

## T-1220 の細菌学的評価

才川 勇・保田 隆・滝 秀雄・渡辺泰雄

加須屋興子・安川久美子・金川心子

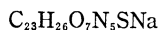
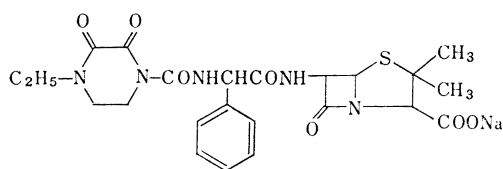
富山化学工業株式会社総合研究所

近年、半合成ペニシリンやセファロスポリンのいわゆるβ-ラクタム系抗生物質の開発はめざましく、多くの薬物が発表されている。その中でも、*Pseudomonas aeruginosa* に有効な抗生剤として Carbenicillin (CBPC) および Sulbenicillin (SBPC) が臨床的に用いられている。しかしながら、*P. aeruginosa* に対する抗菌力はまだ満足すべきものではなく、臨床面でさらに強い抗菌力を有し、しかも低毒性の抗生剤の開発が望まれている。

最近、Ampicillin (ABPC) のアミノ基に種々の置換基を導入することにより *P. aeruginosa* に対し強い抗菌性を示すことが知られ、その中でも BL-P1654<sup>1)</sup>、PC-904<sup>2)</sup>、PC-455<sup>3)</sup> および Mezlocillin<sup>4)</sup> などが詳細に検討されている。

当社総合研究所でも ABPC 誘導体にかかわる一連の研究から ABPC のアミノ基に 4-ethyl-2, 3-dioxopiperazinylcarbonyl 基を導入した T-1220 (Fig. 1) に広範囲抗生剤としての可能性を見い出すに至った。今回、著者らは T-1220 の細菌学的評価を、他のβ-ラクタム系抗生剤と比較検討したので報告する。

Fig. 1 Chemical structure of T-1220



Sodium 6- [D (-)-α-(4-ethyl-2, 3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)-α-phenylacetamido] penicillanate

## I. 実験材料および実験方法

## 1) 使用薬剤

T-1220は当社研究所で合成された凍結乾燥品であり、916μg 力価 /mg のものを使用した。対照薬剤として、ABPC (富山化学)、CBPC (藤沢薬品)、Cephalothin (CET, 塩野義製薬)、Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品)、Oxacillin (MIPIC, 万有製薬)、Penicillin G (PCG, 明治製菓)、Cephaloridine (CER, 鳥居薬品)、Cloxacillin (MCIPC, 藤

沢薬品)、Methicillin (DMPPC, 万有製薬) を使用した。

## 2) 抗菌力試験

群馬大学医学部微生物学教室および富山市民病院病理細菌検査室より提供された新鮮な患者分離菌について、日本化学療法学会測定法に従い寒天平板希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。Trypto-soy broth (TSB: 栄研) 中 37°C, 1 夜培養菌液を 100 倍に希釈し、その 1 白金耳を抗生剤含有の Heart infusion 寒天培地 (HIA: 栄研) 平板上に接種し、37°C, 18 時間培養後、肉眼的集落発生の有無で判定した。

## 3) 殺菌作用

## i) 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

TSB で 37°C, 1 夜培養した被検菌液を Nutrient broth (NB: 栄研) で約 10<sup>8</sup> cells/ml になるように希釈した後、所定の濃度の薬剤を加え、37°C, 18 時間培養した。そして肉眼的に菌の発育がみられない最小薬剤濃度を MIC とし、各培養液の 1 白金耳を薬剤を含まない HIA に接種した。37°C, 20 時間培養後、コロニーを全く生じない薬剤濃度を MBC とした。

## ii) 増殖曲線におよぼす薬剤の影響

TSB で 37°C, 1 夜培養した菌液を NB で希釈し、対数期途上に所定の濃度になるように薬剤を加え、経時的に生菌数を測定した。

## 4) β-lactamase に対する安定性

Brain heart infusion broth (BHB: 栄研) で前培養した菌液 50 ml を NB 1 l に加え、37°C, 5 時間振盪培養した後、遠心により集菌した。ただし、*Staphylococcus aureus* F-19 の場合は inducer として DMPPC を最終濃度 0.5 μg/ml となるように加えた。菌体を 0.1 M phosphate buffer solution (PBS: pH 7.0) の適当量に懸濁し、20 KH<sub>2</sub> (トミー精工 K. K., UR-200 P) 5 分間、氷冷下で超音波処理した。この破砕液を 12,000 × g, 20 分間遠心し、上清を酵素液とした。β-lactamase による加水分解度は PERRET のヨード法<sup>5)</sup>に基づいて測定した。

