

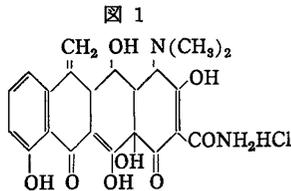
6-Methylen-5-hydroxy-tetracycline に関する研究

北 本 治・深 谷 一 太
東大医科研内科 (主任: 北本治教授)

(昭和 42 年 7 月 20 日受付)

1. ま え が き

Tetracycline の誘導体のうち, Demethylchlor TC (DMCT), TC-l-methylenlysine (ML-TC) については, 既に著者も検討を行ない報告した^{1,2,9)}。ここに述べる Methylenoxy TC (MOTC と以下略す) も同じく TC 誘導体であつて 1957 年に開発された¹¹⁾。抗菌力にすぐれ DMCT, ML-TC とともにその 150 mg が TC 250 mg に匹敵する血中濃度上昇を来すとして, メタサイクリン, ロンドマイシンとよばれて既に実地臨床に用いられている抗生剤である。今度このものについて改めて検討する機会を与えられたので, TC 系諸抗生剤と比較しつつ施行した成績を報告する。化学構造は図 1 の如くである。



2. 方法および成績

a. 感受性試験

i. 黄色ブドウ球菌の感受性

TC 系諸剤に対する感受性値を, 肉水寒天平板を用い,

表 1 黄色ブドウ球菌の TC 系諸剤に対する感受性値の比較 (数値は MIC)

TC (mcg/ml)	MOTC (mcg/ml)	DMCT (mcg/ml)	ML-TC (mcg/ml)	株数
>100	>100	>100	>100	12
>100	>100	100	>100	1
100	50	50	100	1
100	100	50	>100	1
50	25	12.5	100	1
50	50	25	50	1
25	100	25	50	1
6.3	12.5	50	12.5	1
1.6	≤0.8	1.6	3.1	1
≤0.8	25	≤0.8	1.6	1
≤0.8	≤0.8	≤0.8	1.6	15

グイオン 1 夜培養菌液の原液 1 白金耳塗抹により比較すると, 表 1 の如く, TC, MOTC, DMCT, MK-TC 4 剤の間には完全な交叉耐性がみとめられ, 100 mcg/ml 以上の耐性菌では全く同等であつた。感受性菌における差も平板 1~2 枚に止まつた。

ii. グラム陰性桿菌の感受性

各種グラム陰性桿菌の感受性値を同様の方法で測定して比較すると表 2 の如くで, 一般に DMCT が 1 枚程度好い感受性を示したほか, 3 剤は同程度であつた。菌種間の差はないようであつた。

iii. 制菌殺菌作用

液体培地にて発育の有無を観察して MIC 測定後, 未発育培地から平板に塗抹培養して集落発生の如何を検討して殺菌作用の判定を行なつた。TC と比較した成績は表 3 の如くで, 同様のパターンを示し, とくにブドウ球菌に対しては 1~2 管の差, 大腸菌に対しては 6 管の差を示した。

iv. 耐性上昇試験

ブドウ球菌 209 P および大腸菌 055 について継代培養法により行なつた耐性上昇試験では図 2, 図 3 の如くで, ブドウ球菌では同等, 大腸菌では MOTC のほうがやや早い上昇をみた。

表 2 グラム陰性桿菌の TC 系諸剤に対する感受性値の比較

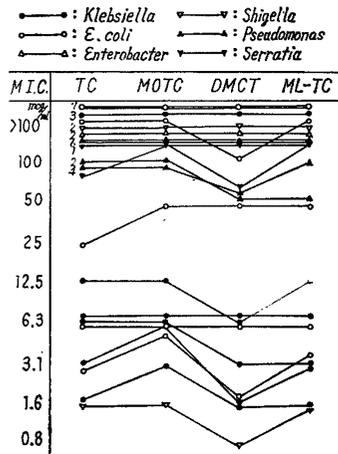


表 3 制菌殺菌作用(液体培養後, 未発育培地から平板塗抹)

		mcg/ml	200	100	50	25	12.5	6.3	3.1	1.6	0.8	0.4	0.2	
MOTC	209 P	static	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
		cidal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	055	static	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		cidal	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TC	209 P	static	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
		cidal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	055	static	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		cidal	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

