不飽和七員環化合物の実験的及び臨床的研究
第32報 β -Dorablin の抗菌力及び抗菌力に
及ぼす血清並びに金属イオンの影響

新潟大学医学部桂内科教室（主任 桂 重鴻教授）

山 作 房 之 輔

EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON UNSATURATED
SEVEN-MEMBERED RING COMPOUNDS
32TH REPORT: BACTERIOSTATIC ACTION OF β -DORABLIN
AND THE INFLUENCE OF SERUM AND METAL IONS

BY

Fusanosuke Yamasaku

Department of Internal Medicine, Niigata University

School of Medicine, Niigata

(Prof.: Shigehiro Katsura)

梗概 青森産「ひば」精油中に Hinokitiol と共に含有され最近新たに分離精製せられた β -Dorablin の抗菌力並びにその抗菌力に及ぼす血清、金属イオンの影響について Hinokitiol と比較検討した。 β -Dorablin の最小発育阻止濃度は一般好気性菌18株に対しては7.81~1000mcg/mlで、結核菌に対しては125mcg/mlで、その抗菌力は Hinokitiol と同程度乃至は若干強力と思われる。 β -Dorablin の抗菌力は血清により著明に低下し、その原因は血清蛋白全体並びに血清電解質により不活性化される爲と考えられる。又 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{2+} の存在により著明な抗菌力低下を見たが、この原因は、これらのイオンと β -Dorablin が結合して擴散困難な物質を生ずる爲と考えられる。これらの血清、金属イオンの影響は Hinokitiol においても同様に観察された。

緒 言

不飽和七員環化合物については従来しばしば桂教授及び共同研究者^{1)~8)}により報告されている如く、本化合物は結核菌並びに多数の好気性菌及び嫌気性菌に対し広範な抗菌力を有し、更に抗 *Leptospira* 作用、抗 *Rickettsia* 作用、抗 Virus 作用のある事が認められている。野副教授及び共同研究者により次々と合成された Tropolone (Trp) 及び Tropone の誘導体について、私共は逐次それらの実験的及び臨床的研究を行なつて

来たが、青森産「ひば」精油中に Hinokitiol と共に含有され、最近新たに分離精製された β -Dorablin を入手したので Hinokitiol を対照として2, 3の実験を行ない、その成績を比較した。

被検物質

β -Dorablin (Drb) 及び Hinokitiol (Hi) でその構造式は第1図の通りである。

Drb は黄色粉末状物質で分子量は 162, 融点58°C, 沸点 140~145°C/8.5 mmHg である。Drb は現在迄に分離されたものは β 体のみで α , γ 体

Fig. 1.

はなお未分離である。

Drb 及び Hi は共に難水溶性で、磷酸緩衝液を溶媒としても 1 mg/ml より、高濃度では結晶を析出する。そこで濃厚溶液が必要な場合は Tween 80 (Tw 80) で溶媒として使用し、滅菌蒸留水で 10 mg/ml 懸濁液を作製した。Tw 80 の添加量は被検物質 1 g に対し 0.2 cc とした。例えば Drb 500 mg に Tw 80 を 0.1 cc 加えて懸濁させ、これに滅菌蒸留水を加えて全量を 50 cc とすれば Drb 10 mg/ml 液を得る。

I 一般好気性菌及び結核菌に対する発育阻止作用

実験材料並びに実験方法

A) 一般好気性菌

1) 培地

Heart infusion 培地「栄研」を使用した。その組成は次の通りである。

牛心臓抽出液	500 g	pH 7.4
ペプトン	10 g	
食塩	5 g	
寒天	15 g	

本培地粉末 40 g を 1 l の蒸留水に溶解しコッホ釜にて 100°C, 30 分宛, 3 日間滅菌した。

2) 被検菌

チフス菌, パラチフス菌 A 及び B, 赤痢フレキシネル菌 2 a 及び 2 b, 赤痢ゾンネ菌, 大腸菌 O-13 及び O-55, 変形菌 O X K, 肺炎桿菌, 緑膿菌, 黄色葡萄状球菌 209 P, 溶血性連鎖状球菌, 肺炎

