

## 泌尿器科領域における Piromidic acid の研究

## I. 基礎的研究

河田幸道

社会保険埼玉中央病院泌尿器科

塩味陽子

社会保険埼玉中央病院研究検査科

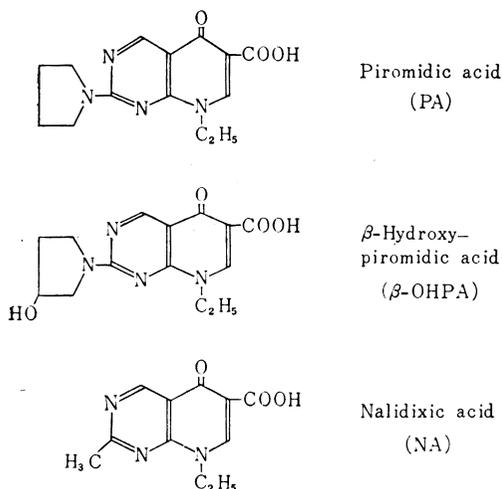
西村洋司

三井記念病院泌尿器科

## 緒 言

大日本製薬総合研究所において合成、開発された Piromidic acid (PA) は、図1に示すように、基本骨格として pyridopyrimidine 環を有する新しい抗菌性薬剤であり、その性質は、Nalidixic acid (NA) に類似しているが、抗菌力の点でNAがもつばらグラム陰性菌にのみ抗菌力を有するのに対し、PAはグラム陽性球菌であるブドウ球菌にも抗菌力を示す点で異なっている。

図1



本剤は経口投与によりよく吸収され、尿中、胆汁中に高濃度に排泄されるが、生体内で代謝され、尿中には未変化のPAのほか、 $\beta$ -Hydroxypiromidic acid ( $\beta$ -OHPA) および更にいくつかの代謝産物の形で排泄されるとされている。PAの主代謝産物である $\beta$ -OHPAは、PAと同様に抗菌力を有するが、その抗菌力および抗菌スペクトルがPAと多少異なるため、PAの臨床使用に際しては、従来の抗菌性薬剤で行なわれていたように、単にその薬剤の抗菌力と、血中、尿中濃度との関係のみから臨床効果の有無を推定したり、あるいは投与

量、投与間隔などを決めることは困難であり、PA、 $\beta$ -OHPAそれぞれの抗菌力、PAの生体内での代謝過程、血中、尿中並びに各臓器内でのPAと $\beta$ -OHPAとの比率なども追求されねばならず、また体液中濃度などの測定にあつても慎重であらねばならない。

われわれは今回、PAの臨床使用に先立ち、特に本剤を尿路感染症に対して使用する際に必要と思われる基礎的問題について検討を加えた。

## I. 抗菌力

## 1) 実験材料および実験方法

PA、 $\beta$ -OHPAおよびNAの抗菌力を日本化学療法学会標準法に従い、平板希釈法によつてMIC (mcg/ml) として測定した。

すなわち、前培養はトリプトソイブイオン(栄研)にて18時間行ない、その一白金耳(内径1mm)を、既知濃度の被験薬剤を含むHI寒天平板(栄研)に画線塗抹し、18時間後に菌の発育の有無を判定した。

供試菌株としては、当院研究室保存の標準株11株と、尿路感染症由来の*Escherichia coli* 100株、*Klebsiella* 25株、*Proteus mirabilis* 25株、*Pseudomonas* 25株とを用いた。

## 2) 実験成績

標準株に対するPA、 $\beta$ -OHPA、NAの抗菌力は表1に示すとおり、PAは*E. coli*、*Klebsiella*などのグラム陰性桿菌だけでなく、*Staphylococcus*、*Bacillus subtilis*、*Sarcina lutea*などにも抗菌力を有している。一方、 $\beta$ -OHPAは、*E. coli*、*Klebsiella*に対してはPAよりもすぐれた抗菌力を示しているが、*Staphylococcus*に対する抗菌力はPAに比しはるかに劣り、結局、 $\beta$ -OHPAの抗菌スペクトルはNAのそれとほぼ同じであると考えられる。

尿由来菌に対する抗菌力では、まず*E. coli*に対しては図2に示すとおり、感受性分布のピークはPA 25mcg/ml、NA 12.5mcg/ml、 $\beta$ -OHPA 6.2mcg/mlとPA、

図2 尿由来菌に対する PA,  $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力

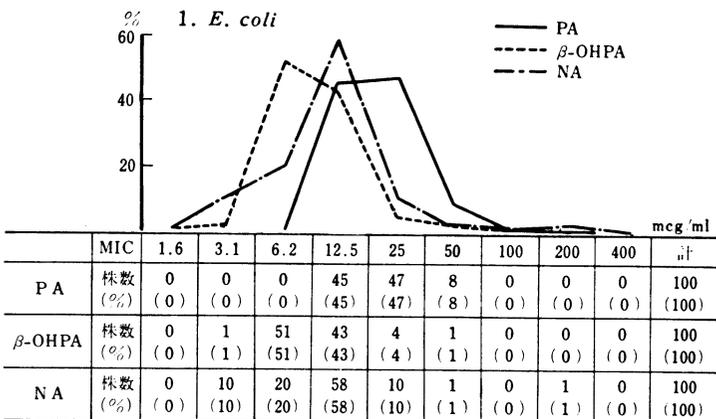


表1 標準株に対する PA,  $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力

Test organisms	MIC(mcg/ml)		
	PA	$\beta$ -OH-PA	NA
<i>Staph. aureus</i> 209 P	12.5	50	200
<i>Staph. aureus</i> Terashima	25	200	200
<i>Staph. aureus</i> 226	12.5	50	100
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	0.8	3.1	12.5
<i>Sarcina lutea</i> PCI-1001	3.1	25	50
<i>E. coli</i> 0111 St	12.5	12.5	25
<i>E. coli</i> 014 K7	25	12.5	25
<i>E. coli</i> K-12	12.5	6.2	6.2
<i>E. coli</i> NIHJC2	25	12.5	25
<i>E. coli</i> 055 St	25	6.2	6.2
<i>Kleb. pneumoniae</i> PCI-602	3.1	1.6	3.1

表3 *E. coli* に対する PA および NA の抗菌力の比較 (100株)

		NA							計
		3.1	6.2	12.5	25	50	100	200	
PA	3.1								0
	6.2								0
	12.5	10	13	22					45
	25		7	33	6	1			47
	50			3	4			1	8
	100								0
	200								0
	計		10	20	58	10	1	0	1

表2 *E. coli* に対する PA および  $\beta$ -OHPA の抗菌力の比較 (100株)

		$\beta$ -OHPA							計
		3.1	6.2	12.5	25	50	100	200	
PA	3.1								0
	6.2								0
	12.5	1	27	17					45
	25		24	21	2				47
	50			5	2	1			8
	100								0
	200								0
	計		1	51	43	4	1	0	0

表4 *E. coli* に対する  $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力の比較 (100株)

		$\beta$ -OHPA							計
		3.1	6.2	12.5	25	50	100	200	
NA	3.1		7	3					10
	6.2	1	17	2					20
	12.5		22	33	3				58
	25		4	4	1	1			10
	50		1						1
	100								0
	200			1					1
	計		1	51	43	4	1	0	0

