

T-1220 に関する細菌学的研究

西野武志・大槻雅子・渡辺泰雄

戸田正人・中沢昭三

京都薬科大学微生物学教室

T-1220 は、富山化学工業株式会社総合研究所において開発された新しいペニシリンである。本剤は化学名を Sodium 6-[D(-)- α -(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)- α -phenylacetamido] penicillanate といい、Ampicillin の amino 基に 4-ethyl-2,3-dioxopiperazinecarbonyl 基が導入された物質で、分子式 $C_{23}H_{26}O_7N_5SNa$ 、分子量 539.5 の白色結晶性粉末で水、エタノールに易溶である。その化学構造式は、Fig. 1 に示すとおりである。

また、本剤はグラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対して広範囲な抗菌力を有し、特に近年臨床問題となっているグラム陰性桿菌、なかでも緑膿菌に対してすぐれた抗菌力を有することが特徴といわれている¹⁾。

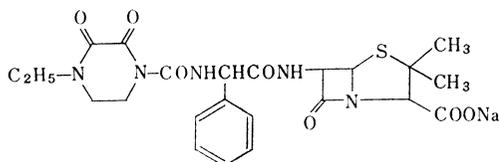
今回私どもは、この T-1220 の細菌学的評価について、Carbenicillin (CBPC)、Sulbenicillin (SBPC)、Ampicillin (ABPC) および Gentamicin (GM) を比較薬剤として検討を行ない、2, 3 の知見を得たので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対する試験管内抗菌力 (MIC: $\mu\text{g/ml}$) を、日本化学療法学会最小発育阻止濃度測定法²⁾により求めた。使用した培地は、主として Heart Infusion Agar (HIA: 日水) であるが、レンサ球菌群、肺炎双球菌群、ジフテリア菌については 10% 馬血液加 Heart Infusion Agar を、嫌気性菌群の破傷風、ガス壊疽菌にはチオグリコール酸塩培地 (TGC: 日水) を、淋菌には Gonococcus medium (GC: 日水) を用いた。また薬剤として力価の明らかな T-1220、Carbenicillin (CBPC)、Sulbenicillin (SBPC)、Gentamicin (GM) を用いた。

Fig. 1 Chemical structure of T-1220



2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料から分離された、ブドウ球菌 53 株、大腸菌 66 株、肺炎桿菌 41 株、霊菌 64 株、変形菌 117 株および緑膿菌 83 株について、日本化学療法学会最小発育阻止濃度測定法²⁾に従って、原液 (10^8 cells/ml) および 100 倍希釈液 (10^6 cells/ml) で MIC を測定した。

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、馬血清添加、接種菌量の影響について、*S. aureus* 209-P JC、*E. coli* NIH JC-2 および *Ps. aeruginosa* No. 12 を試験菌として Heart Infusion Broth (HIB: 日水) を用いた液体希釈法 (37°C, 18~20 時間培養) により検討を行なった。

4. 増殖曲線におよぼす影響

Tryptosoya Broth (TSB: 日水) で前培養した *Ps. aeruginosa* E-2 を、HIB で 10^{-2} および 10^{-5} に希釈し、2 時間振とう培養を行なった。菌量が 10^8 cells/ml および 10^5 cells/ml になったとき、所定の濃度になるように T-1220 および CBPC を添加し、以後経時的に生菌数を測定した。

5. 1-ethyl-2,3-dioxopiperazine と ABPC の併用効果

T-1220 の側鎖部分の 1-ethyl-2,3-dioxopiperazine (Fig. 2) と ABPC 間に、協力作用がみられるか否かについて検討を行なった。

TSB に前培養した *E. coli* NIH JC-2 を HIB で 10^{-3} に希釈し、Biophotometer で濁度 (T%) が、60% になったとき、ABPC (6.25 $\mu\text{g/ml}$) と 1-ethyl-2,3-dioxopiperazine (ABPC と等モルあるいは 100 倍モル) を同時添加し、その増殖曲線を観察した。また、対照として ABPC

Fig. 2 Chemical structure of 1-ethyl-2,3-dioxopiperazine

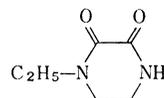


Table 1 Antibacterial spectrum of T-1220 (MIC $\mu\text{g/ml}$), gram-positive bacteria

Test strain	T-1220	CBPC	SBPC	ABPC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.39	0.78	1.56	0.045
" Smith	0.78	0.78	3.13	0.09
" Terajima	0.78	3.13	6.25	0.19
" Neumann	0.39	0.78	3.13	0.045
" E-46	0.78	0.78	3.13	0.09
" No. 80 (PC-R)	>100	12.5	6.25	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.13	3.13	25	0.19
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.045	0.19	0.39	0.022
" Cook	0.09	0.19	0.78	0.022
<i>Streptococcus faecalis</i>	50	100	>100	1.56
<i>Streptococcus viridans</i>	50	100	>100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I	0.045	0.78	1.56	0.022
" type II	0.045	0.78	1.56	0.022
" type III	0.045	0.78	1.56	0.045
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.022	0.09	0.39	≤ 0.011
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3.13	0.78	0.78	0.19
<i>Bacillus anthracis</i>	0.78	0.39	0.78	0.022
<i>Clostridium tetani</i>	0.19	0.19	0.19	0.09
<i>Clostridium perfringens</i>	0.78	0.78	0.19	0.09

Table 2 Antibacterial spectrum of T-1220 (MIC $\mu\text{g/ml}$), gram-negative bacteria

Test strain	T-1220	CBPC	SBPC	ABPC
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.011	0.19	0.19	0.09
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.045	0.045	0.09	0.045
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	3.13	12.5	12.5	6.25
" NIH	0.78	12.5	12.5	3.13
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.39	1.56	1.56	0.39
" O-901	0.19	0.78	0.78	0.09
<i>Salmonella enteritidis</i>	3.13	3.13	6.25	1.56
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.78	1.56	3.13	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.78	6.25	6.25	3.13
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.78	1.56	3.13	6.25
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	1.56	1.56	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.78	3.13	3.13	1.56
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1.56	12.5	25	100
<i>Serratia marcescens</i> IFO-3736	0.78	6.25	6.25	50
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	>100	25	12.5	100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.19	1.56	1.56	0.39
<i>Proteus morgani</i> Kono	25	6.25	50	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	6.25	50	50	>100
" Nc-5	6.25	100	50	>100

Table 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus*

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total strains
	≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
T-1220			4	8	2	1	2	4	2	3	27	53
CBPC			2	6	6	11	12	5	8	3		53
SBPC				5	15	19	13	1				53
ABPC	12		2		2	3	2	6	4	4	18	53

と等モルの T-1220 および 1-ethyl-2,3-dioxopiperazine を添加した。

6. マウス実験的感染

マウス実験的感染症に対する治療効果を教室保存の *E. coli* No. 29, *Prot. morgani* No. 101 および *Ps. aeruginosa* E-2 の計 3 株を用いて検討した。マウスは ddY 系雄性、体重 16~18g のものを 1 群 10 匹として用いた。

