

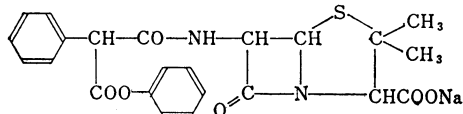
新しい経口 Carbenicillin "Carfecillin" に関する細菌学的評価

大槻雅子・西野武志・戸田正人・岡崎京子・中澤昭三

京都薬科大学微生物学教室

はじめに

Carfecillin は1966年英国ビーチャム社において開発された経口用合成 Penicillin で Carbenicillin の phenyl ester であり、経口投与後腸管から吸収され、腸管粘膜、門脈、肝臓で加水分解を受け Carbenicillin として作用し尿中に排泄される。遊離した Phenol は硫酸抱合あるいはグルクロン酸抱合されたのち排泄されることが知られている。Carfecillin は分子式 $C_{23}H_{21}N_2O_6SNa$ 、分子量476.5の水に易溶の白色粉末である。

 α -Phenoxycarbonyl benzylpenicillin sodium salt

本物質の急性毒性はマウス経口投与では7,500 mg/kg,

ラット経口投与では新生仔で1,900, 成熟で10,000 mg/kg という LD_{50} 値を示すことが報告されている^{1,2)}。

今回、私どもはこの Carfecillin の細菌学的評価について、既知 Carbenicillin (CBPC)^{3,4,5,6,7)} および Indanyl-Carbenicillin (I-CBPC)^{8,9)} を比較薬剤として検討し、2, 3の知見を得たので報告する。

実験方法および実験成績

1. 抗菌スペクトラム

Carfecillin, I-CBPC, CBPC の教室保存グラム陽性菌群、陰性菌群に対する試験管内抗菌力 MIC (μ g/ml) を日本化学療法学会感受性測定法で求めた。レンサ球菌群、肺炎球菌、ジフテリア菌については10%馬血液加 Heart infusion 寒天培地、嫌気性菌の破傷風菌、ガス壊疽菌には TGC 培地、ナイセリア属のリン菌、ズイ膜炎菌には GC 培地を用いた。その成績は Table 1, 2 に示されるように、抗菌スペクトラムについては3剤は

Table 1 Antibacterial spectrum

— Gram-positive bacteria —

Test strain	Carfecillin	Indanyl-CBPC	CBPC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-PJC	0.39	0.19	0.78
" Smith	0.78	0.39	1.56
" Terajima	1.56	0.78	3.12
" Neumann	1.56	0.39	1.56
" E-46	1.56	0.39	1.56
" No. 80(PC · R)	50	50	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.12	1.56	3.12
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.78	0.19	0.39
" Cook	1.56	0.78	0.78
<i>Streptococcus faecalis</i>	100	50	100
<i>Streptococcus viridans</i>	100	50	100
<i>Diplococcus pneumoniae</i> type I	1.56	0.78	0.78
" type II	1.56	0.78	0.78
" type III	1.56	0.78	1.56
<i>Sarcina lutea</i> PCI-1001	0.045	0.022	0.09
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	3.12	3.12	3.12
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	1.56	1.56	0.78
<i>Bacillus anthracis</i>	0.78	0.39	0.78
<i>Clostridium tetani</i>	0.39	0.39	0.39
<i>Clostridium perfringens</i>	0.39	0.19	0.78

MIC (μ g/ml)

Table 2 Antibacterial spectrum
— Gram-negative bacteria —

Test strain	Carfecillin	Indanyl-CBPC	CBPC
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.39	0.19	0.19
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.09	0.09	0.09
<i>Escherichia coli</i> NIH-JC	6.25	6.25	6.25
" NIH	6.25	3.12	3.12
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6.25	6.25	3.12
<i>Salmonella typhi</i> T-287	6.25	3.12	3.12
" O-901	1.56	0.78	0.78
<i>Salmonella paratyphi</i> A	6.25	3.12	3.12
" B	6.25	6.25	6.25
<i>Salmonella enteritidis</i>	25	12.5	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3.12	1.56	3.12
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	6.25	3.12	3.12
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	12.5	3.12	6.25
" Komagome	12.5	12.5	12.5
<i>Shigella boydii</i> EW-28	3.12	3.12	3.12
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	1.56	1.56	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	6.25	6.25	6.25
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	1.56	1.56	1.56
<i>Proteus morgani</i> Kono	6.25	6.25	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	100	100	100
" Nc-5	>100	>100	>100

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

同様なスペクトラムを有しており、グラム陽性菌群、陰性菌群に有効であった。その抗菌力(MIC)は、Penicillin感受性ブドウ球菌の場合、Carfecillinでは0.39~1.56 $\mu\text{g/ml}$ 、I-CBPCでは0.19~0.78 $\mu\text{g/ml}$ 、CBPCで0.78~3.12 $\mu\text{g/ml}$ を示したが、Penicillin耐性ブドウ球菌の場合には3剤とも50 $\mu\text{g/ml}$ という感受性を示した。

レンサ球菌群の *Pyogenes* 肺炎球菌群には、Carfecillinは0.78~1.56 $\mu\text{g/ml}$ という値を示したが、レンサ球菌群の *faecalis*, *viridans* には100 $\mu\text{g/ml}$ と、抗菌力を示さなかった。グラム陰性球菌のナイセリア属にはCarfecillin 0.09~0.39 $\mu\text{g/ml}$ 、I-CBPC、CBPC 0.09~0.19 $\mu\text{g/ml}$ の感受性を示し、陰性桿菌の大腸菌に対してはCarfecillin 6.25、I-CBPC、CBPC 3.12~6.25 $\mu\text{g/ml}$ という値を得た。また、緑膿菌についてはI-CBPC、CBPCと同様100あるいは>100 $\mu\text{g/ml}$ であった。

2. 臨床分離株に対する感受性分布および感受性相関

臨床的に分離されたブドウ球菌50株、大腸菌33株、変形菌33株、緑膿菌54株の感受性分布および感受性相関を日本化学療法学会感受性測定法で求めた。

感受性分布の成績は Table 3~6 に示すとおりである。ブドウ球菌の場合、Carfecillinでは1.56~50 $\mu\text{g/ml}$

に分布し、多くのものは6.25~50 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示していた。対照としたI-CBPCでは0.19~50 $\mu\text{g/ml}$ に

Table 3 Sensitivity distribution of clinical isolates
a) *Staphylococcus aureus* (50 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50
Carfecillin				7	4	11	9	9	10
Indanyl-CBPC	1	4	4	2	2	7	12	7	11
CBPC				3	8	8	18	13	

Table 4 Sensitivity distribution of clinical isolates
b) *Escherichia coli* (33 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Carfecillin			1	6	9	11			6
Indanyl-CBPC	1		2	12	11	1			6
CBPC		1		11	10	5			6

