

スルホン酸誘導体の結核菌に対する発育阻止作用

徳島大学医学部細菌学教室 (主任 吉田長之)

吉田長之・淡河 宏

(受付 昭和 29 年 12 月 28 日)

緒 言

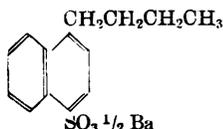
種々の脂肪属および芳香属の親脂性長鎖状あるいは環状原子団を有するスルホン酸が油脂分解能を有し、強力なエステラーゼ作用を有する酵素模型である事¹⁾は今日一般に認められている。さきに本教室では、この誘導体の溶血作用²⁾および一般細菌に対する抗菌性³⁾について報告したが、今度はこの誘導体を多量のリポイドを含有する結核菌⁴⁾に作用させ、その発育におよぼす影響を Slide Cell Culture 法⁵⁾ (S.C.C.法) および Slide Culture 法 (S.C.法) を用いて実験した結果を報告する。

第1章 実験方法

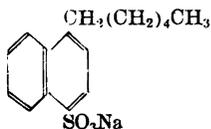
I. 供試スルホン酸誘導体

(A) ナフタリン系

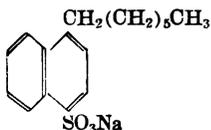
- (1) α -*n*-butyl naphthalin sulfonic acid
Ba. salt.



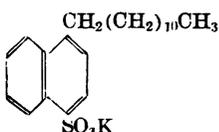
- (2) α -*n*-hexyl naphthalin sulfonic acid
Na. Salt.



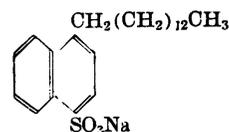
- (3) α -*n*-heptyl naphthalin sulfonic acid
Na. salt.



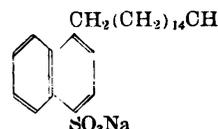
- (4) α -*n*-dodecyl naphthalin sulfonic acid
K. salt.



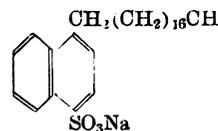
- (5) α -*n*-tetradecyl naphthalin sulfonic acid
Na. salt.



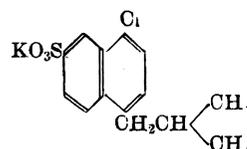
- (6) α -*n*-cetyl naphthalin sulfonic acid
Na. salt.



- (7) α -*n*-octadecyl naphthalin sulfonic acid
Na. salt.

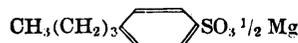


- (8) Monochlor monoisobutyl naphthalin sulfonic acid
K. salt.

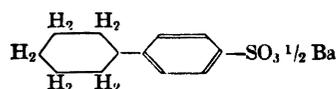


(B) ベンゼン系

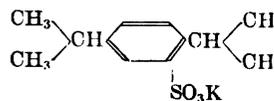
- (9) Butyl benzen sulfonic acid Mg. salt



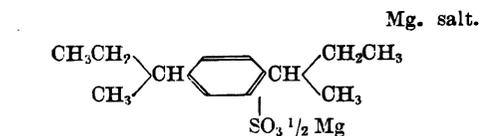
- (10) Cyclohexyl benzen sulfonic acid
Ba. salt.



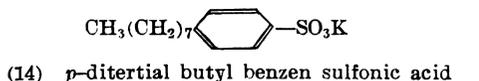
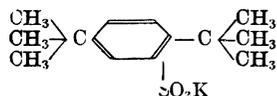
- (11) 1-4-diisopropyl benzen sulfonic acid
K. salt.



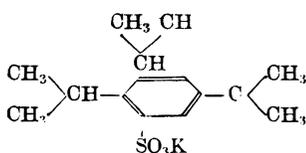
- (12) Di-secondary butyl benzen sulfonic acid



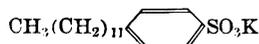
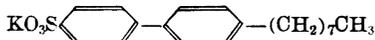
(13) Octyl benzen sulfonic acid K. salt.

(14) *p*-ditertial butyl benzen sulfonic acid K. salt.