(a) *E. coli* No. 29 感染

Nutrient Broth (NB: 日水) で 14 時間培養した菌を NB で 10^{-3} に希釈後、4% Gastric mucin (Wilson) と等量混合し、その 0.5 ml (1.1×10^6 cells/mouse, 160 LD₅₀) をマウス腹腔内に接種した。

(b) *Prot. morgani* No. 101 感染

HIA で 18 時間培養した菌を生理食塩水に懸濁浮遊させ比色計 (530nm) で調整後、4% Gastric mucin (Wilson) と等量混合し、その 0.5 ml (1.0×10^5 cells/mouse, 150 LD₅₀) をマウス腹腔内に接種した。

(c) *Ps. aeruginosa* E-2 感染

2/3 濃度の TSB で前培養した菌を、同培地で 10^{-1} に希釈後 37°C で 2 時間振とう培養を行なった。この菌液を生理食塩水で 10^{-5} に希釈後 4% Gastric mucin (Wilson) と等量混合し、その 0.5 ml (1.2×10^3 cells/mouse, 360 LD₅₀) をマウス腹腔内に接種した。

なお、薬剤投与はいずれの菌においても 1 回投与の場合感染 2 時間後、2 回分割投与は 2, 4 時間後、3 回分割投与は 2, 4, 6 時間後に行ない 5 日目までの生存率から VAN DER WAERDEN 法により、ED₅₀ 値を求めた。また、分割投与の ED₅₀ 値は総投与量で表わした。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性およびグラム陰性菌群に対する試験管内抗菌力について検討した結果を、Table 1, 2 に示す。

グラム陽性菌群であるブドウ球菌 5 株では、T-1220 は 0.39~0.78 $\mu\text{g/ml}$, CBPC は 0.78~3.13 $\mu\text{g/ml}$, SBPC

は 1.56~6.25 $\mu\text{g/ml}$, ABPC は 0.045~0.19 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示したが、臨床分離のペニシリン耐性 No. 80 株に対しては、T-1220 および ABPC は、いずれも >100 $\mu\text{g/ml}$ であり、感受性を示さなかった。

レンサ球菌群である腸球菌、緑色レンサ球菌では T-1220 はいずれも 50 $\mu\text{g/ml}$ を示し、ABPC の 1.56 $\mu\text{g/ml}$ より劣った。このとき CBPC, SBPC は、100 および >100 $\mu\text{g/ml}$ を示した。溶血レンサ球菌には T-1220 は 0.045~0.09 $\mu\text{g/ml}$ を示し、CBPC および SBPC にくらべやや良好な成績を示した。

肺炎双球菌群に対しては T-1220 はいずれも 0.045 $\mu\text{g/ml}$ で、ABPC の 0.022~0.045 $\mu\text{g/ml}$ とほぼ同等であり、CBPC, SBPC の 0.78 および 1.56 $\mu\text{g/ml}$ にくらべすぐれていた。また、破傷風菌、ガス壊疽菌に対しては、T-1220 は 0.19 および 0.78 $\mu\text{g/ml}$ を示し、CBPC と同様な抗菌力を示した。

いっぽうグラム陰性菌群では、淋菌に対して CBPC および SBPC は 0.19 $\mu\text{g/ml}$, ABPC は 0.09 $\mu\text{g/ml}$ を示したが、T-1220 は 0.011 $\mu\text{g/ml}$ を示し 10~20 倍強い抗菌力を有していた。髄膜炎菌については、T-1220 は 0.045 $\mu\text{g/ml}$ を示し、CBPC, SBPC および ABPC と同等であった。大腸菌では T-1220 は 0.78~3.13 $\mu\text{g/ml}$ で、CBPC および SBPC の 12.5 $\mu\text{g/ml}$, ABPC の 3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$ にくらべすぐれていた。この T-1220 の優位性は、他のグラム陰性桿菌のサルモネラ菌、肺炎桿菌および赤痢菌においても認められたが、変形菌においては、T-1220 は 0.19~ >100 $\mu\text{g/ml}$ を示し CBPC, SBPC あるいは ABPC にくらべ抗菌力の劣る株が認められた。近年臨床問題となっている緑膿菌に対しては、T-1220 は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ を示し、CBPC および SBPC の 50~100 $\mu\text{g/ml}$ にくらべ数倍すぐれていた。また、霊菌に対しても 0.78 $\mu\text{g/ml}$ を示し、CBPC および SBPC の 6.25 $\mu\text{g/ml}$ よりすぐれていた。

2. 臨床分離株の感受性分布および感受性相関

臨床材料から分離されたブドウ球菌 53 株、大腸菌 66

Table 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus*

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										Total strains	
	≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100		>100
T-1220			11	8	16	10	2	5	1			53
CBPC			7	7	21	18						53
SBPC			2	10	35	6						53
ABPC	12	3	15	9	8	4	1	1				53

Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus*

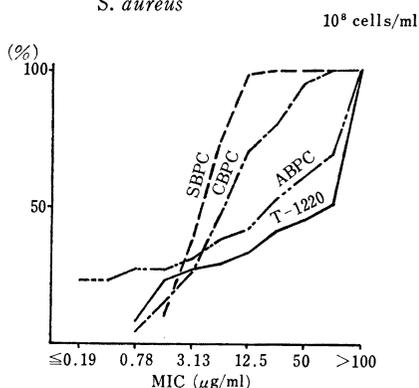


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus*

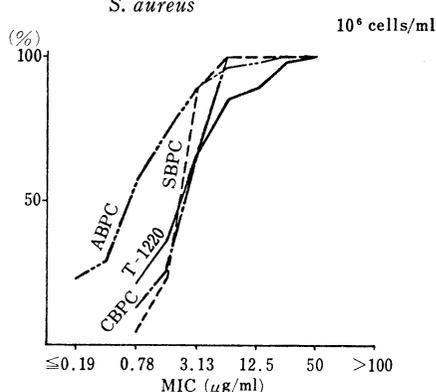


Table 5 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC *S. aureus* 53 strains

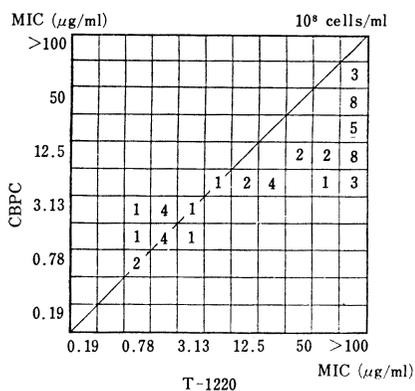
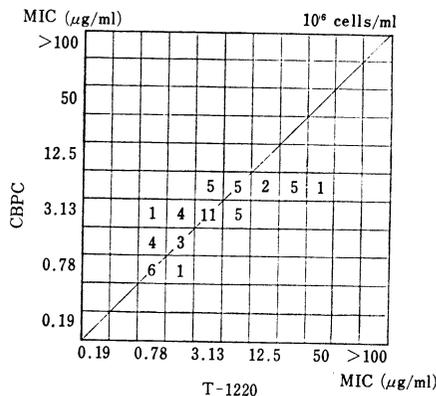


