfisomezole 44%, Sulfamethoxy-pyridazine 50%の耐性菌の出現率となり、また大腸菌および赤痢菌の大部分が耐性となつてゐることが認められた。

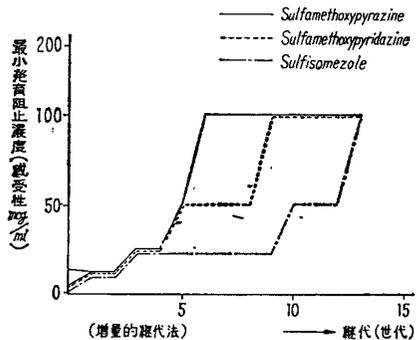
3. 交叉耐性

前節の実験に使用した臨床分離の病原ブドウ球菌、大腸菌および赤痢菌の中から、対照薬剤として用いたSulfisomezoleおよびSulfamethoxy-pyridazine耐性株を分離し、Sulfamethoxy-pyrazineに対する感受性を調べた結果、第4表に示すとおり、これらサルファ剤3剤間には完全な交叉耐性が認められた。

第4表 交叉耐性
最小発育阻止濃度 mcg/ml

		Sulfamethoxy-pyrazine	Sulfamethoxy-pyridazine	Sulfisomezole
ブドウ球菌	1	>200	>200	>200
	2	200	100	50
	3	>200	>200	>200
	4	>200	>200	>200
	5	>200	100	100
	6	200	>200	100
	7	100	100	200
	8	>200	>200	100
	9	100	100	50
	10	>200	>200	>200
大腸菌	1	>200	>200	>200
	2	>200	200	>200
	3	>200	>200	>200
	4	200	>200	>200
	5	>200	>200	>200
赤痢菌	1	>100	>100	>100
	2	>100	>100	50
	3	>100	>100	>100
	4	>100	>100	>100
	5	>100	>100	>100

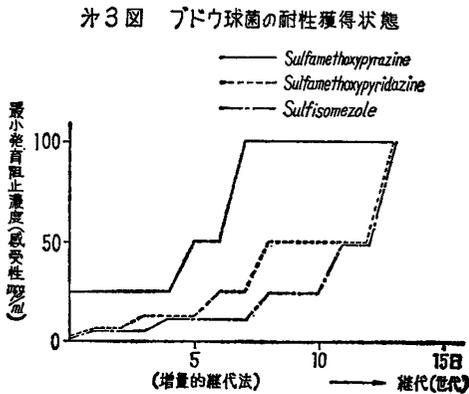
ホ2図 大腸菌の耐性獲得状態



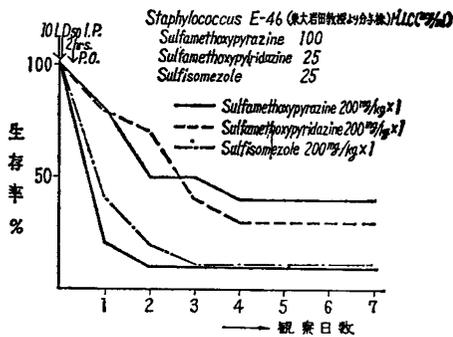
4. 耐性獲得状態

Sulfamethoxy-pyrazine, Sulfisomezole および Sulfamethoxy-pyridazine に対する大腸菌およびブドウ球菌の耐性獲得を検討した。その試験管内耐性獲得実験はMUELLER-HINTON 培地を用い常法の増量的継代法によつて、37°C 24 時間を1世代とする方法を用いた。大腸菌の成績は第2図に示すとおり Sulfamethoxy-pyrazine と Sulfamethoxy-pyridazine はともに段階的に早く耐性化が認められ、Sulfisomezole はやや耐性化は鈍いことが認められた。

また、ブドウ球菌の場合も同様、第3図に示すとおり、



オ4図 マウス実験的ブドウ球菌感染症に対する効果



Sulfamethoxyprazine は Sulfisomezole および Sulfamethoxypridazine より早く耐性化が認められた。

5. マウス実験的感染症に対する効果

私どもは、マウス実験的ブドウ球菌、溶血レンサ球菌、肺炎球菌、大腸菌およびゲルトネル菌感染症に対する Sulfamethoxyprazine の治療効果を Sulfisomezole および Sulfamethoxypridazine と比較検討した。

