

# TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE 及びその 関係化合物の皮膚科的応用に関する実験的研究

## 第 I 編 TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE の 抗白癬菌作用

昭和34年12月16日 受付

信州大学医学部薬理学教室 (主任: 赤羽治郎教授)

丹 羽 源 之 助

### Experimental Studies on Dermatological Application of TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE and its Related Compounds

#### I. Experimental Studies on Antifungal Actions of TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE

Gennosuke Niwa

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Shinshu University  
(Director; Prof. J. Akabane)

#### 緒 言

これまで白癬症治療薬ないし抗糸状菌物質として発表された薬物は非常に多くの数にのぼっているが、その反面このような数多い薬物の登場は、白癬症治療の困難性を示すもので、すなわち完全治療を期待でき、かつ副作用が少く、耐性を生じないような理想的な薬物をいまだ求めないのが今日の状況である。

ここに硫黄および硫黄化合物がふるくから寄生性皮膚疾患に有用とされていることから、有機硫黄化合物として特殊の地位をしめる Thiuram 系化合物の抗菌作用が注目に値する。

Thiuram 系化合物の多くは加硫促進剤としてゴム工業に多く使用されているが、また銅と鋭敏に反応するため銅検出の有機試薬としても用いられる。この性質すなわち下等生物の生体内銅と反応することから、寄生虫にたいする殺虫剤として有効であるという報告が Breiger や Hodes<sup>①</sup>によつてなされ、1948年の第9回産業医学国際会議で討議された。また腸内寄生虫駆除の目的に応用され<sup>②</sup>、Hanmalskierde<sup>③</sup>によつてカイ癬などの皮膚病治療薬として取扱われたこともある。

この Thiuram 系化合物の一種である Tetraethylthiuramdisulfide (以下 TETD と略記) は Chloze (1881)<sup>④⑤</sup>によつて合成され、1922年いらい加硫剤としてゴム工業にひろく使用されているが、この TETD が有名になったのは、1945年 Hald<sup>⑥⑦⑧</sup>、Jacob-

sen<sup>④⑨</sup>、Child<sup>⑩</sup>らにより Alcohol 体内代謝を特殊に阻害する性質のあることを発見されていらい Antabus (Disulfiram) の名で Alcohol 中毒患者の Alcohol 禁断治療として、精神科的療法とあいまって、もつとも信頼できるものとしてひろく応用されるにいたつたためである。

TETD はほとんど無臭の結晶性粉末で、全く刺激性がないという特徴から、著者は硫黄剤が有効とされる皮膚疾患のうち、とくに治療的に困難な白癬症にたいする応用を考え、抗菌力を主眼に種々の実験を行つた<sup>⑪⑫</sup>。

今回は in vitro における静菌力、殺菌力などの試験および抗菌力浸透について実験した。とくに抗菌力浸透については、Cup 法と比較するため Paper disk method に準じた Paper 法を考案し行つた。またとくに上遠<sup>⑬</sup>らにしたがつて、硫黄の粒子の大小の差異による抗菌力への影響について実験した。またさいきんいちじるしく進歩した賦形薬溶媒あるいは、水溶性軟膏基剤を選択して、TETD をこれらと配合したときの抗菌力浸透におよぼす影響について実験した。さらに TETD の抗菌力を既知の繁用白癬症治療薬と比較試験した。

#### 実 験 材 料

被検薬: TETD (Nocbin, 大内新興化学工業, 東京 田辺製薬)

被検薬: Trychophyton asteroides... 星芒状白癬菌

Trychophyton interdigitalis...趾間白癬菌

Trychophyton rubrum...指趾紅色白癬菌

Trychophyton fubrus

(以下 T. fubrus と略記)

(いずれも信州大学医学部皮膚科教室培養株)

## 培養基

a) 固型培地: 4% Sabouraud glucose agar

## Rp.

Sodium chloride	2.0g
Peptone	10.0g
Bouillon	10.0g
Agar	22.0g
Dextrose	40.0g
Distilled Water	1000.0ml

b) 液体培地: 4% Sabouraud glucose solution

## Rp.

Sodium chloride	2.0g
Peptone	10.0g
Bouillon	10.0g
Dextrose	40.0g
Distilled Water	1000.0ml

c) 純分離培地

## Rp.

4% Sabouraud glucose agar	1.0ml
Crystalline Penicillin Sodium G	20 IU
Streptomycin sulfate	40.0r
Cycloheximide	100.0r

## 実験に使用した膏薬材料

White Petrolatum (JP VI, 以下 WP と略記)

Simple Ointmento (JP VI, 以下 SO と略記)

Wool Fat (JP VI, 以下 WF と略記)

Polyethylene glycol Ointment  
(JNF II, 以下 PEGO と略記)Hydrophilic Ointment  
(JP VI, 以下 HO と略記)

Absorption Ointment (以下 AO と略記)

## Rp.

White Petrolatum	40.0g
Cethanol	20.0g
Emargen* 408	2.0g
Emasol* 310	3.0g
Distilled Water ad libitum ad.	100.0g

Lotion Ointment (以下 LO と略記)

## Rp.

Sodium Benzate	0.2g
Cetyl alcohol	0.5g

Stearyl alcohol 1.5g

Bentonite 5.0g

Poloxyethylen glyceryl monostearate  
13.0g

Glycerin 15.0g

Distilled Water ad libitum ad. 100.0g

Glycerin (JP VI,)

Liquid Petrolatum (JP VI, 以下 LP と略記)

Alcohol (JP VI,)

Polyethylene glycol 400

(大日本製薬, 以下 PEG と略記)

Propylene glycol (第一工業, 以下 PG と略記)

Sodium lauryl sulfate (JP VI,)

Emargen #106, #108 (花王石鹼)

Emasol #310 (花王石鹼)

Sodium Carboxymethyl Cellulose

(日本糊料, 以下 CMC と略記)

効力比較のため使用した, 繁用白癬症治療薬

化学名 (記号) (会社名) 製品名, 含有濃度%

Tetraethylthiuramdisulfide (TETD) 5.0

Pentachlorophenol (PCP) (三井化学) 5.0

Pentachlorophenol-Na (PCP-Na) (三井化学)  
5.0

Thiolutin (粗製) 0.1

Alkylbenzyltrimethylammonium chloride  
(ATMA) (大塚製薬) 3.0

Undecylenic acid (Und) (中村澁) 5.0

Undecylenic acid-Zn (Und-Zn) (中村澁)  
20.0\*Zinc diethyldithiocarbamate (ZDEDC)  
(日本薬品) 強力ベネクスン 25.0\*Bis-ethylmercuri sulfide (NM)  
(山之内製薬) アルバー 0.2