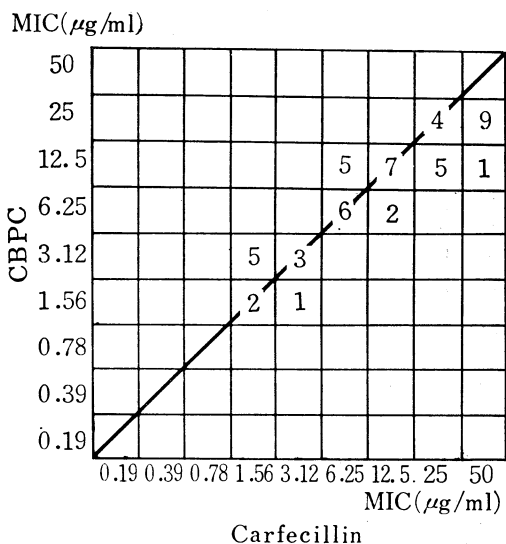
Table 5 Sensitivity distribution of clinical isolates
c) *Proteus* group (33 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
Carfecillin			23	10					
Indanyl-CBPC			26	7					
CBPC		8	22	2	1				

Table 6 Sensitivity distribution of clinical isolates
d) *Pseudomonas aeruginosa* (54 strains)

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
	3.12	6.25	12.5	25	50	100	200	400	≥ 800	
Carfecillin	1	1			2	12	26	9	3	
Indanyl-CBPC	1	1			1	10	30	9	2	
CBPC		2		1	2	18	25	5	1	

Table 7 Cross sensitivity
a) *Staphylococcus aureus* (50 strains)



分布し、12.5~50 $\mu\text{g/ml}$ に多くのものが感受性を示し、CBPC ではその分布は 1.56~25 $\mu\text{g/ml}$ にあり、ピークは 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 付近に存在した。大腸菌の場合、Carfecillin は 3.12~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、>100 $\mu\text{g/ml}$ を示す株は 3 剤とも 6 株認められた。変形菌の場合、Carfecillin では 1.56~3.12 $\mu\text{g/ml}$ と分布の幅は狭く、3 剤とも 1.56 $\mu\text{g/ml}$ にピークを示した。緑膿菌の場合、Carfecillin では 3.12~ ≥ 800 $\mu\text{g/ml}$ に分布を示し、ピーク値

Table 8 Cross sensitivity
b) *Escherichia coli* (33 strains)

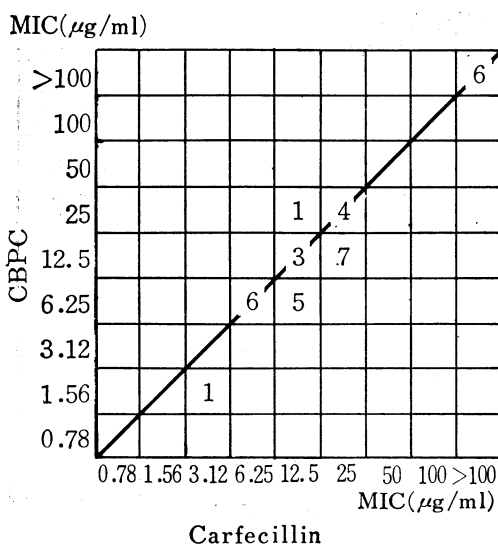
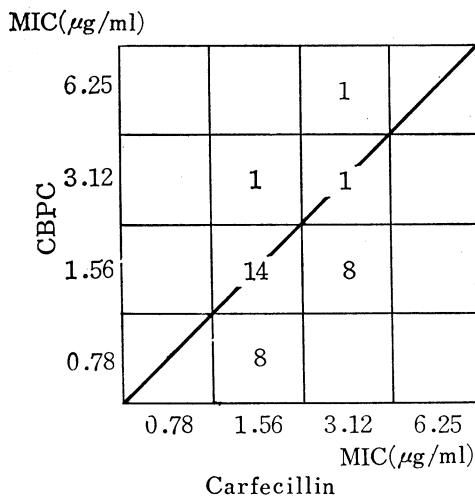
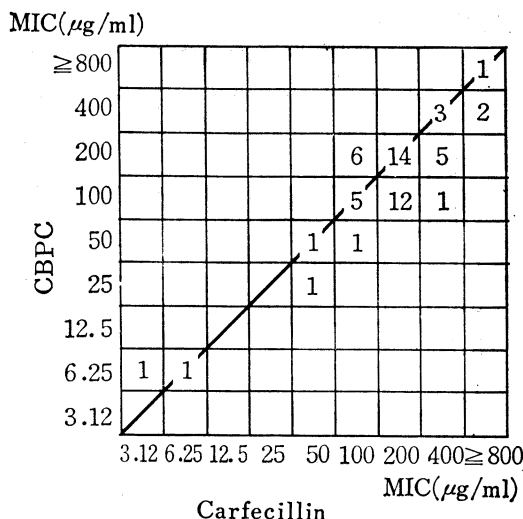


Table 9 Cross sensitivity
c) *Proteus* group (33 strains)



は 200 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、 ≥ 800 $\mu\text{g/ml}$ を示す株は 3 株認められた。これらの菌株について Carfecillin と CBPC 間の感受性相関を検討した成績が Table 7~10 である。ブドウ球菌、大腸菌、変形菌、緑膿菌いずれの場合においても Carfecillin と CBPC の間には相関関係が認められ、CBPC 耐性菌には Carfecillin も耐性を示した。

Table 10 Cross sensitivity

d) *Pseudomonas aeruginosa* (54 strains)

3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

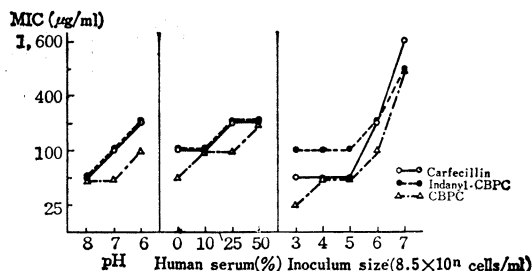
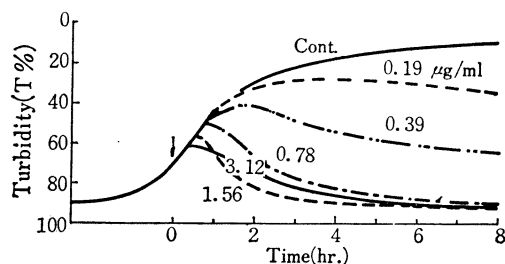
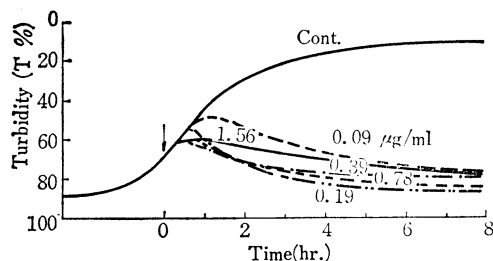
抗菌力におよぼす培地 pH, ヒト血清添加, 接種菌量の影響について *Pseudomonas aeruginosa* No. 12株を検定菌として Heart infusion プイオン培地を用い, 液体希釈法で検討した。その成績は Fig. 1 に示すとおりである。培地 pH によっては酸性側で抗菌力はやや低下し, ヒト血清添加によっても少し変動を受けた。接種菌量によっては菌量が $10^3 \sim 10^5$ cells/ml の場合にはあまり変化を受けなかったが, 菌量が $10^6, 10^7$ cells/ml と増すにつれて抗菌力は大きく変化を受けた。

4. 細菌の増殖曲線におよぼす薬剤の影響

Staphylococcus aureus 209-PJC 株を試験菌として細菌の増殖曲線におよぼす Carfecillin, I-CBPC, CBPC の影響を濁度と生菌数の測定により検討した。

