

抗プソイドモナス性を有するニトロフラン誘導体の研究

I. NF-1802 物質の抗菌性と急性毒性について

坂 田 晃 康

千葉大学大学院医学研究科社会医学系食品衛生学（主任：相磯和嘉教授）

（昭和45年1月12日受付）

要 旨

細菌類のうち *Pseudomonas* 属は一般に抗菌性物質に対し抵抗力が強く、gentamicin, polymyxin B など少数の抗生物質が抗 *Pseudomonas* 物質として知られているにすぎない。最近わが国において合成された nitrofuran 誘導体のなかに、*Pseudomonas* 属に対し強い抗菌力を示すものが見いだされた。著者はこの物質 NF-1802 について、抗菌力、抗菌性の安定性、食品防腐剤としての効力、ならびにその毒性について研究した。

NF-1802 物質は *Pseudomonas*, *Vibrio* に対し 0.01~5 mcg/ml の濃度でその発育を阻止する。抗菌力は gentamicin と同程度であると思われる。本物質はほかのグラム陽性、グラム陰性細菌に対しさらに強い抗菌力を示すが、抗真菌作用はない。

本物質は熱、蛋白質および澱粉の存在下で安定であるが、紫外線によって不活される。

本物質は化学療法剤としてよりは、食品特に魚肉に対して保存効果が期待された。本物質はマウスの経口投与 LD₅₀ 値が 8.4 g/kg 以上で従来の nitrofuran 誘導体よりも低毒性のように推定された。

Keywords: NF-1802 物質, 抗プソイドモナス性, ニトロフラン誘導体

略語一覧 NF-1802 物質: Potassium-1-methyl-1,4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl) vinyl]-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylate

AF-2: Furyl furamide

BHI agar: Brain heart infusion agar

LD₅₀: 50%致死量

緒 言

Pseudomonas は水性細菌の代表的なものであり、蛋白分解力の強力なものが多く、特に本菌属の汚染を受けている生鮮魚介類の代表的な腐敗細菌である¹⁾²⁾³⁾。しかも本菌属には低温株が多く⁴⁾、食品低温流通機構の普及

に伴って、ますます食品衛生上多くの問題を与えている。一方、臨床医学では本菌属の type species である緑膿菌 *Ps. aeruginosa* は弱毒菌ではあるが、一度感染すれば有効な抗菌物質が少ないため難治感染症を起こし、臨床的にもしばしば問題になっている。

抗 *Pseudomonas* 性を有する抗菌物質としては gen-

SAKATA, TERUYASU: Studies on a New Nitrofuran Derivative active against *Pseudomonas* I. Anti-pseudomonad Activity and Acute Toxicity of the NF-1802 Substance.

Institute of Food Microbiology, Chiba University, Narashino.

Received for publication, January 12, 1970

tamicin⁵⁾, polymyxin B⁶⁾, colistin⁷⁾, carbenicillin⁸⁾などが知られているが、抗菌力や毒性などの点からも、必ずしも満足すべきものではなく、より有効な物質の出現が望まれている。nitrofurantoin 誘導体については、当研究室で早くから多くの誘導体について研究がなされてきたが、これら化合物が多くの細菌に対して強力な抗菌性を有しているにもかかわらず、*Pseudomonas* に対しては見るべき抗菌性を示すものは従来見いだされなかった。しかし最近、抗 *Pseudomonas* 性を有する新しい誘導体が合成されたので、この物質の抗菌性、安定性、食品防腐効果、ならびに毒性について検索した。

実験材料ならびに実験方法

1. 抗菌力およびその安定性

供試物質：Potassium-1-methyl-1, 4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl)vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylate (NF-1802 物質) を用いたが、本物質は図 1 に示した構造式を有する物質である⁹⁾。nitrofurantoin 誘導体のほとんどが不溶性であったが、本物質は 1.27 mg/ml 程度の水溶性を有するので、滅菌した Sørensen 氏リン酸緩衝液 (M/15) に溶解させて用いた。別に *Pseudomonas* に対する抗菌力を比較するために、gentamicin および polymyxin B を滅菌蒸留水で希釈して実験に供した。

