

Nitrofuran 誘導体の試験管内結核菌 発育阻止作用について

九州大学医学部細菌学教室

戸田忠雄・三淵一二・川田十三夫

(昭和27年6月12日受付)

過去数年間における化学療法剤の発展はめざましいものであつて、一連のサルファ剤の進展は勿論抗結核剤としてのストレプトマイシン・パス・チビオンの登場は今日の結核治療に大きな貢献をもたらしている。

これら化学療法剤発展の中にあつて Nitrofuran 誘導体である Furacine は Dodd & Stillman¹⁾ により抗菌性の大なることが見出された。一方わが国においては Dodd & Stillman とは全く別個に西海枝教授²⁾³⁾⁴⁾ により Furacine 及びその誘導体が合成せられ、木村教授^{一門⁵⁾⁶⁾} によりこれら化合物の抗菌性について詳細なる報告がなされている。

結核菌に対する Nitrofuran 誘導体の作用に関しては Furacine に抗結核性のあるという Dodd⁷⁾; Wolinsky, Wetzel, & Steenken⁸⁾ 等の報告があるが、本邦においては水野⁹⁾; 柳沢・中村¹⁰⁾ 等の報告をみることができる。さらにいささか立場を異にするが、Pope¹¹⁾ は Furfurylalanine についてその抗結核菌作用を検討している。

われわれは西海枝教授より分与された Nitrofuran 誘導体9種、すなわち 5-Nitrofuryleacrylyl methylalcohol, 5-Nitrofuryleacrolein 誘導体の6種と 5-Nitrofurfral 誘導体2種につき主として人型結核菌に対する菌発育阻止作用を検討し、併せてブドウ球菌、大腸菌及び緑膿菌に対する抗菌作用をも検討した。なおこれに加ふるに Pyridine 誘導体3種についても検討したので報告する。

実験方法

Nitrofuran 誘導体並びに二、三 pyridine 誘導体の試験管内抗菌作用

化合物	接 種 菌		人 型 結 核 菌 (青山B株)	ブドウ球菌 (209P)	大腸菌 (E. coli communis)	緑膿菌
	培	養				
	3 週間	4 週間	24 時間	24 時間	24 時間	24 時間
No.1 <chem>O=C(O)C=C1OC(=O)C1[N+](=O)[O-]</chem>	40,000	40,000	40,000	200,000	<10,000	<10,000
No.2 <chem>O=C(O)C=C1OC(=O)C1[N+](=O)[O-]</chem>	10,000	<10,000	<10,000	<10,000	<10,000	<10,000

1. 結核菌に対する試験管内発育阻止試験

薬剤の結核菌発育阻止作用を調べるためにはKirchner 培地 (PH 6.8~7.0) を用いた。薬剤は予め Kirchner 培地に一万倍溶液となるように溶解したが、Nitrofuran 誘導体は一般に難溶性のため加温 (50~60°C) し溶解をたすけた。しかる後薬剤溶液は加熱滅菌を行わず Seitz 細菌濾過器を以て濾過滅菌を行い、これを薬剤の基礎溶液とし Kirchner 培地を以て稀釈し抗菌試験を実施した。なお培地は各試験管に 5cc 宛分注した。

接種菌は人型結核菌青山B株で、Santon 培地3週間培養を型の如くメノ-乳鉢にて菌浮游液を調製し、各試験管に結核菌 10⁻³ mg 宛接種した。接種後試験管の綿栓はパラフィニ-レンして培地の蒸散を防止し、37°C 3週乃至4週間培養して使用薬剤の抗菌性を判定した。

2. 結核菌以外の細菌に対する発育阻止試験

結核菌以外に薬剤の抗菌性を検討する為球菌としてブドウ球菌 (209P株)、桿菌として大腸菌 (B. coli communis) 及び緑膿菌の3種を使用した。

培地は PH 7.0 のブイオンを用い、この場合も前同様に予め薬剤をブイオンに一万倍に溶解せしめ、加熱滅菌することなく Seitz 濾過により滅菌をほどこし、これをもととして稀釈した。なお培地は各試験管に 5cc 宛分注した。接種菌は 18 時間培養菌の一金耳を生塩水 1cc に浮游せしめ、さらにこれを 100 倍稀釈した菌浮游液の一滴を各試験管に滴下し、37°C 24 時間培養後その薬剤の効果を調べた。

