



Title	ヘテロ環を含む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, 34, 23-25
Issue Date	1974-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26830
Type	departmental bulletin paper
File Information	34_P23-25.pdf



ヘテロ環を含む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

(北海道大学結核研究所)

(昭和48年9月18日受付)

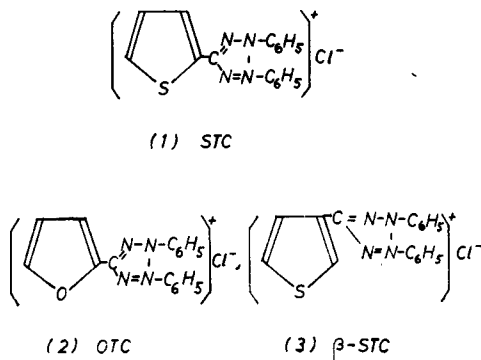
さきに著者等は²⁾ チオフェン環を含む3つの新しいテトラゾリウム塩即ち5-(2-チェニル)-2,3-ジフェニル-2H-テトラゾリウム・クロリド (STC) (第1図), 2-(5-カルボキシル-2-チェニル)-3,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウム・クロリド (TCS) 及び5-(2-チェニル)-2-(5-カルボキシル-2-チェニル)-3-フェニル-2H-テトラゾリウム・クロリド (STS) を作った。そしてSTCが小川培地で培養された結核菌の迅速検出に非常に有益である事を報告し、且つSTCによって牛型と人型結核菌を鑑別する事の出来る新しい方法を報告した。

一方著者等はさきに次の如き推論を実験的に立証した³⁾。即ち1) 合成抗結核剤の分子中には二つの要素をもつ原子団がある。一つは結核菌に対する親和性をもつ原子団であり。他の一つは結核菌の発育機能になんらかの影響を与える活性基とである。2) 結核菌が合成薬剤に耐性を持つという事は活性基に対して耐性を持つものであって親和基に対してではない。3) これ等の原子団は特に環状化合物に於いては、その原子団の位置が発育阻止作用には大いに影響するものである^{4),5)}。一方 Bönicke は⁶⁾ 2-フランカルボン酸ヒドラチッドも2-チオフェンカルボン酸ヒドラチッドと同様に牛型結核菌のみに発育阻止作用があり、人型には無効であり、これ等の化合

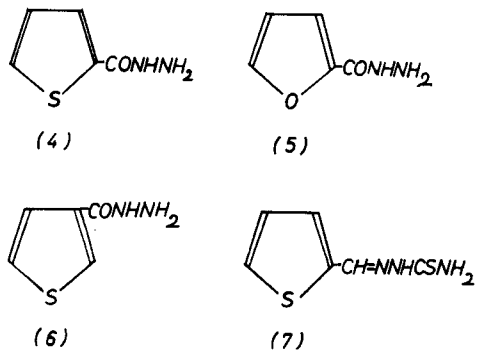
物相互間の牛型結核菌に対する交差耐性についても検討している。著者等はこれ等のヘテロ環化合物の間に於いて前記の著者等の推論を更に確認するためにまずその牛型結核菌の交差耐性について小川培地を用いて再度検討した。

2-チオフェンカルボン酸ヒドラチッド (4) 2-フランカルボン酸ヒドラチッド (5) 3-チオフェンカルボン酸ヒドラチッド (6) (第2図) を作って、これ等の化合物の人型及び牛型結核菌発育阻止作用をそれぞれ5 μ g及び15 μ g/mlを含む小川培地に於いてしらべた結果は第1表に示した。即ち化合物6以外は牛型結核菌のみに有効であった。この事はこれ等のヘテロ環化合物に於いては牛型結核菌に抗菌性を表わすのには活性基は2位に存在しなくてはならない事を示す。

これ等化合物間交差耐性を検討するために牛型結核菌であるラブネル, BCG, ウシ No. 1 及び三輪株で2-チオフェンカルボン酸ヒドラチッド及び2-フランカルボン酸ヒドラチッドに夫々に耐性である株を各化合物15 μ g/mlを含む小川培地上に各株1mgを接種してワンステップで分離した。同時に他の活性基-CH=N \cdot NH \cdot CS \cdot NH $_2$ を含む2-チオフェンアルデヒドチオセミカルバゾン (7) に対しても同様に耐性菌を分離して、それ



