

# 新抗真菌性抗生物質 “Copiamycin” の試験管内, 生体内作用の研究

千葉大学腐敗研究所抗生物質部 (指導 新井 正教授)

窪 田 慎 蔵  
SHINZO KUBOTA

(昭和 43 年 5 月 24 日 受付)

## 目 次

I. はじめに	2. 実験成績および考案
II. 新抗真菌性物質 “Copiamycin” の概要	d. 動物実験小括
III. Copiamycin およびその誘導体の試験管内抗 菌作用	B. 臨床予備試験
1. 実験材料および実験方法	a. 皮膚 Patch test
2. 実験成績	1. 使用薬剤および投薬法
3. 考案および小括	2. 成績および考案
IV. Copiamycin およびその誘導体の生体内作用	b. 腫ガンヂダ症およびトリコモナス症の治 療
A. 動物実験	1. 使用薬剤, 治療法ならびに判定法
a. 毒性試験	2. 治療成績および考案
1. 実験材料および実験方法	c. 白癬菌症の治療
2. 実験成績および考案	1. 使用薬剤, 治療法ならびに判定法
b. Candida 感染防禦試験	2. 治療成績および考案
1. 実験材料および実験方法	d. 臨床予備試験小括
2. 実験成績および考案	V. 考 案
c. Trichophyton 感染防禦試験	VI. 総 括
1. 実験材料および実験方法	参 考 文 献

## 1. はじめに

現在約 30 種の抗生物質ならびにそれらの誘導体が臨床  
上広範に使用されているが, その大部分は土壌に生棲  
する放線菌, 中でもストレプトミセス属に属する菌に由  
来し, それらの作用は主としてグラム陽性菌, 陰性菌お  
よび結核菌を対象とするものである。このように細菌性  
感染症を制禦する上で, 現用抗生物質はほぼ充足されたと  
言っても過言ではないであろう。

しかしながらこのような抗菌性抗生物質, 殊にいわゆる  
広域抗生物質の汎用がしだいに従来の抗生物質に感受  
性を有しない opportunistic な微生物である真菌による  
感染症を誘発, あるいは増加せしめつつある。一方成人  
病, 特に malignant diseases に併発する真菌症の対策  
も, 世界の関心事となってきた。

更に人の表在性および深在性真菌症を制圧するのみな  
らずカビによる農産物, あるいは植物病害の制禦に年間  
金属水銀に換算して数トンに及んで用いられている現用

農薬にかわるものとして, あるいはまたその強い毒性と  
癌原性のために世界の注目をあびているカビの有毒代謝  
産物 “Aflatoxin” やその他の “Mycotoxin” による中  
毒症<sup>1)</sup>の予防のためにも, 有用な抗真菌性抗生物質の出  
現が強く要望されている。

幾多の抗生物質の生産源である放線菌に抗真菌剤を求  
めようとした歴史は古く 1947 年から 1948 年にかけて  
Leben と Keitt は Antimycin を発見している<sup>2)</sup>。

また始めて抗カビ性抗生物質として開発された  
Cycloheximide は Whiffen, Bohonos および Emerson  
により 1956 年 Actidion として第二番目に発見された  
抗真菌性抗生物質であった<sup>3)</sup>。

当腐敗研究所抗生物質部においてもすでに 1951 年よ  
り放線菌の生産する抗真菌性抗生物質の研究が開始され  
てきていた<sup>4)</sup>。このような世界的な競合研究の結果, 多  
数の物質が発見されたが, そのうち上記の要望に答え使  
用に供されている放線菌由来の抗真菌性抗生物質は  
Polyene macrolide と Blasticidin S<sup>5)</sup>, Polyoxin<sup>6)</sup> お

よび Kasugamycin<sup>7)</sup>で特に後の三者は、農業植物の病害駆除のために使用され、真菌症の化学療法剤として今日使用されている放線菌由来の抗生物質はすべて Polyene macrolide と呼ばれる一群の抗生物質に含まれる。すなわち Nystatin<sup>8)</sup>と Pimaricin<sup>9)</sup>は tetraene に属し Trichomycin<sup>10)</sup>あるいは Hamycin<sup>11)</sup>と Amphotericin B<sup>12)</sup>は heptaene 系のものである。

これら Polyene macrolide に属する抗生物質はその生物学的作用に共通した長所と短所とを有し、殊にその強い毒性のため Penicillin, Streptomycin, Chloramphenicol および Tetracycline に比肩しうる化学療法剤とはなり得ない状態である。

Copiamycin<sup>13)</sup>(以下 Cop)は当腐敗研究所抗生物質部において1960年来、新井らによる非ポリエン系新抗生物質の系統的探索の結果として発見されたものである。

著者は12種の誘導体を含める Cop の主として医真菌に対する生物学的作用ならびに臨床成績を検討しそれらをまとめ現用抗真菌性抗生物質と比較検討したのでここに報告する。

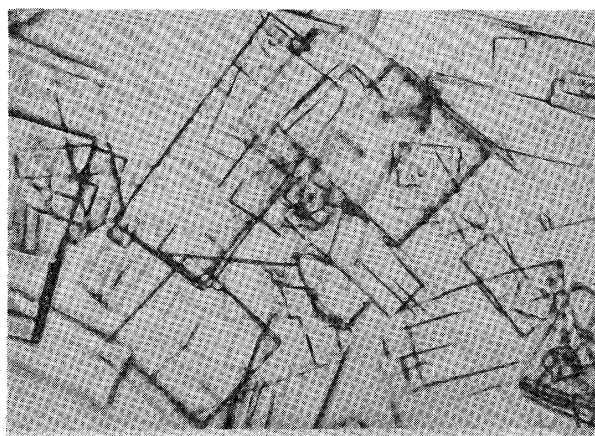
## II. 新抗真菌性物質 Copiamycin の概要

Cop は1963年法隆寺境内土壌より分離された放線菌 No. 1898 株より単離された。

No. 1898 株は詳細な形態学的、生化学的検索の結果 *Streptomyces hygroscopicus* に最も近似するが、これと完全には一致せず *Streptomyces hygroscopicus* var. *crystallogenes* と同定された。その気菌糸は特徴的な螺旋状を呈している。

Cop は本菌株を大豆粉2%、馬鈴薯澱粉2.5%、Ebios 0.5%、 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  0.0007%、 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  0.0007%、 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  0.003% および  $CaCO_3$  0.35% (pH7.0~7.2) を含む培養液で27°Cで深部培養を行なうと菌体内に蓄積され90時間前後で含有量は最高に達する。培養液を濾別し、菌体を採取後水洗し、3倍量ついで1.5倍量のメタノールで抽出すると、大部分の有効成分が抽出される。本抽出液を減圧濃縮し得られた粗 Cop よりなる沈澱物をアセトンで抽出し夾雑する他の物質を除き、さらに硅胶のカラムクロマトグラフィーを行ない、有効成分から Cop は無色ないし白色の板状晶として得られる(第1図)。

Cop の既知諸性状は第1表に示すとおりである。すなわち実験式には  $C_{52-57}H_{95-105}O_{20-24}N_3$  が与えられ、146.5~148.5°C 附近で分解し、右旋性であり、低級アルコール、ピリジン、ジメチルスルホキシドに溶解、水や他の



第1図 Copiamycin の結晶形

第1表 Copiamycin の諸性状

生産菌株: *Streptomyces hygroscopicus* var. *crystallogenes*  
ATCC 19040

抽出方法: キナコ培養液で振盪培養した菌体よりメタノールで抽出。

物理化学的性状:

無色ないし白色板状晶。融点: 146.5~148.5°C (分解)。

実験式:  $C_{52-57}H_{95-105}O_{20-24}N_3$  (分子量...1095)。

旋光度:  $[\alpha]_D^{25.5} = +14.4$  (c=4.15 メタノール中)。

溶解性:

低級アルコール、ピリジン、酢酸、ジメチルスルホキシドに可溶。

他のほとんどの有機溶媒および水に不溶。

紫外部吸収スペクトル:

末端吸収 ( $E_{1cm}^{1\%}$  74 at 230 m $\mu$ )。

赤外部吸収スペクトル:

3360, 2925, 1725, 1660, 1580, 1450, 1375, 1355, 1325, 1270, 1240, 1195, 1160, 1140, 1070, 1025, 1010, 980, 940, 920, 855, 835, 790, 715  $cm^{-1}$ 。

定性反応:

フェーリング、ドラゲンドルフ、沃化白金、坂口反応……陽性。

ビュレット、ニンヒドリン、モーリッシュ、過クロル鉄、リーベルマンバーチャード、2,4-ジニトロフェニルヒドラチン反応……陰性。

毒性:

腹腔内注射あるいは経口投与でマウスは、>1000 mg/kg に耐過した。

ほとんどの有機溶媒に難溶、もしくは不溶である。紫外部吸収は末端吸収のみで共軛系の存在しないことを示し赤外吸収は 3300  $cm^{-1}$  に幅広い吸収と、1650  $cm^{-1}$  附近の吸収を有し、坂口、フェーリング、ドラゲンドルフ、沃化白金の反応に陽性を示し他の蛋白、糖の反応および過クロル鉄などの反応にはいずれも陰性を示した。またマウスは経口投与、腹腔内注射いずれも 0.5% CMC

溶液に懸濁して使用した時 1000 mg/kg 以上に耐過した。

Cop は細菌にはほとんど作用せず *Candida* および *Trichophyton* を含める広範囲の病原真菌に対し 1.0~10.0 mcg/ml で完全発育阻止をする<sup>14)</sup>。このように真菌に対し抗菌スペクトルの広いことから、本物質を真菌症の治療剤としうる可能性が予想された。しかし本物質は水にほとんど不溶である欠点が見られたので、水溶性とするために協和発酵研究グループとの協力のもとに幾多の誘導体が作製された。

すなわち、赤外吸収および坂口反応陽性の点よりグアニジル基の存在が予想されたので、Polyene macrolide の水溶性誘導体をうるため Schaffner と Borowski (1961)<sup>15)</sup>の行なった acetyl 化等が試みられ、Acetyl Copiamycin (Ac-Cop) および Propionyl Copiamycin (Pr-Cop) が作製された。さらに水素添加物 Dihydro Copiamycin (2H-Cop) および Tetrahydro Copiamycin (4H-Cop) が作製され、さらにこれらの acetyl 化物、すなわち Ac-2H-Cop および Ac-4H-Cop が作製された。また一方では、鉍酸との塩を作製する試みがなされ、塩酸塩すなわち Cop-HCl, 2H-Cop-HCl, 4H-Cop-HCl, 硝酸塩 Cop-HNO<sub>3</sub>, 硫酸塩 Cop-1/2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> およびリン酸塩 Cop-1/3H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> の 12 種誘導体が作製された。これらのうち 2H-Cop と 4H-Cop を除きいずれも水溶性である。

### III. Cop およびその誘導体の試験管内抗菌作用

#### 1. 実験材料および実験方法

〔被検菌〕：被検菌は教室保存の病原性真菌と *Trichomonas* であり、このうち真菌は lyophile 法により保存されているものである。これらの外、腔カンジダ症患者より水野・高田培地<sup>16)</sup>で分離され *Candida albicans* と同定された 29 株も Sabouraud 寒天スラントに純培養され供された。

