ワイル氏病の抗生物質療法に関する実験的研究

III. Chloromycetin の試験管内作用

北岡 正見 井上 裕正 小林 一郎

研究生 堀 田 忠 義
國立予防衛生研究所

[受付: 3 月 22 日, 1951 年]

まえがき

Chloromycetin は 1947 年 *Streptomyces Venezuelae* と名付けられた放線状菌から Parke-Davis 会社の Ehrlich 等及び Yalé 大学の Burkhalter 等¹⁾に依つて分離された一抗生物質である。本剤はわが国でも、米國の学者より僅かに遅れたが、梅沢²⁾に依つて一放線状菌 *Streptomyces pheochromogenes* var *chloromyceticus* から分離された。本抗生物質は Penicillin や Streptomycin について第三番目に治療界に現われたのであるが、一般細菌に対するのみならず、Penicillin や Streptomycin の及ばなかつたリケッチアに対しても卓効のあることは、Aureomycin や Terramycin が未だ発表されて居なかつた当時では驚異的なことであつた。更に本剤に就て特筆すべきことは他の抗生物質が尙不明であるに拘らず本剤が発見後間もなくその化学構造³⁾が明かにされ、また今日では化学的に合成されるに至つたことである。

Chloromycetin に就ては今日迄に数多くの報告がある。本剤はグラム陰性並に陽性の兩種類の菌⁴⁾に作用するのみならず、更に向細胞性のリケッチア⁵⁾にも有効的に作用する。したがつて臨床的には、Penicillin や Streptomycin よりはるかに広い範囲に使用され、腸チフスに対しても有効であることが識られている⁶⁾ (北岡・内山・川島)。

本剤がレプトスピラ (以下「レプ」と略) に対し如何に作用するかに就て Long⁷⁾ は不明であると述べているが、操等¹⁰⁾は臨床的には期待されると報告した。著者等は既に述べたように各抗生物質の「レプ」に及ぼす作用に就て逐次発表¹¹⁾¹²⁾して來た。ここでは Chloromycetin の「レプ」に対する試験管内の作用に就て述べることにする。

Chloromycetin は既知の抗生物質に比し熱や酸 (pH) に対し比較的安定である。このことは試験管内の「レプ」に対し添加した Chloromycetin が如何に作用するかを

追求する上に考慮すべきことである。その理由は後に再び触れるであろうが、既に発表した Aureomycin や Terramycin は 37°C 弱アルカリ性に於て比較的早くその抗菌力を失い、試験管内に於て「レプ」に作用する時間は仮え之等抗生物質を高濃度に加えても高々 48 時間位しかその抗菌性が認められなくなるのに対し、Chloromycetin の抗菌力が比較的安定で残留することになる。

実験方法

1. 使用菌株 Aureomycin 及び Terramycin に使用したと同じく本研究室に保管されているワイルレプトスピラ株である。

2. 使用 Chloromycetin 本所抗菌性物質部に於て 1 錠 250 mg を含有する市販の Chloromycetin 錠剤から精製したもので、pH 6.6 の磷酸緩衝液 1 cc に 1 mg を溶かし、用に應じて所要の濃度に稀釈した。

3. 阻止実験法 Aureomycin 及び Terramycin の阻止実験で述べたと全く同じ方法に準じて行われた。仔細は Aureomycin の報告を参照されたい。

4. Chloromycetin の力價測定法

Chloromycetin の力價測定法として今日迄に報告されたものは極めて多く、重層法¹³⁾、稀釈法¹⁴⁾、カップ法¹⁵⁾等の微生物学的方法から化学的方法¹⁶⁾まで報告されて居る。ここでは本研究室から発表された方法に準じて測定した。その術式は大腸菌を試験細菌とし、鳥居・川上の Penicillin 測定に倣つた重層法¹⁷⁾である。

予備試験

1. Chloromycetin の試験管内に於ける消長

Chloromycetin を單に 10 % 家兔血清加コルトフ氏培

KITAOKA Masami, INOUE Hiromasa, KO-BAYASHI Ichiro, and HOTTA Tadayoshi: The National Institute of Health of Japan.

第1表 クロロマイセチンの10%家兔血清加
コルトフ氏培地内に於ける消長

100 $\mu\text{g/cc}$ の場合			4 $\mu\text{g/cc}$ の場合		
	$\mu\text{g/cc}$	%		$\mu\text{g/cc}$	%
24時間	100	100	24時間	3.84	96
48 "	70	70	48 "	2	50
72 "	45	45	72 "	0.5	12.5
96 "	20	20			