Table 6 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC *S. aureus* 53 strains



株, 肺炎桿菌41株, 靈菌64株, 変形菌の Indole 産生84株, 非産生33株, 緑膿菌83株についての感受性分布, 累積分布および CBPC との相関性を検討した結果を Table 3~30, Fig. 3~16 に示す。

(1) ブドウ球菌の場合

Table 3 に示すように T-1220は 0.78~>100 $\mu\text{g/ml}$ に

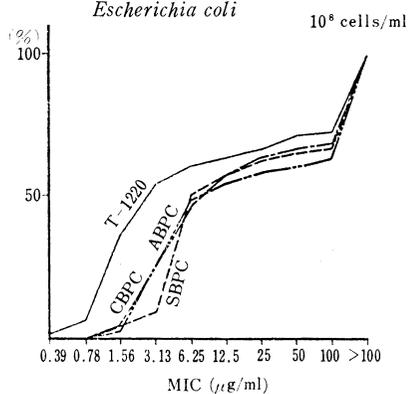
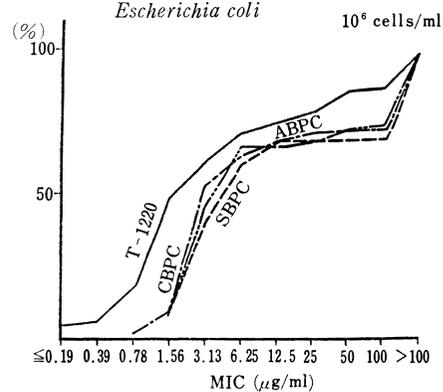
幅広く分布し, >100 $\mu\text{g/ml}$ を示す株が約50%認められたが, Table 4 のように接種菌量を 10^6 cells/ml に下げるとすべて感敏化し, 0.78~6.25 $\mu\text{g/ml}$ に85%が存在した。Fig. 3, 4 の累積曲線から明らかのように 10^8 cells/ml では, SBPC>CBPC>ABPC>T-1220 の順にすぐれていたが, 10^6 cells/ml では, T-1220 は ABPC より劣るもの

Table 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli*

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										Total strains
	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
T-1220	1	3	20	12	4	2	2	3	1	18	66
CBPC			3	12	16	7	4	2	1	21	66
SBPC			3	3	27	5	3	2	1	22	66
ABPC			2	14	16	4	3	1	2	24	66

Table 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli*

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total strains
	≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
T-1220	3	1	8	20	9	6	3	2	5	1	8	66
CBPC			1	5	29	7	3	2	1		18	66
SBPC				5	21	14	5		1		20	66
ABPC				8	22	14		1	3	1	17	66

Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli*Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli*

の、CBPC および SBPC と同程度の感受性を示した。また、Table 5, 6 に示すように 10^8 cells/ml では、T-1220 の耐性株において CBPC との相関性は認められなかったが、感受性株では相関していた。 10^6 cells/ml においては耐性株も感化し、はっきりした相関性が認められた。

(2) 大腸菌の場合

Table 7 に示すように T-1220 は、 $1.56 \mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ の 2 峰性のピークを示した。このとき CBPC, SBPC および ABPC も $6.25 \mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ に T-1220 と同様 2 峰性のピークを示した。菌量を下げた場

合、Table 8 に示すように T-1220 のピークは変動しなかったが、 $>100 \mu\text{g/ml}$ を示す株が 18 株から 8 株に減少した。Fig. 5, 6 の累積曲線からは、T-1220 は CBPC, SBPC および ABPC よりすぐれているのが認められた。なお、CBPC, SBPC および ABPC は、ほぼ同等であった。また Table 9, 10 に示すように T-1220 の感受性株においては、CBPC との相関性は認められなかったが、耐性株では CBPC も耐性を示した。

(3) 肺炎桿菌の場合

Table 11 に示すように T-1220 は、 $6.25 \mu\text{g/ml}$ に小さなピークが認められたが、約 70% の株は $>100 \mu\text{g/ml}$

Table 9 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC

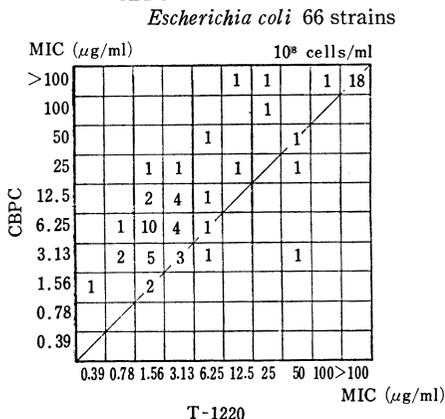


Table 10 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC

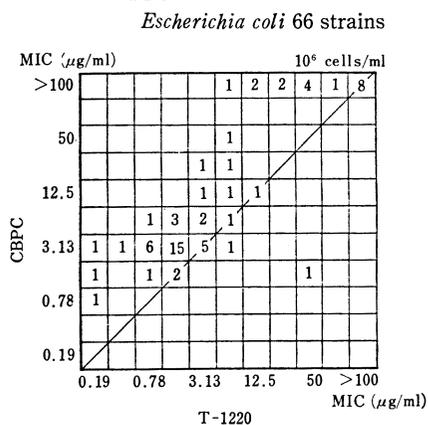


Table 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* 10⁸ cells/ml

Drug	MIC (µg/ml)									Total strains
	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
T-1220			1	2	1		2	6	29	41
CBPC							1	1	39	41
SBPC							1	1	39	41
ABPC		1				1	1	4	34	41

Table 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* 10⁶ cells/ml

Drug	MIC (µg/ml)									Total strains
	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
T-1220	1	2	9	6	1		5	5	12	41
CBPC			1				3	23	14	41
SBPC				1			2	6	32	41
ABPC		1			3	9	5	2	21	41

Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates

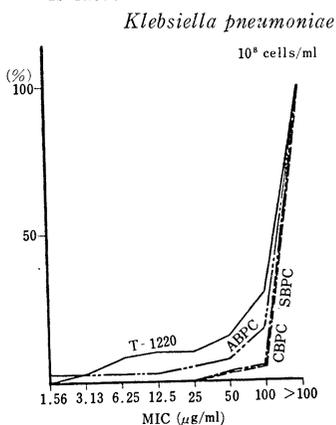


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates

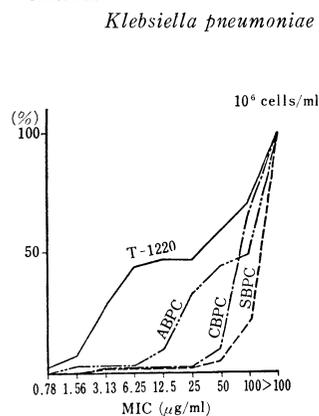


Table 13 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC
Klebsiella pneumoniae 41 strains

