

解説

## 抗微生物薬における抗菌作用の定量的解析

岡田文裕

(受取日：1998年9月7日，受理日：1998年9月16日)

### Quantitative Analysis of Antimicrobial Actions of Drugs Studied by Microbial Calorimetry

Fumihiko Okada

(Received September 7, 1998, Accepted September 16, 1998)

Using microbial calorimetry technique, the antimicrobial actions of drugs were quantitatively studied for *p*-hydroxybenzoic acid alkyl esters (parabens). Parabens tested were *p*-hydroxybenzoic acid methyl, ethyl, propyl, butyl, pentyl and hexyl esters.

For the purpose of obtaining the inhibitory parameters characterizing drug action, growth behaviors of *Saccharomyces cerevisiae* and *Klebsiella pneumoniae* grown in media containing various amounts of parabens were observed as each growth thermogram with the multiplex calorimeter having 24 calorimetric units. Based on the growth thermograms of *Klebsiella pneumoniae* and *Saccharomyces cerevisiae*, 50% growth inhibition concentrations ( $K_{50}$ ) of each paraben were obtained from the growth retardation times, and then the drug-potency curves were made from the drug efficacy. The minimum growth inhibition concentrations (MICs) obtained by analyzing the drug-potency curves showed that the effects of the drugs become more in the order of methyl, ethyl, propyl, butyl, pentyl, hexyl esters. When comparing the affinity of the drugs to both microorganisms based on the drug concentration required for inhibiting the growth activity by 50%, a linear relationship was observed to exist between the number of carbon atoms in an alkyl chain and the affinity. In addition, an identical drug exhibited a higher effect on *S. cerevisiae* rather than on *K. pneumoniae*, which may be mainly due to the difference in membrane structure.

From the result obtained it was concluded that the method of analysis developed here is useful for the quantitative study of antimicrobial actions of drugs.

#### 1. はじめに

化粧品には、食品と同様、微生物汚染を防止する目的で、防腐剤というものが用いられている。<sup>1-3)</sup> また、医薬部外品、

医薬品においては、保存剤以外に皮膚上の消毒やにきびに関与していると言われるアクネ菌、フケ・脇下臭の原因菌など特定菌の殺菌を目的とした殺菌剤が用いられている。<sup>4-6)</sup> これら防腐・殺菌剤を化粧品や医薬部外品・医薬品に配

(株) マンダム 中央研究所, 〒540-8530 大阪市中央区十二軒町5-12

Mandom Corp., Central Research Laboratories, 5-12, Juniken-cho, Chuo-ku, Osaka, 540-8530, Japan

©1998 The Japan Society of Calorimetry and Thermal Analysis.

合する場合、使用特性や目的に適した選定が重要である<sup>7-8)</sup>。しかしながら、防腐・殺菌剤の作用特性について十分な理解が得られておらず、それらの選定にあたっては経験的なものに頼っているのが現状である。また、最近の医薬品開発においては、感染症の治療に代表される院内感染で問題になっている菌（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌；MRSA、バンコマイシン耐性腸球菌；VRE）に対して効果的な薬剤を開発するため、薬物の分子設計（ドラッグデザイン）と抗微生物作用の関係を知らることが非常に重要になってきている。<sup>9-11)</sup>

我々は、こうした問題を解決する一助として、微生物系の熱測定を利用した抗微生物薬における抗菌作用の定量的解析法が有効であると考えている。微生物系の熱測定は、非破壊的立場から微生物の増殖に伴う代謝熱を計測することにより微生物増殖をモニタリングする方法である。<sup>12-13)</sup> この微生物が示す増殖サーモグラム ( $g(t)$  曲線) は増殖挙動を忠実に反映しているため、薬剤を添加した培養系が示す増殖サーモグラムのパターンの変化は薬物作用に関する情報を含んでいる。したがって、それを適切な方法で解析することにより、従来把握できなかった薬剤の効果を定量的に把握することができる。<sup>14-19)</sup>

