

新合成 Penicillin, Flucloxacillin に関する基礎的研究

西田 実・松原忠雄・村川武雄・峯 靖弘・横田好子

藤沢薬品工業株式会社中央研究所

桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

Penicillinase (PC-ase) に安定で, Penicillin (PC) 耐性 *Staph. aureus* を含むグラム陽性菌に有効な合成 PC としては Oxacillin¹⁾²⁾, Cloxacillin³⁾⁴⁾⁵⁾, Dicloxacillin⁶⁾ などがすでに臨床的に応用されている。

Flucloxacillin は図 1 のごとく, Isoxazolyl 系の PC 誘導体で, Dicloxacillin の Cl 基 1 個が F 基に置換されたものである。本報では, この物質の生物学的性状を Dicloxacillin, Cloxacillin などと比較した。

実験材料および実験方法

(1) 供試菌株

標準菌株は当研究所に保存中のものを使用したが, 患者分離菌の多くは, 東邦大学病院中検で分離されたものを使用した。

(2) 供試薬剤

Flucloxacillin (MFI-PC) はビーチャム研究所より

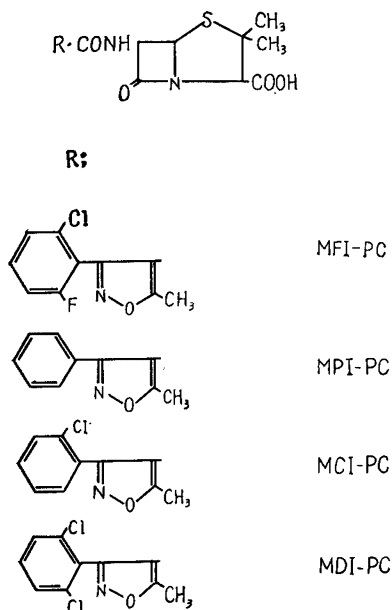


図1 Isoxazolyl系合成PC類の化学構造

分与された Na 塩を使用した。また, 対照薬剤として, Oxacillin (MPI-PC, Staphcillin-V), Cloxacillin (MCI-PC, Orbenin), Dicloxacillin (MDI-PC) および Aminobenzyl-PC (AB-PC, Penbritin) を用いた (図 1)。

(3) 試験管内抗菌作用

試験管内抗菌作用はつぎの方法にしたがつて測定した。すなわち, 試験培地として, Difco のハートインヒュジョンカンテンを用いた。本品 40g を精製水 1,000 ml に溶解し, pH を 7.0 に調整したものをを用いた。種々の濃度に, MFI-PC または対照薬剤を含む上記のカンテン平板上に, トリプトソイブイオン中で 37°C, 20時間前培養した菌液を 1 白金耳量, 画線接種した。MIC は 37°C, 20時間培養後に菌の発育を観察し, 完全に増殖を阻止した最小濃度をもってあらわした。なお, *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheriae* については, 試験培地にウサギ脱センイ血液を, 前培養培地にはウサギ血清を, いずれも培地 100 ml あたり 10 ml 添加した。

(4) 抗菌作用にたいする各種の因子の影響

a) 培地の種類

MFI-PC の抗菌作用を *Staph. aureus* 209-P, 患者分離 *Staph. aureus* T-54, No. 234 の 3 株を試験菌とし, ハートインヒュジョン培地以下 7 種のカンテン培地に, 前培養液 (10^8 /ml) を 1 白金耳量接種した。37°C, 20時間培養後, 常法どおり MIC を判定した。

b) 培地 pH の影響

pH 5 ~ 8 の 4 段階に調製した普通カンテン培地に, *Staph. aureus* 209-P および患者分離の 4 株の前培養液 (10^8 /ml) を 1 白金耳量接種した。37°C, 20時間培養後, 常法どおり MIC を判定した。

c) 接種菌量の影響

Staph. aureus 209-P と 4 株の患者分離 *Staph. aureus* を試験菌株とし, 接種菌量の影響をみた。各試験菌の前培養液 (10^8 /ml) を希釈し, 各希釈菌液の 1 白金耳量をカンテン平板に接種した。MIC の判定は前述の方法にしたがつた。

d) 血清添加の影響

抗菌作用にたいする血清添加の影響は、前節の場合と同様 *Staph. aureus* の合計5株を試験菌株として検討した。

MFI-PC および対照抗生物質を、それぞれ所定濃度を含むハートインヒュジョンカンテンに、ウサギ血清を10%、25%および50%の割合に加えたものを試験培地とした。MICの測定は前述の方法に準じた。

(5) 殺菌作用

1/4 MIC, MIC および 4 MIC に、MFI-PC または PC-G を含むハートインヒュジョン液体培地に *Staph. aureus* 209-P の前培養液を 10^6 /ml となるよう植菌し、37°C で振盪培養した。8時間以後は静置し、生菌数を無添加対照群と比較した。

(6) 試験管内耐性獲得実験

試験菌として *Staph. aureus* 209-P を用いた。ブイヨン中で 37°C、20時間を1世代とする増量継代法にしたがつて、耐性獲得傾向を観察した。

(7) Penicillinase による分解

MFI-PC を含む Isoxazolyl 系 PC 類5種、および PC-G, AB-PC を基質として用いた。ブレインハートインヒュジョン中で、37°C に1夜培養した患者分離 *Staph. aureus* No. 39 の培養液 1.8L を、冷却下に 80~90% 硫酸飽和して、沈澱したタンパクを Sephadex G-75 を用いるカラムクロマトグラフィーで処理し、PC-ase 活性分画 200 ml を得た。この処理によつて得られた部分精製 PC-ase 液 1 ml は 37°C、40分で 1 mg の PC-G を完全に分解する。

この PC-ase 0.25 ml と各基質を PC-G 当量で 1 mg/ml とした液 0.25 ml を加え、M/15 リン酸緩衝液 (pH 6.5) を加えて全量を 1 ml とした。37°C、40分反応後、残存する PC 量を *B. subtilis* ATCC-6633 を検定菌とするディスク法で測定した。

(8) 血清タンパクとの結合

—ヒト血清アルブミンおよびグロブリンとの結合—

ヒト血清アルブミンまたはグロブリンの1%溶液9容と種々の濃度の PC 溶液1容を、37°C で1時間反応させ、その反応液の2 ml を Cellulose チューブ (Visking Company, 8/32) に入れ、このチューブを遠沈管に固定し、5°C で遠心分離 (4,000 rpm, 30分) して得られた遠心限外液液中の遊離 PC を、*B. subtilis* ATCC-6633 を検定菌とするディスク法で測定した⁷⁾。

(9) マウスの実験感染と治療

実験マウスとして dd 系、雄、17~21 g、を1群10匹

あて使用した。患者分離 *Staph. aureus* T-5, *Strept. pyogenes* S-23, *Diplo. pneumoniae* III の菌液を、マウスあたり、 $1 \times 10^4 \sim 10^8$ の菌を静脈内または腹腔内に接種した。MFI-PC または対照 PC は感染1時間後に1回経口投与し、2週間後の生存マウス数から ED₅₀ を求めた。

(10) 微生物定量法

本報で、MFI-PC の定量法として、つぎのような方法を用いた。ペプトン0.5%、肉エキス0.3%、カンテン末1%よりなるカンテン培地 (pH 6.8~7.0) に、*B. subtilis* ATCC-6633 の胞子浮遊液を、最終濃度で $2 \sim 8 \times 10^8$ /ml となるよう接種した。この菌接種培地の10 ml をシャーレに分注し、MFI-PC の標準液または検液を含んだ抗生物質検定用ディスク (東洋沓紙、直径 8 mm) をのせ、37°C、20時間培養後、阻止帯を測定した。

(11) 血清中濃度

実験前1日絶食させた正常なイヌ (体重 8~11 kg, ♀) 各群5匹に、MFI-PC を 50 mg/kg 1回、経口投与した。対照として、MCI-PC および MDI-PC を同様に経口投与した。なお、イヌは cross over して使用した。投与後30分から7時間まで6回採血し、血清を採取した。血清中の抗菌活性物質を MFI-PC を標準として、ディスク法 (上記) で測定した。

また、1日絶食したウサギ (2.5~3.2 kg, ♂) に、MFI-PC を 100 mg/kg 1回経口投与し、イヌの場合と同様 30分より7時間まで6回採血し、その血清の抗菌活性を測定した。この実験にも、MCI-PC および MDI-PC を比較薬剤として用いた。