供試菌：腐敗研究所保存株より食品由来の *Pseudomonas* 29 株, *Vibrio* 19 株 (内 *V. parahaemolyticus* 6 株, *V. alginolyticus* 6 株), 低温株として魚より分離した *Pseudomonas* 2 株, *Vibrio* 3 株, さらに一般細菌として *Staphylococcus aureus* 209-p, *Escherichia coli* S-8, *Bacil-*

lus subtilis PCI 219, *Proteus vulgaris* YO-1, *Sarcina lutea* 103, *Salmonella enteritidis* を用いた。別に千葉大学医学部付属病院中央検査室において、新たに患者材料より分離した *Ps. aeruginosa* 15 株もあわせて実験に供した。

a. 抗菌力測定

培地として tryptose agar を用い、agar streak 法で常法どおり行なった。培養時間は、病原菌 37°C, 非病原菌は 27~30°C, 低温株は 20°C で行ない、前二者は 24 および 48 時間後に、後者は 24, 48, 72, 96 および 120 時間後に判定し、最少発育阻止濃度を測定した。なお、*V. parahaemolyticus* および *V. alginolyticus* には 3% 食塩加 tryptose agar を使用した。

b. 安定性の検索

pH の影響：培地の pH をそれぞれ 6.0, 7.0, 8.0, 8.5 にして pH の違いによる失活の有無を最少阻止濃度による抗菌力の比較で調べた。

加熱の影響：加熱による失活の有無をみるため、pH 6.0, 7.0 および 8.0 のリン酸緩衝液にそれぞれ 1000 mcg/ml に本物質を溶解させた液を 90°C, 30 分間加熱して、最少阻止濃度によって、抗菌力を無加熱の場合と比較して判定した。

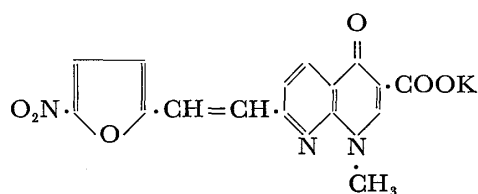
蛋白質、澱粉添加の影響：本物質が蛋白質あるいは澱粉の添加で失活するかどうかを知るために、山羊血清を 10% に、または可溶性澱粉を 1% に tryptose agar に添加して、最少阻止濃度により失活を観察した。

2. 食品防腐効果実験

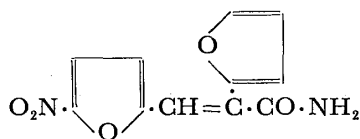
船橋市魚市場で購入した新鮮なアジを三枚におろし、その肉片に等量の滅菌生食水を加えて homogenize したものを試料とした。本物質の防腐効果を比較するために、殺菌料として指定されている furyl furamide (AF-2)¹⁰⁾ を用いた。

室温保存：本物質を 20 ppm に、あるいは AF-2 を 50 ppm に試料に添加し、無添加対照試料とともに室温 (16~20°C) に保存した。0, 11, 30, 53, 80, 103, 144, 264 時間後にそれぞれ sampling し、官能検査、pH 測定、生菌数測定および揮発性塩基窒素量を定量して鮮度低下の進行度を調べた。生菌数測定には BHI agar で 27°C, 4~5 日培養して算定した。揮発性塩基窒素量の測定には食品衛生検査指針の Conway の微量拡散法¹¹⁾に従って定量した。なお、官能検査で初期腐敗に達したと思われる試料はその時点で廃棄した。

低温保存：本物質を 2 ppm に、あるいは AF-2 を 5 ppm に添加したもの、および無添加対照試料を 2°C



NF-1802 substance



2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)

図 1. NF-1802 物質および AF-2 の構造式

に保存し、0, 3, 7, 10, 14, 18, 22 日後にそれぞれ sampling して、室温保存の場合と同様な方法で行なったが、この場合には低温株の存在を考慮に入れて培養温度を 20°C とし、7~10 日後に生菌数を算定した。