そこで、この微生物系の熱測定を利用して、食品、化粧品、医薬部外品や医薬品の保存剤として広く用いられ、また抗菌スペクトルが広く、安全性が高いと言われるパラオキシ安息香酸エステル（パラベン）<sup>1, 20, 21)</sup> について、抗微生物作用を検討した。パラベン類の薬剤作用の増殖抑制パラメーターを得るために、種々の濃度のパラベン類を含む増殖培地中の *Klebsiella pneumoniae* ならびに *Saccharomyces cerevisiae* の増殖挙動を24個の熱測定ユニットを有する多試料同時計測微生物活性解析装置<sup>12)</sup> で増殖サーモグラムとして観測した。こうして得られたそれぞれの薬剤に対する *K. pneumoniae* ならびに *S. cerevisiae* の増殖サーモグラムから、各々のパラベンの増殖の時間遅れを使った50%増殖抑制濃度 ( $K_0$ ) を求め、さらにその薬物濃度依存性から薬物作用曲線を描き、薬剤効果を評価した。

また50%増殖抑制濃度 ( $K_0$ ) より各薬剤の *K. pneumoniae* ならびに *S. cerevisiae* の微生物細胞に対する親和力（結合のギブス自由エネルギー変化）を求め、分子の形状と薬剤効果について考察を試みたので、ここに解説する。なお、パラベン類としては、パラオキシ安息香酸メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシルを試験に用いた。

## 2. 実験条件

微生物の代謝熱計測には、24個の熱測定ユニットを有する多試料同時計測微生物活性解析装置（(株)日本医化器械

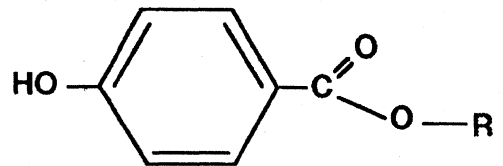


Fig.1 Structural formula of *p*-hydroxybenzoic acid alkyl esters.

R = CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>, C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>  
(methyl ester, ethyl ester, propyl ester, butyl ester, pentyl ester, hexyl ester)

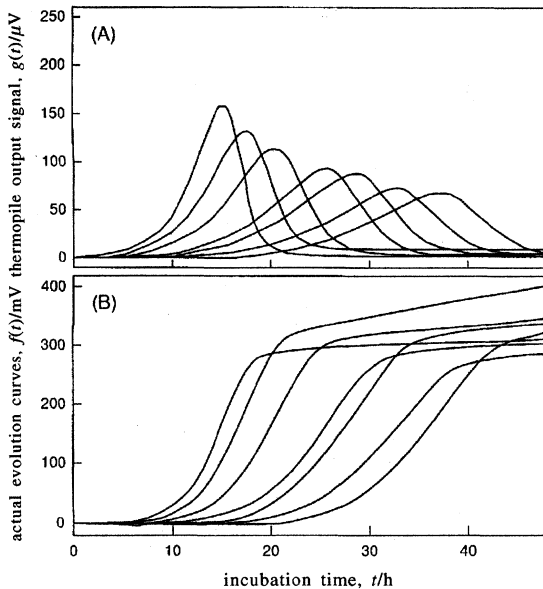
製作所製Bio Thermo Analyzer H-201：略称BTA)を用いた。<sup>12)</sup> 抗微生物薬剤としてのパラオキシ安息香酸エステル（パラベン）6種は市販試薬レベルのものを用い、またその構造式をFig.1に示した。試験に用いた微生物種は研究室保有の酵母 *S. cerevisiae* No.9302ならびに、腐敗した化粧品材料より分離した *K. pneumoniae* である。培地については *S. cerevisiae* の培養にはグルコース・ペプトン培地（日本製薬「ダイゴ」、pH 5.6~5.8）で、*K. pneumoniae* の場合は、ブレイン・ハート・インヒュージョン培地（ニッスイ、pH 7.2）を使用した。

実験は、熱測定セルを兼ねる30 mlバイアルの培養容器に各種濃度のパラベンを含むグルコース・ペプトン培地あるいはブレイン・ハート・インヒュージョン培地を5 ml入れ、次に、試験菌が  $10^3$  ml<sup>-1</sup> になるように菌懸濁液を50 μl 接種し、攪拌した後、30℃に保たれた熱測定ユニットに設置し、増殖に伴う熱生成シグナルを観測した。