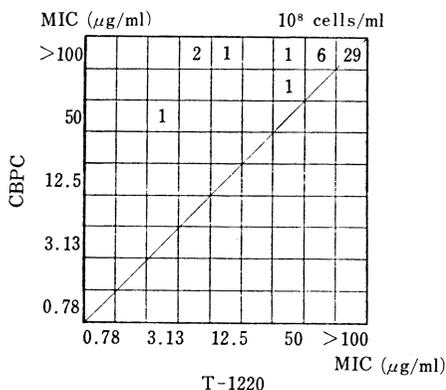


Table 14 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC
Klebsiella pneumoniae 41 strains

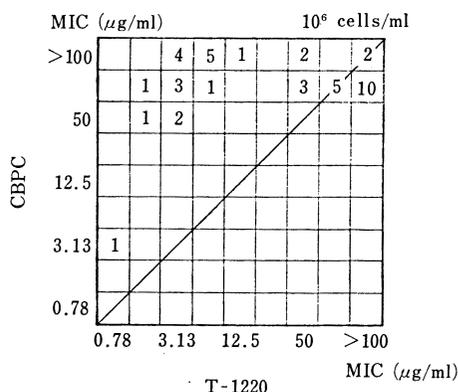


Table 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia* 10⁸ cells/ml

Drug	MIC (μg/ml)														Total strains
	0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	>800	
T-1220				2	6	10	9	3	6	2		1	3	22	64
CBPC					6	7	4	4	2				3	36	62
SBPC					1	4	9	1	4	4			6	33	62
ABPC								1	6	7	10	2	2	36	64
GM		3	15	38	5	1			1	1					64

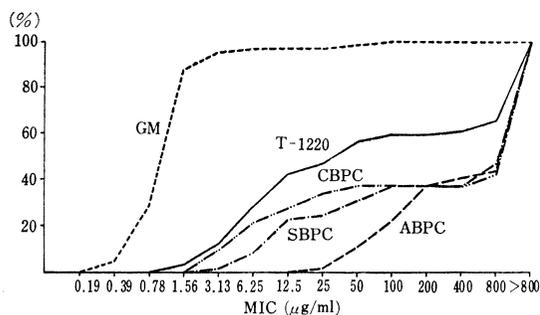
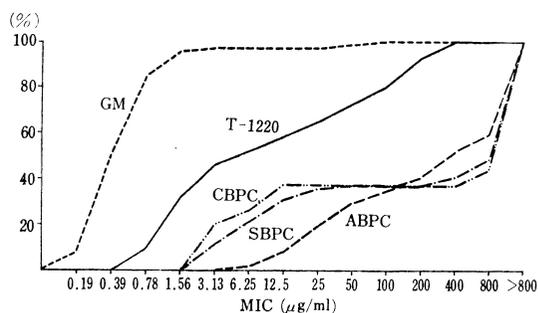
Table 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia* 10⁶ cells/ml

Drug	MIC (μg/ml)														Total strains
	0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	>800	
T-1220			6	14	9	4	4	4	5	5	8	5			64
CBPC					12	4	7						4	35	62
SBPC					7	6	6	3	1			2	5	32	62
ABPC						1	4	7	7	5	2	7	5	26	64
GM	5	27	22	7	1				1	1					64

を示した。このとき、CBPC, SBPC および ABPC は >100 μg/ml を示す株が、それぞれ97%, 97%, 85%であった。しかし、菌量を 10⁶ cells/ml に下げた場合、Table 12 に示すように T-1220 は >100 μg/ml を示す株が30%に減少し、その割合は他剤より大であった。Fig. 7, 8 の累積曲線から T-1220 > ABPC > CBPC > SBPC の順にすぐれていることが認められた。また、Table 13, 14 に示すように T-1220 の感受性菌は、CBPC と相関性が認められなかった。

(4) 霊菌の場合

Table 15 に示すように T-1220, CBPC および SBPC は、6.25~12.5 μg/ml 付近の小さなピークと >800 μg/ml の大きなピークを示した。GM では 0.78~1.56 μg/ml にピークを有する分布を示した。>800 μg/ml の耐性株は T-1220 で35%, CBPC および SBPC で60%程度存在した。しかし、Table 16 に示すように 10⁶ cells/ml に菌量を下げると、T-1220 は >800 μg/ml を示す株が完全に消失した。Fig. 9, 10 の累積曲線から、GM > T-1220

Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia* 10⁸ cells/mlFig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia* 10⁶ cells/mlTable 17 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC *Serratia* 62 strains

MIC (μg/ml)	10 ⁸ cells/ml													
>800							2	2	4	2	1	3	22	
800							3							
400														
200														
100														
50								2						
25								1	1					
12.5								2	2					
6.25								1	1	4	1			
3.13								3	3					
1.56														
0.78														
0.39														
0.19														
	0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	>800
	T-1220 MIC (μg/ml)													

Table 18 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC *Serratia* 62 strains

MIC (μg/ml)	10 ⁶ cells/ml													
>800														
800														
400														
200														
100														
50														
25														
12.5														
6.25														
3.13														
1.56														
0.78														
0.39														
0.19														
	0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	>800
	T-1220 MIC (μg/ml)													

Table 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus* (indole +) 10⁸ cells/ml

Drug	MIC (μg/ml)											Total strains
	≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200	
T-1220	1	8	17	12	5	6	3	4	1	4	23	84
SBPC			9	12	4	5	4	12	8	6	24	84
CBPC				16	17	5	6	3	6	1	28	84
ABPC		1		11	7			1	2	7	55	84

Table 20 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus* (indole +) 10⁶ cells/ml

Drug	MIC (μg/ml)											Total strains
	≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200	
T-1220	15	23	18	7	3	2	7	6		1	2	84
SBPC	2	6	26	7	5	8	3	7	2	6	12	84
CBPC	1	12	27	11	7	2	4	3	1	2	14	84
ABPC		1	4	11	3		3	4	6	17	35	84

Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates

Proteus (indole +)

10⁸ cells/ml

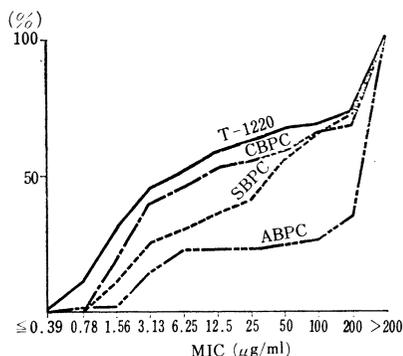


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates

Proteus (indole +)

