

## パナゾンとパンフランSの嫌気性菌に対する抗菌活性

牛嶋 彊・上野 一恵・鈴木祥一郎

岐阜大学医学部微生物学教室

(昭和 49 年 2 月 15 日受付)

ニトロフラン誘導体が通性嫌気性菌あるいは一部の嫌気性菌, *Clostridium* に対して優れた抗菌活性を有することが報告されている<sup>1-3)</sup>。本報では, ニトロフラン誘導体のパナゾンとパンフランSの嫌気性菌に対する抗菌活性について報告する。

## 材料と方法

菌株: ATCC 株, MOORE (Virginia Polytechnic Institute and State University) と光岡 (理化学研究所) からの分与株, ならびに教室保有株 (Table 1~4)。これらの菌株は全て性状を再検討した上で菌種名が決定

Table 1. Antibacterial activities of panfuran S and panazon for anaerobic cocci

No.	Species	MIC ( $\mu$ g/ml)	
		Panfuran S	Panazon
1	<i>Ps productus</i> (ATCC 27340)	<0.0015	0.024
2	<i>Ps intermedius</i> (G-131)	0.049	0.39
3	<i>Ps parvulus</i> (Moore 5229)	0.049	0.098
4	<i>Ps foetidus</i> (6 F-12)	0.006	0.195
5	<i>Ps anaerobius</i> (966)	<0.0015	0.098
6	<i>Ps anaerobius</i> (B-38)	0.049	0.39
7	<i>Ps putridus</i> (M-54)	0.012	0.098
8	<i>Ps micros</i> (Moore 5462)	0.003	0.024
9	<i>Ps asaccharolyticus</i> (R-16)	<0.0015	0.024
10	<i>Peptostreptococcus</i> sp. (G-1-7A)	<0.0015	0.024
11	<i>Pc aerogenes</i> (757)	0.195	1.56
12	<i>Pc constellatus</i> (ATCC 27513)	0.195	0.195
13	<i>Pc prevotii</i> (ATCC 9321)	0.049	0.39
14	<i>Pc saccharolyticus</i> (ATCC 14953)	0.049	0.195
15	<i>Pc variabilis</i> (R-54)	0.049	0.39
16	<i>Pc variabilis</i> (ATCC 14955)	0.012	0.39
17	<i>Pc anaerobius</i> (R-90)	0.049	0.195
18	<i>Pc asaccharolyticus</i> (ATCC 14963)	0.003	0.098
19	<i>Peptococcus</i> sp. (R-40)	0.006	0.195
20	<i>V alcalescens</i> (ATCC 17745)	0.049	0.39
21	<i>V parvula</i> (9816)	0.012	0.39
22	<i>A fermentans</i> (ATCC 25085)	0.049	0.39
23	<i>A fermentans</i> (ATCC 25088)	0.049	0.39
24	<i>M elsdenii</i> (ATCC 25940)	<0.0015	0.024
25	<i>M elsdenii</i> (G-1-1 C)	0.003	0.195

Note: Medium; Brain liver heart (Difco)

s; *Peptostreptococcus*, c; *Peptococcus*, A; *Acidaminococcus*, M; *Megasphaera*

Table 2. Antibacterial activities of panfuran S and panazon for non-sporing, gram positive, anaerobic bacilli