健康な志願者 (体重 59~63 kg, ♂) 3名に空服時、MFI-PC を 1g、1回経口投与し、投与後1, 2, 4 および 6時間目に採血して、血清中濃度を同様に測定した。

(12) 尿中排泄

イヌ、ウサギおよびヒトの血清中濃度の測定と平行して、それぞれ尿中排泄を検討した。ただ、イヌの場合は、MFI-PC と MCI-PC および MDI-PC の投与群とは cross over したが、投与後 0~6時間、6~24時間の2時点に分画した。ウサギでは、投与後 3時間、7時間、24時間の3分画で排泄傾向を観察した。また、ヒトの尿中排泄は投与後 4時間および 8時間尿について測定した。各尿試料とも血清中濃度の場合と同様、ディスク法を用いた。

(13) 胆汁中排泄

各群5匹のウイスター系ラット (180~360 g) をエーテル麻酔し、胆管にビニールチューブを導入した。MFI-PC, MCI-PC および MDI-PC を 100 mg/kg それぞ

れ経口投与し、胆汁を経時的に採取して各 PC 濃度を測定した。

(14) 組織内濃度

1群3匹のウィスター系ラット(130~160g)を実験前1日絶食し、MFI-PC、MCI-PCおよびMDI-PCを100mg/kg 経口投与した。投与後1時間目にラットを出血致死せしめ、各組織の一定量を採取した。これに50%エタノールの3倍量を加えて、ブレンダー中でhomogenizeし、遠心分離(8,000rpm, 10分)の上清を適宜稀釈した。これを試料液としてディスク法で測定した。

(15) 尿中抗菌活性物質の検索

正常なイヌ(13kg, ♀)にMFI-PCを100mg/kg 経口投与し、5時間尿を採取した。この尿についてクロマトグラフィーをおこなった。

a) Paper chromatography および Bioautography

濾紙; 東洋濾紙 No.51

展開溶媒; ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:5)

ブタノール: エタノール: 水 (4:1:5)

エーテル

なお、展開溶媒として用いた水は20%リン酸緩衝溶液

(pH 6.2)を用いた。5時間尿および対照尿(投与前の尿)にMFI-PCを加えたものを各溶媒で展開し、風乾後、*B. subtilis* ATCC-6633を接種した普通カンテン培地に張付け、30分放置後に濾紙を除去し、37°Cで1夜放置後、阻止円の位置を観察した。

b) Thin layer chromatography

担体; シリカゲル

展開溶媒; ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:2)

検出; I₂, KMnO₄, 紫外線

c) Agar electrophoresis

東洋科学 AE-2の泳動装置を用い、450V(約90mA/13cm)の条件で80分、泳動処理をおこなった。抗菌活性物質の検出には、カンテン層に肉エキス(0.3%)、ペプトン(0.5%)を加え、*B. subtilis* ATCC-6633を2~10×10⁶/mlとなるよう接種した。泳動終了後、37°C、20時間放置し、活性物質の阻止円からR_fを求めた。

実験成績

(1) 抗菌スペクトル

MFI-PCの標準株にたいする抗菌スペクトルを、他のIsoxazolyl系PC、MCI-PCおよびMDI-PCと比

表1 Isoxazolyl系合成PC類の抗菌スペクトラム

MIC: mcg/ml

試験菌種, 菌株	MFI-PC	MCI-PC	MDI-PC
<i>Staph. aureus</i> Newman	0.39	0.39	0.2
" " Terashima	0.78	0.78	0.78
" " Smith	0.2	0.39	0.39
" " 209-P*	0.2	0.39	0.2
<i>B. subtilis</i> ATCC-6633	0.39	0.39	0.1
" " PCI-219	0.2	0.39	0.1
<i>Dip. pneumoniae</i> III	0.39	0.78	0.78
<i>Str. pyogenes</i> S-23	0.1	0.1	0.1
" <i>faecalis</i> 6733	100	100	100
<i>Cory. diphtheriae</i> PW 8	0.78	0.78	0.78
<i>Sal. typhi</i> O-901	>100	>100	>100
" " T-287	100	100	>100
" <i>enteritidis</i>	>100	>100	>100
<i>Kleb. pneumoniae</i> ST-101	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> NIHJ*	100	50	100
<i>Shig. flexneri</i> 2a	>100	>100	>100
" <i>sonnei</i> 1	>100	>100	>100
<i>Pr. vulgaris</i> IAM-1025	>100	>100	>100
<i>Pseu. aeruginosa</i> " 1095	>100	>100	>100

* 治療標準 C-1 株

カンテン平板法

Heart infusion agar

10⁸/ml 菌液, 1白金耳量

37°, 20時間培養

較した(表1)。

グラム陽性菌群に対しては *Strept. faecalis* に 100 mcg/ml と抗菌活性が弱い、その他の細菌には 0.1~0.78 mcg/ml と、MCI-PC および MDI-PC と同様有効であった。とくに、対照として用いた両 PC との間は抗菌活性の強さにはほとんど相違がなかった。いつぼうグラム陰性菌には 100~>100 mcg/ml と、MCI-PC および MDI-PC と同様、活性をもたない。

(2) 患者分離 *Staph. aureus* の感受性分布

患者より分離された *Staph. aureus* 64株の MFI-PC にたいする感受性分布を、MCI-PC および MDI-PC を対照として、カンテン平板法で測定した。これらの試験菌株は PC-G に 100 mcg/ml 以上の高度耐性のもの31株、6.25~50 mcg/ml の中等度耐性株21株、3.125 mcg/ml 以下の感性株12株である。MFI-PC、MCI-PC および MDI-PC は、いずれも 1.56 mcg/ml 以下の MIC を示し、これらの PC に対する耐性株はみられなかった。

この結果から、MFI-PC は他の Isoxazolyl 系 PC と同様、*Staph. aureus* の PC-ase による分解にたいして抵抗性をもつものと考えられる(表2)。

(3) 患者分離溶連菌および肺炎双球菌にたいする抗菌作用

患者分離 *Strept. pyogenes* 11株にたいする MFI-PC の抗菌作用を MCI-PC、MDI-PC および PC-G と比較すると、表3のとおりになる。すなわち、MFI-PC の

表2 患者分離 *Staph. aureus* の感受性分布 (64株)

MIC : mcg/ml	MFI-PC	MCI-PC	MDI-PC	PC-G
≥200	0	0	0	27
100	0	0	0	4
50	0	0	0	7
25	0	0	0	7
12.5	0	0	0	2
6.25	0	0	0	5
3.125	0	0	0	1
1.56	2	2	1	1
0.78	15	20	6	0
0.39	34	36	39	2
0.2	13	6	16	4
0.1	0	0	2	4

カンテン平板法

Heart infusion agar

10⁸/ml, 1白金耳量

37°C, 20時間培養

これらの株にたいする MIC は 0.1 mcg/ml で、他の Isoxazolyl 系 PC 類と大差はない。しかし、PC-G は約 4~10倍抗菌活性は強い。

また、最近入手した *Diplo. pneumoniae* I 型株に MFI-PC は MCI-PC および MDI-PC と同程度の抗菌力 (MIC; 6.25 mcg/ml) を示し、また、III 型株にもいずれも 0.78 mcg/ml の MIC 値を示した。*Diplo. pneumoniae* に対しても Isoxazolyl 系の3者は、活性がやや

表3 患者分離溶連菌および肺炎双球菌にたいする抗菌作用

MIC : mcg/ml

		MFI-PC	MCI-PC	MDI-PC	PC-G
<i>Streptococcus</i>	S 43/143	0.1	0.1	0.1	0.025
	" T 1/125	0.1	0.2	0.2	0.025
	" A-S 8	0.1	0.2	0.2	0.025
	" J-17-D	0.1	0.2	0.2	0.025
	" 7-1-A	0.1	0.2	0.2	0.025
	" TT-70	0.1	0.1	0.1	≤0.0125
	" TT-72	0.1	0.1	0.1	≤0.0125
	" TT-81	0.1	0.1	0.2	0.025
	" Kawai	0.1	0.1	0.1	≤0.0125
	" Iizima	0.1	0.2	0.1	≤0.0125
	<i>β-Streptococcus</i>		0.1	0.2	0.2
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	I	6.25	6.25	6.25	0.78
	III	0.78	0.78	0.78	0.1

