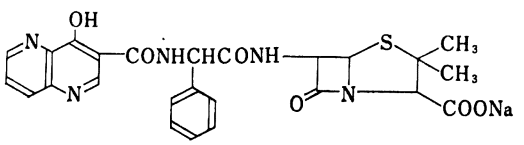
新しい β-lactam 系抗生物質 PC-904 に関する細菌学的評価

西野武志・平井芳美・山田作夫・中谷和子・故中沢昭三
京都薬科大学微生物学教室

PC-904 は住友化学工業株式会社研究所で合成された新しい半合成ペニシリンであり，化学名は sodium 6-[D (−) -α-(4-hydroxy-1, 5-naphthylidine-3-carboxamido) phenylacetamido]-penicillate で，Ampicillin のアシル側鎖のα位のアミノ基に4-hydroxy-1, 5-naphthilidine-3-carbonyl 基が結合した構造を有する。本剤は分子量543.5の白色結晶状粉末で，水，ジメチルホルムアミド，ジメチルスルフォキサイドに可溶，アセトン，エーテル，酢酸エチルには不溶の物質である。その抗菌スペクトラムは，グラム陽性菌群，グラム陰性菌群に対して広範囲な抗菌性を有し，とくに Ampicillin が抗菌力を示さない緑膿菌に対しても，優れた抗菌力を有する[1,2]。

今回私どもは，PC-904 に関する *in vitro*, *in vivo* での細菌学的評価を，比較薬剤として Carbenicillin[3~5], Sulbenicillin[6], Ampicillin, Gentamicin[7] を用いて行なったので報告する。

構造式



I. 実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

薬剤としては PC-904, Carbenicillin (CBPC), Sulbenicillin (SBPC), Ampicillin (ABPC), Gentamicin (GM) のいずれも力価の明らかなものを用いた。

2. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌およびグラム陰性菌群に対する試験管内抗菌力を，前培養に Tryptosoya ブイヨン，感受性測定には Heart infusion 寒天培地を用いる日本化学療法学会感受性測定法により，37°C, 20 時間培養後の最小発育阻止濃度 MIC (μg/ml) で求めた。なお *Streptococcus* 群, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae* は 10% 馬血液加 Heart infusion 寒天培地を用いて 37°C, 20 時間培養後の MIC を，また *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* については GC 寒天培地，嫌気性菌群の *Clostridium tetani*, *Clostridum perfringens* には TGC 培地を用いて，37°C, 48 時間培養後の MIC を求めた。

3. 臨床分離株に対する感受性分布と感受性相関

臨床的に分離された *Staphylococcus aureus* 53 株, *Escherichia coli* 63 株, *Klebsiella pneumoniae* 41 株, *Proteus vulgaris* 29 株, *Proteus mirabilis* 23 株, *Serratia* 62 株, *Pseudomonas aeruginosa* 81 株に対する感受性分布と感受性相関を日本化学療法学会感受性測定法に従って，原液 (10^8 cells/ml) および 100 倍希釈菌液 (10^6 cells/ml) で測定した。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH，馬血清添加，接種菌量の影響を，*Staphylococcus aureus* 209-P JC 株，*Escherichia coli* NIH JC-2 株，*Pseudomonas aeruginosa* No. 12 株，*Pseudomonas aeruginosa* E-2 株を試験菌として Heart infusion ブイヨンを用いた液体希釈法によって，37°C, 20 時間後の MIC で求めた。すなわち，培地 pH の影響では，pH を 6, 7, 8, 9 に調整した培地中での MIC の変動を，馬血清添加の影響は，馬血清を 0%, 10%, 25%, 50% に含む培地中での MIC の変動により検討した。また接種菌量の影響については，*Staphylococcus aureus* 209-P JC 株，*Escherichia coli* NIH JC-2 株は培地中の菌量を 10^3～10^7 cells/ml, *Pseudomonas aeruginosa* No. 12, E-2 株では 10^4～10^8 cells/ml とした5段階の 10 倍希釈系列での MIC の変動により検討した。

5. β-lactamase に対する安定性

臨床分離の Penicillin, Cephalosporin 耐性 *Escherichia coli* No. 18 株の菌体から抽出した粗酵素を用いて β-lactamase に対する安定性を検討した。β-lactamase は *Escherichia coli* No. 18 株を Nutrient ブイヨンに 37°C, 20 時間培養後，集菌し，菌体を pH 7.0, 1/15M リン酸緩衝液で洗浄後，同緩衝液に浮遊させ，超音波を用いて破壊し，遠心分離により得られた上清を粗酵素として用いた。この粗酵素の各希釈液に，PC-904, CBPC, ABPC を最終濃度が 5μg/ml になるように加え，37°C, 1時間接触後，100°C, 1 分間の熱処理により β-lactamase を不活化し，PC-904, CBPC は *Micrococcus luteus* ATCC 9341 株，ABPC は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 株を検定菌としたカップ法によりその残存力価を検討した。

6. 増殖曲線に及ぼす影響

Pseudomonas aeruginosa E-2 株を，Tryptosoya ブイヨンで 37°C，20 時間培養後，Heart infusion ブイヨンで 10^{-4} 希釈し，37°C で約 3 時間振盪培養後，菌数が 10^6 cells/ml 前半となった時点で，PC-904 を 0.78, 3.13, 12.5 μg/ml, CBPC 12.5, 50, 200 μg/ml となるように加え，薬剤添加後の殺菌作用の程度を，一定時間ごとの生菌数測定により検討した。

また，添加時の菌量により PC-904 の殺菌作用がどのような影響を受けるかを調べるため，菌数が 10^6 cells/ml の後半，10^7 cells/ml, 10^8 cells/ml に増殖した時点で，おのおのに PC-904 3.13, 31.3, 313 μg/ml, CBPC 50, 500, 2,500 μg/ml となるように加え，添加後，一定時間ごとに生菌数測定を行なった。

7. マウス実験的感染症に対する治療効果

i) *Staphylococcus aureus* 感染症に対する治療効果

Staphylococcus aureus Smith 株の斜面培養菌を生理的食塩水 (0.85%) に浮遊させ，生理的食塩水にて希釈後 4% mucin と等量混合し，その菌液の 50 LD_{50} を 1 群 10 匹の ddY-S ♂ マウス 17±1g の腹腔内に接種した。1 回治療は菌接種 2 時間後に，2 回治療は 2, 4 時間後に 1 回治療の 1/2 量ずつ，3 回治療は 2, 4, 6 時間後に 1/3 量ずつの PC-904，または CBPC で皮下治療を行ない，各治療回数での ED_{50} 値を求め，PC-904 と CBPC の比較および各薬剤の分割治療の効果を検討した。

ii) *Escherichia coli* 感染症に対する治療効果

臨床分離 *Escherichia coli* No. 29 株を Nutrient ブイヨンで 37°C，20 時間静置培養後，Nutrient ブイヨンに継代し，37°C，14 時間振盪培養を行ない，Nutrient ブイヨンで希釈し，4% mucin と等量混合し，その菌液の 160 LD_{50} を 1 群 10 匹の ddY-S ♂ マウス (17±1g) の腹腔内に接種した。その後，PC-904, CBPC を 1 回治療は 2 時間後に，2 回治療は 2, 4 時間後に，3 回治療は 2, 4, 6 時間後に皮下投与し，おのおのの治療回数での ED_{50} 値を求め，PC-904 と CBPC の比較と，おのおのの薬剤の分割投与の効果を検討した。

iii) *Pseudomonas aeruginosa* 感染症に対する治療効果

Pseudomonas aeruginosa E-2 株を 2/3 濃度の Tryptosoya ブイヨンで，37°C，20 時間静置培養し，この菌液を新たに 2/3 濃度の Tryptosoya ブイヨンに 10% 接種し，1.5 時間振盪培養後，同培地にて希釈し，4% mucin と等量混合した。上記菌液の 150 LD_{50} を 1 群 10 匹の ddY-S ♂ マウス (17±1g) の腔腹内に接種し，PC-904, CBPC を 1 回治療は 2 時間後に，2 回治療は 2, 4 時間後に，3 回治療は 2, 4, 6 時間後に皮下投与し，おのおのの治療回数での ED_{50} 値を求め，PC-904 と CBPC の比較およびおのおのの薬剤の分割投与による ED_{50} 値の変動を検討した。

次に *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株を Heart infusion ブイヨンで 37°C，20 時間静置培養後 Heart infusion ブイヨンに継代し，37°C，12 時間振盪培養を行ない，Heart infusion ブイヨンで希釈し，4% mucin と等量混合した。その菌液の 7,000 LD_{50} と 70 LD_{50} を 1 群 10 匹の ddY-S ♂ マウス (17±1g) の腹腔内に接種し，2 時間後に 1 回 PC-904, CBPC を皮下から投与し，ED_{50} 値を求め，菌量による治療効果の変動を検討した。

iv) *Klebsiella pneumoniae* 感染症に対する治療効果

Klebsiella pneumoniae を Nutrient ブイヨンに 37°C，18 時間培養後，さらに Nutrient ブイヨンに継代し，37°C，18 時間培養し，生理的食塩水にて希釈後 6% mucin と等量混合した。上記の菌液の 3 LD_{50}, 300 LD_{50} を ddY-S ♂ マウス (17±1g) 腹腔内に接種し，1 回治療の場合は 2 時間後に，2 回治療は，2, 4 時間後に皮下投与して，おのおのの菌量での 1 回治療，2 回治療の ED_{50} 値を求め，治療効果に及ぼす菌量の影響と，分割効果を同時に検討した。

8. マウス血中濃度の測定

ddY-S ♂ マウス (17±1g) に PC-904 を 1 mg/mouse を 1 回，1/2 mg/mouse を 2 時間ごとに 2 回，1/3 mg/mouse を 2 時間ごとに 3 回皮下投与し，投与後 15 分，30分，1 時間，2 時間後に 1 群 3 匹のマウス血液を採取し，血清を分離し，血清中の濃度を *Micrococcus luteus* ATCC 9341 株を検定菌とするディスク法により求めた。なお標準曲線はマウス血清希釈のものを用いた。

9. PC-904 および CBPC 前処理 *Pseudomonas aeruginosa* の性状について

i) マウス腹腔内における前処理菌の動向

Pseudomonas aeruginosa E-2 株を 2/3 濃度の Tryptosoya ブイヨンで，37°C，20 時間培養後の菌液を新たに同培地に 2% 接種し，37°C，2.5 時間振盪培養を行なった。その後，PC-904 3.13 μg/ml, CBPC 50 μg/ml を作用させ，さらに 37°C，2 時間振盪培養後，約 5 倍にフィラメント化した菌体を遠心集菌，これを前処理菌とし，同培地にて再浮遊させ，約 3×10^2 個を ddY-S ♂ マウス (17±1g) 腹腔内に接種した。その後 4, 8, 12, 16, 24, 48 時間後の腹腔内の菌数の消長を，腹腔に生理的食塩水を 2.5 ml 注射し，腹腔内の菌を浮遊させこれを採取し生菌数を測定することにより求めた。また対

照としては，薬剤無添加で，4.5 時間振盪培養した菌液を，前処理菌とほぼ同様の菌数になるように調整したものを用いた。

ii） *in vitro* における前処理菌の動向

i）と同様に前処理した菌を用い，その菌量がマウス腹腔内とほぼ等しくなるように調整し，37°C で振盪培養を行なった。その後 1, 2, 3, 4, 6, 8 時間と，経時的に生菌数を測定し，その増殖の様子を検討した。

iii） モルモット腹腔PMNによる前処理菌の食菌現象

Pseudomonas aeruginosa E-2 株を用いて Trypto-soya ブイヨンで 37°C, 20 時間培養した菌を Heart infusion ブイヨンに 5% 接種し，37°C, 2.5 時間振盪培養した後，PC-904 3.13μg/ml，または CBPC 50μg/ml となるように加え，さらに 37°C, 2 時間振盪培養する。その後，菌体を遠心により集め，EAGLE's MEM で洗浄後，Lab-Tek chamber 上に monolayer としたモルモット腹腔 PMN と CO_2 incubator 中で培養（PMN：菌≒1：10）した。培養 30 分，60 分後に Giemsa 染色を行ない，検鏡し，PMN 中の細菌数を数えた。対照としては正常細菌すなわち薬剤未処理 *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株を用いた。