濁度の測定は Tryptosoya プイオン培地で 37°C 18時間培養菌を Heart infusion プイオン培地で 10^{-8} 希釈し JASCO Biophotometer BIO-LOG II を用いて 37°C で培養を行ない, 透過度 (T%) 60に達したとき Carfecillin, CBPC を MIC 濃度を中心にその 1/4, 1/2, 2倍, 4倍濃度作用させ 8時間まで溶菌の様子を観察した。その結果, Fig. 2, 3 に示す成績が得られた。すなわち, CBPC 作用の場合は Fig. 2 に示すように作用濃度に応じた溶菌の様子が見られ, 0.19, 0.39 $\mu\text{g/ml}$ で静菌的な作用が認められた。いっぽう, Carfecillin 作用の場合には Fig. 3 に示すように 0.09 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で溶菌作用が認められた。

生菌数測定は Brain heart infusion プイオン培地 37°C

Fig. 1 Influence of various factors on activity of carfecillin *Pseudomonas aeruginosa* No. 12Fig. 2 Effect of CBPC on growth curve of *Staph. aureus* 209-PJCFig. 3 Effect of carfecillin on growth curve of *Staph. aureus* 209-PJC

18時間培養菌を用い培地で生菌数が 10^{4-5} cells/ml となるように希釈し, 37°C で培養を始め, 10^6 cells/ml に達したとき Carfecillin, I-CBPC, CBPC および Phenol を濁度の測定の場合と同様の濃度で作用させた。Phenol については 200, 400, 800 $\mu\text{g/ml}$ という高い濃度を作用させてみた。これは 1,000 $\mu\text{g/ml}$ の Carfecillin が加水分解されて生じてくる Phenol が約 200 $\mu\text{g/ml}$ に相当することから, Carfecillin の殺菌作用にこの Phenol が影響しているかどうかを検討する目的で行なったものである。薬剤作用後は 1, 2, 4, 6, 8, 24時間ごとに培養液を取り出し生菌数を測定した。その成績は Fig. 4~7 に

Fig. 4 Bactericidal effect of CBPC against *Staph. aureus* 209-PJC
Brain heart infusion broth

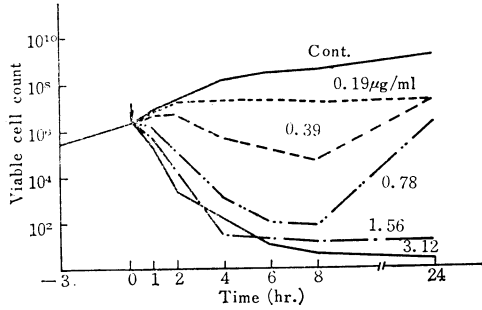


Fig. 7 Bactericidal effect of phenol against *Staph. aureus* 209-PJC
Brain heart infusion broth

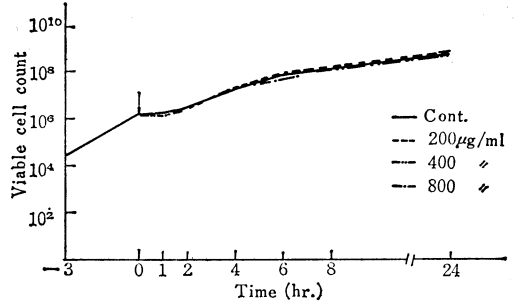


Fig. 5 Bactericidal effect of indanyl-CBPC against *Staph. aureus* 209-PJC
Brain heart infusion broth

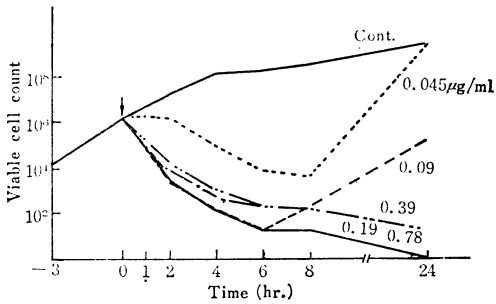


Fig. 8 Bactericidal effect of CBPC against *E. coli* 101828
Heart infusion broth

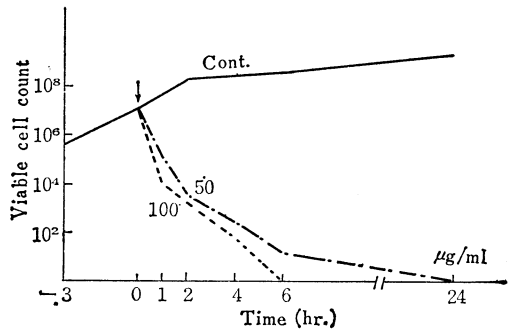


Fig. 6 Bactericidal effect of carfecillin against *Staph. aureus* 209-PJC
Brain heart infusion broth

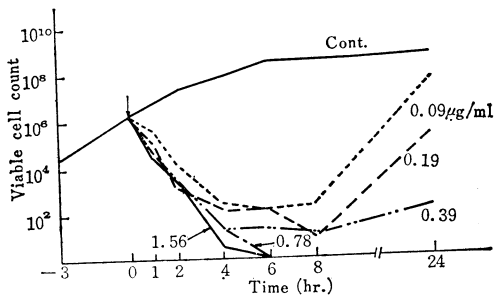
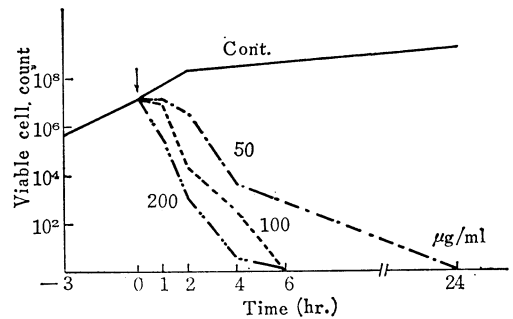


Fig. 9 Bactericidal effect of carfecillin against *E. coli* 101828
Heart infusion broth



示すとおりである。Carfecillin, CBPC では濁度測定の場合と同様の成績が得られ、CBPC では8時間後まで Fig. 4 に示すような殺菌および静菌的な作用が認められ Carfecillin の場合には Fig. 6 に示すように2時間後まですべての濃度においてほぼ同様な殺菌作用が認められた。しかし、24時間後には CBPC 0.78, Carfecillin 0.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で菌の再増殖が認められた。I-CBPC の場合には、Fig. 5 に示すように Carfecillin と同傾向がみられ24時間後では 0.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用で菌の再増殖が認められた。Phenol 作用の場合には、Fig. 7 に示すように 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ においても薬剤を作用しなかったものと同じ増殖の様子を示した。

同様に臨床分離 *Escherichia coli* 101828株についても生菌数測定を行なった。Tryptosoya ブイヨン培地 37°C 18時間培養菌を Heart infusion ブイヨン培地で 10^{-8} 希釈し、37°C で約3時間培養後の生菌数が 10^7 cells/ml に達した時に Carfecillin 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, CBPC 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を作用させ経時的に生菌数を測定した。

その成績を Fig. 8, 9 に示した。菌数が 10^7 cells/ml から 10^4 cells/ml に殺菌される時間を CBPC と Carfecillin の50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で比較してみると、CBPC のほうが1~2時間速いようであった。