図 2 耐性上昇試験

Staph. aureus 209P

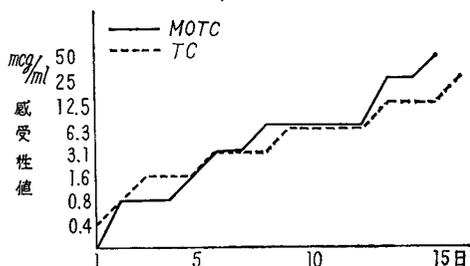
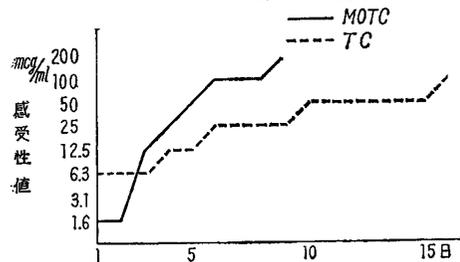


図 3 耐性上昇試験

E. coli 055



b. 金属イオンの影響

i. CaCl₂ 溶液中での成績

CaCl₂ の 0.5%, 1% をそれぞれ含む溶液の中に MOTC の一定濃度を入れ, 37°C 1時間放置後その力価を測定

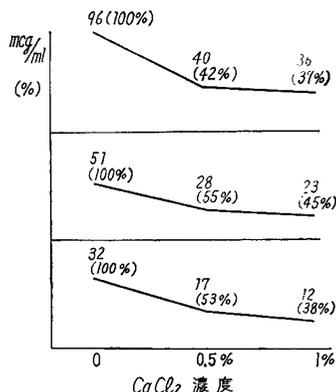
表 4 TC系諸剤の金属イオンによる不活化(対照を100%とする)
(CaCl₂ 溶液中の成績)

濃度	対照 (%)	0.5% (%)	1% (%)
TC	100	48	30
DMCT	100	23	17
ML-TC	100	38	28
MOTC	100	50	40

表 5 TC系諸剤の金属イオンによる不活化(対照を100%とする)
(MgSO₄ 溶液中の成績)

濃度	対照 (%)	0.5% (%)	1% (%)
TC	100	61	34
DMCT	100	61	40
ML-TC	100	59	40
MOTC	100	71	45

図 4 金属イオンの影響
CaCl₂ 溶液中での成績
—MOTC—



すると, 図 4 の如く, CaCl₂ の濃度に応じて力価の低下がみとめられ, 0.5% 溶液中では対照の 42~55%, 1% 溶液中では 37~45% に低下した。TC 系諸剤について同様な実験を行なつて平均値で表わすと, 表 4 の如くで, MOTC はこの中では比較的の不活化を受けにくいという結果をえた。

ii. MgSO₄ 溶液中での成績

MgSO₄ について同様に施行し, Mg イオンの影響をみると図 5 の如くで, 0.5% 溶液中では対照の 62~81%, 1% 溶液中では 29~62% に低下した。TC 系諸剤について同様な実験を行なつたときの平均値は表 5 の如くで, MOTC はもつとも残存力価が大きいことが知られた。

iii. KAl(SO₄)₂ · 12H₂O 溶液中での成績

KAl(SO₄)₂ · 12H₂O について同様に施行したときの成績は図 6 の如くで, 0.1% 溶液中では対照の 40~55%, 1% 溶液中では 16~30% の残存力価を示した。TC 系諸剤について同様な実験を行なつた成績は表 6 の如くで, 同じく MOTC では低下度ももつとも少なかった。

c. その他の実験成績

i. 赤血球吸着性

表 6 TC系諸剤の金属イオンによる不活化
(明ばん溶液中の成績)

濃度	対照 (%)	0.1% (%)	1% (%)
TC	100	31	16
DMCT	100	42	18
ML-TC	100	31	14
MOTC	100	48	22