双球菌 I, II, III, IV 型, 枯草菌 MD15 の合計 18 株を使用した。これらの被検菌は Heart infusion 斜面培地に 37°C, 24 時間培養し、滅菌生理的食塩水 1 cc に 1 白金耳の割に均等に浮遊させて菌液を作製した。溶血性連鎖状球菌及び肺炎双球菌は血液寒天斜面培地に培養した菌苔を用いた。

3) 実験方法

Drb 並びに Hi 10 mg/ml 液を滅菌蒸留水で倍数稀釈し, 10 mg/ml から 39.1 mcg/ml に至る倍数稀釈系列を作り, 加温溶解した培地 9 容に 1 容の割に加えて 1 mg/ml から 3.91 mcg/ml に至る被検物質含有培地を作り, 内径 8.5 cm のペトリ皿に 10 cc 宛分注して平板を作製した。血液寒天培地は培地と被検物質の割合を 8 容対 1 容とし, 平板を作製する際, 脱線維素家兎血液 1 容を加えた。各平板にはそれぞれ 5 ~ 7 株の菌をおおの 1 白金耳宛接種し 37°C, 24 時間培養して最小発育阻止濃度を求めた。実験は各菌株につき 3 回宛行ない 2 回以上一致した結果を成績とした。

B) 結核菌

1) 培地

岡, 片倉培地を使用した。被検物質 10 mg/ml 液を培地原液で稀釈して, 500/3 mcg/ml 15.63/3 mcg/ml に至る倍数稀釈系列を作り, それぞれ 2 cc 宛中型滅菌試験管に分注し, 岡, 片倉培地卵液 4 cc 宛を加えて振盪混和し血清凝固器で固定滅菌して 500 mcg/ml から 15.63 mcg/ml に至る斜面培地を作製した。

2) 被検菌

人型結核菌 Frankfurt 株及び H37Rv 株を用いた。菌液には 1 カ月間 岡, 片倉培地で培養した菌の 1 白金耳を滅菌生理的食塩水 1 cc の割に瑪璃乳鉢で充分に磨細した後, 1 分間 1000 回転の速さで 5 分間遠心した上清を用い, 1 白金耳宛を各培地に接種して 37°C, 4 週間培養後判定した。

予備実験

Tw80 の抗菌力

Drb 及び Hi の溶媒として Tw80 を用いたの で, その抗菌力を検討した。即ち培地に 1 %,

0.1%, 0.01%, 0.001%のTw80を添加し, 大腸菌 O-55, 変形菌 OXK, 肺炎桿菌, 黄色葡萄球菌 209 P, 枯草菌 MD15 を被検菌として培地中の Tw80 による発育の差を検討した。その結果培地中の Tw80 量が, 0.001~1% では, 全く発育に差を認めなかつた。そこで更に水溶性の Hino-kitiol-Natrium (Hi-Na) を用い, 0.1% Tw80 添加培地と Tw80 を含まない培地の間で, 上記 5 株に対する Hi-Na の発育阻止作用を検討した。その結果は両培地共最小発育阻止濃度は大腸菌 O-55, 変形菌 OXK, 枯草菌 MD15 に対しては 62.5 mcg/ml, 黄色葡萄球菌 209 P に対しては 125 mcg/ml, 肺炎桿菌に対しては 250 mcg/ml で Tw80 による影響は全く認められなかつた。本実験で培地に添加される Tw80 の量は 0.02% 以下であるから, Drb 及び Hi の抗菌力に及ぼす Tw80 の影響はないと考えられる。

本実験

第 1 表に示す如く, Drb の最小発育阻止濃度は緑膿菌に対しては 1000 mcg/ml で抗菌力は弱い, 結核菌を始め肺炎桿菌, 溶血性連鎖球菌,

肺炎双球菌に対しては 125 mcg/ml, チフス菌, パラチフス菌 B, 赤痢ゾンネ菌に対しては 62.5 mcg/ml, パラチフス菌 A, 大腸菌 O-13 及び O-55, 変形菌 OXK, 黄色葡萄球菌 209 P, 枯草菌 MD15 に対しては 31.25 mcg/ml, 赤痢フレキシネル菌 2a, 2b に対しては 7.81 mcg/ml で Gram 陽性菌, 陰性菌の双方に亘り広範な発育阻止力を認めた。之を Hi の発育阻止力と比較すると一般好気性菌では, 赤痢フレキシネル菌 2a, 大腸菌 O-13, O-55, 変形菌 OXK, 黄色葡萄球菌 209 P, 枯草菌 MD15 に対しては Hi の 2 倍の抗菌力を認めたが, 他の一般好気性菌 12 株, 結核菌 2 株に対しては Hi と同等であつた。