5. 細菌の増殖曲線におよぼす培地 pH の影響

Escherichia coli 101828株を試験菌として Heart infusion ブイヨン培地の pH を 6, 7, 8 と変化させた場合の Carfecillin, CBPC の溶菌作用を検討した。先のブドウ球菌の場合と同様の方法で菌液を 10^{-4} 希釈し Biophotometer を用いて観察した。

Fig. 10~12 に示す成績が得られたが、培地 pH が 6 の場合には CBPC 100, CBPC 50, Carfecillin 200, 100, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の順に溶菌作用が現われて CBPC 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と Carfecillin 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で溶菌に2時間程度の差が認められた。pH 7 においても pH 6 と同様な結果が得られたが、全体に溶菌作用の発現がやや遅れるように思われる。pH 8 においては、CBPC 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用では溶菌作用はみられなかった。

6. 殺菌作用の強さ

短時間の殺菌作用の強さを *Staphylococcus aureus* 209-PJC, *Escherichia coli* NIH JC-2, *Pseudomonas aeruginosa* No. 12株を用いて石炭酸係数測定法に準じて検討した。

37°C 48時間培養後の判定結果を Table 11~13 に示した。ブドウ球菌の場合には、Table 11 に示すように CBPC 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では殺菌作用はなく、I-CBPC 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では5分作用で菌は生存10分で死滅していた。Carfecillin 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用で I-CBPC 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と

Fig. 10 Bactericidal effect of carfecillin and CBPC against *E. coli* 101828 pH 6.0 Heart infusion broth

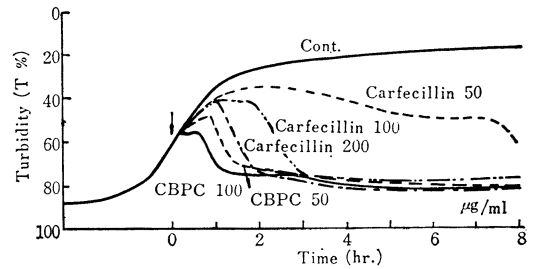


Fig. 11 Bactericidal effect of carfecillin and CBPC against *E. coli* 101828 pH 7.0 Heart infusion broth

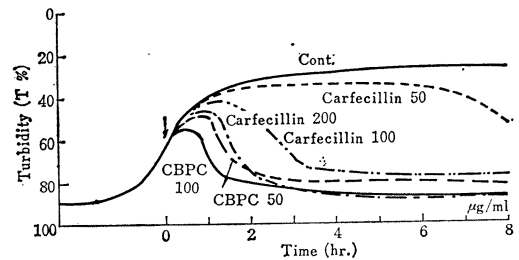


Fig. 12 Bactericidal effect of carfecillin and CBPC against *E. coli* 101828 pH 8.0 Heart infusion broth

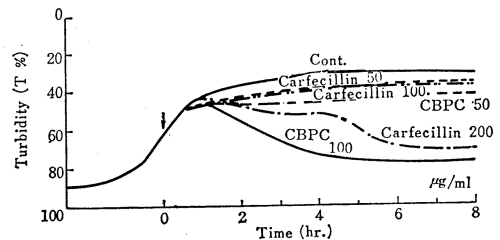


Table 11 Bactericidal effect of carfecillin against *S. aureus* 209-PJC
(Phenol coefficient method)

		2.5'	5'	10'	15'
CBPC	1,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	500	+	+	+	+
	250	+	+	+	+
	125	+	+	+	+
Indanyl-CBPC	1,000 $\mu\text{g/ml}$	-	-	-	-
	500	-	-	-	-
	250	-	-	-	-
	125	+	+	-	-
Carfecillin	1,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	-	-
	500	+	+	+	-
	250	+	+	+	-
	125	+	+	+	-
Phenol	15,000 $\mu\text{g/ml}$	-	-	-	-
	13,000	+	+	-	-
	12,000	+	+	+	+
	10,000	+	+	+	+

(48 hr.)

Table 12 Bactericidal effect of carfecillin against *E. coli* NIH JC-2
(Phenol coefficient method)

		2.5'	5'	10'	15'
CBPC	10,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	8,000	+	+	+	+
	6,000	+	+	+	+
	4,000	+	+	+	+
Indanyl-CBPC	10,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	8,000	+	+	+	+
	6,000	+	+	+	+
	4,000	+	+	+	+
Carfecillin	10,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	8,000	+	+	+	+
	6,000	+	+	+	+
	4,000	+	+	+	+
Phenol	50,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	25,000	+	+	+	+
	12,500	+	+	+	+
	10,000	+	+	+	+

(48 hr.)

Table 13 Bactericidal effect of carfecillin against *Pseudomonas aeruginosa* No. 12
(Phenol coefficient method)

		2.5'	5'	10'	15'
CBPC	10,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	8,000	+	+	+	+
	6,000	+	+	+	+
	5,000	+	+	+	+
Indanyl-CBPC	10,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	8,000	+	+	+	+
	6,000	+	+	+	+
	5,000	+	+	+	+
Carfecillin	10,000 $\mu\text{g/ml}$	+	+	+	+
	8,000	+	+	+	+
	6,000	+	+	+	+
	5,000	+	+	+	+
Phenol	50,000 $\mu\text{g/ml}$	-	-	-	-
	25,000	+	+	+	+
	12,500	+	+	+	+
	10,000	+	+	+	+

(48 hr.)

同じ効果を示した。大腸菌、緑膿菌の場合には、Table 12, 13 に示すように3剤とも10,000 $\mu\text{g/ml}$ 15分接触させた場合においても殺菌作用を示さず、後培養で菌の増殖が認められた。

7. 細菌の産生する β -lactamase に対する安定性

臨床分離 *Escherichia coli* No. 24株の菌体から抽出した β -lactamase に対する Carfecillin の安定性を検討した。 β -lactamase の各希釈液に薬剤を2 $\mu\text{g/ml}$ となるように加え、37°C で30分間接触させた後、100°C 1分の熱処理で酵素を不活化し、薬剤の残存力価を *Bacillus subtilis* PCI-219株を検定菌とする Cup 法で求めた。

その成績は Fig. 13, 14 に示すとおりで、大腸菌から抽出した β -lactamase に対しては Carfecillin は I-CBPC と同様な傾向を示し不活化されていた。