Dihydroacetic acid (DHA) (橘生薬品) 10.0

Dihydroacetic acid-Na (DHA-Na)  
(橘生薬品) 3.0

\* は市販品をそのまま使用

## 実験方法および成績

## I 接種法による発育阻止試験

TETD は不溶解性薬物であるため培地にもほとんど溶解しないが, なるべく均等に分布するように以下の操作を行い, これに TETD を加えた培地内での各種白癬菌にたいする抗菌作用をみた。

実験方法: あらかじめ TETD を無菌箱内で無菌的にメノウ乳鉢でじゆうぶんに細末にし, これを固結しない 4% Sabouraud glucose agar 10ml 含有のシャーレ内に加えた。そのさい各濃度の TETD 加培地

をつくるため、TETD は培地にたいし第1表に示すごとく0.1%より10%までの濃度になるように秤取した(第1表)。

TETD を添加したのち、しずかに振動し、のち無菌箱内に装置した重湯煎(温度調節器つき)上で60°Cに保ち、約5<sup>mm</sup>間均一に混和し、固結をまつて各種白黴菌を第1図のごとく星芒状菌、趾間菌、猩紅色菌および *T. fubrus* の順に正しく併例して接種し、28°Cで4日間培養し、さらに室温にて3日間放置した(第1図)。対照としてはTETDを加えない培地のみを使用し、比較して発育阻止を検した。同一濃度の培地は各3例ずつ作り、判定としては、3例ともに完全に発育を阻止したものを(-)、3例中1~2例発育阻止の場合を(±)、3例中いずれも発育したものを(+)と定め、それぞれの記号を用いて成績を示した。

実験成績：以上の実験の結果第1表ならびに第1図に示す成績をえた(第1表、第1図)。対照例は完全に発育を示している。TETD 加培地の0.1%は対照例とほとんど同程度の発育を示した。0.5~10%まですべて発育阻止作用を示している。0.5%においては各種白黴菌とも対照例より発育阻止が認められた。1%においては *T. fubrus* 以外の3種の白黴菌の発育を認めなかった。2%および2%以上においては4種の白黴菌を完全に阻止した。

## II 接触法による発育阻止試験

TETD が水に不溶解性であるため完全に菌にたいする作用をうることが困難なゆえに、接触法の実験においてはTETD懸濁液中に菌を短時間接触せしめて、抗菌力におよぼす影響を試験した。

実験方法：TETDの10倍稀釈懸濁液を原液として、これを滅菌蒸留水を用いて100倍より1,000,000倍まで稀釈調製した。4% Sabouraud glucose solutionで培養した各白黴菌の1白金耳をとり、各稀釈浮遊液中に1<sup>m</sup>, 3<sup>m</sup>, 5<sup>m</sup>, 10<sup>m</sup>および15<sup>m</sup>の時間で接触せしめ、しかるのち菌苔をとりだし、無菌箱中で滅菌蒸留水にて3回くり返し水洗した。つぎに各種白黴菌のいずれにたいしても上記系列25本を調製した。これを固型培地に接種し、28°Cで4日間培養した。対照としては各白黴菌を滅菌蒸留水に上記のごとく、各接触時間を経過せしめたる後培養。判定方法としては、(-)は5例の全例において完全阻止したもの、(±)は5例中1例でも発育を認めたもの、(+)は5例の全例において完全に発育したものと定めた。

実験成績：実験の結果第2表に示す成績をえた(第2表)。100倍に稀釈した例においては、接触時間に関係なく4種のいずれの菌種にも全く発育がみられなかった。1,000倍においては、接触時間の長短により完全阻止と発育阻止の例がみられた。星芒状菌と *T. fubrus*

第1表 接種法による発育阻止作用

濃度(%)														
菌種名	実験例	対照	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	10.0
星芒状菌	1	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	判定	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
趾間菌	1	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	判定	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
猩紅色菌	1	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	判定	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T.fubrus	1	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	判定	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-

(註) (+) 完全発育, (±) 発育阻止, (-) 完全阻止, 対照例はいずれも(+)

第2表 接触法による発育阻止作用

接触時間	菌種名	稀釈倍数 100				1,000				10,000				100,000				1,000,000			
		星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. fubrus	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. fubrus	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. fubrus	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. fubrus	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. fubrus
1 m		-	-	-	-	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+
3 m		-	-	-	-	±	-	-	±	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+
5 m		-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+
10 m		-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	±	±	±	±	±	±	±	±	+
15 m		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	±	±	±	±	±

(註) (+) 完全発育, (±) 発育阻止, (-) 完全阻止, 対照例はいずれも (+)

第3表 倍数稀釈法による発育阻止作用

稀釈倍数	菌種名 実験例	星芒状菌						趾間菌						猩紅色菌						T. fubrus					
		1	2	3	4	5	判定	1	2	3	4	5	判定	1	2	3	4	5	判定	1	2	3	4	5	判定
16,000		-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)
32,000		-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	+	-	+	-	(+)
64,000		-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
128,000		-	-	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
256,000		+	+	+	+	+	(+)	-	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
512,000		+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
1,024,000		+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
2,048,000		+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	-	+	-	-	(+)	+	+	+	+	+	(+)
4,096,000		+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)
8,192,000		+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)

(註) (+) 完全発育, (±) 発育阻止, (-) 完全阻止, 対照例はいずれも (+)

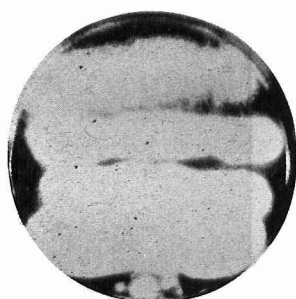
(第2図写真D-1参照)は5mの接触で、趾間菌および猩紅色菌においては3mの接触でそれぞれ全く発育がみられなかった。以上のほか接触時間の少ない例はいずれも発育阻止作用が認められた(第2図写真A-1, B-1およびC-1参照)。T. fubrusのみは15mの接触においても完全に発育を抑制することはできなかった。また他の3者の実験例には(-)を示す例を認めたが、T. fubrusには(-)の例は1例も認められなかった。100,000倍の例にては、星芒状菌、趾間菌および猩紅色菌の3者はいずれも3m、T. fubrusにたいしては10m以上の接触において(±)であり、その他は菌の発育を完全に認めた。1,000,000倍においては星芒状菌、趾間菌および猩紅色菌では、10m以上の接触で発育を阻止している(第2図写真A-2, B-2およびC-2参照)。5m以下の接触では(+)であった。T. fubrusにおいても抗菌作用は弱く15mの接触