〔培養基〕：病原性真菌用として Sabouraud 寒天培地 (グルコース 4%, ポリペプトン 1%, 寒天 2%, pH 無修正) が用いられ、また *Trichomonas* 用として F 培地 (肉エキス 1%, ポリペプトン 1%, グルコース 1%, 食塩 0.2%, 寒天 0.2%, pH 無修正) に滅菌後 10 ないし 30% に牛血清を添加し、さらに Pc 1000 u/ml, SM 50 mcg/ml を加えた培地が用いられた。

発育曲線測定のためには Sabouraud bouillon を用いた。

培養基液性の抗菌力に対する影響検査のためには Sabouraud 寒天を滅菌後、適当な pH に修正し使用した。

また血清添加の抗菌力に対する影響検査のためには、同じく滅菌 Sabouraud 寒天に非働化血清を混じた。

〔被検薬剤〕：Cop, Ac-Cop, Pr-Cop, 2H-Cop, 4H-Cop, Ac-2H-Cop, Ac-4H-Cop, Cop-HCl, 2H-Cop-HCl, 4H-Cop-HCl, Cop-HNO<sub>3</sub>, Cop-1/2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Cop-1/3H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> の 13 種が用いられた。

〔方法〕：2H-Cop, 4H-Cop および Cop の三者は水に難溶であるので、まずメタノールに溶解した後、生食水で稀釈し他はすべて水溶性であるので生食水に溶解した。一方 Cop については Propylenglycol (PG) あるいは Polyethyleneglycol (PEG) に溶解せしめ後水で稀釈する方法も行なわれた。

真菌に対する抗菌力試験には、通常の Agar streak method が使用された。一方 *Trichomonas* での抗菌性は血清加 F 培地での dilution method を使用した。培養温度は被検菌に応じ、27°C, あるいは 37°C とし、結果は 24~72 時間後にかけて判定された。

Cop の真菌形態に及ぼす影響を *Candida albicans* YU-1200 および *Trichophyton mentagrophytes* を用い Slide culture 法で 4 日間 37°C に培養後単染色を行ない顕微鏡下に観察した。

培養基 pH および血清添加の抗菌性に及ぼす影響も *Candida* 属の各菌種および三種の *Trichophyton* を用いて Agar streak method により実験した。前者には Ac-Cop が、後者には Cop, Ac-Cop, Cop-HNO<sub>3</sub> および 2H-Cop の 4 種が用いられた。

Cop の *Candida* 発育曲線におよぼす影響は Sabouraud bouillon を用い比濁法により検査した。

拡散法と稀釈法による抗菌性の相異を Cop と Ac-Cop を用い *C. albicans* YU-1200 について行なった。拡散法のためには paper disk 法を行なった。薬剤溶液 0.04 ml を 1 枚の paper disk にしませ、室温で風乾後被検菌入り寒天平板上にのせ培養し翌日阻止円の直径を測定した。

#### 2. 実験成績

##### a. Cop の *Candida* に対する発育最少阻止濃度

Cop の抗 *Candida* 作用は第 2 表にまとめたように Cop, Cop-HNO<sub>3</sub>, 2H-Cop が最も強く 0.5~5.0 mcg/ml の最少阻止濃度を示した。ついで Cop-1/3H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> で *C. parakrusei* の 7.5 mcg/ml を除き、他は 2.5~5.0 mcg/ml を示した。Pr-Cop は 0.5~7.5 mcg/ml, Cop-HCl は

第2表 Copiamycin および 誘導体の *Candida* に対する抗菌性

被検菌名	Copiamycin	Cop-HNO <sub>3</sub>	2H-Cop	Pr-Cop	Cop-1/3H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	4H-Cop	Ac-Cop	Cop-HCl	Cop-1/2H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2H-Cop-HCl	4H-Cop-HCl	Ac-2H-Cop	Ac-4H-Cop
<i>Candida albicans</i> IFM	2.5	2.5	2.5	5.0	5.0	7.5	5.0	5.0	5.0	7.5	10.0	25.0	25.0
<i>Candida albicans</i> ATCC 3170	2.5	5.0	5.0	7.5	5.0	10.0	10.0	10.0	10.0	25.0	25.0	25.0	50.0
<i>Candida albicans</i> ATCC 3036	2.5	5.0	5.0	7.5	5.0	10.0	10.0	7.5	10.0	25.0	25.0	25.0	25.0
<i>Candida albicans</i> 新海	5.0	5.0	5.0	7.5	5.0	10.0	10.0	7.5	10.0	25.0	25.0	25.0	25.0
<i>Candida albicans</i> 中川	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	5.0	7.5	5.0	7.5	5.0	7.5	10.0	25.0
<i>Candida albicans</i> 斎藤	2.5	2.5	5.0	5.0	5.0	7.5	7.5	5.0	5.0	7.5	10.0	25.0	25.0
<i>Candida albicans</i> YU-1200	1.0	0.25	0.5	2.5	0.5	1.0	5.0	1.0	2.5	1.0	2.5	7.5	10.0
<i>Candida guilliermondii</i>	2.5	5.0	5.0	5.0	5.0	1.0	10.0	7.5	7.5	7.5	10.0	25.0	50.0
<i>Candida tropicalis</i>	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	7.5	5.0	5.0	5.0	5.0	7.5	25.0	25.0
<i>Candida krusei</i>	2.5	2.5	5.0	7.5	5.0	10.0	7.5	7.5	7.5	10.0	10.0	25.0	25.0
<i>Candida parakrusei</i>	5.0	5.0	5.0	7.5	7.5	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	25.0	50.0
<i>Candida stellatoidea</i>	1.0	2.5	2.5	5.0	2.5	5.0	7.5	5.0	5.0	2.5	7.5	5.0	7.5

培養基: Sabouraud 寒天 (pH 6.0), 判定: 37°C, 24 時間培養後, 数値は最少阻止濃度 mcg/ml

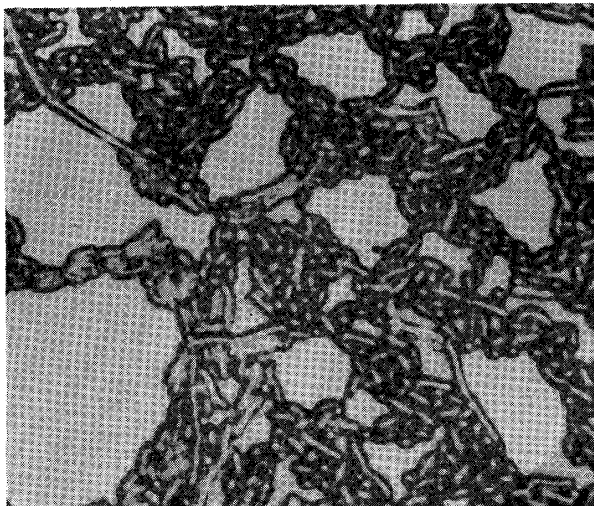
1~10 mcg/ml, Cop-1/2·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ac-Cop, 4H-Cop はいずれも 5~10 mcg/ml であったがこの順序に 10 mcg/ml を要する菌種数がふえ, 2H-Cop-HCl は 5.0~25 mcg/ml, 4H-Cop-HCl は 7.5~25 mcg/ml, Ac-2H-Cop は 3 株を除く他は 25 mcg/ml を要し, Ac-4H-Cop では 50 mcg/ml を要するものが 3 株あった。

一方被検菌の感受性よりすれば *C. albicans* YU-1200 株が最も高く, ほとんど 0.5~2.5 mcg/ml で阻止され Ac-4H-Cop においても 10 mcg/ml で阻止された。これに次ぎ *C. stellatoidea* の感受性が高く 2.5~7.5 mcg/ml で阻止され, Ac-4H-Cop においてすら 7.5 mcg/ml で

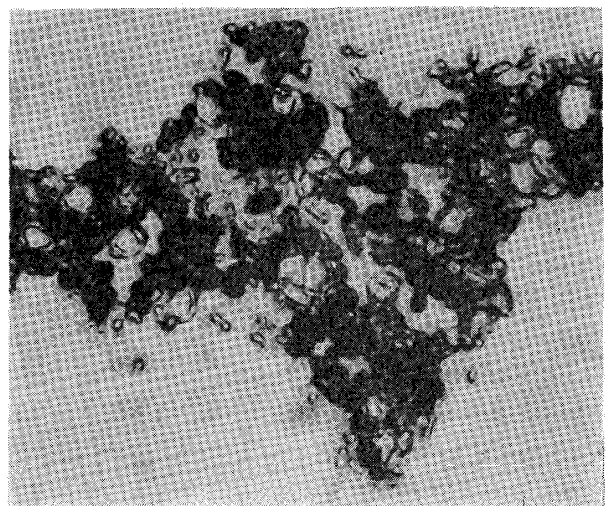
阻止された。これらに続き *C. albicans* IFM 株, *C. tropicalis*, *C. albicans*-中川株, -斎藤株となり 2.5~25 mcg/ml で阻止された。

ついで *C. guilliermondii*, *C. krusei* が高い感受性を示し, 前者の 4H-Cop: 1 mcg/ml および Ac-4H-Cop: 50 mcg/ml および後者の Cop-HNO<sub>3</sub>: 2.5 mcg/ml を除外すれば, 他の薬剤に対してはいずれも同程度の感受性を示し 5.0~25 mcg/ml であった。残る 4 菌株は, *C. parakrusei* と *C. albicans* ATCC 3170, ATCC 3036 および新海の 3 株であり, いずれも 5.0 以上 50 mcg/ml を要するものであった。

対 照



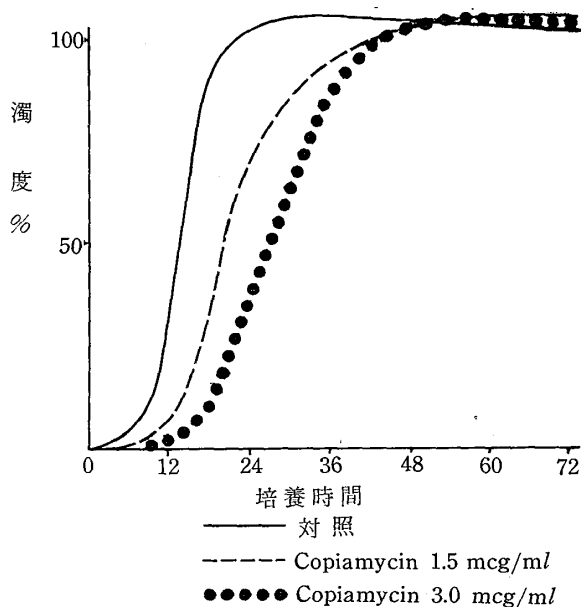
Copiamycin 3 mcg/ml 含有



第2図 *Candida albicans* YU-1200 株に与える Copiamycin の形態学的変化

b. Cop の *C. albicans* YU-1200 株におよぼす形態学的変化

第2図に示すごとく対照ではイースト形および菌糸形を示す旺盛な発育が見られたが Cop 高濃度においては発育が見られず、不完全阻止の濃度では、仮性菌糸形成



第3図 *Candida albicans* 3170 株の発育曲線に及ぼす Copiamycin の影響

は非常にまれで分裂は見られたが、球形状の短連鎖が見られたのみであった。

c. Cop の *C. albicans* 3170 株の発育曲線に及ぼす影響

第3図に示されるごとく、Cop 添加群では誘導期の延長が起こり、対数期は薬剤濃度に応じて延長され、培養20時間で対照が定常期に達したのに比し Cop 含有培養基中では、ほぼ44~48時間を要した。

d. 他の病原性真菌に対する Cop の最少発育阻止濃度

第3表にまとめられたように、これら菌群は13種 Cop に対する感受性のばらつきが少なく、Ac-2H-Cop および Ac-4H-Cop に対してさえ最大 10 mcg/ml で発育阻止が見られた。すなわち本菌群に対しては Cop, Cop-HNO<sub>3</sub> が、0.25~5 mcg/ml で阻止し、2H-Cop, Pr-Cop, 2H-Cop-HCl, 4H-Cop-HCl, Cop-1/2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Cop-1/3H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> が 0.5~7.5 mcg/ml で Ac-Cop, Cop-HCl が 0.5~10 mcg/ml で、一例を除く 4H-Cop, Ac-2H-Cop, Ac-4H-Cop のいずれも 0.5~10 mcg/ml で阻止するが、10 mcg/ml を要する被検菌数の増加がこの順に見られた。