No.	Species	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	
		Panfuran S	Panazon
1	<i>E. aerofaciens</i> (ATCC 25986)	0.012	0.195
2	<i>E. aerofaciens</i> (4 B-12)	< 0.0015	0.195
3	<i>E. aerofaciens</i> (4 B-13)	0.049	0.39
4	<i>E. limosum</i> (ATCC 8486)	0.024	0.39
5	<i>E. lentum</i> (ATCC 25559)	< 0.0015	0.049
6	<i>E. lentum</i> (H-1)	< 0.0015	0.049
7	<i>E. alactolyticum</i> (ATCC 23263)	0.012	0.39
8	<i>E. alactolyticum</i> (H-2)	0.003	0.049
9	<i>P. avidum</i> (ATCC 25577)	12.5	0.78
10	<i>P. granulorum</i> (ATCC 25564)	12.5	1.56
11	<i>P. acnes</i> (ATCC 11828)	12.5	0.78
12	<i>P. acnes</i> (ATCC 11827)	12.5	1.56
13	<i>P. acnes</i> (P. 15)	12.5	1.56
14	<i>B. infantis</i> ss <i>infantis</i> (Ma-14)	25	0.098
15	<i>B. infantis</i> ss <i>lactentis</i> (659)	0.003	0.098
16	<i>B. infantis</i> ss <i>liberorum</i> (S-76 e)	0.049	0.39
17	<i>B. breve</i> (S-1)	0.049	0.39
18	<i>B. breve</i> (BT-5)	0.049	0.39
19	<i>B. adolescentis</i> (E-194)	0.098	0.78
20	<i>B. adolescentis</i> (ATCC 15703)	0.195	0.78
21	<i>B. adolescentis</i> (ATCC 15705)	0.78	1.56
22	<i>B. adolescentis</i> (ATCC 15706)	3.125	1.56
23	<i>B. adolescentis</i> (BT-9)	0.006	0.098
24	<i>B. longum</i> ss <i>longum</i> (S-3)	0.049	0.78
25	<i>B. longum</i> ss <i>longum</i> (BT-1)	0.049	0.39
26	<i>B. longum</i> ss <i>animalis</i> (R-101-8)	0.049	0.78
27	<i>B. pseudolongum</i> (PNC-2-9G)	3.125	1.56
28	<i>B. parvulorum</i> (S-50)	0.012	0.39
29	<i>B. bifidum</i> (C-319)	0.012	0.39
30	<i>B. thermophilum</i> (P2-91)	0.049	0.39
31	<i>A. bovis</i> (P. 66-A)	0.006	0.024

Note: Medium; Brain liver heart (Difco)

E; *Eubacterium*, P; *Propionibacterium*, B; *Bifidobacterium*,  
A; *Actinomyces*

してある<sup>4,7)</sup>。これらは 100 菌株, 76 菌種である。

抗菌活性 (MIC) の測定法: 被検菌を GAM 液体培地 (GAM 半流動培地から寒天を汙別し, 規定の 1/2 濃度に希釈) に 40 時間嫌気培養した後, Infusion Broth (BBL) によつて, 約 McFarland No. 1 の濃度に調節して接種菌液とした。各種濃度に被検薬剤を含む Brain Liver Heart Agar (Difco) 平板に内径約 1 mm の白金耳を装

着した多目的アパラツスによつて被検菌を塗抹した。Steel wool 法<sup>8)</sup> (CO<sub>2</sub>:10%, N<sub>2</sub>:90%) により 48 時間嫌気培養したのち増殖の有無を観察し, MIC を求めた。

システインによる抗菌活性の阻害の検討: システイン一塩酸塩を 0, 0.025, 0.05, 0.1% (W/V) に加えた Brain Heart Infusion Agar (BBL) および GAM 寒天 (日水, 0.03% のシステインとチオグリコール酸ナトリ

Table 3. Antibacterial activities of panfuran S and panazon for non-sporing, gram negative, anaerobic bacilli