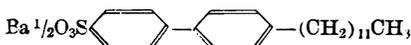
(15) 1-2-4-triisopropyl benzen sulfonic acid K. salt.



(16) Lauryl benzen sulfonic acid K. salt.

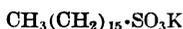
(C) *o*-フェニール系(17) *p*-octyl diphenyl sulfonic acid K. salt.

(18) Dodecyl diphenyl sulfonic acid Ba. salt.



(D) 脂肪属

(19) Cetyl sulfonic acid K. salt.



II 供試菌

岡・片倉培地およびソートン培地上で5週間培養した人型結核菌F株, BCG伝研株, 牛型結核菌牛₂株, 鳥型結核菌A 62株を用いた。S.C.C.法にかぎりソートン培養菌を用いた。

III 実験操作

(A) S.C.C.法の場合

(1) 菌液

ソートン培地で5週間培養した人型結核菌F株の菌膜を採取, 濾紙をもつて, 水分除去, 秤量, これを瑪瑙乳鉢で滅菌生理的食塩水を滴下しながら単個菌になる迄研磨し, その1cc中に10mgを含有する菌浮遊液を調製, 3000回転, 5分間, 遠心沈澱し, その上清液を用いた。

(2) スルフォン酸液

スルフォン酸を蒸留水に溶かして50倍溶液を作り, これを10倍希釈して500万倍迄の溶液を作り, 100°C

30分, 3回滅菌する。

(3) 培養につかう載物硝子をクローム硫酸に投入し, 24時間放置後, 充分水洗乾燥, 次いで純アルコールに浸し, 数時間後水洗乾燥し, 脱脂ガーゼで清拭, その2枚を1組となし, その一方の載物硝子の左右両端に近く薄い紙片を糊付けし, その上に他の載物硝子を乗せる。この2枚を組とした載物硝子を乾燥滅菌しておく。次にスルフォン酸各溶液0.1ccおよび菌液0.1ccを混和し, それに健康海狸の心臓穿刺により採血した血液を直ちにそれぞれ8cc宛混合し, 滅菌小注射筒で数回吸引圧出を繰返して十分に混合し, この1滴宛を前記の紙片を貼付した方の載物硝子上に滴下し, 直ちに他方の載物硝子で覆い, 周囲をパラフィンで密封, 37°Cの孵卵器内で培養し, 1週間目に取り出し, 薄刃の刀を載物硝子間に挿入して徐々に分離し, 凝固血液膜の附着した方の載物硝子をあらかじめ, 氷醋酸数滴を滴下してある水中に浸し, 赤血球が溶出して膜面が灰白色となれば, これを10%フォルマリン水で固定, 周囲に附着したパラフィンを除去し, 水洗, 乾燥, チールネルゼン氏法で染色して鏡検。

(B) S.C.法の場合

(1) 菌液

岡・片倉培地で5週間培養した人型結核菌F株, BCG伝研株, 牛型結核菌牛₂株, 及び2週間培養した鳥型結核菌A 62株の4種類を前述のS.C.C.法の時と同様な操作で生理的食塩水1cc中に2mgを含有する菌液を調製, 3000回転, 5分間, 遠心沈澱し, その上清液を用いた。

(2) スルフォン酸液

S.C.C.法の時と同様にして50倍から500万倍迄の溶液を作つた。

(3) 充分に脱脂, 乾燥滅菌した小載物硝子の中央に直径5mm大に卵白を薄く塗り(1白金耳), 孵卵器内で少しく乾燥させ, その上に菌液を1白金耳滴下して孵卵器内で約5時間乾燥させ, これをそれぞれ, キルヒナー培地(牛血清を10%の割に加えた)9.5ccとスルフォン酸溶液0.5ccを混じた大試験管中に浸して培養する。

なお以上の操作は嚴重に無菌的に行つた。そして, 1週間目に取り出し(トリA 62株は5日目), 乾燥, 10%フォルマリン液で固定, ケールネルゼン法で染色して鏡検。