また一方菌種については *Histoplasma capsulatum* が最

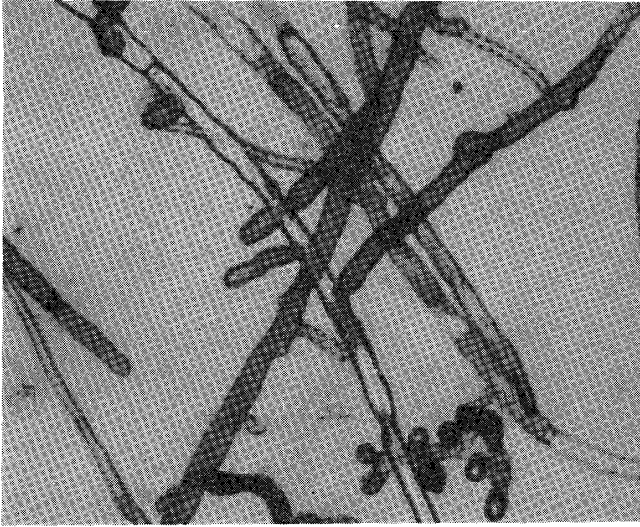
第3表 Copiamycin および誘導体の病原真菌に対する抗菌性

被 検 菌 名	Copiamycin	Cop-HNO <sub>3</sub>	2H-Cop	Pr-Cop	Cop-1/3H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Cop-HCl	4H-Cop	Ac-Cop	Cop-1/2H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2H-Cop-HCl	4H-Cop-HCl	Ac-2H-Cop	Ac-4H-Cop
<i>Cryptococcus neoformans</i> A 704	0.5	1.0	1.0	2.5	1.0	5.0	2.5	5.0	2.5	2.5	2.5	5.0	7.5
<i>Cryptococcus neoformans</i> A 759	0.5	1.0	1.0	2.5	1.0	2.5	2.5	5.0	2.5	2.5	5.0	5.0	5.0
<i>Microsporium gypseum</i> 706	1.0	2.5	2.5	2.5	2.5	5.0	5.0	5.0	2.5	2.5	5.0	5.0	5.0
<i>Microsporium canis</i> 701	0.5	5.0	2.5	5.0	5.0	5.0	2.5	5.0	2.5	2.5	2.5	5.0	5.0
<i>Sporotrichum schenkii</i> 602	2.5	2.5	5.0	5.0	5.0	5.0	7.5	2.5	5.0	7.5	7.5	5.0	2.5
<i>Blastomyces dermatitidis</i> 506	0.5	0.25	0.5	0.5	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
<i>Monosporium apiospermum</i> 213	1.0	2.5	5.0	7.5	7.5	10.0	25.0	10.0	7.5	7.5	7.5	10.0	10.0
<i>Hormodendrum compactum</i> 517	1.0	0.25	2.5	7.5	2.5	7.5	5.0	5.0	5.0	5.0	7.5	10.0	10.0
<i>Histoplasma capsulatum</i> 570	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
<i>Epidermophyton floccosum</i> 1	0.5	1.0	0.5	2.5	1.0	5.0	2.5	5.0	2.5	1.0	0.5	2.5	5.0
<i>Trichosporon cutaneum</i> 0116	0.5	1.0	1.0	2.5	1.0	5.0	2.5	5.0	2.5	2.5	2.5	5.0	10.0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	2.5	2.5	7.5	7.5	5.0	7.5	7.5	7.5	7.5	5.0	7.5	7.5	10.0
<i>Trichophyton rubrum</i>	0.75	2.5	7.5	7.5	5.0	7.5	10.0	7.5	7.5	5.0	5.0	7.5	10.0
<i>Trichophyton concentricum</i>	0.5	2.5	0.5	2.5	2.5	5.0	2.5	5.0	5.0	1.0	1.0	5.0	7.5
<i>Trichophyton tonsurans</i>	1.0	0.5	0.5	1.0	2.5	5.0	2.5	1.0	1.0	1.0	1.0	2.5	5.0
<i>Trichophyton sabouraudi</i>	1.0	1.0	0.5	1.0	2.5	5.0	2.5	2.5	2.5	1.0	2.5	2.5	2.5

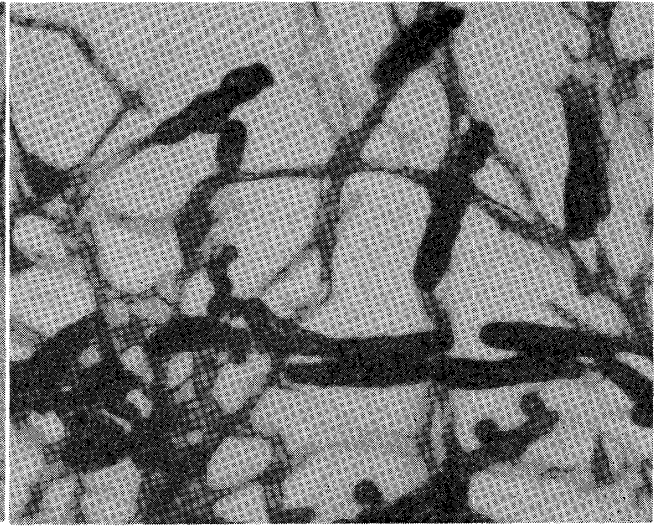
培養基: Sabouraud 寒天 (pH 6.0), 判定: 27°C, 72 時間培養後, 数値は最少阻止濃度 mcg/ml



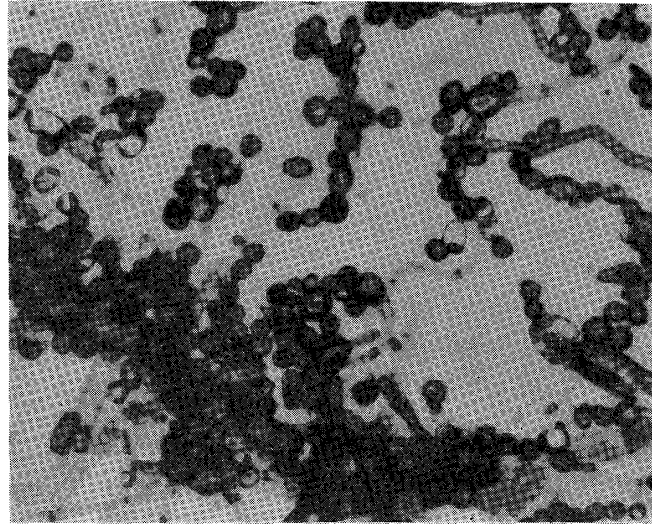
対照-1 菌糸状発育



対照-2 Macroconidia 形成



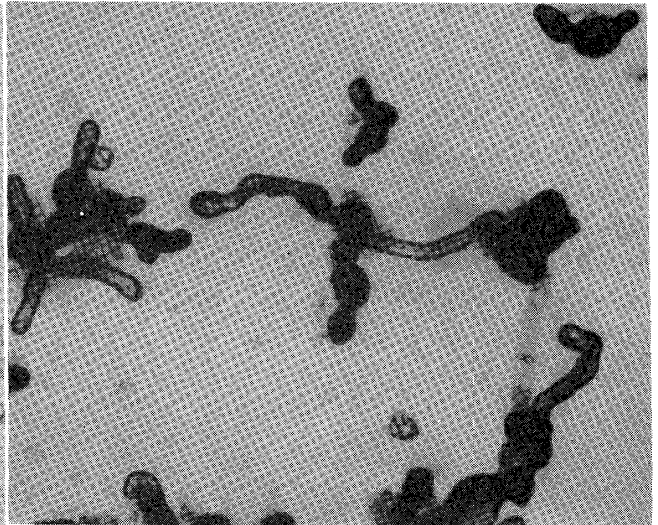
対照-3 Microconidia 形成



Cop 10 mcg/ml 不完全形菌糸形成



Cop 10 mcg/ml Knob 形成



第4図 *Trichophyton mentagrophytes* の発育に及ぼす Copiamycin の影響

も感受性高く 0.25, もしくは 0.5 mcg/ml で阻止され, *Blastomyces dermatitidis* は 0.25~1 mcg/ml, *Trichophyton tonsurans*, *T. sabouraudi*, および *Epidermophyton floccosum* は 0.5~5.0 mcg/ml, *T. concentricum* は 0.5~7.5 mcg/ml, *Cryptococcus neoformans* は 1.0~5.0 もしくは 7.5 mcg/ml, *Microsporium gypseum* および *M. canis* はいずれも 2.5 もしくは 5.0 mcg/ml で, *Trichosporon cutaneus* は 1.0~10mcg/ml の濃度で, *Sporotrichum schenkii* は 2.5~7.5 mcg/ml で, *Trichophyton mentagrophytes* と *T. rubrum* は 2.5~10 mcg/ml, 大半は 7.5 mcg/ml で, *Hormodendrum compactum* は 0.25~10 mcg/ml にわたる濃度で, *Monosporium apiospermum* は最も感受性低く 2.5~25 mcg/ml であり, うち 5 誘導体に対しては 7.5 mcg/ml で発育が阻止された。

e. *T. mentagrophytes* におよぼす Cop の形態学的変化

第 4 図に見られるように, 対照ではよく発達した菌糸を進展せしめ, かつ幾多の macro- および micro-conidia の着生を見たが不完全阻止濃度では, 十分な菌糸形成が見られず, knob の連結したような形態を示し孢子形成はなかった。

f. 培養基 pH の Ac-Cop 抗菌力に対する影響

pH は 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 を選択したが, 第 4 表に記載したように, 一般に弱酸性より中性からアルカリ性で抗菌力が強く, *Candida* 菌群より *Trichophyton* 菌群に

第 4 表 Acetylcopiamycin の抗菌力に及ぼす pH の影響

被 検 菌	pH			
	5.0	6.0	7.0	8.0
<i>Candida albicans</i> ATCC 3170	10	5	5	2.5
<i>Candida albicans</i> ATCC 3036	10	5	5	5
<i>Candida albicans</i> 新海	25	7.5	7.5	7.5
<i>Candida albicans</i> YU-1200	5	1	1	1
<i>Candida guilliermondii</i>	25	10	10	5
<i>Candida tropicalis</i>	7.5	5	2.5	2.5
<i>Candida krusei</i>	25	7.5	5	2.5
<i>Candida parakrusei</i>	50	10	10	2.5
<i>Candida stellatoidea</i>	5	5	5	2.5
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	2.5	2.5	2.5	2.5
<i>Trichophyton rubrum</i>	1	2.5	2.5	2.5
<i>Trichophyton tonsurans</i>	1	1	1	1