No. 3		80,000	40,000	80,000	80,000	<10,000
No. 4		10,000	10,000	<10,000	<10,000	<10,000
No. 5		<10,000	<10,000	<10,000	<10,000	<10,000
No. 6		80,000	40,000	40,000	10,000	<10,000
No. 7		<10,000	<10,000	200,000	100,000	<10,000
No. 8		<10,000	<10,000	<10,000	<10,000	<10,000
No. 9		—	—	—	—	—
No. 10		<10,000	<10,000	<10,000	<10,000	<10,000
No. 11		10,000	10,000	<10,000	<10,000	<10,000
No. 12		<10,000	<10,000	<10,000	<10,000	<10,000
Streptomycin (Squibb's)		1600,000	800,000	—	—	—

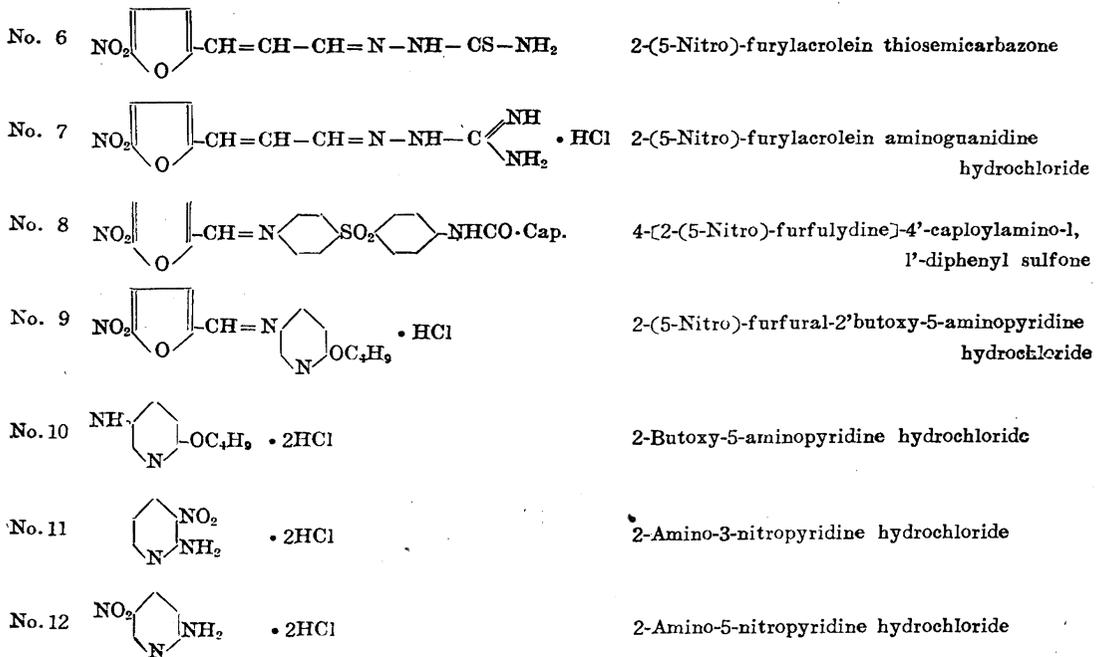
註： 数値は稀釈倍数を示す

結核菌には Kirchner 培地を使用し、ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌についてはピオン培地を使用した

実験結果

この実験に供した化合物は以下の如きものである。

No. 1		2-(5-Nitro)-furylacrylyl methylalcohol
No. 2		2-(5-Nitro)-furylacrolein
No. 3		2-(5-Nitro)-furylacrolein semicarbazone (Parafuracine)
No. 4		2-(5-Nitro)-furylacrolein 4'-phenylsemicarbazone
No. 5		2-(5-Nitro)-furylacrolein 4'-phenethylsemicarbazone