第2章 実験成績

初めの単個菌から發育した集落中の菌の数によつて判定した。

(1) 人F株に対する作用

表1のように, ナフタリン核を有するもの8種類のう

表 1 人Fに対する抗菌作用

	スルフォン酸誘導体名	Cの数	塩	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	対
1	α -n-butyl naphthalin S. A.	4	Ba	-	-	+	±	+	±	++
2	α -n-hexyl naphthalin S. A.	6	Na	-	-	++	++	++	++	++
3	α -n-heptyl naphthalin S. A.	7	Na	-	++	++	+	+	++	++
4	α -n-dodecyl naphthalin S. A.	12	K	-	-	±	±	±	+	++
5	α -n-tetradecyl naphthalin S. A.	14	Na	-	-	++	++	++	++	++
6	α -n-cetyl naphthalin S. A.	16	Na	±	++	++	++	++	++	++
7	α -n-octadecyl naphthalin S. A.	18	Na	+	++	++	++	++	++	++
8	Monochlor monoisobutyl naphthalin S. A.	4	K	-	-	++	++	++	++	++
9	Butyl benzen S. A.	4	Mg	+	++	++	++	++	++	++
10	Cyclohexyl benzen S. A.	6	Ba	-	++	++	++	++	++	++
11	1-4-diisopropyl benzen S. A.	6	K	++	++	++	++	++	++	++
12	Di-secondary butyl benzen S. A.	8	Mg	++	++	++	++	++	++	++
13	Octyl benzen S. A.	8	K	+	+	++	++	++	++	++
14	p-ditertial butyl benzen S. A.	8	K	±	++	++	++	++	++	++
15	1-2-4-triisopropyl benzen S. A.	9	K	++	++	++	++	++	++	++
16	Lauryl benzen S. A.	12	K	++	++	++	++	++	++	++
17	p-octyl diphenyl S. A.	8	K	++	++	++	++	++	++	++
18	Dodecyl diphenyl S. A.	12	Ba	++	++	++	++	++	++	++
19	Cetyl S. A.	16	K	++	++	++	++	++	++	++

各スルフォン酸の発育阻止成績のうち、上段は S. C. C. 法の成績、下段は S. C. 法の成績である。

- 完全発育阻止、菌数 1~3 個、± 不完全発育阻止、菌数 4~9 個、+ 僅かに発育阻止、菌数 10~20 個、++ 全然阻止せず、菌数 21~50 個。

ち、 α -n-butyl naphthalin sulfonic acid および α -n-dodecyl naphthalin sulfonic acid が 1 億倍迄発育阻止を示し、 α -n-heptyl naphthalin sulfonic acid は S. C. C. 法では 1 千倍迄発育を阻止し 1 万倍から阻止力がなくなり、百万倍および 1 千万倍で再び発育阻止を示した。また S. C. 法では 10 万倍迄発育を阻止し、1 千万倍および 1 億倍で再び僅かに発育を阻止した。 α -n-tetradecyl naphthalin sulfonic acid は S. C. 法で百万倍迄発育を阻止した。その他のものも大体 1 千倍から 1 万倍程度の発育阻止を示した。ベンゼン核を有するものは阻止力弱く、1 万倍迄発育阻止を示すものは、Octyl benzen sulfonic acid だけであり、その他では Cyclohexyl benzen sulfonic acid および p-ditertial butyl benzen sulfonic acid が 1 千倍迄阻止した。チフェニール系のおよび脂肪族のものは全部発育阻止力を示さなかつた。奥村のスルフォン酸の油脂分解能¹⁾と、谷のスルフォン酸誘導体の溶血能とは大体比例して

いるが、人F株に対する発育阻止力とこれらの間にははつきりした比例関係は認められなかつた。また各スルフォン酸誘導体の炭素数と人F株に対する発育阻止力との間にも明瞭な関係は認められなかつた。S. C. C. 法による実験成績と S. C. 法による実験成績を比較すると、大体似通つた結果を得たが、成績判定の場合、S. C. 法の方が操作に便利なように思われる。