培養基には Sabouraud 寒天を使用  
*Candida* は 37°C, 24 時間培養後判定  
*Trichophyton* は 27°C, 72 時間培養後判定  
 数値は最少阻止濃度を示し, 単位は mcg/ml

対する方が, 抗菌性に及ぼす pH の影響は少かった。すなわち *Trichophyton rubrum* に対して pH 5 では pH 8 の約 2 倍の最少発育阻止濃度を示したが, *T. tonsurans* および *T. mentagrophytes* に対しては pH 5~pH 8 の間では一定であった。

一方, *Candida* 菌群に対しては同じく pH 8.0 と pH 5.0 で抗菌力は *Candida albicans* ATCC 3036 と *C. stellatoidea* で 1:2 と, *C. krusei* では 1:10, さらに *C. parakrusei* では 1:20, 他の *Candida* 属菌株は, いずれも 1:3, 1:4, あるいは 1:5 と前三者の中間を示したが, 総じて, pH 5 では pH 8 の際の倍量から 20 倍量の最少発育阻止濃度を必要とした。

g. 血清添加による Cop 不活化作用

第 5 表に示されるごとく, 一般に *Trichophyton* 菌群に対する方が *Candida* 菌群に対するより, 不活化は少なかった。すなわち *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *C. albicans* ATCC 3170, *T. tonsurans*, *C. albicans* YU-

第 5 表 Copiamycin および誘導体の抗菌力に及ぼす血清の影響

被 検 菌	血清 (%)	薬 剤 名			
		Copia-mycin	Ac-Cop	Cop-HNO <sub>3</sub>	2H-Cop
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0	1	2.5	2.5	5
	2	2.5	2.5	5	5
	5	5	5	5	10
	10	10	5	10	10
<i>Trichophyton rubrum</i>	0	2.5	5	5	10
	2	10	5	25	10
	5	25	10	25	25
	10	25	25	25	25
<i>Trichophyton tonsurans</i>	0	2.5	5	2.5	5
	2	10	5	5	10
	5	25	10	25	25
	10	25	25	25	25
<i>Candida albicans</i> ATCC 3170	0	2.5	5	5	10
	2	10	10	10	10
	5	25	10	25	25
	10	25	25	50	25
<i>Candida albicans</i> YU-1200	0	1	2.5	1	1
	2	2.5	5	5	10
	5	10	10	10	10
	10	25	25	25	25

培養基: Sabouraud 寒天 (pH 7.0)  
 判定: 27°C, 120 時間培養後  
 数値は最少阻止濃度 mcg/ml.

1200 の順で血清添加による感受性の低下が見られた。また使用4種薬剤の血清による不活化の度合は2H-Cop, Ac-Cop, Cop-HNO<sub>3</sub>, Cop の順に強かった。また一般に血清量と不活化の程度の間には比例的な関係が見られた。

すなわち血清による感受性低下の最も少なかった *T. mentagrophytes* においては血清2%添加で Ac-Cop と 2H-Cop に不活化はなく, Cop と Cop-HNO<sub>3</sub> は半減し, また血清10%添加で Ac-Cop と 2H-Cop は半減し, Cop-HNO<sub>3</sub> は  $\frac{1}{4}$ , Cop は  $\frac{1}{10}$  にまで低下した。さらに最も感受性低下の著しかった *C. albicans* YU-1200 では, 血清2%添加で Cop と Ac-Cop で抗菌力が半減し Cop-HNO<sub>3</sub> では  $\frac{1}{5}$  に, 2H-Cop では  $\frac{1}{10}$  に減少し, さらに10%添加では Ac-Cop が  $\frac{1}{10}$ , 他三剤 Cop, Cop-HNO<sub>3</sub>, 2H-Cop ではいずれも  $\frac{1}{25}$  に力価の減少を見た。他三種被検菌に対する添加血清量の抗菌力におよぼす影響

第6表 陸カンジダ症由来 *C. albicans* の Copiamycin および Acetylcopiamycin に対する感受性分布

最少阻止濃度 mcg/ml	菌 株 数	
	Copiamycin	Acetylcopiamycin
2.5	12	0
5.0	3	0
7.5	5	11
10.0	5	11
25.0	3	7
50.0	1	0

培養基: Sabouraud 寒天 (pH 7.0)  
判定: 37°C, 20 時間培養後

は, 前記二菌種の間中に位していた。

h. 陸 Candidiasis 由来 *C. albicans* の Cop 感受性について

被検29株の Cop および Ac-Cop 感受性は第6表に示されるように, Cop に対して2.5 mcg/ml で発育を阻止されたものが12株, 他の17株の感受性は5.0~50.0 mcg/ml 間に分布していた。しかるに Ac-Cop については, 7.5 および 10.0 mcg/ml の最少阻止濃度を示すものが11株ずつあり, 他の7株は25.0 mcg/ml で阻止された。

i. Cop の拡散性と拡散法による抗菌力について

第7表に示されるごとく Cop の蒸留水懸濁液を paper disk 法で検定すると, 500 mcg/ml 以下の濃度では何ら阻止像が見られず 500 mcg/ml 以上 5 mg/ml でも disk の周辺に僅少な阻止帯を見るのみであった。すなわち 500 mcg/ml で 9.1 mm, 1 mg/ml で 9.9 mm, 5 mg/ml で 11.6 mm であった。一方水溶性誘導体 Ac-Cop 水溶液においては, 100 mcg/ml 以下で阻止帯なく 250 mcg/ml 以上, その含有量に比例して経の大きな阻止像が得られた。すなわち 1 mg/ml, 14.2 mm, 500 mcg/ml, 13.0 mm および 250 mcg/ml, 12.0 mm であった。

また Cop および Ac-Cop を用いて溶解液の適否を検討したが, Ac-Cop では水溶液が 250 mcg/ml 以下の濃度で全く阻止像を示さなかったのに反し, PEG 溶液では 100 mcg/ml でも 10.5 mm の阻止像を示し, PG 溶液では, 25 mcg/ml の低濃度でも 13.0 mm の阻止像を示した。ちなみに Ac-Cop 250 mcg/ml の三溶液の示す阻止像の大きさは, 12.0 mm, 14.3 mm, 16.8 mm で水溶液, PEG 溶液, PG 溶液の順に拡散性のよい事を示した。一方 Cop においては水懸濁液では 500 mcg/ml の

第7表 Copiamycin および Acetylcopiamycin の拡散性に及ぼす溶剤の影響

薬 剤 お よ び 基 剤	薬 剤 濃 度 (mcg/ml)								
	5000	1000	500	250	100	50	25	10	5
Copiamycin 水懸濁液	11.6	9.9	9.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Copiamycin PEG 溶液	17.8	16.1	14.3	12.6	12.1	10.6	9.9	9.9	9.3
Copiamycin PG 溶液	18.8	14.1	13.6	14.4	14.2	11.4	9.6	8.9	0.0
Acetylcopiamycin 水溶液	—	14.2	13.0	12.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Acetylcopiamycin PEG 溶液	—	18.4	17.3	14.3	10.5	9.4	9.5	9.0	9.3
Acetylcopiamycin PG 溶液	—	17.9	17.5	16.8	14.8	13.9	13.0	0.0	0.0
Polyethylen glycol (PEG) 溶液	9.5								
Propylenglycol (PG) 溶液	0.0								

薬剤各濃度液 0.04 ml を paper disk に滴下, 風乾後, 寒天平板上に添付, 37°C, 18 時間培養後, 阻止円直径を mm で記載。

0.0 は paper disk 周辺に阻止帯の見られぬこと。paper disk 直径は 7.8~8.0 mm。

PEG: polyethylen glycol, PG: propylenglycol。



高濃度で9.1 mm という僅少な阻止像を示したのに対し、PEG 溶液では50 mcg/ml で10.6 mm, PG 溶液では10.0 mcg/ml でも8.9 mm というわずかな像ではあったが阻止帯を示した。すなわち、Cop 500 mcg/ml 液の示した阻止像は、水懸濁液で9.1 mm, PEG 溶液で14.3 mm, PG 溶液で13.6 mm という拡散性の相異を示していた。

また、溶剤としてPG 液は全く阻止像を示さなかったが、PEG 液は9.5 mm 程度の阻止像を示した。Cop のPG 溶液では1000 mcg/ml~100 mcg/ml 間では、濃度差は阻止像の大小に示されなかった。

j. *Trichomonas vaginalis* 1099 の各種 Cop 誘導体に対する感受性

比較的抗菌性のすぐれていた9種 Cop 誘導体につき検査した。第8表に記されたごとく水溶性誘導体6種中

第8表 Copiamycin および誘導体の抗 *Trichomonas* 作用

	100	50	25	12.5	6.25	3.13	0
Copiamycin	—*	—*	—*	—*	—	—	—
2H-Cop	+*	+*	+*	—*	—*	—	—
4H-Cop	+*	—*	—*	—	—	—	—
Ac-Cop	++	++	+	—	—	—	—
Pr-Cop	++	+	+	+	—	—	—
Cop-1/3 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	+*	—*	—*	—*	—	—	—
Cop-HNO <sub>3</sub>	+	—	—	—	—	—	—
Cop-HCl	+	—	—	—	—	—	—
Cop-1/2 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+	—	—	—	—	—	—

被検菌: *Trichomonas vaginalis* 1099

培養基: 10% 血清加F培養基

判定: 37°C, 20時間培養後, 光顕下で行なう。

++: 全死

+: 発育もしくは運動阻害

—: 正常発育

\*: 薬剤析出

第9表 Copiamycin の抗 *Trichomonas* 作用に及ぼす Viscous liquid の影響

	培養時間 (hr)	200	100	50	25	12.5 mcg/ml	0...Cop
		1%	0.5%	0.25%	0.13%	0.063%	0...PEG
Cop+Polyethylenglycol	24	++	++	++	—	—	—
	48	++	++	++	+	—	—
Polyethylenglycol	24	+	+	—	—	—	—
	48	+	—	—	—	—	—

被検菌: *Trichomonas vaginalis* 1099。

培養基: 30% 血清加培養基。

判定: 37°C, 表記時間培養後, 光顕下で行なう。

++: 全死。+: 発育もしくは運動阻害。—: 正常発育。

Cop 磷酸塩に結晶の析出が見られたが他には結晶の析出なく、顕微鏡下で Ac-Cop では50 mcg/ml 以上, Pr-Cop では100 mcg/ml に全死が見られ、後者では12.5 mcg/ml に至るまで、また前者では25 mcg/ml に発育阻害が見られた。他の水溶性 Cop 誘導体、すなわち磷酸塩、塩酸塩、硝酸塩および硫酸塩では、いずれも100 mcg/ml に発育阻害が見られ、全死は見られなかった。

一方水に難溶性の Cop, 2H-Cop および 4H-Cop においては稀釈により結晶析出を見た事は当然であったが、2H-Cop では100~25 mcg/ml まで発育阻害が見られ、4H-Cop では100 mcg/ml に発育阻害が見られたが、Cop では100 mcg/ml ですら阻害作用も見られなかった。

一方第9表に見られるごとく Cop を PEG に溶解後検定が行なわれた時溶剤対照では第1管のみ(溶剤量にして0.5%) に発育阻害が見られたのに反し、Cop 含有試験管においては、第3管まで、すなわち PEG 0.25%, Cop 50 mcg/ml まで全死、25 mcg/ml で阻害が見られた。

また第10表に示されるように血清添加量の Ac-Cop の抗 *Trichomonas* 作用への影響もしらべられた。血清10% 加培養基では50 mcg/ml まで全死、25 mcg/ml に発育阻害が見られたが30% 血清量になると、100 mcg/ml で全死、50 mcg/ml で発育阻害が見られ、結果として血清による不活化が見られた。

3. 考案および小括

病原イーストに分類される *Candida* 属菌6菌種12菌株の Cop 群薬剤に対する感受性は、*C. albicans* が一般に高く、特に YU-1200 株がすぐれた感受性を示し、Cop-base, Cop-HNO<sub>3</sub> に0.25 mcg/ml の最少発育阻止濃度を示した。*C. stellatoidea* はどの薬剤に対しても一率に比較的高い感受性を示し、他の菌には50 mcg/ml とい

第 10 表 Acetylcopiamycin の抗 *Trichomonas* 作用に及ぼす血清の影響

血清濃度 (%)	培養時間 (hr)	薬 剤 濃 度 (mcg/ml)					
		200	100	50	25	12.5	0
10	24	+	+	—	—	—	—
	48	+	+	+	—	—	—
30	24	+	+	—	—	—	—
	48	+	+	—	—	—	—

被検菌: *Trichomonas vaginalis* 1099.