## 5) T-1220 の安定性

## i) 液体培地中での安定性

T-1220 を 25 μg/ml になるように各種培地で調製し 37°C でインキュベートを行ない、経時的にサンプリング

Fig. 2 *In vitro* susceptibility to T-1220, Ampicillin or Carbenicillin of 27 strains of *Staphylococcus aureus*

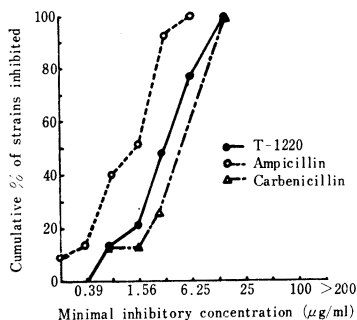
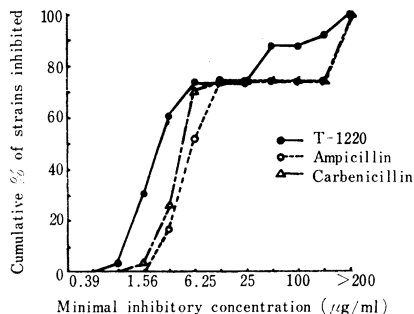


Fig. 3 *In vitro* susceptibility to T-1220, Ampicillin or Carbenicillin of 23 strains of *Escherichia coli*



して、残存活性を *Micrococcus luteus* ATCC 9341 を検定菌とする薄層カップ法で測定した。なお、検量線はそれぞれの培地で作製したものをを用いた。

#### ii) ヒトの血清、尿および胆汁中での安定性

T-1220 をヒトの血清、尿および胆汁に溶解し、 $-20^{\circ}\text{C}$  および  $5^{\circ}\text{C}$ 、10日間の残存活性を経時的に *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする薄層カップ法およびペーパーディスク法で測定した。なお、0.1 M PBS (pH 6.0) で10倍に希釈した胆汁中の安定性も合わせて検討した。検量線は、血清の場合は血清 (pH 7.4) を、尿、胆汁の場合は 1/15 M PBS (pH 7.0) をを用いた。

#### 6) マウス実験の感染症に対する治療効果

マウスは SLC/ICR 系雄性で生後4週齢、体重  $19 \pm 1$  g のものを使用した。試験菌は *S. aureus* F-31, *S. aureus* F-30, *Escherichia coli* NIHJ, *E. coli* TK-16, *Klebsiella pneumoniae* GN 3850, *K. pneumoniae* Y-3 および *P. aeruginosa* GN 3315, *P. aeruginosa* GN 1035 の8株を用いた。いずれの菌も HIA 上で  $37^{\circ}\text{C}$ 、1夜培養後、5% Gastric mucin (半井化学薬品 K. K.) に懸濁しマウス腹

Fig. 4 *In vitro* susceptibility to T-1220, Ampicillin or Carbenicillin of 23 strains of *Klebsiella* sp.

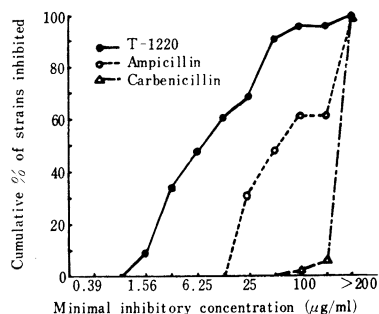
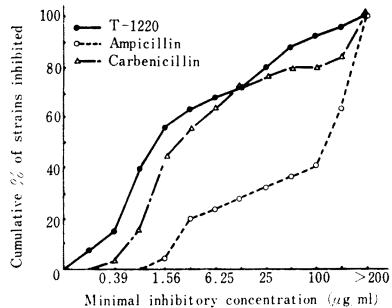


Fig. 5 *In vitro* susceptibility to T-1220, Ampicillin or Carbenicillin of 25 strains of *Proteus* sp. (indole +)



