

Title	Episome性感染性伝達系に作用する物質に関する研究(第1報) : Acridine誘導体の多剤耐性伝達阻止作用と化学構造との関係
Sub Title	Studies on the substance affecting the episomic infective transfer system. (I) : the relationship between the chemical structures of acridine derivatives and the inhibitory action on the multiple-drug-resistance transfer
Author	林, 江澤(Hayashi, Kotaku) 小平, 富子( Kodaira, Tomiko) 小川, 芳子( Ogawa, Yoshiko) 馬場, 久美子( Baba, Kumiko) 菊地, 和子( Kikuchi, Kazuko) 多田, 敬三( Tada, Keizo) 岩崎, 紀和子( Iwasaki, Kiwako)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1965
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.10 (1965. ) ,p.33- 43
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000010-0033">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000010-0033</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Episome 性感染性伝達系に作用する物質に関する研究(第1報)  
Acridine 誘導体の多剤耐性伝達阻止作用と化学構造との関係

林 江澤, 小平富子, 小川芳子, 馬場久美子  
菊地 和子 (共立薬大微生物学教室), 多田 敬三  
岩崎 紀和子 (薬化学教室)

Studies on the Substance Affecting the Episomic Infective  
Transfer System. (I) The Relationship between the  
Chemical Structures of Acridine Derivatives and  
the Inhibitory Action on the Multiple-  
Drug-Resistance Transfer

Kohtaku HAYASHI, Tomiko KODAIRA, Yoshiko OGAWA, Kumiko BABA,  
Kazuko KIKUCHI (Department of Microbiology), Keizo TADA,  
Kiwako IWASAKI (Department of Pharmaceutical Chemistry)

1) The inhibitory action of 17 compounds of acridine derivatives and its related compounds on the multiple-drug-resistance transfer from the resistant donor *Shigella flexneri* 3a strain MZ17R to the sensitive recipient *E. coli* strain K-12 C25S and the inverse transfer from the resistant donor *E. coli* strain K-12 C17R to the sensitive recipient *Shigella flexneri* 3a strain MZS were examined and the following results were obtained.

Among the compounds tested, proflavine, acetylproflavine, acridine orange, acridine yellow, acriflavine and thioflavine T inhibited the multiple-drug-resistance transfer in a low concentration. The minimal concentration of each compound required for complete inhibition on the both transfer system (C17R → MZS and MZ17R → C25S) were respectively as follows: proflavine 5 and 20 μg./ml., acetylproflavine 10 and 20 μg./ml., acridine orange 40 and 80 μg./ml., acridine yellow 10 and 40 μg./ml., acriflavine 5 and 10 μg./ml. and thioflavine T 10 and 80 μg./ml.

The minimal concentration required for the inhibition of the multiple-drug-resistance (factor) transfer from C17R to MZS was lower than that in the transfer from MZ17R to C25S.

2) A new evaluation method that excluded the antibacterial activity was devised. According to this method, acrinol was proved to have a superior antibacterial activity to the inhibitory one on the multiple-drug-resistance transfer. Hence, acrinol was considered not to have a specific inhibitory effect on the multiple-drug-resistance transfer from MZ17R to C25S but to affect slightly the transfer system from C25R to MZS.

3) From the observation of the chemical structures and the inhibitory activity of acridine derivatives on the multiple-drug-resistance transfer system, NH<sub>2</sub> or N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in position 3 and 6, CH<sub>3</sub> in position 2 and 7, and CH<sub>3</sub> or H and chlorine in position 10 of acridine nucleus were necessary for the activity.

The acridine itself and its N-oxide, propionamido or benzamido in position 3 and 6 and ethoxy or methoxy radicals in position 2 or 7 of acridine nucleus such as N,N-dipropionylproflavine, N,N-dibenzoylproflavine, acrinol and acrinamine (atabrine) showed a reduced activity.

Neutral red, thionine and methylene blue, in which carbon in position 9 of acridine was substituted with nitrogen or sulfur, thioflavine S, and acridine red presented also reduced activity.

In the comparison of thioflavine T and thioflavine S, it might be of interest that the former had the inhibitory activity on the multiple-drug-resistance transfer system, but the latter did not.