II 抗菌力に及ぼす血清並びに金属イオンの影響

実験材料並びに実験方法

1) 培地

次の組成を有する 2% 普通寒天培地を用いた。

肉エキス	10 g
ペプトン	10 g
食塩	5 g
寒天	20 g
蒸留水	1 l

コッホ釜にて 100°C, 30 分宛, 3 日間滅菌し, pH は後述の予備実験により 7.8 とし, 10% 炭酸ソーダにより補正した。

2) 検定菌 枯草菌 MD15

3) cup 法

新潟大学宮村助教授⁹⁾が抗生物質検定に用いた薄層 cup 法を行なつた。即ち 3% 普通寒天斜面培地に 37°C, 3 日間培養した枯草菌 MD15 を滅菌生理的食塩水 1 cc に 1 白金耳の割に均等に浮遊させて菌液を作り, 培地 100 cc に菌液 2 cc の割に混合し, 内径 8.5 cm のペトリ皿に 10 cc 宛分注して平板を作り, 不銹鋼標準金属 cup を立て, 被検液を入れた後 10~12 時間氷室に放置し充分培地中に拡散させてから 37°C, 5 時間培養した。同一実験に対し常に平板 5 枚を使用し, 阻止円直径は縦横 2 方向から 0.05 mm 迄計測しその平均値を求め

Tab. 1. Bacteriostatic action of Drb and Hi.

Test organisms	Drug	Drb (mcg/ml)	Hi (mcg/ml)
Gram negative bacteria	Salmonella typhi	62.5	62.5
	Salmonella paratyphi A	31.25	31.25
	Salmonella paratyphi B	62.5	62.5
	Shigella flexneri 2a	7.81	15.63
	Shigella flexneri 2b	7.81	7.81
	Shigella sonnei	62.5	62.5
	Escherichia coli O-13	31.25	62.5
	Escherichia coli O-55	31.25	62.5
	Proteus vulgaris OXK	31.25	62.5
	Klebsiella pneumoniae	125	125
	Pseudomonas aeruginosa	1000	1000
Gram positive bacteria	Staphylococcus aureus 209F	31.25	62.5
	Streptococcus haemolyticus	125	125
	Diplococcus pneumoniae I	125	125
	Diplococcus pneumoniae II	125	125
	Diplococcus pneumoniae III	125	125
	Diplococcus pneumoniae IV	125	125
	Bacillus subtilis MD15	31.25	62.5
	M. tuberculosis Frankfurt	125	125
M.tbc	M. tuberculosis H37Rv	125	125

た。

予備実験

1) 培地pHと阻止円との関係

上述の培地に10%炭酸ソーダを滴下し、指示薬として **Brom cresol purple (BCP)**, **Brom thymol blue (BTB)**, 及び **Phenol red (PR)** を用いてpHを補正し、pH 5.8, 6.5, 7.2, 7.8の培地を作り、被検液は **Drb** 及び **Hi** 濃度 500, 250, 125, 62.5mcg/ml の水溶液を用い、培地pHと阻止円との関係を調べた。

阻止円の境界は **Drb** は各pH共極めて鮮明であつたが、**Hi** は **Drb** に比し、若干不鮮明で特に酸性側で不鮮明になつたが上述の濃度では計測に差支えない。又両物質共 **cup** 周辺の培地が褐色に着色したが酸性側に強く、pH 7.2以上では殆ど認められなかつた。

各pH毎の阻止円の大きさ及び **cup** 底の沈澱の程度は第2表に示した。表に見る如く阻止円の大きさはpH 7.8が最大で、鮮明度も最も優れ、培地の着色も少ない。従つて培地のpHは 7.8が適当と考えられるので、以後の実験はpH 7.8の培地を用いた。

