

## 広域合成ペニシリン T-1220 の *in vitro* 抗菌作用と、グラム陰性桿菌のマウス実験感染における治療効果について

五島瑳智子・小川正俊・金子康子

辻 明良・桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

T-1220 は Ampicillin の Amino 基に 4-Ethyl-2, 3-dioxopiperazinylcarbonyl 基を導入し、抗菌スペクトルの拡大をはかったものでとくに *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia* などに抗菌作用を示すことが特徴とされている<sup>1)</sup>。

本報告は T-1220 の *in vitro* および *in vivo* の抗菌作用を広く検討するため、グラム陰性桿菌のうち腸内細菌およびブドウ糖非発酵菌群も含め、感受性を測定するとともに、*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Serratia* については、マウス実験感染による治療効果をしらべ、既存のペニシリン (Carbenicillin, Sulbenicillin) と比較した成績である。

### I. 実験方法

#### 1. 感受性測定法

日本化学療法学会感受性測定法に準じた<sup>2)3)</sup>。

#### 2. マウス実験感染における治療効果

ddN マウス、雄、5 週齢、体重 19~21g、1 群 6 匹。

感染菌は腹腔内接種とし感染後 1 時間に T-1220 を皮下投与して 5 日間観察、マウスの生死により、ED<sub>50</sub> を算出した。

#### 3. マウス血清中濃度

感染実験に用いた同条件のマウス 1 群 8 匹とし、T-

1220, Carbenicillin (CBPC), Sulbenicillin (SBPC) を皮下投与後、一定時間毎に 1 群ずつ断頭採血した血液をプールし、分離した血清中の活性を *B. subtilis* PCI-219 を用いた Cup 法で測定した。

### II. 成績

#### 1. *In vitro* 抗菌作用

##### 1) 臨床分離株の感受性分布

感受性分布の成績は接種菌量 10<sup>8</sup> と 10<sup>6</sup> の MIC をそれぞれ株数で表わした表と累積分布表によって Fig. 1~Fig. 13 にまとめた。

*E. coli* の場合、T-1220 に対する感受性は CBPC, SBPC より低い。

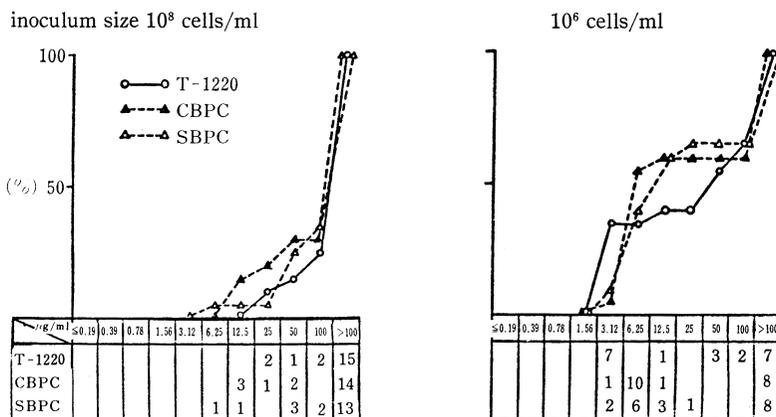
*Klebsiella* では CBPC, SBPC にすべてが耐性であるが、T-1220 には感性を示す株が 20 株中 5 株認められた。

*P. mirabilis* では他の 2 剤より T-1220 に対しわずかに感性を示したが、*P. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* では CBPC, SBPC の方が抗菌作用が強い。

*Serratia* では一部の菌株に対して T-1220 が 10<sup>6</sup> 接種で感性値を示し、累積分布は CBPC, SBPC よりやや感性側であった。

*P. aeruginosa* の場合、T-1220 は 10<sup>6</sup> 接種で CBPC, SBPC の MIC よりすぐれ 6.25~12.5 μg/ml にピークを

Fig. 1 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* (20 strains)