No.	Species	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	
		Panfuran S	Panazon
1	<i>B hypermegas</i> (ATCC 25560)	0.049	0.39
2	<i>B furcosus</i> (ATCC 25662)	<0.0015	0.098
3	<i>B praeacutus</i> (ATCC 25539)	0.049	0.39
4	<i>B oralis</i> (ATCC 15930)	0.003	0.049
5	<i>B fragilis</i> ss <i>ovatus</i> (Ju-6-1)	0.003	0.098
6	<i>B fragilis</i> ss <i>vulgatus</i> (Ju-14)	<0.0015	0.098
7	<i>B fragilis</i> ss <i>vulgatus</i> (W-5)	0.003	0.098
8	<i>B fragilis</i> ss <i>distasonis</i> (Ju-11-2)	0.006	0.195
9	<i>B fragilis</i> ss <i>distasonis</i> (W-7)	0.003	0.098
10	<i>B fragilis</i> ss <i>thetaiotaomicron</i> (Ju-2)	0.003	0.195
11	<i>B fragilis</i> ss <i>thetaiotaomicron</i> (W-3)	0.003	0.098
12	<i>B fragilis</i> ss <i>fragilis</i> (Ju-1)	0.003	0.098
13	<i>B fragilis</i> ss <i>fragilis</i> (W-1)	0.006	0.098
14	<i>B melaninogenicus</i> ss <i>intermedius</i> (ATCC 25846)	0.003	<0.006
15	<i>B melaninogenicus</i> ss <i>melaninogenicus</i> (ATCC 25845)	0.003	<0.006
16	<i>B melaninogenicus</i> ss <i>asaccharolyticus</i> (Rm-1)	<0.0015	<0.006
17	<i>B biacutus</i> (Sf-7)	0.003	0.049
18	<i>B clostridiiformis</i> ss <i>girans</i> (2013)	0.006	0.098
19	<i>B ruminicola</i> ss <i>ruminicola</i> (Nakajima)	<0.0015	<0.006
20	<i>B putredinis</i> (2-L-5)	<0.0015	0.098
21	<i>B clostridiiformis</i> ss <i>clostridiiformis</i> (Fn)	<0.0015	0.049
22	<i>F varium</i> (ATCC 8501)	0.098	0.78
23	<i>F varium</i> (Ju-40)	0.049	0.39
24	<i>F russii</i> (ATCC a 5533)	0.003	0.049
25	<i>F necrophorum</i> (W-12)	0.003	0.098
26	<i>F necrophorum</i> (H-12)	0.024	0.78
27	<i>F necrophorum</i> (G-3)	0.012	0.78
28	<i>F gonidiaformans</i> (T-176)	0.049	1.56
29	<i>F glutinosum</i> (Ju-21)	0.049	0.78
30	<i>F mortiferum</i> (Ju-2-46-2)	0.012	0.78
31	<i>F nucleatum</i> (B-1)	0.012	0.39
32	<i>F prausnitzii</i> (FM-8s)	0.003	0.39
33	<i>L buccalis</i> (ATCC 19616)	0.012	0.098
34	<i>L buccalis</i> (ATCC 14201)	0.049	0.098
35	<i>Bv fibrisolvens</i> (ATCC 19171)	<0.0015	0.024

Note: Medium; Brain liver heart (Difco)  
*B*; *Bacteroides*, *F*; *Fusobacterium*, *L*; *Leptotrichia*,  
*Bv*; *Butyrivibrio*

ウムを含む)に各種濃度に薬剤を加えて平板とし上記に従がい MIC を測定した。システイン無添加培地の MIC を単位とし、システイン添加培地での MIC の増加率(倍数)の逆数を取り抗菌活性の阻害の程度を表わした。

### 結 果

#### 最小阻止濃度 (MIC) の分布

Table 1~4 に各被検菌に対するパンフランSとパナ

Table 4. Antibacterial activities of panfuran S and panazon for sporing, gram positive, anaerobic bacilli

No.	Species	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	
		Panfuran S	Panazon
1	<i>C. perfringens</i> (S)	0.006	0.39
2	<i>C. sordellii</i>	1.56	12.5
3	<i>C. septicum</i> (Y)	<0.0015	0.098
4	<i>C. histolyticum</i> (Y)	1.56	12.5
5	<i>C. bifermentans</i> (2394)	0.006	0.098
6	<i>C. sporogenes</i>	0.39	0.78
7	<i>C. botulinum</i> (type A)	0.003	0.78
8	<i>C. tetani</i> (Y)	0.024	0.098
9	<i>C. novyi</i> (type A)	0.003	0.098

