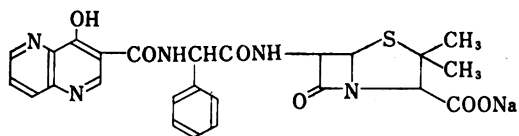


抗緑膿菌作用のある広域合成ペニシリン PC-904 の *in vitro* 抗菌作用と
グラム陰性桿菌のマウス実験感染における治療効果, および
マウス血清中濃度について

小川正俊・金子康子・辻 明良・五島瑛智子

東邦大学医学部微生物学教室

PC-904 は Ampicillin の amino 基に 4-hydroxy-3-carboxyl-1,5-naphthyridine 基を導入し, 抗菌スペクトラムの拡大をはかったもので, とくに *P. aeruginosa* をはじめとするグラム陰性桿菌に強い抗菌力をもつことが特徴とされている¹⁾。



今回, われわれは PC-904 の抗菌作用の基礎的検討を目的として, 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も含め, 感受性を測定するとともに, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Serratia*, *P. maltophilia*, *F. meningosepticum*, *A. calcoaceticus*, *H. influenzae* など, 臨床材料から分離される頻度の増えている菌種については, マウス実験感染による治療効果をしらべた。

対照薬剤には Carbenicillin, Sulbenicillin, T-1220 など抗緑膿菌用ペニシリンをおき, 比較した成績である。

I. 実験方法

1) 感受性測定

日本化学療法学会感受性測定法に準じた²⁾³⁾。

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。

ICR マウス, 雄, 5週齢, 体重 18~20g, 1群6匹。

感染菌は腹腔内接種とし, 感染後1時間に PC-904 を皮下投与して5日間観察, マウスの生死により ED₅₀ 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, PC-904, T-1220, Carbenicillin(CBPC), Sulbenicillin(SBPC)を皮下投与後, 一定時間毎に1群ずつ数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. 実験成績

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 10⁸ と 10⁶ 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. 15 にまとめた。

E. coli の PC-904 感受性分布は CBPC, SBPC, T-1220 に比べ 10⁶ cells/ml の菌接種において感性側に分布した。しかし, 耐性菌については, 4剤とも耐性であった (Fig. 1)。

Klebsiella では CBPC, SBPC にすべてが耐性であるが, 10⁶ cells/ml の菌接種において PC-904 に感性を示す株が 20株中6株, T-1220は5株認められた (Fig. 2)。

Proteus は *P. mirabilis*, *P. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* の4菌種についてしらべたが, いずれも PC-904 の抗菌作用は弱く, 既知の CBPC, SBPC より劣っていた (Fig. 3~6)。

Serratia では 60% 以上の株が耐性を示し他の Penicillin 同様に効果は低い (Fig. 7)。

P. aeruginosa に対する作用は 10⁶ 接種時に, PC-904 作用は T-1220, CBPC, SBPC よりすぐれ, MIC は 1.56~12.5 µg/ml の間に分布した (Fig. 8)。

Melanin 株においても, PC-904 が他剤より強い抗菌力を示し, 10⁶ 接種で 0.19~12.5 µg/ml の間に MIC 分布があり, この菌種において PC-904 の特徴がもっとも著明であった (Fig. 9)。

GM 耐性緑膿菌5株に対しても, PC-904 は強い抗菌力を示した (Fig. 10)。

P. cepacia, *P. maltophilia* では PC-904 が T-1220, CBPC, SBPC, GM よりすぐれた抗菌力を示し, *A. xylosoxidans* も同様に, CBPC, SBPC, GM より感性であった。*A. faecalis* は T-1220 が感受性を示す株が3株あったが, GM は 12.5 µg/ml 以下の MIC を示していた。

F. meningosepticum は PC-904 が, CBPC, SBPC, GM より感性であった (Fig. 11~15)。

2) 緑膿菌における PC-904, CBPC の感受性相関 (Fig. 16~18)。

P. aeruginosa の各種菌株において, CBPC との相関をみたのが Fig. 16, 17, 18 である。いずれも PC-904

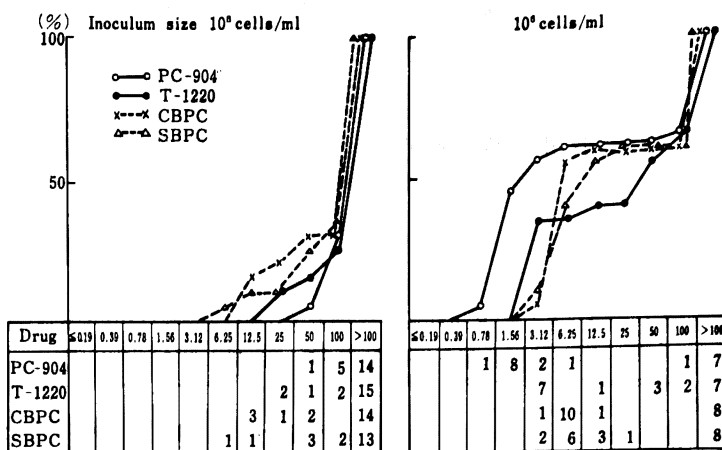
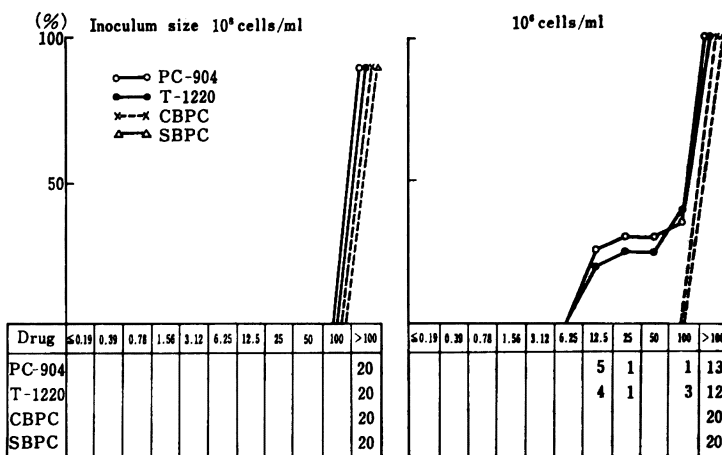
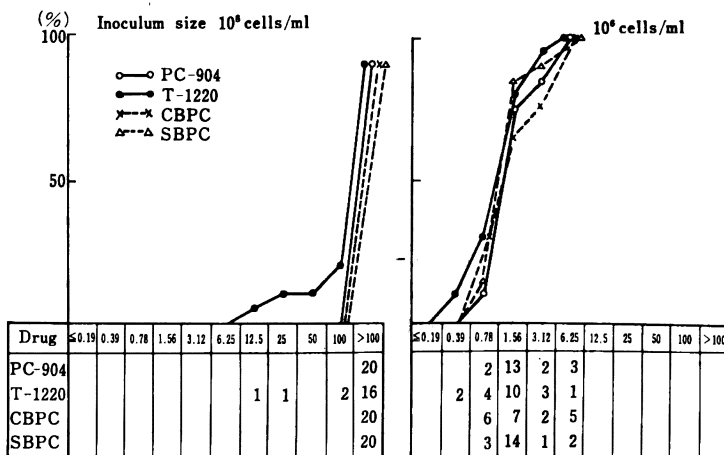
Fig.1 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* 20 strainsFig.2 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* 20 strainsFig.3 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* 20 strains