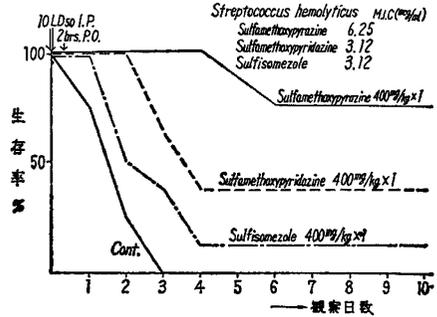
実験方法は、各種細菌の一定量を腹腔内に接種し、2時間後に1回、薬剤一定量を経口投与し、7~10日後の生存率でその治療効果を判定した。

文献によると、サルファ剤の治療実験については菌接種後薬剤を何日間連続投与してその効果をみたものがあるが、私どもは菌接種後2時間目に1回としたのは Sulfamethoxyprazine の *in vivo* 効果をより明瞭に他のサルファ剤と比較するため、すなわち1回のみ治療で薬剤の持続性などを考慮して行なつたものである。

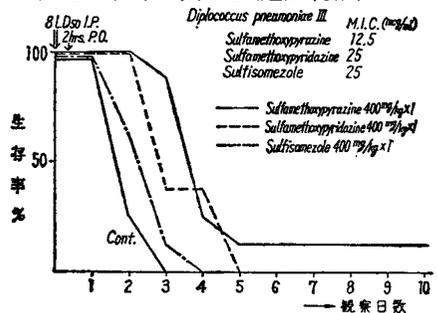
薬液の調整は 0.5% C.M.C. (carboxy methyl cellulose) で懸濁させ投与した。

A) マウス実験的ブドウ球菌感染症に対する効果
dd 系マウスを使用し、腹腔内に *Staphylococcus aureus* E-46 (東大 岩田教授より分与株) の 10 LD₅₀ を接

オ5図 マウス実験的溶血レンサ球菌感染症に対する治療効果



オ6図 マウス実験的肺炎球菌感染症に対する効果



種し、2時間後に1回 200 mg/kg を経口投与し、7日間観察し、その治療効果を判定した。その成績は第4図に示すとおり、Sulfamethoxyprazine は Sulfamethoxypridazine と同程度の効果を示し、Sulfisomezole より延命効果は優れていた。

B) マウス実験的溶血レンサ球菌感染症に対する効果

前述と同様、腹腔内に *Streptococcus hemolyticus* の 10 LD₅₀ を接種し、2時間後に1回 400 mg/kg を経口投与し、10日間観察して治療効果を判定した。その成績は第5図に示すとおり Sulfamethoxyprazine 75%、Sulfamethoxypridazine 38%、Sulfisomezole 13% の生存率を示し、Sulfamethoxyprazine の効果は他の2剤より非常に優れていた。

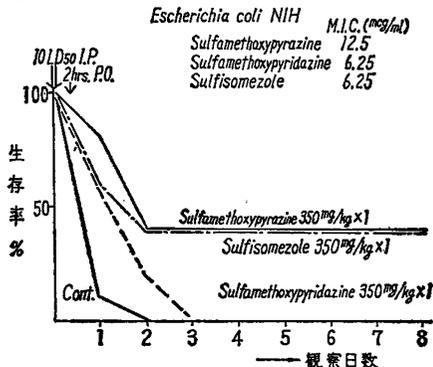
C) マウス実験的肺炎球菌感染症に対する効果

前述と同様、*Diplococcus pneumoniae III* の 8 LD₅₀ を腹腔内に接種し、2時間後に1回 400 mg/kg を経口投与し、10日間観察しその治療効果を判定した。その成績は第6図に示すとおり Sulfamethoxyprazine および Sulfisomezole は 4~5日に全部感染死したが、Sulfamethoxyprazine は 13% の生存率を示した。

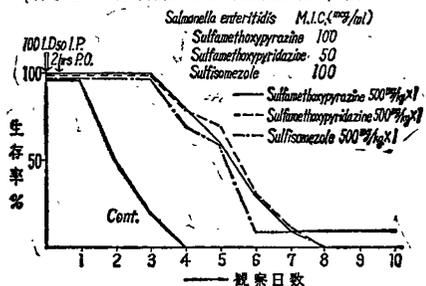
D) マウス実験的大腸菌感染症に対する効果

前述と同様、*Escherichia coli* NIH の 10 LD₅₀ を腹腔内に接種した。投与量は 350 mg/kg で8日間観察しその効果を判定した。その成績は第7図に示すとおり、