を要して(±)である(第2図写真D-2参照)。10m以下では菌の発育を全く阻止できなかった。

### Ⅲ 倍数稀釈法による発育阻止試験

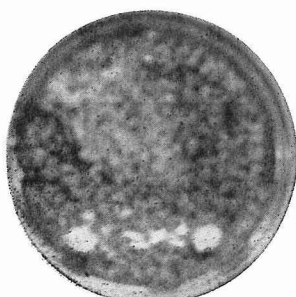
接触法による実験において、TETDの各種白黴菌にたいする発育阻止作用を知りえたので、さらに抗菌力を正しく測定するために、倍数稀釈法によつて静菌力実験を行つた。

実験方法：TETDを微粉末にしたものを0.5%に相当のCMCとともに秤取し、滅菌メノウ乳鉢に入れ、さらに無菌箱内でよくすりつぶし、100倍から16,384,000倍まで液体培地によつて倍数稀釈し、上記系列を75本調製した。ただし100倍を原液となした。対照として液体培地にCMC 0.5%を含有するもののみを使用した。白黴菌の接種方法は、液体培地でえた菌種を無菌箱の中で採取し、あらかじめ蒸気滅菌し乾燥した濾紙(東洋濾紙No.5B)で、濾紙が菌体の水分を吸収



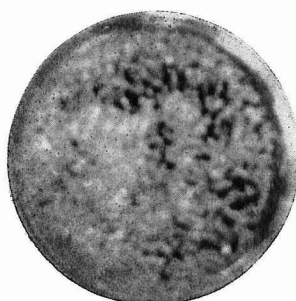
対 照 例

- I 星 芒 状 菌
- II 趾 間 菌
- III 猩 紅 色 菌
- IV *T. fubrus*



1.5% 加培地例

*T. fubrus* のみ発育を認む



2.0% 加培地例

各菌種の発育を阻止している

第 1 図

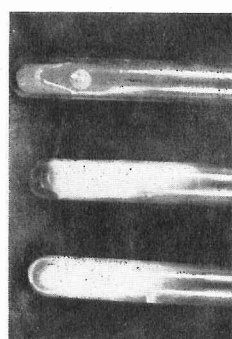
TETD 加培地の抗菌作用

しなくなるまで水分を除去し、その菌種 1g を秤取りし、滅菌メノウ乳鉢内で均等になるまでじゅうぶんすりつぶし、これに滅菌蒸留水 1ml を添加し、ふたたびかるく研和した。このものをすみやかに毛細管ピペットで 1 滴あて、各倍数希釈培地中に滴加接種し、しかるごしずかに振動し、特製斜面培養試験管台（試験管を斜面にして内容物が綿栓に附着しないよう最大限に頭部を低くしたもの）を用いて、28°C で 7 日間培養したのち対照と比較し、菌の発育の有無を検した。

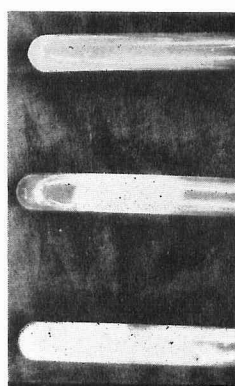
実験成績：実験の結果は第 3 表および第 4 図に示すごとく（第 3 表、第 4 図）、接触法によつてえた抗菌力よりや

や高い抗菌力を認めた。星芒状菌にたいし 64,000 倍、趾間菌にたいし 128,000 倍、猩紅色菌にたいし 1,024,000 倍および *T. fubrus* にたいしては 32,000 倍とそれぞれ菌種により異なつた静菌作用を示した。以上の希釈倍数値までは菌の発育、いわゆる白色カビ状の菌苔を認めなかつた。また静菌作用の実験例中で、ほとんど発育を認めないもの、あるいはわずかに発育を示した例においては第 3 表に示すごとく（+）に定めた。

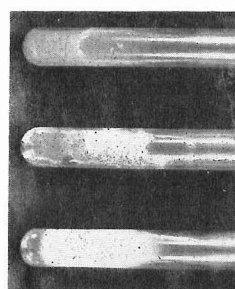
静菌力試験の結果において、猩紅色白癬菌がもつとも高い阻止値を示し、趾間白癬菌、星芒状白癬菌および *T. fubrus* はこの順でかなり値が低く、趾間菌



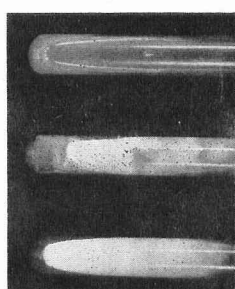
A 星芒状菌



B 趾間菌

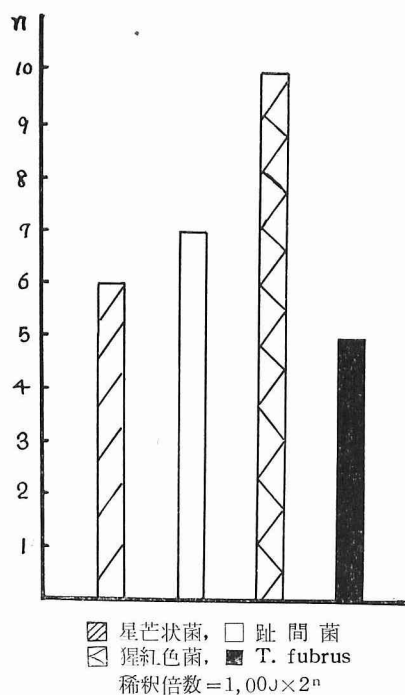


C 猩紅色菌



D T. fubrus

第2図 接触法による抗菌作用



第3図 静菌作用

128,000倍, 星芒状菌 64,000倍さらに T. fubrus は 16,000倍の阻止値を示した。

#### Ⅳ 殺菌力試験

静菌力試験においてみられた各白癬菌の発育阻止作用を, さらに確認するために本実験を試みた。

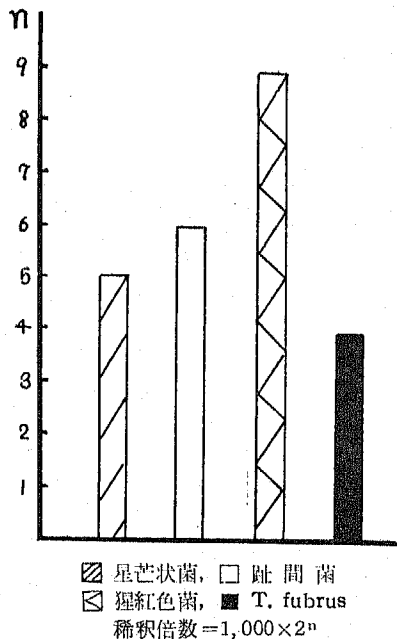
実験方法: 静菌力試験の結果, 菌の発育をみない実験例について, その試験管の内容物が均一に混和するように, 振盪器で1~2分間振盪し, 各試験管から1滴を毛细管ピペットで固型培地の斜面に接種し, 前法と同様の条件において培養したのち, 菌の発育の有無をしらべた。