II. 実験結果および考察

1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性および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は Table 1, 2 に示されるように，PC-904 はグラム陽性，陰性菌群に対し広い抗菌スペクトラムを有し，とくに *Pseudomonas aeruginosa* に対しては，GM とほぼ同等の抗菌力を有していた。その抗菌力を他の薬剤と比較すると，グラム陽性菌群の *Staphylococcus aureus* の標準株では，PC-904 は 0.39～0.78 μg/ml, ABPC は 0.045～0.19 μg/ml, CBPC は 0.78～3.13 μg/ml, SBPC は 1.56～6.25 μg/ml に感受性を示した。しかし臨床分離の Penicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* No. 80 株に対しては，CBPC, SBPC はそれぞれ 12.5 μg/ml, 6.25 μg/ml と感受性を示したが，PC-904 は100 μg/ml となり，ABPC の >100 μg/ml と同様に耐性を示した。*Streptococcus* 群中の *Streptococcus faecalis* および *viridans* に対し，CBPC 100 μg/ml, SBPC >100 μg/ml と抗菌力を示さなかったが，PC-904 は 25 μg/ml となり，ABPC の1.56 μg/ml よりはやや劣るが，抗菌力が認められた。他の *Streptococcus* 5 株については PC-904 は，0.022～0.045 μg/ml, ABPC は 0.022～0.045 μg/ml, CBPC は 0.19～0.78 μg/ml, SBPC は 0.39～1.56 μg/ml に感受性を示した。

グラム陰性菌では，*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* に対し PC-904 は 0.39 μg/ml に感受性を示し，ABPC, CBPC, SBPC の 0.045～0.19

Table 1 Antibacterial spectrum

Gram-positive bacteria MIC (μg/ml)

Test strain	PC-904	ABPC	CBPC	SBPC	GM
Staphylococcus aureus 209-P JC	0.39	0.045	0.78	1.56	0.045
Staphylococcus aureus Smith	0.39	0.09	0.78	3.13	0.19
Staphylococcus aureus Terajima	0.78	0.19	3.13	6.25	0.045
Staphylococcus aureus Neumann	0.39	0.045	0.78	3.13	0.19
Staphylococcus aureus E-46	0.39	0.09	0.78	3.13	0.39
Staphylococcus aureus No. 80 (PC-R)	100	>100	12.5	6.25	0.19
Staphylococcus epidermidis	1.56	0.19	3.13	25	0.09
Streptococcus pyogenes S-23	0.022	0.022	0.19	0.39	3.13
Streptococcus pyogenes Cook	0.045	0.022	0.19	0.78	6.25
Streptococcus faecalis	25	1.56	100	>100	25
Streptococcus viridans	25	1.56	100	>100	25
Streptococcus pneumoniae type I	0.022	0.022	0.78	1.56	12.5
Streptococcus pneumoniae type II	0.022	0.022	0.78	1.56	12.5
Streptococcus pneumoniae type III	0.045	0.045	0.78	1.56	12.5
Micrococcus luteus ATCC 9341	0.022	≦0.011	0.09	0.39	0.78
Bacillus subtilis ATCC 6633	1.56	0.19	0.78	0.78	0.09
Bacillus anthracis	0.78	0.022	0.39	0.78	0.19
Corynebacterium diphtheriae	3.13	0.39	6.25	12.5	0.39
Clostridium tetani	0.09	0.09	0.19	0.19	25
Clostridium perfringens	0.09	0.39	0.78	0.19	12.5

Table 2 Antibacterial spectrum

Gram-negative bacteria MIC (μg/ml)

Test strain	PC-904	ABPC	CBPC	SBPC	GM
Neisseria gonorrhoeae	0.39	0.09	0.19	0.19	0.78
Neisseria meningitidis	0.39	0.045	0.045	0.09	1.56
Escherichia coli NIH JC-2	1.56	6.25	12.5	12.5	1.56
Escherichia coli NIH	0.39	3.13	12.5	12.5	1.56
Enterobacter aerogenes	1.56	>100	12.5	25	0.78
Salmonella typhi T-287	0.09	0.39	1.56	1.56	0.39
Salmonella typhi O-901	0.09	0.09	0.78	0.78	0.19
Salmonella paratyphi A	0.39	0.39	6.25	6.25	0.19
Salmonella paratyphi B	0.39	0.39	3.13	3.13	1.56
Salmonella enteritidis	1.56	1.56	3.13	6.25	3.13
Klebsiella pneumoniae	0.39	1.56	3.13	3.13	0.19
Serratia marcescens IFO-3736	3.13	50	6.25	6.25	0.78
Shigella dysenteriae EW-7	0.39	3.13	1.56	3.13	1.56
Shigella flexneri 2a EM-10	0.39	3.13	6.25	6.25	1.56
Shigella boydii EW-28	0.39	6.25	1.56	3.13	0.78
Shigella sonnei EW-33	0.39	3.13	1.56	1.56	1.56
Proteus vulgaris OX-19	>100	100	25	12.5	1.56
Proteus mirabilis 1287	0.19	0.39	1.56	1.56	1.56
Proteus morganii Kono	50	>100	6.25	50	3.13
Pseudomonas aeruginosa No. 12	1.56	>100	50	50	0.39
Pseudomonas aeruginosa Nc-5	1.56	>100	100	50	3.13

μg/ml よりは，やや劣っていたが，グラム陰性桿菌の *Escherichia coli, Enterobacter, Salmonella, Klebsiella, Serratia, Shigella* に対しては 0.39～3.13μg/ml に感受性を示し，ABPC の 0.09～>100 μg/ml, CBPC 0.78～12.5 μg/ml, SBPC 0.78～25 μg/ml に比べ優れていた。*Proteus* に対しては，その抗菌力は弱く，とくに *Proteus vulgaris, Proteus morganii* に対して ABPC と同様ほとんど抗菌力は認められなかった。*Pseudomonas aeruginosa* に対しては，PC-904 は 1.56 μg/ml に感受性を示し，CBPC, SBPC の 50～100 μg/ml に比べ，はるかに優れており，アミノ配糖体抗生物質の GM にほぼ匹敵する抗菌力を示した。

以上のことから，PC-904 はグラム陽性菌群に対しては，CBPC, SBPC より優れた抗菌力を示したが，ABPC よりもやや劣っていた。また，グラム陰性菌群に対しては *Proteus* を除いて，ABPC, CBPC, SBPC よりも優れた抗菌力を示し，とくに *Pseudomonas aeruginosa* に対する抗菌力は，非常に優れていた。

ABPC の構造に 4-hydroxy-1,5-naphthylidine-3-carbonyl 基を結合させた化学構造を有する PC-904 が，ABPC が全く抗菌力を示さない *Pseudomonas aeruginosa* に対し，優れた感受性を示すことは，化学構造と抗菌力の関係から興味がもたれた。

2. 臨床分離株に対する感受性分布と感受性相関

臨床的に分離された *Staphylococcus aureus* 53 株，*Escherichia coli* 63 株，*Klebsiella pneumoniae* 41 株，*Serratia* 62 株，*Proteus vulgaris* 29 株，*Proteus mirabilis* 23 株，*Pseudomonas aeruginosa* 81 株に対する感受性分布および感受性相関を検討した成績は Fig. 1～28, Table 3～25 に示すとおりである。

Staphylococcus aureus の場合，Fig. 1 は 10^8 cells/ml の菌液を 1 白金耳接種し MIC (μg/ml) を求めた分布で，Fig. 2 はそのときの累積百分率を示している。

Fig. 1 Sensitivity distribution of clinical isolates *Sta. aureus* 53 strains (10^8 cells/ml)

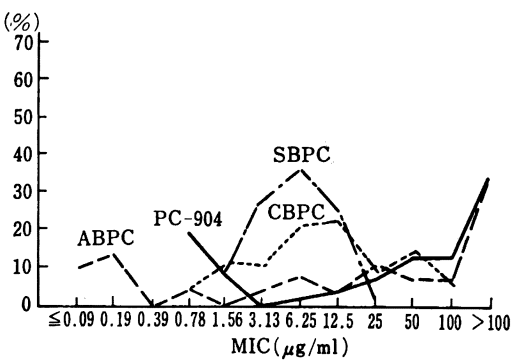
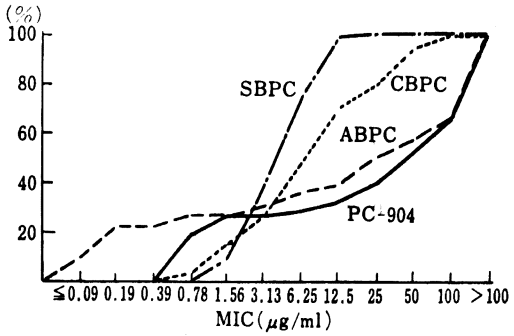


Fig. 2 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Sta. aureus 53 strains (10^6 cells/ml)



PC-904 は，0.78～>100μg/ml に幅広い感受性を示し，ABPC と類似した感受性のパターンを有し，耐性株も存在していた。SBPC, CBPC は 6.25～12.5 μg/ml に1

Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates,
Sta. aureus 53 strains (10^6 cells/ml)

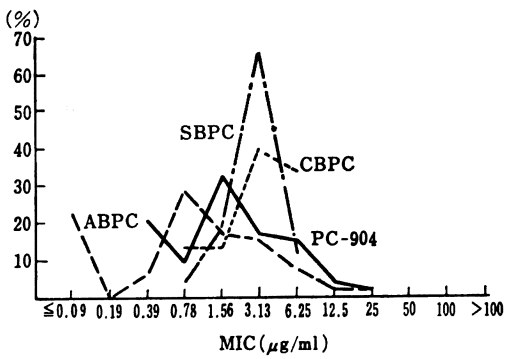
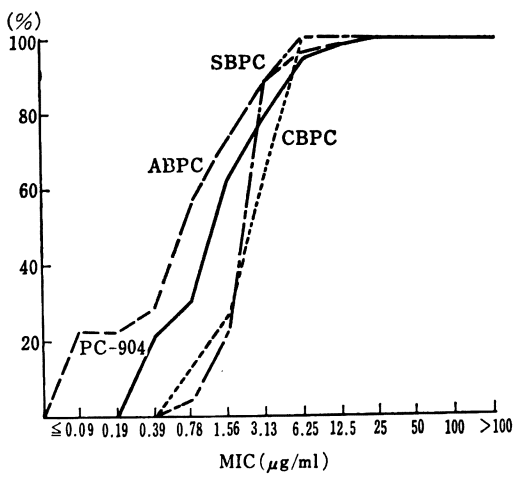


Fig. 4 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates,
Sta. aureus 53 strains (10^6 cells/ml)



峰性のピークを示し，>100 μg/ml の株は存在しなかった。Fig. 3, 4 は接種菌量を 10^6 cells/ml にした場合であり，10^8 cells/ml で認められた ABPC, PC-904 に >100 μg/ml を示す株はすべて感性化されており，PC-904 はピークを 0.39 と 1.56μg/ml, ABPC は ≦0.09 と 0.78 μg/ml に有し，ほぼ同様なパターンを示した。また SBPC, CBPC はピーク値が 10^6 cells/ml に比べて 1/2 程度良好となったが，菌量を下げても，あまり変動は認められなかった。また 10^8 cells/ml 接種の感受性相関は Fig. 5, 6, 7 に示すように，PC-904 と ABPC の間には，ABPC のほうがやや優れた感受性を示したが，相関関係が認められ，ABPC 耐性株は，PC-904 にも耐性を示した。また SBPC, CBPC と PC-904 の間には，相関がほとんど認められず，PC-904 耐性株に対して CBPC, SBPC は有効であった。

