

抗微生物剤の生体内動態にかんする研究
— Carbenicillin について —

北本 治・深谷一太・友利玄一
東大医科研内科
(主任：北本治教授)

I. ま え が き

Carbenicillin (CB-PC) は英国において、6-Amino-penicillanic acid から合成された PC の誘導体の一つで、AB-PC と類似して広くグラム陰性桿菌に対して抗菌スペクトルを有し、とくに合成 PC 剤としては初めて緑膿菌および変形菌に対しても感受性を示すことが特色とされている。^{1)~4)} その構造式を示すと図1のごとくで

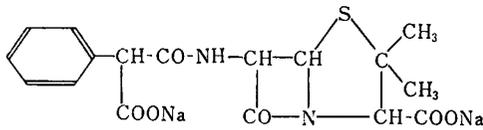


図1

ある。また本物質は尿中排泄量が多く、尿中濃度が高濃度に達することから、第1に尿路感染症に適應を有するとされている。本剤はただ、注射用製剤のみであり、吸入も早いかわりに排泄も速やかなため、頻回の注射が必要である。私共はこのものについて主として基礎的な2,3の検討を行なったのでその成績について報告する。

II. 方法および成績

1. 感受性試験

種々の病巣由来細菌の CB-PC に対する感受性を、肉水寒天平板を用い、ブイヨン1夜培養原液1白金耳塗抹法にて測定した成績は表1のごとくで、黄色ブドウ球

表1 Carbenicillin に対する感受性
(寒天平板法)

菌 種	mcg/ml									
	≤0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	>100	
<i>Staph. aureus</i>	9	2	2	9	3	3	5	4		
<i>E. coli</i>			1	2	3	1	1		1	
<i>Klebsiella</i>								1	7	
<i>Enterobacter</i>			1	3	1				3	
<i>Pseudomonas</i>			1	1				1	3	
<i>Proteus</i>	1	1	1		1	1				
<i>Shigella</i>			1	4	3					
<i>Salmonella</i>			1	7	6	9	4			

菌37株の MIC 値は ≤0.8~100 mcg/ml に巾広く分布し、大腸菌では 3.1~>100 mcg/ml に分布した。いつぼう、*Klebsiella* は8株全部が 100 mcg/ml ないしそれ以上の耐性を示し、AB-PC と同一の傾向と思われた。緑膿菌では 3.1~6.3 mcg/ml に2株、100 mcg/ml ないしそれ以上4株と2群に分布した。変形菌では ≤0.8~25 mcg/ml に分布し、一般によく成績を示した。*Shigella*, *Salmonella* では 3.1~50 mcg/ml に分布し、特別の耐性菌はみあたらなかったが、AB-PC より大きい MIC 値を示した。

2. 制菌・殺菌作用

液体培地にて感受性測定を行なつて MIC 値を読み取り、制菌的 MIC 値としたのち、菌発育をみとめない試験管より1白金耳を、薬剤をふくまない平板に塗抹して発育の有無をしらべ、殺菌的 MIC 値とすると、表2のごとくで、その差は1~3管ないしそれ以上であつた。

表2 制菌・殺菌作用
S: 制菌的, C: 殺菌的 (mcg/ml)

濃 度	1.6 3.1 6.3 12.5 25 50 100							
	<i>E. coli</i>	S.	+	+	+	+	-	-
	C.					+	+	+
<i>Enterobacter</i>	S.	+	+	+	+	+	-	-
	C.						+	-
<i>Staph. aureus</i>	S.	+	+	-	-	-	-	-
	C.			+	+	+	-	-

3. 他抗生剤との相互作用

a) 緑膿菌の CB-PC と GM 併用値における MIC 値の変動

肉水寒天平板を用いた通常の抗生物質感受性測定法にしたがい、CB-PC を 100 mcg/ml から 3.1 mcg/ml まで、GM を 25 mcg/ml から 0.8 mcg/ml までそれぞれの希釈系列をつくり、各々を種々の組合せにふくむごとく平板を作製し、緑膿菌の1夜培養ブイヨン原液から1白金耳を塗抹して型のごとく翌日集落発生の有無