カンテン平板法

Heart infusion blood agar

10⁸/ml, 1白金耳量

37°C, 20時間培養

弱い(表3)。

(4) 患者分離 *E. coli* の感受性分布

表1の抗菌スペクトルから予測されるとおり, Isoxazoly1系合成PCはグラム陰性菌には有効でない。表4では患者分離 *E. coli* 29株の感受性を示した。MFI-PC,

表4 患者分離 *E. coli* の感受性分布 (29株)

MIC: mcg/ml	MFI-PC	MCI-PC	MDI-PC	PC-G
>1,000	4	1	11	5
1,000	17	9	17	1
500	7	18	0	0
250	1	1	1	2
100	0	0	0	11
50	0	0	0	7
≤ 25	0	0	0	3

カンテン平板法
Heart infusion agar
10⁸/ml, 1白金耳量
37°C, 20時間培養

MCI-PC および MDI-PC はいずれも 100 mcg/ml 以下の濃度で活性を示さない。したがって, 標準株にたいする抗菌活性値からも明らかとなり, グラム陰性菌にたいしては効力を示さないものと考えられる(表4)。

(5) 抗菌作用にたいする各種の因子の影響

a) 試験培地の種類の影響

普通カンテン培地をはじめ6種のカンテン培地を用いて, 培地の種類によるMIC値の変動を検討した。試験菌として感受性の異なる *Staph. aureus* の3株を選んだ。MFI-PC および MCI-PC では, いずれの菌株も培地の相違によつて, 1段階以上のMIC値の変動を示さなかつた。MDI-PC の場合も, T-54株でハートインヒュジョン(栄研)およびミュラーヒントンで2段階の差がみられた以外は, 測定値間に著明な変動はなかつた(図2)。

b) 培地 pH の影響

Staph. aureus 5株(209P 以外は患者分離株)にたいする抗菌作用を, ハートインヒュジョンカンテン培地のpHを5, 6, 7および8に調整して測定した。なお,

表5 培地 pH と Isoxazoly1系合成PC類の感受性

MIC: mcg/ml

菌 株	pH	MFI-PC	MCI-PC	MDI-PC	PC-G
<i>S. aureus</i> 209-P	5	0.05	0.05	0.025	≤0.025
	6	0.1	0.2	0.1	0.025
	7	0.2	0.39	0.2	0.05
	8	0.39	0.39	0.39	0.1
<i>S. aureus</i> T-54	5	0.025	0.025	0.025	0.025
	6	0.78	1.56	0.78	0.2
	7	3.125	3.125	1.56	0.2
	8	3.125	3.125	3.125	0.1
<i>S. aureus</i> 201	5	0.05	0.05	0.025	3.125
	6	0.1	0.2	0.1	12.5
	7	0.2	0.39	0.2	25
	8	0.39	0.39	0.2	12.5
<i>S. aureus</i> 234	5	0.05	0.1	0.05	12.5
	6	0.39	0.39	0.2	400
	7	0.39	0.78	0.39	>400
	8	0.78	0.78	1.56	>400
<i>S. aureus</i> 237	5	0.1	0.1	0.05	12.5
	6	0.39	0.39	0.2	100
	7	0.78	0.78	0.39	>400
	8	0.78	0.78	0.78	400

カンテン平板法
Heart infusion agar
10⁸/ml 菌液, 1白金耳量
37°C, 20時間培養

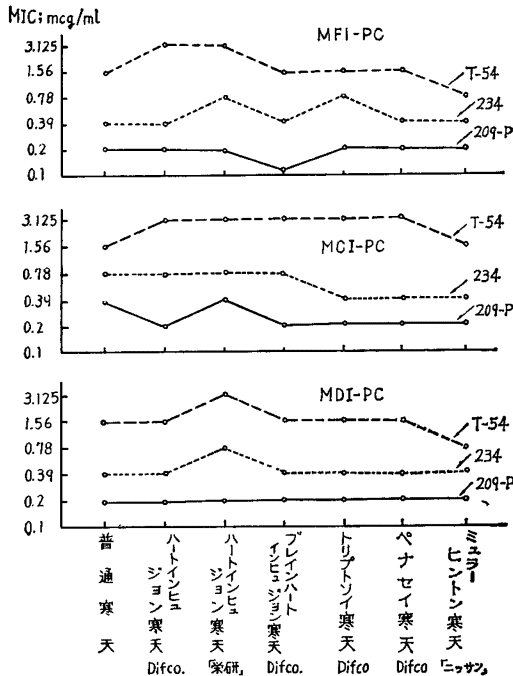


図2 試験培地の種類とIsoxazolyl系合成PC類の感受性

試験株は PC-G 感性の 2 株, 中等度耐性株 1 株, 高度耐性株 2 株を選んだ。MFI-PC の場合, 酸性側でこれ

らの菌株にたいする抗菌力は, かなり強くなる。この傾向は MCI-PC, MDI-PC にも認められた。ただ, pH 6.0~8.0 の範囲における液性の変化では MIC 値に著明な変化はなかつた (表 5)。

c) 接種菌量の影響

接種菌量を $10^4/ml$, $10^6/ml$ および $10^8/ml$ とした場合の MIC 値の変化を検討した。MFI-PC, MCI-PC, MDI-PC では植菌量の上記のような変化において, MIC 値は変らなかつた。これにたいし, 対照として用いた PC-G では, 植菌量が $10^4/ml$ となると, 耐性菌 (234, 237) では $10^8/ml$ の $>400 mcg/ml$ から $0.39 \sim 0.78 mcg/ml$ と著明に MIC 値は小さくなる (表 6)。

d) 血清添加の影響

MFI-PC の抗菌作用にたいする血清添加の影響は, ハートインヒュジョンカンテンに, ウサギ血清を 10%, 25% および 50% に加えて, MIC 値を比較した。MFI-PC では, 25% までの血清添加では, 著明な抗菌作用の変化を認めなかつたが, 50% の添加で $1/8 \sim 1/10$ に低下した。MCI-PC および MDI-PC でも同様の傾向が認められたが, PC-G では感性株でそのような現象はみられなかつた (表 7)。

(6) 殺菌作用

MFI-PC の *Staph. aureus* 209-P にたいする抗菌作用形式を検討した。実験法の項に記載した条件で,

表 6 接種菌量による Isoxazolyl 系合成 PC 類の感受性値の変動

MIC : mcg/ml

菌 株	菌量/ml	MFI-PC	MCI-PC	MDI-PC	PC-G
<i>S. aureus</i> 209-P	10^4	0.1	0.1	0.1	0.025
	10^6	0.1	0.2	0.1	0.025
	10^8	0.2	0.39	0.2	0.05
<i>S. aureus</i> T-54	10^4	1.56	3.125	0.78	0.2
	10^6	1.56	3.125	1.56	0.2
	10^8	3.125	3.125	1.56	0.2
<i>S. aureus</i> 201	10^4	0.2	0.2	0.2	0.2
	10^6	0.2	0.39	0.2	0.2
	10^8	0.2	0.39	0.2	25
<i>S. aureus</i> 234	10^4	0.2	0.39	0.2	0.78
	10^6	0.39	0.39	0.39	50
	10^8	0.39	0.78	0.39	>400
<i>S. aureus</i> 237	10^4	0.2	0.39	0.39	0.39
	10^6	0.39	0.39	0.39	50
	10^8	0.78	0.78	0.39	>400

カンテン平板法
Heart infusion agar
37°C, 20時間培養

表7 血清濃度と Isoxazolyl 系合成 PC 類の感受性

MIC : mcg/ml

菌 株	serum%	MFI-PC	MCI-PC	MDI-PC	PC-G
<i>S. aureus</i> 209-P	0	0.2	0.39	0.2	0.05
	10	0.39	0.39	0.78	0.1
	25	0.78	0.39	3.125	0.1
	50	1.56	0.78	3.125	0.1
<i>S. aureus</i> T-54	0	3.125	3.125	1.56	0.2
	10	3.125	6.25	6.25	0.39
	25	6.25	6.25	12.5	0.39
	50	12.5	12.5	12.5	0.39
<i>S. aureus</i> 201	0	0.2	0.39	0.2	25
	10	0.39	0.78	0.78	25
	25	0.78	0.78	1.56	25
	50	1.56	1.56	3.125	25
<i>S. aureus</i> 234	0	0.39	0.78	0.39	>400
	10	0.78	0.78	0.78	>400
	25	1.56	1.56	3.125	>400
	50	3.125	3.125	3.125	>400
<i>S. aureus</i> 237	0	0.78	0.78	0.78	>400
	10	0.78	0.78	1.56	>400
	25	1.56	1.56	3.125	>400
	50	3.125	3.125	6.25	>400