Fig. 5 Cross sensitivity of PC-904 and ABPC
Sta. aureus 53 strains

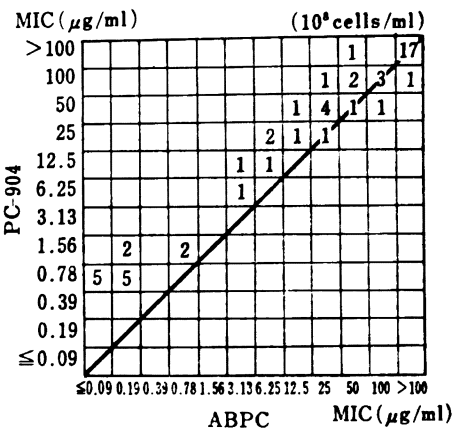


Fig. 6 Cross sersitivity of PC-904 and CBPC
Sta. aureus 53 strains

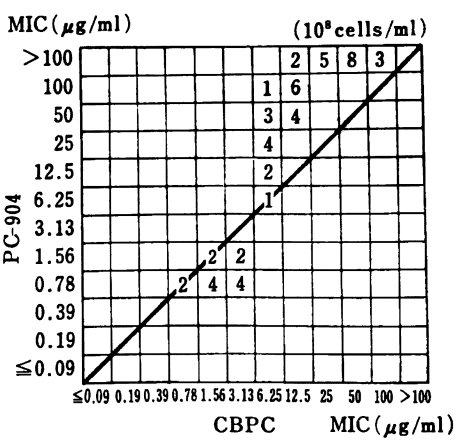


Fig. 7 Cross sensitivity of PC-904 and SBPC
Sta. aureus 53 strains

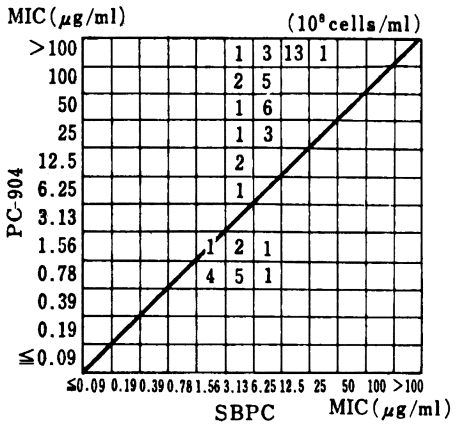


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates
E. coli 63 strains (10^6 cells/ml)

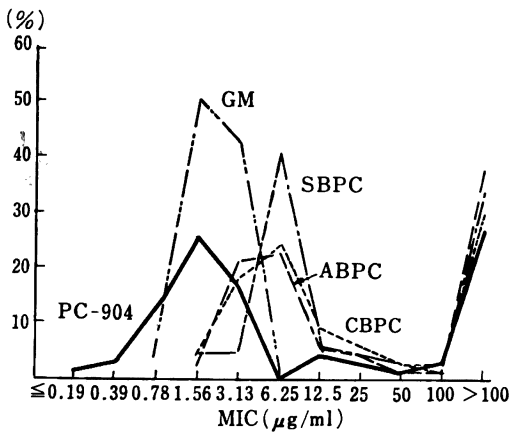
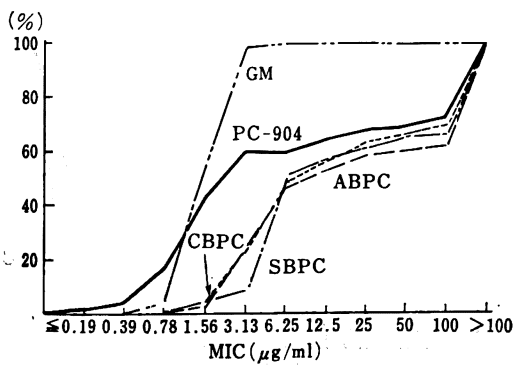


Fig. 9 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
E. coli 63 strains (10^6 cells/ml)



Escherichia coli の場合 10^6cells/ml では，1.56μg/ml に感受性のピークを示した GM に比べ，PC-904 は ABPC, SBPC, CBPC と同様に感性と耐性の2峰性のピークを示した (Fig. 8, 9)。感性株のピーク値は PC-904 が 1.56μg/ml, ABPC 3.13～6.25μg/ml, CBPC 6.25μg/ml, SBPC 6.25μg/ml と PC-904 の感受性が良好であり，>100μg/ml を示した耐性株数も PC-904 が一番少なかった。この傾向は Fig. 10, 11 で示すように菌量を下げるとさらに著しくなった。また感受性相関は Fig. 12, 13, 14, 15 で示すとおりであり，ABPC, CBPC, SBPC との間には顕著な相関関係は認められなかったが，一部の株について PC-904 と ABPC, CBPC, SBPC に交差耐性が認められた。また GM との間では，感性株で相関が見られたが，耐性株では，全く相関関係は認められなかった。

Klebsiella pneumoniae では，Fig. 16, 17 で示すように接種菌量が 10^6 cells/ml の場合 PC-904 は 3.13～100

Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates
E. coli 63 strains (10^6 cells/ml)

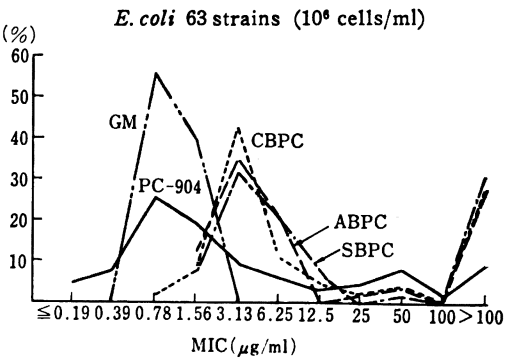


Fig. 11 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
E. coli 63 strains (10^6 cells/ml)

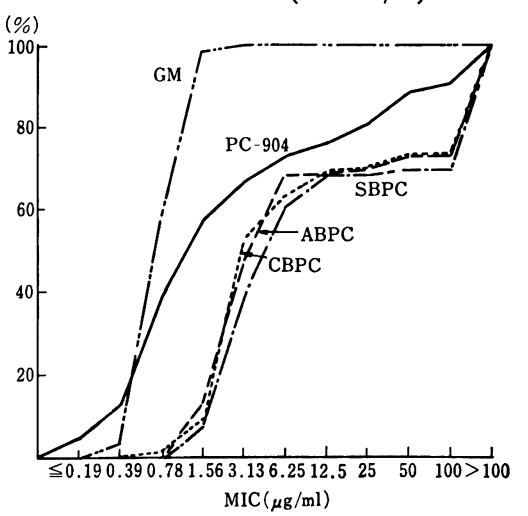


Fig. 12 Cross sensitivity of PC-904 and ABPC
E. coli 63 strains

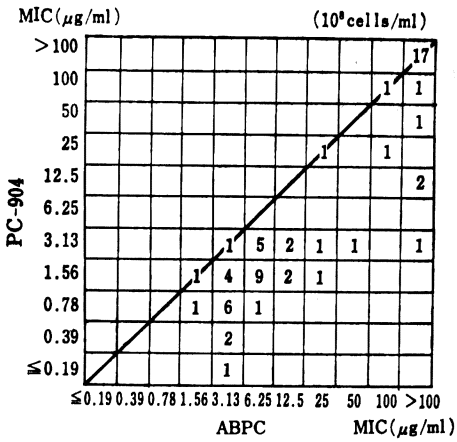


Fig. 13 Cross sensitivity of PC-904 and CBPC
E. coli 63 strains

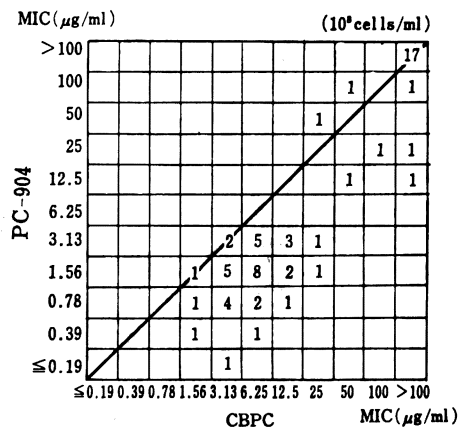


Fig. 14 Cross sensitivity of PC-904 and SBPC
E. coli 63 strains

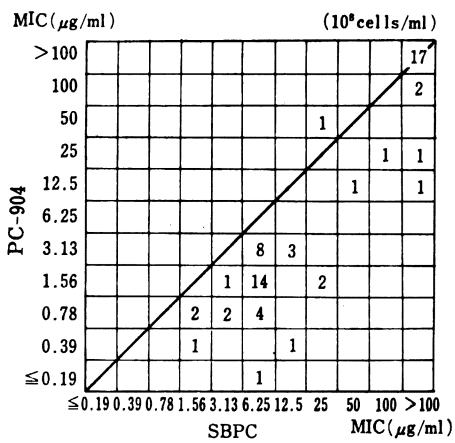


Fig. 15 Cross sensitivity of PC-904 and GM
E. coli 63 strains

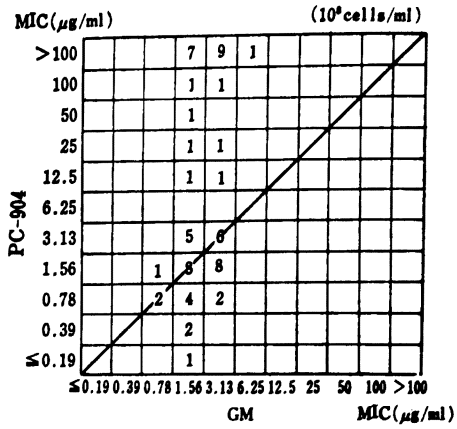


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates
Klebsiella pneumoniae 41 strains (10^6 cells/ml)

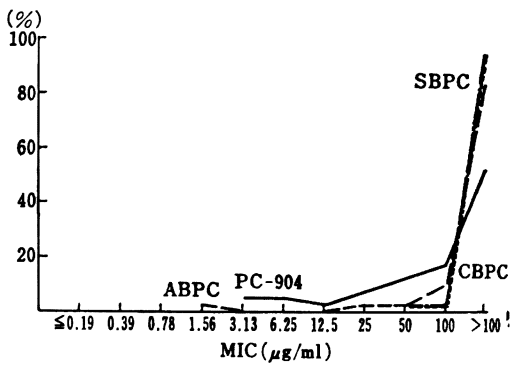
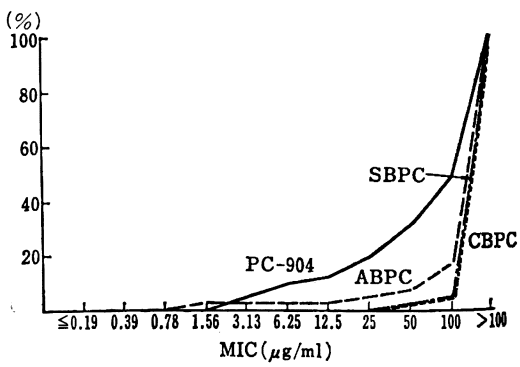


Fig. 17 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Klebsiella pneumoniae 41 strains (10^6 cells/ml)



μg/ml に約 50% の株が感受性を示し，残りは >100 μg/ml であった。ABPC, CBPC, SBPC では約 80～90 % の株が >100 μg/ml を示した。菌量を下げた場合 (Fig. 18, 19)，PC-904 は >100μg/ml の株は 25% と減少し，3.13μg/ml に感受性のピークを示した。ABPC も >100μg/ml の耐性株は約 50% に減少し，25μg/ml にも感受性のピークを示した。CBPC, SBPC も感受性はやや良好となっていた。感受性相関は Fig. 20, 21, 22 で示すように，一部の菌で，PC-904, ABPC, CBPC, SBPC に交差耐性が認められたが，PC-904 が最も良好な感受性を示し，他の 3 剤耐性株で PC-904 だけに感受性を示す株も存在した。

Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates
Klebsiella pneumoniae 41 strains (10^6 cells/ml)

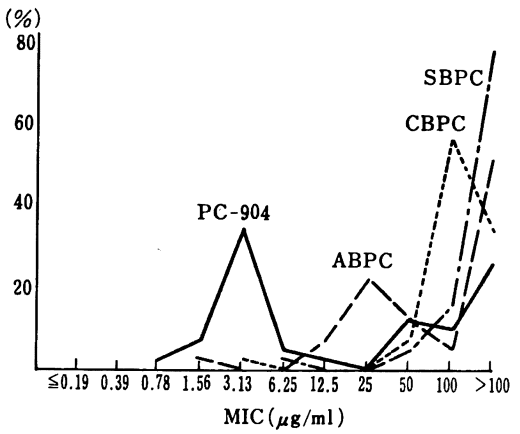


Fig. 19 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Klebsiella pneumoniae 41 strains (10^6 cells/ml)