2) 被検液pHと阻止円との関係

Drb 及び **Hi** の1000mcg/ml 水溶液のpHは、ガラス電極pH計により測定すると **Drb** は6.35, **Hi** は6.65である。**cup** 法を行なうに当り 500,

250, 125, 62.5mcg/ml の **Drb** 及び **Hi** 水溶液を作り1 N HCl 及び1 N NaOH を滴下してpHを補正してpH 5.8, 6.5, 7.2, 7.8の被検液につき、pHと阻止円との関係を検討した。

この範囲のpHでは **Drb**, **Hi** 共阻止円の境界は鮮明で、各pH毎の阻止円の大きさ及び **cup** 底の沈澱の程度は第3表に示した。表に見る如く、阻止円の大きさはこの範囲ではpHに関係なく殆ど同様で、鮮明度、**cup** 底沈澱も同様であつた。従つて以後の実験には必要に応じて適宜のpHを用いた。

3) 直線関係の成立範囲

1), 2)の予備実験で見た如く62.5mcg/ml より250mcg/mlの間では **Drb**, **Hi** 共に濃度の対数と阻止円直径とは直線関係をなすが、500mcg/mlは直線圏外である。そこで更に範囲を拡げてpH 7.2の磷酸緩衝液に溶解した1000mcg/mlを出発点とし、3.9mcg/mlに至る9本の倍数稀釈系列を作り、各濃度の阻止円の大きさを測定した。

第2図に見る如く250mcg/ml から15.6mcg/mlの範囲では **Drb**, **Hi** 共に直線関係を認めたが、500mcg/ml以上の高濃度及び7.8mcg/ml以下の低濃度では直線圏外になつた。**cup** 底の沈澱は250mcg/ml以上の高濃度で濃度の増加と共に増加した。

以上の予備実験により培地pHは 7.8, 被検液pH

Tab. 2. Relationship between pH of agar media, the diameters of inhibition zones and precipitation in the cup.

Concentration Drug PH		500mcg/ml		250mcg/ml		125mcg/ml		62.5mcg/ml	
		Diameter	Precipitation	Diameter	Precipitation	Diameter	Precipitation	Diameter	Precipitation
Drb	5.8	20.26	±	18.23	±	14.84	—	11.56	—
	6.5	20.87	+	20.65	+	17.12	—	13.71	—
	7.2	22.51	++	22.22	+	19.41	—	16.37	—
	7.8	23.68	++	23.74	+	20.63	—	17.58	—
Hi	5.8	18.37	+	15.45	+	11.75	—	(8)	—
	6.5	20.91	+	18.83	+	15.51	—	12.28	—
	7.2	22.32	+	20.97	+	18.28	—	15.62	—
	7.8	23.33	+	22.13	+	19.87	—	17.63	—

Tab. 3. Relationship between pH of sample, the diameters of inhibition zones and precipitation in the cup.

Concentration Drug PH		500mcg/ml		250mcg/ml		125mcg/ml		62.5mcg/ml	
		Diameter	Precipitation	Diameter	Precipitation	Diameter	Precipitation	Diameter	Precipitation
Drb	5.8	23.81	+	23.38	+	21.05	—	18.24	—
	6.5	23.90	+	23.13	+	21.16	—	18.52	—
	7.2	23.87	+	23.16	+	21.05	—	18.18	—
	7.8	23.97	+	23.25	+	21.28	—	18.49	—
Hi	5.8	24.26	+	23.22	+	20.49	—	17.87	—
	6.5	24.12	+	23.18	+	20.41	—	17.88	—
	7.2	24.45	+	23.09	+	20.37	—	17.74	—
	7.8	24.18	+	23.33	+	20.75	—	17.71	—

Fig. 2. Relationship between the inhibition zones and the concentration of drugs.