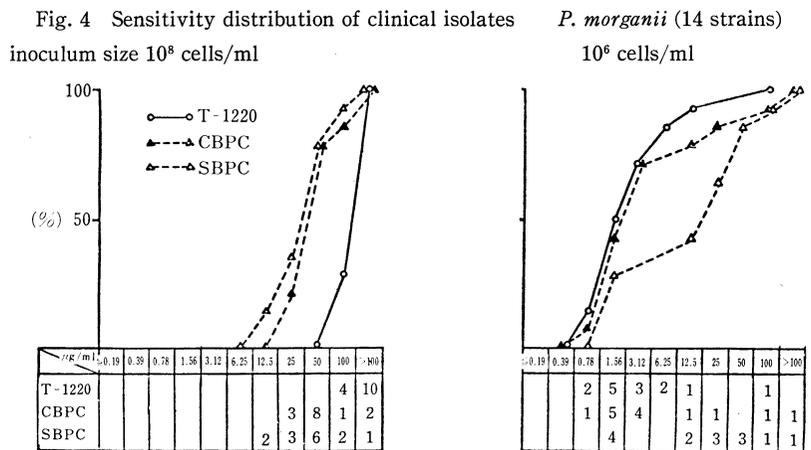
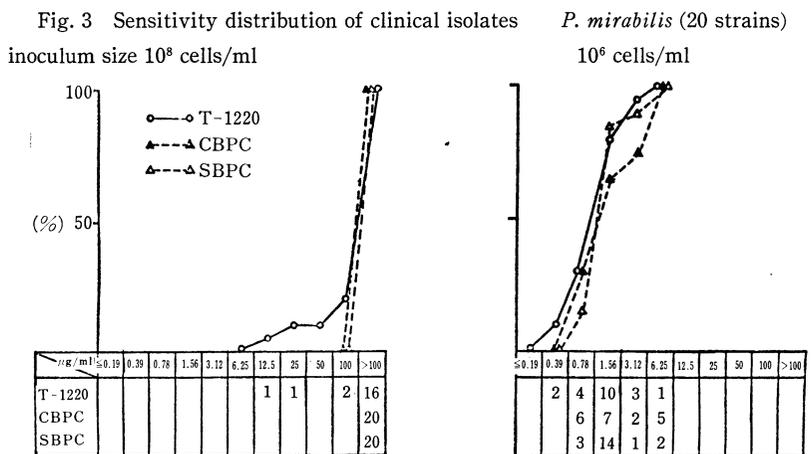
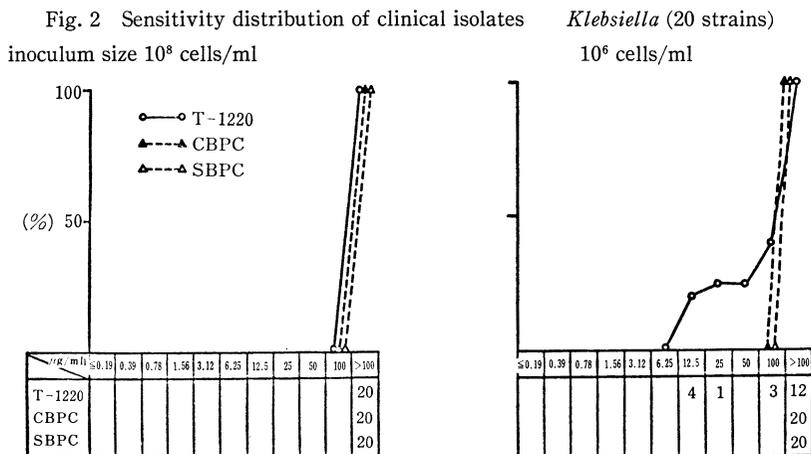
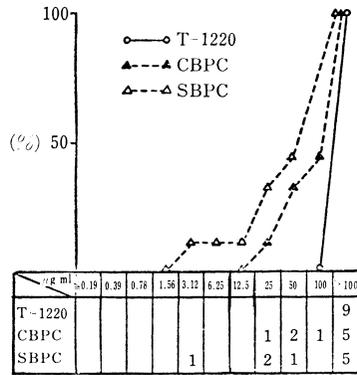


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates  
inoculum size 10<sup>8</sup> cells/ml



*P. rettgeri* (9 strains)  
10<sup>6</sup> cells/ml

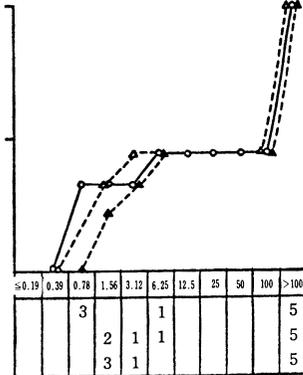
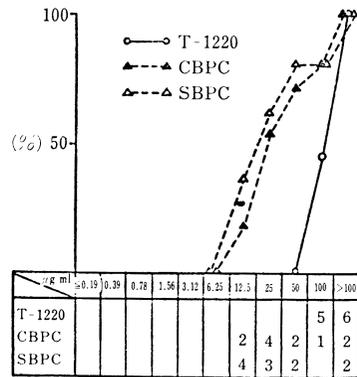


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates  
inoculum size 10<sup>8</sup> cells/ml



*P. inconstans* (11 strains)  
10<sup>6</sup> cells/ml

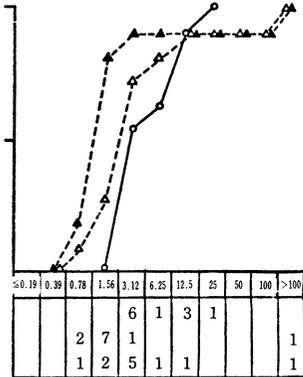
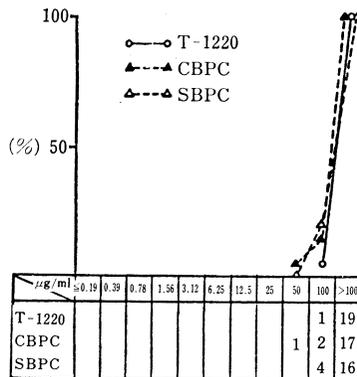