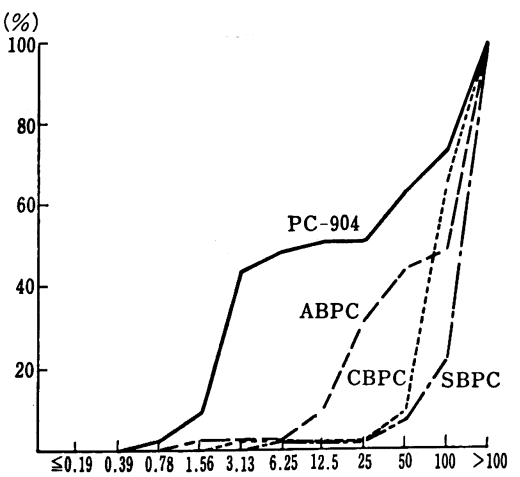


Fig. 20 Cross sensitivity of PC-904 and ABPC
Klebsiella pneumoniae 41 strains

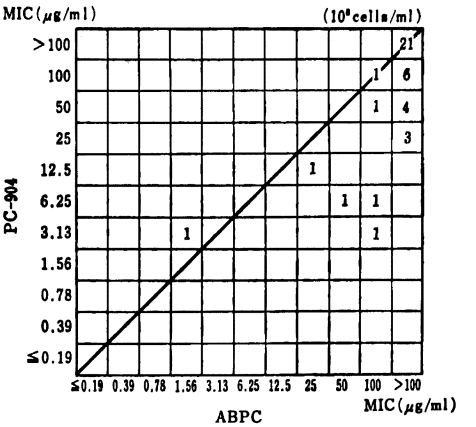


Fig. 21 Cross sensitivity of PC-904 and CBPC
Klebsiella pneumoniae 41 strains

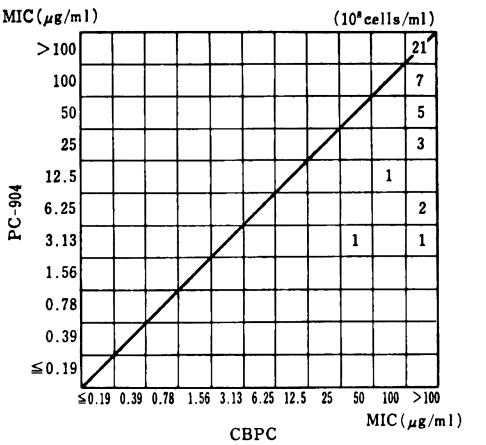
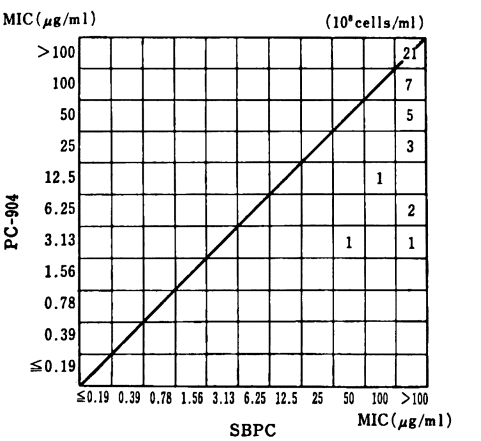


Fig. 22 Cross sensitivity of PC-904 and SBPC
Klebsiella pneumoniae 41 strains



Serratia の場合 10^6 cells/ml では (Fig. 23, 24), 1.56μg/ml に GM が最も良好な感受性を示し, CBPC, SBPC が 3.13～>800 μg/ml に, PC-904 は 6.25～>800 μg/ml に, ABPC が 25～>800 μg/ml に幅広い分布を示した。しかし, >800 μg/ml を示した株は CBPC, SBPC, ABPC の約 60% に比べ, PC-904 は約 30% であった。10^6 cells/ml では Fig. 25, 26 に示すように, CBPC, SBPC, ABPC は菌量を下げてもほとんど変動しなかったが, PC-904 は感性化して >800 μg/ml を示す株は, ほとんど存在しなくなった。感受性相関は Fig. 27, 28, 29, 30 に示すように, CBPC, SBPC

Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates

Serratia 62 strains (10^6 cells/ml)

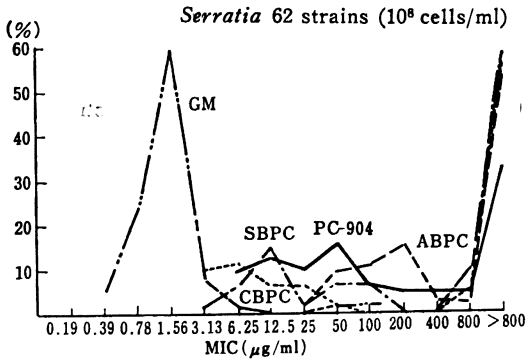


Fig. 24 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates

Serratia 62 strains (10^6 cells/ml)

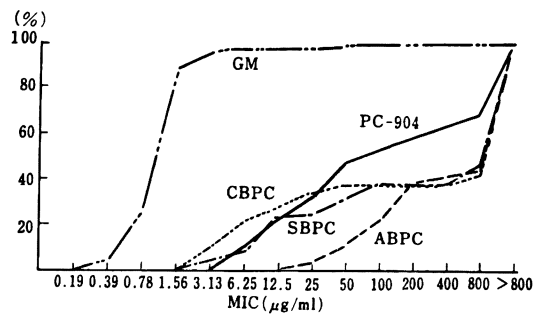


Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates

Serratia 62 strains (10^6 cells/ml)

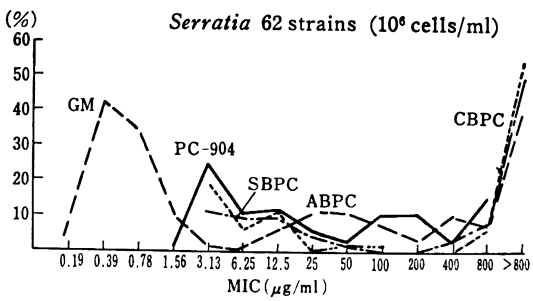


Fig. 26 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates

Serratia 62 strains (10^6 cells/ml)

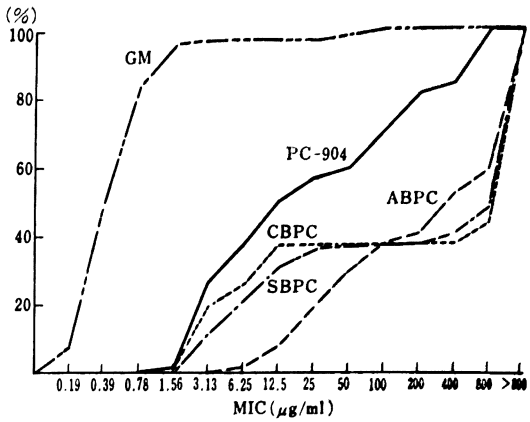


Fig. 27 Cross sensitivity of PC-904 and ABPC

Serratia 64 strains

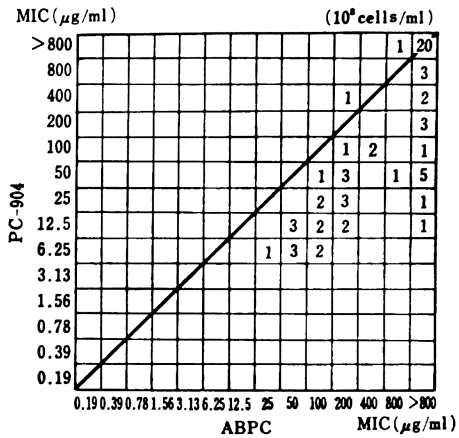


Fig. 28 Cross sensitivity of PC-904 and CBPC

Serratia 62 strains

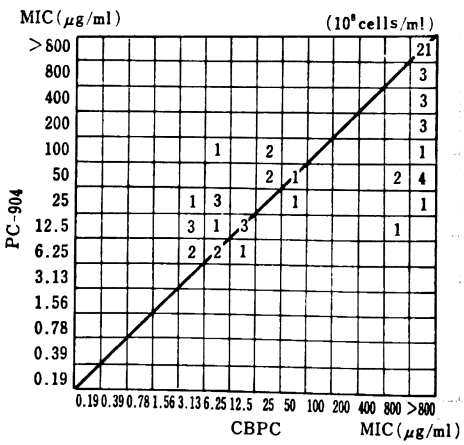


Fig. 29 Cross sensitivity of PC-904 and SBPC, *Serratia* 62 strains

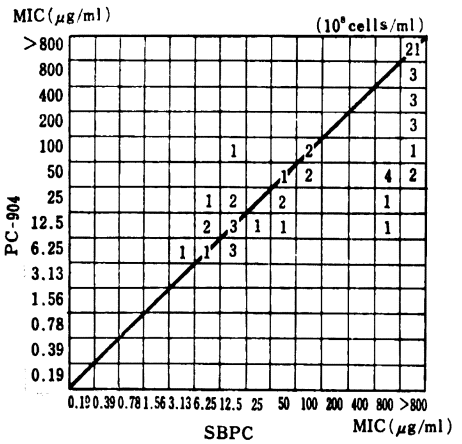


Fig. 30 Cross sensitivity of PC-904 and GM *Serratia* 64 strains

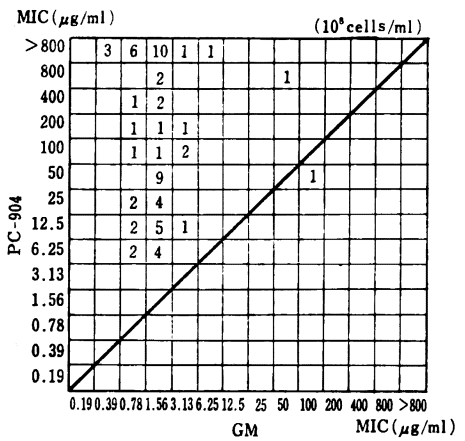
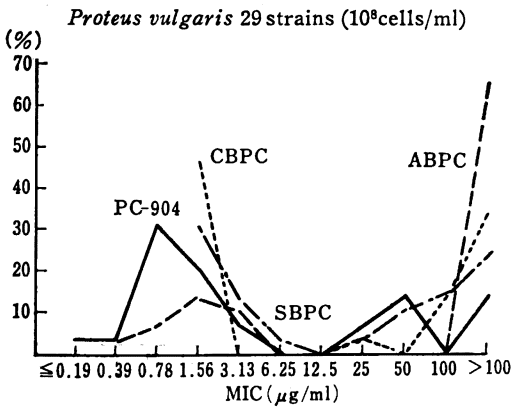


Fig. 31 Sensitivity distribution of clinical isolates

Proteus vulgaris 29 strains (10⁶cells/ml)



との間では，やや相関関係が認められた。また交差耐性を示す株も一部存在していた。GM との間には，全く相関関係が認められず，交差耐性株も存在しなかった。

Proteus vulgaris では Fig. 31, 32 に示すとおり，10^6 cells/ml では PC-904, ABPC, CBPC, SBPC ともに感性と耐性の2峰性のピークを有したが，感性側では，PC-904 は 0.78 μg/ml と最も良好な感受性を示し，耐性側でも >100 μg/ml を示した株は，ABPC の 1/4, CBPC, SBPC の約 1/2 と最も少なかった。10^6 cells/ml では Fig. 33, 34 に示すように，PC-904 は 0.78μg/ml に感受性のピークを示し，菌量が多い場合に>100μg/ml を示した株では，すべて感性化が認められ，4薬剤中，最も良好な感受性を示した。感受性相関では，一部交差耐性を有する株も存在したが，ほとんどの株では，ABPC, CBPC, SBPC との間には相関関係は認められなかった (Fig. 35, 36, 37)。

Proteus mirabilis については，Fig. 38, 39 に示すように，10^6 cells/ml では，PC-904 は感受性のピーク

Fig. 32 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates

Proteus vulgaris 29 strains (10^6 cells/ml)

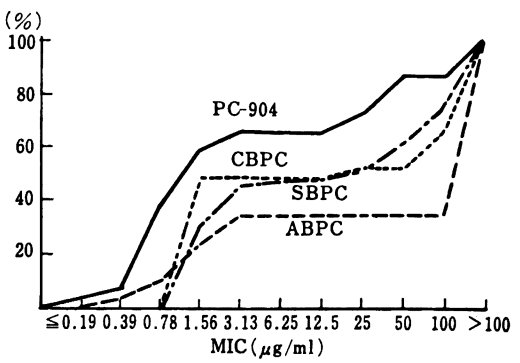


Fig. 33 Sensitivity distribution of clinical isolates

Proteus vulgaris 29 strains (10⁶cells/ml)