は 5.8～7.8 の範囲で適宜に選び、被検液濃度は 250～15.6mcg/ml で cup 法を行なえば円滑に実験を行ないうる事を知った。

本実験

1) 血清の影響

血液、血清は屠牛より無菌的に採取した脱線維素牛血液及び牛血清（蛋白量 6.8g/dl）で、血清 Albumin (Alb) は培地用 Albumin「栄研」を生理的食塩水で透析して混合物を除去し、Carbowax 1500で脱水濃縮したものである。

pH 7.8 の M/15 磷酸緩衝液を溶媒として Drb 及び Hi の 500mcg/ml 液を作り、之より 250mcg/ml 及び 62.5mcg/ml の M/15 磷酸緩衝液、250mcg/ml の 50% 血液、50% 血清（蛋白量 3.4g/dl）、3.4g/dl Alb 及び 50% 血清中の Alb 量と推定される 1.5g/dl Alb 液を作製し、それぞれ cup 法

を行ない阻止円直径を比較した。

第 3 図に示す如く Drb, Hi 共阻止円直径は M/15 磷酸緩衝液中で最大で他の溶媒中では何れも縮小した。之を M/15 磷酸緩衝液中の力価に比較すれば、1.5g/dl Alb, 3.4g/dl Alb, 50% 血清, 50% 血液の順に Drb は 75%, 55%, 46%, 41% となり、Hi は 85%, 65%, 56%, 44% となった。しかし被検液に血液成分を用いる事は培地中への拡散条件が異なると共に、血液成分が検定菌の栄養源として利用され発育条件も異なるので、次の透析実験を行ないこれらの条件を出来るだけ一定に保った。

Fig. 3. Effect of blood, serum and albumin on the inhibition zones.

即ち血清、6.8g/dl Alb 及び 3g/dl Alb 液 5cc をセロファンバッグに入れ、外液には Drb 及び Hi 濃度 250mcg/ml の pH 7.2 の M/15 磷酸緩衝液 10cc を用い、氷室で 48 時間透析しセロファンバッグ内外の Drb, 或は Hi を平衡状態に達せ

しめた。対照として pH 7.2 の M/15 磷酸緩衝液 5 cc を内液として同じ操作を行なった。内液と平衡状態に達した後の外液を、Drb 及び Hi 濃度 250mcg/ml 及び 62.5mcg/ml の M/15 磷酸緩衝液と共に cup 法により力価を比較した。

第4図に示す如く、M/15 磷酸緩衝液を内液とした場合は外液の濃度は約 $2/3$ に稀釈され Drb は 164mcg/ml, Hi は 160mcg/ml となつた。血清及び Alb 液を内液とした際の外液の濃度は 3 g/dl Alb, 6.8g/dl Alb, 血清の順に、Drb は 120mcg/ml, 75mcg/ml, 47mcg/ml で対照の力価に比しそれぞれ73%, 46%, 29%となり, Hi は 144mcg/ml, 108mcg/ml, 72mcg/ml でそれぞれ対照の力価に比し90%, 68%, 45%に低下した。

2) 金属塩による影響

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$,

Fig. 4. Effect of serum and albumin on the inhibition zones.

$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ の 10^{-3}M 水溶液はそれ自体では cup 法で枯草菌MD15の発育を阻止しない事を予備実験により確かめた。次に Drb 及び Hi 100mcg/ml・金属塩 10^{-3}M 混合液を作製し、之をBCPを指示薬として1N HCl 及び1N NaOH によりpH6に補正した。その際の Drb 及び Hi・金属塩混合液の外観は第4表に示した。これらの混合液を Drb 及び Hi の 100mcg/ml 及び25mcg/ml 水溶液と共に cup 法を行ない、力価の変化を観察した。

Fig. 5. Effect of metal ions on the inhibition zones.