実験成績: 実験の結果第4表および第4図に示す成績をえた(第4表, 第4図)。本試験によりえられた値は一般に静菌力試験の発育阻止値より低かつた。すなわち星芒状菌にたいしては32,000倍, 趾間菌にたいしては64,000倍, 猩紅色菌にたいしては512,000倍および T. fubrus にたいしては10,000倍とそれぞれの稀釈倍数濃度において菌の発育を完全に阻止した。

第4表 殺菌作用

菌種名 実験例 稀釈 倍数	星 芒 状 菌						趾 間 菌						猩 紅 色 菌						T. fubrus					
	1	2	3	4	5	判定	1	2	3	4	5	判定	1	2	3	4	5	判定	1	2	3	4	5	判定
16,000	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)
32,000	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
64,000	+	-	-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
128,000	+	+	-	+	+	(+)	-	-	-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
256,000	+	+	-	+	+	(+)	+	+	-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
512,000	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	+	(+)
1,024,000	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	-	+	+	-	-	(+)	+	+	+	+	+	(+)
2,048,000	+	+	+	+	+	(-)	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	(+)

(註) (+) 完全発育, (±) 発育阻止, (-) 完全阻止



第4図 殺菌作用

## V 抗菌力浸透試験

実験方法としては従来の CUP 法と Paper disk method の2種がもつとも多く行われているが、著者は CUP 法と Paper disk method の変法について予試験を行つたところ、以前の CUP 法と比較して Paper 法のほうが正しく、かつ実験的にも操作が簡易であることを知りえたので、CUP 法のほかに Paper 法の成績を一部併記して、抗菌力浸透試験とした。このさいいずれの膏薬材料が抗菌力浸透にもつとも有利であるかを検討し、あわせて TETD 粒子の大きさが抗菌力浸透に及ぼす影響をみた。またすでに市販され、白癬症治療薬として繁用されている薬剤についても比

較実験を行つた。

## 実験方法

1) Cup 法による実験：滅菌シャーレに固型培地を入れて固結させ、しかるのち滅菌した金属製 Penicillin Cup (内容量 0.5g つめる) に、被検薬として調製した 5% TETD 軟膏 0.5g をつめて、培地の中央に位置させ、その周囲に各種白癬菌を区別して均一に接種し、これを 28°C で4日間保温培養したのち、さらに室温で3日間放置して、菌苔に発現する阻止帯を計測した。これを5例ずつ行いその平均値によつて成績を示した。対照としては、TETD を含有しない PEGO のみを Cup につめて使用した。

2) Paper 法による実験：滅菌シャーレに Cup 法と同様な操作により、5% TETD 軟膏 0.5g を、あらかじめ滅菌を行つた直径 8mm の円形濾紙 (東洋濾紙 No.5B) 上に秤取塗布し培地の中央に位置させた。しかるのち各種白癬菌を用いて、各シャーレに1種の菌を濾紙の周囲から5方に接種し、28°C で4日間培養したのち対照と比較した。対照は Cup 法と同じである。発育の阻止された部分を、濾紙の周囲より5方に計測し、5ヶ所の平均値をもつて成績とし、信頼限界 95% において算出した。なお阻止帯の測定はマチクロメータ計算器を使用。また Cup 法および Paper 法における操作は、すべて雑菌の混入をふせぐため無菌箱内で行つた。

## 実験成績

a) 軟膏基剤を異にする場合：軟膏基剤として、WP, SO, HO, AO, LO および PEGO を用いた。軟膏は TETD 結晶 5g にたいし、基剤 95g の比率で製剤した。各種軟膏基剤についての抗菌力浸透実験の結果、第5表および5図に示す成績をえた(第5表、第5図)。各種軟膏のうちもつともすぐれた抗菌力浸透を示し

たものは PEGO で、各菌種いずれにたいしても、平均値で4.5mm以上の浸透を示した。つぎが SO で、各菌種に3mm以上の浸透を示した。その他の軟膏では LO をのぞいて、3例ともほとんど大差なく1mm前後の抗菌力浸透を示した。LO の場合は4種の白癬菌にきょうつうして抗菌力がほとんど認められなかつた。

b) 賦形薬溶媒を異にする PEGO との配合の場合：溶媒として Glycerin, LP, PG, Alcohol および PEG 400 を用い、軟膏は TETD 細末 5.0g, 溶媒 10.0g を PEGO 85.0g と配合した。PEGO に各種溶媒を配合した場合の抗菌力浸透について試みたところ、第6表および第6図に示す抗菌力浸透値をえた(第6表、第6図)。星芒状菌には、各溶媒による差異はほとんど認

められないが、もつとも高い浸透を示したものは PG でつぎが PEG 400, 以下 Glycerin, LP および Alcohol の順であつた。趾間菌にたいしても PG を最高に、Glycerin, PEG 400, LP および Alcohol の順であつた。猩紅色菌には、PG はきわめて高い抗菌力浸透を示し、以下 PEG 400, Glycerin, LP および Alcohol の順であつた。T. furus においては、やはり PG の値が高く、PEG 400 と Glycerin は同程度で、LP をして Alcohol の順であつた。

菌種別にみると、各溶剤の別なく猩紅色菌における抗菌力浸透がもつとも高く、星芒状菌、趾間菌および T. furus の順であつた。また溶剤別にみると、各菌種を通じて PG の値が最高で、つぎに PEG 400 と Glycerin が同程度の値を示し、以下 LP, Alcohol の順であつた。

c) 各軟膏基剤に PG を溶剤として添加した場合：軟膏基剤は実験成績 a) で使用したものをういた。被検薬の組成は TETD 細末 5.0g, PG 10.0g と軟膏基剤 85.0g と配合したものである。以上の方法により、第7表および第7図に示す成績をえた(第7表、第7図)。その結果 a), b) の成績でえた抗菌力浸透値よりいづれも高い成績をえた。

各菌種に PEGO の場合が最高の抗菌力浸透を示し、猩紅色菌には約18mmであり、最低の T. furus においても13mmの値を示した。つぎに SO の例で、各