カンテン平板法

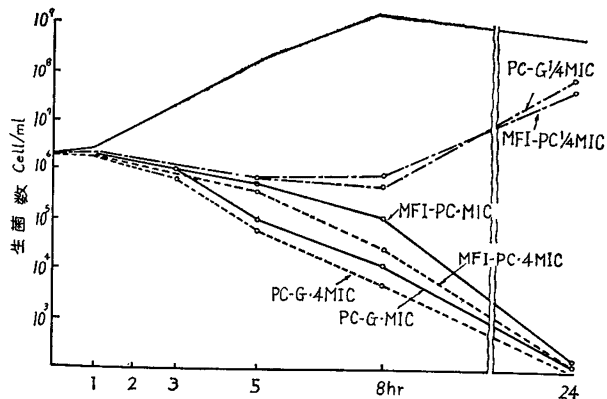
Heart infusion agar

10⁸/ml 菌液, 1白金耳量

37°C, 20時間培養

MFI-PC を培地に MIC 濃度以上に添加すると、生菌数は次第に減少し、24時間後には、ほとんど生菌は認められなかつた。ただ、1/4 MIC では一時的な増殖の抑制が認められたが、8時間後に増殖がみられた。

対照とした PC-G を同じ条件で処理した場合も、

図3 *Staph. aureus* 209-Pにたいする殺菌作用

MFI-PC と全く同様の推移を示した。したがって、MFI-PC は PC-G と同様の殺菌的性状をもつものと考えられる (図3)。

(7) 試験管内耐性獲得

Staph. aureus 209-P を試験菌として、試験管内継代培養法で耐性化傾向を検討した。ブイヨン中で、親株の MFI-PC の MIC 0.39 mcg/ml が15代の継代で 3.13 mcg/ml と、10倍の耐性上昇が認められた。また、MCI-PC および MDI-PC も約20倍と、同様の傾向を示した。これにたいし、PC-G では親株の MIC 0.1 mcg/ml が同一条件の処理によつて、12.5 mcg/ml と125倍の耐性上昇が認められた(図4)。

(8) PC-ase による分解

実験の項に記載した方法で、患者分離 *Staph. aureus* No. 39 より分離精製した PC-ase による MFI-PC および合成 PC 類の分解性を比較した。

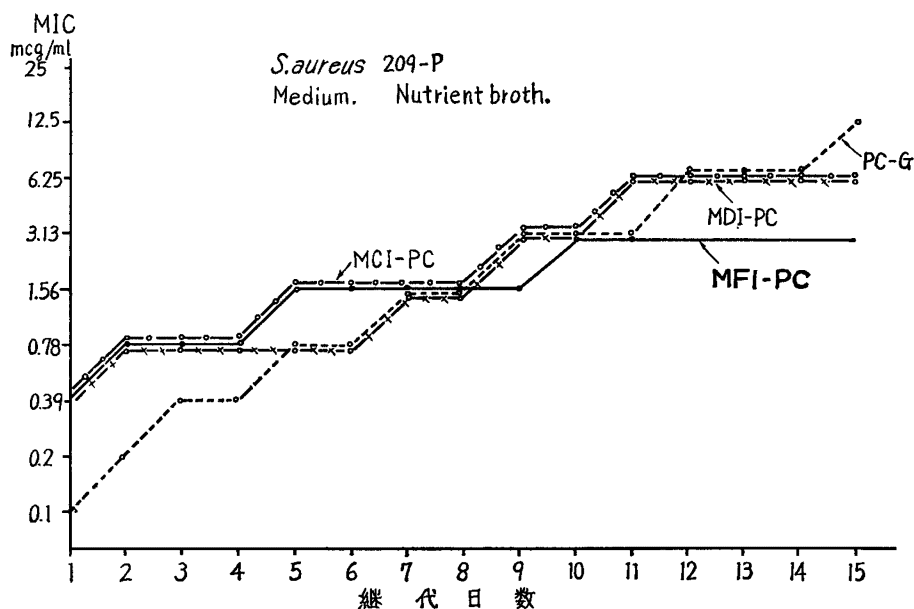


図4 試験管内耐性獲得

表8 *Staph. aureus* の PC-ase による PC 類の分解

PC	MIC : mcg/ml	分解率 %
PC-G	500	100
AB-PC	500	100
MFI-PC	0.78	0
MPI-PC	3.12	0
MCI-PC	0.78	0
MDI-PC	0.78	0

反応条件 :

酵素	0.25 ml
PC (PC-G 1 mcg/ml 当量) 液	0.25 ml
M/15 P. buffer (pH 6.5)	0.50 ml
37°C, 40分	
Bioassay	

Staph. aureus No. 39 は表8のとおり、PC-G および AB-PC に MIC が 500 mcg/ml 以上の耐性菌である。本報で用いた実験条件で、PC-G および AB-PC の 250 mcg は完全に分解された。しかし、MIC が 0.78 mcg/ml の MFI-PC および他の 3 種の Isoxazolyl-PC はいずれも分解をうけなかつた (表8)。

この実験結果は *Staph. aureus* の PC-ase 産生株による β -ラクタム環の分解にたいし、他の Isoxazolyl 系 PC と同様に、MFI-PC が抵抗性をもつことを示唆するものである。

(9) 血清タンパクとの結合

—ヒト血清アルブミンおよびグロブリンとの結合

実験の項に記載した方法にしたがい、1%ヒト血清アルブミンの一定量にたいし、PC 濃度を反応液中の最終濃度で 10 mcg/ml から 600 mcg/ml と変化させた場合の、アルブミンにたいする PC 類の結合性は図5のとおりである。

図5の縦軸は反応液中の遊離の PC の % を示す。タンパク結合性が弱いといわれる AB-PC の場合、その濃度が 10 mcg/ml から 600 mcg/ml に増加しても、AB-PC の大部分は遊離の状態で存在することがわかる。

これにたいし、PC-G では 10 mcg/ml で約50%が結合型で存在し、約80 mcg/ml 濃度から遊離型が増加する。

しかし、MFI-PC, MCI-PC および MDI-PC では 100 mcg/ml まで遊離型は少なく、添加した PC の約90%がアルブミンと結合して存在する。PC 濃度がこれ以上に上昇すると結合率は急激に減少し、遊離 PC が増加する傾向がみられる。いつばう、MPI-PC では各濃度とも他の Isoxazolyl 系 3 者に比較して結合性は弱いようである (図5)。

この実験では結合性の差を明確にするため、正常ヒト血清中のアルブミン濃度 (3~4%) に比較して低い濃度 (1%) を使用したが、アルブミン濃度によつて結合率も変化するものと思われる。

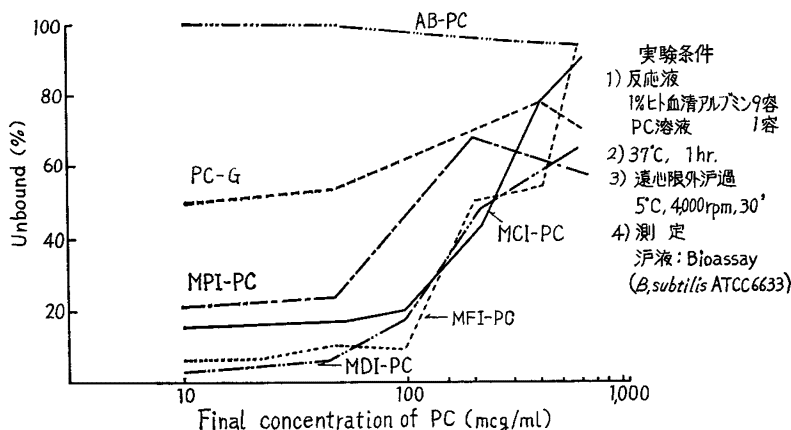


図5 Isoxazolyli 系合成 PC のヒト血清アルブミンとの結合と PC 濃度との関係

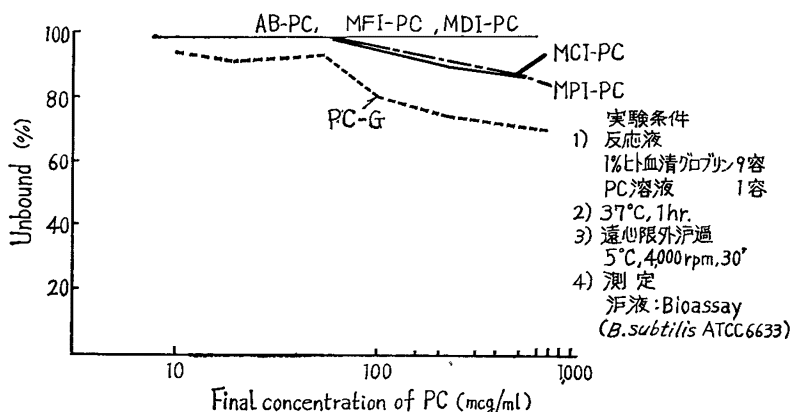


図6 Isoxazolyli 系合成 PC のヒト血清グロブリンとの結合と PC 濃度との関係

図6は、同様の実験を1%ヒト・グロブリンについておこなった結果である。AB-PC および Isoxazolyli 系の4者は上記の実験条件で、グロブリンとほとんど結合しなかつた。