(2) BCG伝研株に対する作用

表2のように、ナフタリン核を有するもの5種類のうち、 α -n-butyl naphthalin sulfonic acid が百万倍迄発育を阻止し、1 千万倍でも僅かに阻止力を示し、 α -n-dodecyl sulfonic acid が百万倍迄、 α -n-hexyl sulfonic acid が 1 千倍迄阻止し、他の 2 種類は発育阻止を示さなかつた。また、ベンゼン核を有するもの4種類およびチフェニール 1 種類はすべて発育阻止を示さなかつた。BCG伝研株の場合にも発育阻止力とスルフォン酸の油脂分解能および溶血能との間に比例関係を認める事が出

表 2 BCG 伝研に対する抗菌作用

	スルホン酸誘導体名	C の数	塩	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	対
1	α -n-butyl naphthalin S. A.	4	Ba	-	-	±	±	+	++	++
2	α -n-hexyl naphthalin S. A.	6	Na	±	++	++	++	++	++	++
3	α -n-heptyl naphthalin S. A.	7	Na	++	++	++	++	++	++	++
4	α -n-dodecyl naphthalin S. A.	12	K	-	-	-	±	++	++	++
5	α -n-cetyl naphthalin S. A.	16	Na	++	++	++	++	++	++	++
6	Cyclo hexyl benzen S. A.	6	Ba	++	++	++	++	++	++	++
7	1-4-diisopropyl benzen S. A.	6	K	++	++	++	++	++	++	++
8	Di-secondary butyl benzen S. A.	8	Mg	++	++	++	++	++	++	++
9	p-ditertial butyl benzen S. A.	8	K	++	++	++	++	++	++	++
10	p-octyl diphenyl S. A.	8	K	++	++	++	++	++	++	++

- 完全発育阻止, 菌数 1~3 個, ± 不完全発育阻止, 菌数 4~6 個, + 僅かに発育阻止, 菌数 7~10 個,
++ 全然阻止せず, 菌数 11~20 個

来ず, また炭素数と阻止力との間にも明瞭な関係は認められなかつた。

(3) 牛₂株に対する作用

表 3 のように, ナフタリン系 5 種類のうちでは, Monochlor monoisobutyl naphthalin sulfonic acid および α -n-heptyl naphthalin sulfonic acid が 10 万倍

迄発育を阻止し, 他の 3 種類は発育阻止を示さなかつた。また, ベンゼン系 5 種類のうちでは, 1-2-4-triisopropyl benzen sulfonic acid が 1 万倍迄, Cyclohexyl benzen sulfonic acid が 1 千倍迄発育を阻止し, 他の 3 種類は阻止力を示さなかつた。又 p-octyl diphenyl sulfonic acid は 1 千倍迄阻止し, Cetyl sulfonic acid

表 3 牛₂に対する抗菌作用

	スルホン酸誘導体名	C の数	塩	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	対
1	Monochlor monoisobutyl naphthalin S. A.	4	K	-	-	+	++	++	++	++
2	α -n-hexyl naphthalin S. A.	6	Na	-	±	++	++	++	++	++
3	α -n-heptyl naphthalin S. A.	7	Na	-	±	±	++	++	++	++
4	α -n-dodecyl naphthalin S. A.	12	K	-	±	+	++	++	++	++
5	α -n-cetyl naphthalin S. A.	16	Na	±	+	++	++	++	++	++
6	Butyl benzen S. A.	4	Mg	++	++	++	++	++	++	++
7	Cyclo hexyl benzen S. A.	6	Ba	±	++	++	++	++	++	++
8	1-4-diisopropyl benzen S. A.	6	K	++	++	++	++	++	++	++
9	p-ditertial butyl benzen S. A.	8	K	++	++	++	++	++	++	++
10	1-2-4-triisopropyl benzen S. A.	9	K	±	+	++	++	++	++	++
11	p-octyl diphenyl S. A.	8	K	+	++	++	++	++	++	++
12	Cetyl S. A.	16	K	++	++	++	++	++	++	++

- 完全発育阻止, 菌数 1~2 個, ± 不完全発育阻止, 菌数 3~5 個, + 僅かに発育阻止, 菌数 6~10 個,
++ 全然阻止せず, 11~20 個