図5 金属イオンの影響
MgSO₄溶液中での成績
—MOTC—

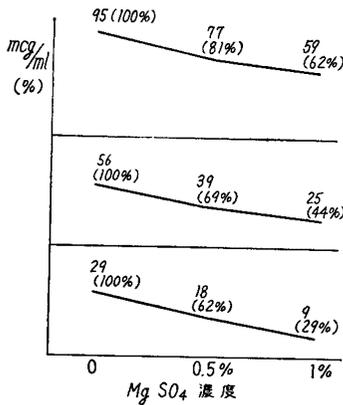


図6 金属イオンの影響
KAl(SO₄)₂·12H₂O溶液中での成績
—MOTC—

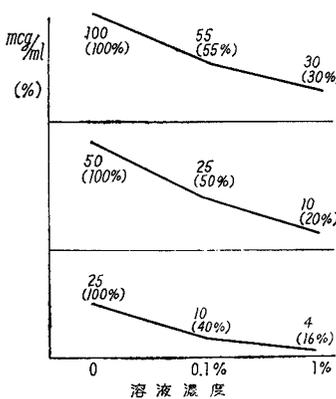


図7 MOTCの
赤血球吸着
(吸着後の残存量で示す)

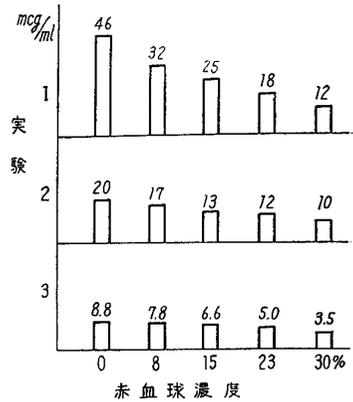


図8 MOTCの肝による不活化

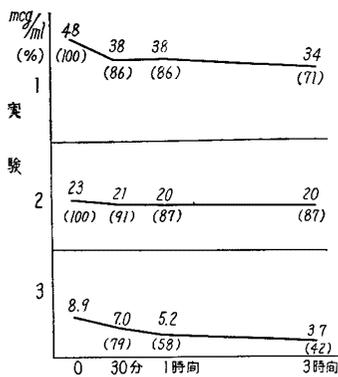


図9 セロファン囊による透析
MOTCについて

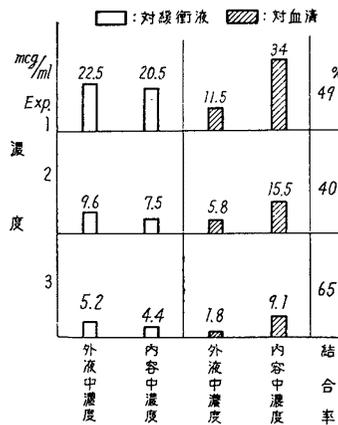


図10 MOTCの
マウス臓器内濃度

□: MOTC ▨: TC
150 mg/kg 経口投与

	30分	1時間	3時間
肝	0 mcg/g ▨ 4.7	0.44 ▨ 1.7	0.85 ▨ 3.6
脾	0 ▨ 0.28	0.53 ▨ 0.74	0.22 ▨ 0.22
腎	0.32 ▨ 2.0	1.05 ▨ 0.82	0.45 ▨ 0.64
肺	0.21 ▨ 0.28	0.40 ▨ 0.44	0.36 ▨ 0.28
臓器内濃度	—	0.85 ▨ 0.25	4.00 ▨ 6.10
血清	0.28 mcg/ml ▨ 0.45	0.6 ▨ 0.19	0.42 ▨ 0.23

型の如く施行した成績で示すと、図7の如くで、赤血球濃度の濃いほうで吸着後の上清中残存量が少なく、すなわち吸着が強くみられることを示唆した。

ii. 肝による不活化

マウス肝ホジネイトによる不活化の有無を、型の如く測定すると、図8の如くで、実験 1~3 の間にやや動揺がみられたが、3 時間後の残存力価は 42~87% で若干不活化がみられるようであった。

iii. セロファン囊による透析

セロファン囊による透析により、透析後の外液濃度を測定して計算した血清蛋白結合率は、図9の如くで 40~65% となり高値を示した。

iv. 臓器内濃度の測定

MOTC および TC を 150 mg/kg にマウスに経口投与

して臓器内濃度を測定した成績は図 10 の如くで、一般に諸臓器内分布は TC のほうが高く、肝ではとくにその傾向が大であった。血清中濃度はこれに反して MOTC のほうがややおくれで高く長く維持されるようであった。

v. 実験的感染症に対する治療効果

黄色ブドウ球菌によるマウス背部皮下膿瘍に対する阻止効果を TC と比較した。10⁹ コおよび 10⁸ コの患者由来ブドウ球菌を背部皮下に注射し、直後に抗生剤 4 mg 1 回経口投与せしめたのち 48 時間後に屠殺して膿瘍の大きさを計測して評点を与え、平均値を算出して比較すると、表7の如く MOTC では TC よりやや平均点が大きいようであった。