ただ、PC-G の場合、多少異なつた挙動を示し、グロブリンとある程度結合するという結果を得た(図6)。

以上の実験成績から、Isoxazolyli 系 PC 類はいずれも血清アルブミンと結合する性質をもつが、実際のヒト血清に存在するアルブミン濃度では、Isoxazolyli 系 PC の常用量の投与後に得られる血清中濃度(1g の経口投与で最大限 50 mcg/ml 以下)では、大部分が結合型で存在すると考えられる。

(10) マウスの実験感染にたいする効果

実験の項に記載した方法により、*Staph. aureus* T-5, No. 226, STP および *Str. pyogenes* S-23, *Diplo. pneumoniae* III の各感染マウスにたいする、MFI-PC の

経口投与時の治療効果を検討した。

患者分離 *Staph. aureus* T-5 は、MFI-PC 以下各 Isoxazolyli 系 PC に全く等しい感性 (MIC; 0.78 mcg/ml) をもっている。この菌株によるマウスの感染にたいし、MFI-PC の1回投与時の ED₅₀ 値は 10.7 mg/マウスである。これにたいし、対照とした MCI-PC は 19.3 mg/マウス、MDI-PC は 9.3 mg/マウスとなつた。MFI-PC は MDI-PC とほとんど変わらない治療効果を示した。

Strept. pyogenes S-23 による感染マウスの治療効果も、表9のとおり、1回の経口投与で ED₅₀ は MFI-PC の 0.83 mg/マウスと MDI-PC の 0.72 mg/マウスと大差はなく、*Staph. aureus* の感染マウスにたいするよりも高い治療効果を示した。

Diplo. pneumoniae III の感染実験でも、MFI-PC は 4.27 mg/マウスの ED₅₀ を示し、対照薬剤として使用

表9 マウス実験感染に対する経口投与時の治効

菌種	Sample	MIC (mcg/ml)	接種法	接種菌種マウス	ED ₅₀
<i>Staph. aureus</i> T-5	MFI-PC	0.78	i. v.	8×10 ⁶	mg/マウス 10.7
	MCI-PC	0.78	"	"	19.3
	MDI-PC	0.78	"	"	9.3
<i>Staph. aureus</i> 226	MFI-PC	0.39	i. v.	2.7×10 ⁸	4.15
	MCI-PC	0.39	"	"	3.3
	MDI-PC	0.2	"	"	5.35
<i>Staph. aureus</i> STP	MFI-PC	0.1	i. v.	3.2×10 ⁸	3.79
	MCI-PC	0.2	"	"	6.37
	MDI-PC	0.1	"	"	7.84
<i>Str. pyogen.</i> S-23	MFI-PC	0.1	i. v.	1.4×10 ⁷	0.83
	MCI-PC	0.1	"	"	1.09
	MDI-PC	0.1	"	"	0.72
<i>Diplo. pneu.</i> III	MFI-PC	0.39	i. p.	3.8×10 ⁴	4.27
	MCI-PC	0.78	"	"	3.79
	MDI-PC	0.78	"	"	7.58
	TC	1.56	"	"	4.66
	CP	3.13	"	"	10.5
	EM	≤0.1	"	"	10.36

動物：dd 系マウス ♂ 17~21g 1群10匹

薬剤投与：経口投与 感染1時間後1回

した Isoxazolyl-PC および TC, CP, EM などと比較して大差はなかつた(表9)。

(11) 吸収排泄

a) 血清中濃度

MFI-PC を1群5匹のイヌに50mg/kg 経口投与し、MCI-PC および MDI-PC 投与と cross over した。

各個の測定値間にかかなりのバラツキがあるが、最高血清中濃度を平均的にみると、MFI-PC (30分値) の18.9mcg/ml が最も高く、MDI-PC (13.8mcg/ml, 30分値)、MCI-PC (11.5mcg/ml, 1時間値) の順となつた。イヌの実験では3種の Isoxazolyl 系 PC とも、この条件では3時間目の血清中に抗菌活性が認められたが、5時間目の血清には活性物質は認められなかつた。すなわち、イヌでは3者間に持続性の差がみられなかつた(表10)。

つぎに、ウサギに MFI-PC, MCI-PC および MDI-PC を100mg/kg 経口投与し、イヌの場合に準じて血清濃度を測定した。

ウサギでは MFI-PC は最高血清中濃度は平均9.1mcg/ml (30分値) で、これは MCI-PC の5.1mcg/ml (30分~1時間値) より高く、MDI-PC の13.0mcg/ml

(1時間値) よりもやや低い。活性物質の持続時間を比較すると、MDI-PC の5時間値の平均が5.9mcg/ml にたいし、MFI-PC は2.6mcg/ml とやや低いが、MCI-PC はさらに低く、4例中2例は活性物質を検出できなかった(表11)。

ヒトについて、MFI-PC を1g/ヒト1回投与後の血清中濃度を測定した。表12のとおり、投与後1時間で最高血清中濃度が得られ、その値は3例平均で35.7mcg/ml、6時間後でも平均2.5mcg/ml の値を示した。この投与量では、少なくとも投与後4~6時間まで、MFI-PC の感性菌にたいする感染に対し、効果的な血清中濃度を示した(表12)。

b) 尿中排泄

イヌの血清中濃度の測定と併行して、活性物質の尿中排泄を測定した。したがって、isoxazolyl 系 PC 3者は cross over して比較した。表13のとおり、3者とも50mg/kg 1回の経口投与では、尿中排泄率は血清中濃度値と比較して低く、MFI-PC の24時間尿への総排泄率は6.3%、MCI-PC では6.1%、MDI-PC では7.3%と、3者間にほとんど差はなかつた。しかし、6時間尿に排泄された濃度は、MFI-PC で、平均908mcg/ml

表10 経口投与時の血清中濃度

イヌ 8~11kg
経口投与 50 mg/kg, cross over
(mcg/ml)

薬	剤	イ	ヌ	0.5 hr.	1 hr.	2 hr.	3 hr.	5 hr.	7 hr.
MFI-PC		A		27.0	15.2	4.5	1.9	1.6	1.2
		B		10.0	4.6	3.1	1.1	ND*	ND
		C		17.0	12.4	4.3	2.2	ND	ND
		D		18.0	13.0	8.6	1.0	0.9	ND
		E		22.0	10.5	4.6	2.8	1.7	1.1
平		均		18.9	11.1	5.0	1.8	—	—
MCI-PC		A		21.0	24.0	6.5	1.6	ND	ND
		B		4.3	2.5	1.7	0.6	ND	ND
		C		7.2	4.1	2.4	1.0	ND	ND
		D		7.6	19.5	6.8	1.8	ND	ND
		E		1.5	7.2	2.1	1.1	1.2	1.1
平		均		8.3	11.5	3.9	1.2	—	—
MDI-PC		A		10.0	4.1	1.9	ND	ND	ND
		B		6.8	6.2	4.3	1.7	ND	ND
		C		24.6	13.5	6.8	2.2	ND	ND
		D		12.4	32.4	14.2	7.0	ND	ND
		E		15.2	5.3	1.8	1.1	ND	ND
平		均		13.8	12.3	5.8	3.0	—	—

*ND : Non detective

表11 経口投与時の血清中濃度

ウサギ ♂ 2.4~3.2kg
経口投与 100 mg/kg
(mcg/ml)