図3 尿由来菌に対する PA,  $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力

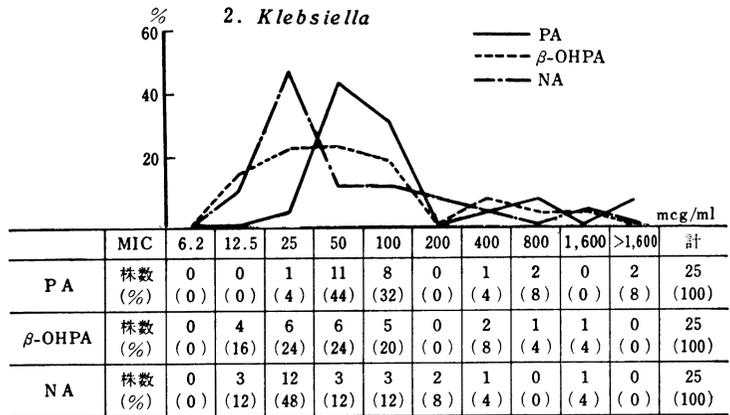


表5 *Klebsiella* に対する PA および  $\beta$ -OHPA の抗菌力の比較 (25株)

		$\beta$ -OHPA								計	
		12.5	25	50	100	200	400	800	1,600		>1,600
PA	12.5										0
	25	1									1
	50	2	5	2	2						11
	100	1	1	4	2						8
	200										0
	400				1						1
	800						2				2
	1,600										0
	>1,600							1	1		2
	計		4	6	6	5	0	2	1	1	0

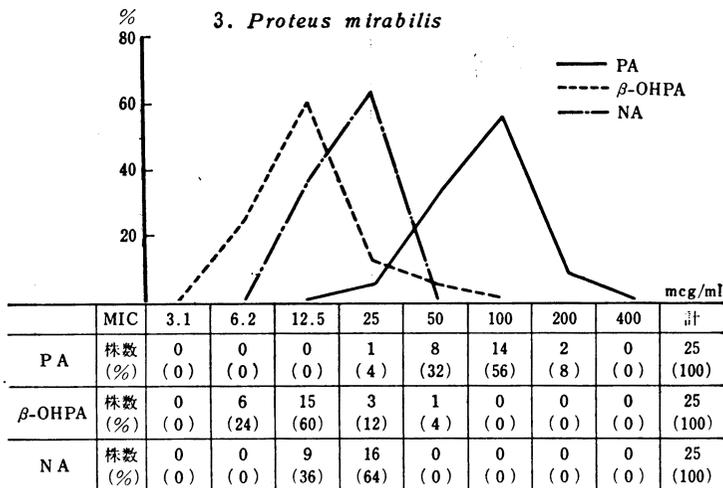
表6 *Klebsiella* に対する PA および NA の抗菌力の比較 (25株)

		NA								計	
		12.5	25	50	100	200	400	800	1,600		>1,600
PA	12.5										0
	25		1								1
	50	3	6	1	1						11
	100		5	2	1						8
	200										0
	400					1					1
	800					1	1				2
	1,600										0
	>1,600				1				1		2
	計		3	12	3	3	2	1	0	1	0

表7 *Klebsiella* に対する  $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力の比較(25株)

	$\beta$ -OHPA									計	
	12.5	25	50	100	200	400	800	1,600	>1,600		
NA	12.5		3								3
	25	3	3	4	2						12
	50	1		2							3
	100				2			1			3
	200				1		1				2
	400						1				1
	800										0
	1,600								1		1
	>1,600										0
計	4	6	6	5	0	2	1	1	0	25	

図4 尿由来菌に対する PA,  $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力



NA,  $\beta$ -OHPA の順に移動しており、個々の菌に対する抗菌力を相関表により検討すると、PAと $\beta$ -OHPAとの比較では、 $\beta$ -OHPA が1~2段階強い抗菌力を示しているものが多く(表2)、PAとNAとでは、NAが1~2段階強く(表3)、 $\beta$ -OHPAとNAとではほぼ同等、または多少 $\beta$ -OHPAがすぐれているように思われる(表4)。

次に *Klebsiella* では、PAに対する感受性分布のピークは50 mcg/ml、 $\beta$ -OHPA 25~50 mcg/ml、NA 25 mcg/mlとなっており(図3)、相関表による比較では、PAと $\beta$ -OHPAでは $\beta$ -OHPAが1~2段階強い抗菌力を示すものが多く(表5)、PAとNAでは、NAがやはり1~2段階強く(表6)、 $\beta$ -OHPAとNAとではほぼ同等ないしは多少NAがすぐれているようである(表7)。

*Proteus mirabilis* の感受性分布をみると、そのピークはPA 100 mcg/ml、NA 25 mcg/ml、 $\beta$ -OHPA 12.5 mcg/ml とかなりはつきりした相違を示しており(図4)、個々の菌に対する抗菌力の比較では、まずPAと $\beta$ -OHPAについてみると25株全株に対して $\beta$ -OHPAのほうが強い抗菌力を示しており、しかもその程度は、1段階のものが1株、2段階が6株、3段階は17株と最も多く、4段階は1株となっており(表8)、*Proteus mirabilis* に対するPAの抗菌力は、 $\beta$ -OHPAに変化することによって著明に増強されている。また、PAとNAの比較ではNAが1~3段階強く(表9)、 $\beta$ -OHPAとNAとでは、抗菌力が同等のもの7株に対し、 $\beta$ -OHPAがすぐれているもの17株と、*Proteus mirabilis* に対する $\beta$ -OHPAの抗菌力はNAよりも勝っている(表10)。

表8 *Proteus mirabilis* に対する PA および  $\beta$ -OHPA の抗菌力の比較 (25株)

		$\beta$ -OHPA						計
		6.2	12.5	25	50	100	200	
PA	6.2							0
	12.5							0
	25		1					1
	50	5	3					8
	100	1	11	2				14
	200			1	1			2
計		6	15	3	1	0	0	25

表10 *Proteus mirabilis* に対する  $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力の比較 (25株)

		$\beta$ -OHPA						計
		6.2	12.5	25	50	100	200	
NA	6.2							0
	12.5	5	4					9
	25	1	11	3	1			16
	50							0
	100							0
	200							0
計		6	15	3	1	0	0	25

表9 *Proteus mirabilis* に対する PA および NA の抗菌力の比較 (25株)

		NA						計
		6.2	12.5	25	50	100	200	
PA	6.2							0
	12.5							0
	25		1					1
	50		4	4				8
	100		4	10				14
	200			2				2
計		0	9	16	0	0	0	25

*Pseudomonas* に対しては、PA、 $\beta$ -OHPA、NA とともに高い MIC 値を示しており、わずかに  $\beta$ -OHPA で 12.5 mcg/ml が 1 株、PA および NA で 50 mcg/ml のものがそれぞれ 1 株ずつ認められたに過ぎない (図 5)。