以上12種の薬剤についての結核菌並びにブドウ球菌・大腸菌・緑膿菌に対する試験管内発育阻止作用は表に示す如くである。

Nitrofuran 誘導体は結核菌に対してやや認むべき効力を有し Nitrofurylacrylyl methylalcohol (No. 1) は4万倍の発育阻止を示し, Parafuracine (No. 3) 及び Nitrofurylacrolein thiosemicarbazone (No. 6) は4~8万倍の阻止力を示した。この内 No. 1 は Furacine や Parafuracine とその構造を異にし分子内に semicarbazone を有しないが, Parafuracine と同程度に結核菌発育阻止作用を有し, 且つブドウ球菌・大腸菌に対して Parafuracine 以上の抗菌性を認めたことは興味深いことである。しかし乍ら Aldehyde である Nitrofurylacrolein (No. 2) の型においては抗菌性はすべて著しく低下してきた。

No. 3 (Parafuracine) と No. 6 (Thiosemicarbazone 化合物) について考察してみると, 一方は semicarbazone 化合物で他方は thiosemicarbazone であり実験前われわれは No. 6 にいささか期待をかけていたのであるが, TB1 その他の誘導体にもみるが如き特に強い結核菌発育阻止作用は認められなかつた。しかし乍ら No. 6 はブドウ球菌及び大腸菌に対する抗菌性が No. 3 よりはるかに低下してくることより, thiosemicarbazone 附加は結核菌発育阻止作用に特異性を与えているのではないかと考えられた。

Nitrofurylacrolein aminoguanidine (No. 7) については分子内に guanidine 基を有する点より No. 6 の thiosemicarbazone 化合物と同様に興味を引くものであ

つたが, ブドウ球菌・大腸菌には強く作用し10~20万倍の発育阻止を示したにもかかわらず, 結核菌には認むべき作用はみられなかつた。

Nitrofuran 誘導体中 phenyl 基を附加された No. 4 及び5は, その phenyl 基及び phenethyl 基の存在でかえつて結核菌発育阻止のみならずブドウ球菌・大腸菌の発育阻止作用も低下してくるのを認めた。これは phenyl 基の附加で薬剤の溶解性の低下をきたす為ではないかと考えられる。さらに caproyl 及び diphenylsulfon 基を共有する No. 8 の化合物はその化学構造上結核菌発育阻止作用について考察されるべき化合物であるが, この化合物は著しく難溶性であるためか殆んど認むべき抗菌性はなかつた。

Butoxypyridine を附加された No. 9 は, butoxy 基を結合せしめ抗結核剤を作らんとする二, 三の試み¹²⁾ や Feinstein¹³⁾; Friedman¹⁴⁾ 等の pyridine 誘導体の抗結核作用についての報告より考察に値するものであつたが, 水に殆んど不溶性のため実験に供されなかつた。

なお pyridine に関して No. 10, 11 及び12の化合物について実験を試みたが, われわれは Butoxy-aminopyridine (No. 10) に殆んど結核菌発育阻止作用を認めなかつた。しかし Pyridine の2,3-置換体と2,5-置換体を比較して前者の方がやや抗菌力が強いようであつた。

以上 Nitrofuran 誘導体の結核菌発育阻止作用を通覧してみると側鎖に thiosemicarbazone, guanidine を附加することにより特に強力なる結核菌発育阻止作用を期

待することはできなかつた。しかし乍ら thiosemicarbazone 附加の場合はブドウ球菌、大腸菌に対する抗菌力は低下するが、結核菌の発育阻止作用には低下をみたないのであつて、このことは thiosemicarbazone には結核菌発育阻止作用に特異性を与える性状があるのではないかと考えられた。