10⁶ cells/ml

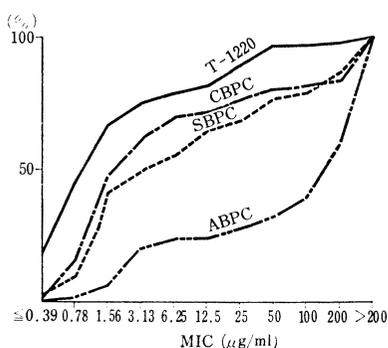


Table 21 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC

Proteus (indole +) 84 strains

CBPC	MIC (μg/ml) 10 ⁸ cells/ml									
	≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>200
>200		1	2	2				1	3	19
100			2				2			2
25		1		1			1	1		
6.25		2	2		1	1	2	2		1
1.56		3	8	2	1	1	2	1		
≤0.39		1	5	6	3	1				
	MIC (μg/ml)									
	≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>200
	T-1220									

Table 22 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC

Proteus (indole +) 84 strains

CBPC	MIC (μg/ml) 10 ⁶ cells/ml									
	≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>200
>200		1	2					1	3	4
100			2							1
25				1	1			1	2	
6.25		1	1	1						2
1.56		1	2	2						2
≤0.39		1	4	4	1	1				
	MIC (μg/ml)									
	≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>200
	T-1220									

>CBPC>SBPC>ABPC の順にすぐれていることが認められた。また、Table 17, 18 に示すように T-1220 と CBPC の感受性株において相関性が認められた。

(5) 変形菌の場合

(i) Indole 産生菌

Table 19 に示すように、T-1220 は ≤0.39~>200 μg/ml、CBPC および SBPC は 1.56~>200 μg/ml、ABPC は 0.78~>200 μg/ml に幅広く分布し、いずれも 2 峰性のピークを有していた。T-1220 は、>200 μg/ml を示す耐性株が 27% で比較薬剤中一番少なかった。さらに Table 20 に示すように菌量を 10⁶ cells/ml に下げた場合には耐性株は 2% に減少し、その割合は他剤より大であった。Fig. 11, 12 の累積曲線から T-1220>CBPC>SBPC>ABPC の順にすぐれているのが認められた。また、Table 21, 22 に示すように CBPC との相関性は、は

っきり認められなかった。

(ii) Indole 非産生菌

Table 23 に示すように T-1220 は 0.78~1.56 μg/ml、CBPC および SBPC は 1.56 μg/ml、ABPC は 1.56~3.13 μg/ml にピークを示し、Fig. 13, 14 の累積曲線から T-1220 は、CBPC および SBPC とほぼ同様な抗菌力を有することが、認められた。また、Table 25, 26 に示すように CBPC との間に相関性が認められた。

(6) 緑膿菌の場合

Table 27 に示すように T-1220 は 6.25~12.5 μg/ml、CBPC は 50~100 μg/ml、SBPC は 50 μg/ml、GM は 3.13~6.25 μg/ml にピークを有していたが、10⁶ cells/ml では Table 28 に示すように T-1220 のピークは 3.13~6.25 μg/ml となり、10⁸ cells/ml に比べ 2 倍程度良好となった。Fig. 15, 16 の累積曲線から、GM>T-1220>

Table 23 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus* (indole -) 10⁸ cells/ml

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total strains
	≤ 0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200	
T-1220	2	11	12	5							3	33
SBPC		1	21	7			1				3	33
CBPC		1	27	2							3	33
ABPC		2	9	12	6						4	33

Table 24 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus* (indole -) 10⁶ cells/ml

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total strains
	≤ 0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200	
T-1220	6	14	10	1				1			1	33
SBPC		11	18	1				1			2	33
CBPC	1	11	18						1		2	33
ABPC	2	2	10	13	2					1	3	33

Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates

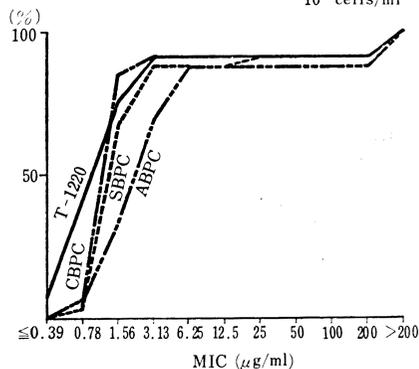
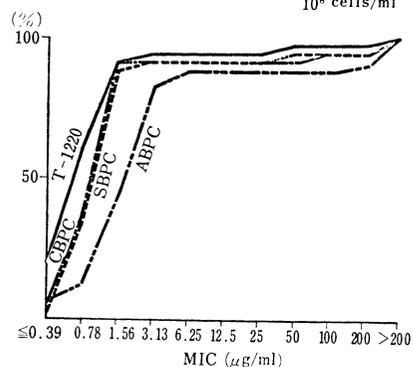
Proteus (indole -)10⁸ cells/ml

Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates

Proteus (indole -)10⁶ cells/ml

SBPC>CBPC の順にすぐれており、T-1220 は GM と CBPC および SBPC の中間値を示すことが認められた。また、Table 29, 30 に示すように T-1220 は CBPC よりすぐれており、いずれにも相関性は認められなかった。

3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

S. aureus 209-P JC, *E. coli* NIH JC-2, *Ps. aeruginosa* No. 12 を用い、抗菌力におよぼす培地 pH, 馬血清添加および接種菌量の影響について検討を行なった。その結果を Table 31~33 に示す。

培地 pH を 6, 7, 8, 9 に調整して抗菌力を測定した。その結果 *S. aureus* 209-P JC および *Ps. aeruginosa*

No. 12 では影響を受けなかったが、*E. coli* NIH JC-2 で T-1220 はわずかに影響を受け、アルカリ側になると抗菌力が良くなった。また、馬血清を 10, 25 および 50% になるように培地に添加したが、培地 pH の場合と同様、その抗菌力はほとんど影響を受けなかった。*E. coli* NIH JC-2 および *Ps. aeruginosa* No. 12 では、接種菌量が 10⁶ cells/ml 付近でその抗菌力が大きく影響を受け、T-1220 は、CBPC より影響を受けやすいことがわかった。また、*S. aureus* 209-P JC では、ほとんど影響を受けなかった。

4. 細菌の増殖曲線におよぼす影響

Table 25 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC
Proteus (indole -) 33 strains

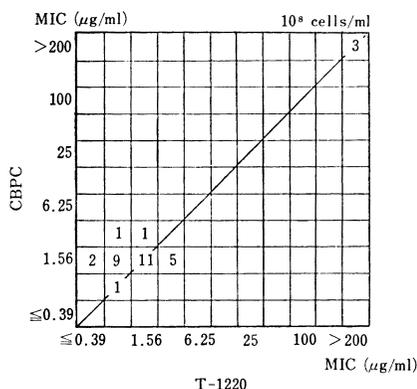


Table 26 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC
Proteus (indole -) 33 strains