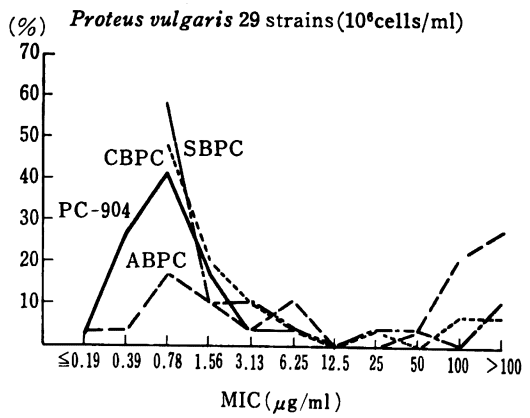


Fig. 34 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus vulgaris 29 strains (10^6 cells/ml)

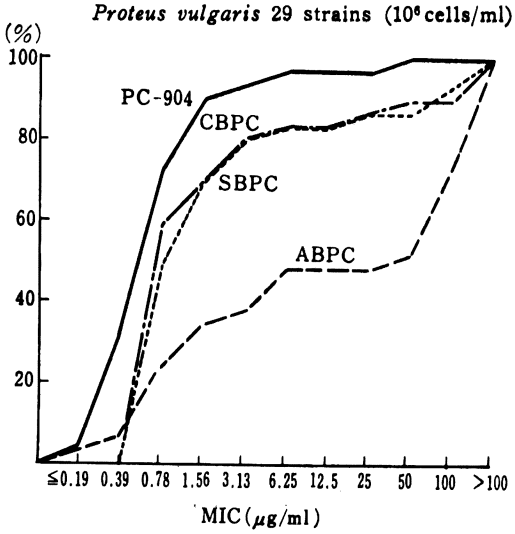


Fig. 35 Cross sensitivity of PC-904 and ABPC
Proteus vulgaris 29 strains

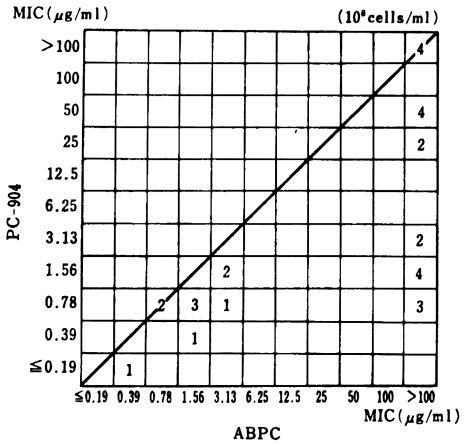


Fig. 36 Cross sensitivity of PC-904 and CBPC
Proteus vulgaris 29 strains

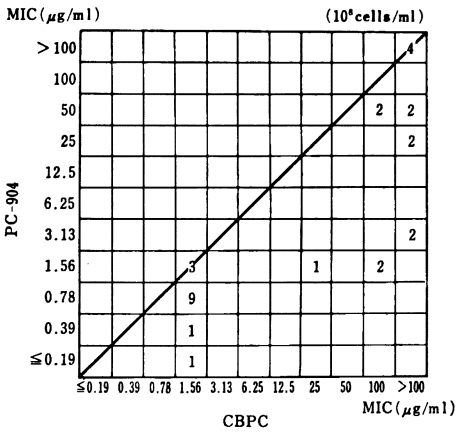


Fig. 37 Cross sensitivity of PC-904 and SBPC
Proteus vulgaris 29 strains

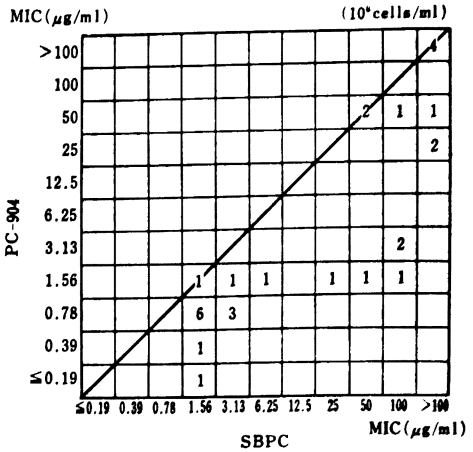


Fig. 38 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus mirabilis 23 strains (10^6 cells/ml)

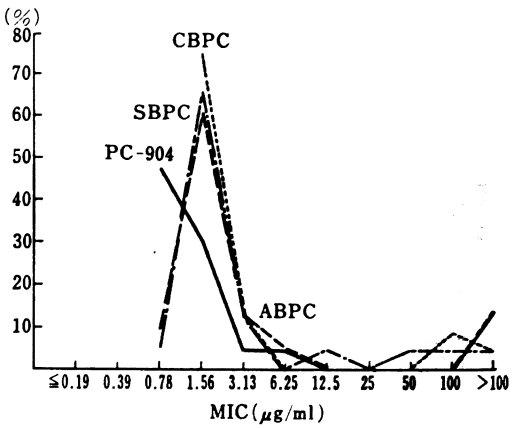
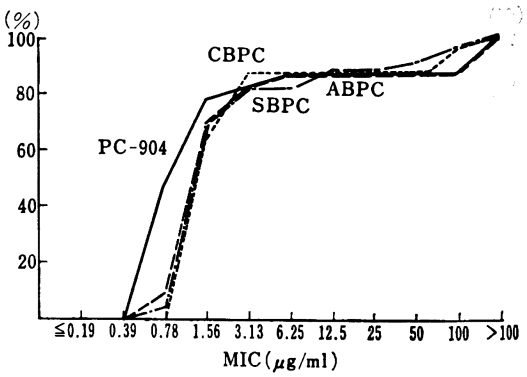


Fig. 39 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus mirabilis 23 strains (10^6 cells/ml)



を 0.78 μg/ml に有し，ABPC, SBPC, CBPC の 1.56 μg/ml に比べると，やや良好であった。菌量を下げると Fig. 40, 41 のように，4薬剤ともやや感性化が認められたが，全体としての傾向は，菌量の多い場合とほとんど同様であった。感受性相関では Fig. 42, 43, 44 に示すように，ABPC, CBPC, SBPC との間に，相関関係が認められた。

Pseudomonas aeruginosa に対しては，10^6 cells/ml では，Fig. 45, 46 に示すように，PC-904 は 3.13 μg/ml, CBPC は 50～100 μg/ml, SBPC は 50 μg/ml に感受性のピークを有し，CBPC, SBPC に比べ非常に優れた感受性を示し，GM の 6.25 μg/ml のピークと比べても優れていた。また Fig. 47, 48 に示すように，10^6

Fig. 40 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus mirabilis 23 strains (10^6 cells/ml)

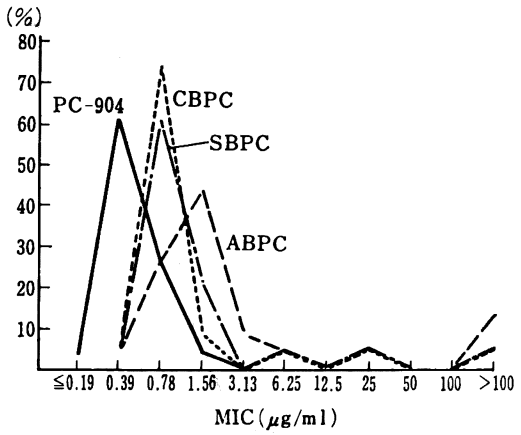


Fig. 41 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus mirabilis 23 strains (10^6 cells/ml)

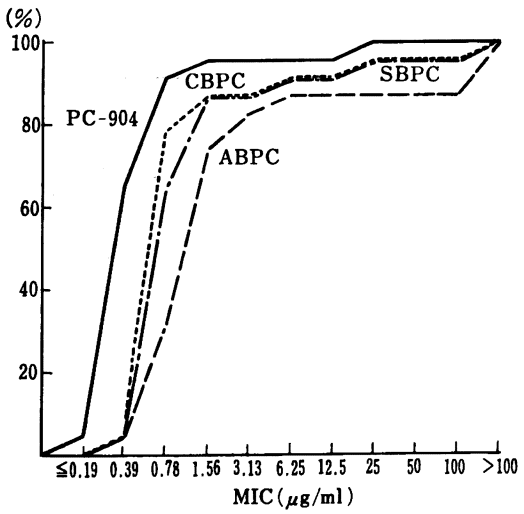


Fig. 42 Cross sensitivity of PC-904 and ABPC
Proteus mirabilis 23 strains

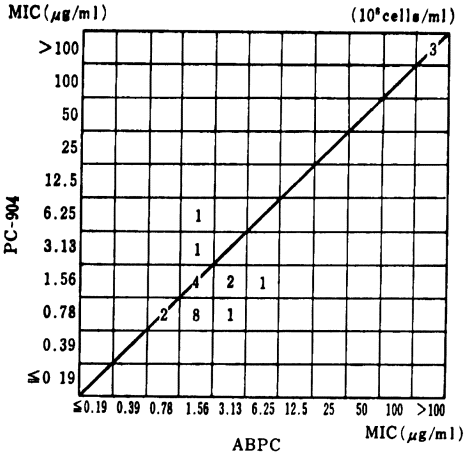


Fig. 43 Cross sensitivity of PC-904 and CBPC
Proteus mirabilis 23 strains

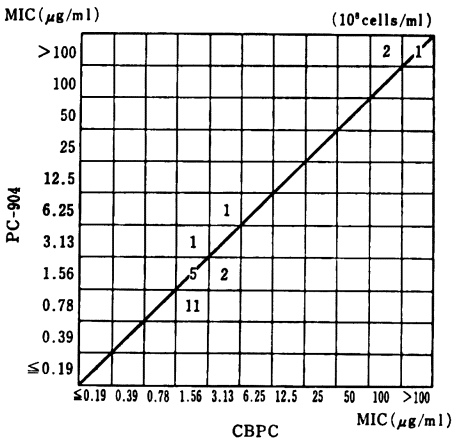
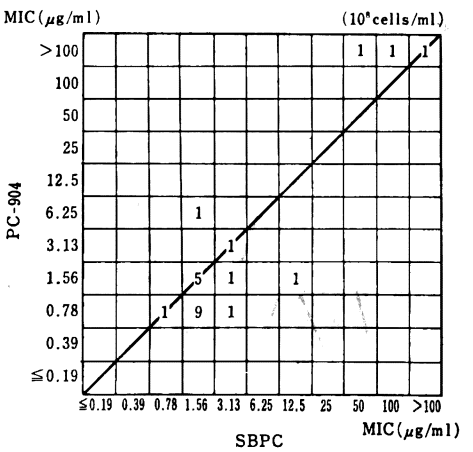


Fig. 44 Cross sensitivity of PC-904 and SBPC
Proteus mirabilis 23 strains



cells/ml においても同様な傾向が認められた。Fig. 49, 50, 51 に示すように，CBPC, SBPC との間には，ほとんど相関関係は認められず，むしろ GM との間に認められたが，交差耐性を示す株は存在しなかった。

以上，臨床分離株に対する感受性分布，感受性相関を検討した結果，*Staphylococcus aureus* においては，PC-904 は ABPC とほとんど類似の感性と耐性のパターンを示し，Penicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* は，PC-904 にも耐性を示し，これらに対しては，CBPC, SBPC のほうが優れていた。また，感性株については，ABPC のほうが優れた感受性を示した。グラム陰性桿菌においては，PC-904 は，CBPC, SBPC, ABPC よりも優れた感受性を示し，とくに *Pseudomonas aeruginosa* でその傾向は著しく，GM の抗菌力よりもやや優れていた。菌量を下げた場合，PC-904 の抗菌力は，他の薬剤

Fig. 45 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa 81 strains (10^8 cells/ml)

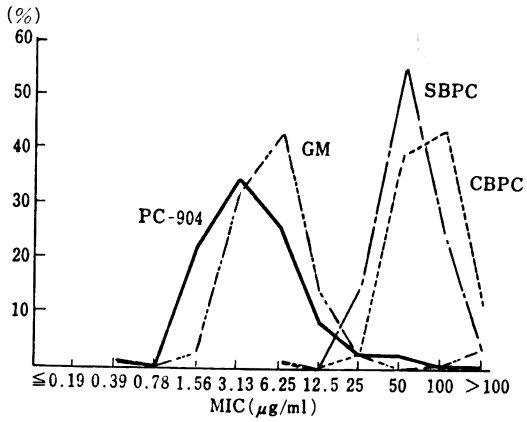


Fig. 46 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa 81 strains (10^8 cells/ml)