第5表 抗菌力浸透、軟膏基剤を異にする場合

菌種名 溶剤名	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. furus
W P	2.0±0.2	2.0±0.2	1.6±0.1	1.1±0.2
S O	4.6±0.6	4.9±0.3	3.8±0.2	2.9±0.2
H O	2.1±0.2	2.5±0.03	1.8±0.1	1.5±0.2
A O	2.0±0.2	1.9±0.2	1.8±0.2	1.2±0.4
L O	0.6±0.7	0.7±0.8	0.9±0.6	0.5±0.8
PEGO	5.7±0.3	5.3±0.2	6.2±0.2	4.5±0.4

(註) 単位 mm, Cup 法  
TETD 5.0g-各軟膏基剤 95.0g

第6表 抗菌力浸透、PEGO に各種賦形薬溶剤を配合した場合

菌種名 基剤名	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. furus
Glycerin	14.8 ± 0.3	14.5 ± 0.3	16.8 ± 0.2	12.6 ± 0.3
L P	14.1 ± 0.2	13.5 ± 0.2	15.5 ± 0.2	11.5 ± 0.7
P G	15.7 ± 0.1	17.0 ± 0.3	17.7 ± 0.2	13.6 ± 0.1
Alcohol	1.38 ± 0.2	13.1 ± 0.2	14.3 ± 0.3	11.4 ± 0.5
PEG 400	1.53 ± 0.4	14.6 ± 0.2	16.7 ± 0.2	12.2 ± 0.7

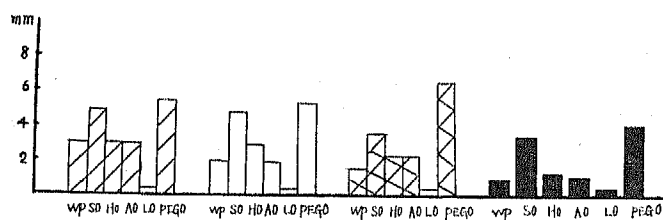
(註) 単位 mm, Cup 法, TETO 5.0g-各溶剤 10.0g-PEGO 85.0g

第7表 抗菌力浸透、各種軟膏基剤に PG を配合した場合

菌種名 基剤名	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. furus
W F	3.0 ± 0.2	2.1 ± 0.3	3.5 ± 0.1	1.9 ± 0.2
S O	13.8 ± 0.1	10.8 ± 0.5	15.0 ± 0.2	11.0 ± 0.3
H O	6.0 ± 0.2	5.8 ± 0.1	7.8 ± 0.2	4.5 ± 0.2
A O	5.6 ± 0.1	5.6 ± 0.1	7.0 ± 0.2	4.3 ± 0.2
L O	3.1 ± 0.2	5.6 ± 0.1	4.0 ± 0.2	1.9 ± 0.2
PEGO	15.6 ± 0.2	17.0 ± 0.2	17.8 ± 0.1	13.3 ± 0.1

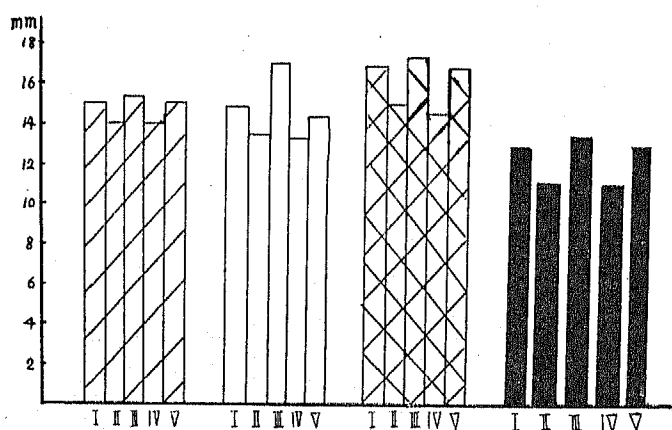
(註) 単位 mm, Cup 法, TETD 5.0g-PG 10.0g-各軟膏基剤 85.0g





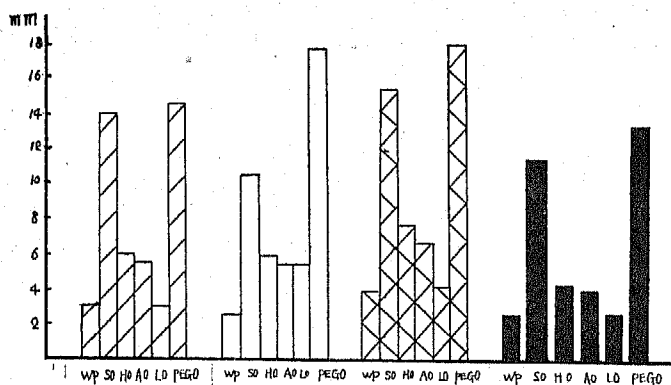
第5図 抗菌力浸透 Cup 法

a) 軟膏基剤を異にする場合: TETD 5.0g-各軟膏基剤 95.0g



第6図 抗菌力浸透 Cup 法  
I: Glycerin, II: LP, III: PG, IV: Alcohol, V: PEG 400

b) PEGO に各種賦形薬溶剤を配合した場合:  
TETD 5.0g-各溶剤 10.0g-PEGO 85.0g



第7図 抗菌力浸透 Cup 法

c) 各種軟膏基剤に PG を配合した場合:  
TETD 5.0g-PG 10.0g-各軟膏基85.0g

菌種にたいし約11mm以上の値を示した。以下 HO, AO, WP および LO の順であつた。

d) TETD と常用白癬症治療薬との抗菌力浸透の比較: 抗白癬菌剤の抗菌力浸透について比較した結果第8表, 第8図に示すごとく(第8表, 第8図), 星芒状菌においては, PCP-Na, PCP, TETD の順によつて示された。その他の薬物はわずかの浸透値を示した。趾間菌には TETD, PCP-Na および PCP などが強力であつた。猩紅色菌においては PCP, TETD および PCP-Na などがつよい効果を示した。T. fubrus にたいしては Thiolutin, PCP および NM の順で, PCP, TETD は他の3種の白癬菌におけるほどの抗菌力浸透はみられなかつた。

e) Cup 法と Paper 法の抗菌力浸透の比較: もつともすぐれた抗菌力浸透値を示した5% TETD-PG-PEGO について, Cup 法と Paper 法の両者について比較試験を行い, 第9表および第9図に示すごとき結果をえた(第9表, 第9図)。Paper 法による結果は Cup 法に比較し, より高い抗菌力を示している。もつとも高い阻止帯は猩紅色菌でみられる23mmであつた。つぎがわずかの差で趾間菌であり20mmであつた。星芒状菌には16mm, T. fubrus の12mmの順であつた。