培養基: 血清加 F 培養基。

判定: 37°C, 表記培養時間後, 顕微鏡下で行なう。

+: 全 死。

+: 発育もしくは運動阻害。

—: 正常発育。

う高い最少発育阻止濃度を要した Ac-4H-Cop においても 7.5 mcg/ml で阻止された。また一般に *Candida* 菌群に対する抗菌力の順は Cop, Cop-HNO<sub>3</sub>, 2H-Cop, Cop-1/3H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Pr-Cop, Cop-HCl, Cop-1/2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 4H-Cop, Ac-Cop, 2H-Cop-HCl, 4H-Cop-HCl, Ac-2H-Cop および Ac-4H-Cop であった。

また陸 *Candidiasis* より分離された *C. albicans* は Ac-Cop では 7.5~10 mcg/ml で発育を阻止され, Cop では 2.5 mcg/ml でほぼ半数が阻止されたが, 一方 50 mcg/ml を要する株も 1 株見られた。

一方, 他の病原真菌に対する抗菌力は一般に強く, 抗菌性の順位は被検菌が 8 菌属に属したためか一既にいえないが Cop, 2H-Cop, Cop-HNO<sub>3</sub>, 2H-Cop-HCl, Pr-Cop, 2H-Cop-HCl, 4H-Cop-HCl, Cop-1/2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Ac-Cop, Cop-HCl, 4H-Cop, Ac-2H-Cop, Ac-4H-Cop となった。しかしながら *Candida* に対し最も抗菌力の低かった Ac-4H-Cop ですら 10 mcg/ml 以下の最少阻止濃度で十分に発育を阻害した。

本菌群で感受性の高かったものは *Blastomyces dermatitidis* 506 と *Histoplasma capsulatum* 517 であり, 0.25~0.5 mcg/ml という低濃度でいずれの Cop でも発育を阻止された。

以上 *Candida* 以外の被検真菌には Cop に対する感受性の一層高い株が見られた。

*Candida* の発育曲線に及ぼす影響は, 誘導期の延長であった。

形態学的には *Candida* および *Trichophyton* が菌糸状発育を行わず, 後者ではまた micro-, macroconidia, 着生能の欠損などもおもな変化であった。

抗菌力に及ぼす検定用培養基の pH は中性から弱アルカリ性側に至適域が見られた。

血清による不活化は Cop と Cop-HNO<sub>3</sub> で強く, *Trichophyton* より *Candida* に対し強かった。また *Trichomonas* でも同様の結果が見られた。

*Trichomonas vaginalis* に対する殺虫作用が, 水溶性誘導体の Ac-Cop と Pr-Cop に見られたが, 水に難溶性の Cop 自体においても溶剤を選別することにより, たとえば polyethylenglycol などで結晶の析出なく *Trichomonas* に殺虫的もしくは阻止的に作用する事が判明した。しかし血清添加量が多くなると血清による Cop の不活化が起こると同時に *Trichomonas* 自体の発育増進も見られ阻止濃度が高まるものと考えられた。

拡散性の問題は Cop の定量を容易にし cup 法, もしくは paper disk 法で行ないうる事を示唆した。

#### IV. Copiamycin およびその誘導体の生体内作用

##### A. 動物実験

##### a. 毒性試験

##### 1. 実験材料および実験方法

急性毒性算定のためには体重 15~17g の DDF 系マウスを使用し Behrens-Körber 法に準じた。

粘膜の刺激性試験には, 家兎を用い眼粘膜に塗布を行なった。

急性毒性検査のため, 被検 Cop 誘導体中, 水溶性のものは生食水に所定濃度に溶解し, 他方水に難溶のものは 1.5% carboxy methyl cellulose に懸濁した。一方刺激性試験用には Ac-Cop, 2H-Cop, Pr-Cop の三剤が選ばれ, いずれも 1% 親水軟膏を作製その 100 mg を毎日 1 回 7 日間塗布し 10 日間にわたり観察した。

##### 2. 実験成績

第 11 表にまとめられたように, 水に難溶もしくは不溶のものは比較的毒性が低く Ac-Cop など, 水溶性の誘導体では毒性がより強かった。Ac-Cop, Pr-Cop および 2H-Cop 以外では静脈内注射のみが行なわれた。

すなわち 4H-Cop, 2H-Cop-HCl が最も静脈内注射の毒性高く LD<sub>50</sub> は 9.4 mg/kg, Ac-4H-Cop, Cop-1/2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> では 11 mg/kg, Cop-HNO<sub>3</sub> は 12 mg/kg, Ac-Cop で 13 mg/kg, Pr-Cop で 15 mg/kg, Ac-2H-Cop は 17 mg/kg 最も毒性の低かった Cop-HCl, 4H-Cop-HCl では 25 mg/kg であった。一方, 腹腔内注射および経口投与においては Ac-Cop の方が Pr-Cop より一層毒性弱く静脈内注射の 1.8 倍および 80 倍以上の LD<sub>50</sub> 値を示した。

一方, 粘膜刺激作用は第 12 表に見られるごとく Ac-

第11表 Copiamycin および誘導体の  
マウスに対する急性毒性

薬 剤 名	投 与 法	<i>per os</i>	<i>I. P.</i>	<i>I. V.</i>
Ac-Cop		1085	24.3	13.28
Pr-Cop		725	20.5	15.10
2H-Cop*		1500	130	—
4H-Cop		—	—	9.4
Ac-2H-Cop		—	—	16.8
Ac-4H-Cop		—	—	11.3
Cop-HCl		—	—	25
2H-Cop-HCl		—	—	9.4
4H-Cop-HCl		—	—	25
Cop-1/2 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		—	—	11.2
Cop-HNO <sub>3</sub>		—	—	12.3

\* 0.5% CMC 懸濁液として投与, 他は水溶液として投与。

第12表 Copiamycin 誘導体の家兎眼粘膜  
に対する刺激作用

薬 剤	Cop/軟膏 回 日数	非正常/ 家兎数
Acetylcopiamycin	1 mg/100 mg × 1 × 7	0/4
Propionylcopiamycin	1 mg/100 mg × 1 × 7	2*/4
Dihydrocopiamycin	1 mg/100 mg × 1 × 7	0/4
対 照	0 mg/100 mg × 1 × 7	0/15

\* 1羽に眼瞼の浮腫が第5日目に見られ, 他1羽に少量の分泌物が第3日目~第4日目に見られた。いずれの症状も第6日目まで見られたが, 第9日目には完全に治癒した。

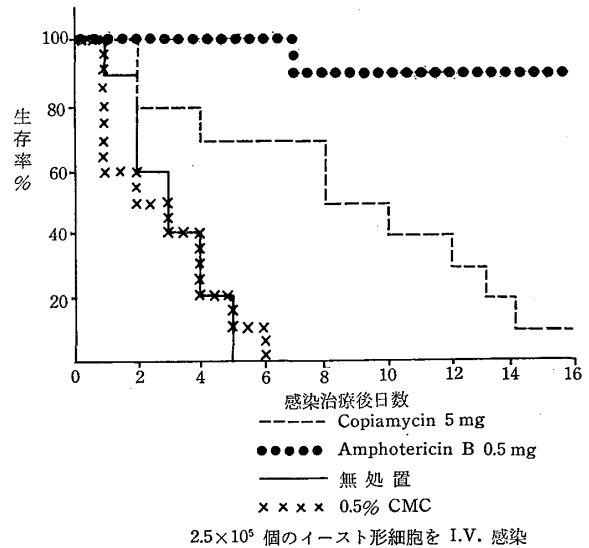
Cop および 2H-Cop, 1 mg 塗布では各4羽とも無変化であったが Pr-Cop, 1 mg 塗布第2回後より, 4羽中2羽に, うち1羽は眼瞼の浮腫が第5日目に, 他方には第3日~第4日にかけて眼瞼にごく少量の分泌物を認めた。これらの症状は第6日目に至るまで見られたが第9日目には完全に消失していた。

#### b. Candida 感染防禦試験

##### 1. 実験材料および実験方法

感染菌株として *Candida* 症より分離されマウス継代により毒力をあげられた *C. albicans* 西村株を使用し新鮮培養スラントより, 生食水に浮遊させ, その0.5 ml を DDF 系体重 16 g 前後のマウス各群 10 匹もしくは 8 匹に感染せしめた。

Cop 治療による延命効果検討のためには, 静脈内感染を行ない3時間後に Cop 5 mg の 0.5% CMC 液もしくは薬剤対照として Amphotericin B 500 mcg の生食水溶液を同じく静脈内注射し治療後, 斃死に至るまで16日間観察を行なった。



第5図 *Candida albicans* 西村株, 静脈内感染マウスの Copiamycin による延命効果

一方, *Candida*  $1 \times 10^8$  イースト形細胞を腹腔内感染せしめ, 3日間, 1日1回(初回, 3時間後)治療を行ない, 菌接種後10日目に撲殺し, 各臓器剖見を行なった。

#### 2. 実験成績

Cop による延命効果は第5図に示されるごとく Ampho. に比しおとつたが, 無処置群もしくは0.5% CMC 群より, 延命を示した。すなわち, CMC 処置群および無処置群では, 2日目に50%もしくは40%が死に, 第5日~第6日にかけて全死した。また Ampho. 治療群では, 第7日目に10%が死に, 残り90%のマウスは, 第16日に至るも生存した。

一方, Cop 治療群では, 第16日目にかけ, 順次斃死した。すなわち, 2日目に80%, 8日目に50%生存となり, さらに16日目には10%の生存マウスを見たのみであった。

臓器剖見所見よりすると, Ampho. 治療群に全臓器に異常を認めなかったマウスが2匹いたのに比し, 他群のマウスでは, いずれかの臓器に *Candida* 感染のための病変を認めた。