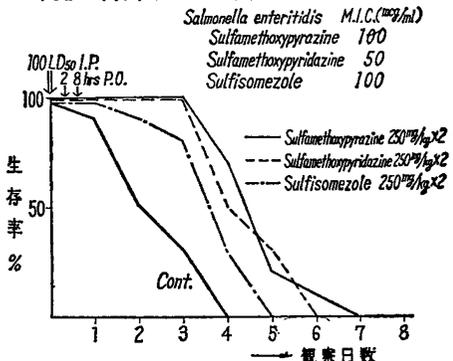
オ7図 マウス実験的大腸菌感染症に対する効果



オ8図 マウス実験的サルモネラ感染症に対する効果



オ9図 マウス実験的サルモネラ感染症に対する効果



Sulfamethoxyypyrazine および Sulfisomezole は 38% の生存率を示したが、Sulfamethoxypridazine は 3 日目に全部感染死した。

E) マウス実験的サルモネラ (ゲルトネル菌) 感染症に対する効果

前述と同様、*Salmonella enteritidis* の 100 LD₅₀ を腹腔内に接種した。投与量は 500 mg/kg で 10 日間観

察しその効果を判定した。その成績は第 8 図のとおり 3 剤とも Control より延命効果は認められたが、3 剤間の優劣は認められなかった。

次に、同じ *Salmonella enteritidis* の 100 LD₅₀ を腹腔内に接種し、2 時間後に投与量 250 mg/kg 1 回、8 時間後に 250 mg/kg 1 回、すなわち計 500 mg/kg を経口投与し、7 日間観察した。その成績は第 9 図に示すとおり、前述の 2 時間後投与量 500 mg/kg 1 回と同様、Control より延命効果は認められたが、3 剤間の優劣は認められなかった。

ま と め

Sulfamethoxyypyrazine の試験管内抗菌作用は対照薬剤として用いた Sulfisomezole および Sulfamethoxypridazine と同様グラム陽性菌、陰性菌に対し感受性を示し、その抗菌力は大差を認めないが、一部の細菌についてはやや弱い傾向が認められた。次に臨床分離細菌の感受性分布については、病原ブドウ球菌では標準株の 10 倍の M.I.C. を耐性とみなすと 61% の耐性菌が認められ、大腸菌および赤痢菌でも大部分が耐性菌であった。また 3 剤間の交叉耐性が認められた。しかし、マウス実験的感染症の治療効果については試験管内抗菌作用とは異なり、Sulfisomezole および Sulfamethoxypridazine より優れた効果が認められたことは興味深い。これは Sulfamethoxyypyrazine の臓器内移行および持続性が優れているためと思われる、現在検討中である。

また、私どもが行なつたマウス実験的感染症治療実験はただ 1 回の投与のみであるので、連続投与することにより、さらにこの効果が増強されるのではないかと考えられ、今後の臨床成績が期待される。

稿を終るに当たり、御指導頂いた東京大学伝染病研究所山本郁夫所長に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) C. BERTAZZOLI, A. BUOGO, C. CICERI, M. GHIONE, E. TUROLLA, V. ZAVAGLIO; A new sulfonamide 2-sulfanilamido-3-methoxyypyrazine, *Minerva Medica* Vol. 52 No. 40, 1789~1796, 1961.
- 2) 藤野恒三郎, 高木三郎, 植村敏雄, 小山金波: 新しいスファミン誘導体 5-methyl-3-sulfanilamido isoxazole について. *最新医学* Vol. 14 No. 1, 329~334, 1959.

FUNDAMENTAL STUDY ON SULFAMETHOXYPIRAZINE,
A NEW SULFA DRUG

(Report I)

SHOZO NAKAZAWA, HARUE KAWABE, MITSURU KUME

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

AKIYOSHI TSUJI & MORIMASA ITAGAKI

Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo

The antibacterial activity of sulfamethoxypyrazine *in vitro* has indicated sensitivity to Gram-positive and negative bacteria as well as sulfisomezole and sulfamethoxypridazine which were used as control drugs, and in its antibacterial effect, any marked difference between them was not observed, however rather slight effect on particular bacteria was noticed.

Further, with reference to the distribution for sensitivity of clinical isolated bacteria, the resistant bacteria with 61% of appearance rate was observed in pathogenicity of *Staphylococcus* in case of M.I.C. with 10 times of the standard strain being regarded as resistance and a majority of both *E.coli* and *Shigella* were found to be resistant bacteria.

The cross resistance among those three drugs was also realized.

It is interesting that the treatment effect on mouse experimental infection, differing from antibacterial activity *in vitro*, has shown more striking effect than with sulfisomezole and sulfamethoxypridazine.

This is because of the superiority in both transition within internal organs and long activity of sulfamethoxypyrazine and we are presently studying on this point.

In the treatment experiment for mouse experimental infection we observed only as for one-time administration and it is presumed that further effect might be increased with continuous administration of the drug and future clinical results will be expected.