## I. 緒 論

赤痢患者の糞便から chloramphenicol (CM), tetracycline (TC), streptomycin (SM) および sulfathiazol (SA) の 4 剤耐性赤痢菌が分離され、さらに耐性大腸菌も患者ならびに健康者の排泄物から検出されたことから腸内細菌の多剤耐性伝達に関する研究がなされ、2 菌種の接合により多剤耐性因子が伝達されることが明らかにされた。<sup>1-3)</sup> この伝達性多剤耐性因子 (R 因子) は Jacob ら<sup>4)</sup> の episome の概念に総括され、遺伝学的研究も多くなされている。<sup>5-10)</sup> R 因子の伝達は各種胆汁酸塩,<sup>11-12)</sup> dodecyl sulfate, mitomycin C,<sup>13)</sup> 各種脂肪酸,<sup>14)</sup> マロン酸塩, KCN, 2,4-DNP,<sup>15)</sup> acriflavine,<sup>16)</sup> sod.periodate,<sup>17-18)</sup> 5-bromo-uracil<sup>19)</sup> などの化合物によつて阻害されることが報告されている。これらのうち acriflavine, 5-bromo-uracil, sod. periodate についてはその阻害機構が研究され、acriflavine については yeast の cytoplasmic factor の除去作用,<sup>20)</sup> E. coli K-12 の F 因子除去作用<sup>21)</sup> また R 因子の除去作用<sup>22-24)</sup> が認めら

- 1) 秋葉, 小山, 一色, 木村, 福島: 日本医事新報, **1866**, 46~50 (1960) および Japan J. Microbiology, **4**, 219~227 (1960).
- 2) 落合, 山中, 木村, 沢田: 日本医事新報, **1816**, 34 (1959).
- 3) 三橋ら: 医学と生物学, **55**, 49 (1960).
- 4) Jacob F., P. Schaeffer and E. L. Wollman: Symp. Soc. Gen. Microbiol, **10**, 67~91 (1960).
- 5) Watanabe T.: Bacteriol. Rev., **27**, 87~115 (1963).
- 6) 中谷: 医学生物学最近の展望 (第1集) 109~139 (1960).
- 7) 秋葉, 小山, 木村, 福島: 医学と生物学, **59**(6), 185~188 (1961).
- 8) 横田, 秋葉: 医学と生物学, **64**(1), 9~12 (1962).
- 9) 吉川, 秋葉: 医学と生物学, **62**(5), 122~127 (1962).
- 10) 三橋: 蛋白質・核酸・酵素, **8**(4), 216~228 (1963).
- 11) 小山, 秋葉: 医学と生物学, **60**(6), 159~161 (1961).
- 12) 秋葉, 小山: 医学と生物学, **61**(2), 35~38 (1961).
- 13) 横田, 秋葉: 医学と生物学, **58**(6), 188~191 (1961).
- 14) 加藤, 秋葉: 医学と生物学, **63**(1), 16~19 (1962).
- 15) 江川ら: 日細誌, **16**(8), 703~704 (1961).
- 16) 山田, 中谷, 中村: 日細誌, **17**(8), 742 (1962).
- 17) Sneath P. H. A. and J. Lederberg: Proc. N. A. S., **47**, 86~90 (1961).
- 18) Iijima T: Abstr. 33rd. Meeting Genet. Soc. Japan p.7 (1961).
- 19) Iyobe S., E. Kondo and S. Mitsuhashi: Gumma J. Med. Sci., **12**(2), 89~94 (1963).
- 20) Ephrussi B., H. Hottinguer and A. M. Chimeneues: Ann. Inst. Pasteur, **76**, 351~367 (1949).
- 21) Hirota Y. and Iijima T.: Nature, **180** (4587), 655~656 (1957).
- 22) 渡辺, 深沢: 医学と生物学, **56**(3), 71~74 (1960).
- 23) Mitsuhashi S., K. Harada and M. Kameda: Nature, **189** (4768), 947 (1961).
- 24) 亀田, 原田, 鈴木, 三橋: 日細誌, **17**(3), 171~175 (1962).

れている。

著者らは微量で阻止作用をもつ化合物を探索し、あわせていかなる化学構造が阻止作用に有効であるかを検討する目的で、**acridine** 誘導体およびその関連近似の化合物について化学構造と R 因子の伝達に対する影響との関係を追究し、市販されていない一部の化合物は合成して検討した結果若干の知見を得たので報告する。