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates  
inoculum size 10<sup>8</sup> cells/ml



*Serratia* (20 strains)  
10<sup>6</sup> cells/ml

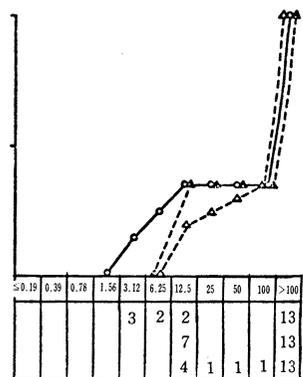
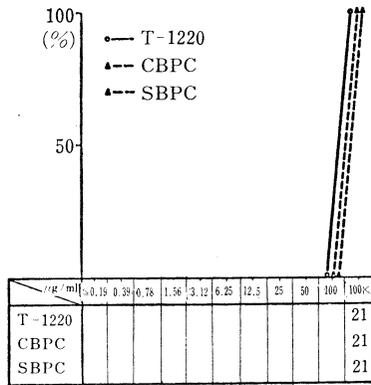




Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates inoculum size  $10^8$  cells/ml



*Pseudomonas maltophilia* (21 strains)  $10^6$  cells/ml

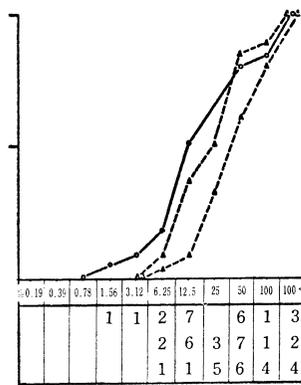
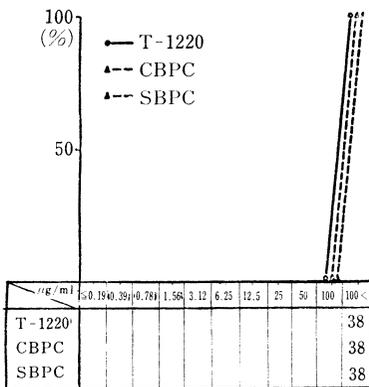


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates inoculum size  $10^8$  cells/ml



*Achromobacter xylosoxidans* (38 strains)  $10^6$  cells/ml

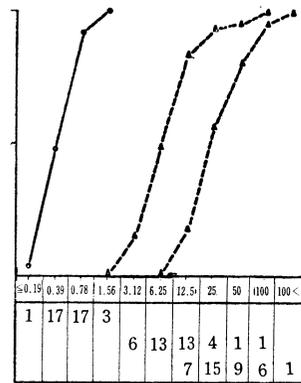
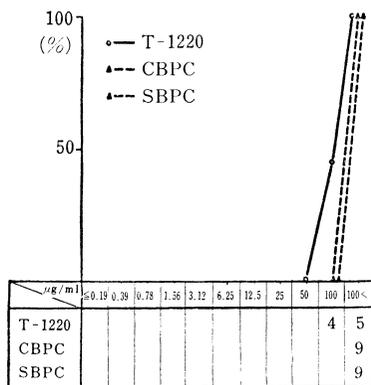


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates inoculum size  $10^8$  cells/ml



*Alcaligenes faecalis* (9 strains)  $10^6$  cells/ml

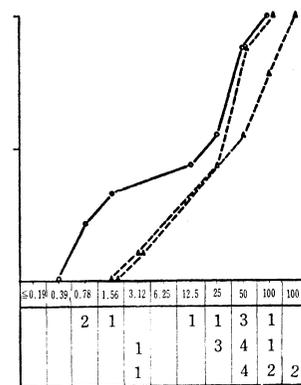
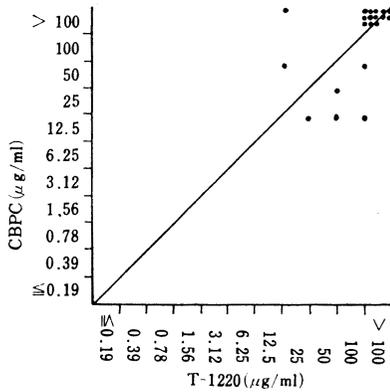