II. 尿中濃度

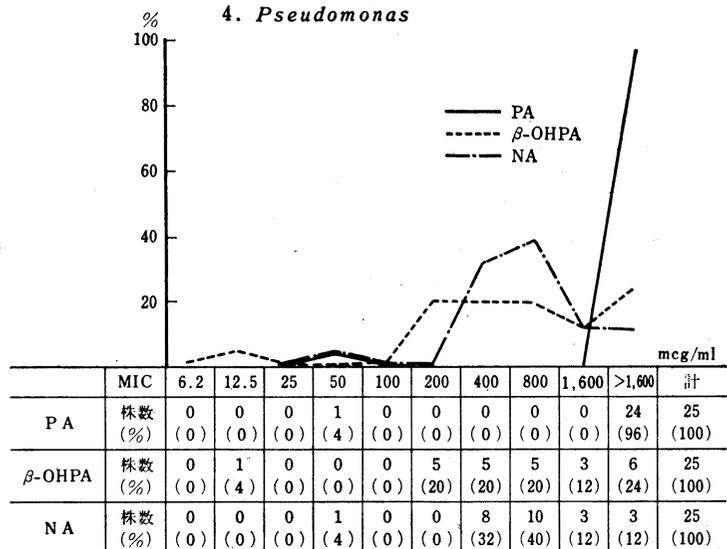
1) 実験材料および実験方法

まず PA 500 mg 1 回内服後の尿中濃度を健康成人 5 例についてカップ法により測定した。

検定菌としては *Bacillus subtilis* PCI-219 株と *E. coli* K-12 株とを用い、尿は PA 内服後 1, 2, 3, 6, 8 時間の 5 回に採取した。培地は HI 寒天 (栄研) を用い、尿および培地の pH は特に調整はしなかつた。

また NA 500 mg 1 回内服後の尿中濃度を cross over

図 5 尿由来菌に対する PA、 $\beta$ -OHPA および NA の抗菌力



法により *E. coli* K-12 株を検定菌として、カップ法で測定し、これを PA の尿中濃度と比較した。

なお、500 mg 1 回投与実験に用いた PA はカプセルに入ったもの、NA は錠剤である。

次いで PA 1,000 mg 1 回内服後の尿中濃度を、健康成人 3 例についてカップ法により測定した。検定菌は 500 mg 内服の場合と同じく 2 種類を用い、尿の採取は 1, 2, 3, 6, 8 時間のほかに 12 時間にも行なつた。また、比較のため cross over 法により NA 1,000 mg 1 回内服後の尿中濃度も測定したが、今回は NA の測定にも *B. Sub.* PCI-219 株と *E. coli* K-12 株の 2 種の検定菌を用い、また内服には PA と全く同じカプセルに入った NA を用い、更に被験者が PA, NA のいずれを投与されたかがわからないようにして薬剤を服用せしめた。

また、今回は尿および培地の pH を、phosphate buffer により pH 6.0 に調整したものと、pH の調整を行なわないものとの 2 通りについて測定を行なつた。

更に PA の尿中濃度の測定は、スタンダードとして PA のほかに  $\beta$ -OHPA をも用いて行なつた。なお、標準品の溶解は中性または酸性では水に難溶性のため 0.1 N NaOH を用いて 1,000 mcg/ml 水溶液を作製し、これを希釈して標準希釈系列を作つたが、それぞれの薬剤濃度と pH との関係は表 11 に示すとおりである。

表 11 標準薬剤溶解時の濃度と pH との関係

濃度 薬剤 (mcg/ml)	100	25	0.5
PA	10.7	9.8	8.2
$\beta$ -OHPA	10.6	9.5	6.4
NA	10.5	9.6	6.2

2) 実験成績

まず *B. sub.* PCI-219 株を検定菌として用いた場合の PA 500 mg 1 回内服後の尿中濃度をみると、1 時間では 5 例中 4 例までが測定下限の 2.5 mcg/ml 以下で検出できず、1 例のみが 3 mcg/ml であつたが、2 時間では 2.5~38 mcg/ml (平均 19.0)、3 時間では 12~50 mcg/ml (平均 35.0) と次第に上昇し、6 時間で 52~100 mcg/ml (平均 73.2) とピークに達し、8 時間では 50~74 mcg/ml (平均 60.6) と幾分低下の傾向を示している (図 6)。

ところが検定菌として *E. coli* K-12 株を用いると、測定下限は 10 mcg/ml と感度は低下するが、尿中濃度は図 7 に示すように非常に高く、1 時間では 5 例中 3 例が検出不能ではあるが、2 時間になると 50~370 mcg/

ml (平均 178.0)、3 時間には 120~380 mcg/ml (平均 238.0) と上昇し、6 時間目に 300~460 mcg/ml (平均 376.0) でピークに達し、8 時間では 180~280 mcg/ml (平均 222.0) となつており、これを *B. sub.* PCI-219 株を検定菌として測定した場合の尿中濃度と比較すると、1 時間では 59.3 倍、2 時間 9.4 倍、3 時間 6.8 倍、6 時間 5.1 倍、8 時間 3.7 倍と時間の経過とともに倍率が低下している。

PA 内服後の尿中濃度を cross over 法により *E. coli*

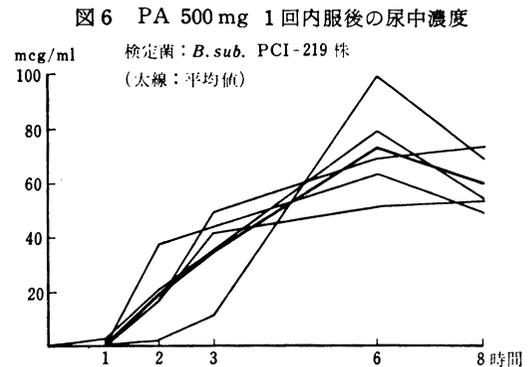


図 6 PA 500 mg 1 回内服後の尿中濃度

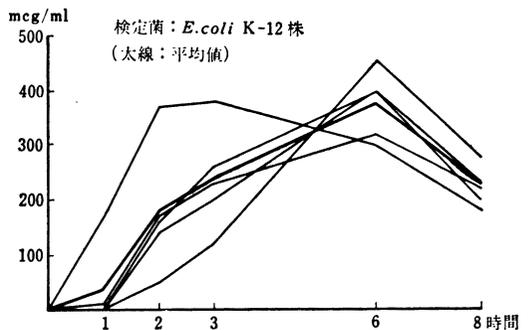


図 7 PA 500 mg 1 回内服後の尿中濃度 (正常人 5 例平均)

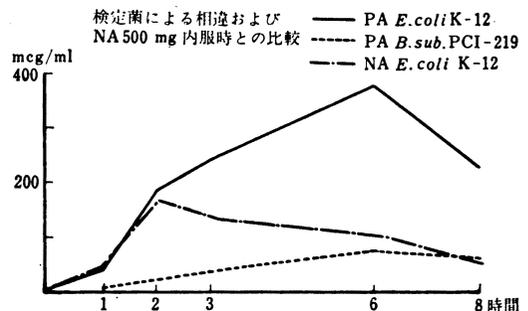


図 8 PA 500 mg 1 回内服後の尿中濃度 (検定菌による相違および NA 500 mg 内服時との比較)