## II. 実験材料および方法

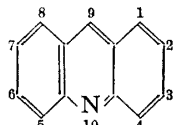
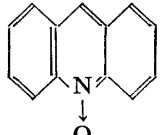
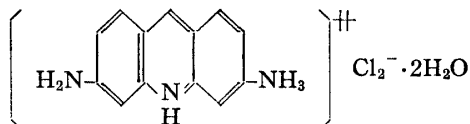
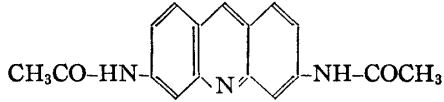
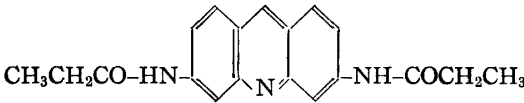
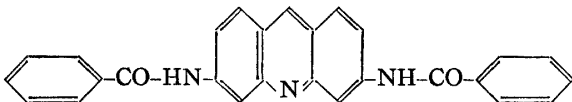
### 1) 供試菌株

Donor として CM, TC, SM, SA の 4 剤に対し高度耐性 (200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上) の *Shigella flexneri* 3a MZ17R と *E. coli* K-12 C25R, recipient として感性的 *Shigella flexneri* 3a MZS と *E. coli* K-12 C25S を用いた。伝達系は *Sh. flexneri* MZ17R から *E. coli* C25S へ、ならびに *E. coli* C25R から *Sh. flexneri* MZS への 2 系を用いて行なつた。

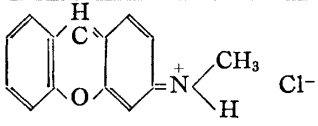
### 2) 検体とその化学構造

Acridine 系 11 種とその関連化合物 6 種の計 17 種のうち市販されていない acridine-N-oxide, acetyl-proflavine, propionyl-proflavine および benzoyl-proflavine は合成し、その他は市販品 (東京化成) を使用した。acrinamine (atabrine) は米国ペンシルバニア大学の Sevag 教授より秋葉東大名誉教授に送付された純品の分与をうけた。用いた化合物の化学構造は Table 1 の通りである。

Table 1. Chemical names and chemical structures

1	Acridine	
2	Acridine-N-oxide	
3	Proflavine	
4	N,N-di-Acetylproflavine	
5	N,N-di-Propionylproflavine	
6	N,N-di-Benzoylproflavine	

7	Acrinol	
8	Acrinamine	
9	Acridine orange	
10	Acridine yellow	
11	Acriflavine	
12	Neutral red	
13	Thionine	
14	Methylene blue	
15	Thioflavine T	
16	Thioflavine S	

17	Acridine red	
----	--------------	--

### 3) 実験方法

#### a) 多剤耐性伝達阻止実験

L型試験管に普通ブイヨン 2.5 ml をとり，被検化合物の溶液 (800  $\gamma$ ~12.5  $\gamma$ /ml) の 0.5 ml (control には蒸留水) を加えた。菌液は donor および recipient とともに 37°C, 18 時間培養の斜面培地からブイヨンに接種し，37°C, 18 時間培養して，その 1 ml ずつを上記の L 型試験管に加えて全量を 5 ml とし，37°C 毎分 30 回の Monod 型振盪器に入れて培養した。この際 MZ17R→C25S の系では 1 時間目に，C25R→MZS への系では 3 時間目に，それぞれの混合培養液 0.05 ml を，前者は CM 25  $\gamma$ /ml 添加の Mac Conkey 平板上に，後者は CM 25  $\gamma$ /ml 添加の S. S. 培地平板上にとりコンラージ棒でよく塗抹し，37°C に 24~48 時間培養した。培養後耐性化した recipient の実数をかぞえ，control と比較して 100% 完全阻止，99~80% 阻止，79~50% 阻止の濃度を求めた。

#### b) 抗菌試験

上述の伝達阻止実験において阻止現象の認められた化合物についてはさらに 100% 完全阻止に要する濃度，99~80% 阻止に要する濃度における donor および recipient に対する抗菌作用をしらべた。伝達阻止実験と同じ条件で行なつたが，この実験では振盪培養時の植菌量を  $1/10$  ~  $1/100$  とし，植菌時，振盪培養 1 時間後および 3 時間後の生菌数を求めた。生菌数は Mac Conkey 培地にコンラージ棒で塗抹して MZ17R と C25S の実数を同時にとり総生菌数を計算した。

### III. 実験成績

Table 2, 3 に示した如く，2 系ともに伝達阻止現象を示したのは proflavine, acetylproflavine, acrinol, acridine orange, acridine yellow, acriflavine および thioflavine T の 7 種であつた。これらの阻止濃度は Fig. 1, Table 4 に表わした如く，伝達系の 100% 阻止濃度は MZ17R→C25S 系では acriflavine に 10  $\gamma$ /ml, proflavine および acetyl proflavine は 20  $\gamma$ /ml, acrinol および acridine yellow は 40  $\gamma$ /ml, acridine orange および thioflavine T は 80  $\gamma$ /ml であり，99~80% 阻止に要する濃度はいずれも 100% 阻止に要する濃度のほぼ  $1/2$  量であつた。