Carfecillin, I-CBPC, CBPC 間には大差は認められなかった。

8. マウス実験的感染症に対する治療効果

マウス実験的感染症に対する治療効果を臨床分離の比較的毒力の強い *Escherichia coli* 101828株および *Pseudomonas aeruginosa* No. 12株について ddYS ♂ mouse 17 \pm 1g 1群10匹を用いて検討した。

a) 大腸菌に対する治療効果

Fig. 13 Stability of carfecillin to β -lactamase
E. coli No. 24

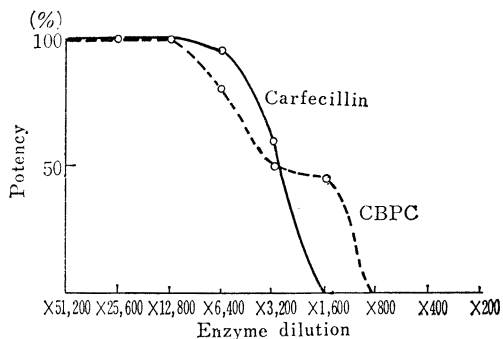


Fig. 14 Stability of indanyl-CBPC to
 β -lactamase *E. coli* No. 24

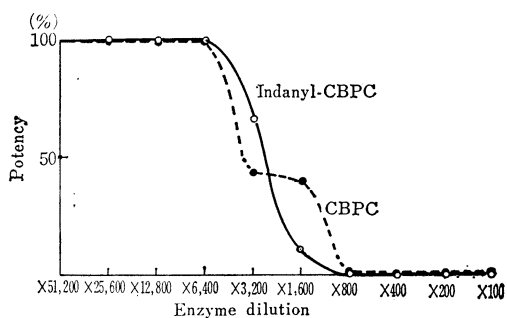
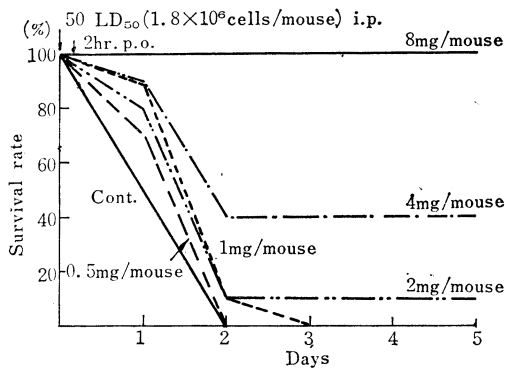


Fig. 15 Protecting effect of CBPC against
experimental mice infections with
E. coli 101828



Escherichia coli 101828株の Nutrient ブイヨン37°C, 14時間振とう培養菌を同上の培地で希釈後4% mucin (NBC) と等量混合し, mouse 腹腔内に0.5ml接種 (1.8×10^6 cells/mouse) した。治療群は菌接種2時間後1回 CBPC 投与群では8~0.5mg/mouse, I-CBPC 投与群では4~0.25mg/mouse, Carfecillin 投与群では

Fig. 16 Protecting effect of indanyl-CBPC
against experimental mice infections
with *E. coli* 101828

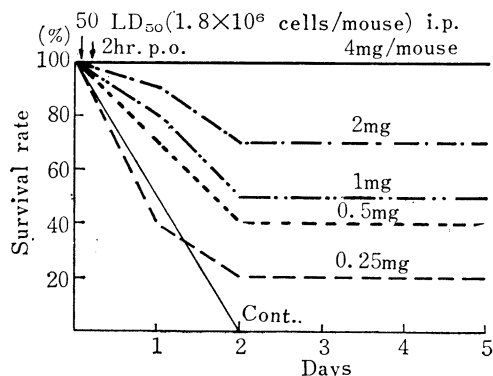


Fig. 17 Protecting effect of carfecillin
against experimental mice infections
with *E. coli* 101828

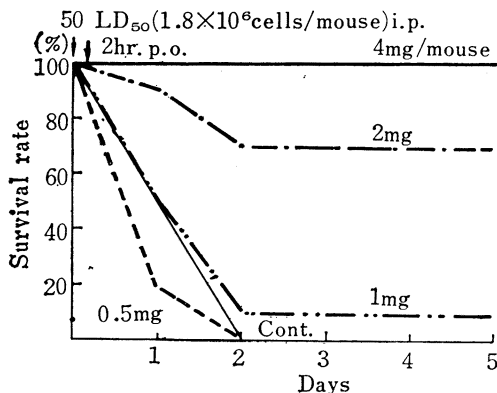


Table 14 Protecting effect of carfecillin against
experimental mice infections with
E. coli 101828

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)*	ED ₅₀ (mg/mouse)
Carfecillin	25	1.75
Indanyl-CBPC	12.5	0.88
CBPC	25	4.1

* Heart infusion agar

4~0.5mg/mouse 経口投与を行ない5日間観察し, その場合の延命効果を Fig. 15~17に, 治療効果 ED₅₀ 値を Table 14 に示した。同じ条件での投与方法についても検討を行ない, 投与時期を菌接種2時間前から菌接種後8時間までの各時間1回の経口投与とし, Carfecillin 4mg/mouse および 2mg/mouse で治療した場合の5日

目の生存率を示したのが Fig. 18 であり、投与回数を菌接種 2 時間後 1 回、2 時間後と 4 時間後の 2 回、2 時間後、4 時間後、6 時間後の 3 回に分けて分割投与した場合に治療効果に差異があるかを Carfecillin で検討した。なお、2 回と 3 回に分割投与する場合には最終量が 1 回投与と同量になるように調整した。

その場合の成績は Fig. 19 に示すとおりである。いずれの実験においても無処置群は 2 日以内にすべて死亡した。CBPC 投与群では、Fig. 15 に示すように 4 mg/mouse で 40%、2 mg/mouse で 10% の延命効果が得られたが、1 mg/mouse では無効であった。I-CBPC 投与群では、Fig. 16 に示すように 4 mg/mouse で 100%、2 mg/mouse で 70%、0.5 mg/mouse で 40% の延命効果が、また Carfecillin 投与群では Fig. 17 に示すように 4 mg/mouse、2 mg/mouse で I-CBPC と同じ効果が得られたが、0.5 mg/mouse では無処置群同様 2 日以内にすべて死亡した。ED₅₀ 値を求めてみると、Table 14 に示すように CBPC 4.1, Carfecillin 1.75, I-CBPC 0.88

Fig. 18 Influence of therapeutic time against experimental mice infections with *E. coli* 101828

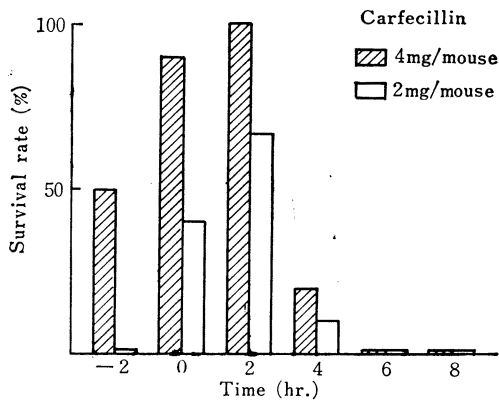
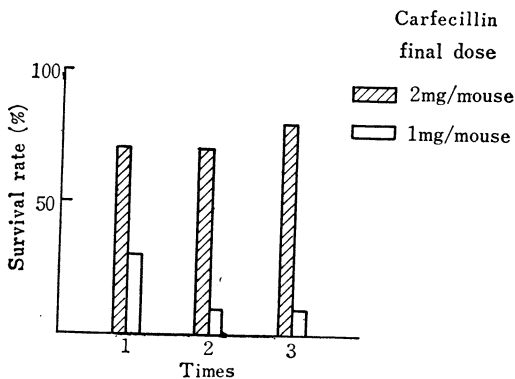


Fig. 19 Protecting effect of divided administration against experimental mice infections with *E. coli* 101828



mg/mouse という値を示した。治療開始時期による効果の変動では、Fig. 18 に示すように Carfecillin 4 mg/mouse、2 mg/mouse で治療した場合いずれも感染直後、2 時間後に良い効果を示した。薬剤の投与回数による効果の変動では、Fig. 19 に示すように Carfecillin 2 mg/mouse の場合は 1 回投与と分割投与の間に大きな差が