Fig.4 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus morganii* 14 strains

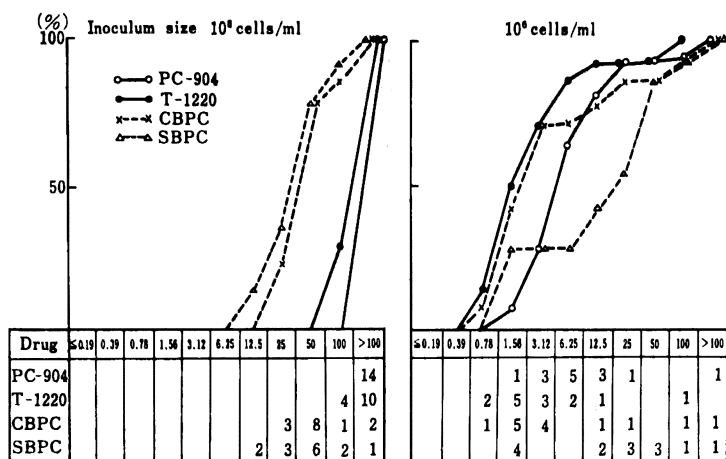


Fig.5 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* 9 strains

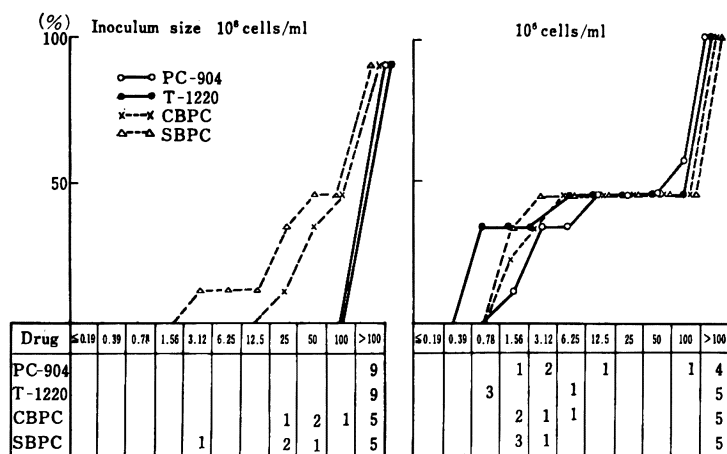


Fig.6 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus inconstans* 11 strains