## 3. 抗菌作用の定量的解析

Fig.2 (A) にプロピルパラベンを0~0.0168% (w/v) の濃度で含む培地で48時間培養した時に観測した酵母 *S. cerevisiae* の増殖サーモグラムを示す。これを  $g(t)$  曲線と呼ぶ。縦軸は熱検出体が示す熱起電力（単位はμV）で、また、横軸は培養時間（単位はh）である。ここに示されている  $g(t)$  曲線では、プロピルパラベンの濃度の変化とともに、増殖サーモグラムのパターンが変化している様子がわかる。プロピルパラベンの濃度が高くなるにつれ、微生物の増殖を表わす増殖サーモグラムのピークに達するまでの培養時間が遅くなり、また立ち上がりの勾配も小さくなっていき、微生物の増殖が抑制されていることがわかる。

この  $g(t)$  曲線は熱測定ユニットの中の温度の経時変化をあらわすが、これはあくまでもみかけの熱量変化であり、周囲への熱伝導による損失も含めた結果である。試料を含む熱測定ユニットの熱伝導定数（Newtonの冷却定数）を  $K$  とすると、周囲との熱交換に基づく熱損出を補正した真の



**Fig.2** Growth thermograms (A) and growth curves (B) observed for the growing culture of *Saccharomyces cerevisiae* in brain-heart infusion medium containing various amounts of propylparaben. The 7 curves shown in each panel correspond from left to right to the concentration of propylparaben, 0; 0.0072; 0.0102; 0.0132; 0.0144; 0.0156; 0.0168 %.

熱生成量  $f(t)$  は次の式で与えられる。<sup>12)</sup>

$$f(t) = g(t) + K \int g(t) dt \quad (1)$$

また、ここで得られた  $g(t)$  曲線は増殖曲線のほぼ微分型で与えられるものであり、簡単なアルゴリズムで熱的にみただけの増殖曲線を導くことができる。<sup>12-14)</sup> これが Fig.2 (B) に示した  $f(t)$  曲線である。図から明らかなように増殖初期に指数増殖を示す部分があるため、これを次式

$$f(t) = AN_0^{\mu} + BN_0 \quad (2)$$

にあてはめて増殖速度定数  $\mu$  を求めることができる。<sup>12, 13, 22)</sup> ここで、 $N_0$  は初菌数、 $A, B$  は定数である。さらに、この増殖速度定数  $\mu$  を用い、薬剤濃度 0 の時の増殖速度定数  $\mu_m$  に対する薬剤濃度  $i$  の時の増殖速度定数  $\mu_i$  との比で比増殖活性 (specific growth activity)  $\mu_i/\mu_m$  から薬剤作用曲線を式 (3) を基に描き、薬剤の作用特性を定量的に記述することが可能である。<sup>13-15)</sup>

$$\mu_i / \mu_m = 1 / \{1 + (i / K_i)^m\} \quad (3)$$

ここで、 $K_i$  は薬剤の解離定数をサイト当たりの平均値で表

している。また、 $m$  はサイトの数とみなすことができるが、薬剤作用の協同性を示す指数でもある。このことから、 $\mu_i$  は薬剤濃度  $i$  の  $m$  乗に関して双曲線関数で与えられることがわかる。<sup>19)</sup>

薬剤の抗菌効果は Fig.2 (A), (B) に示すように  $g(t)$  曲線ならびに  $f(t)$  曲線のパターンの変化としてあらわれるが、その意味するものは、一つは先に述べた増殖速度定数の変化であり、もう一つは増殖の時間遅れである。

$f(t)$  曲線は微生物の増殖に伴う熱生成の経時変化をあらわすが、その微分値である  $f'(t)$  は熱生成でみた各培養時間における増殖活性をあらわす。そこで、薬剤が存在しない場合に微生物活性  $f'(t)$  が一定値  $\alpha$  に達するまでの培養時間  $t_{\alpha}(0)$  と薬剤濃度  $i$  の場合に同一活性に達するまでに要する培養時間  $t_{\alpha}(i)$  との比  $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$  とし、その比によって増殖の時間的遅れでみた比増殖活性を表すことにする。<sup>13, 16, 19)</sup> ここで、この増殖の時間的遅れでみた比増殖活性についても増殖速度定数でみた微生物活性の場合と同様の取扱いができる。(2) 式より次の関係が成り立つ。

$$i = 0 \text{ の時 } \alpha = A'N_0 \exp(\mu_m t_{\alpha}(0)) \quad (4)$$

$$i \neq 0 \text{ の時 } \alpha = A'N_0 \exp(\mu_i t_{\alpha}(i)) \quad (5)$$

ただし、ここでは試験する薬剤の濃度範囲では殺菌作用を示さず、静菌作用のみを示すとし、したがって初菌数は不変であるとした。また、定数  $A'$  は単位微生物細胞当たりの熱生成速度<sup>22)</sup> で、薬剤により著しく誘導時間が変化しない限り一定である。(4) 式ならびに (5) 式より容易に以下の関係を得る。

$$\mu_i / \mu_m = t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i) \quad (6)$$