K-12 株を検定菌として測定した NA 内服時のそれと比較すると、PA の尿中濃度は検定菌による相違はあつてもいずれもピークが 6 時間であるのに対し、NA の場合のピークは 2 時間に認められ、またその値は、*E. coli* K-12 株を検定菌として測定した PA の尿中濃度と *B. sub.* PCI-219 株を検定菌として測定した場合の尿中濃度とのほぼ中間に位置している (図 8)。

PA 500 mg 1 回内服後の尿中排泄量にも当然のことながら検定菌による相違が著明に認められ、*B. sub.* PCI-219 株を検定菌として測定した場合の排泄量は少なく、8 時間までの尿中回収率はわずかに 3.9% にすぎない (図 9)。これに対し *E. coli* K-12 株を検定菌として測定した場合の尿中排泄量はかなり高く、8 時間までの尿中回収率は 15.6% であつた (図 10)。

NA の尿中排泄量は両者のほぼ中間にあり、8 時間までの尿中回収率は 6.8% である。

次に、PA 1,000 mg 1 回内服後の尿中濃度をみると、まず尿および培地の pH を調整しない場合 *B. sub.* PCI-219 株を検定菌として測定すると尿中濃度はやはり低く、そのピークが 3 時間目にみられる以外は 500mg 内服の場合と大差はなく、dose response は認めがたい (図 11)。しかし、*E. coli* K-12 株を検定菌として測定すると、その尿中濃度は 500 mg 内服の場合に比し明らかに高く、ピークは 3 時間目にみられ 210~500mcg/ml

(平均 353.3) で、12 時間目にもなお 38~100 mcg/ml (平均 62.3) を保っている (図 12)。

一方、尿および培地の pH を 6.0 に調整した場合、検定菌として *B. sub.* PCI-219 株を用いると 3 時間目までは pH free の場合とほぼ同様の尿中濃度を示すが、6 時間目に 25~120 mcg/ml (平均 60.3) でピークに達し、その後幾分低下して 8 時間では平均 57.7 mcg/ml、12 時間目には平均 22.6 mcg/ml となる (図 13)。また、*E. coli* K-12 株を検定菌として測定した場合には、2 時間目に 216~680 mcg/ml (平均 385.3)、3 時間目 370

図 9 PA 500 mg 1 回内服後の尿中排泄量 (正常人 5 例平均)

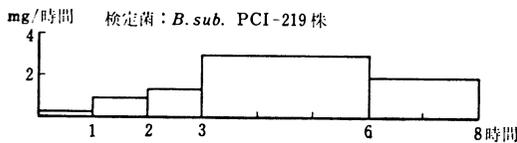


図 10 PA 500 mg 1 回内服後の尿中排泄量 (正常人 5 例平均)

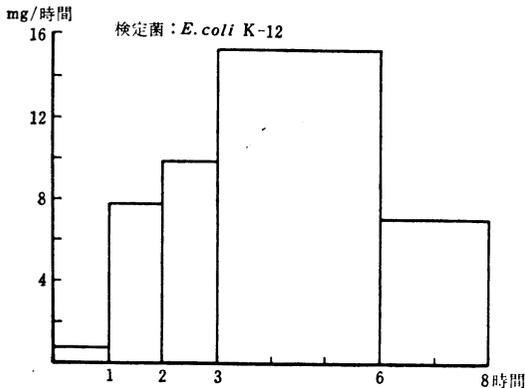


図 11 PA 1,000 mg 1 回内服後の尿中濃度

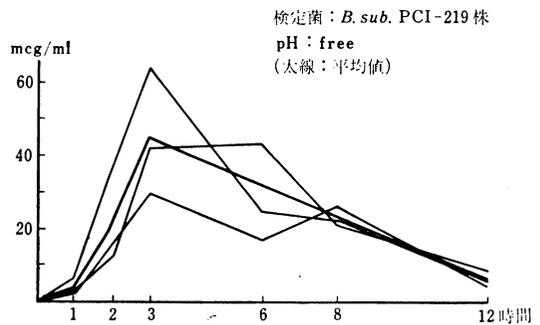


図 12 PA 1,000 mg 1 回内服後の尿中濃度

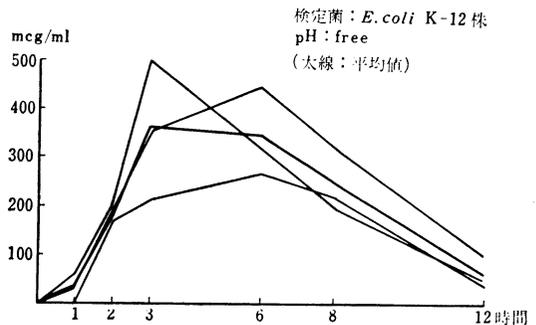
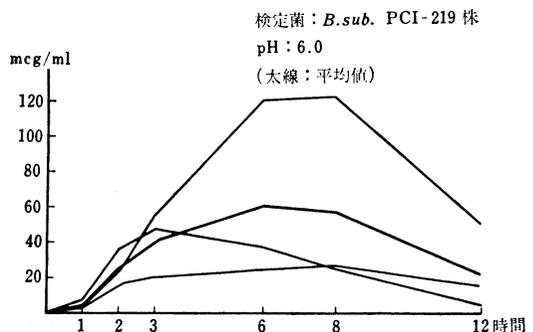


図 13 PA 1,000 mg 1 回内服後の尿中濃度



~560 mcg/ml (平均 446.7) と高い尿中濃度を示し、6時間目に 350~900 mcg/ml (平均 580) でピークに達し、12時間目でもなお 48~370 mcg/ml (平均 158) を保っており (図14)、これを同じ条件で pH の調整を行わずに測定した場合と比較すると、pH 6.0 での測定値はどの時間でも常に高い値をとっている (図15)。

PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度を cross over 法により測定した NA 内服後の尿中濃度と比較すると、*B. sub.* PCI-219 株を検定菌とした場合には6時間まではNAが明らかに高い値をとり、ピークも3時間目にある。PAは6時間目にピークとなり、しかもかなり低い濃度にすぎないが、8時間目以後では両者の濃度はほぼ一致している (図16)。ところが *E. coli* K-12 株を検定菌とした場合にはこの関係が逆転し、PAの尿中濃度はNAのそれを更に上回るほど高くなっている (図17)。

一方、 $\beta$ -OHPA を標準として PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度を測定してみると、まず尿および培地の pH を調整しない場合、検定菌として *B. sub.* PCI-219 株を用いると、同じ条件で PA を標準として測定した場合の尿中濃度に比しかなり高い値を示している (図18)。

また、検定菌として *E. coli* K-12 株を用いても、検定菌が *B. sub.* PCI-219 株の場合とほぼ同程度の尿中濃度を示しているが、この場合は同じ条件で PA を標準として測定した尿中濃度に比べるとかなり低い値となっている (図19)。

尿および培地の pH を 6.0 に調整して測定すると、*B. sub.* PCI-219 株が検定菌の場合、3時間目までは pH free の場合とほぼ同程度の尿中濃度であるが、6時間目には更に上昇して平均 146.7 mcg/ml でピークとなり、12時間目にも平均 47.1 mcg/ml の尿中濃度を保っている (図20)。