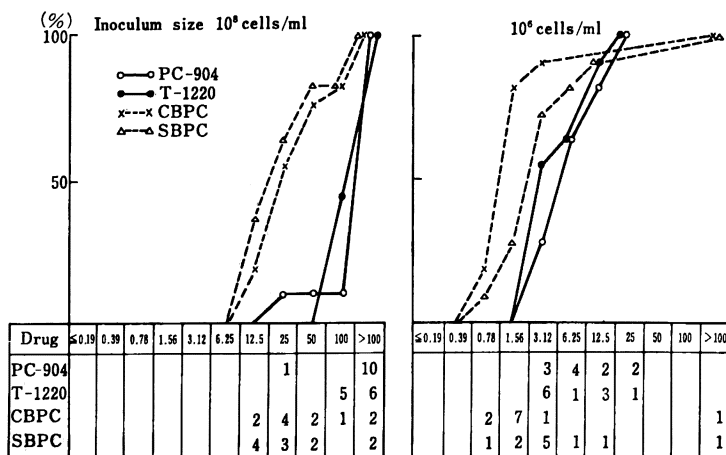


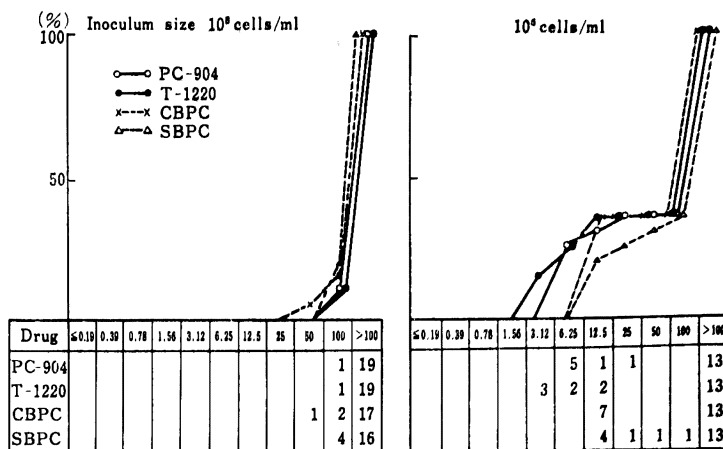
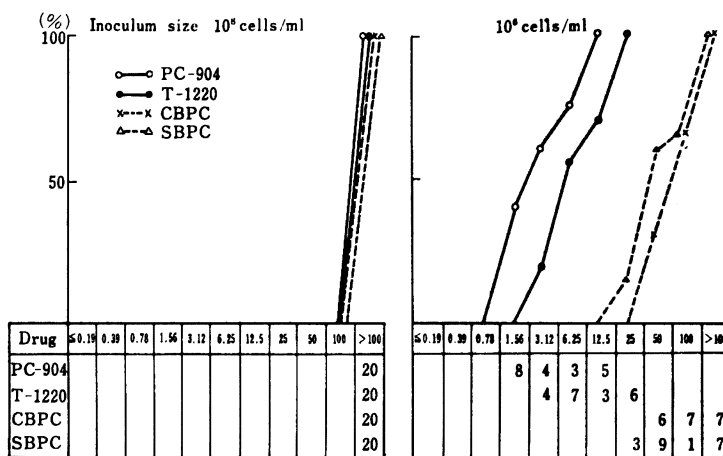
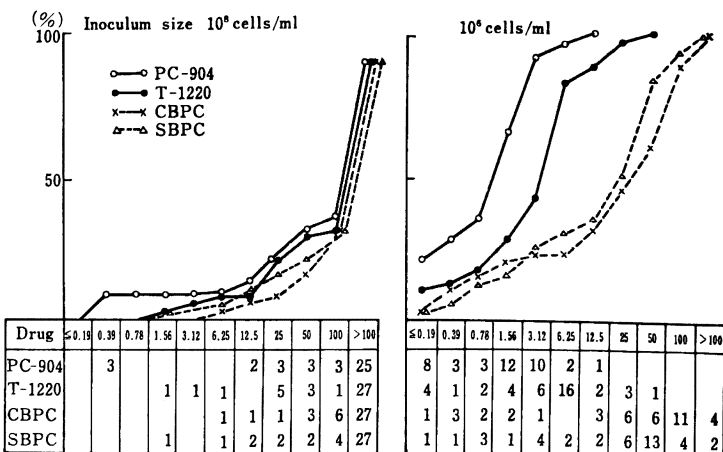
Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia marcescens* 20 strainsFig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 20 strainsFig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 39 strains (Melanin produced)

Fig.10 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 5 strains
(GM resistant)