Table 15 Protecting effect of carfecillin against experimental mice infections with *Pseudomonas aeruginosa* No. 12

Drug	Inoculum size	MIC(μ g/ml)*	ED ₅₀ (mg/mouse)
Carfecillin	100 LD ₅₀	100	23.8
Indanyl-CBPC		100	15.0
Indanyl-CBPC	10 LD ₅₀	100	10.9
CBPC		100	90.0

* Heart infusion agar

Fig. 20 Protecting effect of carfecillin against experimental mice infections with *Pseudomonas aeruginosa* No. 12

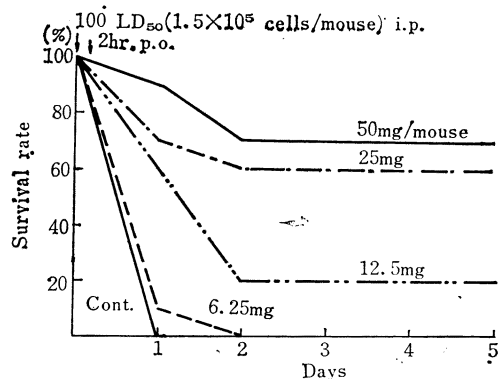
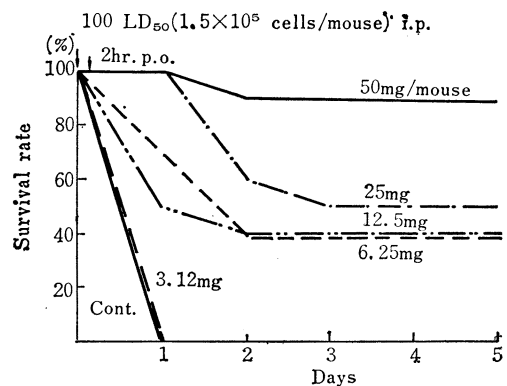


Fig. 21 Protecting effect of indanyl-CBPC against experimental mice infections with *Pseudomonas aeruginosa* No. 12



見られなかったが、1mg/mouse の場合には1回投与が最も良好な生存率を示した。

b) 緑膿菌に対する治療効果

Pseudomonas aeruginosa No. 12株を Heart infusion ブイヨンで 37°C 12時間振とう培養後同じ培地で希釈し、10% mucin (Wilson) と等量混合し mouse 腹腔内に 0.5ml 接種 (1.5×10^6 cells/mouse) した。菌接種2時間後1回 Carfecillin, I-CBPC とともに 50~3.12mg/mouse で経口投与を行なった。

その場合の延命効果は Fig. 20, 21に、治療効果 ED₅₀ 値は Table 15 に示すとおりである。Table 15 には参考として以前 I-CBPC, CBPC で同様に治療効果を求めて得た成績を示した。Carfecillin 投与群では、Fig. 20 に示すように 50mg/mouse で70%、25mg/mouse で60%、12.5mg/mouse で20%の延命効果を得たが、6.25mg/mouse では無効であった。I-CBPC 投与群では、Fig. 21 に示すように 50mg/mouse で90%、25mg/mouse で50%、6.25mg/mouse で40%の延命効果が得られた。この場合、無処置群は1日目ですべて死亡した。ED₅₀ を求めると Table 15 に示すように Carfecillin では23.8mg/mouse、I-CBPC では 15.0mg/mouse という値が得られた。

9. マウスにおける血中および臓器内濃度

ddYS ♂ mouse 17±1g 1群8匹を用いて血中および臓器(腎, 肝, 肺)内濃度を測定した。CBPC, I-CBPC, Carfecillin 各 4mg/mouse を経口投与後、経時的に mouse を屠殺採血, 臓器を摘出し、1/15M PBS (pH 7.0) を用いホモゲナイズし、その遠心上澄を検体として *Bacillus subtilis* PCI 219株を用いる薄層カップ法(培地として Nutrient 寒天を使用)で求めた。

その成績は Fig. 22~26 に示すとおりである。CBPC の場合には、Fig. 22 に示すように腎が最も高く30分にピークがあり 3.8 μg/g で次いで血清と肝であり、肺がいちばん低い値を示した。I-CBPC の場合には、Fig. 23 に示すように肝が約 80 μg/g と最も高い値を示し、腎で 17.5 μg/g、血清で 11.8 μg/ml、肺で 1.5 μg/g というピーク値を示し、血清を除きピークは30分にあった。Carfecillin の場合 Fig. 24 に示すようにピークは30分であり、その値は肝で 22 μg/g、腎で 4.9 μg/g、血清で 2.3 μg/ml、肺で 0.45 μg/g であった。各臓器ごとに見ると血清、腎とも Fig. 25, 26 に示すように I-CBPC が最も高い値を示し、Carfecillin, CBPC はその 1/5 程度の値しか示さなかった。また、Carfecillin の投与量を 10mg/mouse とした場合の血中および臓器内濃度を測定した結果を Fig. 27 に示した。この場合もピークは30分であり、肝で 125 μg/g、腎で 14.3 μg/g、血清で

12.2 μg/ml、肺で 1.3 μg/g であった。次に、Carfecillin, I-CBPC を同じく 10mg/mouse (CBPC 換算量)経口投与した場合の血中および腎内濃度を検定菌に *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 (10^6 cells/ml) を測定用培地に Antibiotic assay agar (BBL) pH 5.5 を用いて再検討した。