腔内に接種した。薬剤は菌接種後、1回あるいは頻回に分けて背部皮下に投与した。そして、7日後のマウス生存数より  $\text{ED}_{50}$  値 (mg/mouse) を VAN DER WAERDEN 法で求め、効果判定を行なった。

## II. 実験結果および考察

### 1) 臨床分離菌に対する感受性分布

臨床材料より分離した *S. aureus* 27株, *E. coli* 23株, *Klebsiella* sp. 23株, インドール産生 *Proteus* sp. 25株, *Serratia* sp. 25株, *P. aeruginosa* 62株およびその他の菌種13株に対する T-1220 の抗菌力を他剤と比較した。

#### i) *S. aureus*

*S. aureus* に対する感受性累積曲線を Fig. 2 に示した。ABPC の抗菌力が最も強く、ついで T-1220, CBPC の順であった。なお T-1220 では  $3.13 \mu\text{g/ml}$  以下の感受性を示す菌が 48% 認められた。

#### ii) *E. coli*

*E. coli* に対する感受性累積曲線を Fig. 3 に示した。T-1220 の抗菌力が最も強く、ついで CBPC, ABPC の順であり、T-1220  $3.13 \mu\text{g/ml}$  以下では 61% の菌が感受

Fig. 6 *In vitro* susceptibility to T-1220, Ampicillin or Carbenicillin of 25 strains of *Serratia* sp.

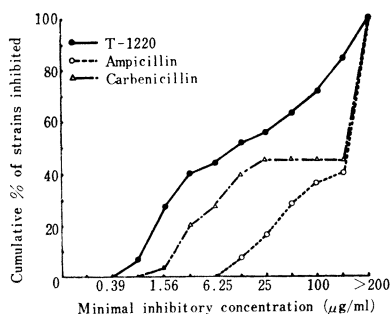


Fig. 7 *In vitro* susceptibility to T-1220 or Carbenicillin of 62 strains of *Pseudomonas aeruginosa*

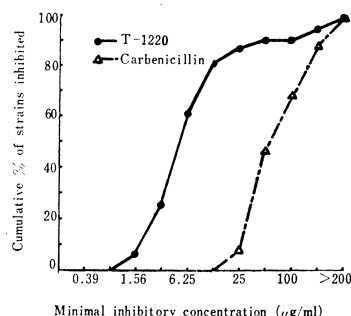


Table 1 *In vitro* susceptibility of various clinical isolates to T-1220, other penicillins and cephalosporins

Organism	Minimal inhibitory concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	T-1220	Ampicillin	Carbenicillin	Cephalotin	Cefazolin
<i>Shigella sonnei</i>	3.13	6.25	12.5	6.25	50
<i>S. flexneri</i>	3.13	3.13	3.13	200	1.56
<i>Salmonella typhimurium</i>	6.25	3.13	12.5	6.25	3.13
<i>Citrobacter</i> sp.	1.56	200	3.13	100	200
<i>Enterobacter aerogenes</i> 23	50	>200	200	>200	>200
<i>E. aerogenes</i> 24	3.13	100	12.5	100	25
<i>E. cloacae</i> H-1	6.25	>200	100	>200	>200
<i>E. cloacae</i> H-2	3.13	>200	12.5	>200	>200
<i>E. cloacae</i> H-5	3.13	>200	12.5	>200	>200
<i>E. cloacae</i> H-6	3.13	>200	12.5	>200	>200
<i>Proteus mirabilis</i> GN 2569	0.39	1.56	0.78	3.13	3.13
<i>Moraxella</i> sp.	0.78	100	<0.1	>200	>200
<i>Acinetobacter</i> sp.	50	>200	100	>200	>200

性を示した。また 50  $\mu\text{g/ml}$  以下の濃度では、T-1220 は 87% の菌を発育阻止するのに対し ABPC, CBPC は 74% であった。

iii) *Klebsiella* sp.

*Klebsiella* sp. の感受性累積曲線を Fig. 4 に示した。

T-1220 の抗菌力は明らかにすぐれており、ついで ABPC, CBPC の順であった。50  $\mu\text{g/ml}$  以下の濃度では T-1220 は 91% の菌の発育を阻止するが、ABPC では 48% であった。しかし CBPC ではすべて 100  $\mu\text{g/ml}$  以上であった。

iv) インドール産生 *Proteus* sp.