これらの値は同じ条件で PA を標準として測定した場合の濃度に比べると、いずれの時間においても2倍以上の濃度を示している。また、*E. coli* K-12 株が検定菌の場合は、pH free の場合とほぼ同程度の尿中濃度であるが、ピークが6時間に認められる点のみ異なっており、同じ条件で PA を標準として測定した際の尿中濃度に比べると  $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{8}$  の低い値をとっている (図21)。

ここで各種条件で測定した尿中濃度の検定菌による相

図14 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度

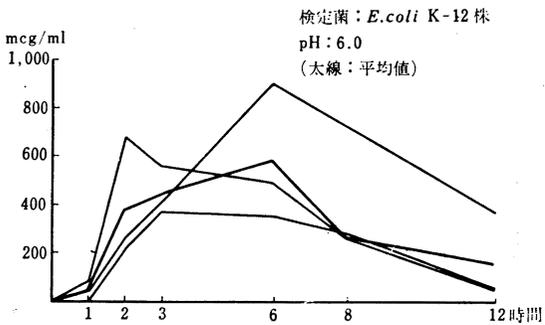


図15 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

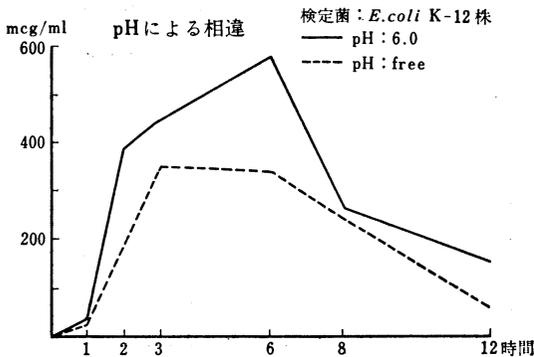


図16 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

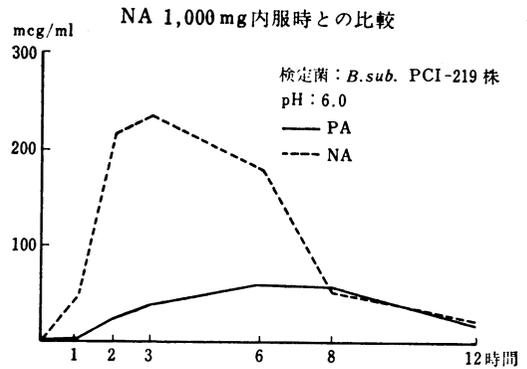


図17 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

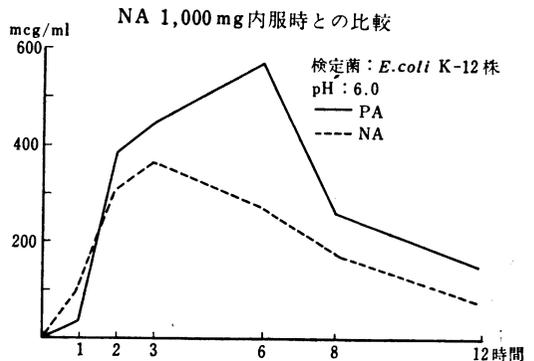


図18 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度

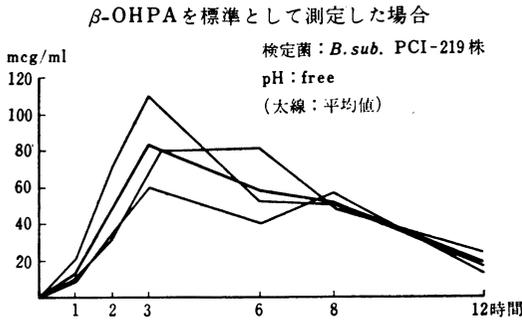


図19 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度

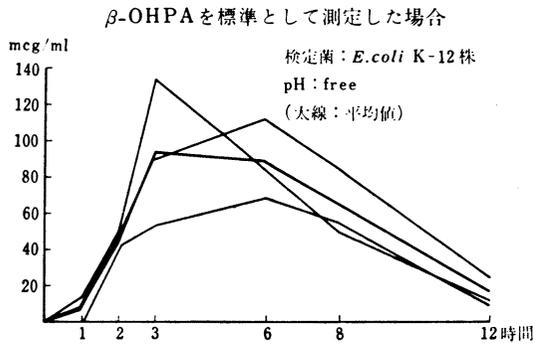


図20 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度

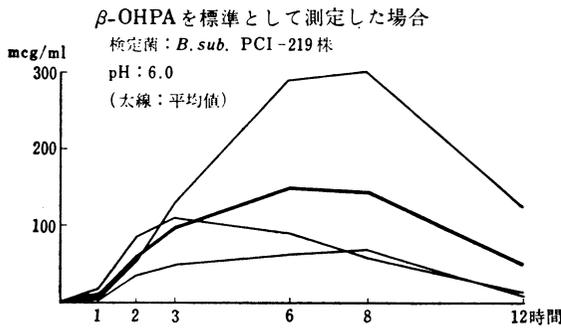


図21 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度

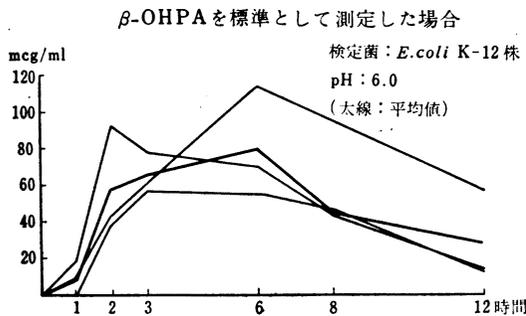


図22 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

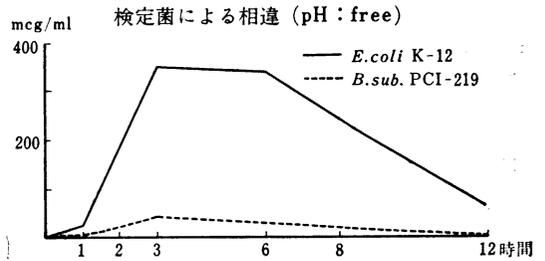


図23 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

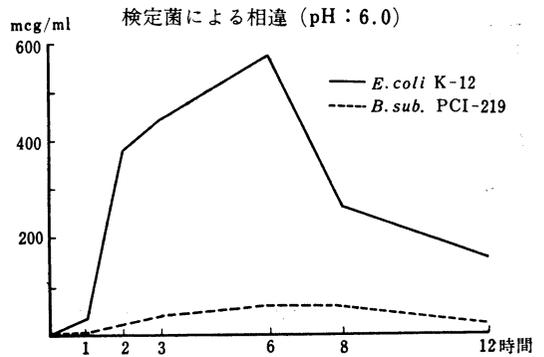


図24 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

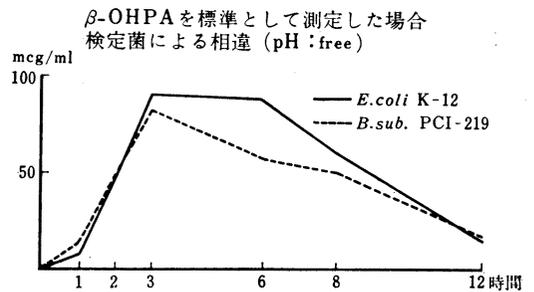


図25 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

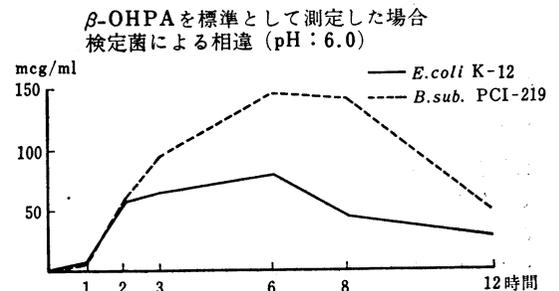


図26 NA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

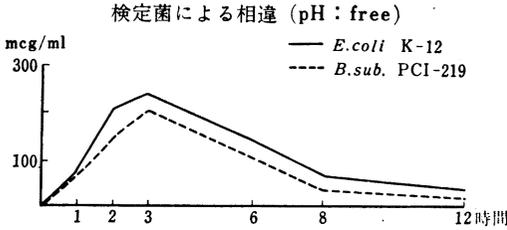


図27 NA 1,000 mg 1回内服後の尿中濃度 (正常人3例平均)

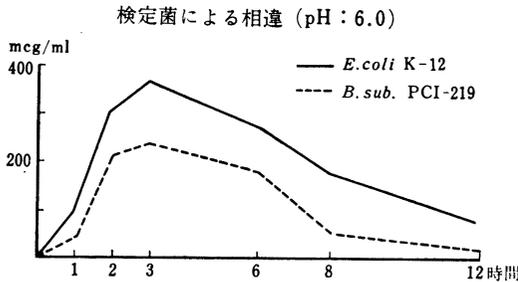


図28 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中排泄量 (正常人3例平均)

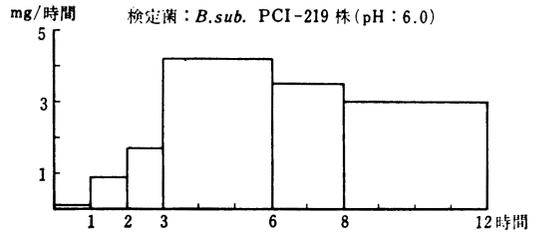