3. 急性毒性試験

経口投与 (dd 系マウスおよび Wistar 系ラット) および腹腔内投与 (dd 系マウス) の二経路について LD₅₀ 値を求めた。経口投与の場合、本物質は propylene glycol 懸濁液として、金属製ゾンデで強制的に胃内投与した。マウス (平均体重雄約 30 g, 雌約 24 g) に、1.0 g/kg から公比 1.2 で 8.4 g/kg までの濃度を、各濃度群雄 5 匹, 雌 5 匹で投与し、7 日目までの生存数を観察した。ラット (平均体重雄約 250 g, 雌約 170 g) に、1.7 g/kg から公比 1.2 で 3.5 g/kg までの濃度を、各濃度群雄 5 匹, 雌 5 匹で投与し、7 日目までの生存数を記録した。腹腔内投与の場合、マウス (平均体重雄約 20 g, 雌約 17 g, 各群雄 5 匹雌 5 匹) に pH 7.2 Sørensen 氏リン酸緩衝液として 200 mg/kg より公比 1.2 で 500 mg/kg まで、腹腔内注射して 7 日目までの生存数より、LD₅₀ 値を Finney の図解法¹²⁾により求めた。

4. 感染防禦実験

患者由来の *Ps. aeruginosa* No. 39 株を用い、その生食浮遊液 0.1 ml (生菌数 3.2×10^8 /ml) をモルモット足底部に皮下注射し、これに本物質を Sørensen 氏リン酸緩衝液 (pH 7.8) に溶解して、それぞれ 0, 10, 25, 50 mg/guinea pig に 1 回 (攻撃後 1 時間目) または 2 回 (攻撃後 1 時間目および 6 時間目) 投与して、各群の生存数を記録した。

実験成績

1. 抗菌力

本物質の抗菌力を gentamicin および polymyxin B のそれと比較したのが表 1 である。24 時間後判定では 1 mcg/ml で発育阻止された菌株数は、29 株中、本物質では 18 株, gentamicin 15 株, polymyxin B 2 株であり、5 mcg/ml では、本物質, gentamicin とともに 29 株, polymyxin B 23 株であり、本物質の抗 *Pseudomonas* 性は gentamicin と同程度, polymyxin B よりも強力であることが判明した。患者材料より分離した *Ps. aeruginosa* 15 株に対する抗菌力は、表 2 に示すように 24 時間後判定では 10.0 mcg/ml 程度で完全に発育を阻

表 1. *Pseudomonas* 属に対する抗菌力 (29 株)

M. I. C. (mcg/ml)	1802 物質		gentamicin		polymyxin B	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
<0.01	7	4	—	—	—	—
0.025	1	0	—	—	—	—
0.05	0	1	0	0	—	—
0.1	0	1	4	4	—	—
0.25	2	2	2	0	—	—
0.5	4	1	5	2	0	0
1.0	4	4	4	5	2	0
2.5	7	7	10	9	14	9
5.0	4	5	4	4	7	10
>5.0	0	4	0	5	—	—
10.0	—	—	—	—	5	2
25.0	—	—	—	—	1	4
>25.0	—	—	—	—	0	4

数字は発育阻止菌株数

M.I.C.: Minimal inhibition concentration

表 2. 患者由来緑膿菌に対する抗菌力 (15 株)

M. I. C. (mcg/ml)	24h	48h
0.5	1	0
1.0	6	0
2.5	4	7
5.0	1	0
7.5	1	0
10.0	2	3
>10.0	0	5

数字は発育阻止菌株数

M.I.C.: Minimal inhibition concentration

表 3. 一般細菌に対する最小発育阻止濃度 (mcg/ml)

Organism	24h	48h
<i>Staph. aureus</i>	0.05	0.1
<i>E. coli</i>	<0.01	<0.01
<i>B. subtilis</i>	<0.01	<0.01
<i>Pr. vulgaris</i>	0.05	0.1
<i>Sar. lutea</i>	0.1	0.1
<i>Sal. enteritidis</i>	0.1	0.25