また C25R→MZS 系では MZ17R→C25S 系に較べてより少量で阻止され，ほぼそれぞれの  $1/2$ ~ $1/4$  量で有効であり，特に thioflavine T は  $1/8$  量 (10  $\gamma$ /ml) で完全阻止を示した。すなわち MZ17R→C25S 系よりも C25R→MZS 系の方がより低濃度で阻止されやすいという成績を得た。したがつて抗菌試験にも Sh. flexneri MZ17R 株および E. coli C25S 株を用いた。抗菌試験の結果 MZ17R→C25S において Fig. 1, Table 4 に示した如く，acrinol は強く抗菌的に作用したが，その他の化合物は伝達系完全阻止濃度において donor の耐性 Shigella に対しては若干の抗菌作用を認めたが，recipient の感性 E. coli に対してはほとんど抗菌作用を認めなかつた。さらに 99~80% 伝達系阻止濃度においては donor および recipient に対してともに抗菌作用を認めなかつた。なお C25R→MZS 系については前述の系とほとんど同じなので詳細は省略した。

Table 2. Action of drugs on R transfer system from MZ17R to C25S

Drugs	$\mu\text{g./ml.}$	80 $\gamma$	40 $\gamma$	20 $\gamma$	10 $\gamma$	5 $\gamma$	2.5 $\gamma$	Control
1. Acridine		*4 (0.02)**	113 (0.57)	86 (0.43)	225 (1.1)	134 (0.67)	157 (0.79)	200
2. Acridine N-oxide		112 (0.56)	135 (0.68)	141 (0.71)	109 (0.55)	46 (0.23)	189 (0.95)	200
3. Proflavine		0	0	0	40 (0.18)	216 (0.97)	201 (0.90)	223
4. Acetyl proflavine		0	0	0	6 (0.03)	85 (0.45)	115 (0.6)	191
5. Propionyl proflavine		31 (0.16)	86 (0.43)	90 (0.45)	173 (0.87)	102 (0.51)	198 (0.99)	200
6. Benzoyl proflavine		138 (0.72)	175 (0.92)	155 (0.81)	208 (1.1)	115 (0.6)	184 (0.96)	191
7. Acrinol		0	0	6 (0.03)	94 (0.49)	142 (0.74)	182 (0.96)	190
8. Acrinamine		154 (0.81)	165 (0.87)	201 (1.1)	198 (1.0)	186 (0.98)	207 (1.1)	190
9. Acridine orange		1 (0.004)	41 (0.18)	101 (0.45)	89 (0.40)	156 (0.70)	170 (0.76)	223
10. Acridine yellow		0	0	22 (0.10)	75 (0.34)	129 (0.58)	141 (0.68)	223
11. Acriflavine		0	0	0	0	38 (0.17)	84 (0.38)	223
12. Neutral red		163 (0.86)	206 (1.1)	196 (1.0)	206 (1.1)	153 (0.81)	174 (0.92)	190
13. Thionine		3 (0.02)	30 (0.15)	27 (0.14)	163 (0.81)	43 (0.22)	186 (0.93)	200
14. Methylene blue		46 (0.24)	324 (1.7)	166 (0.87)	316 (1.67)	478 (2.5)	326 (1.71)	190
15. Thioflavine T		0	8 (0.04)	62 (0.28)	105 (0.47)	159 (0.72)	201 (0.91)	222
16. Thioflavine S		138 (0.62)	365 (1.6)	422 (1.9)	277 (1.2)	211 (0.95)	203 (0.91)	222
17. Acridine red		60 (0.27)	165 (0.74)	294 (1.3)	303 (1.4)	425 (1.9)	219 (0.98)	223

Note : \* No. of colonies of recipients acquired R factor.

\*\* Figures in parentheses indicated the ratio (control as 1.0).