図29 PA 1,000 mg 1回内服後の尿中排泄量 (正常人3例平均)

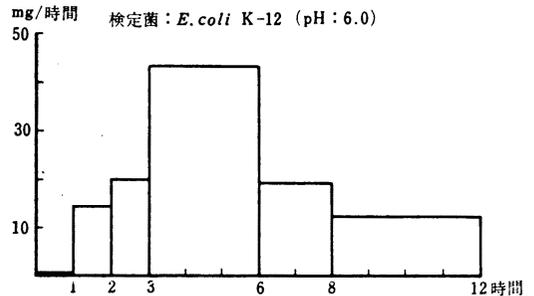


表12 各種測定条件による尿中回収率の相違

投与量 (mg)	投与薬剤	標準	検定菌	pH	尿中回収率 (%)	
					~8時間	~12時間
500	PA	PA	<i>B. sub.</i> PCI-219	free	3.0	—
	NA	NA	<i>E. coli</i> K-12	free	15.6	—
1,000	PA	PA	<i>B. sub.</i> PCI-219	free	1.8	2.0
			<i>E. coli</i> K-12	free	13.6	16.0
		$\beta$ -OHPA	<i>B. sub.</i> PCI-219	6.0	2.7	3.5
			<i>E. coli</i> K-12	6.0	5.5	6.8
	NA	NA	<i>B. sub.</i> PCI-219	free	4.6	5.0
			<i>E. coli</i> K-12	free	7.3	7.8
		$\beta$ -OHPA	<i>B. sub.</i> PCI-219	6.0	6.8	7.3
			<i>E. coli</i> K-12	6.0	15.1	16.8

違をみると、まずPAを標準として pH free で測定した場合には検定菌による著明な相違が認められ (図22), この傾向は pH 6.0 の場合にも同様に認められている (図23)。ところが  $\beta$ -OHPA を標準として、pH free で測定した場合には検定菌による測定値の相違はほとんどみられず (図24), pH 6.0 の場合には逆に *B. sub.*

PCI-219 株を検定菌とし測定した値のほうが高値をとっている (図25)。

pH free で測定したNAの尿中濃度では検定菌による相違はほとんどみられず (図26), pH 6.0 の場合にのみ多少の相違が認められている (図27)。

なお、検定菌として *B. sub.* PCI-219 株を用い、pH 6.0 で測定した場合のPA 1,000 mg 1回内服後の尿中排泄量は図28に示すとおり、きわめて微量で12時間までの尿中回収率は3.5%にすぎないが、検定菌として *E. coli* K-12 株を用いると尿中排泄量はかなり多く、12時間までに25.1%が尿中より回収されている (図

29)。

各種測定条件における尿中回収率を一括して表12に示すと、*B. sub.* PCI-219 株を検定菌とし、pH free で測定した場合が最も低く、*E. coli* K-12 株を検定菌とし、pH 6.0 で測定した場合の尿中回収率が最も高い値をとっている。

III. 腎組織内濃度

1) 実験材料および実験方法

泌尿器科的疾患のために腎摘出術が予定された成人5例に対し、腎摘出の3.5~7時間前にPA 1.0 または1.5 g を経口投与し、尿中濃度の測定と同様な方法で腎組織内濃度を測定した。

症例の総腎機能はBUNとPSP 15分値によつて判定し、全例が正常であつた。また、被験腎の腎機能障害度は排泄性腎盂撮影の所見からI~IV度に分類した。

すなわち、I度障害は5分像で造影剤の排泄遅延がみられるが、15分像では尿管まで十分造影されるもの、II度障害は5分像の造影遅延と15分像で腎盂のみが造影されるもの、III度障害は5分像の造影遅延と、15分像で腎杯のみがろうじて造影されるもの、IV度障害は15分像においても造影剤の排泄が認められないものである。

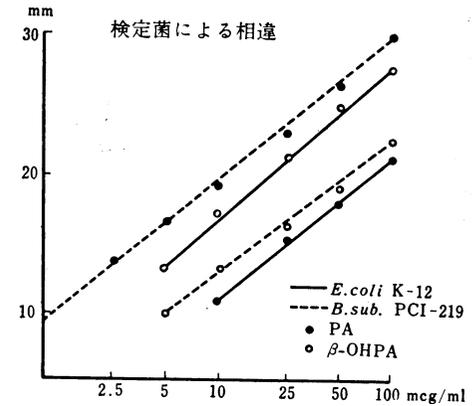
2) 実験成績

腎組織内濃度の測定の際に用いたPAおよびβ-OHPAに対する標準曲線の検定菌による相違を図30に示す。4本の標準曲線はほぼ平行しているが、検定菌として*E. coli* K-12株を用いた場合と*B. sub.* PCI-219株を用いた場合とではPAおよびβ-OHPAに対する関係が逆転している。