第4表及び第5図に示す如く Drb の力価は Fe^{3+} により 12mcg/ml, Al^{3+} により 15mcg/ml, Fe^{2+} により 17mcg/ml とそれぞれ著明に低下したが, Mn^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} 混合液の力価はそれぞれ 74mcg/ml, 82mcg/ml, 95mcg/ml, 100

Tab. 4. Effect of metal ions on the diameters of inhibition zones.

metal ions 10^{-3}M		Fe^{3+}	Fe^{2+}	Al^{3+}	Mn^{2+}	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Mg^{2+}	Control	
Drug 100mcg/ml									100mcg/ml	25mcg/ml
Drb	Color	light brown	light brown	milky	light yellow	light yellow	light green	light yellow	light yellow	light yellow
	Turbidity	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
	Precipitation	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Diameter	9.37	11.18	10.58	19.41	19.92	21.03	20.76	20.98	13.24
Hi	Color	light brown	light brown	light violet	colorless	colorless	colorless	colorless	colorless	colorless
	Turbidity	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Precipitation	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Diameter	(8)	(8)	(8)	17.49	19.19	18.31	18.76	19.28	12.27

mcg/ml で力価の変化は少なく、一方 Hi の力価は Fe^{3+} , Al^{3+} , Fe^{2+} により 10mcg/ml 以下に著明に低下したが、 Mn^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} 混合液の力価はそれぞれ 70mcg/ml, 81mcg/ml, 89mcg/ml, 97mcg/ml で変化は比較的少なく、Hi と大体同様な傾向を認めた。

総括並びに考案

Heart infusion 培地を用いた寒天平板法により一般好気性菌 18 株、結核菌 2 株に対する Drb の発育阻止作用を調べ、Hi の成績と比較検討した。Drb は緑膿菌に対してのみ殆ど抗菌力を示さなかったが、他の結核菌及び一般好気性菌には Gram 陽性菌、陰性菌の何れにも 7.81~125mcg/ml で発育を阻止した。Hi と比較すると Drb の抗菌力は大体同程度で、菌株により若干 Hi よりも強力であった。

真部¹⁰⁾は Hi, Hi-Na は血液、血漿、血清、喀痰、膿等の体液或は排出物中に混入されると抗菌力の低下する事を報告し、私¹¹⁾も Hi-Na, Trp が血清、血清蛋白により力価の低下する事を報告した。川上¹²⁾¹³⁾は Drb 及び Hi は血清 Alb と結合するが Drb の結合は安定で、Hi の結合は極めて不安定である事を認めた。そこで私は Drb の抗菌力に及ぼす血清の影響を観察するに当り、特に Alb の影響に注目した。即ち cup 法定量に際して血液、血清と共に Alb を用いた。山根¹⁴⁾によれば、電気泳動により測定した牛血清中の Alb 量は 37.8~45.5% である。よつて実験に用いる Alb 濃度は、血清中の Alb 量と推定される 3g/dl 及び血清総蛋白量と等量の 6.8g/dl とし、血清を 2 倍に稀釈した際は Alb も 2 倍に稀釈して使用した。

被検液として血液、血清、Alb を用いた際の Drb の力価は 50% 血液中で 59%, 50% 血清中で 54%, 3.4g/dl Alb 中で 45%, 1.5g/dl Alb 中で 25% それぞれ低下し、一方 Hi の力価は 50% 血液中で 56%, 50% 血清中で 44%, 3.4g/dl Alb 中で 35%, 1.5g/dl Alb 中で 15% それぞれ低下した。即ち Drb は Hi に比較して血液成分によ

り力価の低下する程度がやゝ大きく、血清と血液の間には顕著な差は認められない。Alb による力価の低下は 3.4g/dl Alb 中でも 50% 血清中の低下より幾分少なく、1.5g/dl Alb 中では 50% 血清中の低下に較べて著明に少なく、従つて Drb 及び Hi の血清による力価の低下は、Alb のみによるものではない様である。

透析法によると Drb の力価は血清、6.8g/dl Alb, 3g/dl Alb によりそれぞれ 71%, 54%, 27% 低下し、Hi の力価はそれぞれ 55%, 32%, 10% 低下した。即ち透析法によつても血液成分による力価の低下する程度は Drb が Hi より大きく、Alb による力価の低下は血清による低下に比較すると 6.8g/dl Alb は幾分少なく、3g/dl Alb は著明に少ない。