Table 3. Action of drugs on R transfer system from C25R to MZS

Drugs	$\mu\text{g./ml.}$	40 $\gamma$	20 $\gamma$	10 $\gamma$	5 $\gamma$	2.5 $\gamma$	1.25 $\gamma$	Control
1. Acridine		*3 (0.04)**	34 (0.45)	32 (0.42)	67 (0.88)	38 (0.50)	76 (1.0)	76
2. Acridine N-oxide		35 (0.46)	66 (0.87)	90 (1.2)	98 (1.3)	78 (1.0)	78 (1.0)	76
3. Proflavine		0	0	0	0	2 (0.03)	26 (0.34)	76
4. Acetyl proflavine		0	0	0	4 (0.05)	24 (0.32)	31 (0.41)	76
5. Propionyl proflavine		0	4 (0.05)	16 (0.21)	69 (0.91)	65 (0.86)	96 (1.3)	76
6. Benzoyl proflavine		3 (0.04)	17 (0.22)	46 (0.61)	87 (1.1)	164 (2.2)	145 (1.9)	76
7. Acrinol		0	0	1 (0.01)	25 (0.21)	29 (0.23)	67 (0.54)	124
8. Acrinamine		7 (0.09)	33 (0.43)	31 (0.41)	15 (0.20)	48 (0.63)	140 (1.8)	76
9. Acridine orange		0	5 (0.04)	15 (0.12)	112 (0.90)	84 (0.68)	97 (0.78)	124
10. Acridine yellow		0	0	0	10 (0.08)	29 (0.23)	78 (0.63)	124
11. Acriflavine		0	0	0	0	3 (0.02)	47 (0.38)	124
12. Neutral red		14 (0.11)	45 (0.36)	41 (0.33)	42 (0.34)	74 (0.60)	89 (0.72)	124
13. Thionine		6 (0.05)	38 (0.31)	124 (1)	142 (1.1)	151 (1.2)	257 (2.1)	124
14. Methylene blue		0	1 (0.01)	16 (0.13)	36 (0.29)	249 (2.0)	116 (0.94)	124
15. Thioflavine T		0	0	0	1 (0.01)	2 (0.02)	33 (0.26)	124
16. Thioflavine S		19 (0.15)	51 (0.41)	77 (0.62)	101 (0.81)	164 (1.3)	141 (1.1)	124
17. Acridine red		6 (0.05)	32 (0.26)	48 (0.34)	80 (0.64)	90 (0.73)	159 (1.28)	124

Note : \* No. of colonies of recipients acquired R factor.

\*\* Figures in parentheses indicated the ratio (control as 1.0).