薬	剤	0.5 hr.	1 hr.	2 hr.	3 hr.	5 hr.	7 hr.
MFI-PC	A	12.5	8.0	6.0	4.0	1.9	ND*
	B	9.0	9.6	9.6	11.0	6.6	3.0
	C	8.1	6.9	3.8	3.1	1.5	0.5
	D	6.8	5.2	2.1	1.3	0.5	ND
平	均	9.1	7.4	5.4	4.9	2.6	—
MCI-PC	E	8.6	9.4	4.0	3.2	1.2	ND
	F	4.4	5.0	3.6	3.3	1.9	1.2
	G	4.0	2.9	1.7	1.0	ND	ND
	H	3.5	3.0	3.0	2.8	ND	ND
平	均	5.1	5.1	3.1	2.6	—	—
MDI-PC	I	17.0	28.0	14.0	12.0	5.4	5.0
	J	9.8	9.5	7.0	6.8	6.4	6.1
	K	7.8	11.0	11.0	14.0	10.0	9.0
	L	5.4	3.3	2.1	2.0	1.7	1.0
平	均	10.0	13.0	8.5	8.7	5.9	5.3

*ND : Non detective

Disc 法 : *B. subtilis* ATCC 6633

表12 MFI-PC 経口投与時の血清中濃度
1g/ヒト 空腹時
(mcg/ml)

ヒト	体 重	1 hr.	2 hr.	4 hr.	6 hr.
A	63 kg	25.0	15.5	7.2	1.3
B	60 "	38.0	22.0	10.0	3.4
C	59 "	44.0	30.0	6.0	2.8
平 均		35.7	22.5	7.7	2.5

Disc 法: *B. subtilis* ATCC 6633

とかなり高濃度で、グラム陽性菌群には充分活性を示す濃度と考えられる。また、投与した MFI-PC のうち、24時間以内に排泄されるものの90%は投与後6時間までに排泄された(表13)。

ウサギについての実験結果では、100 mg/kg 1回の経口投与で、24時間までの平均排泄率は MDI-PC が19.7%と最も高く、ついで MCI-PC(14.8%) および MFI-PC (12.1%) の順序となつた(表14)。

正常ヒトに 1g、1回経口投与した結果は、表15のとおりである。

すなわち、MFI-PC の 1g/ヒトの投与では、投与4時

間までの平均尿中濃度は約 1,700 mcg/ml(900 mcg/ml ~2,370 mcg/ml)で、4~8時間までの排泄濃度は平均 207 mcg/ml (120~370 mcg/ml) となつた。また、8時間までの総排泄率は53.2%と、他の動物より高い尿中回収率を示した(表15)。

c) 胆汁中排泄

各群5例のラットに MFI-PC, MCI-PC および MDI-PC を 100 mg/kg, 1回経口投与し、胆汁中への活性物質の排泄性を検討した。MFI-PC の投与では、24時間までの平均排泄率は35.1%で、MCI-PC の29.0%、MDI-PC の11.7%に比較して高率に排泄され、特に MDI-PC の約3倍という値が得られた。しかし、Isoxazolyl 系 PC 類は、実験的には胆汁中への移行性の強い化合物であると考えられる(表16)。

(12) 組織内濃度

ラットを用い実験の項に記載した方法で、組織内濃度を測定した。100 mg/kg 1回の経口投与で、投与後1時間目に肝内濃度 46.4 mcg/g と最も高く、血清中濃度の 14.0 mcg/ml を越える。その他、脾を除く被検各組織より活性物質が測定された。これらの値を、MCI

表13 経口投与時の尿中排泄

薬 剤	イ ヌ	0~6 hr.			6~24 hr.			総 排 泄 量	
		mcg/ml	mg	%	mcg/ml	mg	%	mg	%
MFI-PC	A	1,500	27.0	6.0	44.0	2.0	0.4	29.0	6.4
	B	400	12.0	3.4	0.8	0.1	0.2	12.1	3.5
	C	960	30.7	6.1	16.0	1.4	0.3	32.1	6.4
	D	1,060	19.1	4.2	22.0	1.8	0.4	20.8	4.6
	E	620	46.5	9.3	21.5	6.6	1.3	53.1	10.6
平 均		908	27.1	5.8	20.9	2.4	0.5	29.4	6.3
MCI-PC	A	490	11.3	2.5	23.5	1.7	0.4	13.0	2.9
	B	265	9.0	2.6	2.4	0.2	0.1	9.2	2.6
	C	335	2.1	0.4	24.3	2.3	0.4	4.5	0.8
	D	188	32.9	7.5	8.5	1.2	0.2	34.1	7.7
	E	570	42.8	9.5	103.0	31.4	7.0	74.2	16.5
平 均		369	19.6	4.5	32.3	7.4	1.6	27.0	6.1
MDI-PC	A	3,000	45.0	10.0	80.0	4.3	1.0	49.3	11.0
	B	29	68.6	15.3	4.2	0.5	0.1	69.1	15.4
	C	650	20.2	3.8	0.5	0.1	0.1	20.2	3.8
	D	210	4.8	0.9	71.0	11.2	2.2	16.1	3.2
	E	413	10.3	2.6	31.3	2.2	0.6	12.4	3.1
平 均		860	29.8	6.5	37.4	3.7	0.8	33.4	7.3

イ ヌ 8~11 kg
経口投与 50 mg/kg

表14 経口投与時の尿中排泄

ウサギ ♂ 2.4~3.2kg
経口投与 100 mg/kg

薬	剤	0~3 hr.		3~7 hr.		7~24 hr.		総排泄量	
		mcg/ml	%	mcg/ml	%	mcg/ml	%	mg	%
MFI-PC	A	950	8.1	315	3.6	16.5	0.6	33.3	12.3
	B	470	10.0	915	7.1	15.4	0.4	56.1	17.5
	G	370	7.3	410	2.5	8.6	0.5	30.8	10.3
	E	88	6.1	250	2.2	1.5	0.1	23.5	8.4
平均		470	7.9	473	3.9	10.5	0.4	35.9	12.1
MCI-PC	C	620	9.0	1,250	5.7	34	0.7	54.1	15.4
	D	780	3.8	1,250	17.3	185	4.7	80.1	25.8
	I	230	5.8	95	1.2	3.8	0.3	17.4	7.3
	J	305	4.6	840	5.8	12	0.3	27.9	10.7
平均		484	5.8	859	7.5	86.2	1.5	24.9	14.8
MDI-PC	E	1180	6.5	2,000	5.5	220	6.8	54.7	18.8
	F	646	7.2	2,230	8.8	430	10.2	65.5	26.2
	K	405	8.6	2,400	8.9	150	3.5	56.7	21.0
	L	550	3.7	550	1.6	295	7.6	31.0	12.0
平均		695	6.5	1,795	6.2	274	7.0	52.0	19.7

Disc 法: *B. subtilis* ATCC 6633

表15 MFI-PC 経口投与時の尿中排泄

1g/ヒト 空腹時

ヒト	体 重	0~4 hr.		4~8 hr.		総排泄量	
		mcg/ml	%	mcg/ml	%	mg	%
A	63 kg	1,870	39.3	120	6.1	453.3	45.3
B	60 "	2,370	51.0	130	6.6	575.9	57.6
C	59 "	900	46.8	370	10.0	567.9	56.8
平均		1,713	45.7	207	7.6	532.4	53.2

Disc 法: *B. subtilis* ATCC 6633

PC および MFI-PC のそれと比較すると、脾を除く組織で MFI-PC が高い濃度を示した。特に、この傾向は肝において著明であった(表17)。

(13) イヌ尿中の抗菌活性物質の検索

正常なイヌに MFI-PC を 100 mg/kg 経口投与し、5時間尿に存在する活性物質をつぎのとおり検討した。

まず、図7の3種の溶媒系による Paper chromatobioauto. の結果では、いずれも対照尿に MFI-PC を添加したものと、投与尿の示す Rf との間に差が認められなかった(図7)。

図8は、上記の尿試料をブタノール:酢酸:水(4:1:2)で展開した Thin layer chromat. の結果である。

ヨード蒸気を呈色剤として用いると、標品の MFI-PC でも Rf 0.75 付近の主要スポット以外に、Rf 0.5 付近に夾雑物のスポットがあらわれる。いつぼう、MFI-PC 投与尿は、この標品および対照尿に MFI-PC を添加した場合と全く同じ Rf を示し、代謝産物の存在を証明しなかった(図8)。