止し得た。一般細菌に対する抗菌力は表 3 に示すように 24 時間後判定での最少発育阻止濃度は <0.01~0.1 mcg/ml であり、本物質は他の nitrofurantoin 誘導体と同様に広くグラム陽性菌、陰性菌に対して強力な抗菌性を示した。また、*Vibrio* ならびに低温菌に対しては表 4 に示したごとく、*V. parahaemolyticus* に対しても 24 時間

表 4. *Vibrio* 属に対する抗菌力 (mcg/ml)

test organism	24h	48h
<i>V. parahaemolyticus</i> No. 4167	<0.01	<0.01
<i>V. parahaemolyticus</i> M-21	<0.01	<0.01
<i>V. parahaemolyticus</i> No. 36	0.05	0.05
<i>V. parahaemolyticus</i> K-1	0.025	0.025
<i>V. parahaemolyticus</i> K-2	0.025	0.05
<i>V. parahaemolyticus</i> K-3	0.05	0.05
<i>V. alginolyticus</i> No. 138-2	0.1	0.1
<i>V. alginolyticus</i> No. 148-2	0.05	0.05
<i>V. alginolyticus</i> No. 370	0.05	0.1
<i>V. alginolyticus</i> No. 375	0.25	0.25
<i>V. alginolyticus</i> No. 5556	0.05	0.1
<i>V. alginolyticus</i> No. 5569	0.05	0.05
<i>V. tyroginus</i> IAM-1080	<0.01	<0.01
<i>V. anguillarum</i>	0.05	0.05
<i>V. ichthyodermis</i>	0.025	0.025
<i>V. sp.</i> KSS-25	<0.01	<0.01
<i>V. sp.</i> KSN-5	<0.01	<0.01
<i>V. sp.</i> G-24	<0.01	<0.01
<i>V. sp.</i> G-40	<0.01	<0.01
<i>V. sp.</i> G-42	<0.01	<0.01
<i>Pseudomonas sp.</i> SE-2	0.5	0.5
<i>Pseudomonas sp.</i> SE-3	0.025	0.025

下 5 株は低温株

Tryptosoy agar, 30°C (低温株 20°C)

後判定で <0.01~0.1 mcg/ml, さらに低温菌に対しても非常に強い抗菌力を有している。なお, 本物質の抗菌力は少なくとも検索の範囲では菌種あるいは菌株による差はみられなかった。

2. 安 定 性

pH による影響: 抗菌力はアルカリ側で強く酸性側では若干の失活がみられたが, pH 6.0~8.5 の範囲内ではほぼ安定であった。

加熱による影響: 本物質は pH 6.0~8.0 の間では加熱によって失活せず安定なものと思われた。

蛋白質, 澱粉添加の影響: 蛋白質または澱粉を添加することで抗菌力が低下する事実は認められず, 安定な物質であることが知られた。

3. 食品防腐効果

室温保存: 図 2 に pH, 生菌数および揮発性塩基窒素量の遷移をまとめて図示した。対照試料では 2 日目に生菌数が 10^8 を越え, 揮発性塩基窒素量も 30 mg% 以上に達して初期腐敗の段階に達した。本物質を 20 ppm 添加