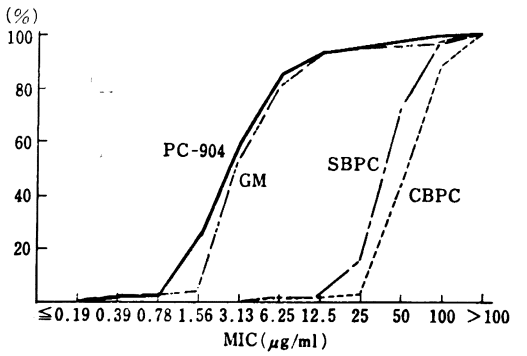


Fig. 47 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa 81 strains (10^6cells/ml)

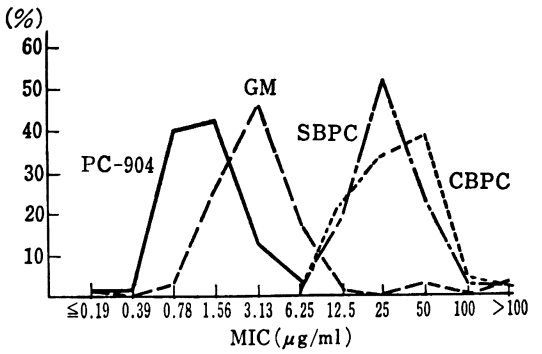


Fig. 48 Cumulative sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa 81 strains (10^6 cells/ml)

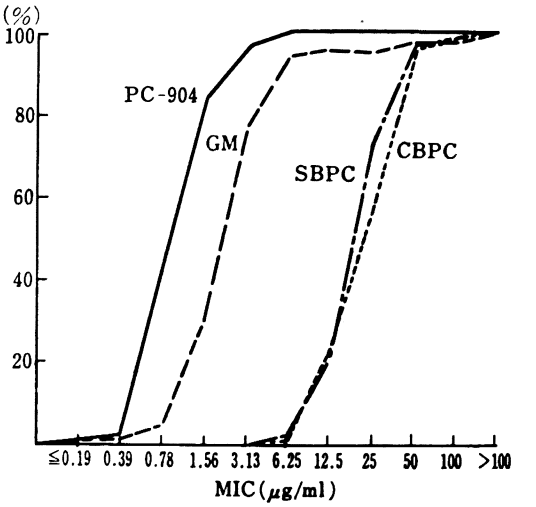


Fig. 49 Cross sensitivity of PC-904 and CBPC
Pseudomonas aeruginosa 81 strains

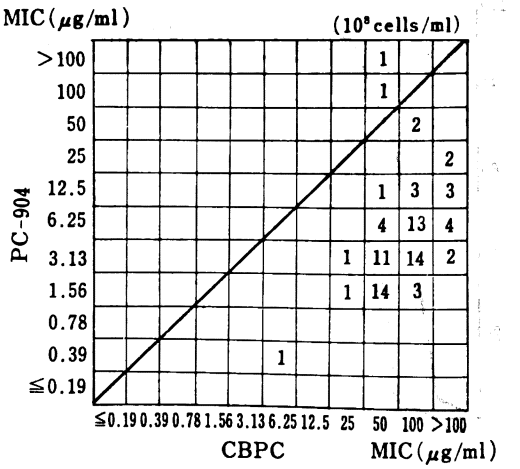


Fig. 50 Cross sensitivity of PC-904 and SBPC, *Pseudomonas aeruginosa* 81 strains

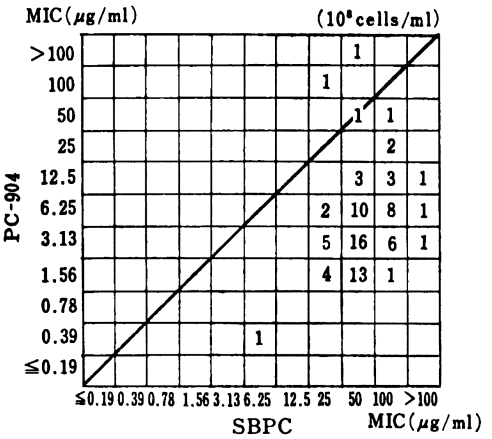
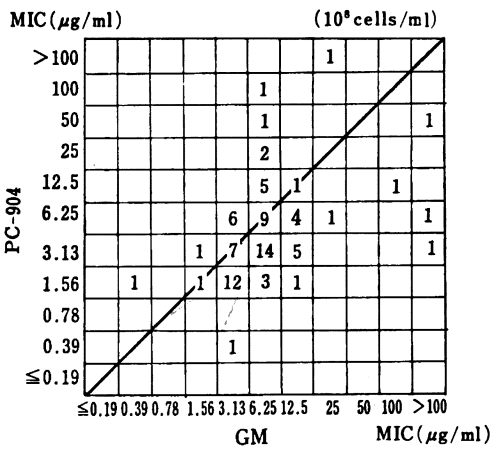


Fig. 51 Cross sensitivity of PC-904 and GM *Pseudomonas aeruginosa* 81 strains



よりもさらに良くなった。しかし，このことは，PC-904が他の3剤より菌量の影響を受けやすいことを示しているとも考えられる。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH，馬血清添加，接種菌量の影響を検討した成績は，Table 3～5 に示すとおりである。

培地 pH の影響では，PC-904 は *Staphylococcus aureus* 209-P JC 株に対して酸性側でやや抗菌力の増強が認められ，*Escherichia coli* NIH JC-2 株，*Pseudomonas aeruginosa* No. 12 株では，ほとんど影響は認められなかった。CBPC は *Staphylococcus aureus* 209-P JC 株は，酸性側で，*Pseudomonas aeruginosa* No. 12 株に対してはアルカリ性で抗菌力が1管程度良好となった。

Table 3 Influence of various factors on activity

MIC (μg/ml)

Factor		*Sta. aureus* 209-P JC		*E. coli* NIH JC-2		*Ps. aeruginosa* No. 12	
		PC-904	CBPC	PC-904	CBPC	PC-904	CBPC
pH	6	0.19	0.19	1.56	12.5	3.13	200
	7	0.39	0.39	1.56	6.25	3.13	200
	8	0.39	0.39	1.56	6.25	3.13	100
	9	0.39	0.78	1.56	12.5	3.13	100
Horse serum (%)	50	0.39	1.56	12.5	25	6.25	200
	25	0.39	1.56	6.25	25	6.25	200
	10	0.39	0.78	3.13	25	3.13	100
	0	0.19	0.78	1.56	12.5	1.56	100

Table 4 Influence of inoculum size on activity

MIC (μg/ml)

Organism	Inoculum size (cells/ml)	PC-904	CBPC
Sta. aureus 209-P JC	7×10^7	0.39	1.56
	7×10^6	0.39	0.78
	7×10^5	0.39	0.39
	7×10^4	0.19	0.39
E. coli NIH JC-2	5×10^7	100	100
	5×10^6	50	25
	5×10^5	1.56	12.5
	5×10^4	1.56	6.25
	5×10^3	0.78	6.25

Table 5 Influence of inoculum size on activity

MIC (μg/ml)

Organism	Inoculum size (cells/ml)	PC-904	CBPC
Ps. aeruginosa No. 12	1.3×10^8	>1,600	>1,600
	1.3×10^7	1,600	400
	1.3×10^6	3.13	100
	1.3×10^5	3.13	100
	1.3×10^4	1.56	50
Ps. aeruginosa E-2	1.0×10^8	>1,600	>1,600
	1.0×10^7	>1,600	800
	1.0×10^6	6.25	200
	1.0×10^5	3.13	100
	1.0×10^4	3.13	100

馬血清添加による影響では，PC-904, CBPC ともに添加により影響を受け，とくに *Escherichia coli* NIH JC-2 株，*Pseudomonas aeruginosa* No. 12 株の場合，PC-904 では，血清濃度が高くなるに従って 1.56 から 12.5 μg/ml，1.56 から 6.25 μg/ml と MIC が変動し，

CBPC よりもその変動は大きかった。

また，接種菌量による影響では，*Staphylococcus aureus* 209-P JC 株を除いて，PC-904，CBPC ともに菌量が多くなると MIC 値に大きな変動が認められた。*Pseudomonas aeruginosa* No. 12，E-2 株の場合，PC-904 は菌量が 10^6 と 10^7 cells/ml を境として急激な変動が認められ，CBPC は 10^7 cells/ml までは徐々に変動し，10^8 cells/ml ではじめて >1,600 μg/ml に MIC 値が上昇することから，PC-904 のほうが CBPC に比べて，接種菌量の影響を受けやすいように思われた。

4. β-lactamase に対する安定性

Penicillin, Cephalosporin 耐性の臨床分離 *Escherichia coli* No. 18 株の β-lactamase に対する安定性を検討した成績は Fig. 52 に示すとおりである。

PC-904, CBPC, ABPC とも酵素希釈倍数 $\times 2^{18}$ から不活化を受けはじめ，$\times 2^9$ で 100% 不活化された。3 剤ともに同様な挙動を示すことが認められた。

5. 増殖曲線に及ぼす影響

PC-904 の抗菌作用が殺菌的であるのかどうか，また 3. の実験より CBPC に比べ菌量の影響を受けやすいと思われたので，さらに詳細な検討を行なった。すなわち *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株を用い薬剤添加時の菌量を 4 段階に分けて，それぞれの菌量について，増殖曲線に及ぼす影響を検討した。結果は Fig. 53～60 に示すとおりである。

対数初期の 3×10^6 cells/ml で PC-904，CBPC をそれぞれ MIC 濃度 (PC-904 : 3.13μg/ml, CBPC : 50μg/ml) を中心に 1/4, 1, 4 MIC 濃度を作用させた場合，Fig. 53, 54 に示すように，両薬剤とも MIC 濃度以上で，著明な殺菌作用を示した。とくに PC-904 は，3.13μg/ml と 12.5μg/ml でほとんど殺菌効果に差が認められず，CBPC は 50μg/ml と 200μg/ml では，濃度に応じた殺菌効果が認められた。8×10^6 cells/ml で作用させた場合，Fig. 55, 56 に示すように，PC-904 は MIC 濃度以上で 2 時間まで静菌的で，それ以後殺菌的に作用したが，CBPC は，MIC 濃度では静菌的であり，10 MIC 作用で殺菌的であった。菌量をさらにあげて，対数中期の 7.5×10^7 cells/ml (Fig. 57, 58)，後期の 2×10^8 cells/ml (Fig. 59, 60) で作用させると，PC-904 は 3.13,

Fig. 52 Stability of PC-904, CBPC and ABPC to β-lactamase

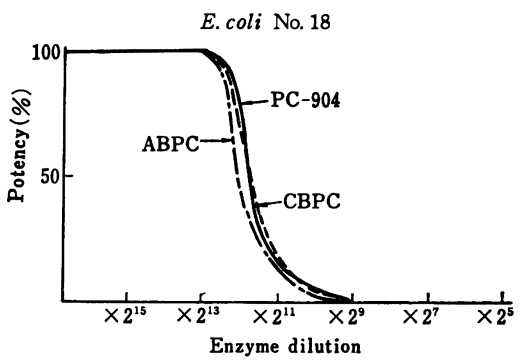


Fig. 53 Effect of PC-904 on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2

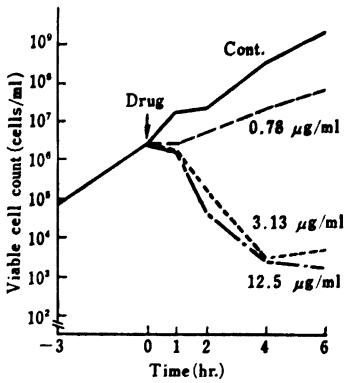


Fig. 54 Effect of CBPC on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2

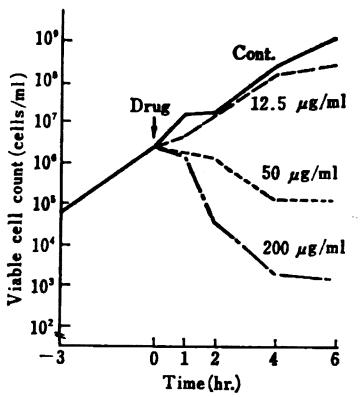


Fig. 55 Effect of PC-904 on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2