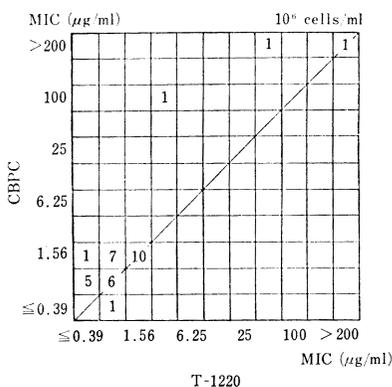


Table 27 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 10⁸ cells/ml

Drug	MIC (μg/ml)											Total strains
	≤0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
T-1220					2	23	26	18	8	5	1	83
CBPC						1		2	33	36	11	83
SBPC						1		12	46	21	3	83
GM		2	1	2	26	35	11	2		1	3	83

Table 28 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 10⁶ cells/ml

Drug	MIC (μg/ml)											Total strains
	≤0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
T-1220			1	6	38	28	6	3	1			83
CBPC						1	19	26	33	3	1	83
SBPC						2	15	44	19	2	1	83
GM	3		3	21	37	14	1		2		2	83

Ps. aeruginosa E-2 を用い、10⁸ cells/ml および 10⁵ cells/ml の菌量時に薬剤を添加し、増殖曲線におよぼす影響の検討を行なった。T-1220 の成績は Fig. 17, 18 に、CBPC のそれは Fig. 19, 20 に示す。

T-1220 を 10⁸ cells/ml の菌量で作用させた場合、2,500 μg/ml の濃度においても静菌的であったが、10⁵ cells/ml の菌量では、6.25 μg/ml 以上の濃度で殺菌的に作用した。また、その殺菌作用は、50 μg/ml の濃度においても 6.25 μg/ml とさほど変らなかった。いっぽう CBPC は 10⁸ cells/ml では T-1220 にくらべ、殺菌的であり、10⁵ cells/ml の菌量では 50 μg/ml 以上の濃度で殺菌的に作用した。

5. 1-ethyl-2, 3-dioxopiperazine と ABPC の併用効果

E. coli NIH JC-2 の対数増殖期に 1-ethyl-2, 3-dioxopiperazine と ABPC を併用した際の増殖曲線を Biophotometer で検討した結果を Fig. 21 に示す。

ABPC (6.25 μg/ml) と等モルあるいは100倍モルの 1-ethyl-2, 3-dioxopiperazine を併用しても、T-1220(ABPC と等モル) の作用を示さなかった。なお、この時の形態変化を染色標本により顕微鏡観察を行ない、併用群では ABPC と同様な filamentous cell が、T-1220 では ABPC にくらべさらに長い filamentous cell が存在することを認めた。

Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 10⁸ cells/ml

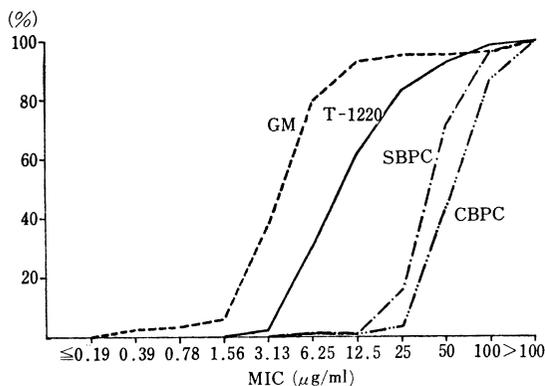


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 10⁶ cells/ml

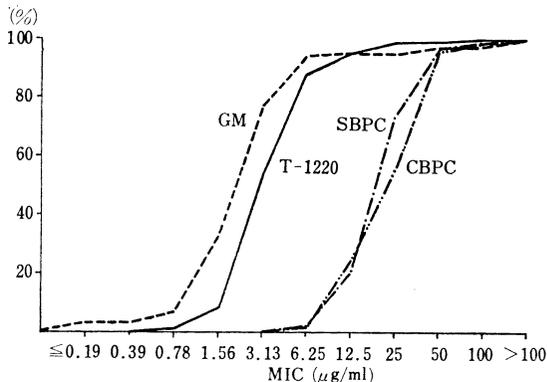


Table 29 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC

Pseudomonas aeruginosa 83 strains

MIC (μg/ml)		10 ⁸ cells/ml							
CBPC	>100				1	4	2	4	
	50			6	15	10	3	1	1
	12.5		1	16	9	4	3		
	3.13			1	1				
	0.78								
≤0.19									
		≤0.19	0.78	3.13	12.5	50	>100		
		T-1220		MIC (μg/ml)					

Table 30 Cross sensitivity of T-1220 and CBPC

Pseudomonas aeruginosa 83 strains

MIC (μg/ml)		10 ⁶ cells/ml							
CBPC	>100					1			
	50			2	13	15	2	1	1
	12.5		2	13	8	3			
	3.13			1	3	11	3	1	
	0.78								
≤0.19									
		≤0.19	0.78	3.13	12.5	50	>100		
		T-1220		MIC (μg/ml)					

Table 31 Influence of various factors on activity

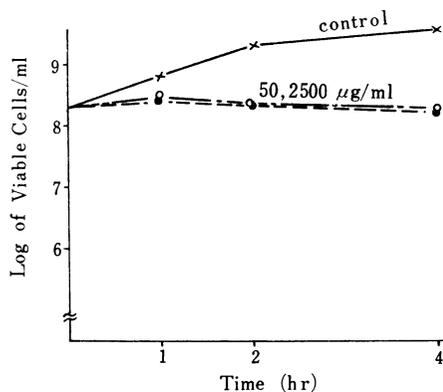
Factor		<i>S. aureus</i> 209-P JC	
		T-1220	CBPC
pH	9	0.39	0.39
	8	0.39	0.39
	7	0.39	0.39
	6	0.39	0.39
Horse serum (%)	50	0.78	0.78
	25	0.39	0.39
	10	0.39	0.39
	0	0.39	0.39
Inoculum size (cells/ml)	×10 ⁸	—	—
	×10 ⁷	1.56	0.78
	×10 ⁶	1.56	0.78
	×10 ⁵	0.78	0.39
	×10 ⁴	0.39	0.39

Table 32 Influence of various factors on activity

Factor		<i>E. coli</i> NIH JC-2	
		T-1220	CBPC
pH	9	1.56	25
	8	1.56	25
	7	3.13	12.5
	6	6.25	12.5
Horse serum (%)	50	0.78	25
	25	1.56	12.5
	10	1.56	6.25
	0	1.56	6.25
Inoculum size (cells/ml)	×10 ⁸	>200	>200
	×10 ⁷	>200	50
	×10 ⁶	>200	12.5
	×10 ⁵	1.56	12.5
	×10 ⁴	1.56	6.25