Note: Medium; Brain liver heart (Difco)  
*C*: *clostridium*

ゾンの MIC を示した。Table 5~6 には各菌属の MIC の分布を示した。

パンフランSでは *Propionibacterium* の5菌株が12.5  $\mu\text{g/ml}$ 、*Bifidobacterium* の1菌株が25  $\mu\text{g/ml}$  と比較的高い MIC を示しただけで、他の多くの菌株は1  $\mu\text{g/ml}$  以下の低い MIC であった。

パナゾンでは *Clostridium* の2菌株が12.5  $\mu\text{g/ml}$  と比較的高い MIC を示しただけで、他のほとんどの菌株は1  $\mu\text{g/ml}$  以下の低い MIC であった。

パンフランSとパナゾンの抗菌活性を比較すると、前者のほうが数倍以上の強い抗菌活性を示す場合が多かった。*Propionibacterium* は例外で、逆にパナゾンのほうがより強い抗菌活性を示した。以上のとおり、パンフランSとパナゾンが試験管内において嫌気性菌に対してひじょうに強い抗菌活性を有することが明らかとなった。

#### システインによる抗菌活性の阻害

システインによるパナゾンの抗菌活性の阻害の程度は菌株によつてかなり異なつたが、システイン濃度が

Table 5. Antibacterial activity of panfuran S for anaerobes

Species	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														
	$\leq 0.0015$	0.003	0.006	0.012	0.025	0.049	0.098	0.195	0.39	0.78	1.56	3.125	6.25	12.5	25
<i>Peptostreptococcus</i>	4 <sup>*</sup>	1	1	1		3									
<i>Peptococcus</i>		1	1	1		4	2								
<i>Veillonella</i>				1		1									
<i>Acidaminococcus</i>						2									
<i>Megasphaera</i>	1	1													
<i>Eubacterium</i>	3	1		2	1	1									
<i>Propionibacterium</i>														5	
<i>Bifidobacterium</i>		1	1	2		7	1	1		1		2			1
<i>Actinomyces</i>			1												
<i>Clostridium</i>	1	2	2		1				1		2				
<i>Bacteroides</i>	6	10	3			2									
<i>Fusobacterium</i>		3		3	1	3	1								
<i>Leptotrichia</i>				1		1									
<i>Butyrivibrio</i>	1														

\* Number of strains, Medium; Brain liver heart (Difco)

Table 6. Antibacterial activity of panazon for anaerobes

Species	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )											
	$\leq 0.006$	0.012	0.025	0.049	0.098	0.195	0.39	0.78	1.56	3.125	6.25	12.5
<i>Peptostreptococcus</i>			※ 4		3	1	2					
<i>Peptococcus</i>					1	4	3		1			
<i>Veillonella</i>							2					
<i>Acidaminococcus</i>							2					
<i>Megasphaera</i>			1			1						
<i>Eubacterium</i>				3		2	3					
<i>Propionibacterium</i>								2	3			
<i>Bifidobacterium</i>					3		7	4	3			
<i>Actinomyces</i>			1	3								
<i>Clostridium</i>				1	4		1	2				2
<i>Bacteroides</i>	4				10	2	2					
<i>Fusobacterium</i>					1		3	5	1			
<i>Leptotrichia</i>					2							
<i>Butyrivibrio</i>			1									

※ Number of strains, Medium: Brain liver heart (Difco)

Table 7. Inhibition rate of cysteine on antibacterial activity of panazon for anaerobes

Cysteine HCl (%)	Reduction rate of antibacterial activity							
	※ 1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
0.025	# 6	4	10	6	1			
0.05	2	3	6	9	5	1	1	
0.1		1	5	4	6	8	2	1

Note: ※ MIC of brain heart infusion agar (BBL) is unit.