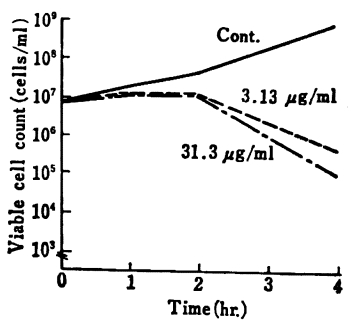


Fig. 56 Effect of CBPC on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2

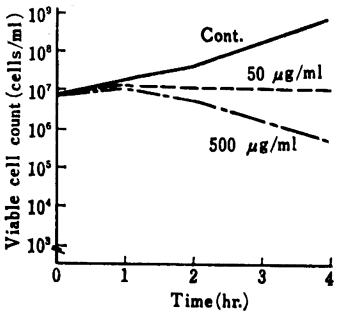


Fig. 57 Effect of PC-904 on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2

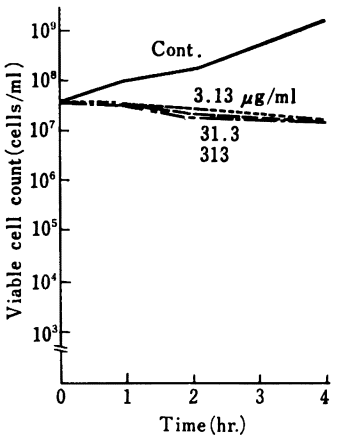
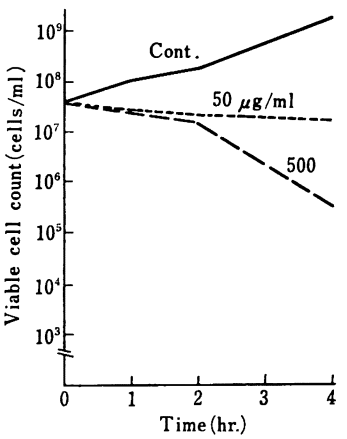


Fig. 58 Effect of CBPC on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2



31.3, 313 μg/ml すべての濃度で全く静菌的な作用しか示さなかった。一方 CBPC 50μg/ml では静菌的であったが，500 μg/ml, 2,500 μg/ml では，濃度に応じた殺菌作用を示した。

Fig. 59 Effect of PC-904 on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2

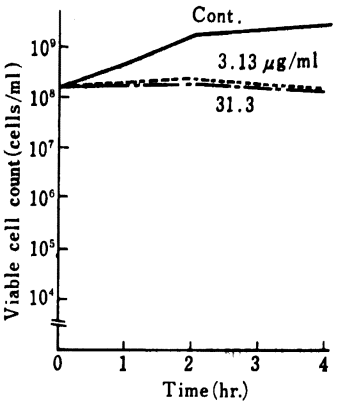
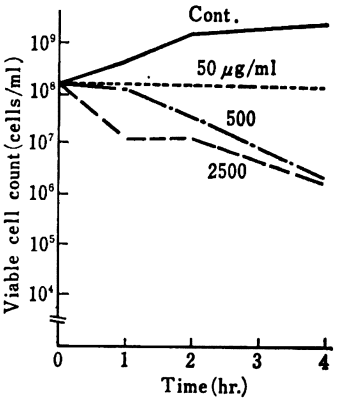


Fig. 60 Effect of CBPC on the growth curve of *Ps. aeruginosa* E-2



以上のことから，PC-904 は 10^6 cells/ml 以下では，CBPC よりも顕著な殺菌作用を示したが，10^7 cells/ml 以上では静菌的で菌量による影響を CBPC よりも受けやすいことが認められた。このような傾向は，近年，抗緑膿菌剤として開発された T-1220[8]，BAY f 1353, PC-455 などの Penicillin 誘導体に共通して認められる。この原因として BL-P 1654 について PRICE[9] らは β-lactamase に対する安定性が比較的悪いこと，また SANDERS[10] らは mutant の出現をあげている。しかしこのような考えからですべてを説明することは，困難であり，これらの薬剤が他の Penicillin とは少し異なった作用部位を有するかも知れず，興味がもたれる。現在さらに詳しく検討を進めているので，次回に報告したい。

6. マウス実験的感染症に対する治療効果

i) *Staphylococcus aureus* 感染症に対する治療効果

Staphylococcus aureus Smith 感染症に対する治療効

Table 6 Protecting effect of PC-904 and CBPC against experimental mice infections

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Administration		ED_{50} (mg/mouse)	
		Times/day	Time (after inf.)	PC-904	CBPC
Sta. aureus Smith	5.2×10^6 (50 LD_{50})	1	2 hr.	0.1	0.034
		2	2, 4 hr.	0.065	0.041
		3	2,4,6 hr.	≧0.1	0.029
E. coli No. 29	1.1×10^6 (160 LD_{50})	1	2 hr.	1.23	1.74
		2	2, 4 hr.	0.31	0.75
		3	2,4,6 hr.	0.35	0.88
Ps. aeruginosa E-2	1.0×10^8 (150 LD_{50})	1	2 hr.	0.84	6.0
		2	2, 4 hr.	0.54	6.75
		3	2,4,6 hr.	<0.625	6.7

果を，治療回数の面から検討した成績は，Table 6 に示すとおりである。菌接種 2 時間後に 1 回治療の ED_{50} 値は PC-904 が 0.1 mg/mouse で，CBPC は 0.034 mg/mouse となり，2，4 時間後に 2 回分割治療では，それぞれ 0.065 mg/mous, 0.041 mg/mouse，2，4，6 時間後に 3 回の分割治療では ≧0.1 mg/mouse，0.029 mg/mouse となり，1 回，2 回，3 回ともに CBPC のほうが優れた治療効果を示した。また PC-904 の 2 回分割治療が 1 回，3 回よりもやや優れていたが，CBPC は分割効果はほとんど認められなかった。

ii) *Escherichia coli* 感染症に対する治療効果

Staphylococcus aureus と同様に *Escherichia coli* No. 29 感染症での治療効果を検討した成績を Table 6 に示した。1 回治療の ED_{50} 値は，PC-904 1.23 mg/mouse，CBPC は 1.74 mg/mouse となり，PC-904 のほうがやや良好であったが，2 回の分割治療では，PC-904 は 0.31 mg/mouse，CBPC 0.75 mg/mouse，3 回分割治療では 0.35 mg/mouse，0.88 mg/mouse となり，分割すると PC-904 のほうが ED_{50} 値は CBPC の約 1/2 以下となり，さらに良好な治療効果を示した。また分割治療を行なうと，その ED_{50} 値が PC-904 では 1 回治療の約 1/4，CBPC は約 1/2 となり，*Staphylococcus aureus* Smith 株の場合とは異なり，両薬剤ともに，分割治療の効果が認められ，とくに PC-904 でその効果が著しく，2 回分割治療が 3 回分割治療よりもやや有効であった。

iii) *Pseudomonas aeruginosa* 感染症に対する治療効果

Pseudomonas aeruginosa E-2 感染症の治療効果を前述の 2 菌株と同様に検討し，その結果を Table 6 に示した。各治療回数での ED_{50} 値を PC-904，CBPC で比較すると，1 回治療では PC-904 は 0.84 mg/mouse，CBPC 6.0 mg/mouse，2 回治療では 0.54 mg/mouse，6.75 mg/mouse，3 回治療では <0.625 mg/mouse，6.7 mg/mouse となり，PC-904 は CBPC より優れた治療効果を示した。この値は *in vitro* のこの菌株に対する MIC 値（PC-904 3.13 μg/ml，CBPC 50 μg/ml）を反映していると思われる。また PC-904 では，*Escherichia coli* No. 29 株と同様に分割治療効果が認められ，とくに 2 回分割が有効であったが CBPC ではその効果は認められず，かえって 1 回治療のほうが有効であった。

次に PC-904 は *in vitro* で接種菌量の影響を受けやすいことが認められたので，*Pseudomonas aeruginosa* E-2 株の接種菌量を 3.5×10^5 cells/mouse，3.5×10^8 cells/mouse の 2 段階とし，その治療効果を表わしたのが Table 7 である。すなわち 3.5×10^8 cells/mouse 接種では，PC-904 の ED_{50} 値は 2.44 mg/mouse，CBPC では 8.5 mg/mouse であり，3.5×10^5 cells/mouse では，それぞれ >40 mg/mouse，>80 mg/mouse となり，PC-904，CBPC ともに菌量の影響を受けることが認められた。今回行なった実験では，3.5×10^5 cells/mouse 接種で，その ED_{50} 値が求められなかったので，*in vitro* で認められたような PC-904 と CBPC の差を明確にすることができなかった。

iv) *Klebsiella pneumoniae* 感染症に対する治療効果

Klebsiella pneumoniae 感染症における治療効果を接種菌量と，分割投与の面から検討し，その成績を Table 8 にまとめた。なお分割治療の回数は，PC-904 が他の菌株で最も有効であった菌接種後 2，4 時間の 2 回治療

Table 7 Influence of challenge dose on ED_{50} *Ps. aeruginosa* E-2 (mg/mouse)

Antibiotics / cells/mouse	PC-904	CBPC
3.5×10^5 (7,000 LD_{50})	>40	>80
3.5×10^8 (70 LD_{50})	2.44	8.5

Table 8 Protecting effect of PC-904 and CBPC against experimental mice infections

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Administration		ED_{50} (mg/mouse)	
		Times/day	Time (after inf.)	PC-904	CBPC
Klebsiella pneumoniae	5.2×10^8 (300 LD_{50})	1	2 hr.	3.25	12.5
		2	2, 4 hr.	0.78	2.25
	5.2×10^1 (3 LD_{50})	1	2 hr.	1.26	2.38
		2	2, 4 hr.	0.34	1.03

だけで行なった。

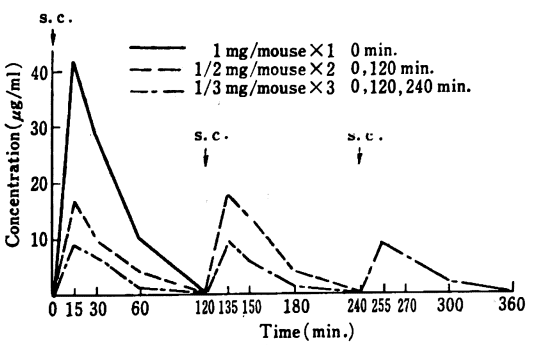
5.2×10^8 cells/mouse 接種の場合，PC-904 の1回治療の ED_{50} 値は 3.25 mg/mouse，2回では 0.78 mg/mouse となり，分割により1回治療の約4倍治療効果が良くなった。CBPC では1回治療が 12.5 mg/mouse，2回では 2.25 mg/mouse となり分割により，1回治療の約5倍治療効果が良くなった。5.2×10^1 cells/mouse では，PC-904 は1回治療で 1.26 mg/mouse，2回は 0.34 mg/mouse となり1回治療の約4倍，CBPC は，1回治療が 2.38 mg/mouse，2回が 1.03 mg/mouse で，約2倍と分割により治療効果が良くなり，両薬剤ともに，2回分割治療のほうが，優れた治療効果を示した。また PC-904 は，菌量が多い場合も，少ない場合もその分割治療効果はほとんど変わらなかったが，CBPC では菌量の多い場合のほうが分割による治療効果の増大が著しかった。

次に菌量の面から検討してみると，菌量が 5.2×10^1 cells/mouse から 5.2×10^8 cells/mouse になると ED_{50} 値が，1回治療では PC-904 は約 2.6 倍，CBPC は約 5.2 倍，2回治療では，両薬剤ともに約 2.2 倍と治療効果が悪くなった。両薬剤ともに，接種菌量が増すと，その治療効果が悪くなり，菌量の影響が認められ，その傾向は PC-904 よりも CBPC のほうが大きいように思われた。また，全体として，*Klebsiella pneumoniae* 感染症における治療効果は，その ED_{50} 値より判断して，PC-904 が CBPC よりも優れていた。

7. マウス血中濃度

マウス実験的感染症での PC-904 の治療効果が分割投与，とくに2回分割において，より良好となることが認められたので，その際のマウスの血中濃度について検討し，その成績を Fig. 61 に示した。投与に用いた PC-904 の濃度は，*Pseudomonas aeruginosa* E-2 感染症での2回分割治療の ED_{50} 値の約2倍である 1 mg/mouse とした。

Fig. 61 Concentration of PC-904 in serum after subcutaneous administration in mice