Table 33 Influence of various factors on activity

Factor		<i>Ps. aeruginosa</i> No. 12	
		T-1220	CBPC
pH	9	12.5	200
	8	12.5	100
	7	12.5	100
	6	12.5	100
Horse serum (%)	50	6.25	100
	25	6.25	100
	10	6.25	50
	0	6.25	50
Inoculum size (cells/ml)	$\times 10^8$	>200	>200
	$\times 10^7$	>200	>200
	$\times 10^6$	>200	200
	$\times 10^5$	6.25	100
	$\times 10^4$	3.13	50

Fig. 17 Effect of T-1220 on the viability of *Ps. aeruginosa* E-2

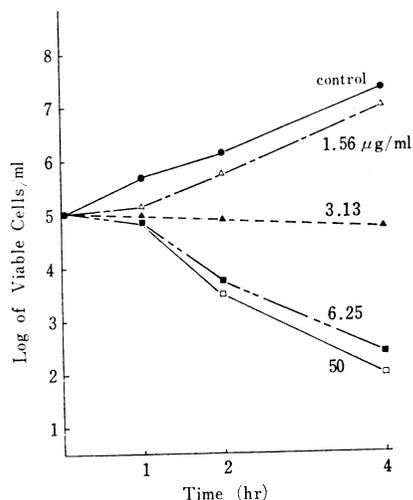
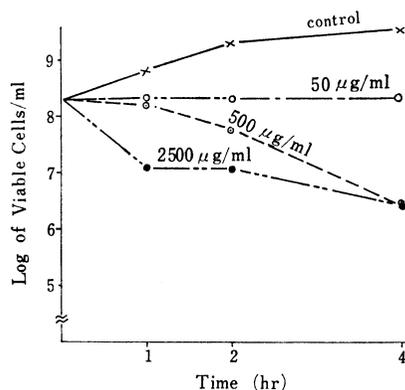
6. マウス実験的感染症に対する治療効果

E. coli No. 29, *Prot. morgani* No. 101, *Ps. aeruginosa* E-2 などのグラム陰性桿菌感染症に対する治療成績を Table 34 に示す。

(a) *E. coli* No. 29 感染症に対する治療効果

T-1220 の ED₅₀ 値は、1 回投与で 2.7 mg/mouse, 2 回分割投与で 0.3 mg/mouse, 3 回分割投与では <0.2 mg/mouse であり、3 回分割投与では 1 回投与にくらべ 10 倍以上すぐれた治療成績を示した。

いっぽう CBPC は 1 回投与で 1.7 mg/mouse, 2 回分割投与で 0.8 mg/mouse, 3 回分割投与では 0.9 mg/mouse であり、3 回分割投与では 1 回投与の 2 倍程度しか治療

Fig. 18 Effect of T-1220 on the viability of *Ps. aeruginosa* E-2Fig. 19 Effect of CBPC on the viability of *Ps. aeruginosa* E-2

成績は良くならなかった。また、T-1220 は 1 回投与では CBPC より劣るが、2 回分割、3 回分割投与することによって、2 倍および 4 倍以上に治療成績は良くなった。

(b) *Prot. morgani* No. 101 感染症に対する治療効果

T-1220 の ED₅₀ 値は 1 回投与、2 回分割投与群共に >10 mg/mouse であったが、3 回分割投与では 0.7 mg/mouse であり、10 倍以上すぐれた治療成績を示した。いっぽう CBPC は 1 回投与で 1.4 mg/mouse, 2 回分割投与で 0.5 mg/mouse, 3 回分割投与では 0.6 mg/mouse であり、*E. coli* No. 29 感染と同様、3 回分割投与を行っても 1 回投与の 2 倍程度しか治療成績は良くななかった。また、T-1220 は 1 回投与および 2 回分割投与群共に CBPC より治療成績は悪く、3 回分割投与ではほぼ同等

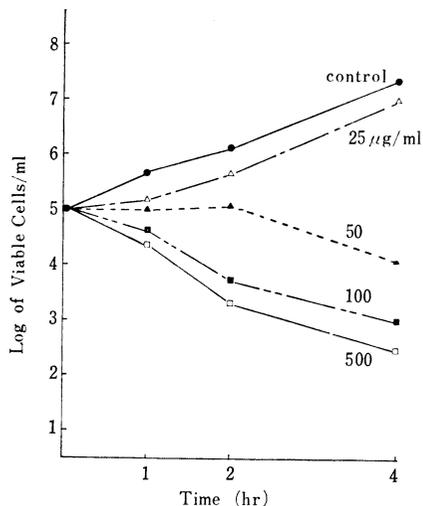
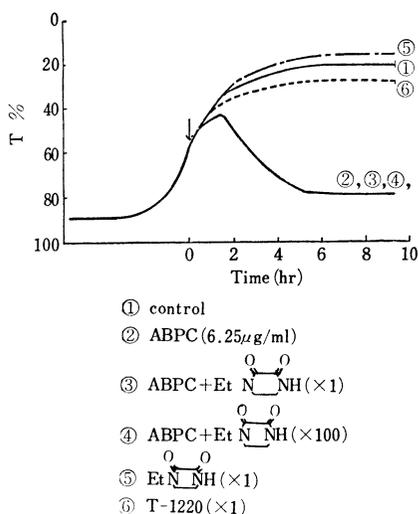
Fig. 20 Effect of CBPC on the viability of *Ps. aeruginosa* E-2Fig. 21 Effect of 1-ethyl-2, 3-dioxopiperazine and ABPC on the growth of *E. coli* NIH JC-2

Table 34 Protecting effect of T-1220 against experimental mice infections with gram-negative bacteria

Organism	Drug	Challenge dose	MIC		ED ₅₀ (mg/mouse)		
			10 ⁸	10 ⁶	1 inject.	2 inject.	3 inject.
<i>Ps. aeruginosa</i> E-2	T-1220	1.2 × 10 ⁸	50	6.25	14.7	7.1	4.7
	CBPC	cells/mouse	50	50	13.2	12.3	10.3
<i>E. coli</i> No. 29	T-1220	1.1 × 10 ⁶	3.13	1.56	2.7	0.3	<0.2
	CBPC	cells/mouse	12.5	6.25	1.7	0.8	0.9
<i>Prot. morgani</i> No. 101	T-1220	1.0 × 10 ⁵	25	0.78	>10	>10	0.7
	CBPC	cells/mouse	3.13	0.78	1.4	0.5	0.6

1 inject.: 2hrs s. c.

2 inject.: 2, 4hrs s. c.

3 inject.: 2, 4, 6 hrs s. c.