# Number of strains

0.025, 0.05, 0.1% と増加すると抗菌活性は平均して 1/4, 1/8, 1/16 となつた (Table 7)。

パンフランSの場合も、多くの菌株でパナゾンと同程度の抗菌活性の阻害が認められた (Table 9)。一部の菌株においては大幅に抗菌活性が低下した。これらは *Clostridium* の菌株で、抗菌活性の低下はシステイン無添加培地での MIC を単位とするとシステイン 0.1% 加培地では実に 1/512~1/2048 あるいはこれ以上となつた (Table 10)。

GAM 寒天での MIC は、パナゾンとパンフランSの両薬剤において、0.05~0.1% システイン加 Brain Heart Infusion Agar での MIC にほぼ等しかつた (Table 8, 10)。

## 考 察

抗生物質の MIC は、その測定条件によつて強い影響を受け大幅に変化する場合が多い<sup>9)</sup>。ニトロフラン誘導体では SH 基を有する化合物あるいは諸臓器のホモジネートなどによつて抗菌活性が低下する場合のあることが報告されている<sup>9)</sup>。

嫌気性菌には栄養要求のきびしい菌種が多い。したがつて嫌気性菌用の培地は一般に組成が複雑で、血液成分とか諸臓器の抽出物を含んでいるものが多い。また培地の酸化還元電位をさげるために還元剤のシステインとかチオグリコール酸を含んでいる。われわれが通常嫌気性菌に対する抗生物質の MIC の測定に用いている GAM 寒天は 0.03% のシステインとチオグリコール酸ナトリ

Table 8. Reduction of antibacterial activity of panazon for anaerobes by cysteine

Species	Brain Heart Infusion Agar (BBL)				GAM agar
	Cysteine HCl (%)				
	0	0.025	0.05	0.1	0.03 (0.03) ※
<i>B. fragilis</i> ss <i>ovatus</i> (Ju-6-1)	0.39 #	1.56	1.56	3.125	6.25
<i>F. necrophorum</i> (W-12)	0.025	0.195	0.195	0.78	0.78
<i>L. buccalis</i> (ATCC 14201)	0.049	0.049	0.195	0.78	0.39
<i>P. acnes</i> (P-15)	1.56	6.25	25	50	6.25
<i>Bi. adolescentis</i> (ATCC 15705)	3.125	12.5	12.5	12.5	25

Note: # MIC, ※ Sodium thioglycolate

Table 9. Inhibition rate of cysteine on antibacterial activity of panfuran S for anaerobes

Cysteine HCl (%)	Reduction rate of antibacterial activity									
	1 ※	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	< 1/256
0.025	6 #	5	5	4	1		1	1	1	
0.05		6	4	7	2	1	1		1	2
0.1			3	4	5	5	3			4

Note: ※ MIC of brain heart infusion agar (BBL) is unit.  
# Number of strains

Table 10. Reduction of antibacterial activity of panfuran S for *Clostridium* by cysteine

Species	Brain Heart Infusion Agar (BBL)				GAM agar
	Cysteine HCl (%)				
	0	0.025	0.05	0.1	0.03 (0.03) ※
<i>C. sordellii</i> 11	0.098 #	0.78	6.25	50	25
<i>C. histolyticum</i>	0.049	3.125	12.5	25	25
<i>C. sporogenes</i>	<0.0063	1.56	6.25	12.5	12.5
<i>C. botulinum</i> (type A)	<0.0063	0.78	6.25	6.25	3.125
<i>C. novyi</i> (type A)	<0.0063	<0.0063	0.0125	0.0125	< 0.049

Note: # MIC, ※ Sodium thioglycolate

ウムを含んでいる。

この GAM 寒天での MIC は 0.05~0.1% シスチン加 Brain Heart Infusion Agar (BHIA) での MIC に等しい場合が多かった (Table 8, 10)。この結果から、BHIA に比べて GAM 寒天での MIC が高い主原因は培地中の SH 系化合物の存在にあることが推定される。

われわれは BHIA を基礎培地として、シスチンによる抗菌活性の阻害の有無を検討した。シスチン濃度が 0.025, 0.05, 0.1% と増加すると抗菌活性は平均して 1/4, 1/8, 1/16 と低下した。しかし、この抗菌活性の低下の程度は菌株によつてかなり異なつた。とくにパンフラン S でシスチンが 0.1% になつた場合、抗菌活性