すなわち第13表に示すように, 腎臓, 肝臓, 横隔膜などに膿瘍が見られ, 脾臓の肥大腫張も共通して見られた。Ampho. 治療群では脾臓の肥大腫張と横隔膜に膿瘍が見られたのみであった。横隔膜の癒着が Cop もしくは Ampho. 治療群に2例ずつ見られた。

Cop 治療群は剖見上は, 無処置群, CMC 処置群に優れる成績を示さなかった。

#### c. Trichophyton 感染防禦試験

##### 1. 実験材料および実験方法

250 g 前後のモルモットを用い科研法<sup>17)</sup>に準じ, 実験

第 13 表 *Candida albicans* 西村株腹腔内感染マウスの Copiamycin による治療成績

処 置	剖 見 所 見
無 処 置 群	腎 臓: 膿瘍 2/8, 貧血 4/8, 脾 臓: 肥大腫脹 7/8, 貧血 3/8, 横隔膜: 膿瘍 5/8
Copiamycin 6 mg 群	腎 臓: 膿瘍 4/8, 貧血 4/8, 脾 臓: 肥大腫脹 5/8, 貧血 3/8, 肝 臓: 膿瘍 7/8, 横隔膜: 膿瘍 6/8, 癒着 2/8,
Amphotericin B 0.6 mg 群	脾 臓: 肥大腫脹 6/8, 貧血 1/8, 横隔膜: 膿瘍 5/8, 癒着 2/8, 正 常: 2/8
0.5% CMC 群	腎 臓: 膿瘍 2/8, 貧血 4/8, 脾 臓: 肥大腫脹 7/8, 貧血 3/8, 膿瘍 1/8, 副 腎: 肥大 1/8, 肝 腎: 膿瘍 2/8, 貧血 1/8, 横隔膜: 膿瘍 6/8

を行なった。すなわち両体側に各 3 箇所ずつ 3 cm 四方の脱毛部位を作製, 紙鏟で皮膚に細傷をつけ, Pc, SM 液 (Pc 5 万 u/ml, SM 20 mg/ml) で, あらかじめ細菌感染の予防を行なった。

感染菌は *T. mentagrophytes* で 3 回モルモット通過後の新鮮培養菌を用い,  $1 \times 10^8$ /ml の孢子浮遊液を作製し上記露出皮膚面に新鮮孢子浮遊生食水を小筆で十分に塗布, 風乾させる。

治療用薬剤として Ac-Cop, 2H-Cop の 2 者を選択, 各 3%, 5%, 10% 含有チンキ剤もしくは軟膏剤を作製, 対照として Merzonin 0.2% 剤を用いた。軟膏基剤は, polyethylenglycol No. 400 56.85 g 同じく No. 4000 37.90 g, alantoine 0.25 g よりなり, 一方, チンキ基剤は alantoine 0.25 g, 塩化ベンザルコニウム 0.1 g, サリチル酸メチル 5 ml, propylenglycol 2 ml を 75% (v/v) メタノール変性アルコールで 100 ml としたものを使用した。

感染 2 日後より, 1 日 1 回軟膏およそ 0.5 g, チンキ 0.3 g をもって治療した。治療箇所はラテン方格に組まれた。

結果の判定には, 発赤, 鱗屑, 硬結の有無のほか, 皮膚組織内の生菌数の多寡を各感染治療部位を 12 片に細切し, うち 10 片を Sabouraud 寒天上にのせ 37°C で 5 日間培養し増殖菌の有無もしくはその菌量より判定した。

第 14 表 Acetylcopiamycin および Dihydrocopiamycin のモルモット白癬症に及ぼす実験化学療法

薬 剤	濃 度	剤 型	白癬菌 陽性 切片数 /60	発赤 /6	鱗屑 /6	硬結 /6
Acetyl copiamycin	3%	チンキ	5	5	5	0
	5%	〃	7	6	6	0
	10%	〃	7	6	5	0
	3%	軟膏	14	6	3	0
	5%	〃	11	6	3	0
	10%	〃	5	5	0	0
Dihydrocopia- mycin	3%	チンキ	17	4	5	0
	5%	〃	14	4	6	0
	10%	〃	13	2	6	0
	3%	軟膏	22	4	4	0
	5%	〃	11	3	4	0
	10%	〃	3	3	3	0
Merzonin	0.2%	チンキ	1	0	5	0
	0.2%	軟膏	3	1	3	0
対 照...1	0	チンキ	42	4	6	0
	0	軟膏	40	5	4	0
対 照...2	0	0	40	3	4	0

対照...2 は *Trichophyton mentagrophytes* 感染のみ。

## 2. 実験成績

第 14 表に示されるごとく, 対照群, 治療群を問わず, 硬結は全くなく, 発赤は Merzonin 治療群にほとんどなかったのに反し Ac-Cop 治療群ではほとんど 100% に, 2H-Cop 治療群には約 60% ほど, 軽度の発赤が見られた。また鱗屑も多少の差はともかく, チンキ剤塗布群 (対照も含め) に 80~95% に第 4~第 6 日目にかけて多量に附着が見られたのに反し軟膏塗布群では 50~60% に鱗屑を観察し得た。いずれも第 8~9 日目には鱗屑の減少が目立った。

*Trichophyton* 陽性切片数は, 無処置対照群に 60 片中 38~42 片陽性, Merzonin 処置群では 1 ないし 3 片であったが一方 Ac-Cop, 2H-Cop 治療群ではチンキ剤, 軟膏剤のいかんを問わず Ac-Cop の方が陽性切片数が少なくすぐれていた。すなわち Ac-Cop チンキで 5~7 片, 軟膏で 14, 11, 5 片と薬剤濃度の増加に伴い減少し, 2H-Cop ではチンキ 17, 14, 13 と大差なく, 軟膏が 22, 11, 3 とほぼ薬剤濃度に逆比例していた。

Ac-Cop チンキ剤治療群を除き, 他の Cop 治療群では当然の事ながら薬剤含量の多いほど, 生存菌量は少ない事が判明した。

## d. 小 括

Cop群抗生物質のマウスに対する急性毒性を静脈内注射により試験すると、水溶性誘導体の方が水に難溶もしくは不溶の Cop より毒性高く 2H-Cop-HCl が LD<sub>50</sub> 9.4 mg/kg, Pr-Cop が 15 mg/kg で、最も毒性の低かった Cop-HCl は 25.0 mg/kg を示した。一方、腹腔内注射、経口投与ではより一層毒性が低く Ac-Cop はそれぞれ 24.5 mg/kg および 108.5 mg/kg という LD<sub>50</sub> 値を示した。

眼粘膜刺激性を家兎によりしらべた。2H-Cop, Ac-Cop 各 1 mg/day では何ら刺激性を示さず Pr-Cop では 4 羽中 2 羽に眼瞼の浮腫もしくは微量の分泌液を認めしたが、これらの症状はいずれも投薬開始後第 9 日目には消失した。これより少量では何らの症状も見られなかった。

*Candida albicans* 静脈内および腹腔内感染マウスの Cop および Ampho. による治療実験の結果では、Cop は対照に比してやや治療効果があったが、延命効果、臓器変化いずれにおいても Ampho. に及ばなかった。

一方、モルモット白癬症の治療実験においては、Ac-Cop と 2H-Cop のチンキ剤と軟膏剤を用い各 3%, 5%, 10% で治療したが、Ac-Cop チンキが治療後組織内の生菌数の点で最もすぐれ、次いで Ac-Cop 軟膏, 2H-Cop チンキ最後にその軟膏という具合であった。これは Ac-Cop が水溶性であり 2H-Cop が難溶もしくは不溶性であるという性質によると考えられた。

## B. 臨床予備試験

## a. 皮膚 Patch test

## 1. 使用薬剤および投薬法

使用薬剤は Ac-Cop で 3% 白色ワセリン軟膏とした。

貼布法は、上記軟膏を 5 cm 四方のフランネル片に大径 2 cm 厚さ 3 mm にぬり上膊部に貼布さらに固定し、入浴を禁じ、24 時間および 48 時間後に判定を行なった。

## 2. 成績および考案

4 例中 1 例に多少の発赤を見たが本例は、フランネル固定に用いた日絆テープによるカブレも見られ、一応特異体質であると考えられ刺激作用はないものと判定された (第 15 表参照)。

## b. 腔 Candida 症および Trichomonas 症の治療

## 1. 使用薬剤, 治療法ならびに判定法

供試 Copiamycin 腔錠は Cop または Ac-Cop 10 mg もしくは 20 mg, 酒石酸 208 mg, クエン酸 132.5 mg, 炭酸ナトリウム 390 mg, ステアリン酸マグネシウム 11.5 mg を一錠中に含有する発泡錠である。

第 15 表 Acetylcopiamycin 3% 軟膏による皮膚 Patch test

例 数	性 別	年 令	結 果	
			24時間	48時間
1	女	16	—	+
2	女	17	—	—
3	女	23	—	—
4	男	30	—	—

24 時間後陽性率 = 0/4

48 時間後陽性率 = 1/4

治療対象は昭和 41 年 4 月から約 6 カ月間当病院外来を訪れた 29 名の腔 *Candida* 症患者であり、その年令は最少 20 才から最高 75 才におよび妊婦を含まない。

錠剤の使用法として、腔を洗滌する事なく、綿球で清拭した後、後腔円蓋に上記錠剤 1 錠を 1 日 1 回挿入する様式をとった。

治療効果の判定には、清浄度、帯下の量、色調、pH、*Candida* あるいは *Trichomonas* の消褪、痒痒感の変化などを常法により調査し、薬物の副作用をも併せ考慮した。腔清浄度、すなわち帯下の量、色調などは他覚的に観察し、pH は東洋濾紙製比色 pH 試験紙を用いこれらを総じて Schröder の分類による腔清浄度で表わし、一方 *Candida* の消長は水野・高田培地で 48 時間 37°C に培養後判定し、*Trichomonas* の消長は腔液を生食水に懸濁し直接光学顕微鏡下で原虫を観察する事により判定、また自覚症状としての帯下感、痒痒感の改善なども調べた。

## 2. 治療成績および考案

第 16 および 17 表に治療成績を一括した。治療例数 29 例中 Cop 腔錠を使用したもの 11 例, Ac-Cop 腔錠を使用したもの 18 例で、それらの使用回数は Cop 錠が 3~25 回, Ac-Cop 錠が 3~19 回の使用で一次治癒した。いずれにも副作用は見られなかった。

自覚症状消失までの使用回数は 2~9 回, 平均 3.5 回であり Cop および Ac-Cop 間に著明な相異は認められなかった。

Cop 治療群には 1 例 *Candida* と *Trichomonas* の混合感染が見られ Ac-Cop 治療群には 2 例の混合感染と 6 例の *Trichomonas* の単独感染が見られ、それら以外はすべて *Candida* の単独感染であった。