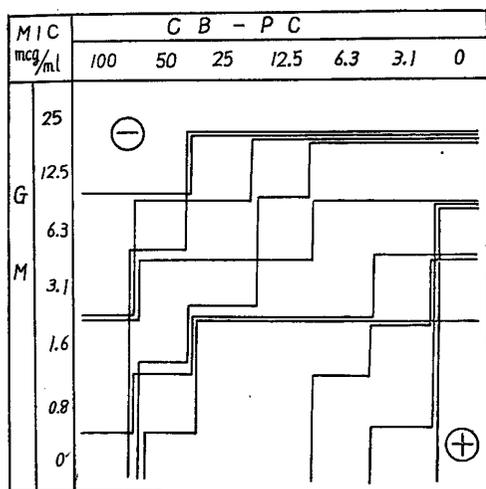


図2 CB-PCとGMとの緑膿菌に対する相互作用

I : 10株分のまとめ

を判定した。図2は緑膿菌10株分をまとめたもので、左上部は薬剤濃度高く、菌生育を認めない-の側、右下部は濃度の低い菌生育+の側を示す。1株分の境界を1本の折線で結ぶと、図2のごとく階段状となるものが多く、両抗生剤の配合により、MIC値がおおのこの抗生剤で小さい数値となるものが多いことが示された。両者が全く相互作用を示さないとすれば、この図において+と-の境界は階段状をとらず、+の側は直角の突出をもつて-の側に相対することとなると考えられる。

図3は同様の実験における12株分の成績をまとめたもので、図2の諸株にもまして、両抗生剤併用時のMIC

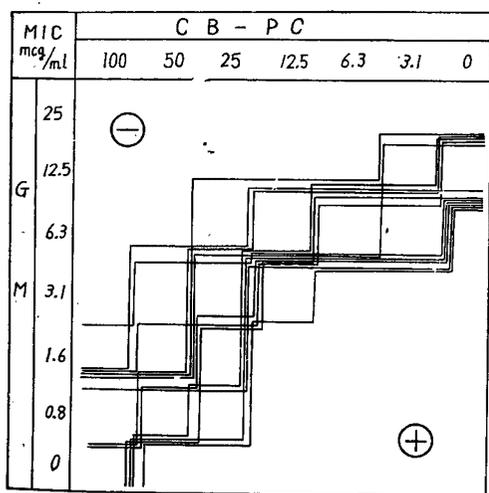


図3 CB-PCとGMとの緑膿菌に対する相互作用

II : 12株分のまとめ

値の減少が大きいことが階段数の多さから認められる。

図2,3において、両抗生剤が全く相互作用を示さないと想定されたときの+の側の四角形の大きさから、階段状を示すことによつて-の側に移動した各希釈濃度に相当する図の上の位置を柀目と呼び、これらを合計すると、この数の多いほど、平板上での緑膿菌に対する両抗生剤の併用効果が大きいと判断し、順序立てて並べると

表3 緑膿菌に対するCB-PCとGMとの協力作用
菌発育阻止をみた柀目の数から

柀目の数	協力作用	株数 %
17	≡	1
15		1
14		1 45%
12		1
11		3
10		3
9	≡	2
8		2 27%
6		1
5		1
4	+	2
3		1
2	±	2
0	-	1
計		22 100%