図9は上記の尿試料を Agar electrophoresis で処理した結果である。5時間尿を5倍または10倍に稀釈した場合とも、対照の MFI-PC の Rf と同じ位置に阻止帯を認めたのみで、他の活性物質は証明されなかった(図9)。

上記の chromat. の結果から明らかたとおり、MFI-

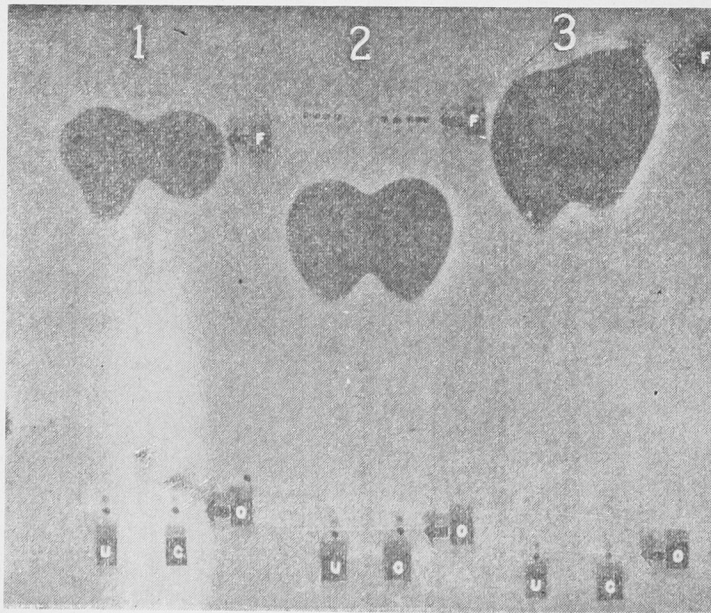
表16 経口投与時の胆汁中排泄

Wistar 系ラット (180~360 g)

経口投与 100 mg/kg

(mg/ml)

薬 剤	ラット	0~2 hr.	2~4 hr.	4~8 hr.	8~24 hr.	総排泄量 (mg)	%
MFI-PC	1	1.43	2.34	3.72	0.22	7.72	40.6
	2	6.15	1.65	0.26	0.02	8.07	44.8
	3	3.50	2.53	0.99	0.07	7.09	32.2
	4	0.77	1.69	1.82	0.49	4.77	23.9
	5	0.20	2.53	5.33	0.12	8.18	34.1
平 均		2.41	2.15	2.42	0.18	7.16	35.1
MCI-PC	6	5.44	1.91	1.11	0.22	8.68	28.9
	7	7.23	3.94	0.78	0.13	12.08	32.6
	8	0.06	0.53	5.29	0.95	6.83	25.3
	9	0.85	2.37	2.18	5.26	10.66	30.5
	10	2.44	4.37	1.83	0.59	6.99	27.9
平 均		3.20	2.62	2.24	1.43	9.05	29.0
MDI-PC	11	2.26	1.31	0.39	0.33	4.29	13.0
	12	1.83	0.76	0.40	0.07	3.06	8.5
	13	2.51	0.73	0.23	0.39	3.87	11.1
	14	2.27	1.34	0.21	0.04	3.87	12.5
	15	2.37	1.28	0.56	0.07	4.28	13.4
平 均		2.25	1.08	0.36	0.18	3.87	11.7



Solvent system

1. Ether
2. n-BuOH : AcOH : H₂O
(4 : 1 : 5)
3. n-BuOH : EtOH : H₂O
(4 : 1 : 5)

U : 5 時間尿 (100 mg/kg)

C : 対照尿 + MFI-PC

F : Front

O : Origin

検出 : *B. subtilis* ATCC-6633

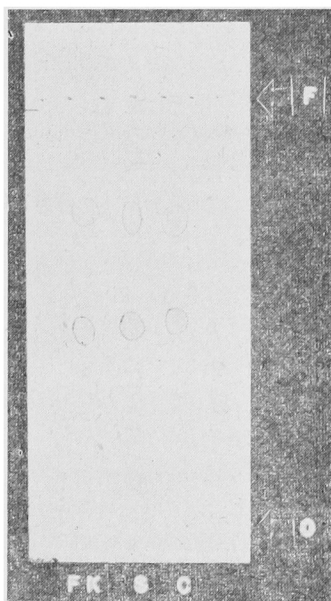
図7 MFI-PC 経口投与時のイス尿の Paper chromatogram-bioautogram

表17 経口投与時の組織内濃度

Wistar 系ラット 130~160 g
経口投与 100 mg/kg

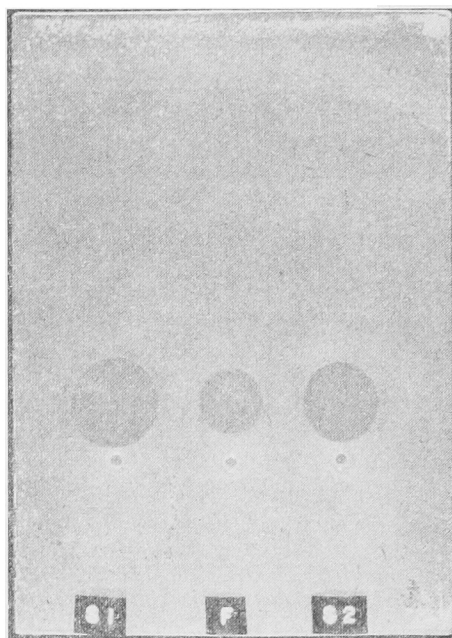
組 織 薬 剤	組 織 内 濃 度* (mcg/g)					血 清* (mcg/ml)
	肝	腎	肺	心	脾	
MFI-PC	46.4	16.8	13.2	2.8	<1.8	14.0
MCI-PC	15.2	14.0	2.4	1.5	<1.2	4.1
MDI-PC	8.5	3.8	11.4	1.8	<1.2	8.0

* 1 時間値

Disc 法 : *B. subtilis* ATCC 6633MFI-PC 100 mg/kg 1 回経口投与
5 時間尿

発色 : ヨード
FK : MFI-PC
S : 5 時間尿
C : 対照尿
F : Front
O : Origin

図 8 MFI-PC 経口投与時のイヌ尿の薄層 chromatogram

MFI-PC 100 mg/kg 1 回経口投与 5 時間尿
試験菌 *B. subtilis* ATCC-6633

S1 : 5 時間尿 × 5
F : MFI-PC 20 mcg/ml
S2 : 5 時間尿 × 10

図 9 MFI-PC 経口投与時のイヌ尿の寒天電気泳動 Bioautogram

PC をイヌに投与した場合、尿中からは MFI-PC 以外の物質は検出されなかつた。

考 察

グラム陽性菌、とくに PC-G 耐性 *Staph. aureus* にたいする経口用抗生物質として、Isoxazolyl 系合成 PC が広く臨床的に利用されている。これは、患者より分離される *Staph. aureus* の約 55% が PC-G に耐性⁸⁾ で、その多くが AB-PC にも交叉耐性をもつという現況に

おいて当然の推移であるかも知れない。

本報で検討した MFI-PC も従来の Isoxazolyl 系 PC 類とほとんど変らない抗菌作用をもち、それらと細菌学的な面では差異はない。ただ、これらの薬剤の共通した特徴の 1 つとして、血清タンパクとの結合性の問題をあげねばならない。これらの PC 類は、この面で PC-G および AB-PC とは全く異なつた挙動を示し、血清タンパク、とくに血清アルブミンと特異的に結合する。その結果 *in vitro* では見掛け上、抗菌活性の低下を惹起

する。しかし、この結合はスルファミン類とタンパクとの結合にみられるような非可逆的な強固な結合ではなく、ゆるい結合型式をとつていると考えられる。このことは、MFI-PC および Isoxazolyl 系 PC とタンパクとの *in vitro* における結合率が高度であるにもかかわらず、感染実験で有効であること、血清中濃度の測定時に十分な抗菌活性が検出されるという事実からも容易に推定される。ただ、本剤では経口投与後の血清中濃度が比較的高いにもかかわらず、実験動物で尿中排泄率が低く、胆汁排泄が高度であるという結果が得られた。これを Isoxazolyl 系 PC のタンパク結合性と関連して考えるならば、PC-タンパク結合体が尿路系へ排泄され難い条件を与えていると考えられる。その結果、代償的に胆汁への移行性が増強されると考えられる。ただ、尿路系を経由する排泄と胆管を経由する排泄との比較は、本報で比較した Isoxazolyl 系 PC の 3 者間である程度の差異が認められ、MFI-PC の場合に、胆汁への移行性が MCI-PC および MDI-PC よりも強いという傾向が認められた。