インドール産生 *Proteus* sp. の感受性累積曲線を Fig. 5 に示した。

T-1220 の抗菌力は最も強く、ついで CBPC, ABPC の順であった。

v) *Serratia* sp.

*Serratia* sp. の感受性累積曲線を Fig. 6 に示した。

T-1220 の抗菌力が最も強く、ついで CBPC, ABPC の順であった。

vi) *P. aeruginosa*

*P. aeruginosa* の感受性累積曲線を Fig. 7 に示した。

T-1220 は明らかに CBPC よりすぐれた抗菌力を有し、12.5  $\mu\text{g/ml}$  以下で 82% の菌が感受性を示した。CBPC の場合、50  $\mu\text{g/ml}$  以下で 45% の菌が感受性を示し、T-1220 の方が約 8 倍すぐれていた。

vii) その他の菌種

その他の菌種に対する MIC を Table 1 に示した。

T-1220 は ABPC, CET ならびに CEZ が感受性を示さない *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Acinetobacter* sp. に対して強い抗菌力を示し、また CBPC よりすぐれていた。

Table 2 Effect of inoculum size on antibacterial activity of T-1220, Ampicillin and Carbenicillin

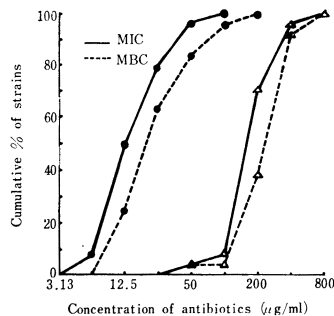
Organism	No. of cells/ml in undiluted culture	Dilution of culture	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			T-1220	ABPC	CBPC
<i>Staph. aureus</i> F-7	$4.2 \times 10^8$	$10^0$	200	50	12.5
		$10^{-1}$	12.5	3.13	6.25
		$10^{-2}$	3.13	0.78	3.13
		$10^{-3}$	1.56	0.39	3.13
<i>E. coli</i> TK-4	$6.5 \times 10^8$	$10^0$	3.13	6.25	12.5
		$10^{-1}$	3.13	6.25	12.5
		$10^{-2}$	1.56	3.13	12.5
		$10^{-3}$	1.56	3.13	3.13
<i>Shig. flexneri</i> JS 11839	$4.4 \times 10^8$	$10^0$	1.56	6.25	12.5
		$10^{-1}$	1.56	3.13	6.25
		$10^{-2}$	0.78	3.13	6.25
		$10^{-3}$	0.78	3.13	6.25
<i>Kleb. pneumoniae</i> GN 917	$1.7 \times 10^8$	$10^0$	100	200	>200
		$10^{-1}$	6.25	50	>200
		$10^{-2}$	3.13	50	>200
		$10^{-3}$	3.13	25	200
<i>Pseud. aeruginosa</i> GN 383	$1.5 \times 10^8$	$10^0$	12.5	>200	200
		$10^{-1}$	6.25	>200	100
		$10^{-2}$	6.25	>200	100
		$10^{-3}$	6.25	>200	100

Viable cell counts of inoculum suspension

Inoculum size: One loopful of each bacteria suspension

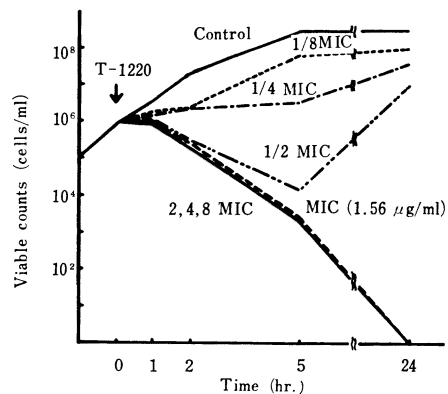
Medium: Heart infusion agar

Fig. 8 Comparative inhibitory and bactericidal concentrations to T-1220 (•) or Carbenicillin ( $\Delta$ ) of 24 strains of *Pseudomonas aeruginosa*