### 考 察

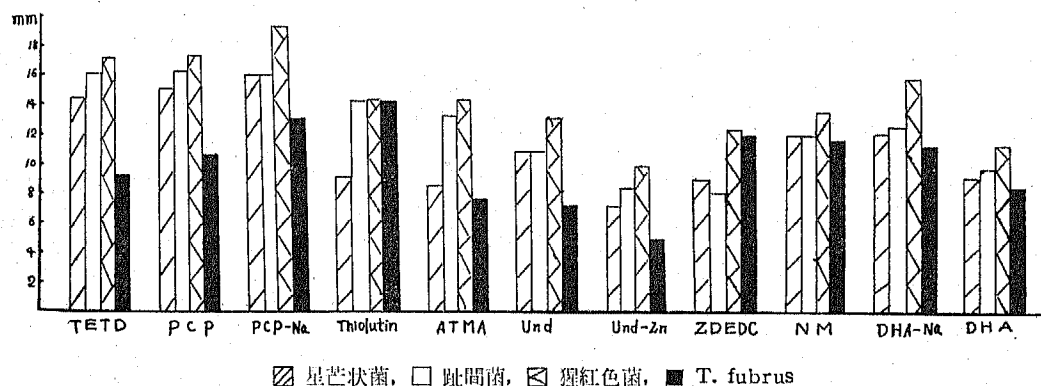
星芒状菌, 趾間菌, 猩紅色菌および T. fubrus の4種の白癬菌にたいする TETD の in vitro 各種実験で, その抗菌作用を探索した。

1) 0.1~10%濃度における TETD の4% Sabouraud glucose agar 培地における発育阻止作用を観察した結果, 0.1% TETD 含有培地においては4種の白癬菌にいずれも発育阻止作用を認めなかつた。これは TETD が不溶性薬物であるため

第8表 抗菌力浸透, 白癬症治療薬の比較

被検薬	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T. fubrus
TETD	14.6 ± 0.2	15.8 ± 0.1	16.8 ± 0.2	9.1 ± 0.1
PCP	15.6 ± 0.2	15.9 ± 0.2	17.0 ± 0.2	11.3 ± 0.1
PCP-Na	15.8 ± 0.2	15.9 ± 0.2	19.0 ± 0.3	13.0 ± 0.2
Thiolutin	9.1 ± 0.1	14.1 ± 0.1	14.9 ± 0.2	14.0 ± 0.2
ATMA	9.1 ± 0.2	13.6 ± 0.1	14.5 ± 0.01	7.1 ± 0.1
Und	11.0 ± 0.2	11.0 ± 0.2	12.9 ± 0.2	7.3 ± 0.1
Und-Zn	6.4 ± 0.2	8.3 ± 0.01	9.6 ± 0.2	4.0 ± 0.2
ZDEDC	11.1 ± 0.1	9.0 ± 0.1	13.0 ± 0.2	11.9 ± 0.2
N M	12.7 ± 0.2	12.7 ± 0.2	14.9 ± 0.1	12.0 ± 0.2
DHA-Na	13.0 ± 0.2	13.7 ± 0.2	15.6 ± 0.1	11.2 ± 0.3
DHA	9.0 ± 0.1	9.6 ± 0.2	12.0 ± 0.2	8.9 ± 0.2

(註) 単位 mm, Cup 法, 各被検薬を PEGO と混和せるもの



第8図 抗菌力浸透 Cup 法

d) 抗白癬菌剤の比較: 各被検薬を PEGO と混和せるもの

に, 低い濃度では薬物が均一に作用しないのであろうと考えられる。すなわち TETD の粒子の周囲には, 菌の発育が抑制されているのであるが, 粒子からはなれるほど抑制作用は弱くなる。それゆえ粒子間の間隔が問題になると思われる。私が<sup>⑪⑫</sup>さきに行つた実験では, 10% TETD 加培地においても, T. fubrus の発育を完全に阻止することはできなかったが, 今回は2%においてすでに発育を阻止していることは, TETD の粒子の大きさの差異によるものと思われる。またこれらを証明する実験例として, TETD が分解する寸前の半熔融状態における成績<sup>⑬</sup>では, 濃度が低くても発育阻止作用は高いことを示している。接種法による発育阻止作用の方法では菌苔を全く均一に接種することは困難であるので, より均一に接種することができるならば, らに正しい成績をうることができると考えられる。

2) TETD の 100~1,000,000 倍稀釈懸濁液中に, 各白癬菌を短時間接触させて行つた発育阻止試験の結果では, 各菌種のもつとも高い完全阻止は, 10,000 倍における猩紅色菌にたいする  $10^m$  値であつた。つぎに同一稀釈倍数における星芒状菌, 趾間菌の  $15^m$  値であり, T. fubrus では 1,000 倍の  $5^m$  値で認められた。

最少阻止作用は星芒状菌, 趾間菌および猩紅色菌の3種にたいする 1,000,000 倍における  $10^m$  値であり, T. fubrus においては同一稀釈倍数で  $15^m$  の接触を要した。

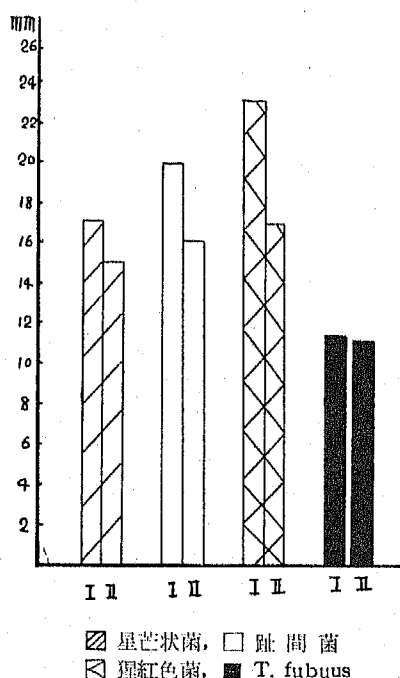
接触法による実験においても, 不溶解性薬物であるがゆえに発育阻止作用にたいする効力に問題があると思われるが, しかし掛川<sup>⑭</sup>の説によるとかならずしも不溶解性は広い意味での抗菌力には影響はないとされる。著者は高橋<sup>⑮</sup>そして上遠<sup>⑯</sup>らの考えにしたがつて, この不溶解性による障害を補うために, 'TETD

第9表 抗菌力浸透, Paper 法と Cup 法の比較

菌種名 実験方法	星芒状菌	趾間菌	猩紅色菌	T.fubrus
Paper法	16.5±0.1	20.3±0.7	23.1±0.3	12.5±0.1
Cup法	15.6±0.2	17.0±0.2	17.8±0.1	13.3±0.1