以上のとおり、抗菌活性、感染防御効果、吸収排泄などの実験結果を通じて、MFI-PC は従来の Isoxazolyl 系合成 PC と本質的に異なつた特性は示さなかつた。ただ、基礎検討の結果からそれらと同等の新合成、グラム陽性菌用抗生物質として臨床的評価を試みるべき価値をもつものとする。

要 約

Isoxazolyl 系の新合成 Penicillin, Flucloxacillin (MFI-PC) の細菌学的性状、吸収排泄およびタンパク結合性について検討し、つぎの結果を得た。

- 1) MFI-PC は MCI-PC および MDI-PC と同様に、主としてグラム陽性菌に試験管内で抗菌活性を持ち、グラム陰性菌には活性をもたない。
- 2) MFI-PC は PC-G 耐性 *Staph. aureus* に抗菌作用を示す。
- 3) MFI-PC の抗菌活性は培地の種類および植菌量の増減によつて著明に変動しない。
- 4) MFI-PC の抗菌活性は試験培地の pH が酸性 (特に pH 5) でやや強くなる傾向をもち、50% の血清を試験培地に添加することにより低下する傾向をもつている。
- 5) MFI-PC の抗菌作用は PC-G と同様に殺菌的である。
- 6) MFI-PC は患者分離の *Staph. aureus* より分離した PC-ase にたいして安定である。
- 7) MFI-PC は他の Isoxazolyl 系 PC 類と同様に、

血清アルブミンと特異的に結合し、グロブリンとはほとんど結合しない。本報における実験条件で、その結合の強さは MDI-PC のそれに類似し、MPI-PC および MCI-PC よりも強く結合する。

8) 患者分離 *Staph. aureus* 3 株、*Strept. pyogenes* および *Diplo. pneumoniae* によるマウスの実験感染において、MFI-PC の経口投与で明らかな治療効果がみられた。そして、その効果は一般に MDI-PC と同等であつた。

9) Cross over 法でイヌ 50 mg/kg 1 回の経口投与時の最高血清中濃度は、平均 18.9 mcg/ml (30分) で MDI-PC の 13.8 mcg/ml および MCI-PC の 11.5 mcg/ml よりやや高い。

ウサギに 100 mg/kg の経口投与では、MDI-PC が 13.0 mcg/ml、MFI-PC 9.1 mcg/ml および MCI-PC の 5.1 mcg/ml の順となつた。また、健康なヒトに 1g 経口投与すると、1 時間後に 35.7 mcg/ml の最高値を示し、6 時間においても 2.5 mcg/ml の活性がみられた。

10) 上記のイヌ、ウサギおよびヒトの血清中濃度の測定時に併行して採取した尿について、血清中濃度を測定すると、イヌでは、MFI-PC、MCI-PC および MDI-PC の 3 者間に排泄の差はほとんどなく投与後 24 時間で 6~7% の排泄を示した。

ウサギでは、MDI-PC の 24 時間排泄率 19.7%、MCI-PC は 14.8% にたいし MFI-PC は 12.1% であつたが、いずれも投与後 6~7 時間尿においても、治療的に有効濃度の活性物質が排泄された。

ヒトでは、4 時間尿に 3 例平均 45.7% が排泄され、8 時間までの総排泄率は 53.2% と、イヌやウサギよりもはるかに高い排泄がみられた。

11) ラットに 100 mg/kg 経口投与し、24 時間以内に胆汁中に排泄された活性物質を測定すると、MFI-PC は投与量の 35.1%、MCI-PC は 29.0%、MDI-PC 11.7% となり、MFI-PC は MDI-PC より約 3 倍多く排泄された。

12) ラットに 100 mg/kg 経口投与し、投与後 1 時間の組織内濃度を比較すると、全般に MFI-PC は MDI-PC および MCI-PC よりやや高い濃度が得られた。とくに、この傾向は肝において著明であつた。

13) イヌに MFI-PC を経口投与し、尿中の活性物質をペーパークロマト、薄層クロマトで展開したが、尿中には MFI-PC と異なつた Rf を示す物質は認められなかつた。

稿を終るにあたり、本実験に御援助をいただいた藤沢薬品・中央研究所所長 中野博士、第 3 部 熊田部長に

感謝します。また、実験に協力された微生物研究グループの諸氏に感謝します。

文 献

- 1) ROBERT G. BRAYTON & DONALD B. LOURIA : Parenteral use of oxacillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1962, 411~419
- 2) AARON PRIGOT, CLEO J. FROIX & EMANUEL RUBIN : Absorption, diffusion, and excretion of a new penicillin, oxacillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1962, 402~410
- 3) PAUL A. BUNN & SUZANNE MILICICH : Laboratory and clinical studies with cloxacillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1963, 220~226
- 4) CHARLES F. GRAVENKEMPER, DANIEL R. SWEEDLER, JEAN L. BRODIE, SHELDON SIDELL & WILLIAM M. M. KIRBY : Cloxacillin : comparison of oral and parenteral forms with oxacillin and methicillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1963, 231~236
- 5) JOHN V. BENNETT, CHARLES F. GRAVENKEMPER, JEAN L. BRODIE, & WILLIAM M. M. KIRBY : Dicloxacillin, a new antibiotic: clinical studies and laboratory comparisons with oxacillin and cloxacillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1964, 257~262
- 6) C. F. HAMMERSTROM, F. COX, M. C. McHENRY & E. L. QUINN : Clinical, laboratory, and pharmacological studies of dicloxacillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1966, 69~74
- 7) 掛見喜一郎, 有田隆一, 山科肇, 小西良士 : 医薬品の吸収と排泄に関する研究, *薬学雑誌* 82, 536~539, 1962
- 8) ブドウ球菌耐性研究班(班長 市川篤二その他) : 本邦各地から分離されたブドウ球菌の薬剤耐性とそのフェージ型別について

FUNDAMENTAL STUDIES ON FLUCLOXACILLIN

MINORU NISHIDA, TADAO MATSUBARA, TAKEO MURAKAWA
YASUHIRO MINE & YOSHIKO YOKOTA

Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka
SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine, Tokyo

Flucloxacillin, a new isoxazolyl derivative of penicillin, was evaluated *in vitro* and *in vivo* for antibacterial activities, absorption, excretion and distribution in the body.

The antibacterial activity of this antibiotic was the same as that of cloxacillin and dicloxacillin against Gram-positive bacteria except *Streptococcus faecalis*, but showed no significant activity against Gram-negative bacteria. Generally, flucloxacillin was as active as other isoxazolyl penicillins against penicillinase-producing *Staphylococci* which were resistant to penicillin-G.

Antibacterial activities of flucloxacillin *in vitro* were not markedly influenced by the kinds of the media and the sizes of the inocula used for the determination of M. I. C. On the other hand, the activities *in vitro* were apparently enhanced in the acidic pH milieu of the medium, and were reduced by the addition of serum to the medium. The mode of action of this antibiotic did not differ from that of other penicillins in bactericidal activity.

Flucloxacillin, like other members of isoxazolyl-penicillin, was highly bound to serum protein, being similar to dicloxacillin in the extent of binding.

The activity of flucloxacillin *in vivo* was determined in mice infected with *Staph. aureus*, *Strep. pyogenes* and *Diplo. pneumoniae*, and this antibiotic in an oral route provided good therapeutic results against these infections.

Serum levels and urinary excretions were determined in dogs, rabbits and human volunteers after oral administration and compared with those of dicloxacillin and cloxacillin. In the experiment on

biliary excretion in rats receiving flucloxacillin at an oral dose of 100 mg/kg, the excretion rate was 35.1% of the administered dose, being markedly higher than that of dicloxacillin (11.7%). Tissue distribution in rat was determined one hour after oral administration at a single dose of 100 mg/kg. The concentration of flucloxacillin in tissues was higher than that of dicloxacillin and cloxacillin, being especially prominent in the liver.

In dogs administered with flucloxacillin, the results of paper chromatography, thin layer chromatography and agar-gel electrophoresis of urine sample showed that the antibiotic was excreted into the urine without being metabolized in the body.