同様の治療実験において、TC 2.5 mg, MOTC, DMCT,

表7 マウスの実験的感染に対する MOTC の治療効果
TC との比較 4mg/マウス 1回経口投与

	MOTC			TC		
	膿瘍の大きさ (mm)	評点	平均	膿瘍の大きさ (mm)	評点	平均
10 ⁹ コ ブドウ球菌 背部皮下 接種	5×5	2		5×5	2	
	6×8	2.5		4×4	2	
	5×8	2.5	2.4	6×5	2.5	2.1
	6×5	2.5		4×5	2	
	8×3	2.5		4×4	2	
		対照	11×11	3	10×12	3
		11×9	3			
10 ⁸ コ 同 上	4×6	2.5		3×6	2.5	
	1×1	1.5		0	1	
	5×5	2	1.8	0	0.5	1.7
	0	0.5		5×5	2	
	8×2	2.5		8×3	2.5	
	対照	9×6	2.5	5×5	2	2.2
		5×5	2			

ML-TC 各 1.5 mg 宛 1 回経口投与にて比較したところでは、表 8 の如く 4 剤間に甲乙をみない如き成績であった。何れも無処置対照と比較して膿瘍の大きさは小さく、等しく有効と判定された。この成績を膿瘍の縦×横径をもつて面積の近似値とし、1 群 5 匹分を加えたものをもつて表示すると、表 9 の如くで、やや数値の上に差がみられ、MOTC 群は 10⁹ コ接種時をもつとも小さい値

表 8 マウスの実験的感染に対する TC 系諸剤の治療効果 (1 群 5 匹)

群	膿瘍の大きさの 評点の平均	
	10 ⁹ コ 接種	18 ⁸ コ 接種
TC 2.5 mg/マウス 1 回経口投与	mm ² 2.3	mm ² 2.1
MOTC 1.5 mg 1 回経口投与	2.4	2.0
DMCT 1.5 mg 1 回経口投与	2.4	2.0
ML-TC 1.5 mg 1 回経口投与	2.5	2.0
無処置 対照	3.4	2.4

表 9 マウスの実験的感染に対する TC 系諸剤の治療効果 (1 群 5 匹)

群	膿瘍 (たて×よこ径) の面積の 近似値の和	
	10 ⁹ コ 接種	10 ⁸ コ 接種
TC 2.5 mg/マウス 1 回経口投与	mm ² 169	mm ² 77
MOTC 1.5 mg 1 回経口投与	139	73
DMCT 1.5 mg 1 回経口投与	195	72
ML-TC 1.5 mg 1 回経口投与	182	61
無処置 対照	833	197

図 11 H.O. 65y ♀ Pylonephritis
3/2 4 5 6 7 8 9-10 11 12 13 14
MOTC 150mg×6/日 計 6.3g

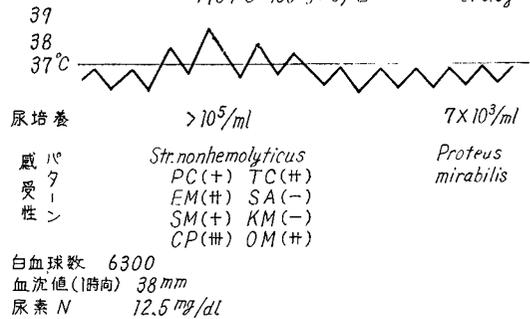
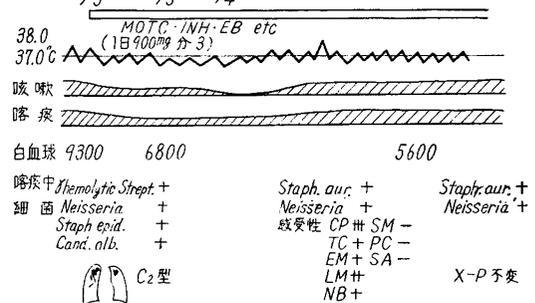