したがって、(3) 式ならびに (6) 式より次式が得られる。

$$t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i) = 1 / \{1 + (i / K_i)^m\} \quad (7)$$

このことから、増殖速度定数からみた比増殖活性  $\mu_i/\mu_m$  も増殖の時間的遅れからみた比増殖活性  $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$  も、数学的に同じ関数型で与えられ、 $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$  から (7) 式より薬剤作用曲線が得られることがわかる。<sup>13, 19)</sup>

しかしながら、増殖速度定数からみた比増殖活性と増殖の時間的遅れからみた比増殖活性は完全には一致するものではない。これは最適化に伴う誤差も含むものの、薬剤 (本稿ではパラベン) の作用機構に関係する本質的な違いを反映している。実際にはどんな薬剤もある濃度以上になれば殺菌的に作用し、微生物の増殖を完全に阻害してしまう場合が多く、この取扱いには  $\mu_i/\mu_m$  のパラメーターでは感覚的に適応しにくい面がある。すなわち、理想的な静菌作用を示す薬剤の場合は増殖速度定数に影響を及ぼすだけでなく、 $\mu_i/\mu_m$  のパラメーターでも精度よく薬剤効果を表すことがで

きるが、増殖速度定数に影響を及ぼさず初菌数の減少を伴う殺菌作用が少しでも持つ薬剤については対応しにくいことが考えられる。そのため、増殖の時間遅れでみた比増殖活性 $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$ の方が静菌作用、殺菌作用を問わず幅広い薬剤の増殖抑制効果に対応できることが推測できる。<sup>12-15)</sup> よって、本稿では、時間的遅れからみた比増殖活性 $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$ を用い、抗微生物作用を考察していることをここで断っておく。

Fig.3 (A) には、Fig.2 (A), (B) から得られたプロピルパラベンの実験データを含む6種のパラベン類の*S. cerevisiae* に対する増殖の時間的な遅れからみた薬剤作用曲線を示している。縦軸は $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$ 、すなわち増殖の時間的な遅れからみた比増殖活性を表し、横軸は薬剤濃度を対数値で表わしている。またそれぞれの点は実験データで、実線は回帰曲線すなわち薬剤作用曲線を表わしている。この図から明らかなように、 $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$ によって描かれたパラベン類の薬剤作用曲線は、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシルの順に低濃度側にシフトしている様子がわかる。すなわち、これはこの順序で抗菌力が強くなる

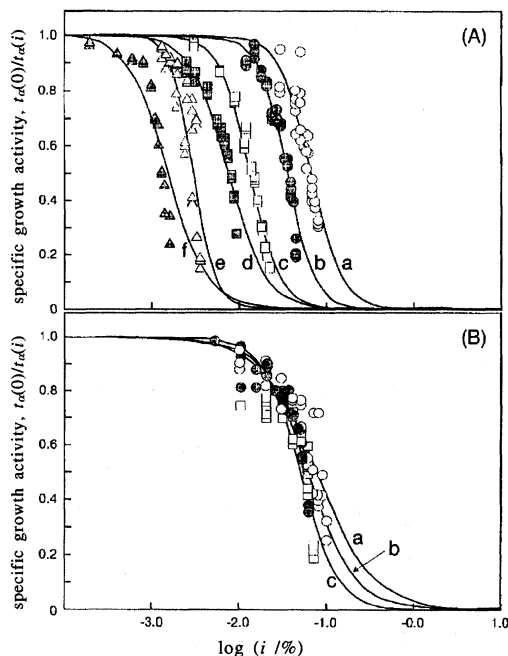


Fig.3 The specific growth activity as a function of drug concentration. Drugs are *p*-hydroxybenzoic acid alkyl ester: a; methyl ester, b; ethyl ester, c; propyl ester, d; butyl ester, e; pentyl ester, f; hexyl ester. (A) *Saccharomyces cerevisiae* (B) *Klebsiella pneumoniae*.