併用薬は、いずれの例においてもなく、それぞれ Cop もしくは Ac-Cop による単独療法であった。

*Candida* 消失までの治療回数は Cop 群で 1~19 回, Ac-Cop 群で 3~15 回であったが、*Trichomonas* 消失

第 16 表 Candida 感染腔炎の Copiamycin 10 mg 含有腔錠による治療成績

症 例	年 令	微生物		治療 回数	消失までの治療回数			治療による帯下の変化				副 作 用	判 定
		Candida	Tricho- monas		Candida	Tricho- monas	癢 痒 感	液 性 (pH)	清 浄 度 (o)	色 調	量		
1	33	+	-	8	1	-	2	6.0→4.6	II→I	白→白	十→十	-	有効
2	31	+	-	9	7	-	4	5.0→4.6	II→I	白→白	2+→+	-	〃
3	29	+	-	12	4	-	7	6.8→5.8	II→I	白→白	2+→+	-	〃
4	25	+	2+	25	18	+	6	6.4→5.0	III→II	黄→白	3+→2+	-	無効
5	25	+	-	3	1	-	-	4.2→4.2	II→I	白→白	2+→+	-	有効
6	33	+	-	3	1	-	2	4.5→4.2	III→I	白→白	2+→+	-	〃
7	33	+	-	20	19	-	9	5.2→4.8	III→I	白→白	2+→+	-	無効
8	27	+	-	10	9	-	2	6.2→4.6	II→II	黄白→白	2+→+	-	有効
9	39	+	-	4	1	-	3	5.0→5.0	III→II	白→白	2+→+	-	〃
10	42	+	-	4	2	-	2	4.8→4.8	II→II	白→白	2+→+	-	〃
11	23	+	-	10	6	-	6	7.2→4.8	II→II	白→白	2+→+	-	〃

第 17 表 Candida あるいは Trichomonas 感染腔炎の Acetylcopiamycin 腔錠による治療成績

症 例	年 令	微生物		治療 回数	消失までの治療回数			治療による帯下の変化				副 作 用	判 定
		Candida	Tricho- monas		Candida	Tricho- monas	癢 痒 感	液 性 (pH)	清 浄 度 (o)	色 調	量		
1	32	+	-	5*	1	-	-	6.8→5.4	III→I	白→白	2+→+	-	有効
2	75	+	2+	5*	1	-	-	5.4→4.8	II→II	白→白	十→+	-	〃
3	24	+	2+	3*	1	+	2	6.4→6.0	III→III	黄→黄	3+→+	-	〃
4	41	+	-	4	3	-	2	6.6→6.0	III→III	黄→黄	3+→2+	-	〃
5	31	+	-	13	7	-	6	6.7→6.5	IV→III	黄→黄	3+→2+	-	〃
6	28	+	-	9	3	-	4	6.4→5.8	IV→II	黄→白	3+→3+	-	〃
7	38	+	-	7	2	-	2	5.8→5.6	III→III	白→白	3+→2+	-	〃
8	27	+	-	10	7	-	8	6.4→5.8	IV→III	黄→白	3+→2+	-	〃
9	23	+	-	7	2	-	4	6.2→6.0	III→III	黄→白	2+→2+	-	〃
10	25	+	-	8	6	-	4	6.0→5.4	III→II	白→白	2+→+	-	〃
11	27	+	-	10	4	-	5	5.8→5.0	III→II	黄白→白	3+→+	-	〃
12	25	+	-	15	10	-	8	6.2→5.8	III→III	白→白	3+→2+	-	無効
13	36	-	+	4	-	2	1	6.6→6.2	IV→III	黄→白	3+→3+	-	有効
14	37	-	+	6	-	2	2	6.0→5.8	IV→III	黄→黄白	3+→2+	-	〃
15	26	-	+	6	-	4	3	6.6→6.2	IV→III	黄白→白	3+→2+	-	〃
16	31	-	+	3	-	3	3	6.0→5.4	III→II	黄白→白	2+→+	-	〃
17	53	-	+	3	-	2	1	5.8→4.8	II→II	白→白	2+→+	-	〃
18	20	-	+	19	-	15	11	6.6→5.8	IV→III	黄→黄白	3+→2+	-	無効

\*: 10 mg/1 錠, 他は 20 mg/1 錠。

までの治療回数は Cop では 25 回治療後もなお多少残存し, Ac-Cop では 1 例が 3 回治療でうち切られ Candida の消失にもかかわらず, わずかに残存したが, 他の例では, 2~15 回治療で消滅を見た。

一方癢痒感の消滅には Cop 治療群に 2~9 回を要し Ac-Cop 治療群では 2~11 回を要した。ほとんどの例において感染微生物の消失に先立ち癢痒感の消失など, 自覚症状の著明な改善が見られた。



腔内 pH はほとんどが pH 4.5 ぐらいの弱酸性になり、少数例に無変化が見られた。帯下の色調は黄色味を帯びていた 9 例がほとんど無色となり、その量は減少した。

総体的に Cop および Ac-Cop 発泡性腔錠により Candida もしくは Trichomonas による腔炎は 80% 以上の一次治癒を示した。

### c. 白癬菌症の治療

#### 1. 使用薬剤, 治療法ならびに判定法

Cop および Ac-Cop の軟膏剤(処方モルモット白癬菌症の治療実験と同一である)とし各薬剤濃度は 10% として冷暗所に保存した。

治療対象として頑癬, 汗疱状白癬とし年令および性別を問わず昭和 41 年 4 月より約 6 カ月に至る期間に外来を訪れた患者から選んだ。日絆テープなどにかぶれ易い特異体質は除いた。

薬剤使用方法としては、患部をよく微温湯で清拭し風乾後、軟膏剤を少し厚めによくすり込み、いずれも露出様式をとった。一応、1 日 3 回換薬を行なった。通院は 1 週 2 回としそのつど経過を観察した。菌陰性化、自覚症状および他覚症状の軽快化あるいは皆無をもって治癒と考え有効と判定した。

#### 2. 治療成績および考案

第 18 表および第 19 表に治療経過と成績を総括した。

14 例につき Cop 軟膏治療を行ない 6 例につき Ac-Cop 軟膏での治療を行なった。

いずれの治療薬群にも頑癬と、汗疱状白癬をほぼ同数ずつとした。

Cop 治療群中、無効例が頑癬に 2 例、汗疱状白癬に 3 例あり、これらは 15 日間から 20 日間もしくは 30 日間にわたる治療後も治癒と判定し得なかったものである。有効例においては、20 日以内に治癒した。すなわち、頑癬では、痒感の軽減、皮疹、血疹の減少あるいは消失という経過をたどり、汗疱状白癬では痒感軽減、発赤、浸軟、小水泡、落屑の減少もしくは消失という経過をたどった。

また、Ac-Cop 治療例においては、頑癬では無効例なく、いずれも 1 週間から 2 週間にかけて治癒し、汗疱状白癬では、10 日間治療で打切られた 1 例が無効であった以外は 4 例とも有効であり、10 日間から 20 日間にかけて治癒した。

#### d. 臨床成績小括

腔カンチダ症への応用で Cop も Ac-Cop も発泡錠として 2~25 回治療に用いると有効であり、後者の方が、より少数回治療で自覚的にも、他覚的にも治癒が見られた。混合感染、あるいは単独感染を見た Trichomonas 腔炎においても Trichomonas の消失は Candida の消

第 18 表 Copiamycin 軟膏による白癬菌症の治療成績

例数	性別	年令	病名	症状	菌鏡検 (使用前)	使用後の経過	刺激性	判定
1	♂	48	頑癬	陰股部	+	30日後著変なし	—	無効
2	♀	40	頑癬	顔	+	15日後、痒感、皮疹減少、 20日後ほぼ治	—	有効
3	♂	32	頑癬	臀部	+	10日後皮疹ほぼ治	—	有効
4	♂	38	頑癬	背部	+	8日後丘疹、漿液性丘疹減少、 30日後色素沈着のみ	—	有効
5	♀	24	頑癬	陰股部	+	7日後痒感、皮疹減少、26日 後治癒	—	有効
6	♂	28	頑癬	顔	+	20日後著変なし	—	無効
7	♂	18	汗疱状白癬	足趾に小水泡 趾間に落屑	+	20日後、小水泡(—)、 落屑(—)、ほぼ治	—	有効
8	♀	22	汗疱状白癬	趾間に浸軟	+	2週後浸軟消失なし	—	無効
9	♀	24	汗疱状白癬	趾間に皸裂 落屑	+	20日後著変なし	—	無効
10	♀	20	汗疱状白癬	足趾、趾間に 落屑と小水泡	+	3日後、小水泡(—)、落屑 (—)、15日後ほぼ治	—	有効
11	♂	22	汗疱状白癬	趾間に発赤、 落屑	+	3日後発赤消失、25日後、 落屑消失	—	有効
12	♀	18	汗疱状白癬	足趾に小水泡 角化亢進	+	12日後、小水泡減少、25日後、 角化無変化	—	無効
13	♀	27	汗疱状白癬	足趾、趾間に 発赤、落屑	+	6日後、発赤、落屑軽少、 15日後ほぼ治	—	有効
14	♀	52	汗疱状白癬	趾間に浸軟	+	9日後、浸軟減少、30日後、 消失、軽度落屑のみ	—	有効

第 19 表 Acetylcopiamycin 軟膏による白癬菌症の治療成績

例数	性別	年齢	病名	症状	菌鏡検 (使用前)	使用後の経過	刺激性	判定
1	♂	50	頑癬	背中に丘疹, 漿液性丘疹	+	8日後丘疹, 漿液性丘疹なし	—	有効
2	♀	27	〃	顔に皮疹	+	14日後, 痒感, 皮疹ともに減少	—	有効
3	♀	24	汗疱状白癬	足蹠に水疱	+	10日後, 小水疱, 痒感ともに消失	—	有効
4	♀	24	〃	趾間浸軟	+	10日後浸軟減少, 20日後軽度落屑のみ	—	有効
5	♀	30	〃	趾間に皸裂 と落屑	+	10日間変化なし	—	無効
6	♀	34	〃	足蹠, 趾間に 発赤と落屑	+	6日後発赤(—), 12日後落屑(—)	—	有効

第 20 表 腔炎および白癬菌症の一次治癒率

Copiamycin 発泡錠	腔カンヂダ症	9/11	81%
		腔トリコモナス症	0/1
Acetylcopiamycin 発泡錠	腔カンヂダ症	11/12	91%
		腔トリコモナス症	7/9
Copiamycin 軟膏	頑癬	4/6	66%
		汗疱状白癬	6/8
Acetylcopiamycin 軟膏	頑癬	2/2	100%
		汗疱状白癬	3/4

失にひきつづき見られ, これら病原菌消失に先立ち自覚症状の改善が見られた。

本剤の副作用は全くなく, 本物質自体が無色～白色である点より, 着衣を汚さない利点があった。

また白癬菌症の治験例は頑癬 8 例, 汗疱状白癬 12 例で, Cop および Ac-Cop の軟膏剤により治療された。

臨床成績を第 20 表に総括した。すなわち, Cop 発泡錠による腔カンヂダ症の一次治癒率は 81% であり, 腔トリコモナス症は 1 例であったためか無効であった。Ac-Cop 発泡錠によると, カンヂダ症に 91%, トリコモナス症に 87% の一次治癒率を示した。

一方, 白癬菌症については, Cop 軟膏が, 頑癬に対し 66%, 汗疱状白癬に対し 75% の一次治癒率を示し, Ac-Cop は頑癬に 100% (2 例中 2 例有効), 汗疱状白癬に 75% の一次治癒率を示した。

### V. 考 案

現在イースト型真菌に対する化学療法剤として開発された薬剤は, Trichomycin, Amphotericin B, Pimaricin, Nystatin および Azalomycin F など<sup>18)</sup>の Streptomyces により生産される抗生物質であるが, 前 4 者は前述のごとく Polyenemacrolide 系抗生物質で, 一般に黄色を呈しており, 一方, Azalomycin F は非ポリエン系のものであり, Nystatin 同様白色である。