図 12 M.S. 32yrs ♂ Bronchiectasia + tbc
25/3 30/3 5/4 10 15 20 25



を示し、すぐれた成績と考えられた。10⁸ コ接種時には同一の傾向を示すに到らなかった。

d. 臨床例

H.O. 例 65 才、女子 (図 11) . Streptococcus nonhemolyticus が >10⁵/ml にみとめられ、腎盂炎と考えられた症例で、MOTC 1 日 900 mg 3 分服 7 日間投与により症状の軽快をみとめたが、尿中細菌は中間尿採取により Proteus mirabilis 7×10³/ml となった。一応有効と思われた。副作用はみとめられなかつた。

M.S. 例 32 才、男子 (図 12) : 気管支拡張症
最初起炎菌不明であつたが、咳・痰・発熱がみられ、MOTC 1 日 900 mg 分 3 の連日長期投与により、下熱・咳痰減少・白血球数正常化をみとめた。しかし再び悪化し、Staphylococcus aureus を分離するに到り、TC に対する感受性値も (+) 止まりであつた。その後 MOTC を続けても臨床症状の改善をみるに到らなかつた。本剤は一

応有効と考えられたが、菌交代のためその効果が持続しえなかつたと思われた。

3. 考 察

MOTC は OTC から化学的に誘導された TC 系抗生剤で、抗菌力が強く、有効血中濃度を長時間維持するなどの特長があると紹介されている。既に清水ら⁴⁾、加藤ら⁵⁾、大久保ら^{6,7)}がわが国での MOTC 検討成績を報告しており、諸種細菌の感受性値は TC と類似すること、胆汁内濃度が、在来の TC 系抗生剤とちがって血中濃度を上廻ること⁴⁾、血清蛋白結合率は 62%⁴⁾、78%¹⁰⁾であること、臓器による不活化を TC より強くうけること⁹⁾、金属イオンにより不活化をうけること⁹⁾、血清中での安定性が比較的大で、耐性上昇の速度は他と変わらず、種々の菌による実験的感染症に対する治療効果では MOTC がときにもつとも有効であつたといひ¹²⁾、マウスに対する毒性はもつとも強かつたこと¹⁸⁾などが報ぜられている。また血中濃度、臓器内濃度とも TC に比してかなり下廻るにも拘わらず、ヒトにおける血中濃度測定では TC を上廻り、MOTC 150 mg 経口投与は、TC 250 mg 投与時よりも高い血中濃度を示したこと^{6,7)}、屈中排泄率については報告^{4,6)}により差があるが、TC より低い傾向を示すことなどが知られている。

著者が MOTC について行なつた検討成績についてみると、多くの項目について先人の報告を確認したようであつたが、TC、MOTC、DMCT、ML-TC と並べて同時に比較した成績ははじめてであるようで、今回の検討で、MOTC が他の 3 剤とくに DMCT および ML-TC と優劣がつけ難い抗菌力、吸収排泄の様相、実験的感染症に対する治療効果を示したことは MOTC の地位を一層確実にしたものといえよう。

MOTC の特徴として血清蛋白結合率が大きいこと、腎よりの排泄が少ないと考えられること、臓器での不活化をうける率が大きいことなどが TC との間の相違として目立ち、臨床的に少量投与で高い血中濃度を維持することが長所といえよう。臨床使用の報告も既に多く^{9,4)}、尿路・胆道・呼吸器感染症に対して相当の効果を収めたことが報ぜられており、その評価も定まつているともいえよう。

著者の今回の自験例は症例も少なく、副作用の点の検討が十分でないが、MOTC は光線過敏症が DMCT よりはるかに少ないことが報ぜられ⁸⁾、消化器障害の出現率が同程度としても、1 利点を有することは確かであり、期待されるところであろう。耐性菌の点では TC 系抗生剤すべてに共通した問題であり、注意を要することは周知であろう。

4. 結 語

TC 誘導体の 1 つ 6-Methylen-5-hydroxy-TC(MOTC) について、TC 系諸抗生剤と比較しつつ各種検討を行ない、次の結果をえた。

1. 黄色ブドウ球菌および各種グラム陰性桿菌の感受性値は大差なく、相互間に完全な交叉耐性が存在した。
2. CaCl_2 , MgSO_4 , $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ 溶液での金属イオンによる不活化を、MOTC は 4 剤中もつともうけにくいようであつた。
3. 赤血球吸着性は大きく、肝による不活化を中等度にうけ、セロファン嚢透析による血清蛋白結合率は 40~65% であつた。
4. マウス臓器内濃度は経口投与後、TC より一般に低値で、とくに肝において著るしかつた。
5. マウス背部皮下ブドウ球菌感染実験での膿瘍阻止効果は TC と匹敵した。4 剤の比較検討でも大体同等であつた。
6. 臨床的に腎盂炎 1 例に有効、気管支拡張症 1 例には始め有効であつたが、菌交代によると思われる増悪を投与中に来した。