(註) 単位 mm

TETD 5.0g-PG 10.0g-PEGO 85.0g



第9図 抗菌力浸透

e) CuP 法と Paper 法の比較

TETD 5.0g-PG 10.0g-PEGO 85.0g

のきわめて小さい粒子をつくるか、あるいは乳化剤として均一分布することを考え、実験Ⅲ以下の基礎実験を試みた。なお TETD の易溶性化合物をつくる方法としては、1価の Na および K などの金属を用いて塩類とすることであるが、TETD の化学構造からして Na や K などの塩類をつくることは困難というより不可能であろうと考えられる。しかし Eldjarn<sup>10)</sup>により TETD の生体内分解物とみなされる、dithiocarbamate 化合物つまり Sodium diethyldithiocarbamate にして用いられれば不溶性の問題も解決するであろうと考える。したがってこの種の化合物は多くの誘導体をつくることは容易であると考えられる。ここで考えられることは高橋<sup>11)</sup>、野口<sup>12)</sup>らが報告している Zinc

diethyldithiocarbamate そのほか各種誘導体はその化学構造からみても TETD と同様、強弱の差はあると思われるが抗菌作用があると考えられるので、Thiuram 属の誘導体はもちろん、これらの誘導体についても抗菌作用を試みている<sup>10)-12)</sup>。

以上の結果からして一定の発育阻止力のある濃度においては、時間をながくし接触を高くすることによりその抗菌作用はより以上の効果があるのではないかと考えられる。

3) 倍数稀釈法による実験では各種白黴菌の均一接種および TETD の培地内における均一採取を補うために、高橋<sup>13)</sup>らの方法に準じて、菌種の均一化をはかった。TETD の粒子は小さくすることはもちろん、さらに CMC を用いて原液を懸濁し均一分布をはかった。

このような方法で静菌力試験を試みたところ、星芒状菌には64,000、趾間菌には128,000、猩紅色菌には1,024,000および T. fubrus には32,000倍などの抗菌作用を示した。この結果をみると実験Ⅱでえた接触法による発育阻止値より、いずれもすぐれた成績をえた。これは TETD の粒子が小さくなつたことによつて、菌にたいする作用面積が大きくなつたこと、また菌をすりつぶしたことによつて菌苔が小さくなり薬物の作用を均一にうけることによると考えられる。いずれにせよ倍数稀釈法による結果、TETD の著明な発育阻止作用を知りえた。

4) 静菌力試験のうちから、各白黴菌の菌苔を認めないものを殺菌力試験した結果、星芒状菌には32,000、趾間菌には64,000、猩紅色菌に512,000はおよび T. fubrus には16,000倍において殺菌作用を認めた。殺菌力試験は静菌力試験とことなり、bacteriocidal の実験であるから、当然有効稀釈濃度が低下するのは理解できることである。

高橋<sup>13)</sup>らは Bis-ethylmercuric sulfide を、また酒井<sup>14)</sup>らは Halogen phenolester の白黴菌にたいする殺菌効果を同様な方法で実験し、判定を行つている。しかしこれらの易溶性薬物の場合は、菌の発育状態が培地の裏面からみると鮮明であり、判定が容易である。しかし TETD のように乳化剤を使用したような場合では、乳化剤などが残存するため、その判定が非常に困難であるから、多数の対照例をつくり、比較検討することが必要であることを知りえた。TETD 自体の抗菌力が強力でない点にも関係あるが、なんといつても不溶性性によることも大きな欠点であると考えられる。なお完全に正確な殺菌力を定めるためには、一定量中に含有する芽胞の量を測定する方法がある。

しかし実際にはほとんど応用の必要はないとされる。

5) 抗菌力浸透試験は外用薬物の抗菌力を検査する方法の実験としてひろく行われている。著者はこの試験に Cup 法と Paper 法を応用したが、実験成績は Cup 法より Paper 法のほうに利点が多いことを示した。

a) 軟膏基剤を異にして、それぞれのもつ特性が抗菌力浸透において、TETDの発育阻止作用にいかに関与を及ぼすかを試みた結果、各菌種を通じて PEGOが高い抗菌力浸透を示している。つぎが SO であり、可洗性基剤では著明な浸透はみられなかった。もつとも低い値を示したのは鉱物性油脂基剤の WP であった。Hanzlik, Seidenfeld<sup>④</sup>の glycol 類の浸透力についての報告からみて、PEGOがきわめて高い抗菌力浸透を示したことは、TETD自体の菌にたいする抗菌性のみによるものでなく、薬物の抗菌力とその培地内への浸透力との協同作用によるものであろう。

TETDはPEGに比較的高い溶解度を有し、PEG自体に強力な親水性があるために、主薬の溶解状態を助けるとともに、PEGが培地内へ浸透する場合に、主薬を運ぶのであろう。

SOの浸透がPEGOについて浸透性を示す理由は、非水性ではあるが、物理的拡散力が作用して、TETDを運ぶためであらう。可洗性基剤のHO、AOが前2者より低い浸透性を示している理由としては、つぎのようなことが考えられる。可洗性基剤は理論的<sup>⑤</sup>には水性組織面に密着するはずであるが、これは界面活性剤を添加して非吸水性のWPをEmulsion状態とすることによつて吸水性を与えたもので、おそらく水に浮遊しているワセリン粒子が主薬の浸透を妨害しているものと考えられる。それゆえにPEGのように本質的に親水性のものでない。Emulsionとしては親水性の性質をおびてくるが、それに含まれているWPそのものは、あくまで非水性であり、そのWPが浸透力を妨げているものと考えられる。

Lotion 基剤が各軟膏基剤中もつとも低い抗菌力浸透を示した理由としては、Lotion そのものは Emulsion として親水性であるが、Lotion を構成している Cetylalcohol その他の物質がすべて、WP と同じように非水性のものであり、これらが一つ一つ拡散するときは本来の非吸収性の性質をあらわし、そのため浸透力が弱くなるのであろう。ようするに、WP をのぞく可洗性基剤のHO、AOおよびLOなどは基剤材料をEmulsion状態にして比較的親水性にしたもので、それじしん水に溶けるPEGOの親水性とは、格段のちがひがあることを考えねばならない。