産婦人科領域における腔, あるいは外陰性カンヂダ症に, これら 4 薬剤は腔錠もしくは軟膏として直接的に使用するほか, Trichomycin および Nystatin は内服, としても使用されている。

すなわち, 水野<sup>19)</sup>によれば, 腔錠では, Trichomycin (36 例), Nystatin (14 例), Amphotericin B (15 例) の臨床成績では 1 回治療により約半数, 3 回治療までに 80% 以上が培養上 Candida 陰性となり, Pimaricin (54 例) では, ややそれより遅れる傾向があり, これらの患者の再発率は, 治療中止後 2 週間以上の後 27.1% であり, また, Trichomycin あるいは Nystatin 内服錠による外陰, 腔真菌症の治療では 25~60% に真菌の消失が見られ, 一般に経口投与のみで外陰, 腔真菌症を治療する事は困難な場合が多い, などの報告がされている。

これらのほかに Peptide 型抗生物質 Saramycetin<sup>20)</sup> (X-5079 C, RO-2-7758) が動物実験で, Histoplasmosis, Blastomycosis に有効であり期待が持たれたが, 発見以来 7 年を経過する今日も, なお生産量の少ない事から, その開発は進んでいない。

一方, また, 皮膚真菌症, 殊に白癬菌症は, 臨床的にはナフチオメートなどの合成剤と, 真菌に由来する Griseofulvin<sup>21)</sup> および Variotin<sup>22)</sup> などが使用されている。

著者の研究した Copiamycin は Azalomycin F と異なる化学性状を有し, 殊に光に不安定で, 強い溶血作用と毒性を有する Polyene macrolide に代わる抗生物質の探求の結果得られた新抗真菌性抗生物質であり, 各種の誘導体も作製され, 開発中のものである。

Copiamycin は放線菌の菌体中に非常に多量に蓄積され収量よく, その結晶が抽出され充分医薬としての応用が考えられる。

著者が行なった試験管内作用の実験結果からは, 水溶性, および, 抗菌力の強さと, スペクトラムの広さから, 抗真菌剤への応用には先ず Acetyl Copiamycin,

Propionyl Copiamycin, Cop-HNO<sub>3</sub>, などが適当なものと考えられた。しかしさらに *Trichomonas* に対する作用からは、これら誘導体中、トリコモナスを混合感染している Vaginal Candidiasis には Acetylcopiamycin あるいは、Propionyl Copiamycin が有望と考えられ、さらに粘膜刺激作用のない点から Acetylcopiamycin が最適の誘導体であるとされ、これをもって製剤された Copiamycin 錠は果たして予期の効果をおさめた。

また Trichophyton, Epidermophyton など表在性真菌症の原因菌に対しての試験管内抗菌力の強い事から、Patch test による皮膚刺激作用の検査、動物実験を経て、臨床試験も行なったがこれまた予期した成果を得た。

著者の実験によれば、Copiamycin は塩基性抗生物質であり、その抗菌力は pH に影響され、また血清による不活性化も見られた。したがって水溶性誘導体の作製に成功しているとはいえ、臨床応用に至るまでにさらに製剤面の工夫が要求されるであろう。逆にこの点が解決されれば Copiamycin base そのものの製剤化も可能と考えられ、表在性真菌症の治療薬として、その毒性の低い事より、望ましい薬剤であると考えられた。

## VI. 総 括

雑菌性放線菌である *Streptomyces* に属する、*Streptomyces hygroscopicus* var. *crystallogenes* の産生する抗真菌性物質 Copiamycin の水溶性誘導体を主に、それらの試験管内、生体に対する毒性試験と生体内抗真菌作用とを研究した。

いずれの誘導体も *Candida* 属微生物を始めとする病原性真菌に多少の差はあっても試験管内で広い抗菌性を示した。Cop, Cop-HNO<sub>3</sub>, Cop-1/3H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 2H-Cop, Pr-Cop などが 1~10 mcg/ml の濃度でほとんどの被検菌の発育を阻害した。また原虫である *Trichomonas vaginalis* の発育阻害ないし死滅を Pr-Cop, Ac-Cop, 2H-Cop に認めた。これら微生物活性は、中性から弱アルカリ性側で強く、また、血清の添加により微生物の発育が増進されるため、間接的にか、もしくは直接的に活性の不活化が見られた。

これら阻止作用は *Candida* ではその発育曲線の対数期の延長として、また、形態学的には、仮性菌糸の欠損としてあらわれた。一方 *Trichophyton* では、真性菌糸の着生を見ず、菌糸間節の短縮更に knob 状発育を生じ、conidia の着生をみなかった。

一方、誘導体のマウスに対する急性毒性は、一般的に

水溶性のものに強かった。また、I.V., I.P, Per os の順に毒性の減少を見た。

臨床試験を行なう一助として、粘膜刺激作用、皮膚 Patch test も試みられたが、Cop, Ac-Cop, 2H-Cop において、著明な反応を認めなかった。

溶解性、抗菌性、毒性などを考え合わせ、Cop, Ac-Cop, 2H-Cop の三者を用い、表在性真菌症の治療が試みられた。すなわち、モルモット白癬菌症の治療の結果、対照に用いた水銀剤“Merzonin”処置にはおよばなかったが、Ac-Cop チンキおよび軟膏剤が比較的よい治療効果を示した。一方、マウスの *Candida* 感染症の治療で、Cop は延命効果および臓器剖見で Ampho. におよばなかったが、無処置対照群に比較すると、ほぼ 1 週間の延命、また臓器病変の少ない事などが示された。

腔カンジダ症と皮膚白癬菌症の治療が Cop および Ac-Cop の発泡錠もしくは軟膏で行なわれた。いずれの場合も副作用はなく、第 19 表にまとめられたごとく、腔カンジダ症のみならず、腔トリコモナス症にも約 85% 以上の一次治癒率を示し、一方、頑癬および汗泡状白癬のいずれにも有効であり、約 75% の一次治癒率を得た。

溶剤の選択により、*Trichomonas* に無効であった Cop 自体が 50 mcg/ml まで *Trichomonas* の全死を示すようになったし、また Ac-Cop においても水溶性であるが、さらに拡散がよくなり *Candida* に対して阻止円の大となる事が判明した。

稿を終わるに臨み、研究所所長相磯和嘉教授に敬意を表するとともに、終始御懇篤な御指導を仰ぎ、さらに本稿の御校閲をも賜った恩師、新井正教授に深甚な謝意をささげます。

また各種実験の手技を授けられかつ幾多の御助言をいただいた、榎方講師ならびに黒田助手を始めとする教室員各位に衷心より感謝致します。

なお Copiamycin の誘導体を作製し提供された協和醸酵株式会社の研究スタッフに感謝します。

## 参考文献

- 1) 新井 正：真菌中毒症。日本食品衛生学会誌，7，289-297，1966。
- 2) Leben, C. & Keitt, G. W.: The effect of an antibiotic substance on apple leaf infection by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 37, 14-25, 1947.
- 3) Whiffen, A. G., Bohonos, N. & Emerson, R. L.: The production of an antifungal antibiotic by

- Streptomyces griseus*. J. Bacteriol., 52, 610-611, 1946.
- 4) 相磯和嘉・新井 正: 抗生物質に関する研究. 腐研報, 9, 162-185, 1956.
  - 5) Takeuchi, S., Hirayama, K., Ueda, K., Sakai, H. & Yonehara, H.: Blastidicin S, a new antibiotic. J. Antibiotics, 11A, 1-5, 1958.
  - 6) Suzuki, S., Isono, K., Nagatsu, J., Mizutani, T., Kawashima, Y. & Mizuno, T.: A new antibiotic, polyoxin A. J. Antibiotics, 18A, 131, 1965.
  - 7) Umezawa, H., Okami, Y., Hashimoto, T., Suhara, Y., Hamada, M. & Takeuchi, T.: A new antibiotic, kasugamycin. J. Antibiotics, 18A, 101-103, 1965.
  - 8) Hazen, E. L. & Brown, R.: Fungicidin, an antibiotic produced by a soil actinomycete. Science, 112, (2911), 423, 1950.
  - 9) Struyk, A. P., Hoette, I., Drost, G., Waisvisz, J. M., T. van Eek & Hoogerheide, J. C.: Pimaricin, a new antifungal antibiotic. Antibiotics Ann., 1957/58, 878-885.
  - 10) 細谷省吾・小松信彦・添田百枝・山口辰良 園田洋子: 抗トリコモナス・抗カビ作用を有する新抗生物質 Trichomycin について. J. Antibiotics, 5, 564-566, 1952.
  - 11) Bhatte, D. S., Ambekar, G. R., Bhatnagar, K. K. & Hulyalkar, R. K.: Hamycin, a new antifungal antibiotic II. Isolation and chemical properties. Hindustan antibiotics Bull., 3, 139-143, 1960.
  - 12) Sternberg, T. H., Wright, E. T. & Oura, M.: A new antifungal antibiotic, Amphotericin B. Antibiotics Ann., 1955/56, 566-573.
  - 13) Arai, T., Kuroda, S., Ohara, H., Katoh, Y. & Kaji, H.: Copiamycin, a new antifungal antibiotic derived from *S. hygrosopicus* var. *crystallogenes*. J. Antibiotics, 18A, 63-67, 1965.
  - 14) 新井 正・加藤由美子・宮治 誠: 抗真菌性抗生物質 “Copiamycin” の生物学的作用. 真菌と真菌症, 6, 134-136, 1965.
  - 15) Schaffner, C. P. & Borowski, E.: Biologically active N-Acyl derivatives of polyene macrolide antifungal antibiotics. Antibiotics and Chemotherapy, 11, 724-732, 1961.
  - 16) 黒田 稔・螺良英郎・清水洋子: Candida 属の簡易診断用培地としての「水野・高田」培地の検討. 真菌と真菌症, 2, 129-133, 1961.
  - 17) 酒井純雄 斎藤伍作・井上和男・百木克夫: 実験的動物白癬症を用いる抗白癬剤のスクリーニング法について. 真菌と真菌症, 1, 252-257, 1960.
  - 18) Arai, M.: Azalomycins B and F, two new antibiotics. I. Production and isolation. J. Antibiotics, 13A, 46-50, 1960.
  - 19) 水野重光: 産婦人科領域の真菌症. 真菌と真菌症, 8, 3-16, 1967.
  - 20) Berger, J., Sternbach, L. H., Müller, M., Lasala, E. R., Grunberg, E. & Golberg, M. W.: X-5059C, a new polypeptide antifungal antibiotic active against systemic mycosis. Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 436-444, 1961.
  - 21) Oxford, A. E., Raistrick, H. & Simonart, P.: 20 studies in the biochemistry of microorganisms 60 Griseofulvin  $C_{17}H_{17}O_6Cl$ , a metabolic product of *Penicillium dierckx*. Biochem. J., 33, 240-248, 1939.
  - 22) Yonehara, H., Takeuchi, S., Umezawa, H. & Sumiki, Y.: Variotin, a new antifungal antibiotic, produced by *Paecilomyces varioti* Bainer var. *antibioticus*. J. Antibiotics, 12A, 109-110, 1959.