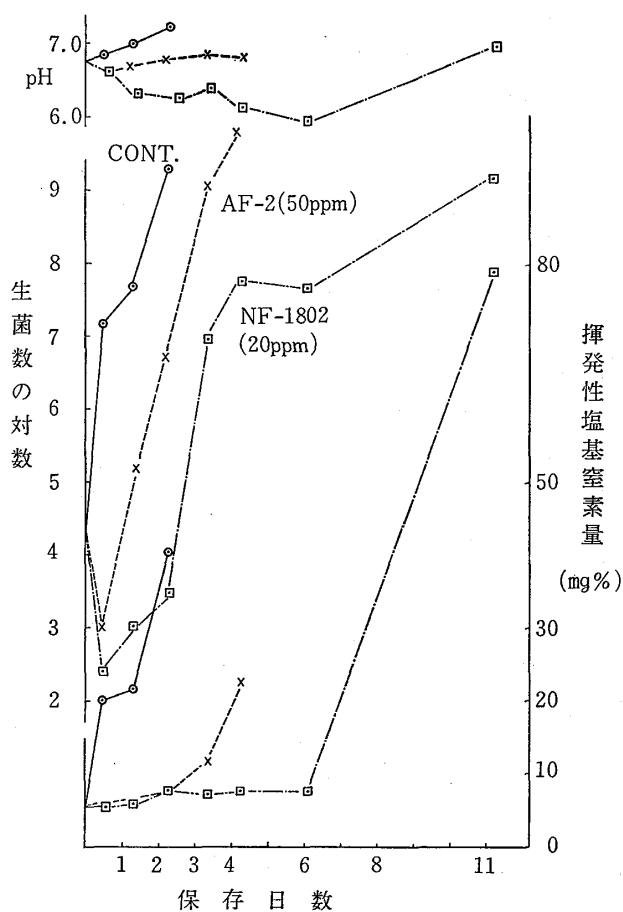


図 2. 食品防腐効果 (室温……16~20°C)

●—●: 対照, □—□: NF-1802

物質(20 ppm), ×——×: AF-2(50 ppm)

した場合に 8 日後に初期腐敗に達し, 6 日程度の延長効果が得られた。一方, AF-2 を 50 ppm に添加したものは 4 日で腐敗し, NF-1802 物質ほどの効果はみられなかった。NF-1802 物質の場合にも AF-2 の場合にもともに生菌数が 11 時間後に減少し, 殺菌効果を思わせた。このことは, 一般に nitrofuran 誘導体が合成殺菌剤であることを考えれば理解しうる。また, 実験開始時および終了時における生菌数測定時の plate より分離した菌の microflora は, いずれの場合にも *Pseudomonas*, *Achromobacter* であった。

低温保存: 図 3 に示したように対照試料は 14 日後に, 本物質を添加したものであては 18 日後に初期腐敗に達し, およそ 4 日間の保存延長効果があった。AF-2 添加の場合には NF-1802 物質 2 ppm 添加よりも防腐効果は大きかった。室温保存の場合と同様に実験初期に殺菌効果を思わせる生菌数の減少がみられた。本実験の場合には実験開始時の microflora は *Achromobacter*, *Vibrio* が主流であったが, 対照試料および AF-2 添加試料の終了時の microflora は, やはり *Achromo-*

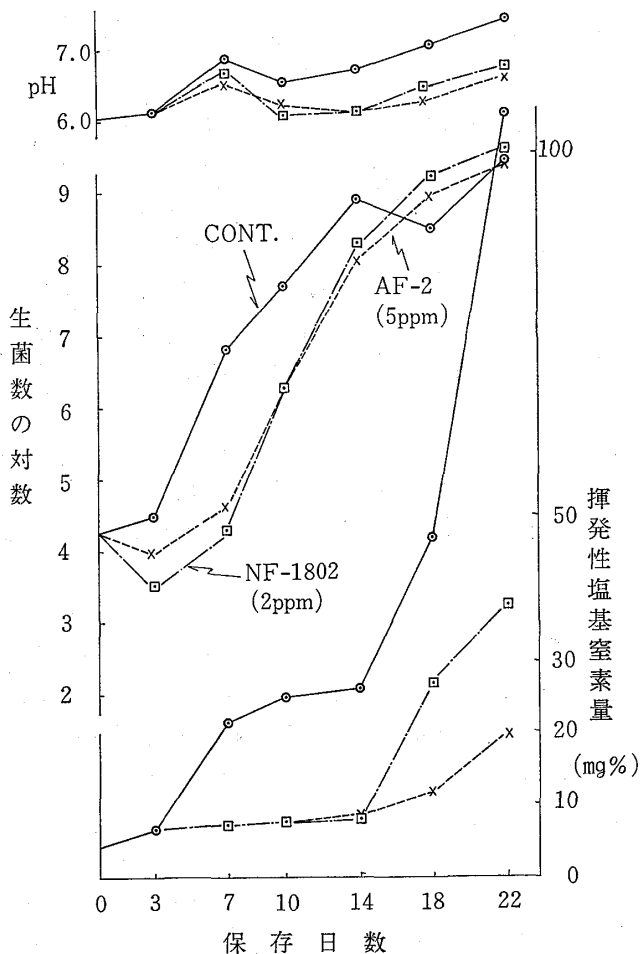


図3. 食品防腐効果 (2°C)
 ●—●: 対照, ■---■: NF-1802
 物質 (2 ppm), ×-----×: AF-2 (5 ppm)