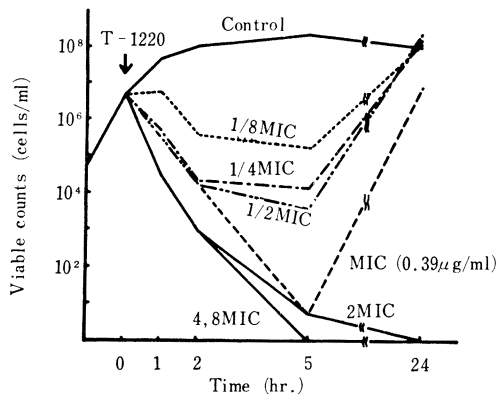
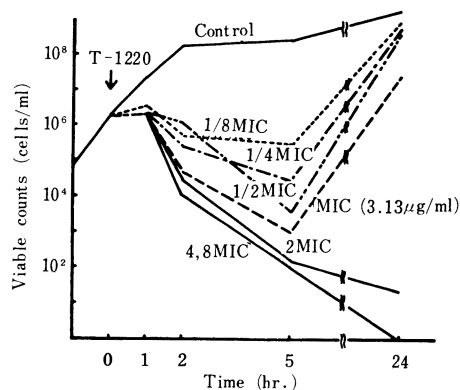


以上の結果より、T-1220はグラム陽性菌ならびにグラム陰性菌に対して広範囲に抗菌作用を示すことがわかった。なかでもABPC, CET, CEZが強い抗菌力を有し

Fig. 9 Bactericidal activity of T-1220 against *S. aureus* FDA 209 P



ないインドール産生 *Proteus* sp., *P. aeruginosa*, *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Moraxella* sp. および *Serratia* sp. に対して有効であった。そのうち、特に *P. aeruginosa*

Fig. 10 Bactericidal activity of T-1220 against *E. coli* NIHJFig. 11 Bactericidal activity of T-1220 against *P. aeruginosa* NCTC 10490Table 3 Stability against various  $\beta$ -lactamase

Substrate	Enzyme from				
	<i>Staph. aureus</i> F-19	<i>E. coli</i> TK-3	<i>Kleb. pneumoniae</i> Y-4	<i>Pseud. aeruginosa</i> GN 3379	<i>Ser. marcescens</i> W-8
Penicillin G	100	100	100	100	21
T-1220	365	94	72	9.2	20
Ampicillin	253	111	155	105	20
Carbenicillin	86	11	7	96	0.9
Cloxacillin	0.5	1.5	1.5	0.9	0.1
Cephaloridine	0.2	128	41	18	100

Hydrolysis ratio is expressed as a relative rate of hydrolysis, taking the absolute rate of PCG or CER as 100.

Table 4 Antibacterial activity against  $\beta$ -lactamase producing strains

Antibiotics	Strains				
	<i>Staph. aureus</i> F-19	<i>E. coli</i> TK-3	<i>Kleb. pneumoniae</i> Y-4	<i>Pseud. aeruginosa</i> GN 3379	<i>Ser. marcescens</i> W-8
T-1220	25	400	200	50	100
Ampicillin	12.5	1600	1600	1600	1600
Carbenicillin	12.5	1600	1600	1600	1600
Cephaloridine	0.2	100	25	1600	1600

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

に対してはCBPCの約8倍程度すぐれた抗菌作用を示すことは注目される。

## 2) 抗菌力におよぼす接種菌量の影響

Table 2 に示す通り、T-1220 では臨床分離菌の *S. aureus* F-7, *K. pneumoniae* GN 917 に対して、 $10^8$  cells/ml と  $10^7$  cells/ml 以下における MIC 値に差が見られた。しかし、*E. coli* TK-4, *Shigella flexneri* JS 11839 および *P. aeruginosa* GN 383 では接種菌量の影響は認められなかった。

## 3) 殺菌作用

### i) MIC と MBC の比較

*P. aeruginosa* 24 株に対する T-1220, CBPC の MIC および MBC の累積分布を Fig. 8 に示した。

T-1220 では MIC と MBC との差がやや認められたが、CBPC の場合、その差が T-1220 より少なかった。しかし、T-1220 は CBPC に比べ MIC のみならず MBC 値においても数倍すぐれていた。