難波<sup>⑦</sup>はFuran誘導体の抗菌力浸透の実験でPEG、WPおよびHOの成績について同様な報告をしている。また著者<sup>⑧⑨</sup>の実験でもHOを用いた薬物はin vitroでいくらか高い抗菌力を示しても、抗菌力浸透はPEGOを用いたときに遠く及ばないことを認めた。さらに市販品の抗白癬菌剤でも同様な結果を示し、臨床的にかなり大きな期待がもたれた薬剤でも抗菌力浸透値は低いことを認めた。

b) 各種軟膏基剤の抗菌力浸透の成績から、PEGOがきわめて高い浸透性を示したので、PEGOに各種賦形薬溶剤を添加して、抗菌力浸透に及ぼす影響を試みたところ、各種白癬菌にきょうつうしてPGの添加がもつとも高い浸透力を示した。これは前述せる軟膏基剤でみられたように、親水性と培地への浸透性の点において、PGはPEGと同様な性質を有するため、阻止帯が大きくなったものと考えられる。つぎがPEG 400およびGlycerinの例であるが、これらはPGの例には及ばないが、PEGOを単独で使用したときより、平均3~4倍の抗菌力浸透を示した。さらにLP、Alcoholの併用ではPGの $1/n$ の効力に減じているが、この抗菌力浸透の差はPGやPEGのもつ親水性からくる当然の結果ではないかと考えられる。ここで注意を要することは、溶媒の添加量と処理方法にある。軟膏の生命である展延性を極度に変えるような添加量はつづしめねばならない。

c) 各種溶剤のうちPGが賦形薬溶剤としてもつともすぐれた抗菌力浸透を示したので、このPGを各種軟膏基剤と配合した場合、PGがいかに抗菌力浸透に影響するかを、TETDの細末にした場合とあわせて試みたところ、いずれの場合も抗菌力浸透の増強がみられ、やはりPEGOとPGの配合がこの実験においてももつとも有効であつた。PGを配合して抗菌力浸透に有効であつた例は浸透性がみられなかったLO、WPなどにも抗菌力浸透がみられたことである。

d) 以上の基礎実験成績からTETDのin vitroの抗菌力を知りえたが、さらに臨床治療薬としての利用性をうかがう一つの手段として、他の抗白癬菌剤とくにさいきんの抗白癬菌剤として繁用される薬剤との抗菌力浸透の比較実験を行つた。この比較実験ですぐれた効果を示せば、TETDの不溶解性の不利もあるていど解決することができるであらう。その結果、星芒状菌、趾間菌および猩紅色菌の3種にたいしては、PCP、PCP-NaおよびTETDが強力な抗菌力を示した。T. fubrusにたいする抗菌力も、他の治療薬剤と比べると劣るものでなく、総合して考えると多くの治療薬のなかでもTETDの抗菌力は劣らない薬物であ

るということを知りえた。

### 総 括

Thiuram 系有機硫黄化合物 Tetraethylthiuramdisulfide (TETD) の病原白癬菌とくに星芒状菌、趾間菌、猩紅色菌および *T. fubrus* にたいする抗菌作用を実験した。

1) TETD の 0.5% 加培地の接種法において 4 種の白癬菌の発育を阻止した。2% ではいずれの菌種も完全に発育を阻止された。TETD の粒子がこまかいほど抗菌力が大きくなることを認めた。

2) TETD の 1,000,000 倍稀釈懸濁液の 10~15<sup>m</sup> 間接触において 4 種の白癬菌にたいして、発育阻止を認めた。

3) 倍数稀釈法による静菌力試験において、星芒状菌 64,000 倍、趾間菌 128,000 倍、猩紅色菌 1,024,000 倍および *T. fubrus* 16,000 倍で発育阻止を示した。

4) 殺菌力試験においては、星芒状菌 32,000 倍、趾間菌 64,000 倍、猩紅色菌 512,000 倍および *T. fubrus* 16,000 倍で殺菌作用を示した。

5) 抗菌力浸透試験の結果、軟膏基剤としては Polyethylene glycol、溶剤としては Propylen glycol がもつともすぐれていることを認めた。

6) TETD を従来一般に繁用されている抗白癬菌剤と比較したところ、これらの薬剤に劣らない抗菌作用を示し、TETD-PG-PEGO の配合がもつともすぐれていることを認めた。各菌種のうち、猩紅色菌にもつとも強い抗菌力を示し、つぎが趾間菌、星芒状菌の順で、*T. fubrus* にたいする抗菌力がもつとも弱いことを示した。

### 参 考 文 献

- ①Hodge, H. C. et al; J. Pharmacol. & Exp. Therap., 118: 174, 1956
- ②赤羽治郎; 生体の科学, 6, 218, 1955
- ③Jacobsen, E.; Antabuse の薬理学, Medicinalco 会社, 生物学研究所, 1950
- ④Jacobsen, E.; British. J. Addiction., 47: 26, 1950
- ⑤Hald, J. et al; Acta Pharmacol. et Toxicol., 5: 179, 1949
- ⑥Hald, J. et al; Ibid., 4, 305, 1948
- ⑦Hald, J. et al; Acta Pharmacol. et Toxicol., 5: 292, 1949
- ⑧Hald, J. et al; Ibid., 5: 298, 1949
- ⑨Jacobsen, E.; J. A. M. A., 139: 918, 1949
- ⑩Child, G. et al; Amer. J. Psychiat., 107: 714, 1951
- ⑪丹羽源之助; 第6回日本薬学大会講演発表, 昭和28年4月7日
- ⑫楠瀬秀雄ほか; 薬剤部長年報, 14: 18, 1954
- ⑬上遠 章; 薬局, 10: 254, 1959
- ⑭掛川貞夫; 薬局, 10: 233, 1959
- ⑮高橋吉定ほか; J. Sci. Res. Ist., 46: 113, 1952
- ⑯Eldjarn, L.; Scand. J. Clin. Lab. Invest., 2: 198 & 202, 1950
- ⑰高橋吉定ほか; 日皮会誌., 67, 9, 1957
- ⑱野口義閑; 薬局, 10: 189, 1959
- ⑲赤羽治郎ほか; 日薬理誌, 53: §191, 1957
- ⑳最新薬学大事典(1), 167, 誠文堂新光社, 昭和33年
- ㉑多山博ほか; 皮と泌, 19: 80, 昭和32年
- ㉒田沼 崔ほか; 臨床皮泌, 11: 445, 1957
- ㉓高橋吉定ほか; 山之内文献, 68: 1, 昭和33年
- ㉔Saki, S. et al; J. Sci. Res. Ist., 48: 38, 1954
- ㉕Hanzlik, et al; J. Pharmacol. & Therap., 41: 387, 1931
- ㉖Zopf, et al; J. Am. Pharm. Ass. Pract. Ed., 6: 365, 1945
- ㉗難波雄哉; 日薬理誌., 48: 91 & 127, 昭和29年
- ㉘丹羽源之助ほか; 第7回日本薬学大会講演発表, 昭和29年4月5日