であった。

(c) *Ps. aeruginosa* E-2 感染症に対する治療効果

T-1220 の ED₅₀ 値は、1 回投与で 14.7 mg/mouse, 2 回分割投与で 7.1 mg/mouse, 3 回分割投与では 4.7 mg/mouse であり、分割投与の方が 1 回投与よりすぐれた治療成績を示した。いっぽう CBPC は 1 回投与で 13.2 mg/mouse, 2 回分割投与で 12.3 mg/mouse, 3 回分割投与では 10.3 mg/mouse であり、分割投与してもさほど治療成績は良くならなかった。また、T-1220 は、2 回および 3 回分割投与を行なうと、CBPC よりすぐれた成績を示した。

III. 総括ならびに考察

近年、抗緑膿菌性抗生剤³⁾⁴⁾⁵⁾として Ampicillin 誘導体が数多く開発されているが、今回、私もは、新しい半合成ペニシリン T-1220 に関する細菌学的評価を CBPC, SBPC, ABPC および GM を対照薬剤として比較検討した。その結果本剤は、グラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対して、広範囲な抗菌スペクトラムを有していることが認められた。すなわち、グラム陽性菌群に対しては、本剤は、ABPC より劣るが、CBPC および SBPC と同程度の抗菌力を有していた。いっぽうグラム陰性菌群に対しては、CBPC, SBPC および ABPC にくらべ数倍

すぐれた抗菌力を有していた。特に近年臨床上問題となっている緑膿菌に対して、6.25 $\mu\text{g/ml}$ という感受性を示したことは興味深い。そこで、本剤の臨床分離株に対する感受性分布を検討したところ、緑膿菌では、6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有し、CBPC, SBPC の50~100 $\mu\text{g/ml}$ および100 $\mu\text{g/ml}$ よりすぐれ、GM の3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$ に近いものであった。他のグラム陰性桿菌である大腸菌、肺炎桿菌、霊菌および変形菌では、いずれの薬剤においても感受性株と $>100 \mu\text{g/ml}$ の耐性株が存在したが、本剤は、感受性株ではCBPC, SBPC およびABPCにくらべ数倍すぐれており、 $>100 \mu\text{g/ml}$ の耐性株の割合も他剤より少なかった。さらに本剤は、 10^6 cells/ml での感受性分布は 10^8 cells/ml のそれより2~数倍よくなり、特に $>100 \mu\text{g/ml}$ の耐性株の減少割合は、他剤にくらべ著しく大であった。この傾向は、ブドウ球菌で極めて顕著であった。すなわち 10^8 cells/ml で $>100 \mu\text{g/ml}$ を示す株が約50%存在していたが、 10^6 cells/ml では完全に消失した。また、本剤は、*E. coli* NIH JC-2 および *Ps. aeruginosa* No. 12 において、 10^6 cells/ml を境にして極端にMICの変動が認められることから、CBPC およびSBPCにくらべ比較的菌量の影響を受けやすいようである。しかし、これは近年抗緑膿菌剤として開発された Ampicillin 誘導体に共通した現象である。この原因としてBL-P1654についてPRICEら⁶⁾は、 β -lactamase に対する安定性が比較的悪いこと、また SANDERS ら⁷⁾は mutant の出現をあげている。

接種菌量以外の抗菌力におよぼす因子として、培地pH および血清添加の影響を検討したが本剤はいずれも大きな影響を受けなかった。特に本剤は、蛋白結合率が低いことから血清の影響は受けにくいものと考えられる。

増殖曲線におよぼす本剤の作用は、上述したように菌量の影響を受けるため、 10^8 cells/ml では静菌的であるが、 10^6 cells/ml では殺菌的に作用した。また1-ethyl-2,3-dioxopiperazine と ABPC との協力作用では、まったくその効果は認められなかった。

最後にマウス実験的感染症に対しては、T-1220 はいずれの菌においても1回投与よりも頻回分割投与の方が治療成績は良くなった。いっぽうCBPCは頻回分割投与を行っても本剤にくらべその治療成績は良くならず、1回投与のせいぜい2倍程度であった。本剤とCBPCの今回の成績から、3回分割投与のED₅₀と 10^6 cells/ml の

MICが、相関しているように思われる。治療成績におよぼす因子としては種々考えられるが、投与方法についてさらに詳しく検討を進めているので次回に報告したい。

結 論

1) T-1220は、グラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対して広範囲な抗菌スペクトラムを有していた。

2) T-1220は、臨床分離グラム陰性桿菌に対してCBPC, SBPC および ABPC よりすぐれた抗菌力を有しており、特に緑膿菌に対してはGMに近い感受性を有していた。

3) T-1220は、 10^8 cells/ml と 10^6 cells/ml でのMIC値に大きな差がみられ、接種菌量の影響を受けやすいことがわかった。

4) 感染実験では、頻回投与により、T-1220はCBPCよりすぐれた治療効果が得られた。

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) 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: 1126~1128, 1974
- 3) VAN SCOY, R. E.; E. WARREN and J. A. WASHINGTON: II. *In vitro* antimicrobial activity of a new semisynthetic penicillin, BL-P 1654 (6-[R- α -(guanylureido) phenylacetamido]-penicillanic acid). Antimicrob. Agents & Chemother.-1970: 12~16, 1971
- 4) FERRES, H.; M. J. BASKER and P. J. O'HANLON: β -Lactam antibiotics. I. Comparative structure-activity relationships of 6-acylamino-penicillanic acid derivatives and their 6-(D- α -acylamino-phenylacetamido) penicillanic acid analogues. J. Antibiotics 27: 922~930, 1974
- 5) NOGUCHI, H.; Y. EDA, H. TOBIKI, T. NAKAGOME and T. KOMATSU: PC-904, a novel broad-spectrum semisynthetic penicillin with marked antipseudomonal activity: Microbiological Evaluation. Antimicrob. Agents & Chemother. 9: 262~273, 1976
- 6) PRICE, K. E.; F. LEITNER, M. MISIEK, D. R. CHISHOLM and T. A. PURSIANO: BL-P 1654, a new broad-spectrum penicillin with marked antipseudomonal activity. Antimicrob. Agents & Chemother.-1970: 17~29, 1971
- 7) SANDERS, C. C. and W. E. SANDERS: BL-1654, a bacteriostatic penicillin? Antimicrob. Agents & Chemother. 7: 435~440, 1975

BACTERIOLOGICAL STUDIES ON T-1220
A NEW SEMISYNTHETIC PENICILLIN

TAKESHI NISHINO, MASAKO OTSUKI, YASUO WATANABE,
MASATO TODA and SHOZO NAKAZAWA

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The bacteriological evaluation on T-1220 was performed in comparison with other antibiotics, Carbenicillin (CBPC), Sulbenicillin (SBPC), Ampicillin (ABPC) and Gentamicin (GM), as control.

The following results were obtained.

1) T-1220 showed broad antibacterial spectrum against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

2) T-1220 showed stronger antibacterial activity against Gram-negative bacteria which were isolated from clinical specimens than that of CBPC, SBPC and ABPC. Especially the susceptibility of T-1220 against *Pseudomonas aeruginosa* was similar to that of GM.

3) The MIC value of T-1220 was affected by inoculum size, because the MIC value by the inoculum size of 10^8 cells per milliliter of T-1220 was far from that of 10^6 cells per milliliter.

4) The therapeutic efficacy of T-1220 on multiple injection was more effective than that of CBPC.