表3のごとくで、被検22株中16株(72%)は、この柀目の数5以上、すなわちCB-PCとGMとの併用効果、≡以上とみなしうる成績をえた。この高い比率からして一般に緑膿菌に対してCB-PCとGMは併用効果を有するということができよう。

b) 変形菌のCB-PCとGM併用時におけるMIC値の変動

同様にして変形菌14株についてCB-PCとGMとの混合により平板希釈法を用いて行なつたMIC値の変動は図4のごとくで、GMまたはCB-PCの比較的少ない量の添加により菌発育阻止に要する相手方の濃度はかなり大きく減じ、相乗的の効果ともいえる現象をみとめた。ただ一部の株では+と-の側の境界が直角を示し、相互作用を全くみとめないような成績であつたが、さらに測定濃度を低いところに移動せしめれば、階段を生ずるものと思われた。

c) 変形菌のCB-PCとSM併用時におけるMIC値の変動

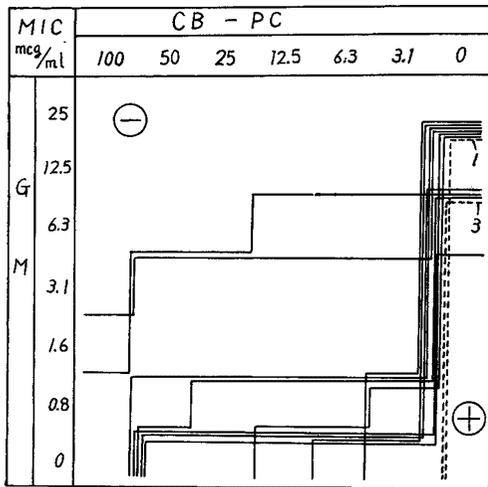


図4 CB-PCとGMとの変形菌に対する相互作用 (14株)

同様の実験を、変形菌11株について行なつた成績を図5に示す。このさいはGMとの組合わせほどには、柘目の数が多くなかつたが、それでもかなり併用効果をもとめることができる場合もみられた。

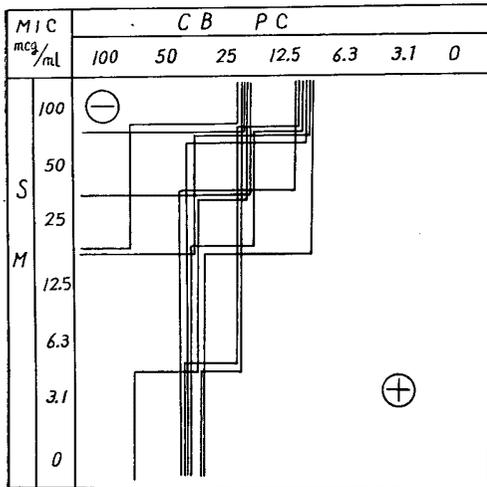


図5 CB-PCとSMとの変形菌に対する相互作用 (11株)

変形菌に対するCB-PCとGMまたはSMとの併用時の菌発育阻止により凹んだ柘目の数について比較すると、表4のごとくで、CB-PCとGMの組合わせのほうがすぐれているような成績であつたが、濃度の相違その他の関係もあり、結論的なことはさしひかえたい。

d) 緑膿菌のCB-PCとSM併用時におけるMIC値の変動

この組合わせでは被検緑膿菌株20株すべてにおいて、

表4 変形菌に対するCB-PCの他剤との協力作用

菌発育阻止をみた柘目の数から

柘目数	CB-PC × GM	CB-PC × SM
≥10	9(64%)	0
5~9	0	7(50%)
3~4	1	4
≤2	4	3
株数(%)	14 (100%)	14 (100%)

SM 100 mcg/mlの添加によつてもCB-PCのMIC値に変動をみとめなかつた。

4. マウス実験的感染症に対する治療効果

a) マウスの緑膿菌皮下感染に対するCB-PCとGMの治療効果

CB-PCにMIC >100 mcg/ml, GMに12.5 mcg/mlであるが、前実験ですぐれた併用効果を示した緑膿菌のブイヨン1夜培養の10倍希釈液0.2 mlをマウス背部皮下に接種し、直ちにCB-PC, CB-PC+GM, GM3群の治療を行なつて(併用群では各抗生剤半量宛とする), 48時間後に膿瘍の大きさを検索して治療効果を比較したところ、表5のごとき成績をえた。すなわち、