ことを示している。Fig.3 (B) は、*K. pneumoniae* に対する増殖の時間的な遅れからみた薬剤作用曲線を示している。これも先ほどの*S. cerevisiae*と同様に、アルキル鎖が長いほど、抗菌力が増すが、先ほどの*S. cerevisiae*の場合と比べると、薬剤作用曲線の変化はそれほど顕著ではない。このことは、アルキル鎖が長くなると抗菌力は増すが、その抗菌力の増加は*S. cerevisiae*の場合ほど大きくないことを意味している。また、ここでは、メチル、エチル、プロピルパラベンまでしか薬剤作用曲線を示していないが、これはアルキル鎖がブチルより長い場合には、溶解度の関係で実験データがとれなかったためである。<sup>20)</sup> 以上より、*S. cerevisiae*, *K. pneumoniae* について得られた結果から、増殖サーモグラムのパターンの変化は薬剤作用曲線を描くともっと明確になることがわかるであろう。

ところで、薬剤作用曲線を描くことは同時に薬剤の50%増殖抑制濃度( $K_{\theta}$ )を決めることでもある。<sup>12-15)</sup> ここで、 $K_{\theta}$ は増殖の時間遅れでみた比増殖活性 $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$ と増殖速度定数でみた比増殖活性 $\mu_i/\mu_m$ に違いがあるとして、(7)式の $K_i$ と区別して用いている。この $K_{\theta}$ はやはり50%増殖抑制濃度すなわち比増殖活性 $t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i)$ を1/2に抑制する有効薬剤濃度を表わす障害パラメーターで、薬剤作用曲線の中点濃度に相当する。また、増殖速度の薬剤濃度依存性から最小発育阻止濃度MIC (Minimum Inhibition Concentration) を導くこともできる。薬剤による増殖活性の低下を $(1 - t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i))$ で表し、これが薬剤濃度*i*の*m*乗に比例するとする。

$$1 - t_{\alpha}(0)/t_{\alpha}(i) = k_i i^{m_i} \quad (8)$$

ここで、 $k_i$ は比例定数である。

式(8)より、増殖活性が完全に失われる薬剤濃度は

$$i_c = (1/k_i)^{1/m_i} \quad (9)$$

で与えられる。<sup>12-15)</sup>

式(8)に対する回帰分析より、二つの未知数( $k_i$ ,  $m_i$ )を決定することができ、その結果から $i_c$ が計算によって求められる。この $i_c$ の値はその性格から最小発育阻止濃度(MIC)であることは言うまでもない。

さらに、上記50%増殖抑制濃度 $K_{\theta}$ から、パラベン類についての微生物細胞に対するみかけの親和力*A*、すなわち結合のギブス自由エネルギー変化を、ギブスの式に基づいて、

$$\text{式 } A = -RT \ln K_{\theta} \quad (10)$$

にあてはめ求めた。<sup>23-24)</sup> Table 1に*S. cerevisiae*, *K. pneumoniae* に対する6種のパラベン類の50%増殖抑制濃度( $K_{\theta}$ )、最小発育阻止濃度(MIC)ならびに親和力*A*を示す。

この様にして、パラベン類について、それらの微生物細胞に対するみかけの親和力Aを求め、分子の形状と薬剤効果の関係について考察を試みた。

パラベン類の増殖活性を50%に抑制する薬剤濃度 ( $K_0$ ) より、両微生物に対する薬剤の親和力を求めてプロットしたものがFig.4である。図からわかるように、アルキル鎖の炭素数と親和力との間に極めて良好な直線関係が成り立つことがわかる。また抗菌力の違いは、主として炭素鎖の寄与によるものであることが明らかである。パラベン類の微

生物細胞に対する阻害作用がアルキル鎖の炭素数が増加するに伴い強くなるのは、細胞との疎水性相互作用の寄与が大きいものと推測される。また薬剤の細胞に対する親和力の大きさは、1炭素当たり*S. cerevisiae*の場合、2.1 kJ mol<sup>-1</sup>、*K. pneumoniae*の場合1.1 kJ mol<sup>-1</sup>と評価された。これは*K. pneumoniae*、*S. cerevisiae*における膜構造の違い<sup>25)</sup>によるものかも知れない。