は阻止を示さなかつた。また人 F 株の場合と同様, 牛₂株の場合も油脂分解能, 溶血能とは比例関係なく, 炭素数との間にも関係が認められなかつた。

(4) トリ A 62 株に対する作用

表 4 のように, ナフタリン系 5 種類のうち, α -n-hexyl naphthalin sulfonic acid および α -n-dodecyl naphthalin sulfonic acid が 1 万倍迄発育阻止を示し, Monochlor naphthalin sulfonic acid および α -n-heptyl naphthalin sulfonic acid が 1 千倍迄発育を阻止した。ベンゼン系 5 種類のうちでは, Butyl benzen sulfonic acid および Cyclohexyl benzen sulfonic acid が 1 千倍迄発育を阻止した。ジフェニール系 p-octyl

diphenyl sulfonic acid が 1 千倍迄発育を阻止した。脂肪属 1 種類は阻止力を示さなかつた。この場合も他と同様, 油脂分解能, 溶血能, 炭素数との間にも関係が認められなかつた。

結 論

(1) ナフタリン核を有するスルホン酸誘導体のうちには, 人型結核菌および BCG に対して強力な発育阻止作用を示すものがあり, 牛型結核菌および鳥型結核菌に対しても相当発育阻止作用を示すものがある。

(2) ベンゼン核を有するものうちには, 人型結核菌, 牛型および鳥型結核菌に対して或程度の発育阻止作

表 4 トリ A 62 に対する抗菌作用

	スルフォオン酸誘導体名	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	対
1	Monochlor monoisobutyl naphthalin S. A.	±	++	++	++	++	++	++
2	α-n-hexyl naphthalin S. A.	±	+	++	++	++	++	++
3	α-n-heptyl naphthalin S. A.	±	++	++	++	++	++	++
4	α-n-dodecyl naphthalin S. A.	±	+	++	++	++	++	++
5	α-n-cecyl naphthalin S. A.	++	++	++	++	++	++	++
6	Butyl benzen S. A.	±	++	++	++	++	++	++
7	Cyclo hexyl tenzen S. A.	±	++	++	++	++	++	++
8	1-4-diisopropyl benzen S. A.	++	++	++	++	++	++	++
9	p-ditertial butyl benzen S. A.	++	++	++	++	++	++	++
10	1-2-4-triisopropyl benzen S. A.	++	++	++	++	++	++	++
11	p-octyl diphenyl S. A.	+	++	++	++	++	++	++
12	Cetyl S. A.	++	++	++	++	++	++	++

- 完全発育阻止, 菌数 1~3 個, ± 不完全発育阻止, 4~10 個, + 僅かに発育阻止, 菌数 11~30 個,
++ 全然阻止せず, 31 個以上

用を示すものがあるが, BCG に対しては阻止作用を示さなかつた。

(3) チフェニール系のもは, 牛型および鳥型結核菌に対しては軽度の発育阻止作用を示したが, 人型結核菌, BCG に対しては阻止作用を示さなかつた。

(4) 脂肪属のもは各型結核菌に対して発育阻止作用を示さなかつた。

(5) スルフォオン酸誘導体の油脂分解能および溶血能と発育阻止力との間に比例関係は認められなかつた。

(6) スルフォオン酸誘導体の有する炭素の数と発育阻止力との間にも明瞭な関連性は認められなかつた。

稿を終るに臨み御懇篤なる御指導と使用スルフォオン酸誘導体を合成し, 提供された徳島大学工学部奥村教授に深い謝意を表す。なお,

本論文の要旨は昭和 26 年 4 月第 24 回日本細菌学会総会において報告した。

文 献

- 1) 最新化学工業大系: 8; 450~457, 昭 13.
- 2) 谷 . 勇: 医学と生物学, 21; 4, 194~197, 昭 26
- 3) 吉田長之・内輪進一: 四国医学雑誌, 2: 186~189 昭 26.
- 4) 小竹無二雄・赤堀四郎: 有機化学の進歩, 4; 235~218, 昭 16.
- 5) Wright. A. E: Lancet, 1; 365, 417, 472, 1923
- 6) 奥村重雄: 日本化学工業雑誌, 44; 359.
- 7) 奥村重雄: 日本化学工業雑誌, 45; 771, 1070.