本論文の要旨は第 15 回日本化学療法学会において発表した。

薬剤を提供された台糖ファイザー K K に感謝する。

文 献

1. 深谷一太：ML-TC に関する基礎的検討。Chemotherapy 13(2)：94~98, Mar. 1965
2. 北本治・深谷一太：抗微生物剤の生体内動態に関する研究 -ML-TC について-。Chemotherapy 13(2)：99~104, Mar. 1965
3. 北本治・深谷一太・輪島豊子・田所一郎・森田茂男：DMCT に関する基礎的研究、——主に実験的感染症治療効果について——。Chemotherapy 13(6)：443~447, Nov. 1965
4. 清水喜八郎・原田敏雄・島山正巳・国井乙彦・陣立恒夫・島田馨 MOTC の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 12(6) 453~454, Nov. 1964
5. 加藤康道・富沢磨須美・小島愛司・松本義孝 田中一志：MOTC および DMCT の研究。Chemotherapy 14(1)：14~18, Jan. 1966
6. 大久保保・藤本安男 大沢清：MOTC 塩酸塩の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 12(6)：454~455, Nov. 1964
7. 大久保保・藤本安男 大沢清 MOTC の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 13(1) 78~79, Jan. 1965
8. 水野信行・山本達雄：第 15 回日本化学療法学会総会講演。June 1967
9. 三辺武右衛門・飯田宏美：MOTC による耳鼻科感染症の治験。Chemotherapy 14(2) 98~99, Mar. 1966
10. KUNIN, C. M.: Comparative serum binding,

- distribution and excretion of TC and MDTC.
P. S. E. B. M. 110 : 311~315, 1962
11. BLACKWOOD, R. K. *et al.*: 6-Methylentetracyclines, 1. a new class of tetracycline antibiotics, J. Am. Chem. Soc. 83 : 2773~2775, 1961
12. CHANG, T. W. & L. WEINSTEIN : A comparison of the *in vitro* and *in vivo* activity of MOTC and other TC compounds. Antibiot. & Chemo. 12(12) : 676~688, 1962
13. LIND, H. E. & H. M. TRAFTON . Methacycline : a new antibiotic in the treatment of urinary tract infections. Antibiot. & Chemo. 12(11) : 640~649, 1962
14. ロンドマイシン文献, 第1集。台糖ファイザー社

STUDIES ON 6-METHYLEN-5-HYDROXY-TETRACYCLINE

OSAMU KITAMOTO & KAZUFUTO FUKAYA

The Department of Internal Medicine, The Institute of Medical Science,
The University of Tokyo

(Director : Prof. O. KITAMOTO)

Summary

On methylen-5-hydroxy-tetracycline (MOTC), one of the tetracycline derivatives, fundamental and clinical studies were carried out comparing with three other tetracyclines and the following results were obtained.

1. *Staphylococcus aureus* and a variety of gram negative bacilli showed generally similar sensitivities against all four tetracyclines. There were complete cross resistances each other.
2. MOTC received the least inactivation by any of Ca, Mg and Al cations when tested using CaCl₂, MgSO₃ and KAl(SO₄)₂ solutions.
3. It was concluded that MOTC was much adsorbed by red blood corpuscle and inactivated by mice liver homogenate in the middle grade. The serum protein binding rate was calculated as much as 53% on average by cellophane bag dialysis method.
4. The organ level of mice following oral administration of MOTC showed lower value on the whole than TC, being especially great the difference in that of liver.
5. There was comparable inhibitory effect of MOTC to TC against abscess formation following the subcutaneous inoculation of *Staphylococcus aureus* into the back of mice. Four tetracyclines were considered to be equally effective on the next such experiment.
6. Two cases of one pyelonephritis and another bronchiectasia were treated by MOTC. The former was cured, but in the latter the temporal improvement was followed by deterioration perhaps due to the change of bacterial flora, in spite of continuation of MOTC treatment.