Fig. 14 Sensitivity correlogram *E. coli* (20 strains)

inoculum size  $10^8$  cells/ml



$10^6$  cells/ml

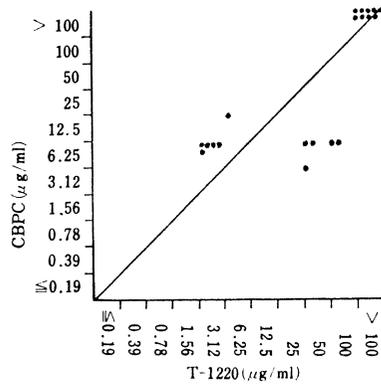
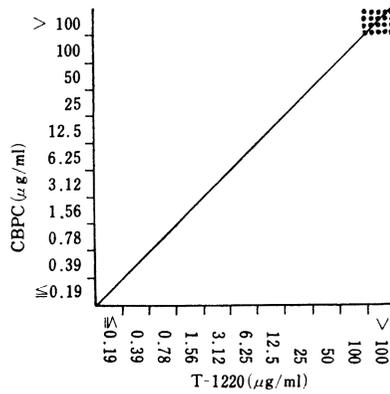


Fig. 15 Sensitivity correlogram *Klebsiella* (20 strains)

inoculum size  $10^8$  cells/ml



$10^6$  cells/ml

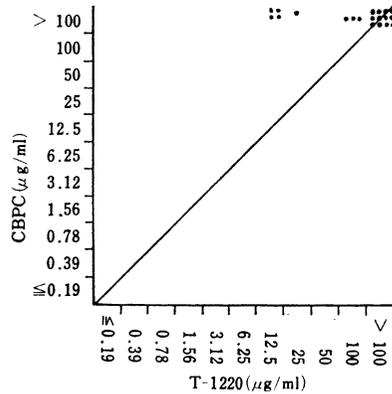
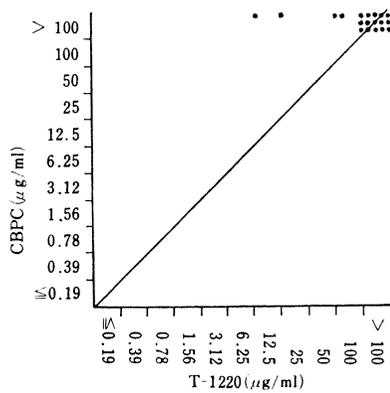


Fig. 16 Sensitivity correlogram *P. mirabilis* (20 strains)

inoculum size  $10^8$  cells/ml



$10^6$  cells/ml

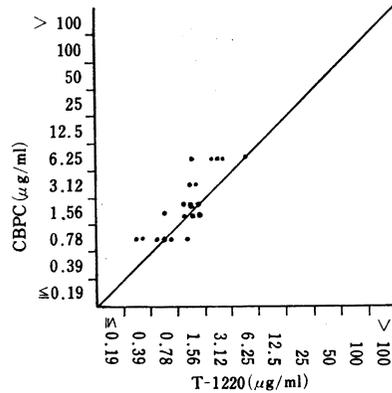
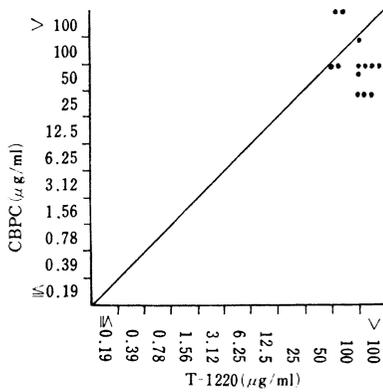


Fig. 17 Sensitivity correlogram *P. morgani* (14 strains)

inoculum size  $10^8$  cells/ml



$10^6$  cells/ml

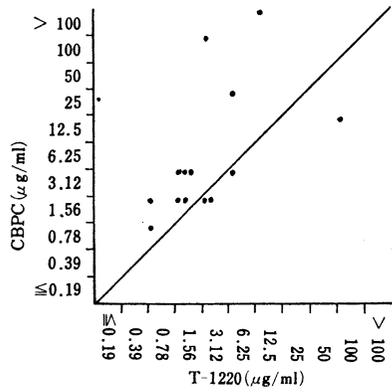
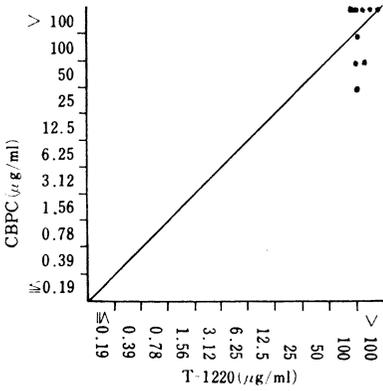


Fig. 18 Sensitivity correlogram *P. rettgeri* (9 strains)

inoculum size  $10^8$  cells/ml



$10^6$  cells/ml

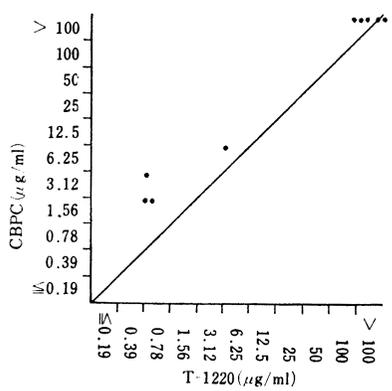
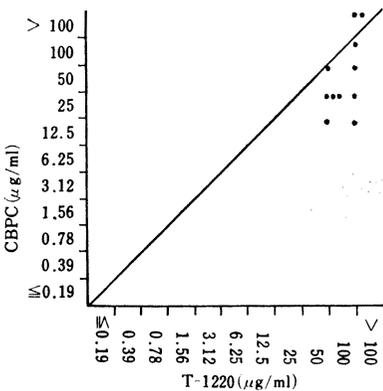