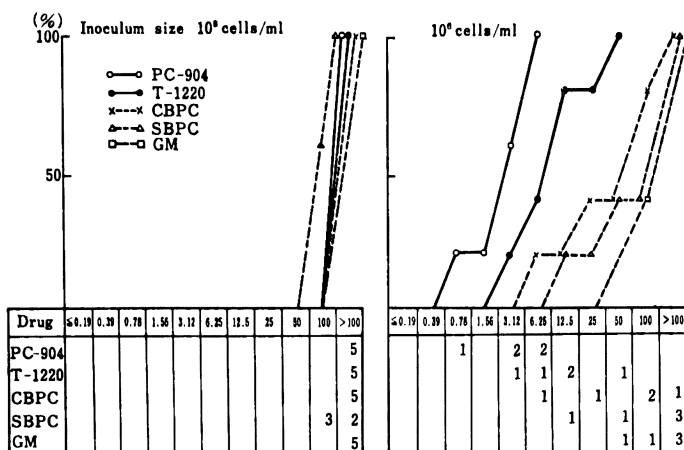


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas cepacia* 19 strains

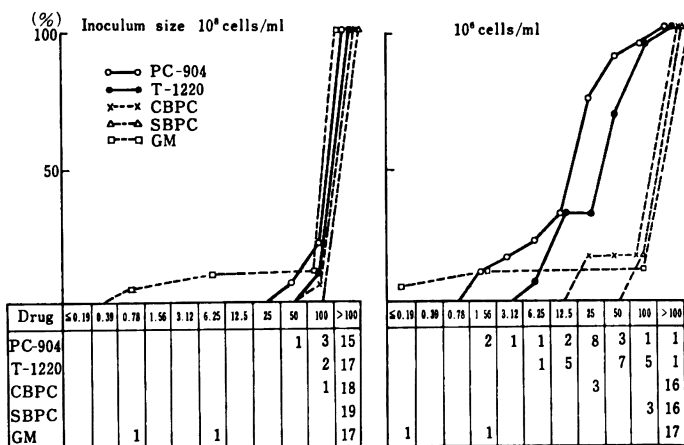


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas maltophilia* 21 strains

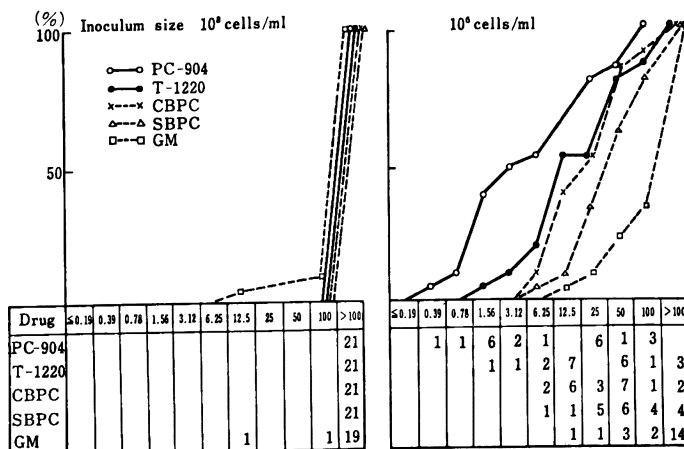


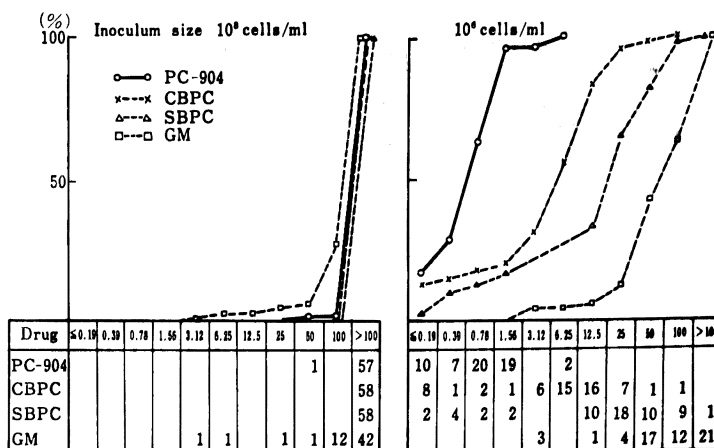
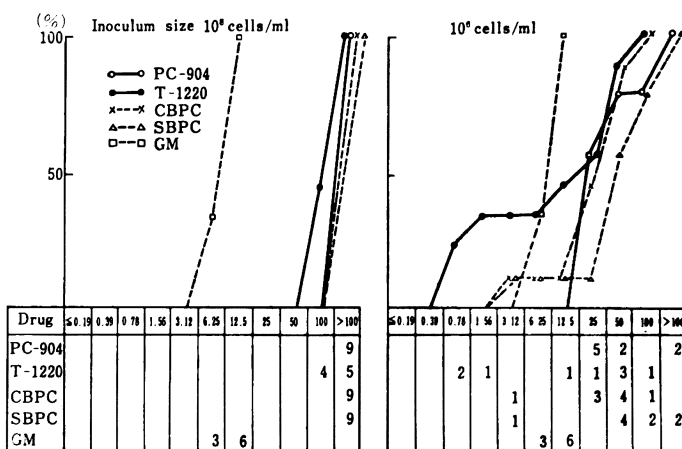
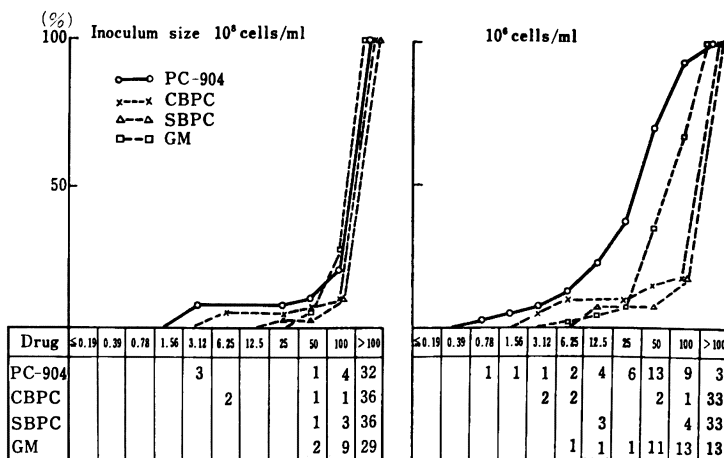
Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. xylosoxidans* 58 strainsFig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *Alcaligenes faecalis* 9 strainsFig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *Flavobacterium meningosepticum* 40 strains

Fig. 16 Sensitivity correlogram *Pseudomonas aeruginosa* 20 strains

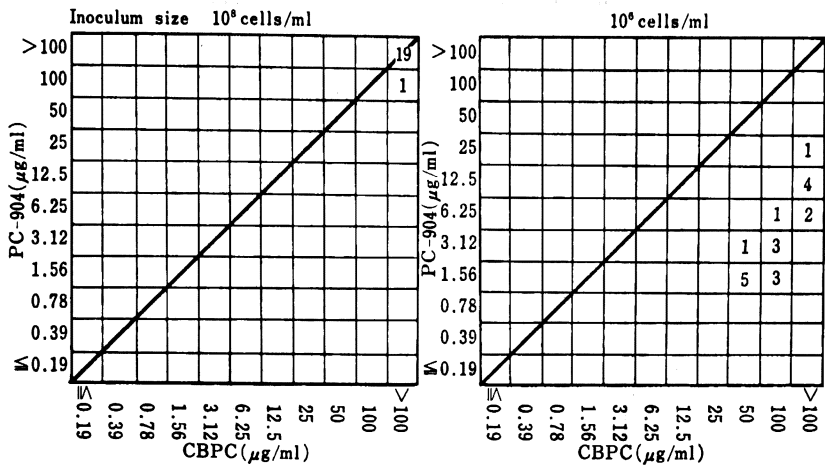


Fig. 17 Sensitivity correlogram *Pseudomonas aeruginosa* melanin 39 strains

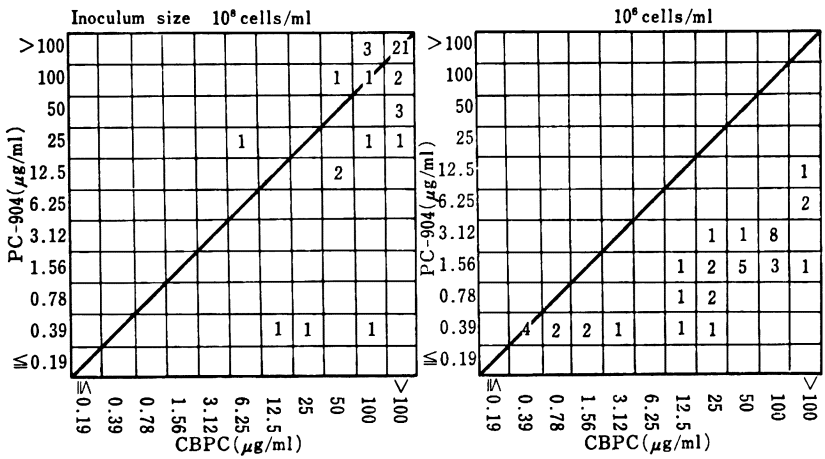


Fig. 18 Sensitivity correlogram GM resistant 11 strains

○ *P. aeruginosa*, ● *Alcaligenes*, △ *P. rettgeri*, ▲ *P. inconstans*, × *E. coli*