1 mg 1回，1/2 mg を2時間ごと2回，1/3 mg を2時間ごとに3回投与すると，投与15分後に，それぞれ 42 μg/ml，17 μg/ml，9 μg/ml のピークを示し，それ以後は，徐々に血中から減少し，2時間後には，ほとんど消失していた。また2回分割，3回分割ともに，2時間ごとに同様なパターンを繰り返した。

Pseudomonas aeruginosa E-2 株に対する PC-904 の MIC は 3.13 μg/ml であり，この濃度以上の PC-904 の持続時間を Fig. 61 から割り出すと，1 mg 1回では約 1.5 時間，1/2 mg 2回では約 2.3 時間，1/3 mg 3回でも約 2.3 時間となり，1回に 1 mg 投与するよりも，むしろ 2，3 回に分割したほうが MIC 以上の血中濃度維持時間は延長された。このことが，PC-904 の治療実験の際に，分割治療がより有効となった一因ではないかと考えられる。すなわち，PC-904 の治療効果を左右する大きな要因は，血中濃度の高さよりも，むしろ最小有効濃度の総維持時間であると思われる。また維持時間がほぼ同様であるのに，2回分割治療が，3回分割よりも有効であるということは，PC-904 の血中濃度が MIC 以下になり，次に投与するまでの谷間時間の長さに原因するのではないかと考えられる。

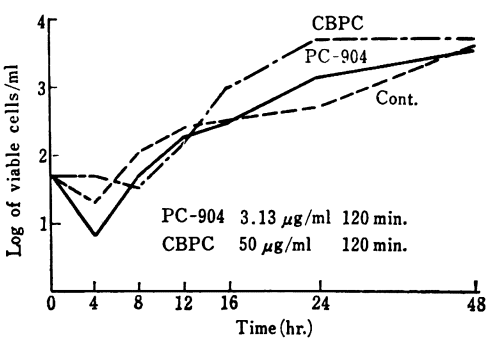
8. PC-904 および CBPC 前処理 *Pseudomonas aeruginosa* の性状について

PC-904 をグラム陰性桿菌に作用させると菌体は著しくフィラメント状となる。このフィラメント状になった菌の性状について，*Pseudomonas aeruginosa* を用いて検討を行なった。

i) マウス腹腔内における前処理菌の動向

PC-904，または CBPC で前処理し，フィラメント状になった *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株をマウス腹腔内に接種し，一定時間ごとに腹腔内の菌数の消長を測定し，Fig. 62 にその成績を示した。最初の接種菌量は，

Fig. 62 Viability of the peritoneal cavity in mice after intraperitoneal injection with PC-904 and CBPC treated *Ps. aeruginosa* E-2



Pseudomonas aeruginosa E-2 感染症に用いる菌数とほぼ同じ量とした。

菌接種4時間後に正常菌，PC-904 前処理菌が，また8時間後に CBPC 前処理菌の菌数が減少するが，以後は増殖をはじめ，48時間まで正常菌とほとんど同様な傾向で増殖した。菌の消失は認められず，正常菌および前処理菌との間にも，その差はほとんど認められなかった。

ii） *in vitro* における前処理菌の動向

マウス腹腔内では，ほとんど正常菌と前処理菌との間には差を認められなかった。これを解析するために，まず *in vitro* で，薬剤除去後の前処理菌の再増殖の状態を検討した。その結果は Fig. 63 に示すように，薬剤除去後新しい培地に移すと，フィラメント状の前処理菌はすぐに再分裂をはじめ，その後の増殖の状態は正常菌と全く変わりがなく，PC-904 と CBPC との間にも差は認められなかった。

iii） モルモット腹腔PMNによる前処理菌の食菌現象

次に，PC-904，CBPC の作用によりフィラメント状になった *Pseudomonas aeruginosa* がモルモット腹腔 PMN によりどのように食菌されるかについて検討を行ない，Fig. 64 のような成績を得た。すなわち，フィラメント状にされた菌は正常菌に比べ，約2倍 PMN に貪食されやすい傾向が認められたが，PC-904 と CBPC 前処理菌のあいだには，ほとんど差は認められなかった。

以上の結果から，PC-904 および CBPC で前処理されフィラメント状となった *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株は正常菌に比べて，モルモット腹腔 PMN に貪食されやすくなり，その性状変化が認められたが，*in vitro* で見られたように，薬剤の存在しない状態では，すぐに再分裂をはじめ増殖していった。マウス腹腔内にフィラメント状になった菌を接種しても，すぐに再分裂を開始するために，その動向は，正常菌とほとんど変わらなかったものと考えられた。

Fig. 63 The recovery of PC-904 and CBPC-treated *Ps. aeruginosa* E-2

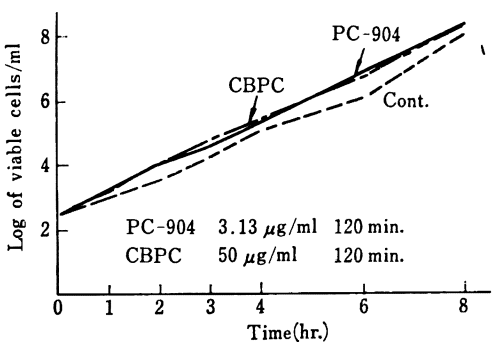
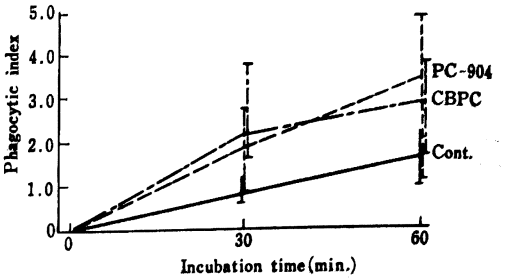


Fig. 64 Phagocytosis of *Ps. aeruginosa* E-2 treated with PC-904 and CBPC by guinea pig PMN



III. ま と め

新しく開発された PC-904 について Ampicillin (ABPC), Carbenicillin (CBPC), Sulbenicillin (SBPC), Gentamicin (GM) を比較薬剤として細菌学的評価を行なった結果，次のような成績がえられた。

1. PC-904 は，グラム陽性，陰性菌群に幅広い抗菌スペクトラムを有し，*Pseudomonas aeruginosa* にも優れた抗菌力を示した。

2. 臨床分離 *Staphylococcus aureus* の Penicillin 感性株には，ABPC についで優れていたが，Penicillin 耐性株では CBPC, SBPC のほうが優れていた。グラム陰性桿菌の *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* に対しては PC-904 が最も優れ，*Escherichia coli*, *Serratia* に対しては PC-904 が GM についで優れた抗菌力を示し，接種菌量を 10^8 から 10^6 にすると，その傾向はさらに著しくなった。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響では，試験菌が *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* の場合，培地への血清添加と，接種菌量の増加により抗菌力の低下が認められ，とくに接種菌量による影響では，PC-904 は CBPC より影響を受けやすかった。

4. Penicillin, Cephalosporin 耐性 *Escherichia coli* の産生する β-lactamase により PC-904 は ABPC, CBPC とほとんど同様な傾向で不活化された。

5. 増殖曲線に及ぼす影響では，*Pseudomonas aeruginosa* E-2 株の対数期途上で，菌数が 10^6 cells/ml のときに PC-904 を作用させると，MIC 以上の濃度で殺菌作用を示したが，10^7～10^8 cells/ml では，MIC 濃度の 100 倍を作用させても，静菌的な作用しか示さず，CBPC よりも菌量の影響を受けやすかった。

6. マウス実験的感染症では，*Staphylococcus aureus* Smith 感染症の場合，CBPC のほうが良好な治療

効果を示し，また分割治療による ED_{50} 値の変動は，PC-904 の2回分割がやや有効であったが，CBPC ではほとんど認められなかった。*Escherichia coli* No. 29, *Pseudomonas aeruginosa* E-2, *Klebsiella pneumoniae* 感染症の場合は，PC-904 のほうが優れた治療効果を示し，かつ分割治療とくに2回分割の治療効果が最も優れていた。また，菌量の影響を検討したが，PC-904, CBPC ともに接種菌量による ED_{50} 値の変動が見られた。

7. 分割治療が有効であったため，そのときの PC-904 のマウス血中濃度を検討した。PC-904 は投与以後2時間で，ほとんど血中から消失し，2時間ごとの分割投与では，同一のパターンをくり返し，MIC 濃度以上の血中持続時間は，分割投与のほうが，1回投与に比べて長くなっていた。

8. PC-904, CBPC の作用によりフィラメント状になった *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株の性状を検討した。フィラメント状の菌は，モルモット腹腔 PMN に正常菌よりも貪食されやすかったが，薬剤の存在しない状態ではすみやかに再分裂をはじめ，増殖していくため，*in vitro*, *in vivo* ともに正常菌と同様の動向を示した。

文　献

1) NOGUCHI, H. ; Y. EDA, H. TOBIKI, T. NAKAGOME & T. KOMATSU : PC-904, a novel broad-spectrum semisynthetic penicillin with marked antipseudomonal activity : Microbiological evaluation. Antimicr. Agents & Chemoth. 9 : 262～273, 1976
2) 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
3) KNUDSEN, E. T. ; G. N. ROLINSON & R. SUTHERLAND : Carbenicillin : A new semisynthetic penicillin active against *Pseudomonas pyocyaneae*. Brit. Med. J. 3 : 75～78, 1967
4) 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 : 21～27, 1972
5) 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 : 1095～1105, 1969
6) 中沢昭三，和島　剛，井沢武年，津田三和，原良子：合成ペニシリン Sulfobenzyl penicillin に関する細菌学的評価。Chemotherapy 19 : 867～874, 1971
7) 中沢昭三，横田芳武，金森政人，吉田進彦，石田邦子：新抗生物質 Gentamicin に関する細菌学的研究。Chemotherapy 15 : 477～482, 1967
8) 西野武志，大槻雅子，渡辺泰雄，戸田正人，中沢昭三：T-1220 に関する細菌学的研究。Chemotherapy 25 : 731～746, 1977
9) PRICE, K. E. ; F. LEITNER, M. MISIEK, D. R. CHISHOLM & T. A. PURSIANO : BL-P 1654, a new broad-spectrum penicillin with marked antipseudomonal activity. Antimicr. Agents & Chemoth. p. 17～29, 1971
10) SANDERS, C. C. & W. E. SANDERS : BL-P 1654 a new bacteriostatic penicillin. Antimicr. Agents & Chemoth. 7 : 435～440, 1975

LABORATORY STUDIES WITH A NEW BROAD-SPECTRUM PENICILLIN, PC-904

TAKESHI NISHINO, YOSHIMI HIRAI, SAKUO YAMADA and KAZUKO NAKATANI

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy, Kyoto

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of PC-904 was compared with that of Ampicillin (ABPC), Carbenicillin (CBPC), Sulbenicillin (SBPC) and Gentamicin (GM). The following results were obtained.

1) PC-904 showed broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria.

2) PC-904 was more active than ABPC, CBPC and SBPC against gram-negative bacteria such as *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* and *Pseudomonas aeruginosa* which were isolated from clinical specimens.

Most striking was the inhibitory effect of PC-904 against *Ps. aeruginosa*. PC-904 was at least 30 times more active than CBPC against *Ps. aeruginosa*. The susceptibility of PC-904 against *Ps. aeruginosa* was located at 3.13 μg/ml, which was comparable to that of GM.

3) Influence of medium pH and horse serum protein on *in vitro* antibacterial activity of PC-904 showed the same tendency to CBPC. The antibacterial activity of PC-904 decreased as inoculum size became heavier.

4) Stability of PC-904 to β-lactamase extracted from penicillin and cephalosporin resistant *E. coli* was generally similar to that of ABPC and CBPC.

5) PC-904 was bactericidal against most sensitive organisms at concentrations generally equal to or only two fold higher than the minimum inhibitory concentration. Bactericidal action of PC-904 has turned out to be bacteriostatic as inoculum size became heavier.

6) It was confirmed that PC-904 had a very potent *in vivo* antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria. Against systemic infection with *E. coli* No. 29, *K. pneumoniae* and *Ps. aeruginosa* E-2 in mice, PC-904 is several times more active than CBPC.

The therapeutic efficacy of PC-904 on multiple administrations was more effective than that of CBPC.

7) The filamentous cells of *Ps. aeruginosa* E-2 exposed to PC-904 and CBPC were actively ingested by phagocytes of guinea pig, but the intact cells were not.