Fig. 19 Sensitivity correlogram *P. inconstans* (11 strains)

inoculum size  $10^8$  cells/ml



$10^6$  cells/ml

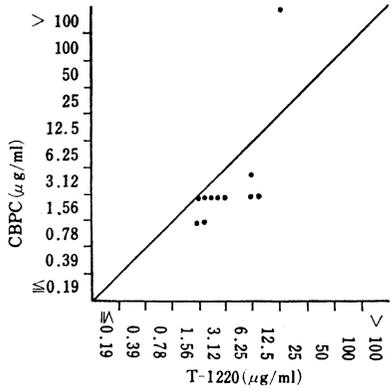


Fig. 20 Sensitivity correlogram *Serratia* (20 strains)

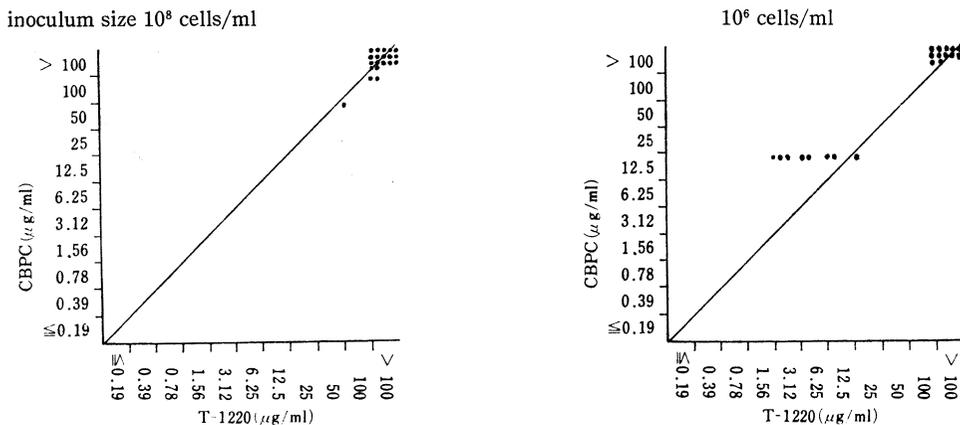


Fig. 21 Sensitivity correlogram *P. aeruginosa* (184 strains)

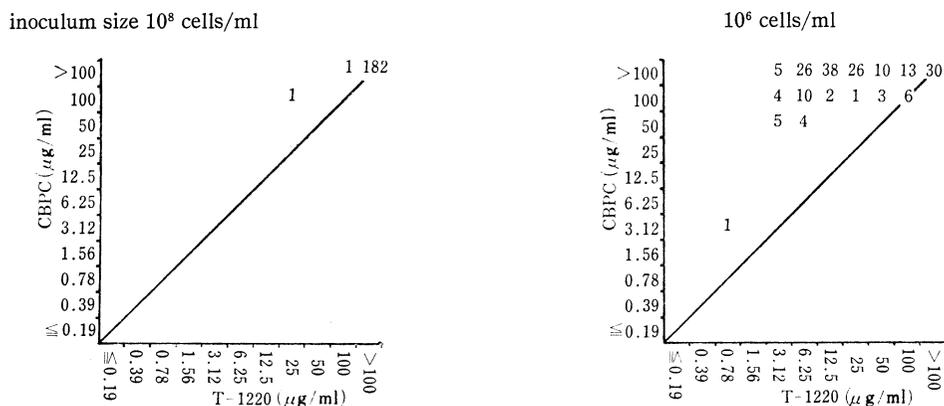
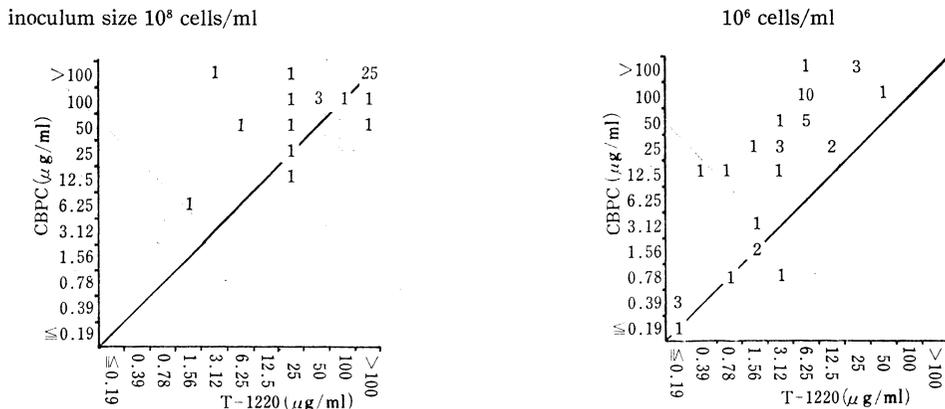