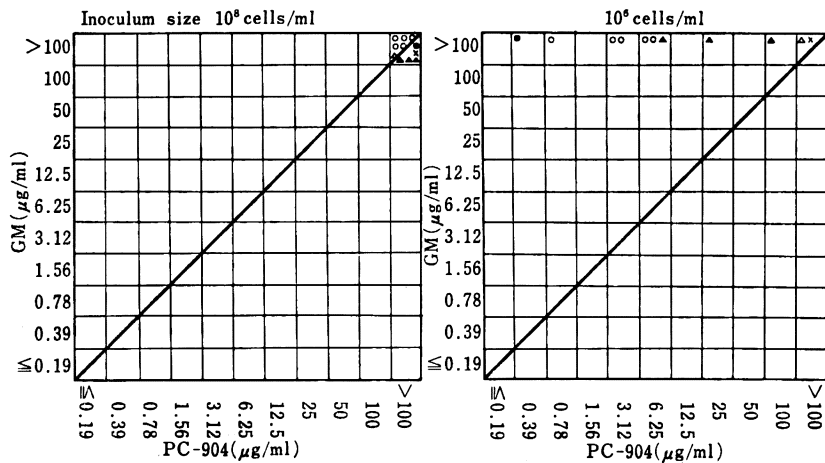
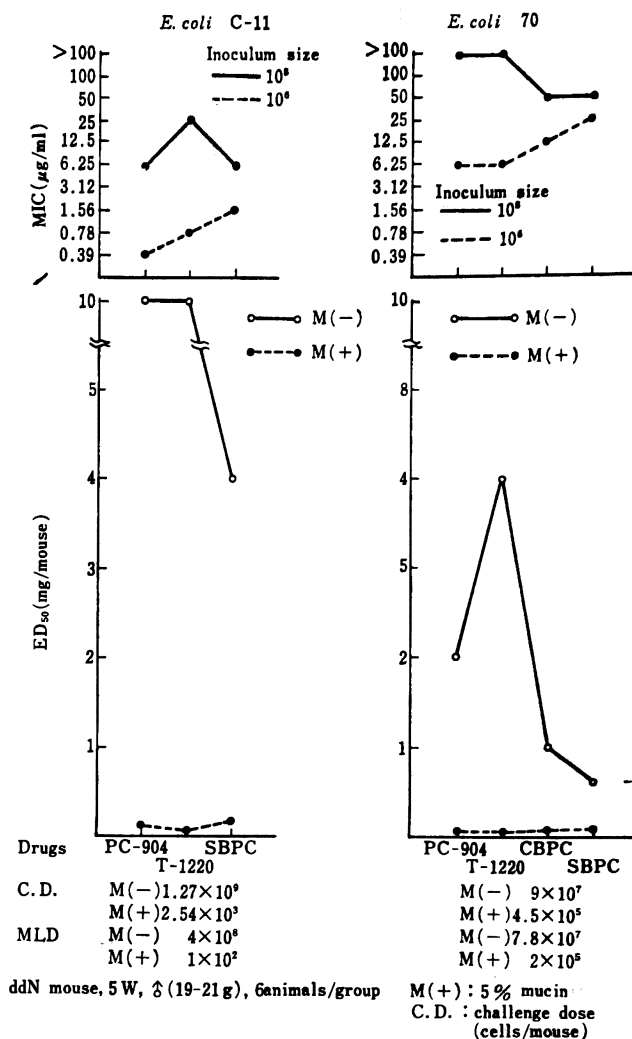


Fig. 19 Protecting effect of PC-904 against experimental infection in mice
(Administration : S.C. 1 hr. after infection)



の感性側に分布し、GM 耐性株においても PC-904 にも耐性を示す株は、*P. inconstans* 2 株、*P. rettgeri* 1 株、*E. coli* 1 株であった。GM 耐性株は 11 株用いたので、そのうちの大部分は PC-904 に感性を示すわけである。

2. マウス実験感染における治療効果

1) 大腸菌感染 (Fig. 19~20)

E. coli C-11 株では、大量菌攻撃においては PC-904、T-1220 の ED₅₀ 値は大となり、少量菌攻撃では SBPC より ED₅₀ 値が小さく、T-1220 よりは劣っていた。

E. coli 70 株では、T-1220、CBPC、SBPC と比較した

が、少量菌攻撃では、PC-904、T-1220 がよく、大量菌攻撃では SBPC、CBPC、PC-904、T-1220 の順に ED₅₀ 値が大きくなり治療効果は悪くなった。

Fig. 20 は、CEZ との比較である。

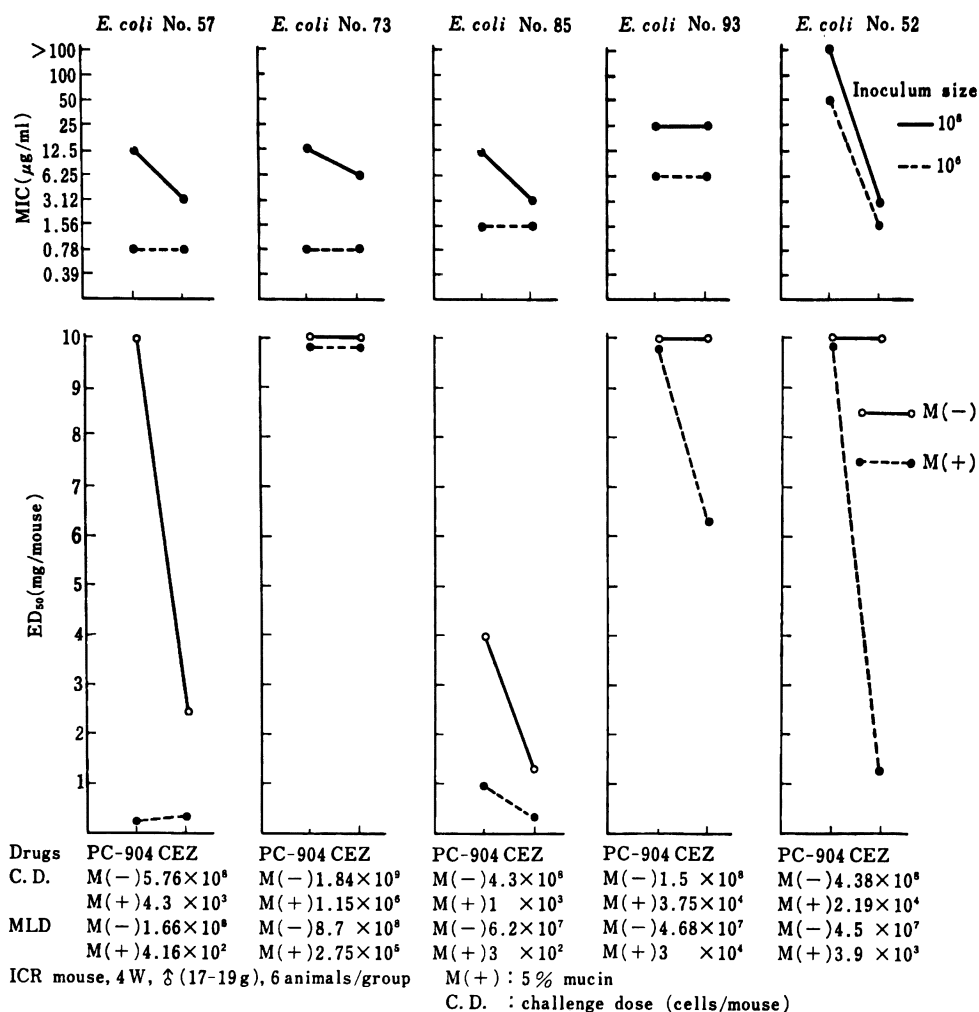
E. coli 57 株では大量菌攻撃では CEZ がすぐれ、少量菌では PC-904 が治療効果が良好であった。

