脱アセチル化の時間的測定 上と同様にして pH 7.4 の洗滌菌体浮游液の検体及び対照を三角コルベン中に調製。37° の孵卵器中に入れ一定時間毎によくかきまぜ、その約 1 cc をとり直ちに遠心分離、上澄液 0.5 cc をとり比色定量を行つた (乾燥菌量 10 mg/cc, チオアセタゾーン濃度 68 γ /cc), その結果を Table II に示す。

Table II. Change of the Amount of *p*-Aminobenzaldehyde Thiosemicarbazone Produced with Reaction Time

Time for reaction (hr.)	Amount of the produced <chem>Nc1ccc(cc1)C(=O)NNC(=O)N</chem> (γ /cc.)	Rate of deacetylation (%)
1	11.6	20
3	26.5	37
6	30.3	53
20	46.6	82
40	59.1	104

ブドウ糖添加時の脱アセチル化率 検体及び対照に用いる pH 7.4 の洗滌菌体浮游液は前記同様にして調製。これに 1% の割にブドウ糖を添加。その結果を Table III に示す。

Table III. Amount of the *p*-Aminobenzaldehyde Thiosemicarbazone Produced in the Presence of Glucose

Time for reaction (hr.)	pH of test solution	Amount of the produced <chem>Nc1ccc(cc1)C(=O)NNC(=O)N</chem> (γ /cc.)	Rate of acetylation (%)
1/2	6.0~6.2	6.9	12
1	4.8~5.0	8.3	15
3	4.0~4.2	8.9	16
24	3.8~4.0	9.7	17

京都大学医学部薬学科

U. D. C. 615.778-092.21 : 576.851.21 : 576.852.24

237. 有田隆一：チオアセタゾーンの体内変化に関する研究 (第 6 報)

チオアセタゾーンと細菌酵素製剤との併用について

Takaichi Arita : Studies on the Change of Thioacetazone *in vivo*. VI.

On the Administration of Thioacetazone with Pharmaceutical

Preparation of Bacteria and Enzymes.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto)

It was surmised from the preceding work that lactobacilli preparations would also effect deacetylation of thioacetazone. Therefore, deacetylation of thioacetazone was examined with commercial preparation, "Lactomin powder," and it was found that the rate of deacetylation was very slight, as shown in Figs. 1 and 2. However, taking of "Lactomin powder" would effect increase of lactobacilli in the intestines and the deacetylation of thioacetazone would probably increase, which suggests that these two drugs should not be used together. Examination of the concurrent use of diastase and medicinal yeast with thioacetazone was also examined but these were found not to affect thioacetazone.

(Received March 26, 1956)

チオアセタゾーンとアミノピリン類とを併用するときには可成り毒性が増加することは既に臨床的に知られているが、チオアセタゾーンと他の薬剤との併用の際に生ずるチオアセタゾーンの変化に関する報告は見られない。著者は第 4 報及び第 5 報において乳酸菌によるチオアセタゾーンの脱アセチル化について報告したが、乳酸菌製剤もまたチオアセタゾーンを脱アセチル化することが当然予想せられるから乳酸菌製剤による脱アセチル化につ

いて検討を行い更に他の酵素製剤による変化についても併せて検討した。

乳酸菌製剤 乳酸菌製剤としては市販のラクトミン末を用いて実験を行った。市販のラクトミン末の含有する乳酸菌は *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* 等及びその変性菌で、その主要構成菌は *Strept. faecalis* であるといわれ¹⁾、その生菌量は 0.1 g 中 $1.8 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ であるといわれている²⁾。第4報及び第5報に報告したように *Strept. faecalis* 及び *Lact. acidophilus* がチオアセタゾーンの脱アセチル化を行うのであるから、これ等の菌を構成菌とするラクトミン末も当然チオアセタゾーンの脱アセチル化する筈である。従つて著者は市販ラクトミン末を用いラクトミン量とチオアセタゾーンの脱アセチル化量の関係及び反応時間と脱アセチル化量との関係を検討し、ラクトミン末と併用するときのチオアセタゾーンの分解についてしらべた。*Strept. faecalis* によるチオアセタゾーンの脱アセチル化は pH 7.4 において最高値を示したのであるから、ラクトミン末による脱アセチル化も同様に pH 7.4 の緩衝液を用いるのが適当である。従つてラクトミン末を 10 mg/cc $\sim$ 400 mg/cc に亘る濃度になるように pH 7.4 の磷酸緩衝液に加えて懸濁せしめ、これにチオアセタゾーンを加えて 5 時間後の各濃度による脱アセチル化量を検討した。その結果 Fig. 1 に示すようにラクトミン濃度 400 mg/cc で脱アセチル化されて出来た *p*-アミノベンズアルデヒドチオセミカルバゾーンの量は 1.3 γ /cc 程度の微量で加えたチオアセタゾーンの 0.8% を脱アセチル化したにすぎなかつた。次に時間的にその脱アセチル化量を測定するため 100 mg/cc, 200 mg/cc 及び 400 mg/cc の各濃度にラクトミン末を pH 7.4 磷酸緩衝液に懸濁せしめ 5 時間、10 時間及び 20 時間後の脱アセチル化量を測定したところ Fig. 2 に示すように 20 時間後においてもラクトミン末濃度 400 mg/cc のものでも加えたチオアセタゾーンの 1.5% を脱アセチル化したにすぎなかつた。なおこの際のチオアセタゾーン濃度は何れも全体として 200 γ /cc の濃度になるように加えたものである。

Fig. 1. Relationship between Lactomin Concentration and Deacetylation of Thioacetazone (at pH 7.4)