Fig. 22 Sensitivity correlogram *P. aeruginosa* (39 strains, melanin)



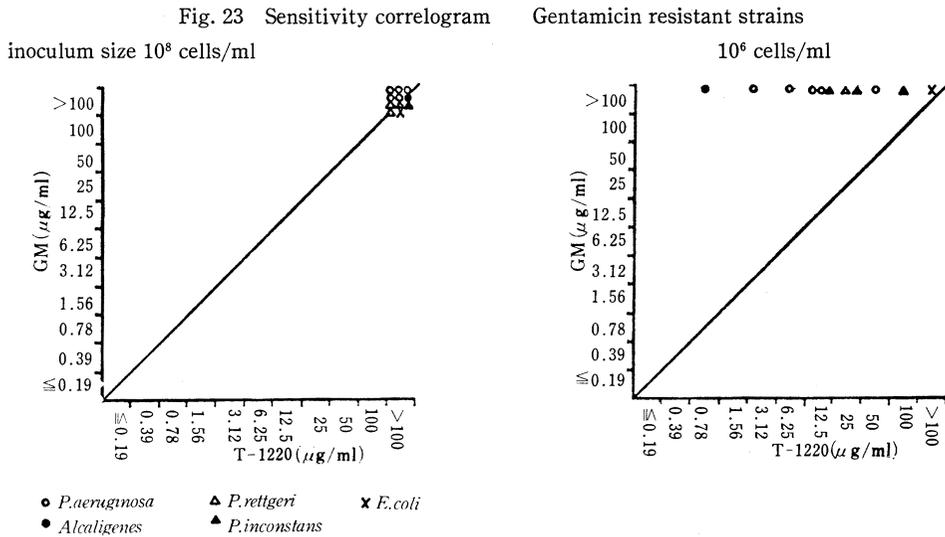


Table 1 Protecting effect of T-1220 against experimental infection in mice  
(test strain : *E. coli* C-11)

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		5 % mucin	Challenge dose (cells/mouse)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
	$10^8$	$10^6$			
T-1220	25	0.78	—	$1.27 \times 10^9$	>10
			+	$2.54 \times 10^3$	0.062(0.049~0.078)
SBPC	6.25	1.56	—	$1.27 \times 10^9$	3.968(2.528~6.225)
			+	$2.54 \times 10^3$	0.124(0.093~0.166)

Test strain MLD: 5 % mucin (—) $4 \times 10^8$ /mouse  
 : 5 % mucin (+) $1 \times 10^2$ /mouse  
 Administration : s. c. 1 hr. after infection  
 Mice : ddN strain 5 W ♂ (19~21 g)

Table 2 Protecting effect of T-1220 against experimental infection in mice  
(test strain : *E. coli* 70)

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		5 % mucin	Challenge dose (cells/mouse)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
	$10^8$	$10^6$			
T-1220	100<	6.25	—	$9 \times 10^7$	3.968(2.73~5.76)
			+	$4.5 \times 10^5$	0.078(0.056~0.108)
SBPC	50	25	—	$9 \times 10^7$	0.625(0.398~0.978)
			+	$4.5 \times 10^5$	0.098(0.067~0.142)
CBPC	50	12.5	—	$9 \times 10^7$	0.992(0.784~1.25)
			+	$4.5 \times 10^5$	0.098(0.078~0.128)

Test strain MLD: 5 % mucin (—) $7.8 \times 10^7$ /mouse  
 : 5 % mucin (+) $2 \times 10^5$ /mouse  
 Administration : s. c. 1 hr. after infection  
 Mice : ddN strain 5 W ♂ (19~21 g)

Table 3 Protecting effect of T-1220 against experimental infection in mice  
(test strain : *Serratia marcescens* No. 2)

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		5 % mucin	Challenge dose (cells/mouse)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>			
T-1220	100<	6.25	+	2 × 10 <sup>4</sup>	1.25(0.69~2.24)
SBPC	100<	25	+	2 × 10 <sup>4</sup>	0.78(0.48~1.27)
CBPC	100<	50	+	2 × 10 <sup>4</sup>	3.15(2.14~4.63)

Test strain MLD: 5 % mucin(+)1 × 10<sup>4</sup>/mouse

Administration : s. c. 1 hr. after infection

Mice : ddN strain 5 W ♂ (19~21 g)

Table 4 Protecting effect of T-1220 against experimental infection in mice  
(test strain : *Serratia marcescens* No. 8)