bacter および *Vibrio* であったが, NF-1802 物質添加試料ではほとんどが *Achromobacter* であった。

4. 急性毒性試験

経口投与の場合には, 本物質の propylene glycol 懸濁液がゾンデ内で凝固するため, マウスの場合で 8.4 g/kg, ラットの状態で 3.5 g/kg 以上の投与は, 技術上不可能であり, この投与最高濃度でもマウス 10 匹中 9 匹, ラット 10 匹全例が 7 日目まで生存し, LD₅₀ 値は算出不可能であった。剖検所見としては, 途中死亡例では胃小腸がやや拡張傾向が見られたのみであり, 生存屠殺例では胃内腔に投与した本物質の固型物が 7.2 g/kg および 8.4 g/kg 投与群全例に見いだされた。5.0 g/kg 投与群にも 10 匹中雄 1 匹に認められた。ラットでは胃内腔に投与物が固型物として残存するものはなかった。2.9 g/kg 雄 1 匹の盲腸がやや拡張していると思われる以外には著変を認めなかった。

腹腔内投与の場合, 200, 240, 290, 350, 420, 500 mg/kg の投与に対して, 7 日間生存数は 10 匹中 8,

表 5. LD₅₀ 値 (mg/kg)

		マウス	ラット
NF-1802	経口	>8,400	>3,500
	腹腔	288	
AF-2	経口	417(相磯)	
	経口	397(岡原)	1,110(水野)
	経口	570(桜井)	
NF	経口	460~670(Dodd)	590(Dowing)
	経口	330~570(相磯)	
	皮下	170~420(相磯)	300(Dowing)

NF: Nitrofurazone

6, 6, 4, 2, 0 匹であり, LD₅₀ 値は 288 mg/kg と算出された。剖検所見では投与物質による腹膜炎が見られ, 死亡例には腹膜炎のためのイレウスで死亡したものがあつた。

二経路による投与成績を文献的に既存 nitrofurazone 誘導体の LD₅₀ 値と比較したのが表 5 であり, 従来の nitrofurazone 誘導体の LD₅₀ 値よりもかなり高い値が得られた。

5. 感染防禦実験

Ps. aeruginosa No. 39 株で攻撃されたモルモットは 2~3 日で死亡した。本物質を 1 回または 2 回皮下投与した群でも延命効果は認められなかった。剖検所見は, 初期死亡例には肉眼的に著変を認めず, 3 日以後の死亡例では腎梗塞, 肝膿瘍, 脾梗塞, 肺炎が散見された。なお, 注射部位に本物質がほとんど吸収されずに塊状に残存していた。

考 察

1944 年 Eaton 研究所において Dodd & Stillman¹³⁾ によって nitrofurazone が合成されて以来, 抗菌物質としての nitrofurazone 誘導体の合成ならびにその応用に関する研究は, 今日まで次々に展開されてきている。わが国においても始めは化学療法剤として多くの期待がもたれたが, nitrofurazone が細菌類に対してきわめて広い抗菌像を有し, しかもその作用が強力であるところから本物質の食品への応用の道が開かれ, 相磯ら¹⁴⁾によって食品防腐剤として基礎的なならびに応用的研究が完成し, 食品保存料としての価値が確立された¹⁵⁾。そして nitrofurylacrylamide¹⁶⁾ が合成され, 食品添加物に指定された。しかしその後の系統的研究の結果, より低毒性の furylfuramide(AF-2) が開発されて従来の 2 者は