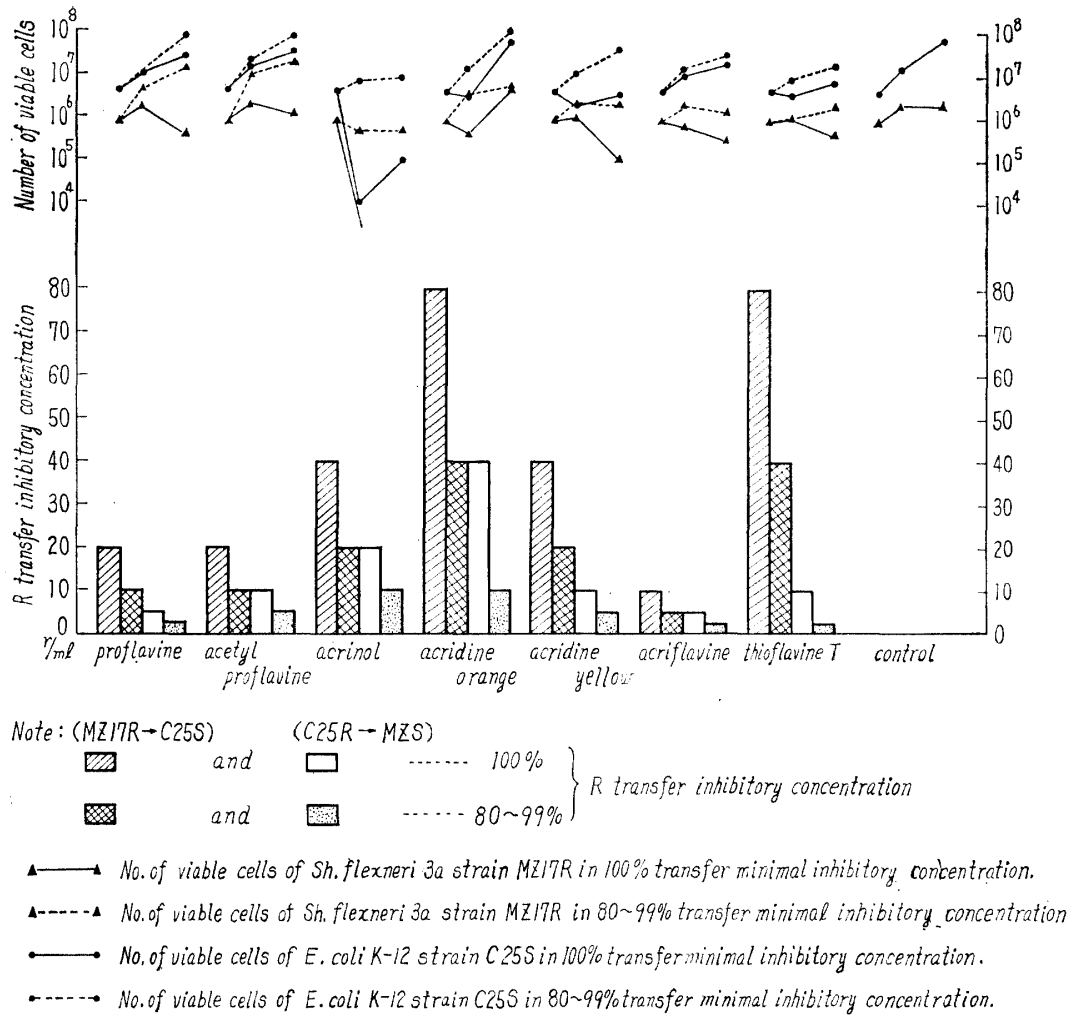


Fig. 1. R transfer inhibitory concentration and growth curve

#### IV. 伝達系阻止作用評価法と総合判定

前述のごとく若干抗菌作用をもつ化合物も認められたので、伝達系に対する特異的阻止作用であることを確認するために、抗菌作用を控除した上でなお且つ伝達系阻止作用があるかどうか次の評価法を試用した。

##### 伝達阻害作用の評価法

伝達系に対し 100%阻止	.....	+3
"    99~80%阻止	.....	+2
"    79~50%阻止	.....	+1
"    50%以下阻止	.....	0

##### 抗菌的に働いて生菌数が

1/10以下に減少 (例えば $1 \times 10^8 \rightarrow 4 \times 10^4$ )	.....	-3
1/10以内に軽度減少 ( $1 \times 10^8 \rightarrow 2 \times 10^8$ )	.....	-2
1時間で抗菌作用なく3時間で多少減少	.....	-1
全く抗菌作用なくむしろ増殖	.....	0



Table 4. Numbers of viable cells at various cultivation times, in media containing the minimal completely and markedly inhibitory concentration of drugs for the R transfer

Drugs	Concentration of drugs μg./ml.	Strains	Numbers of viable cells at each cultivation times		
			0	1 hr.	3 hrs.
Control	0	MZ17R	$0.8 \times 10^5$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$
		C 25 S	$4 \times 10^6$	$1.5 \times 10^7$	$6.4 \times 10^7$
1. Proflavine	20	MZ17R		$1.7 \times 10^6$	$4 \times 10^5$
		C 25 S		$1.0 \times 10^7$	$2.7 \times 10^7$
	10	MZ17R		$5 \times 10^6$	$1.4 \times 10^7$
		C 25 S		$1.1 \times 10^7$	$7.3 \times 10^7$
2. Acetyl proflavine	20	MZ17R		$2 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6$
		C 25 S		$1.5 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$
	10	MZ17R		$1.0 \times 10^7$	$2.9 \times 10^7$
		C 25 S		$2.3 \times 10^7$	$7.1 \times 10^7$
3. Acrinol	40	MZ17R		$< 10^4$	$< 10^4$
		C 25 S		$1.0 \times 10^4$	$1 \times 10^5$
	20	MZ17R		$5 \times 10^5$	$5 \times 10^5$
		C 25 S		$7.3 \times 10^6$	$8.0 \times 10^6$
4. Acridine orange	80	MZ17R		$4 \times 10^5$	$5 \times 10^6$
		C 25 S		$3 \times 10^6$	$5.5 \times 10^7$
	40	MZ17R		$3.6 \times 10^6$	$5.5 \times 10^6$
		C 25 S		$1.4 \times 10^7$	$9.1 \times 10^7$
5. Acridine yellow	40	MZ17R		$1 \times 10^6$	$1 \times 10^5$
		C 25 S		$1.9 \times 10^6$	$3.4 \times 10^6$
	20	MZ17R		$2 \times 10^6$	$2.5 \times 10^6$
		C 25 S		$1.0 \times 10^7$	$3.7 \times 10^7$
6. Acriflavine	10	MZ17R		$6 \times 10^5$	$3 \times 10^5$
		C 25 S		$1.0 \times 10^7$	$1.9 \times 10^7$
	5	MZ17R		$2.1 \times 10^6$	$1.3 \times 10^6$
		C 25 S		$1.5 \times 10^7$	$2.8 \times 10^7$
7. Thioflavine T	80	MZ17R		$1 \times 10^6$	$4 \times 10^5$
		C 25 S		$3.6 \times 10^6$	$6.6 \times 10^6$
	40	MZ17R		$1 \times 10^6$	$2 \times 10^6$
		C 25 S		$8 \times 10^6$	$1.6 \times 10^7$

すなわち伝達系に対する阻止作用の程度により +3, +2, +1, 0 と評点し, 一方同一濃度における抗菌作用の程度により -3, -2, -1, 0 と評点して, 抗菌作用を特異的伝達阻止作用と誤つて判定されないように配慮した.