第1図



第2図

第1表 化合物4, 5及び6の人及び牛型結核菌に対する抗菌作用

菌 株	菌量 (mg)	化合物及び濃度 (μg/ml)					
		対照 (4)		(6)		(5)	
		0	5	15	5	15	5
人 型	10 ⁻⁵	25*					
	H37 Rv 10 ⁻³	+*	40	3+	3+	+	50
	1		4+		4+		4+
	10 ⁻⁵	+					
	青山 B 10 ⁻³	2+	2+	2+	2+	2+	2+
	1		4+		4+		4+
	10 ⁻⁵	2+					
	今村 (弱毒) 10 ⁻³	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	1		4+		4+		4+
	10 ⁻⁵	+					
Ravenel 10 ⁻³	0	0	+	1	0	0	
1		12		3+		20	
10 ⁻⁵	45						
BCG 10 ⁻³	0	0	2+	+	0	0	
1		50		3+		+	
10 ⁻⁵	+						
ウシ No. 1 10 ⁻³	1	0	3+	3+	1	1	
1		+		4+		50	
10 ⁻⁵	+						
三輪 10 ⁻³	0	0	0	0	0	0	
1		15		50		15	

*, コロニーの実数; +, 201~300; 2+, 300~500; 3+, 一部群生; 4+, 全面群生

等の間の変差耐性をしらべたのが第2表である。即ち耐性菌は活性基に対して耐性を獲得するのであり、親和基に示すのでない事を確認した。

さきに著者等は TTC は人型及び牛型結核菌共に発育阻止作用があり、STC は培養の初期即ち小川培地に牛型菌の接種後2日目にその0.5%水溶液0.1mlを試験管の培地表面にかけた場合にのみ培養3週間目に於いても発育の阻止が見られるが人型には阻止を示さない事を報告した。この事はヘテロ環化合物の2位に活性基をもつ4, 5の化合物は牛型のみ有効でありチオフェンの3位に活性基をもつ6の化合物は無効である事から、テトラゾリウム化合物に於いても2位で結合している5-(2-フロイル)-2, 3-ジフェニル-2H-テトラゾリウム・クロリド (2) は STC と同様に牛型人型結核菌の鑑別に使用出来、5-(3-チエニル)-2, 3-ジフェニル-2H-テトラゾリウム・クロリド (β-STC) (3) は鑑別は出来ないの

第2表 化合物4, 5及び7に対する各種牛型結核菌の変差耐性

菌 株	菌量 (mg)	化合物及びその濃度 (μg/ml)					
		(4)		(5)		(7)	
		5	15	5	15	5	15
BCG	原 株	0		0		3†	
	R-(4)*	100		105		12	
	R-(5)	95		99		0	
	R-(7)	0		0		49	
三輪	原 株	0		0		0	
	R-(4)	150		100		0	
Ravenel	R-(5)	92		85		0	
	原 株	0		0		64	
	R-(4)	100		100		0	
	R-(5)	100		100		0	
ウシ No. 1	R-(7)	0		0		65	
	原 株	0		0		5	
	R-(4)	60		73		0	
	R-(5)	70		78		0	
R-(7)	0		0		59		

R*, 耐性株; 菌量, 10⁻⁵ mg/ml; 培養日数, 4週間†, 数値は対照を100としてのコロニー数パーセント

ではないかという、予想をもって新しいこれ等のテトラゾリウム塩を常法^{2), 7)}をもって合成して、これを前報²⁾と同様な条件で牛型人型菌について発育阻止即ちその発色性を検討したのが第3表である。即ち牛型結核菌に於いては菌接種後2日目に STC 及び OTC を表面にかけた場合には2週間後の判定に於いて殆んどコロニーをみとめず、3週間目にやっとみとめられる。菌接種後14日目にかけたのでは OTC 及び STC 共に発育の阻止をしない。一方人型菌に於いては STC 及び OTC 共に菌接種後2日目に表面に加えても殆んど抗菌力を示さない。β-STC に於いては2日目にかけた場合に牛型菌には抗菌力を示し、又人型に対しても発育を阻止する程度は TTC に近い性質を示す。