指定削除されるに至った¹⁰⁾。

しかしながらこれら nitrofuran 誘導体は、いずれも強力な抗菌像を示すが、*Pseudomonas* に対してはみるべき抗菌性を示さず、抗菌力の最も強い AF-2 の場合でも *Ps. fluorescens* には 4 mcg/ml 以上、*Ps. aeruginosa* には 16 mcg/ml 程度であった¹⁷⁾。ところが最近開発された⁹⁾ NF-1802 物質は本報のように、従来最も強い抗 *Pseudomonas* 性を有している抗生物質 gentamicin と同程度の強力な抗 *Pseudomonas* 性を有しており、*Vibrio* を始め一般細菌に対しても AF-2 よりすぐれた抗菌力を示した。

nitrofuran 誘導体は一般に水に難溶性であるが、NF-1802 物質はかなり可溶性を示す点に一つの特徴を有している。また、本物質は pH、加熱による失活もなく、さらに蛋白質あるいは澱粉を添加して抗菌力が低下することなく安定な物質であるので、食品防腐剤として利用できる条件を具備している。ただ nitrofuran 誘導体に共通する欠点であるが、光線によって分解しその抗菌力が低下すること、カビ、酵母に無効なことはすでに知られている¹⁴⁾。

食品防腐効果では、室温保存の場合、本物質は AF-2 よりも防腐効果があったが、本物質添加試料が腐敗した時点ではやはり *Pseudomonas*, *Achromobacter* が多く、20 ppm 程度では必ずしも充分とはいえない成績であった。低温保存の場合には低温による保存効果を考慮して添加量を削減してみたが、本物質添加試料の方が AF-2 添加試料より早く腐敗し、添加濃度に問題があるものと思われる。松田ら¹⁸⁾によれば、本物質あるいは AF-2 の 5 ppm 溶液にアジを丸ごと 10 分間浸漬し、0°C、8 日間保存した場合に、生菌数が AF-2 では肉質 2.2×10^7 、皮膚 2.6×10^8 、本物質では肉質 10^8 以下、皮膚 5.9×10^7 であって同程度の保存効果を得ている。著者の実験で初期において本物質、AF-2 ともに殺菌効果を思わせる現象が認められたが、このことは nitrofuran 誘導体が単に静菌的に作用するばかりでなく、殺菌的にも作用するという点と一致している。

なお、本物質が感染防禦実験で注射部位にほとんど吸収されずに塊状に残存し、このために本物質の血中濃度が低く、したがって延命効果が得られなかったことを示唆していると思われる。太田ら¹⁹⁾によると、本物質 100 mg/kg を雄ラットに経口投与した場合、bioassay で検索したところ、血中最高濃度は 1 時間後に 0.032 mcg/ml、尿中最高濃度は 16 時間後に 0.60 mcg/ml であり、やはり本物質は腸管からもほとんど吸収されずに糞便中に排泄されるものと思われる。経口投与による LD₅₀ 値が

従来に比較して高いのも同様の理由によると考えられる。

稿を終るにあたり、御懇切な御指導、御校閲を賜りました恩師相磯和嘉教授に心から感謝いたします。また、本研究の機会を賜りました三輪清三名誉教授、ならびに種々の御教示をいただきました蟹沢成好助教授、加藤博博士に深く御礼申し上げます。さらに緑膿菌を分与下さいました小林章夫博士、飯田宏美博士、大塚嘉則博士に御礼申し上げます。

なお、本研究の一部は第 22 回日本細菌学会関東支部例会 (1969 年 6 月) において発表した。

SUMMARY

It is well known that *Pseudomonas* is highly resistant to most of antibiotics except for a few, such as gentamicin or polymyxin B. A new nitrofuran derivative, potassium-1-methyl-1, 4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl)vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthiridine-3-carboxylate (NF-1802 substance), synthesized in Japan recently was proved to be active against *Pseudomonas*. This paper deals with the antibacterial activity, its stability, preservative effect on fish meat and acute toxicity of the drug.

The substance inhibits the growth of *Pseudomonas* and *Vibrio* in the concentration of 0.01–5.0 mcg/ml, that is almost the same level as gentamicin does. Gram-positive and -negative bacteria other than *Pseudomonas* were more sensitive to the substance, though yeast or mold was not.

This antibacterial activity was not affected with heating or adding of protein or starch to the culture.