例 最小伝達阻止濃度 20 μg/ml 10 μg 5 μg 総合評価  
伝達阻止程度 100% 99~80% 79~50%

A	{ 伝達阻止 { 抗菌作用	+ 3	+ 2	+ 1	
		- 3	- 3	- 1	
		<u>0</u>	<u>- 1</u>	<u>0</u>	.....-1 (抗菌作用)
B	{ 伝達阻止 { 抗菌作用	+ 3	+ 2	+ 1	
		- 2	- 1	0	
		<u>+ 1</u>	<u>+ 1</u>	<u>+ 1</u>	.....+3 (伝達阻害)

Table 5. Minimal inhibitory concentration of drugs for R transfer

System	MZ17R → C25S				C25R → MZS			
Drugs	Minimal concentration of R transfer inhibition			*** Evaluation	Minimal concentration of R transfer inhibition			Evaluation
	Grade	100 %	99~80%		79~50%	100 %	99~80%	
Proflavine	* 20γ **+3, -1(0)	10γ +2, 0(0)	10γ +1, (0)	+5	5γ +3, (0)0	2.5γ +2, (0)0	1.25γ +1, (0)0	+ 6
Acetyl proflavine	20γ +3, -1(0)	10γ +2, 0(0)	5γ +1, 0(0)	+5	10γ +3, (0)0	5γ +2, (0)0	1.25γ +1, (0)0	+ 6
Acrinol	40γ +3, -3(-3)	20γ +2, -3(0)	10γ +1, -1(-1)	-1	20γ +3, (0)-3	10γ +2, (-1)-2	2.5γ +1, (0)0	+ 1
Acridine orange	80γ +3, -1(-1)	40γ +2, 0(0)	10γ +1, 0(0)	+5	40γ +3, (0)0	10γ +2, (0)0	10γ +1, (0)0	+ 6
Acridine yellow	40γ +3, -2(-1)	20γ +2, 0(0)	10γ +1, 0(0)	+4	10γ +3, (0)0	5γ +2, (0)0	2.5γ +1, (0)0	+ 6
Acriflavine	10γ +3, -1(0)	5γ +2, 0(0)	1.25γ +1, 0(0)	+5	5γ +3, (0)0	2.5γ +2, (0)0	1.25γ +1, (0)0	+ 6
Thioflavine T	80γ +3, -1(0)	40γ +2, 0(0)	10γ +1, 0(0)	+5	10γ +3, (0)0	2.5γ +2, (0)0	1.25γ +1, (0)0	+ 6

Note :

\* The minimal concentration of drugs for R transfer inhibition at various grade.

\*\* The specific R transfer inhibitory action excluding antibacterial activity was evaluated as follows :

The positive numbers indicated the grade of R transfer inhibitory action : 100% +3, 80~99% +2, 50~79%+1. below 49% 0.

The negative numbers indicated the grade of antibacterial activity (number of viable counts) : markedly (below 1/10) -3, moderately (1/10~1/5)-2, slightly (1/5~1/2) -1, no bacteriostatic 0.

\*\*\* Evaluation method.

Positive number plus negative number was calculated (X).

If X is positive number, it considered to be a specific R transfer inhibitory action.

If X is negative number, it considered no specific R transfer inhibitory action, but an antibacterial activity.