その成績は Fig. 28, 29 に示すとおりで、血清ではピーク

Fig. 22 Organ levels of CBPC

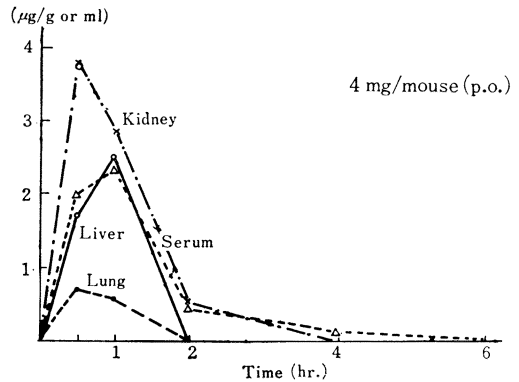


Fig. 23 Organ levels of I-CBPC

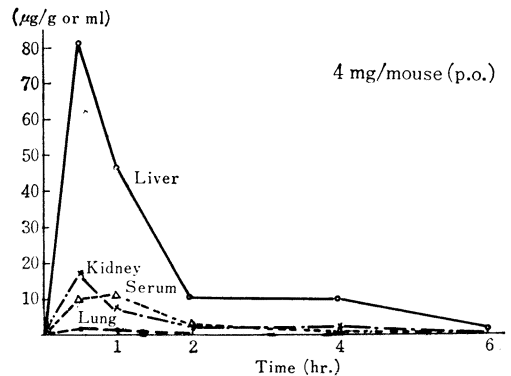


Fig. 24 Organ levels of carfecillin

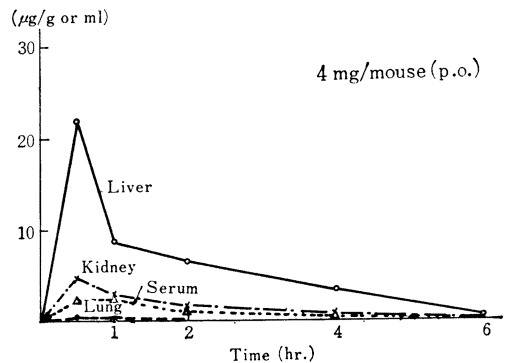


Fig. 25 Serum levels of carfecillin, I-CBPC and CBPC

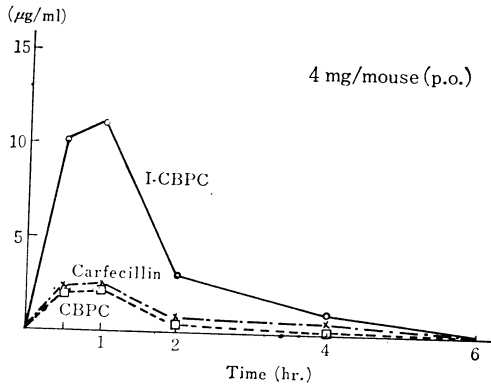


Fig. 26 Kidney levels of carfecillin, I-CBPC and CBPC

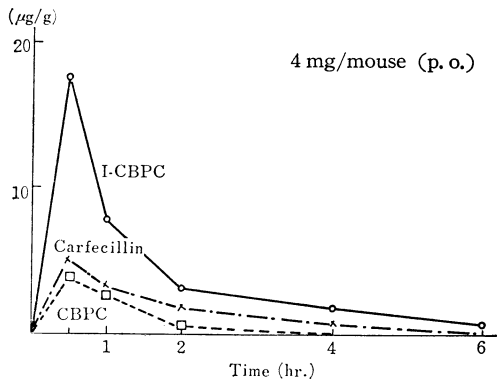
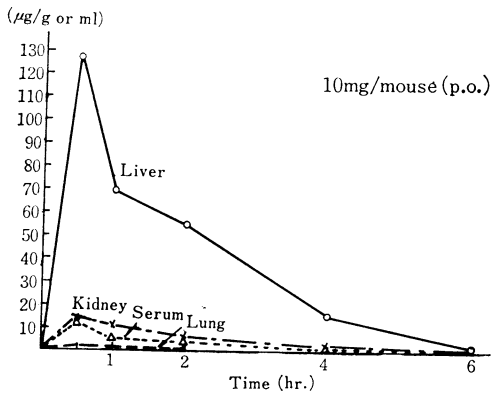


Fig. 27 Organ levels of carfecillin



クは30分にあり、I-CBPC は30分で 29.8 μg/ml, 1 時間で 22 μg/ml を示し、Carfecillin ではそれぞれ 20 μg/ml, 14 μg/ml という値を示したが、2 時間から 6 時間

Fig. 28 Serum levels

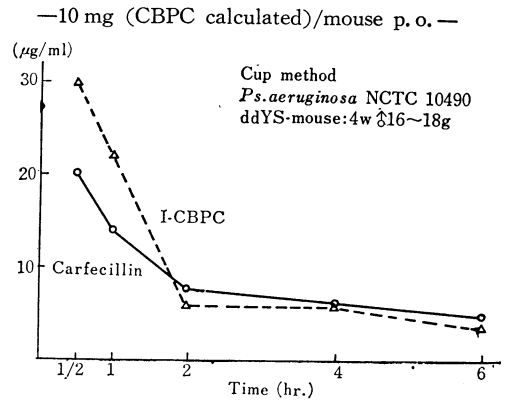
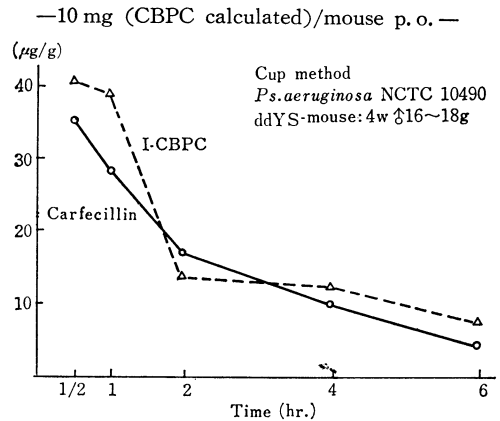


Fig. 29 Kidney levels



では 2 剤間に大きな差は認められなかった。腎内濃度もピークは 30 分にあり I-CBPC 30 分値は 40.8 μg/g, 1 時間値は 39 μg/g であり、Carfecillin ではそれぞれ 35.3 μg/g, 28 μg/g を示した。腎においても 2 時間以後では 2 剤間に大きな差はみられなかった。

総括ならびに考案

英国ビーチャム社において開発された Carfecillin に関する細菌学的評価を既知 Carbenicillin (CBPC), Indanyl-carbenicillin (I-CBPC) を比較薬剤として検討を行なった。その結果、本物質は既知 CBPC や I-CBPC 同様にグラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対し広い抗菌スペクトラムを有し、その抗菌力 (MIC) は CBPC とほぼ同程度の成績を示したが、ブドウ球菌などのグラム陽性球菌においては I-CBPC が最も良い感受性を示し、次いで Carfecillin, CBPC の順であった。このように Carfecillin の抗菌力が CBPC より優

れていたのは本剤の脂溶性と関係があると思われる。すなわち、一般的に脂溶性の高い抗生物質はグラム陽性菌に対して強い抗菌力を持つといわれており、3剤の中では I-CBPC が最も脂溶性が高く、次いで Carfecillin, CBPC¹⁾ であり、抗菌力との相関が見られるように思われる。

本物質の臨床分離ブドウ球菌、大腸菌、変形菌、緑膿菌に対する感受性分布および感受性相関について検討した結果、3剤はほぼ同じ分布を示した。Carcfecillin と CBPC の間で相関関係が認められ、CBPC 耐性菌には Carfecillin も耐性を示した。

抗菌力におよぼす諸因子の影響では、緑膿菌を用いた場合、培地 pH、ヒト血清添加、接種菌量により抗菌力に変動を受け I-CBPC とはほぼ同じ態度を示した。

細菌の増殖曲線におよぼす薬剤の影響をみると、ブドウ球菌の場合、濁度の変化では CBPC 作用では濃度に応じた溶菌の様が観察されたのに対して、Carcfecillin 作用では薬剤添加後早い時期に 1/4 MIC 濃度でも溶菌が見られ、濃度による溶菌の差は観察できなかった。Carcfecillin 作用では24時間後には 1/4、1/2 MIC 濃度で菌の再増殖が認められた。生菌数測定による殺菌作用の観察では、濁度観察の場合と同様 Carfecillin や I-CBPC のほうが CBPC より早い時期に殺菌作用を示すことがわかった。この Carfecillin の殺菌作用が Carfecillin が加水分解して生じた Phenol の影響によるものかどうかを調べるために、Phenol についても生菌数測定による殺菌作用を検討したが、この場合 800 µg/ml の Phenol を作用させても細菌の増殖には変化が認められず、ブドウ球菌で見られた殺菌作用は Carfecillin 分子全体の働きによるものと思われる。しかし、大腸菌の場合にはその殺菌作用は CBPC のほうが1~2時間速く現われ、溶菌作用(濁度の減少)の発現におよぼす培地 pH の影響では酸性側で速く、強力に現われるようであった。短時間での殺菌作用の強さはブドウ球菌ではやはり I-CBPC が最も強く、次いで Carfecillin, CBPC の順であったが、大腸菌、緑膿菌では3剤間に差はみられず、短時間での殺菌作用は認められなかった。大腸菌の産生する β-lactamase には3剤とも不活化され Carfecillin は I-CBPC と同じ傾向を示した。