の低下幅は 1/4~1/2048 とひじょうに異なつた (Table 9, 10)。

また嫌気性菌用培地に含まれている SH 系化合物の種類と量は培地によつて異なることが多い。したがつて適当に嫌気性菌用培地を選んでこれらニトロフラン系薬剤の MIC を求めることは結果のパラツキと悪い再現性の原因となるであろう。したがつて SH 系化合物無添加でも被検嫌気性菌が充分増殖しうるような培地, 例えば BHIA あるいは Brain Liver Heart Agar (Difco) のような培地が適当であろう。

Table 1~6 に示したパナゾンとパンフラン S の MIC は, 上述の理由から, Brain Liver Heart Agar (Difco) によつて測定したものである。これら両薬剤の多くの被検嫌気性菌に対する MIC は 1  $\mu$ g/ml 以下であつた。試験管内においてひじょうに優れた抗菌活性を有することが明らかとなつた。

#### ま と め

富山化学研究部で開発されたニトロフラン誘導体, パンフラン S とパナゾンの嫌気性菌に対する抗菌活性を検討した結果, ほとんどの被検菌に対する MIC が 1  $\mu$ g/ml 以下であつた。両薬剤が試験管内において嫌気性菌に対してひじょうに強い抗菌活性を有することが明らかとなつた。なお MIC の再現性ある結果を得るためには, SH 基を有する化合物未添加の培地を用いるべきである。なぜなら, これら抗生物質の抗菌活性が SH 基を有する化合物によつて阻害を受けるからである。

#### 文 献

- 1) 平井正義: 化学療法剤の化学構造と抗菌性並に臓器親和性に関する研究。日医大誌 19: 1039~1052, 1952
- 2) 木村義民, 甲斐原守夫, 吉田耕作, 新井義夫, 高橋昌巳, 宮永嘉隆: 1, 2, 4 Triazine 核を有する新規ニトロフラン誘導体に関する基礎的研究 (第 1 報)。Chemotherapy 10: 68~74, 1962
- 3) 木村義民, 甲斐原守夫, 吉田耕作, 新井義夫, 高橋昌巳, 栗山一夫, 宮永嘉隆: 1, 2, 4 Triazine 核を有する新規ニトロフラン誘導体に関する基礎的研究 (第 2 報)。Chemotherapy 11: 238~246, 1963
- 4) HOLDEMAN, L. V. & W. E. C. MOORE: Anaerobe Laboratory Manual. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, 1972
- 5) 牛嶋 彊, 谷 悦子, 上野一恵, 鈴木祥一郎: *Bifidobacterium* の分類同定の鍵。医学と生物学 88: 1974 (印刷中)
- 6) 牛嶋 彊, 谷 悦子, 鈴木祥一郎: グルコースを醗酵する嫌気性球菌の同定の鍵。医学と生物学 87: 217~222, 1973
- 7) 牛嶋 彊, 谷 悦子, 鈴木祥一郎: グルコースを醗酵しない嫌気性球菌の同定の鍵。医学と生物学 87: 223~225, 1973
- 8) 上野一恵: 国産 Steel-wool 法による嫌気性培養の実際。メディアサークル No. 57: 1~7, 1964
- 9) 抗生物質感受性試験国際的協同研究の報告。医薬の門 10: 257~287, 1972

## STUDIES ON ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF TWO NITROFURAN DERIVATIVES, PANAZON AND PANFURAN S FOR ANAEROBES

Tsutomu Ushijima, Kazue Ueno and Shoichiro Suzuki  
Department of Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Minimum inhibitory concentrations (MIC) of two nitrofurane derivatives, panazon and panfuran S for 100 strains including 76 species of anaerobes, were examined by plate dilution method. Growth of almost all of anaerobes tested were inhibited by concentration less than 1  $\mu$ g/ml of both antibiotics. This results thus indicate that the antibiotics have excellent *in vitro* antibacterial activities for anaerobes.

The presence of SH-compounds in the medium caused various degrees of reduction of antibacterial activities of the antibiotics. For reproducibility of MIC of the antibiotics it is preferable to use medium supplemented with no SH-compounds such as cysteine.