表5 マウスの緑膿菌皮下感染に対するCB-PC, GMの治療効果

(接種: *Pseudomonas* 1夜培養10倍希釈液 0.2 ml)

	膿瘍の大きさ・評点・平均		
CB-PC	4匹共		
50 mg/kg i. m.	敗血症死	5	5.0
CB-PC, GM 共	4.5 mm × 3 mm		
25 mg/kg i. m.	6 × 6	2	2.0
	5 × 12	3	
	3 × 3	1.5	
GM	1.5 × 3		
50 mg/kg i. m.	2 × 2	1	0.9
	充血(0)	0.5	
	充血(0)	0.5	
無処置対照群	4匹共		
	敗血症死	5	5.0

使用菌のMIC: CB-PC >100 mcg/ml
GM 12.5

用いた抗生剤の量がやや適当でなく、GMの投与量が多かつたためか、GMの量に比例してよい成績を示し、CB-PCとの併用効果ははつきり示されなかつた。

b) マウスの緑膿菌鼻腔感染の CB-PC, GM の治療効果

緑膿菌の1夜培養原液を、マウス鼻腔に接種して直ちに表6のごとき治療群をつくつて、24, 48時間後の肺菌数計算を行なつたところ、GMの投与量の多いものほど除菌効果は大であつて、併用効果は不明瞭であつた。投与量をさらに工夫して行なうことが必要であろう。

表6 マウスの緑膿菌鼻腔感染に対する
CB-PC, GM の治療効果

(*Pseudomonas* 1夜培養原液接種)

() は平均匹数

	肺 菌 数	
	24時間後	48時間後
CB-PC 50 mg/kg i. m.	1 匹敗血症死 2.3×10 ⁸ (2)	2 匹敗血症死
CB-PC GM 共 25 mg/kg i. m.	6.2×10 ² (3)	2.2×10 ⁸ (2)
GM 50 mg/kg i. m.	1.8×10 ⁸ (3)	0(2)
無処置対照群	3 匹敗血症死	

5. 濃度測定法

枯草菌 PCI-219 芽胞浮游液を用いる重層法により、薬剤を pH 7.2 磷酸緩衝液に溶解したものをういて標準曲線を作製した。だいたい 0.1~100 mcg/ml において測定可能であつた。

6. 臓器内濃度測定

マウス1群3匹に CB-PC 15 mg/kg を筋注したのち、30分、1時間、2時間後に型のごとく臓器内濃度を測定した成績は表7のごとくで、腎には30分後に極めて高濃度をもとめたが、他臓器では低く、血中濃度も低値

表7 Carbenicillin をマウスに
5 mg/kg 筋注した時の臓器内濃度

	30分後	1時間後	2時間後
肝	0	0.5	0
脾	1.2 mcg/g	0	0
腎	725	5.5	0
肺	1.7	0	0
脳	0	0	0
腸内容			39
血清	2.2 mcg/ml	0	0

に止まつた。なお2時間後腸内容濃度 39 mcg/g をもとめたことは、胆汁よりの排泄がかなり高濃度に達することに由来するものと思われる。

CB-PC の臓器ホモジネートとの接触による力価の減少を、型のごとき臓器内濃度測定法の操作に準じて、既知 CB-PC 溶液を用いて行なつたときの残存率で示すと、表8のごとくで、肝では全く残存力価をみとめなかつたことが注目された。他の臓器では残存率53~78%となつた。

表8 Carbenicillin 臓器ホモジネートに
よる力価の減少 (残存率: %)

臓 器	計 算 値	実 測 値 %
肝	8 mcg/g	0 0
脾	"	4.9 mcg/g 61%
腎	"	4.4 55
肺	"	5.0 63
脳	"	6.1 78
血 清	6.6 mcg/ml	4.3 mcg/ml 65%