It seems that the results of the experiment suggest the substance is more suitable for antiseptics applying to the food, such as fish, than chemotherapeutics, as it takes a remarkably good effect on preservation of fish meat.

The oral LD₅₀ obtained in mice was not less than 8.4 g/kg, that means less toxicity to mice than that of other nitrofurans tested before by us.

文 献

- 1) 霜 三雄, 福住栄一: 食品防 腐剤の知識と使い方, 50, 信貴書院, 東京, 1965.
- 2) Lerke, P., Adams, R. & Farber, L.: Bacteriology of Spoilage of Fish Muscle III. Characterization of Spoilers., Appl. Microbiol., 13, 625-630, 1965.
- 3) 斎藤英夫: 食品腐敗細菌としての Marine Pseudomonas の研究, 日衛誌, 15, 140-151, 1960.
- 4) 加藤 博: 低温度における微生物の増殖と死滅, 日本水産学会誌, 35, 775-783, 1969.
- 5) Weinstein, M. J., Luedemann, G. M., Oden, E.M., Wagman, G. H., Rosselet, J. P., Marquez, J. A., Coniglio, C. T., Charney, W., Herzog, H. L., & Black, J.: Gentamicin, a New Antibiotic Complex from *Micromonospora*., J. Med. Chem. 6, 463-464, 1963.
- 6) 住木諭介: 抗生物質, 下巻, 809-820, 東京大学出版会, 東京, 1961.
- 7) Yow, E.M., Tan, E., Shane, L., Schonfeeld, S., & Abu-Nassar, H.: Colistin (Coly-Mycin) in Resistant Bacterial Infections., Arch. Intern. Med., 108, 664-670, 1961.
- 8) Knudsen, E. T., Rolinson, G. N., & Sutherland, R.: Carbencillin: A New Semisynthetic Penicillin Active against *Pseudomonas pyocyanea*., Brit. Med. J., 3, 75-78, 1967.
- 9) 西垣貞男, 米田文郎, 荻原和子, 内藤武男, 堂森廉三, 門矢静夫, 田中良明, 高村 功: 合成化学療法剤の研究 (第一報) ナフチリジン誘導体の合成研究 (その一), 日本薬学会第 88 年会講演要旨集, 130, 1968.
- 10) 第二版食品添加物公定書注解: 食品添加物公定書注解編集委員会 (刈米達夫) 編, 768-771, 金原出版, 東京, 1968.
- 11) 衛生検査指針 III, 食品衛生検査指針 (I) IV. 化学的検査法: 厚生省編, 13-16, 協同医書出版, 東京, 1960.
- 12) 高木敬次郎: ED₅₀ (50%有効量) の簡易計算法, 化学の領域, 増刊 11, 45-53, 1953.
- 13) Dodd, M. C. & Stillman, W. B.: The *in vitro* Bacteriostatic Action of Some Simple Furan Derivatives., J. Pharmac. Exp. Ther., 82, 11-18, 1944.
- 14) 相磯和嘉, 柳沢文徳, 藤原喜久夫, 鷺田一博, 柴田鉄郎, 松山 茂, 平松利男, 池 二郎, 赤塚正平, 佐野達夫, 竹内秀夫, 宮木高明, 佐竹一夫: ニトロフラゾーン (邦製カネフラゾン並びにフラスキン) を応用せる日常食品の腐敗防止に関する研究, 腐研報, 3, 1-48, 1950.
- 15) 第一版食品添加物公定書注解: 食品添加物公定書注解編集委員会 (刈米達夫) 編, 447-450, 金原出版, 東京, 1961.
- 16) 第一版食品添加物公定書注解: 食品添加物公定書注解編集委員会 (刈米達夫) 編, 451-453, 金原出版, 東京, 1961.
- 17) 桜井 実: 新しい二つのニトロフラン誘導体の抗菌性並びに食品保存効果に関する研究, 千葉医会誌, 36, 1293-1303, 1960.
- 18) 松田敏生, 田子広一: 私信
- 19) 太田外之, 山下 繁, 田中正志, 辻本節子: 私信