この評価法により抗菌作用を控除した評点が負数となる時は抗菌作用が強く特異的な伝達阻止作用とは認められず，正に出た場合は伝達系阻止作用と考え，+6，+5の時はその作用が顕著であるとした。

Table 4, 5 および Fig. 1 に示した如く acrinol を除く 6 種の化合物では特異的な伝達系阻止によるものであることを認めたが，acrinol のみは抗菌作用が強くあらわれて特異的な伝達阻止作用とは認め得なかつた。

#### V. 伝達阻止作用と化学構造との関係

Acridine 骨格そのものおよび N-oxide は伝達阻止作用がなく，3, 6 位に  $\text{NH}_2$  基を置換することにより有効となり，この  $\text{NH}_2$  基の H を methyl 基あるいは acetyl 基に置換してもその効力に差はなかつた。しかし propionyl 基または benzoyl 基の置換では減弱または無効となつた。さらに 2 および 7 位に  $\text{CH}_3$  基を，10 位の N に  $\text{CH}_3$  基を導入したもの (acridine yellow と acriflavine) は有効性を示すが，2 位に ethoxy，7 位に methoxy，9 位に  $\text{NH}_2$  基などを導入すると，一般に減弱または無効となる (例えば acrinol, acrinamine (atabrine) など)。

Acridine 骨格の 9 位の C を N または S に変えた neutral red, thionine, methylene blue の如きは 9 位以外の構造が全く同じものとの比較ではないので断言できないが，acridine 骨格の場合より効力が低下するのではないかと考えられた。

Benzothiazol の誘導体の thioflavine T と thioflavine S を比較すると，thioflavine T のみが有効であつた。この N に  $\text{CH}_3$  を配している構造は acridine 骨格の場合の acriflavine と共通性があるので興味深いものがある。

#### VI. 考 察

多剤耐性伝達の阻止作用とその化学構造との関係を考察した報告は数少く，秋葉，加藤<sup>14)</sup>の  $\text{C}_{12}\sim\text{C}_{24}$  の 8 種の高級脂肪酸について，および著者ら<sup>25)</sup>の trimethylamine 系誘導体についての成績などがあるのみである。

従来報告された阻止物質のうち mitomycin C (0.05  $\gamma$ /ml $\sim$ 2  $\gamma$ /ml)，acriflavine (5  $\gamma$ /ml) などは微量で有効であるが，その他のものでは 100  $\gamma$ /ml 以上の比較的高濃度を要するものが多い。Acridine 誘導体は 10 $\sim$ 5  $\gamma$ /ml 程度から 100% 伝達阻止作用を示すので示唆するところが多いと考える。

伝達阻止作用を持つ薬剤は抗菌作用を有するものが多いが，落合，山中<sup>26)</sup>は donor, recipient がともに増殖できないような合成培地内においても R 因子伝達が行なわれることを認めており，この事からも抗菌作用をもつものは必ずしも伝達阻止作用を示すとは限らないといえる。すなわち著者らの acridine 誘導体の 6 種の化合物は特別な評価法を用いて抗菌作用を控除してもなお伝達系阻止作用を認めた。

なお渡辺，深沢<sup>27)</sup>が acriflavine と acridine orange の 2 種についての R 因子除去実験において acriflavine が acridine orange よりも高い頻度を示したという報告は著者らの acriflavine が acridine orange よりも低濃度で伝達阻止を示した成績と平行しており，その作用機作を考える上に興味ある知見であると考えられる。

25) 林，小平，馬場，菊地：日本細菌学会関東支部例会，(1964)。

26) 落合，山中：医学と生物学，68(6)，290 $\sim$ 293 (1964)。

## VII. 結 論

1) Acridine 誘導体およびその関連化合物合計 17 種について耐性赤痢菌より感性大腸菌へ、およびその逆の耐性大腸菌より感性赤痢菌への 2 系を被検系として多剤耐性 (CM, TC, SM, SA) 伝達実験を行なった結果, proflavine, acetylproflavine, acridine orange, acridine yellow, acriflavine, thioflavine T の 6 種が伝達阻止作用を示すことを認めた.

2) 多剤耐性伝達系に対する特異的阻止作用とみなすために, 薬剤の抗菌作用を控除する特別の評価法を用いた. この評価法によつて acrinol は除外され, 上記 6 種の化合物はいずれも 10~80  $\gamma$ /ml で伝達系の 100% 阻止作用を示した.

3) 一般に耐性大腸菌より感性赤痢菌への系は耐性赤痢菌より感性大腸菌への系よりもより低濃度で伝達は阻止された.

4) 耐性伝達阻止作用と化学構造の関係をみると, acridine 骨格の 3, 6 位に  $\text{NH}_2$  基を, 10 位に  $\text{CH}_3$  基を導入することが有効性を示し, 他の位置への ethoxy 基, methoxy 基等の導入により効力を減弱または無効となつた.

本報文は昭和 39 年 11 月の日本細菌学会関東支部例会に報告した.

恩師秋葉東大名誉教授の御校閲ならびに菌株の分譲をうけた東大細菌学教室 吉川博士に深謝する. (林)