III. 考 察

CB-PC は緑膿菌・変形菌に対する抗菌力のすぐれていることが海外の文献に報告せられてから期待をもつて迎えられる新抗生剤である。緑膿菌の CB-PC に対する抗菌力は、私共の成績にもみられるごとく菌種によつてかなりの相違があり、全体としては 25~200 mcg/ml の MIC 値のものもつとも多いとされているところから、手離してすべての緑膿菌感染症に有効とするわけにはゆかないであろうことがうかがわれる。しかし変形菌においては MIC 値の小さいものが多く、より大きな期待がかけられよう。その他の諸菌に対しての適応は、他の多くの抗生剤が存在する現在、2次的なものとして考えられるべきものであろう。

緑膿菌の比較的大きい MIC 値が、GM, SM, CL などの併用によりかなりの相乗的作用を示して低下減少することが報告せられ、本剤の価値を高めるとされるので、私共は平板希釈法を用いてこれをたしかめたが、緑膿菌・変形菌について先ず予想されたごときよい併用効果があつたものと思われた。さらにこの点を生体に適用しようと試み、マウス実験的感染症に対する治療効果を、単独および併用投与によつて検索したが、投与量の上に難点があつたためか、明瞭な併用の効果をもとめるに到らなかつた。この点さらに追及する必要がある。実地臨床の上に、このような *in vitro* で観察された併用効果が如何に現われるか現在なおその実例を欠いてい

るが、興味のあるところである。

臓器内濃度の測定成績についてみると、ヒトの1回投与量1gとして、ほぼ匹敵する15mg/kg筋注で行なつたところ、腎にのみ極めて高い濃度のCB-PCを検出したところから、専ら尿路感染症に適応がある抗生剤と考えられる。この量では肝・肺濃度はきわめて低く、血中濃度も低値に止まつているところから、全身感染症、呼吸器感染症に対する期待は、尿路感染症に比して、かなり少ないものと思わねばなるまい。肝濃度もほとんど検出不能に近かつたが、これは別に行なつた臓器ホモジネートとの接触による力価の減少が著しく大で、全く0に到するという成績をえたところから、実際の生体内における肝濃度を推測することが困難であつた。ただ胆汁内濃度は血中濃度の20倍以上に達するとの報告があることから考えると、生体内では、肝濃度は十分保持されているものであろう。またこのことは、筋注による実験であるにも拘わらず、便中濃度がかんりの高さに達していることの説明になると思われる。

CB-PCが吸収・排泄ともに速やかなことは、1時間後に腎濃度の低下が極めて著しく、2時間後に全く検出されなかつたことからもうかがわれ、頻回注射が濃度維持のために必要であることが知られる。100mcg/mlの濃度を維持するには1gを1時間ごとに注射することが必要のごとくで、腎障害のかなり高度な例ではじめて8時間ごとの注射で済むという。⁵⁾

また経口投与では全く吸収されないとされ、この方面への利用の望みはないと考えられる。PC誘導体として、とくに変形菌および緑膿菌に対し特色あることは確かであるが、さらに工夫の望まれる点もあるという印象であつた。

IV. 結 論

新しいPC誘導体Carbenicillinについて、2, 3の検討を行ない、次の結果をえた。

1. 緑膿菌のMIC値は3.1~>100mcg/mlの広範囲に分布した。変形菌では \leq 0.8~25mcg/ml, 赤痢菌では3.1~12.5mcg/ml, サルモネラでは3.1~50mcg/ml, 大腸菌は3.1~>100mcg/mlに、ブドウ球菌では \leq 0.8~100mcg/mlにそれぞれ分布した。

2. 制菌および殺菌的MIC値の差は、倍数希釈試験管1~3本程度であつた。

3. CB-PCとGMとの同時併用による寒天平板希釈法を行なうと、緑膿菌・変形菌の両剤に対するMIC値は単独時に比しともかなり小さくなり、併用効果をもとめることが多かつた。CB-PCとSMとで、変形

菌に対して行なうときも同様の併用効果をもとめた。

4. マウスの緑膿菌皮下感染に対するCB-PC, CB-PC+GM, GM 3群の治療効果の比較では、GMの量に応じてよい成績を収め、明瞭な併用効果を観察しえなかつた。同様に行なつた鼻腔感染時も類似の成績をえた。