E. coli 73 株では少量菌、大量菌攻撃とも両剤は無効であった。

E. coli 85 株では少量菌攻撃、大量菌攻撃とも CEZ がすぐれていた。

MIC が比較的高い *E. coli* 93 株では大量菌攻撃は両

Fig. 20 Protecting effect of PC-904 against experimental infection in mice
(Administration : S.C. 1 hr, after infection)



剤とも無効であるが、少量菌攻撃では、PC-904 が無効で、CEZ の ED_{50} がすぐれていた。

PC-904 耐性 *E. coli* 52 株では、大量菌攻撃では両剤とも無効、少量菌攻撃では CEZ が良好であった。

2) *Serratia* 感染 (Fig. 21)

Serratia marcescens, No. 2 株では PC-904 は無効で、SBPC, T-1220, CBPC の順に ED_{50} が大きくなり、No. 8 株でも PC-904 は無効であり、T-1220, CBPC, SBPC の順に治療効果は低下した。

3) 緑膿菌感染 (Fig. 22)

緑膿菌感染は SBPC と比較した成績を Fig. 22 に示した。

GM 耐性 PI-21 株においても PC-904 は SBPC より ED_{50} が小さく、治療効果は良好であった。

GNB-2-139 株では PC-904 が大量菌攻撃、少量菌攻撃とも T-1220, SBPC より治療効果が良好であった。

4) ブドウ糖非発酵菌に対する治療効果 (Fig. 23)

GM と比較した成績を Fig. 23 に示した。

GM は皮下投与、PC-904 は静脈投与を行なった。

P. maltophilia 227, 229 株, *F. meningosepticum* 463 株, *A. calcoaceticus* 402 株に対しては GM, PC-904 とも治療効果は無効であるが, *A. calcoaceticus* 403 株では PC-904 が治療効果がないにもかかわらず, GM はすぐれた治療効果を示していた。

Fig. 21 Protecting effect of PC-904 against experimental infection in mice
(Administration : S.C. 1 hr. after infection)

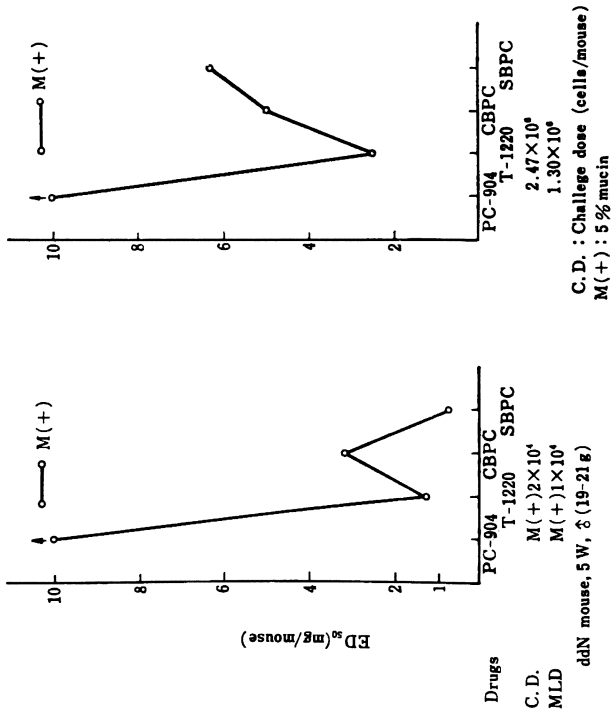
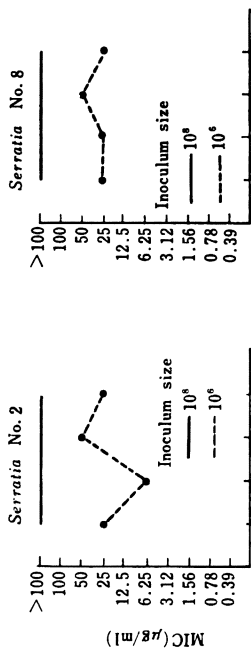


Fig. 22 Protecting effect of PC-904 against experimental infection in mice
(Administration : S.C. 1 hr. after infection)