以上の成績により Drb, Hi の血清による抗菌力低下は Alb による結合の為のみでなく、恐らく血清蛋白全体並びに血清電解質による不活性化の為と推定される。

野副教授^{15)~17)}によると Hi は Fe, Cr, Co, Cu, Ni, Mn, Cd, Zn, Mg 等の金属類と容易に分子内錯塩を作り、特に塩化鉄により速かに赤紫色の鉄錯塩 (Hinokitin: $\text{C}_{30}\text{H}_3\text{O}_6\text{Fe}$) を生ずる。この様に Hi が鉄と Hinokitin を生じた場合に真菌に対する Hi の抗菌力が低下する事は、白癬菌、好蠟性菌、Candida について岡崎¹⁸⁾, 片桐¹⁹⁾, 高橋²⁰⁾によりそれぞれ報告された。Drb は Hi と同じく Trp 核を有し金属塩と結合し易い事が予想されたので Fe, Al, Mn, Zn, Mg, Cu の金属塩との混合液について cup 法により力価の変動を観察した。

100mcg/ml の Drb の力価は 10^{-3}M の Fe^{3+} , Al^{3+} , Fe^{2+} イオンの存在により著明に減小し 20mcg/ml 以下になったが、 Mn^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} イオンによる減小は比較的少なく 70mcg/ml 以上の力価を保った。Hi も Drb と同様な傾向を示し Fe^{3+} , Al^{3+} , Fe^{2+} イオンにより 10mcg/ml 以下になったが、 Mn^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} イオンが存在しても 70mcg/ml 以上の力価を示し

た。金属イオンによる力価低下の原因は、著明に低下するものに混濁或は cup 底沈澱の強い事より見て、Drb 及び Hi が金属塩と結合して拡散困難な物質を生ずる為と考えられる。

結 論

Trp の新誘導体 Drb の抗菌力並びに抗菌力に及ぼす血清、金属イオンの影響について Hi と比較検討した。

寒天平板法による Drb の一般好気性菌18株に対する最小発育阻止濃度は、緑膿菌の1000mcg/mlを除き Gram 陽性菌、陰性菌の双方に対し7.81 ~ 125mcg/ml であつた。岡、片倉培地による人型結核菌 Frankfurt 及び H37Rv に対する最小発育阻止濃度は 125mcg/ml であつた。Drb の抗菌力は Hi と同程度乃至は若干強力と思われる。

cup 法及び透析実験によると Drb の力価は血清により著明に低下し、血清 Alb による力価の低下は血清よりも少なかった。よつて Drb は血清蛋白全体並びに血清電解質により不活性化されるものと考えられる。

cup 法により検定すると Drb の力価は Fe^{3+} , Al^{3+} , Fe^{2+} の存在により著明に低下した。之は

Fe^{3+} , Al^{3+} , Fe^{2+} と Drb が結合して拡散困難な物質を生じた為と考えられる。

Drb の抗菌力に及ぼす血清、金属イオンの影響は Hi の場合と同様な傾向を認めた。

文 献

- 1) 桂重鴻：最新医学，2：595，1947。—2) 前田貞正：新潟医学会雑誌，67：446，1953。—3) 柳沢正佳：日本内科学会雑誌，41：732，1953。—4) 楠純一：日本内科学会雑誌，43：201，1954。—5) 中原典彦：熊本医学会雑誌，22：145，1948。—6) 吉田良二：日本内科学会雑誌，44：705，1955。—7) 渡辺正二郎：日本内科学会雑誌，44：1138，1956。—8) 齋間美代治：日本内科学会雑誌，45：1327，1957。—9) 宮村定男他：J. Antibiotics，4：228，1951。—10) 真部雅：新潟医学会雑誌，67：27，1953。—11) 山作房之輔：新潟医学会雑誌，71：1261，1957。—12) 川上正他：日本内科学会雑誌，47：743，1958。—13) 桂重鴻他：第56回日本内科学会発表。—14) 山根徳治：日本細菌学雑誌，11：545，1955。—15) T. Nozoe: Bull. Chem. Soc. Japan 11：295，1936。—16) 野副鉄男他：薬学雑誌，64：181，1944。—17) 野副鉄男：薬学，3：174，1949。—18) 岡崎寛蔵：薬局の領域，3：7，1955。—19) 片桐泰正：日本内科学会雑誌，44：32，1955。—20) 高橋弘：日本内科学会雑誌，47：218，1958。