### ii) 細菌の増殖曲線におよぼす影響

Fig. 12 Stability of T-1220 in liquid media

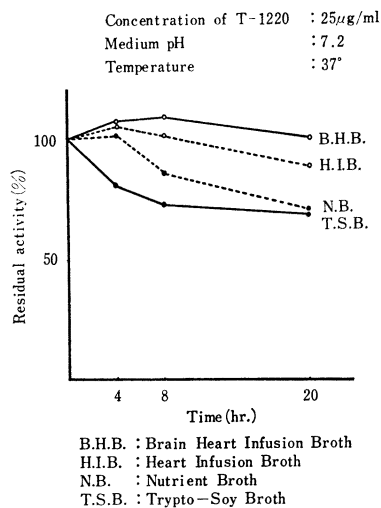
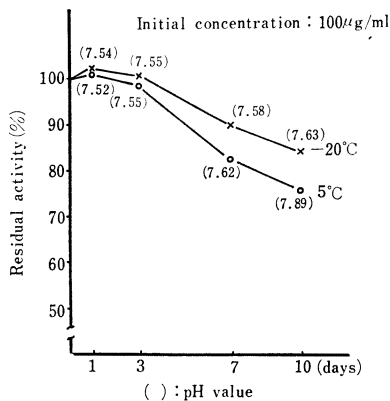


Fig. 13 Stability of T-1220 in human serum



*S. aureus* FDA 209 P の増殖曲線におよぼす T-1220 の影響を Fig. 9 に示した。

本剤は MIC 濃度の 1.56 $\mu$ g/ml 以上で明らかな殺菌作用を示し、1/2~1/4 MIC 濃度ではいったん菌の増殖は抑制されたが、5 時間以後 regrowth が認められた。

*E. coli* NIHJ では MIC 濃度の 0.39 $\mu$ g/ml 以下で、5 時間目まで静菌的あるいは殺菌的作用がみられたが、24 時間後には regrowth がみられた。しかし、2 MIC 以上では完全な殺菌作用を示した (Fig. 10)。

*P. aeruginosa* NCTC 10490 では *E. coli* と同様、MIC 濃度の 3.13 $\mu$ g/ml 以下では regrowth が認められたが、2 MIC 以上で殺菌的であった (Fig. 11)。

これらの結果より、T-1220 の抗菌作用は従来のペニシリンと同様、殺菌的であると考えられる。本剤の MIC と MBC の差はやや認められたが、BL-P 1654<sup>1)</sup> は

Fig. 14 Stability of T-1220 in human urine

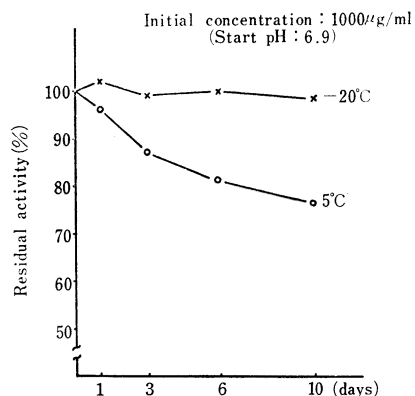
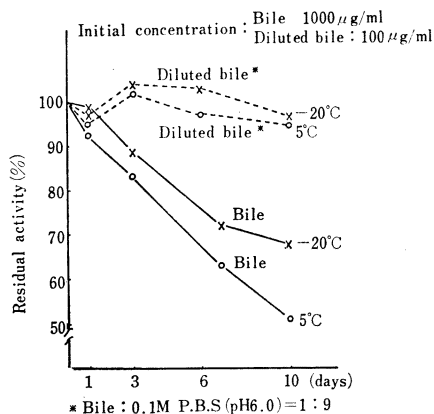


Fig. 15 Stability of T-1220 in human bile



ど顕著ではなく、今後、T-1220 の抗菌メカニズムについてさらに究明する必要があると思われる。

#### 4) $\beta$ -lactamase に対する安定性

T-1220 の penicillinase (PCase) と cephalosporinase (CSase) に対する安定性を Table 3 に示した。

T-1220 は *S. aureus*, *E. coli* および *K. pneumoniae* 由来の PCase に対して ABPC と同程度に加水分解され、CBPC より劣る結果を得た。しかし、*P. aeruginosa* 由来の PCase に対しては、T-1220 は ABPC, CBPC よりも約 10 倍安定であった。また *S. marcescens* 由来の CSase に対しては、T-1220 は比較的安定で PCG, ABPC と同程度であった。なお、Table 4 にこれらの菌に対する MIC 値を示した。