5. マウスに15mg/kg筋注時の臓器内濃度は腎に極めて高濃度をもとめたが、肺・脾・肝では低値であつて血中濃度におよばなかつた。

臓器ホモジネートとの接触により力価の減少がみられ、とくに肝では全く検出不能となるほどの著減をみた。

本論文の一部は第16回日本化学療法学会総会シンポジウム, CB-PC研究会(昭和43年6月22日, 於名古屋)で発表された。

文 献

- 1) BRUMFITT, W., PERCIVAL, A. & LEIGH, D. A. : Clinical and laboratory studies with carbenicillin. *Lancet* 1 : 1289~1293, 1967
- 2) ACRED, P., BROWN, D. M., KNUDSEN, E. T., ROLINSON, G. N. & SUTHERLAND, R. : New semi-synthetic penicillin active against *Pseudomonas pyocyanea*. *Nature* 215 : 25~30, 1967
- 3) KNUDSEN, E. J., ROLINSON, G. N. & SUSHEFLAND, R. : Carbenicillin, a new semi-synthetic penicillin active against *Pseudomonas pyocyanea*. *Brit. Med. J.* 2 : 75~78, 1967
- 4) JONES, R. J. & LOWBURY, E. J. L. : Prophylaxis and therapy for *Pseudomonas aeruginosa* infection with carbenicillin and with gentamicin. *Brit. Med. J.* 2 : 79~82, 1967
- 5) EASTWOOD, J. B. & CURTIS, J. R. : Carbenicillin administration in patients with severe renal failure. *Brit. Med. J.* 1 : 486~487, 1968

STUDIES ON PHARMACOKINETICS OF ANTIMICROBIAL AGENTS
— ON CARBENICILLIN —

OSAMU KITAMOTO, KAZUFUTO FUKAYA & GEN-ICHI TOMORI

Department of Internal Medicine, Institute of Medical Science, University of Tokyo

(Director : Prof. O. KITAMOTO)

On a new penicillin derivative, carbenicillin (abbreviated as CB-PC), several experiments were performed and the results obtained were as follows.

1. At the sensitivity test, the MIC values against *Pseudomonas aeruginosa* covered so wide range as from 3.1 to 100 mcg/ml or more. In *Proteus*, the distribution of MIC values ranged from less than 0.8 to 25 mcg/ml, in *Shigella* 3.1 to 12.5 mcg/ml, in *Salmonella* 3.1 to 50 mcg/ml, in *E. coli* 3.1 to 100 mcg/ml or more, and in *Staphylococcus aureus* from less than 0.8 to 100 mcg/ml respectively.

2. The difference between bacteriostatic and bactericidal MIC values was by one to three tubes of two-fold dilution method.

3. The sensitivity test of *Pseudomonas* and *Proteus* sp. against CB-PC and in combination with CB-PC plus GM in half dose respectively and GM alone using two-fold dilution agar plates resulted in considerable reduction of MIC values. This fact means that CB-PC and GM are showing combination effect when tested simultaneously *in vitro*. Similar such effect was also observed in sensitivity test of CB-PC and SM combination against *Proteus* sp.

4. In comparison with effect of treatment of CB-PC, CB-PC plus GM in half dose respectively and GM against *Pseudomonas* subcutaneous infection in mice, good results were obtained in proportion to the amount of GM used, showing no clear-cut role of combination. This was the same in *Pseudomonas* respiratory infection by means of nasal inhalation.

5. The organ level following intramuscular injection to mice in dose of 15 mg per kg was extremely high in kidney, but in lung, spleen and liver that was considerably inferior to serum level. The mixing with organ homogenate brought reduction of CB-PC concentration, which was so striking in case of liver that the value became almost undetectable.