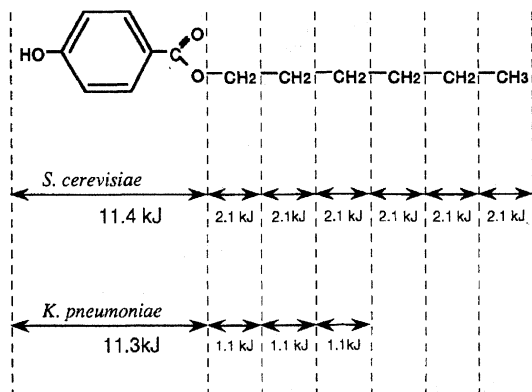
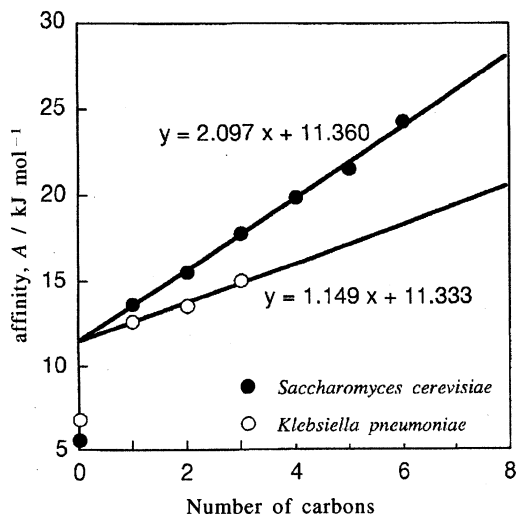
#### 4. おわりに

抗微生物薬における薬剤作用の定量的解析ということで、本研究においては食品、化粧品、医薬品等の防腐剤に使われるパラベン類の抗微生物(抗菌)作用を実例として紹介してきた。基本となる熱測定技術の精度が高いため、通常の微生物学的手段では得られない質の高い情報が得られることが理解されよう。また、Fig.4に代表されるように、構造と活性の相関についての詳細についても考察することが可能であることがわかる。今回紹介した結果から、本方法が薬剤作用の精密な評価にとどまらず、新しい薬剤の分子設計や相乗効果<sup>24)</sup>を念頭においた評価にも有効であると考えている。今後、熱測定法による抗微生物作用の解析は、既存の薬剤や開発途上にある薬剤の定量的評価が進むに連れて、医薬品開発におけるその有用性がより一層認識されるものと著者は考えている。

謝辞 本稿をまとめるにあたり、貴重な助言をいただきました大阪府立大学農学部高橋克忠教授に感謝します。

**Table 1** 50% growth inhibitory concentration ( $K_0$ /mM), minimum inhibitory concentration (MIC/mM) and apparent affinities ( $A$  /kJ mol<sup>-1</sup>).

strains	-R	$K_0$ /mM	MIC/mM	$A$ /kJ mol <sup>-1</sup>
<i>S. cerevisiae</i>				
	-Na	112.98	206.21	5.5
methyl paraben	-CH <sub>3</sub>	4.47	6.69	13.6
ethyl paraben	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2.26	3.34	15.4
propyl paraben	-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	0.88	1.29	17.7
buthl paraben	-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	0.39	0.66	20.0
pentyl paraben	-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	0.20	0.29	21.5
hexyl paraben	-C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	0.07	0.11	24.2
<i>K. pneumoniae</i>				
	-Na	69.70	126.15	6.7
methyl paraben	-CH <sub>3</sub>	6.85	18.48	12.6
ethyl paraben	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	5.02	9.80	13.4
propyl paraben	-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	2.77	4.28	14.9



**Fig.4** Relationship between the number of alkyl carbons in *p*-hydroxybenzoic acid alkyl ester and the apparent drug affinity to the microbial cells.