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		5 % mucin	Challenge dose (cells/mouse)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>			
T-1220	100<	25	+	2.47 × 10 <sup>6</sup>	2.5(1.523~4.103)
SBPC	100<	25	+	2.47 × 10 <sup>6</sup>	6.3(5.0~7.938)
CBPC	100<	50	+	2.47 × 10 <sup>6</sup>	5.0(3.882~6.44)

Test strain MLD: 5% mucin (+) 1.31 × 10<sup>6</sup>/mouse

Administration : s. c. 1 hr. after infection

Mice : ddN strain 5 W ♂ (19~21 g)

Table 5 Protecting effect of T-1220 against experimental infection in mice  
(test strain : *P. aeruginosa* GNB-2-139)

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		5 % mucin	Challenge dose (cells/mouse)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>			
T-1220	100<	3.12	+	8.27 × 10 <sup>4</sup>	>40
			+	3.32 × 10 <sup>4</sup>	15.874(12.6~20)
SBPC	100<	25	+	8.27 × 10 <sup>4</sup>	20(13.23~30.23)
			+	3.32 × 10 <sup>4</sup>	12.6(7.76~20.45)

Test strain MLD: 5 % mucin(+) ≤ 1 × 10<sup>3</sup>/mouse

Administration : s. c. 1 hr. after infection

Mice : ddN strain 5 W ♂ (19~21 g)

Table 6 Protecting effect of T-1220 against experimental infection in mice  
(test strain : *P. aeruginosa* PI-21 (GM, TOB, DKB, AMK resistant))

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		5 % mucin	Challenge dose (cells/mouse)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>			
T-1220	100<	1.56	-	1.76 × 10 <sup>8</sup>	>32
			+	8.84 × 10 <sup>5</sup>	8.0(5.52~11.5)
SBPC	100<	25	-	1.76 × 10 <sup>8</sup>	>32
			+	8.84 × 10 <sup>5</sup>	16(10.58~24.13)

Test strain MLD: 5 % mucin (-) 1 × 10<sup>8</sup>/mouse

5 % strain (+) ≤ 8 × 10<sup>5</sup>/mouse

Administration : s. c. 1 hr. after infection

Mice : ddN strain 5 W ♂ (19~21 g)

Fig. 24 Serum levels of T-1220, SBPC and CBPC in mice  
Mice: ddN 5W ♂ (19-21g), 8 mice/group, s. c., Cup method, *B. subtilis* PCI-219

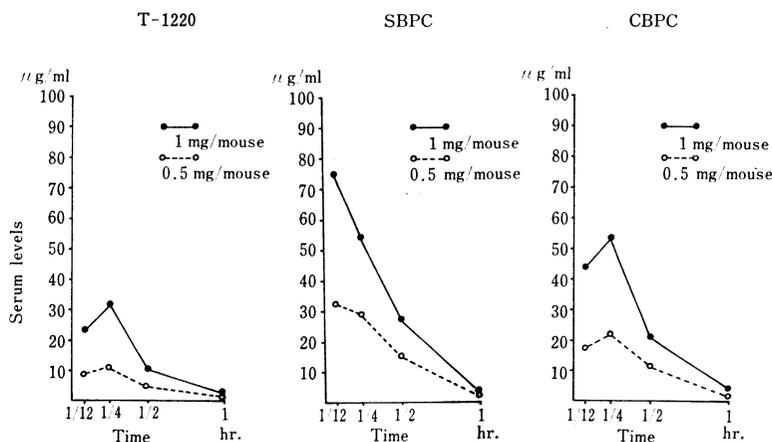


Table 7 Serum levels

Drug	Dose, s.c. (mg/mouse)	Serum level (μg/ml)			
		5 min.	15 min.	30 min.	1 hr.
T-1220	1 mg	23.4	32.0	10.6	<2
	0.5 mg	8.3	10.8	4.3	<2
CBPC	1 mg	44	54	21	3.9
	0.5 mg	17.5	22	11.5	1.9
SBPC	1 mg	75	54	27	4
	0.5 mg	32	29	15	3

示した。melanin 株においても、T-1220 が強い抗菌作用を示し、 $10^6$  接種で高度耐性株はみとめられなかった。

*P. cepacia*, *P. maltophilia*, *Alcaligenes faecalis* では、T-1220 は CBPC, SBPC より感性を示し、*Achromobacter xylosoxidans* では、 $10^6$  接種で T-1220 は CBPC, SBPC よりすぐれた抗菌力を示した。

## 2) 感受性相関

T-1220 と CBPC 間の感受性相関を検討した成績が Fig. 14~Fig. 22 である。

*E. coli* では耐性株は 2 剤がほとんど交叉したが、一部の株は T-1220 に 50~100 μg/ml の MIC であるのに、CBPC に 3.12~6.25 μg/ml の感性を示すものがみとめられた。

*P. mirabilis* では、T-1220 は CBPC より強い感性を示し、*P. inconstans* では T-1220 の方が CBPC より MIC 値が大きい。