次に、PA内服後の腎組織内濃度を一括して表13に示す。

PAを標準として測定した腎組織内濃度は尿中濃度の場合と同様に、検定菌によりその測定値に相違が認められているが、相互の関係は必ずしも一定しておらず、*B. sub.* PCI-219株を検定菌として用いた場合の測定値が高値を示しているものは3例、逆の場合が2例に認

図30 PAおよびβ-OHPAに対する標準曲線



められている。ところがβ-OHPAを標準として測定した場合には5例とも*B. sub.* PCI-219株を検定菌とした測定値が明らかに高値をとつている。

また、測定上の各種条件の組合せにより得られた四つの測定値のなかでは、全例において、β-OHPAを標準とし、検定菌として*B. sub.* PCI-219株を用いた場合の測定値が最も高い。

少数例であるため、被験腎機能の障害程度、投与量、投与後の経過時間と腎組織内濃度との関係は一定しておらず、また、腎組織内濃度/血中濃度、あるいは尿中濃度との関係もはつきりしない。

IV. 腎および尿中代謝産物の薄層クロマトグラフィー (TLC) による検討

1) 実験材料および実験方法

腎内代謝産物の検討に用いた腎は、腎組織内濃度測定第5症例であり、また、尿中代謝産物の検討に用いた尿

表13 PA内服後の腎組織内濃度

No.	症例	疾患名	腎機能		投与量 (g)	時間	標準	<i>B. sub.</i> PCI-219			<i>E. coli</i> K-12			
			総腎機能	被験腎機能				血中濃度 (mcg/ml)	尿中濃度 (mcg/ml)	腎組織内濃度 (mcg/g)	血中濃度 (mcg/ml)	尿中濃度 (mcg/ml)	腎組織内濃度 (mcg/g)	腎組織内濃度 / 血中濃度
1	25才♀	左腎結核	正常	III度障害	1.0	7	PA	—	—	22.0	—	—	49.5	—
							β-OHPA	—	—	58.0	—	—	9.5	—
2	26才♀	右腎結石	正常	I度障害	1.5	6.5	PA	0	17.5	20.5	10.3	86.7	18.0	1.75
							β-OHPA	0	44.9	70.1	4.5	36.9	4.6	1.02
3	64才♂	右腎性高血圧	正常	I度障害	1.5	7	PA	0	—	19.9	8.2	—	0	0
							β-OHPA	0	—	94.0	2.6	—	0	0
4	65才♀	右腎出血	正常	IV度障害	1.5	3.5	PA	0	—	23.5	10.6	—	40.1	3.78
							β-OHPA	0	—	96.0	1.8	—	8.5	4.72
5	68才♂	左腎結石	正常	I度障害	1.5	6.5	PA	0	5.0	3.15	6.4	16.5	0	0
							β-OHPA	0	10.4	11.7	1.8	4.0	0	0

は PA 1,000 mg 1 回内服の第 1 症例である。

腎および尿の処理法、並びに TLC 展開法は表 14 に示したとおりである。

## 2) 実験成績

PA 内服後 6.5 時間目の腎組織および PA 内服後 1, 2, 3, 6, 8 時間目の尿を試料としてプレート上に展開して得たクロマトグラムを図 31 に示す。

確認されたスポットの Rf 値を算出すると表 15 に示

表 14 腎および尿中代謝物の TLC による検索

### 1. 腎処理法

腎  
↓ 蒸留水により 2 倍希釈 ホモジネート 遠沈  
水層  
↓ CHCl<sub>3</sub> 抽出 (dil-HCl により pH 2~4)  
CHCl<sub>3</sub> 層  
↓ 濃縮  
TLC 試料

### 2. 尿処理法

尿  
↓ CHCl<sub>3</sub> 抽出 (dil-HCl により pH 2~4)  
CHCl<sub>3</sub> 層  
↓ 濃縮  
TLC 試料

### 3. 展開法

クロマトプレート イーストマンクロマトグラム No. 6060

展開溶媒 CHCl<sub>3</sub>-HCO<sub>2</sub>H-HCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (10:1:4)

プレートに試料をスポットし、室温で展開。風乾後 UV ランプ (2537Å) 照射。スポットを確認。

すような五つの分画が得られたが、Rf 値 0.22~0.25 の分画 (B 項) は PA の主代謝産物である β-OHPA と考えられ、また、6.5 時間目の腎組織より得られた Rf 値 0.52 の分画 (E 項) は PA であると思われる。

しかし、このほかにも Rf 値 0.10~0.13 (A 項) の分画や Rf 値 0.32~0.35 (C 項), Rf 値 0.43~0.48 (D 項) の分画も認められ、このうち C 項は Sub. N (C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) と考えられるが、A および D 項に属する代謝産物は未だ精製されておらず、したがってまた、構造式も決定されていない。

表 15 腎および尿中代謝産物の Rf 値

		A	B	C	D	E
標準	PA					0.53
	β-OHPA		0.23			
腎	6.5 時間		0.23			0.52
	1 時間	0.13	0.22			
	2 時間	0.13	0.25	0.32	0.43	
	3 時間	0.12	0.24	0.32	0.47	
	6 時間	0.10	0.24	0.35	0.46	
尿	8 時間	0.12	0.24	0.33	0.48	

結局、腎では 6.5 時間目には大部分が β-OHPA となっているが、PA もなお、ごく微量ながら認められるのに対し、尿中では 1~8 時間のいずれの時間においても PA は認められず、Rf 値 0.10~0.13 の未知物質と β-OHPA は毎時間、Sub. N と Rf 値 0.43~0.48 の未知物質とが 2 時間目以降に認められている。

## V. 考 案

### 1) 抗菌力について

PA の抗菌スペクトルの最大の特徴は、NA が無効の *Staphylococcus* に対しても抗菌力を有している点であると考えられるが、PA の主要代謝産物である β-OHPA は *Staphylococcus* に対してそれほど強い抗菌力は示しておらず、尿中に排泄される PA の代謝産物のほとんどが β-OHPA であることを考えれば、*Staphylococcus* による尿路感染症に対する PA の臨床効果は MIC の面だけからいえば必ずしも期待はできない。

しかし、尿由来の *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus mirabilis* に対する β-OHPA の抗菌力は明らかに PA よりも強く、また、多くの場合 NA よりもすぐれている点は注目され、特に *Proteus mirabilis* に対する β-

図 31



PA β-OHPA 6.5時間 1 2 3 6 8時間  
標準 腎 尿

OHPA の抗菌力が PA に比し非常に強いことは特筆に値し、*Proteus* 感染症に対する効果が内服により得られる可能性のある薬剤として期待されよう。

### 2) 尿中濃度について

われわれは PA の尿中濃度の測定にあたり、偶然 *B. sub. PCI-219* 株と *E. coli* K-12 株の 2 種類の検定菌を用い、その測定値に大きな差のあることをみだし、これが cephaloglycin の場合に類似していることから、PA の生体内代謝に目を向けることになった。