一方側鎖に semicarbazone 等をもたない 5-Nitro-furylacrylyl-methylalcohol (No. 1) においては Parafuracine より強い大腸菌発育阻止作用を有し、結核菌には同程度の抗菌性を認めうる点より Nitrofurane 誘導体の抗菌作用の中心点は Nitrofurane 環そのものにあるといふ Dodd¹⁵⁾ 等の考えをうなづかしめるものがあつた。

むすび

Nitrofurane 誘導体 9 種並びに Pyridine 誘導体 3 種について、その結核菌発育阻止作用を検討したが、2-(5-nitro)-furylacrolein semicarbazone (Parafuracine) (No. 3) と 2-(5-Nitro)-furylacrolein thiosemicarbazone (No. 6) はほぼ同様に 4~8 万倍の発育阻止作用を有し thiosemicarbazone 附加により特に強い結核菌発育阻止作用は認められなかつた。しかし乍ら thiosemicarbazone を有する場合はブドウ球菌、大腸菌への抗菌力は低下するが結核菌にはよく作用するところより、thiosemicarbazone は結核菌に特異的に作用する性状をもつもののように考えられた。2-(5-nitro)-furylacrolein aminoguanidine (No. 7) は guanidine 基の附加で返つて結核菌発育阻止力が低下していた。

2-(5-Nitro)-furylacrylyl methylalcohol (No. 1) は Furacine や Parafuracine の如く semicarbazone をもたないが結核菌発育阻止作用並びにブドウ球菌、大腸菌に抗菌性を劣らず保有しているのであつて、このことは Nitrofurane 誘導体の作用機転が Nitrofurane 核そのものに由来すると考えられた。しかし乍ら Aldehyde のかたちである Furylacrolein (No. 2) では抗菌性は低下する。

Nitrofurane 誘導体中 phenyl (No. 4), phenethyl (No. 5) diphenylsulfone (No. 8), butoxy-pyridine (No. 9) 等を附加したものは結核菌にも他の菌にも認むべき作用がなく、返つて抗菌性は低下してくる。

二、三の Pyridine 化合物すなわち Butoxyamino-pyridine (No. 10), Nitro-aminopyridine (No. 11, 12) では結核菌にも、ブドウ球菌、大腸菌にも認むべき抗菌作用はみられなかつた。

本実験をするにあたり試料を分与して頂き、なお Nitrofurane 化合物につき種々御教示下された九大医学部薬学科西海枝教授に満腔の謝意を表します。

文 献

- 1) Dodd, M.C., Stillman, W.B.: *J. Pharmacol.*, 82, 10, 1944.
- 2) 西海枝東雄: 薬学研究, 20(2), 24, 1948.
- 3) 高橋西蔵・西海枝東雄・佐々木正・木村隆一・鈴木桂三・森谷榮治・吉名重多賀・水野長太郎: 薬学雑誌, 68, 42, 1948; 69, 284, 1949; 69, 286, 1949; 69, 289, 1949.
- 4) 西海枝東雄・藤田進・森博直・木村隆一: 薬学研究, 22, 258, 1950.
- 5) 木村廉・東昇・五井次郎・高橋西蔵・西海枝東雄: *J. Antibiotics*, 2, 62, 1948; 日本細菌学雑誌, 3, 133, 1948.
- 6) 生垣賢: 薬学研究, 22, 148, 1950; 22, 294, 1950; 抗菌物質研究, 2, 442, 1949; 3, 15, 1950.
- 7) Dodd, M.C.: *J. Pharmacol.*, 86, 311, 1946.
- 8) Wolinsky, E., Wetzel, V., Steenken, W.Jr.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 70, 483, 1949.
- 9) 水野伝二: 日本細菌学雑誌, 4, 93, 1949.
- 10) 柳沢文徳・中村久敬: 総合医学, 7, 833, 1950.
- 11) Pope, H.: *J. Bact.*, 223, 58, 1949.
- 12) Freedlander, B.L., French, F.A.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 66, 362, 1947.
- 13) Feinstone, W.H.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 63, 153, 1946.
- 14) Friedman, H.L. et: *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 1795, 1947.
- 15) Carmer, D.L., Dodd, M.C.: *J. bact.*, 51, 1946.