これ等の事実は先に述べたヘテロ環化合物が抗菌力を示したのにはその親和性を示す環に活性基のつく場所が大切である事を支持するものである。

又 OTC は STC 同様にそのフォルマザン即ち菌による発色は鮮明な赤紫色を示すので人型牛型の分離及び判定に使用出来又結核菌の微量迅速測定法にも利用出来る事は又 STC に準ずるものである。

又2-チオフェンカルボン酸ヒドラチッド (TCH) に対して耐性である牛型菌はもし親和基に耐性を示すもの

第3表 人型, 牛型結核菌に対する STC, β -STC, TTC*
及び OTC の抗菌性

菌 株	判定時培養日数	培養後添加した日数及び化合物名					14日目 OTC	
		2 日 目						
		Control	STC	β -STC	TTC*	OTC		
人 型	青 山 B	16	49†	147	14	0	99	71
		21	104	195	86	0	173	132
	黒 野	16	160	150	0	0	145	156
		21	210	195	25	0	190	215
	H 37 Rv	16	56	88	5	0	79	60
		21	72	96	42	0	82	62
牛 型	Ravenel	16	43	3	0	0	2	53
		21	45	55	26	0	57	54
	三 輪	16	10	1	0	0	0	11
		21	290	270	0	0	165	245
	BCG	16	165	0	0	0	0	154
		21	230	140	0	0	125	180

*、TTC=2, 3, 5-トリフェニル-2H-テトラゾリウム・クロリド; †, コロニー数

第4表 TCH に耐性牛型結核菌に対する
STC の効果

菌 株	培養日数	対照	STC*
Ravenel	14	+**	0
	21	2+	+
H 37 Rv	14	+	+
	21	+	+
三 輪	14	5	0
	21	53	2
三輪, R-TCH***	14	5	0
	21	40	6
ウン No. 1	14	24	1
	21	+	32
ウン No. 1 R-TCH***	14	+	1
	21	+	42

* 0.5% STC 溶液を 0.1 ml 培養後 2 日目に加える

** 第1表と同一の表示

*** TCH 耐性菌は 15 μ g/ml を含む小川培地より分離

であれば STC に対する発色も感性株と様子が異なって来てもよいのではないかと推定でその実験をこころみたのが第4表である。これを見るに何んら差異をみとめないことはやはり耐性なものは活性基に対して耐性を示すものである事を支持するものと推論される。

第5表 OTC 及び β -STC の分析体, 融点
及び吸収極大

	計算値 (%)	実験値 (%)	融点 (°C)	吸収 極大 (m μ)
β -STC (C ₁₇ H ₁₃ N ₄ SCl)	C: 59.93; H: 3.82	C: 60.23; H: 4.02	245	490
OTC (C ₁₇ H ₁₃ ON ₄ Cl)	C: 62.87; H: 4.03	C: 62.68; H: 4.12	260	515

OTC, β -STC は TTC 及び STC 等と同様に常法に従って製し, その分析値, 融点, そのフォルマザンの UV 最大吸収値を第5表に示した。

文 献

- 1) Kakimoto, S., Yamamoto K.: Amer. Rev. Resp. Dis., **107**, 142 (1973).
- 2) Kakimoto, S., Yamamoto, K., Arima, J., and Kuze, A.: Ibid, **104**, 754 (1971). 本誌, **33**, 7 (1973).
- 3) Kakimoto, S., and Yamamoto, K.: Jap. J. Tuberc., **6**, 32 (1958).
- 4) Kakimoto, S., Krüger-Thiemer, E., and Wempe, E.: Arzneimittelforschung, **10**, 963 (1960).
- 5) Kakimoto, S.: Jahresbericht, Borstel, **5**, 233 (1961).
- 6) Bönicke, R.: Zeitschr. f. Hygiene, **145**, 263 (1958).
- 7) 柿本: 本誌, **2**, 119 (1955).