マウス実験の大腸菌感染症に対する経口での治療効果は Carfecillin 1.75 mg/mouse, I-CBPC 0.88 mg/mouse, CBPC 4.1 mg/mouse という ED₅₀ 値で示され、I-CBPC は Carfecillin の約2倍、CBPC の約4.6倍の効果を示し、Carcfecillin は CBPC よりは優れていたが I-CBPC には少し劣るようであった。Carcfecillin の治療時期と投与回数について検討した結果、投与時期は菌感染直後

から2時間後にかけてが最も良い効果を示し、投与量が多い場合には1回投与と分割投与間で治療効果に差はなく投与量が少ない場合には1回投与のほうが良い成績を示した。大腸菌感染症の治療の場合には、Carcfecillin の投与量が少ない場合1回投与で感染初期に治療を行なったほうが良好な結果が得られるように思われる。緑膿菌に対する治療効果は Carfecillin と I-CBPC で比較すると、I-CBPC のほうが約1.5倍程度良い成績を示した。同一条件で行なった実験ではないが同じ緑膿菌を用いて治療実験を行なった I-CBPC と CBPC の成績から推察すると緑膿菌の治療効果においても I-CBPC, Carfecillin, CBPC の順に優れた効果を示すと思われる。

これらの治療実験において Carfecillin, I-CBPC が CBPC に比べ良好な成績を示すことは両剤の経口投与時の腸管からの吸収における問題と考えられている。そこで3剤のマウスにおける吸収・体内分布を調べた。4mg/mouse 投与時の血中および腎内濃度を、血中では1時間値、腎では30分値で比較すると I-CBPC は血中で CBPC, Carfecillin の約5倍、腎では CBPC の約4.6倍 Carfecillin の約3.5倍という高い濃度を示した。Carcfecillin 10mg/mouse 投与時では 4mg/mouse 投与時と比べると30分値では血中で5.3倍、腎で2.9倍、肝で5.6倍、肺で2.7倍と高い値が得られ、投与量が増すと血中および臓器内濃度も高い値を示した。いっぽう、投与量を CBPC に換算し 10mg/mouse となるように投与し測定方法をかえて検討した場合には、Carcfecillin と I-CBPC で比較すると I-CBPC は血中、腎で各々1.4倍、1.1倍の値が得られた。いずれの場合においても、Carcfecillin の血中および臓器内濃度は I-CBPC に比べ低いようである。これらのことがマウス実験の感染症における治療効果の差異の1因をなしているものと思われる。

結 論

1. 本物質の抗菌スペクトラムは既知 CBPC, I-CBPC と同じであり、またその抗菌力は CBPC とほとんど同等であり、とくにグラム陽性球菌に関しては I-CBPC のほうがやや強かった。

2. 臨床分離ブドウ球菌、大腸菌、変形菌、緑膿菌に対する感受性分布は CBPC とほぼ同様であり、両剤間に相関関係が認められた。

3. 臨床分離 Penicillin 耐性大腸菌から抽出した β-lactamase では不活化された。

4. 本物質の殺菌作用はブドウ球菌では CBPC と異なりその作用の発現が速く、1/4 MIC においても殺菌作用が認められた。しかし、大腸菌では逆に CBPC のほうが速く殺菌作用が始まった。

5. マウス実験的感染症に対する経口での治療効果は大腸菌、緑膿菌の場合、いずれも I-CBPC が最も優れた効果を示し、本物質の治療効果は I-CBPC よりはやや劣っていたが CBPC よりは良好な成績を示した。また、治療時期に関しては感染直後および2時間後に最も良い治療効果が得られた。

6. マウスにおける血中および臓器内濃度は本剤投与では、I-CBPC よりは低いが CBPC に比べるとやや高い値を示した。

参 考 文 献

1. 第21回日本化学療法学会東日本支部総会：Carfecillin 研究会報告，1974（東京）
2. 第22回日本化学療法学会西日本支部総会：ラウンドテーブルディスカッション“Carfecillin”，1974（徳島）
3. KNUDSEN, E. T.; G. N. ROLINSON & R. SUTHERLAND: Carbenicillin: A new semisynthetic penicillin active against *Pseudomonas pyocyanae*. Brit. Med. J. 3: 75~78, 1969
4. ROLINSON, G. N. & R. SUTHERLAND: Carbe-

nicillin, a new semisynthetic penicillin active against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 1967: 609~613, 1968

5. ENGLISH, A. R.: Laboratory studies with carbenicillin. Antimicrob. Agents & Chemoth. 1968: 482~488, 1969
6. 西田実, 松原忠雄, 峯靖弘, 奥井正雄, 横田好子, 五島瑳智子, 桑原章吾: Carbenicillin に関する基礎的研究。Chemotherapy 17(7): 1095~1105, 1969
7. 中沢昭三, 小野尚子, 和島剛, 井沢武年: Carbenicillin に関する基礎的研究。Jap. J. Antibiotics 25(1): 21~27, 1972
8. ENGLISH, A. R.; J. A. RETSEMA, V. A. RAY & J. Z. LYNCH: Carbenicillin indanyl sodium, an orally active derivative of carbenicillin. Antimicrob. Agents & Chemoth. 1(3): 185~191, 1972
9. 第22回日本化学療法学会総会：シンポジウム“Carbenicillin indanyl sodium”，1974（東京）

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON CARFECILLIN, A NEW ORAL CARBENICILLIN

MASAKO OTSUKI, TAKESHI NISHINO, MASATO TODA,
KYOKO OKAZAKI and SHOZO NAKAZAWA
Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

1. Antibacterial spectrum of carfecillin is the same as that of CBPC and I-CBPC, and its antibacterial activity is almost similar to that of CBPC, while it is a little weaker than that of I-CBPC especially against Gram-positive bacteria.

2. Sensitivity distribution of carfecillin to clinically isolated *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Proteus* and *Pseudomonas* is almost the same to that of CBPC, and no correlation was noticed between two drugs.

3. Carfecillin was inactivated by β -lactamase extracted from penicillin resistant *Escherichia* isolated clinically.

4. Bactericidal action of carfecillin appears more rapidly to *Staphylococcus* than CBPC, and the action was recognized even at 1/4 MIC. To *Escherichia*, however, CBPC began bactericidal action more rapidly than carfecillin.

5. As to the treatment effect by oral administration of carfecillin in experimental infection of mice, I-CBPC exhibited most superior effect both in *Escherichia* and *Pseudomonas*. Though the treatment effect of carfecillin was a little inferior to I-CBPC, it was better than that of CBPC. As to the treatment time, immediately after the infection gave the best effect as well as 2 hours after.

6. As to the blood level and organs level in mice, the value of carfecillin was a little higher than that of CBPC, though it was lower than that of I-CBPC.