## 文 献

- 1) E. L. Richardson, *Cosmetics & Toiletries* **96**, 91-92 (1981).
- 2) J. Moral, *Cosmetics & Toiletries* **107**, 65-72 (1992).
- 3) K. Tanaka, *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan* **31**, 245-253 (1997).
- 4) U.-F. Haustein, J. Herrmann, U. Hoppe, W. Engel and G. Sauermann, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **44**, 211-220 (1993).
- 5) A. Charig, C. Froebe, A. Simone and E. Eigen, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **42**, 133-145 (1991).
- 6) H.-C. Korting, K. Greiner, K. Hubner and G. Hamm, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **42**, 147-158 (1991).
- 7) R. J. Corbett, *Parfumerie kosmetik* **73**, 22-27 (1992).
- 8) R. J. Corbett, *Seifen, Oele, Fette, Wachse Journal* **123**, 246-258 (1997).
- 9) M. Sasatsu, *Jap. J. Bacteriol.* **51**, 755-765 (1996).
- 10) H. Hashimoto, *Jap. J. Bacteriol.* **51**, 841-852 (1996).
- 11) T. Takeda, K. Yoshino, T. Ramamurthy, H. Uchida, E. Matsuda and A. Pal, *Jap. J. Bacteriol.* **51**, 1037-1042 (1996).
- 12) K. Takahashi, *Bokin-Bobai* **24**, 313-320 (1996).
- 13) O.-A. Antoce, N. Pomohaci, V. Antoce, H. Fukada, K. Takahashi, H. Kawasaki, N. Amano and T. Amachi, *Biocontrol sci.* **1**, 3-10 (1996).
- 14) O.-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi and F. Yoshizako, *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**, 664-669 (1997).
- 15) O.-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohaci and I. Namolosanu, *Thermochim Acta* **297**, 33-42 (1997).
- 16) O.-A. Antoce, V. Antoce, N. Pomohaci, I. Namolosanu and K. Takahashi, *Biocontrol sci.* **3**, 7-15 (1998).
- 17) S. Okuda, K. Takahashi, H. Fukada, Y. Nitta, H. Naoko and M. Kirihara, *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan* **29**, 34-40 (1996).
- 18) Y. Koumoto, N. Arimoto, H. Fukada, Y. Nitta, K. Takahashi and H. Kawasaki, *Bokin-Bobai* **24**, 9-15 (1996).
- 19) O.-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, Y. Nitta, H. Fukada and H. Kawasaki, *Netsu Sokutei* **23**, 45-52 (1996).
- 20) K. Hatanaka, *Frgrance Journal* **19**, 61-67 (1976).
- 21) H. Matsuda, H. Sawahara and T. Watanabe, *Bokin-Bobai* **21**, 63-68 (1993).
- 21) M. Hashimoto and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.* **46**, 1559-1564 (1982).
- 22) F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Matsuyama and K. Takahashi, Proceedings of 2nd Scientific Conference of Asian Societies of Cosmetic Scientists, Seoul, Korea, 626-637 (1996).
- 23) F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara and K. Takahashi, Proceedings of 14th IUPAC Conference on Chemical Thermodynamics, 364 (1996).
- 24) O.-A. Antoce, V. Antoce, N. Mori, A. Kobayashi, and K. Takahashi, *Netsu Sokutei* **25**, 2-8 (1998).
- 25) J. J. Kabara, *Cosmetic and drug preservation principles and practice*. Marcel Decker Inc., 21-27 (1984).

## 要 旨

熱測定法により抗微生物薬における薬剤作用を定量的に解析した。抗微生物薬として、パラオキシ安息香酸エステル(パラベン)類を用いた。先に報告した多試料同時計測微生物活性解析装置を用い、パラベン類を種々の濃度で含む増殖培地中での *Klebsiella pneumoniae* ならびに *Saccharomyces cerevisiae* の増殖サーモグラムを観測した。パラベン類の影響を増殖の時間遅れの観点から解析することにより、50%増殖抑制濃度 ( $K_0$ ) を求め、さらにその薬剤濃度依存性から薬剤作用曲線を描いて、薬剤効果を評価した。薬剤作用曲線から解析して得られた最小発育阻止濃度(MIC) から、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシルの順に薬剤の効果が強くなることが確認された。また50%増殖抑制濃度 ( $K_0$ ) より各薬剤の *K. pneumoniae* ならびに *S. cerevisiae* の微生物細胞に対する親和力(結合のギブス自由エネルギー変化)を求め、分子の形状と薬剤効果について考察した結果、増殖活性を50%抑制するのに要する薬剤濃度より両微生物に対する薬剤の親和力を求めて比較すると、アルキル鎖の炭素数と親和力との間にきわめて良好な直線関係が成り立つことが認められた。さらに同じ薬剤でも、*K. pneumoniae* よりも *S. cerevisiae* に対する作用が大きく、それが主として膜構造の違いによるものと推測された。これらの結果から、ここで紹介した解析法が抗微生物薬における抗菌作用の定量的解析に有効であると結論した。