Fig. 2. Deacetylation Time of Thioacetazone by Lactomin Powder (at pH 7.4)

次に市販ラクトミン末3種についてその濃度 200 mg/cc、チオアセタゾーン濃度 150 γ /cc として 5 時間後及び 20 時間後の脱アセチル化量を測定した。その結果 Table I に示すように C 社製品のみは他の 2 社の製品の約 1/2 の脱アセチル化を行つたにすぎない。このことはラクトミン末に含有される乳酸菌量の差によつて生じたものと思われる。以上によりラクトミン末は僅かではあるがチオアセタゾーンを脱アセチル化することを認めた。

Table I. Amount of the Deacetylation Product of Thioacetazone by Lactomin

Lactomin	A (γ /cc.)	B (γ /cc.)	C (γ /cc.)
Time (hr.)			
5	0.48	0.40	0.24
20	1.08	0.88	0.44

酵素製剤 次に局方ジアスターゼ及び薬用酵母を用いてチオアセタゾーンの変化をワ紙クロマトグラフィーにより検討した。その結果何れの場合もチオアセタゾーンの変化を認めることは出来なかつたので、ジアスターゼ及び薬用酵母はチオアセタゾーンに対して変化を与えないものと認めた。

1) 浜田：本誌 74, 458(1954)。

2) 詫摩：日本医事新報 1954 年 4 月 17 日。

以上によりジアスターゼ及び薬用酵母はチオアセタゾーンに対して変化を与えないが、ラクトミン末は僅かではあるが脱アセチル化することを認めた。浜田¹⁾によればチオアセタゾーンは *Strept. faecalis* の増殖に何等の影響も与えないことが報告されているので、チオアセタゾーンと併用するときには腸内で乳酸菌はこれによつて抑制されずに増殖し、腸内の乳酸菌量の増加することが考えられ、その脱アセチル化量は製剤そのまゝの場合に比し可成り大となることが考えられる。このチオアセタゾーンの脱アセチル化したものはチオアセタゾーンに比して抗菌力は劣らないが、毒性が大であるといわれているのでこの併用は避けた方がよいと考える。

本実験に際して終始御指導を戴いた京都大学薬学科掛見教授、宇野助教授に深く感謝する。

実 験 の 部

検体ラクトミン末懸濁液の調製 ラクトミン一定量にチオアセタゾーン水溶液及び pH 7.4 磷酸緩衝液を加えて全体としてチオアセタゾーン濃度及びラクトミン末濃度が所定の濃度になるように調製し孵卵器に入れ、37° に保ち反応せしめた。この際の pH の変動はほとんどなく 20 時間後で最大のもので pH 7.0 となつたに過ぎない。ラクトミン末により脱アセチル化されて生じた *p*-アミノベンズアルデヒドチオセミカルバゾーンの定量には第 5 報に報告した *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒドによる比色法を用いて測定。Table II 及び Table III にその結果を示す。

Table II. Changes in the Amount of *p*-Aminobenzaldehyde Thiosemicarbazone Produced by Various Lactomin (After 5 hrs.)

Concn. of Lactomin (mg./cc.)	Changes of pH after 5 hrs. (pH)	Amount of the produced $\text{NH}_2\text{--}\langle\text{C}_6\text{H}_4\text{--}\rangle\text{--CHNNHCSNH}_2$ (γ/cc.)	Rate of deacetylation (%)
10	7.4	0.04	0.02
20	"	0.08	0.05
50	"	0.18	0.11
100	7.3	0.29	0.17
200	7.2	0.80	0.48
400	"	1.34	0.76

Table III. Changes of *p*-Aminobenzaldehyde Thiosemicarbazone Produced by Lactomin with Reaction Time (Concn. 200 γ/cc.)

Concn. of Lactomin	400 mg./cc.		200 mg./cc.	
	Amount of the produced $\text{NH}_2\text{--}\langle\text{C}_6\text{H}_4\text{--}\rangle\text{--CHNNHCSNH}_2$ (γ/cc.)	Rate of deacetylation (%)	Amount of the produced $\text{NH}_2\text{--}\langle\text{C}_6\text{H}_4\text{--}\rangle\text{--CHNNHCSNH}_2$ (γ/cc.)	Rate of deacetylation (%)
Reaction time				
5	1.3	0.78	0.8	0.48
10	1.9	1.14	1.1	0.66
20	2.5	1.50	1.5	0.90
	100 mg./cc.			
5	0.3	0.17		
10	0.5	0.30		
20	0.8	0.48		

ジアスターゼによる変化の検討 局方ジアスターゼ 1 g を 15 cc の pH 7.4 の磷酸緩衝液に溶かしチオアセタゾーン約 15 mg を加え 20 時間 37° に保つた後約 2 倍量のエタノールを加え少しく加温してよくふりまぜた後、遠心分離、上澄液を 1/10~1/20 に濃縮し、その約 0.1 cc を濾紙上の原点に塗布して濾紙クロマトグラフィーにより展開した。その結果チオアセタゾーンのスポットを得たのみで他にはスポットを見出すことは出来なかつた（一次元上昇法、水飽和ブタノール溶媒）。

薬用酵母による変化の検討 薬用酵母 1 g に水 10 cc を加え、これに 2%重碳酸ナトリウム液 2 滴を加えチオアセタゾーン約 15 mg を加えてさきの場合と同様に濾紙クロマトグラフィーにより検討したが、分解は認められなかつた。また pH 7.4 磷酸緩衝液を用いて同様に検討したが同じく分解は認められなかつた。