



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	チオフェン環を含む新テトラゾリウム化合物の結核菌による還元
Author(s)	柿本, 七郎; KAKIMOTO, Shichiro; 山本, 健一 他
Description	
Citation	結核の研究, 33, 7-9
Issue Date	1973
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26821
Type	departmental bulletin paper
File Information	33_P7-9.pdf



チオフェン環を含む新テトラゾリウム 化合物の結核菌による還元¹⁾

柿本七郎

山本健一 有馬純 久世彰彦

(北海道大学結核研究所)

(昭和47年9月30日受付)

さきに著者等は合成抗結核剤の分子中には活性基と親和基の2つの原子団があるとし、更に結核菌は活性基に対して耐性を獲得するものであることを実験的に証明した²⁾。一方、Bönickeは2-チオフェンカルボン酸ヒドラチットは牛型結核菌のみに発育阻止作用があり、他の結核菌には無効であることを報告している³⁾。この実験事実を著者等の前記の説によって解釈をすると、チオフェン環が牛型結核菌のみに親和性をもつと考えられる。もしそうであればチオフェン環を含むテトラゾリウム化合物は結核菌による還元呈色の場合に、人型と牛型とでは様子がちがってくるのではないかと考えられる。これを立証するためにチオフェン環を含む次の3つの新しいテトラゾリウム化合物を合成した。即ち5-(2-フェ

ニル)-2, 3-ジフェニル-2H-テトラゾリウムクロリド (STC), 2-(5-カルボキシル-2-フェニル)-3, 5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムクロリド (TCS) 及び5-(2-フェニル)-2-(5-カルボキシル-2-フェニル)-3-フェニル-2H-テトラゾリウムクロリド (STS) である。これ等の合成法は常法に従ったが⁴⁾ その精報は別に記載する。これに加えて在来の2, 3, 5-トリフェニル-2H-テトラゾリウムクロリド (TTC) 及び3-(4, 5-ジメチル-2-チアゾリル)-2, 5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムブロマイド (MMT) をも同時に比較のために使用し、人型及び牛型結核菌がどの様に還元してコロニーが着色されるかを観察した。

人型及び牛型結核菌は直径 16 mm の試験管に斜面に

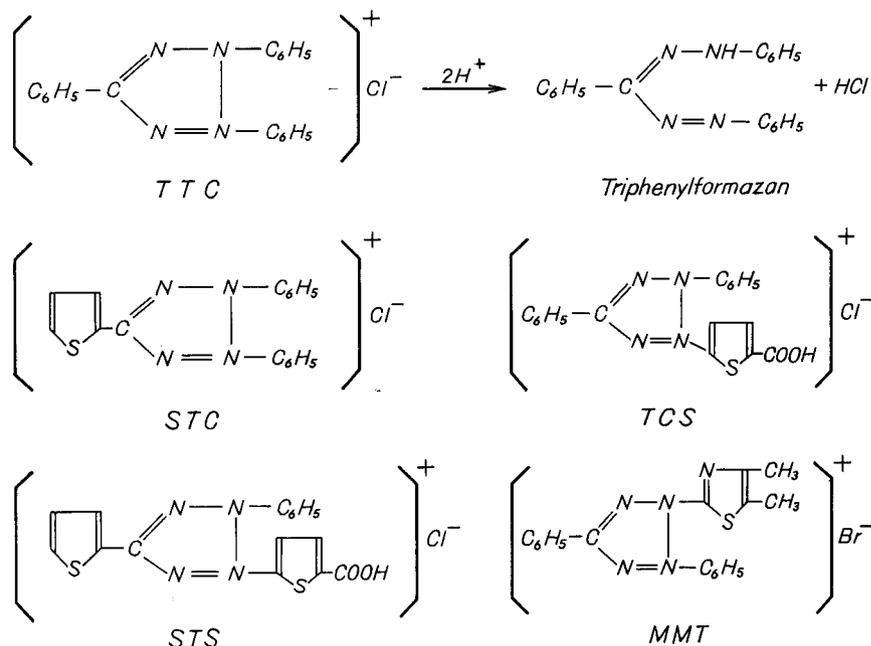


図 1

した小川培地に接種する。この培養表面に各種テトラゾリウム塩の0.5%水溶液0.1mlを菌接種後の2日目及び14日目に添加全表面に流す。37°Cで2日及び7日間培養後発色したコロニーの数をしらべた。菌の接種後2日目にこれら化合物を培地表面に流した場合、TCS, STS及びMMT等は両結核菌により発色するけれど、培地もかすかに着色する。しかし、この様な条件では発育阻止作用を示さない。一方TTC及びSTCはこの条件では発育阻止作用を示した。即ちTTCは接種後2日目に流した場合に人型、牛型両菌に対して発育阻止作用を示すが、STCは牛型のみを発育阻止作用を示した。接種後14日目に培地表面に流した場合には、両者共に阻止作用を示さず鮮明なる赤紫色に着色したコロニーを観察することが出来た。これ等の実験成績は第1表に示