第1圖 クロロマイセチンの10%家兔血清加
コルトフ氏培地内に於ける消長

地内に添加した場合 Chloromycetin は如何なる消長を呈するかをみる必要がある。Chloromycetin を夫々 100 $\mu\text{g/cc}$ 及び 4 $\mu\text{g/cc}$ になる様に血清添加のコルトフ氏培地内に加へ、24 時間毎にその抗菌力を検査した。その成績を要約すれば、既に報告した Aureomycin や Terramycin と異なり、著しく安定であることがわかつた (第1表及び第1図)。即ち高単位 (100 $\mu\text{g/cc}$) では、24 時間ではその力價は殆んど低下せず、48 時間で 70 %, 72 時間で 45 % また 96 時間で漸く 20 % に減退した。低単位 (4 $\mu\text{g/cc}$) でも 24 時間で 96 %, 48 時間で 50 % また 72 時間で漸く 12.5 % にまで減退した。之を要するに Chloromycetin 低単位の抗菌力は高単位のそれに比して早く消失するようであるが比較的安定である。

2. 「レブ」の發育曲線

Chloromycin の「レブ」に対する作用を追求するには、Aureomycin や Terramycin の場合と同じく、「レブ」が如何なる發育過程にあるかを念頭に置くべきである。

第2表 クロロマイセチンを培養と同時に
加えた場合

$\mu\text{g/cc}$	100	20	4	0.8	0.16	0.032	0.0064
24時	0	0~1	0~2	5	10	12	10
2日	0	0	5	10	20	18	18
3日	0	0	10	20	30	30	30
4日	0	0	20	30	35	40	40
7日	0	0	20	30	40	45	45
	0	0	+	+	+	+	+

第3表 クロロマイセチンを24時間後に
加えた場合

$\mu\text{g/cc}$	100	20	4	0.8	0.16	0.032	0.0064
2日	1~3	3~5	10	15	15~20	20	20
3日	1~4	3~5	15	15	30	30	30
4日	2~5	10~12	20	30	30~35	40	40
7日	15	20~25	30	40	40	40~45	40
	+	+	+	+	+	+	+

これに関しては Aureomycin の報告を参照されたい。「レブ」の發育が添加抗生物質によつて阻止されたか否かの判定は累代培養に依つた。

本 試 験

1. Chloromycetin を培養と同時に加えた場合

各濃度の Chloromycetin を Aureomycin や Terramycin の場合と同じく培養と同時に添加した場合即ち、「レブ」が一視野凡そ 4~5 匹認められる誘導期に Chloromycetin を加えると第2表の如くなる。その成績を要約すれば、Chloromycetin の濃度が 0.16 $\mu\text{g/cc}$ 以下では「レブ」は対照と異なる事なく發育し、4~0.8 $\mu\text{g/cc}$ では Chloromycetin の試験管内残留作用のある間は「レブ」は稍々阻止されるが、3 日以後には対照と余り変りなく「レブ」は發育を始めた。20 $\mu\text{g/cc}$ 以上の濃度となると添加後 24 時間以内に尙運動の緩慢な「レブ」が認め得たが、48 時間を経過すれば「レブ」は全く認められなくなりまた累代培養を行つても陰性を示し、Chloromycetin により「レブ」が死滅したものと推定される。

2. Chloromycetin を培養24時間後に加えた場合

培養 24 時間後即ち、「レブ」が發育を始め一視野凡そ 8~12 匹、稀釈培養法では 10^{-3} ~ 10^{-4} の「レブ」の認められる時期に前試験と同じく 100 $\mu\text{g/cc}$ から 0.0064 $\mu\text{g/cc}$ に亘る各濃度の Chloromycetin を添加すれば (第3表)、4 $\mu\text{g/cc}$ 以下の濃度では「レブ」は対照と殆んど変りなく

第4表 クロロマイセチンを48時間後に
加えた場合

$\mu\text{g}/\text{cc}$	100	20	4	0.8	0.16	0.032
3 日	10	10~15	15~20	25	2.5	30
4 日	20	20	30	30	30	40
7 日	30	30	40	40	40	45
	+	+	+	+	+	+

発育し、20 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 以上の濃度では仮え 100 $\mu\text{g}/\text{cc}$ でも Chloromycetin の試験管内残存時間の長短に比例しその時間以内に「レブ」の発育阻止が認められるが結局「レブ」は発育し始めて来た。

3. Chloromycetin を培養48時間後に加えた場合

培養48時間後即ち対数期の後半に当りレブが一視野凡そ20匹、稀釈培養法で 10^{-4} までに発育した時期に前試験と同じく100~0.032 $\mu\text{g}/\text{cc}$ に亘る各濃度の Chloromycetin を添加すれば第4表の如くなる。その成績を要約すれば、この時期に Chloromycetin を加えたのでは仮え 100 $\mu\text{g}/\text{cc}$ ~20 $\mu\text{g}/\text{cc}$ の濃度のそれぞれの試験管内の残存時間に於て幾分「レブ」の発育阻止作用が認められるが、結局対照と殆んど差異なく発育して来た。