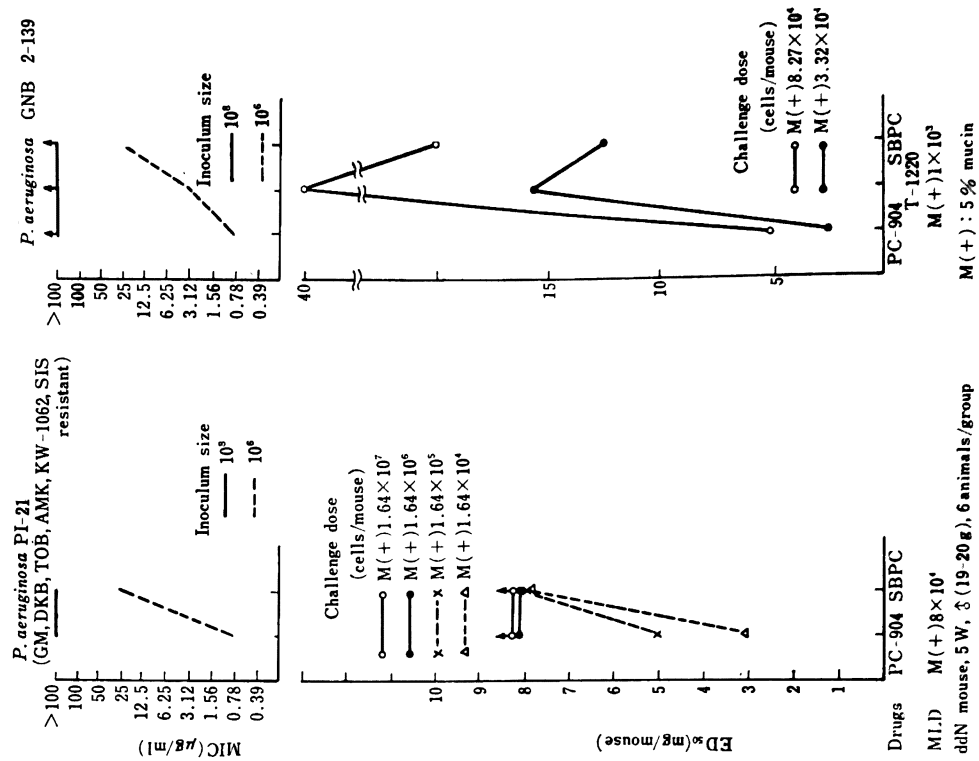


Fig. 23 Protecting effect of PC-904 against experimental infection in mice
(Administration : GM S.C., PC-904 I.V. 1 hr. after infection)

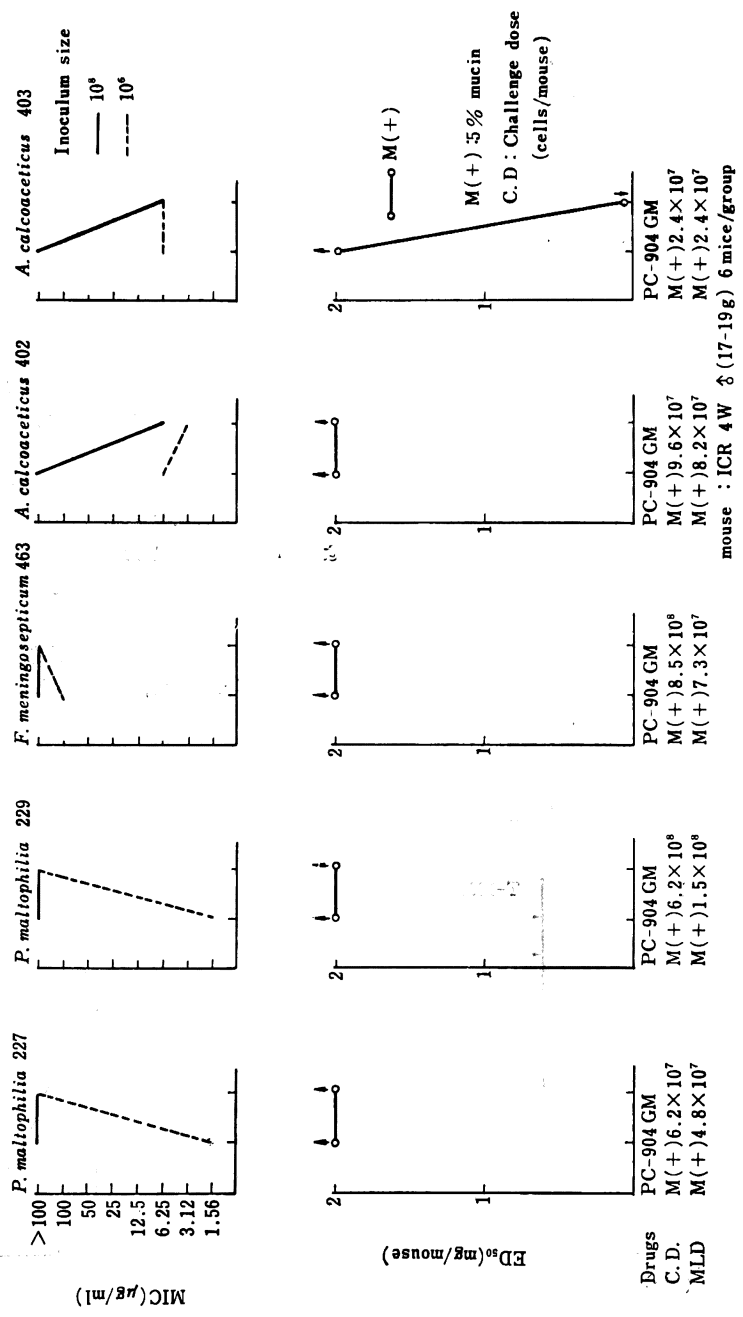


Fig. 24 Protecting effect of PC-904 against experimental infection in mice
(Administration : S.C. 1 hr. after infection)