T-1220 は *S. aureus* F-19 を除く他の菌に対して ABPC, CBPC より数倍以上強い抗菌力を有していた。

#### 5) T-1220 の安定性

##### 1) 各種培地中での安定性

Table 5 Protecting effect of T-1220 against experimental mice infections

Challenge organism	Inoculum size cells/ml ( $\times$ LD <sub>50</sub> )	Medication time after challenge (hr)	MIC ( $\mu$ g/ml)		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	
			T-1220	CBPC	T-1220	CBPC
<i>Staph. aureus</i> F-31	$4.2 \times 10^7$ ( $\times 10$ )	1	0.78	1.56	0.26	0.40
" F-30	$2.6 \times 10^7$ ( $\times 4$ )	1	3.13	6.25	4.42	1.32
<i>E. coli</i> NIHJ	$3.7 \times 10^7$ ( $\times 60$ )	1	<0.1	0.39	0.18	0.44
" TK-16	$2.0 \times 10^6$ ( $\times 2,000$ )	1, 4	1.56	1.56	5.32	2.54
<i>Kleb. pneumoniae</i> GN 3850	$3.4 \times 10^6$ ( $\times 40$ )	1	12.5	>200	3.31	25.0
" Y-3	$1.1 \times 10^5$ ( $\times 40$ )	1, 4	6.25	>200	0.30	13.4
<i>Pseudo. aeruginosa</i> GN 3315	$3.5 \times 10^5$ ( $\times 30$ )	0.5, 4	12.5	200	5.08	26.8
" GN 1035	$9.6 \times 10^6$ ( $\times 17$ )	0, 3, 5, 6	25	200	11.7	17.7

5~10 mice of each group were injected intraperitoneally with 0.5 ml of 5% mucin which contained 1/10 volume of suspension of microorganism.

Drug was administered subcutaneously after challenge.

T-1220 の BHB, Heart infusion broth (HIB: 栄研), NB および TSB 中での安定性を Fig. 12 に示した。

T-1220 は BHB, HIB 中では比較的安定で、37°C, 20 時間後の残存活性は90%以上であった。それに対して、NB, TSB 中では比較的不安定であり、それぞれ、71%, 69%に低下した。

#### ii) ヒト体液中での安定性

血清、尿および胆汁中における T-1220 の安定性を検討した結果を Fig. 13, 14, 15 に示した。

5°C, 10日間では血清、尿、胆汁中のいずれにおいても安定性は悪かった。とくに胆汁中では不安定であり残存活性が51%に低下した。しかし、希釈胆汁中においては安定であった。-20°C, 10日間の場合、尿と希釈胆汁中の抗菌活性はほとんど低下せず安定であったが、血清と胆汁中、とくに胆汁中では不安定であった。したがって、これらの体液中濃度の測定用サンプルの保存には充分気をつけるとともに、なるべくすみやかに測定することが望ましいと思われる。また活性低下の原因として、本剤は水溶液や体液中でアルカリ側にすると簡単に加水分解を受けること<sup>6)</sup>から、pH の影響によるものと考えられる。

#### 6) マウス実験的感染症に対する治療効果

*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* および *P. aeruginosa* 感染マウスにおける T-1220 の治療効果を CBPC と比較した。その結果を Table 5 に示した。

*E. coli* と *S. aureus* の場合、T-1220 の ED<sub>50</sub> 値は CBPC とほぼ同等であった。*K. pneumoniae* と *P. aeruginosa* では T-1220 の治療効果は CBPC に比べすぐれていた。し

かし T-1220 の *in vitro* 抗菌力が CBPC よりかなり強いにもかかわらず、予想したほど良い結果は得られなかった。その原因としては T-1220 の血中濃度とその持続性に関係があると思われる。著者ら<sup>7)</sup> は T-1220 のマウス皮下投与時、最高血中濃度が CBPC より低くかつ排泄も速いことを経験している。また予試験で、T-1220 の1回投与よりも頻回分割投与の治療効果がすぐれていることを認めている。したがって本剤の治療効果を上げるためには、投与方法を充分研究する必要があると思われる。

#### 結 論

1) T-1220 の各種臨床分離菌に対する抗菌力は *S. aureus* では ABPC より劣るが、グラム陰性菌に対しては ABPC, CBPC よりまさっており、特に、*P. aeruginosa* において CBPC より約 8 倍強かった。

2) T-1220 の抗菌力におよぼす接種菌量の影響は *S. aureus*, *K. pneumoniae* では認められたが、その他の場合は認められなかった。