考え方、むすび

Chloromycetin が Gram 陽性並に陰性の兩種類の菌に対して有効であるばかりでなく、リケッチアに対しても有効であることは既に述べた。

ここでは今日まで余り識られていなかったことであるが、「レブ」に対しても Chloromycetin が有効であることを試験管内培養によつて明かにした。しかしその「レブ」に対する抗菌作用は、Aureomycin や Terramycin のそれに比して著しく低く「レブ」発育の誘導期に於て 20 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 以上の濃度に於て始めてその発育が阻止され、対数期の初期に至れば仮え 100 $\mu\text{g}/\text{cc}$ の濃度でももはや「レブ」の発育阻止が認められなくなつた。即ち Chloromycetin は「レブ」に対しその発育阻止に作用することは事実であるが、その所要量は他の Aureomycin や Terramycin のそれに比して著しく多量を必要とする欠点がある。尙「レブ」発育阻止に要する Chloromycetin の量は「レブ」の数量のみならず「レブ」の発育各期により異なることは Aureomycin や Terramycin の場合と略々等しい。以上の成績を通覧すれば次の通りである。

1. Chloromycetin を 10% 血清添加コルトフ氏培地に添加し、37°C に放置しても比較的安定で3~4日位を経過しても尙 10~40% に抗菌力が残存していることが

認められた。

2. 「レブ」培養直後誘導期に 0.0064~100 $\mu\text{g}/\text{cc}$ に亘る各濃度の Chloromycetin を添加すれば、20 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 以上の濃度に於て始めて「レブ」の発育が阻止された。

3. 「レブ」培養24時間を経た対数期の初期に至れば 100 $\mu\text{g}/\text{cc}$ の高濃度でも、その試験管内の残存時間に「レブ」に対する幾分の阻止作用が認められるとは云え結局「レブ」が発育し始めた。況んや培養48時間後に Chloromycetin を添加したのでは「レブ」に対する発育阻止作用は全く認められなかつた。

4. 「レブ」発育阻止に要する Chloromycetin の量は「レブ」の量のみならず、その質即ちどの発育過程に属するかに依るものと思われる。即ち誘導期の「レブ」は Chloromycetin に対し最も感受性が強いように思われる。(本研究は文部省科学研究費によつた)

文 献

- 1) Ehrlich, J., Bartz, Q. R., Joslyn, D. A., and Burkholder, P. R.: Chloromycetin new antibiotic from soil actinomycetes, Science, 106, 417, 1947.
- 2) 梅沢浜夫外4名: Isolation of crystalline antibiotic substance from a strain of streptomycetes and its identity with chloromycetin, Jap. Med. Jour., 1, 358~363, 1948.
- 3) Rebstock, M. C., Crooks, H. M. Jr., Controulis, J., and Bartz, Q. R. Chloramphenicol (Chloromycetin): Synthesis. J. Am. Chem. Soc., 71, 2463~2468, 1949.
- 4) Smith, R. M., Joslyn, D. A., Gruzhit, C. M., McLean, I. W., Penner, M. A., and Ehrlich, J.: Chloromycetin. Biological studies, J. Bact. 55, 425~445, 1948.
- 5) 梅沢浜夫, 金成彦一: Chloromycetin の分子式及び細菌発育阻止作用に就いて, J. antibiotics, 2, 797~803, 1948.
- 6) Smadel, J. E., and Jackson, E. B.: Chloromycetin, antibiotic with chemotherapeutic activity in experimental rickettsial and viral infections, Science, 106, 418, 1948.
- 7) Woodward, T. E., Smadel, J. E., and Ley, H. L. Jr.: Chloromycetin and other antibiotics in treatment of typhoid fever and typhoid carries, J. Clin. Invest., 29, 87~99, 1950.
- 8) Knight, V.: Clinical evaluation of Aureomycin, Chloramphenicol and terramycin, N. T. State. J. Med., 50, 2173~2181, 1950.
- 9) Long, P. H., Chandler, C. A., Bliss, E. A., Bryer, M. S. and Schoenbach, E. B.: The use of antibiotics, J. A. M. A. 141, 315, 1949.
- 10) 操坦道外: 黄疸出血性レプトスピラ病の化学療

- 法。臨床と研究, 27, 822~826, 1950.
- 11) 北岡正見, 外3名: ワイル氏病の抗生物質療法に関する実験的研究. I. Aureomycin の試験管内作用. 細菌学雑誌 6 卷 5 号掲載予定.
 - 12) 北岡正見外3名: ワイル氏病の抗生物質療法に関する実験的研究. II. Terramycin の試験管内作用. 細菌学雑誌 6 卷 5 号掲載予定.
 - 13) 多田勉, 川上保雄, 鳥居敏雄: 重層法に依る Chloromycetin の定量に就いて. J. antibiotics, 3, 782~785, 1950.
 - 14) Werner, C. A., Knight, V., & McDermott, W.: Absorption and excretion of terramycin in humans, comparison with aureomycin and chloramphenicol, Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 74, 261~267, 1950.
 - 15) 宮村定男, 金沢裕: カップ法に依るクロロマイセチンの検定に就いて. 第42回ペニシリン研究会, 昭和25年5月.
 - 16) クロロマイセチン: 医学のあゆみ, 10, 257~268, 1950(抄訳).
 - 17) 北岡正見, 実戸亮: 重層法によるクロロマイセチンの血中濃度測定について. 総合医学, 7, 75~77, 1950.
-