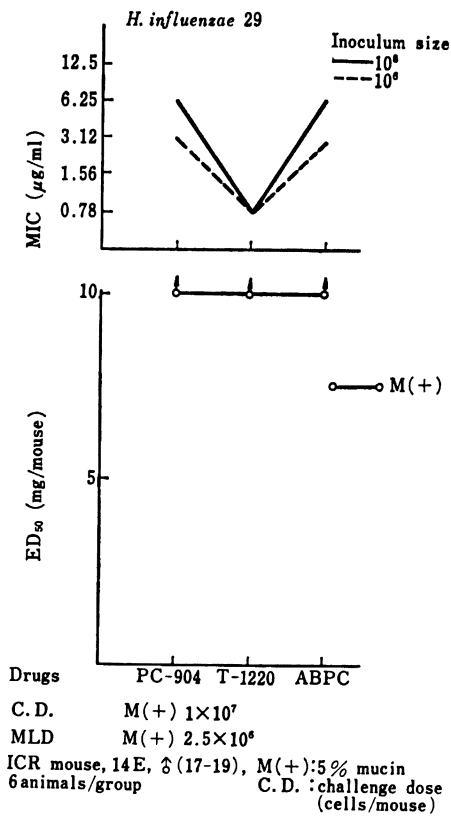


Table 1 Serum levels of penicillins in mice

Drug	Dose, S.C. (mg/mouse)	Serum level ($\mu\text{g/ml}$)			
		5 min.	15 min.	30 min.	1 hr.
PC-904	1 mg	20.5	34.0	16.5	3
	0.5 mg	11.0	19.0	5.6	3
T-1220	1 mg	23.4	32.0	10.6	2
	0.5 mg	8.3	10.8	4.3	2
CBPC	1 mg	44.0	54.0	21.0	3.9
	0.5 mg	17.5	22.0	11.5	1.9
SBPC	1 mg	75.0	54.0	27.0	4.0
	0.5 mg	32.0	29.0	15.0	3.0

5) インフルエンザ菌に対する治療効果 (Fig. 24)
T-1220, ABPC で比較した成績を Fig. 24 に示した。
3 剤とも治療効果はなかった。

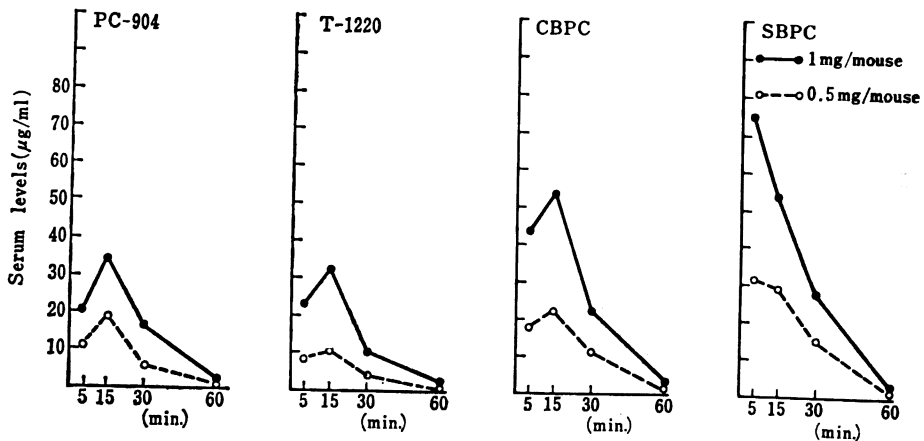
3. マウス血清中濃度 (Fig. 25, Table 1)

PC-904, T-1220, CBPC, SBPC をそれぞれ 1 mg, 0.5 mg 皮下投与したマウス血清中濃度の平均を Fig. 25 および Table 1 に示した。

PC-904 はピークが 15 分で 1 mg 投与時のピーク値は 34 $\mu\text{g/ml}$ であった。

T-1220 は 15 分にピークがあり, 32 $\mu\text{g/ml}$, CBPC は 15 分がピークで, 54 $\mu\text{g/ml}$, SBPC は 5 分がピークで, 75 $\mu\text{g/ml}$ であった。

Fig. 25 Serum levels of PC-904, T-1220, CBPC and SBPC in mouse



Mice : ddN, 5 W, (19~21g) 8 mice/group S.C.
Cup method *B. subtilis* PCI 219

III. 考 察

PC-904 がその構造上の特徴から、Ampicillin の抗菌作用に加え、グラム陰性桿菌に対する作用もあわせてもつことが確認された。

しかし *in vitro* では感受性からみた抗菌作用と比べ、攻撃菌量が多い場合には、治療効果が劣る傾向が認められた。

少量菌攻撃では ED_{50} 値も小さく、すぐれた治療効果を示した。

これらの理由として PC-904 はマウスの血清中濃度が、SBPC, CBPC に比べて高くなく、殺菌作用が比較的弱いことが考えられる。

ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の *P. cepacia*, *P. maltophilia*, *A. xylosoxidans* に対し *in vitro* 抗菌作用を示した。

しかし *in vitro* では抗菌力を示すが、治療効果が無効であるのは、これらの菌種で実験感染を成立させるには大量の菌で攻撃しなければならないためと考えられ、この方法では正確な評価はできないと思われる。

IV. 結 果

広域ペニシリンの PC-904 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良好な抗菌作用が認められた。

in vivo では大量菌攻撃、少量菌攻撃で *P. aeruginosa* に対して、SBPC, T-1220 より治療効果は良好であった。

また Gentamicin 耐性の緑膿菌にも *in vitro*, *in vivo* で抗菌力が認められた。

しかし *Serratia* では PC-904 は他の薬剤が治療効果が良好にもかかわらず、無効であった。

常用抗菌薬に対し、一般に耐性を示すブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌にも *in vitro* で抗菌作用を示したが、*in vivo* の効果は明らかではない。

文 献

- 1) 第 25 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム II, PC-904 抄録集, 1977
- 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* AND *IN VIVO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PC-904, A NEW SYNTHESIZED PENICILLIN, AND THERAPEUTIC EFFECT ON EXPERIMENTAL INFECTION IN MICE WITH GRAM-NEGATIVE BACILLI

MASATOSHI OGAWA, YASUKO KANEKO, AKIYOSHI TSUJI
and SACHIKO GOTO

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

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of PC-904, broad spectrum, semisynthesized penicillin, were examined, and it was revealed that the drug has a strong activity against various strains of gram-negative bacilli.

1) The effect of therapy with PC-904 was better than with either SBPC or T-1220 against *P. aeruginosa* when *in vivo* experiments with challenge by a large inoculum or small inoculum were applied.

2) It was revealed that PC-904 had marked antibacterial activity *in vitro* or *in vivo* even on gentamicin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

3) Against *Serratia*, PC-904 was ineffective, though other conventional drugs were susceptible.

4) PC-904 was revealed to be effective *in vitro* on glucose non-fermentation gram-negative bacilli which were resistant to conventional antibiotics.