3) T-1220 は殺菌的に作用した。

4) T-1220 は *P. aeruginosa* 産生 PCase に対し ABPC, CBPC より非常に安定であり、他の PCase に対しては ABPC と同程度であった。また、CSase に対しては比較的安定で PCG, ABPC と同様であった。

5) T-1220 は BHB, HIB 中で比較的安定であるが NB, TSB 中では比較的不安定であった。また、ヒト体液のうち、特に、アルカリ性を示す胆汁中では不安定であった。

6) T-1220 のマウス実験的感染症に対する治療効果

は *S. aureus*, *E. coli* の場合, CBPC とほぼ同等であり, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* においては, CBPC よりすぐれていた。

### 謝 辞

本研究に際し, 終始ご指導賜りました群馬大学微生物学教室, 三橋進教授に衷心より感謝申し上げます。また, 貴重な菌株を提供していただいた富山市民病院研究検査科, 高柳尹立博士ならびに岩城護先生に心から御礼申し上げます。

### 文 献

- 1) CHRISTINE, C. SANDERS & W. EUGENE SANDERS, Jr.: BL-P 1654: a Bacteristatic Penicillin? *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 7 (4): 435~440, 1975
- 2) NOGUCHI, H.; Y. EDA, H. TOBIKI, T. NAKAGOME & T. KOMATSU: PC-904, a novel broad-spectrum semisynthetic penicillin with marked antipseudomonal activity: Microbiological evaluation. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 9 (2): 262~273, 1976
- 3) 矢野邦一郎, 立花章男, 小宮正行, 村上恭子: 新規な広範囲合成ペニシリン誘導体の生物学的性状。日本薬学会第95年会報告, 1975
- 4) METZGER, K.: The antibacterial activity of new broad-spectrum penicillins. 14th I. A. A. C. (San Francisco), 1974
- 5) PERRET, C. J.: Iodometric assay for penicillinase. *Nature* 174: 1012~1013, 1954
- 6) 才川 勇, 保田 隆, 高野俊太郎, 吉田長作, 酒井広志, 高下 寛, 山本芳子, 杉本由美子, 佐伯あゆみ:  $\beta$ -lactam 系抗生物質に関する研究 一第4報 T-1220の水溶液中および体液中の安定性。薬学雑誌 投稿中
- 7) 才川 勇, 保田 隆, 滝 秀雄, 渡辺泰雄, 松原信之, 中川三千子, 金川心子: T-1220の吸収・排泄および体内分布。Chemotherapy 25(5): 801~809, 1977

## BACTERIOLOGICAL STUDIES ON T-1220

ISAMU SAIKAWA, TAKASHI YASUDA, HIDEO TAKI,  
YASUO WATANABE, KYOKO KASUYA,  
KUMIKO YASUKAWA and SHINKO KANAGAWA  
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

*In vitro* and *in vivo* studies on the antimicrobial activity of T-1220 have been carried out, and the results are summarized as follows:

- 1) The *in vitro* activity of T-1220 against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* was not so effective as that of Ampicillin (ABPC), but T-1220 was more active than ABPC and Carbenicillin (CBPC) against various gram-negative clinical isolates. Especially, the sensitivity of T-1220 against *Pseudomonas aeruginosa* was 8 times as high as that of CBPC.
- 2) Antibacterial activity of T-1220 was affected with the inoculum size of *S. aureus* and *Klebsiella pneumoniae*, but as for other strains, it was not affected with.
- 3) T-1220 acted bactericidally against *S. aureus*, *Escherichia coli* and *P. aeruginosa*.
- 4) T-1220 was much more stable than ABPC and CBPC against the penicillinase (PCase) derived from *P. aeruginosa*, but T-1220 as well as ABPC was hydrolyzed by other PCase. However, the cephalosporinase derived from *Serratia marcescens* slightly caused hydrolysis of T-1220 to the same extent as Penicillin G and ABPC.
- 5) T-1220 was stable in Brain heart infusion broth and Heart infusion broth at 37°C for 20 hours, while it was less stable in Nutrient broth and Trypto-soy broth, and showed 70% of initial activity at 37°C after 20 hours. When T-1220 was kept at 5°C for 10 days in human alkaline bile, it showed 50% of initial activity.
- 6) Protecting effects of T-1220 against experimental infections of mice caused by *S. aureus* and *E. coli* were nearly equal to those of CBPC. But T-1220 was more effective than CBPC in mice infected with *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*.