すなわち、PA 500 mg 内服後の尿中濃度は *B. sub. PCI-219* 株を用いて測定した場合には低く、これに対し *E. coli* K-12 株を用いて測定した場合には高く、しかも両測定値の比率が時間とともに減少していることから、尿中における PA と  $\beta$ -OHPA の比率が時間の経過とともに変化しているのではないかと考えた。

しかし、PA 1,000 mg 内服の場合にはこのような傾向は全くみられず、また後に行なつた TLC による検索でも尿中には PA は認められなかつた。

また、 $\beta$ -OHPA をスタンダードとして測定した場合には、検定菌による測定値の相違がほとんどみられないこと、および後に行なつた TLC の結果などから、結局尿路感染症に対する効果を推定する上で最も信頼しうる尿中濃度としては  $\beta$ -OHPA を標準として測定した値であろうかと思われるが、この場合  $\beta$ -OHPA の尿中濃度は NA よりも低く、持続はやや長いと考えられる。

PA 500 mg 投与後の尿中濃度を NA の同量投与後の尿中濃度と比較した場合、PA では尿中濃度のピークが 6 時間にあるのに対し、NA では 2 時間に認められた。これは PA 500 mg 投与実験に用いた剤型が PA ではカプセル、NA では錠剤であつたため、あるいは剤型の相違によるものかとも考えられたので、PA 1,000 mg 投与実験では同一の剤型のものを使用したが、やはり PA のピークは 6 時間に認められた。なお、pH の調整の有無による尿中濃度のピークのずれは説明しがたい。

### 3) 腎組織内濃度について

PA 内服後の腎組織内濃度も各種測定条件により著明な相違を示しており、どの測定値を信頼すべきかは一概にはいえない。特に腎組織内では後に行なつた TLC の結果から、 $\beta$ -OHPA のほかに微量ながら PA が混在しているものようであるので、測定値の判読はいつそう複雑になつてくる。

尿中濃度の測定の際には、PA を標準とした場合、検定菌 *B. sub. PCI-219* 株での測定値は常に低く、また  $\beta$ -OHPA を標準とすると検定菌による測定値の相違はほとんど認められなかつたが、腎組織内濃度では PA を標準として、*B. sub. PCI-219* 株で測定した値が *E.*

*coli* K-12 株を用いた場合より高い症例もみられ、また  $\beta$ -OHPA を標準としても検定菌による測定値の相違が著明であつたことは、症例および時間により腎組織内の PA と  $\beta$ -OHPA の比率が異なるためかと思われる。

### 4) TLC による検索の結果について

TLC を用いて腎および尿中における PA の代謝産物を検索した結果、6 時間目の腎組織内には微量ながらも PA が存在していることが確認されたが、尿中では 1 時間目からすでに PA は認められていない。

しかし、これはいずれも 1 例のみについての検討であり、しかも同一症例についての検索ではないため確定的な結論は得られなかつた。

今後更に症例を重ね、できうれば腎のみならず身体各臓器について、しかも経時的に検索することが必要であろう。

また、体液および臓器組織内における PA 代謝産物の分別、定量法についても検討の必要があり、その成績と臨床効果との関係を追求することも今後の課題であると思われる。

## VI. 結 語

新化学療法剤 PA について、その臨床使用に先だち基礎的検討を加えた結果、以下の結論を得た。

1) PA の抗菌力は一般にグラム陰性菌に対しては NA にやや劣るが、NA が無効のブドウ球菌に対しても抗菌力を有している。しかし、PA の主代謝産物である  $\beta$ -OHPA は、ブドウ球菌に対してさしたる抗菌力を示さず、代わつてグラム陰性菌、特に *Proteus mirabilis* に対して PA より強い抗菌力を有している。

2) PA の尿中濃度は 6 時間目にピークが認められ、NA に比し持続が長く、PA 1,000 mg 内服後の尿中回収率は  $\beta$ -OHPA を標準とした場合、検定菌の種類および pH によつて多少の相違はあるが 12 時間までに 3.5~6.8 % であつた。

3) PA 1.0~1.5 g 1 回内服後の腎組織内濃度も測定条件によりかなりの相違が認められるが、 $\beta$ -OHPA を標準とし、*B. sub. PCI-219* 株を検定菌として測定した場合に最も高く、11.7~96.0 mcg/ml であつた。

4) TLC による検索の結果、6 時間目の腎組織内からはおもに  $\beta$ -OHPA が検出されたが、ごく微量の PA も認められた。尿中からは  $\beta$ -OHPA、Sub. N のほかに未知の代謝産物 2 種類も検出された。しかしいずれの時間においても PA は検出しえなかつた。

5) PA または CEG のように生体内で代謝され、しかもその代謝産物が抗菌力を有するような薬剤についてはその体液内濃度の測定にあたり測定法の十分な検討が必要であり、また分別、定量法、測定値の意味づけ、薬

効との関係などについても今後多くの課題が残されていると思われる。

稿を終わるに臨み、実験にご協力いただいた大日本製

薬東京医学研究部の諸兄、並びに当院研究室高根沢江美嬢に感謝いたします。

## STUDIES ON PIROMIDIC ACID IN UROLOGICAL FIELD I. FUNDAMENTAL STUDIES

YUKIMICHI KAWADA

Department of Urology, Saitama Chuo Hospital of Social Insurance

YOKO SHIOMI

Department of Clinical Bacteriology, Saitama Chuo Hospital of Social Insurance

YOJI NISHIMURA

Department of Urology, Mitsui Memorial Hospital

The fundamental studies on piromidic acid, a new chemotherapeutic agent, were performed prior to its clinical use and following results were obtained.

1. Antibacterial activity of piromidic acid against gram-negative bacteria was slightly inferior to that of nalidixic acid in general, but the former drug was active against *Staphylococci* which was insensitive to the latter.  $\beta$ -Hydroxypiromidic acid, a main metabolite of piromidic acid, showed lower activity against *Staphylococci*, but instead, higher activity against gram-negative bacteria, especially *Proteus mirabilis*, than piromidic acid.

2. Piromidic acid showed maximum urine level 6 hours postadministration and long duration in urine compared to nalidixic acid. After single oral administration of piromidic acid at a dose of 1,000 mg/person, the recovery from urine for 12 hours was 3.5~6.8% calculated as  $\beta$ -hydroxypiromidic acid, although the recovery fluctuated depending on an indicator strain or pH of samples and the medium used.

3. After single oral administration of piromidic acid at doses of 1~1.5 g/person, the levels in kidney were high (*i. e.* 11.7~96.0 mcg/ml) when assayed using *Bacillus subtilis* PCI-219, although the levels fluctuated depending on assay conditions.

4. In analysis using thin-layer chromatography,  $\beta$ -hydroxypiromidic acid was mainly detected in kidney 6 hours postadministration concurrently with a small amount of piromidic acid.  $\beta$ -Hydroxypiromidic acid, substance N (5, 8-dihydro-8-ethyl-5-oxo-2-aminopyrido [2, 3-d] pyrimidine-6-carboxylic acid) and 2 unknown metabolites were detected in urine without a detectable amount of piromidic acid.