第1表 各種テトラゾリウム塩添加によるコロニー数

菌 株	添加時 培養日数	テトラゾ リウム塩	判定培養日数 (%)		
			16	21	
Ravenel	2	STC	9	103	
		TTC	0.4	2	
		STS	73	80	
		TCS	80	94	
		MMT	42	52	
	14	STC	127	107	
		TTC	84	71	
		STS	93	77	
		TCS	132	112	
		MMT	87	61	
	H 37 Rv	2	STC	89	112
			TTC	0	2
			STS	89	82
			TCS	89	109
MMT			100	119	
14		STC	120	100	
		TTC	120	82	
		STS	60	54	
		TCS	100	73	
		MMT	80	63	

した。このことからSTCによって人型及び牛型の鑑別の可能性についてさらに確かめるために数株宛の牛型及び人型菌に対して行なった実験成績は第2表の如く、接種後2日目に培地表面に流した場合には牛型のみを発育を阻止することがたしかめられた。

第2表 ヒトおよびウシ型結核菌に対するSTCの添加

添加時 培養 日 数	添加物	ウシ型	判定培 養日数		ヒト型	判定培 養日数	
			16	21		16	21
2	Aq. dest.	Ravenel	14	30	H 37 Rv	23	41
	STC		0	24		18	32
14	Aq. dest.		5	22		21	36
	STC		19	31		34	40
2	Aq. dest.	BCG	23	31	青 山 B	17	62
	STC		0	6		19	45
14	Aq. dest.		10	39		16	50
	STC		24	27		14	42
2	Aq. dest.	三 輪	56	66	今村弱毒	20	50
	STC		1	64		20	40
14	Aq. dest.		55	70	喜 文 字	20	50
	STC		54	68	25	41	
2	Aq. dest.	牛 No. 1	46	66	柴 田	14	18
	STC		7	69		18	27
14	Aq. dest.		12	39		9	15
	STC		19	38		15	23

小川培地。STC 5 mg/ml, 0.1 ml 添加

第3表 H 37 Rv と BCG の混合培養コロニーに対するSTCの添加

添加時 培 養 日 数	判定培 養日数	菌 株						
		H 37 Rv			BCG			H 37 Rv + BCG
		添加物 Aq. dest.	添加物 STC	添加物 Aq. dest.	添加物 STC	添加物 Aq. dest.	添加物 STC	
2	16	25	30	35	0	57	27	
	21	26	32	40	23	62	48	
14	16	23	28	48	53	72	90	
	21	30	36	70	92	115	138	

小川培地。STC 5 mg/ml, 0.1 ml

このことを更に確める目的で BCG と人型菌の等量混合菌接種した培地表面に接種後 2 日目に STC を添加すると人型のみのコロニーを生成したと考えられる第 3 表の如き結果を得た。即ち接種後 2 日目に流し、16 日目にコロニーを判定すると人型ではコロニー数に STC の影

第 4 表 喀痰中の結核菌培養コロニーに対する STC の添加

類 別	症 例	
	微量排菌およびマイクロコロニー排出例	耐性菌排出例
STC 添加によって 1 週以上早くコロニーを認めた例	11	22
STC 添加によってのみコロニーを認めた例	4	3
STC 添加によっても差を認めない例	3	5
合 計	18	30

小川培地。STC 5 mg/ml, 0.1 ml, 培養 14 日目に添加, 以後 2 日, 1 週, 2 週後に判定。

響がないことが観察されるが, BCG は明らかに阻止され, 混合菌は人型菌と殆んど同数のコロニーが数えられる。即ちこれは人型菌のみのコロニーと考えられる。

更に STC は各種結核菌コロニーを非常に鮮明に赤紫色に着色せしめるので, 臨床検査に於いてコロニーが非常に小さいか, 発育の遅い結核菌排出例について STC の添加した場合の早期判定の効果についてしらべた臨床検査成績を第 4 表に示した。即ち微量排菌又は発育の遅い耐性菌排出の場合に STC を培養 14 日目に表面に添加することにより少なくとも 1 週間以上はコロニーを鮮明且つ迅速に検出することを可能ならしめ, 又添加によってのみコロニーを認めることが可能な例もあった。

文 献

- 1) Kakimoto, S., Yamamoto, K., Arima, J. and Kuze, A.: Amer. Rev. Resp. Dis., **104**, 754 (1971).
- 2) Kakimoto, S. and Yamamoto, K.: Jap. J. Tuberc., **6**, 32 (1958).
- 3) Bönicke, R.: Naturwissenschaften, **45**, 392 (1958).
- 4) 柿本: 本誌, **2**, 119 (昭 30).