*Serratia* では耐性株は両剤が交叉するが、感性株では

T-1220 の方が CBPC より感性側の MIC を示した。

*P. aeruginosa* は明らかに CBPC より T-1220 が感性値を示した。

Fig. 23 は GM 耐性株に対する T-1220 の感受性値を示したものである。 $10^6$  接種で T-1220 は GM 耐性株にも感性値をあたえている。

## 2. マウス実験感染における治療効果

### 1) 大腸菌感染 (Table 1, 2)

SBPC との比較成績は Table 1 に示した。*E. coli* C-11 株で、大量菌攻撃においては T-1220 の ED<sub>50</sub> が大となり、少量菌攻撃では SBPC より ED<sub>50</sub> 値が小さく、治療効果は SBPC より良好であった。

*E. coli* 70 株では CBPC, SBPC と比較したが、少量菌攻撃では T-1220 がもっともよく、大量菌攻撃では SBPC, CBPC, T-1220 の順に ED<sub>50</sub> 値が大きくなり治療効果は減少した。

### 2) セラチア感染 (Table 3, 4)

*Serratia marcescens* No. 2 株では T-1220 は CBPC より ED<sub>50</sub> 値が小さく, SBPC より大きい値を示し, No. 8 株では, T-1220 がもっとも良好な治療効果を示した。

### 3) 緑膿菌感染 (Table 5, 6)

緑膿菌感染は SBPC と比較した成績を Table 5, 6 に示した。P. aeruginosa GNB-2-139 株の場合, T-1220 は SBPC より ED<sub>50</sub> 値が大きく, GM 耐性の P I-21 株でも SBPC の ED<sub>50</sub> 値が小さい。しかし少量菌攻撃ではいずれも明らかな治療効果がみとめられた。

### 3. マウス血中濃度 (Fig. 24, Table 7)

T-1220, CBPC, SBPC をそれぞれ 1 mg, 0.5 mg 皮下投与したマウスの血清中濃度の平均を Fig. 24 に示した。

SBPC は 5 分がピークで, 1 mg 投与時のピーク値は 75 µg/ml であった。CBPC は 15 分にピークがあり 54 µg/ml の値を示し, T-1220 は 15 分がピークで 32 µg/ml であった。

## III. 考 察

本実験では T-1220 がその構造上の特徴から, 本来のペニシリンの抗菌作用に, グラム陰性桿菌に対する作用を加えた広域ペニシリンであることが確認された。

しかし *in vitro* での感受性値からみた抗菌作用と比べ攻撃菌量の多い場合の治療実験では, その作用が弱い傾向がみられた。

少量菌攻撃では小さな ED<sub>50</sub> 値を示し良好な治療効果がみとめられた。

この現象はマウスの血清中濃度があまり高くないことおよびこの物質の殺菌作用が弱いことなどによるものと考えられ, 恐らく頻回投与により, 治療効果の上昇が期待されると推測される。

また従来有効な薬剤のないグラム陰性桿菌の数菌種に対し, *in vitro* 抗菌作用を示したのは, ペニシリン系の薬剤として, はじめての物質である。

また Gentamicin 耐性の緑膿菌にも *in vitro* および *in vivo* で有効に作用することが注目された。

## 結 論

広域ペニシリン T-1220 の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を検討した結果, グラム陰性桿菌の各菌種に広い抗菌スペクトルを有し, 従来のペニシリンでは無効な菌種に対しても *in vitro* において抗菌作用がみとめられた。

*In vivo* では少量菌攻撃で *Serratia* に対して, CBPC, SBPC よりまさり, P. aeruginosa, E. coli ではほぼ同等の効果を示した。しかしながら, 大量菌攻撃での治療効果は少量菌攻撃に比べ, それほど著明ではなかった。

## 文 献

- 1) 第23回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム I, T-1220 抄録集, 1976
- 2) 日本化学療法学会 MIC 小委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法の標準化について。Chemotherapy 16(1): 98~99, 1968
- 3) 日本化学療法学会 MIC 測定法改定委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 22(6): 1126~1128, 1974

## ON THE *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF T-1220, BROAD-SPECTRUM PENICILLIN, AND THERAPEUTIC EFFECT ON EXPERIMENTAL INFECTION IN MICE WITH GRAM-NEGATIVE BACILLI

SACHIKO GOTO, MASATOSHI OGAWA, YASUKO KANEKO,  
AKIYOSHI TSUJI and SHOGO KUWAHARA

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

A study of the bactericidal effect of broad-spectrum Penicillin T-1220 *in vitro* and *in vivo* showed a wide bactericidal spectrum and an *in vitro* bactericidal effect for bacteria strains resistant to conventional penicillin.

The *in vivo* results showed that a challenge with a small inoculum was more effective than CBPC and SBPC against *Serratia* and equally effective against P. aeruginosa and E. coli. The therapeutic effect of a challenge with a large inoculum, however, was not as marked as that of a challenge with a small inoculum.