

新合成ペニシリン PC-904 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用

小松敏昭・井沢昭雄・入江健二・木崎容子
奥田隆夫・江田靖子・赤栗信二・野口 浩

住友化学工業株式会社医薬事業部研究開発センター

近年、グラム陰性桿菌、とくに弱毒性の緑膿菌、肺炎桿菌、セラチアなどによる感染症が増加し治療上の問題となっている。著者らは β -ラクタム系誘導体の中からこれらの菌に有効な化合物の検索を行ない、ampicillin の $-\text{NH}_2$ 基の acyl 化誘導体に抗緑膿菌活性を認め、それらの化合物の中から PC-904 を選びその抗菌活性を主として carbenicillin および gentamicin を対照として *in vitro*, *in vivo* 両面から検討したので報告する。

PC-904 の化学構造は Fig.1 のとおりである。

I. 実験材料と方法

1. 薬剤

PC-904: 住友化学工業株式会社に合成されたものを使用した。

carbenicillin: 藤沢薬品工業株式会社のグリベニンをを用いた。以下 CBPC と略す。

gentamicin: 塩野義製薬株式会社のゲンタシンを使用した。以下 GM と略す。

以上、3 剤とも力価換算により実験を行なった。

2. 抗菌スペクトラム

当研究室保存の標準株に対する試験管内抗菌力を日本化学療法学会標準法²⁾に従って測定した。すなわちトリプトソヤブイオン(ニッスイ)(以下 TSB と略す)に前培養し、ハートインフュージョン寒天(ニッスイ)(以下 HIA と略す)を測定用培地とした。接種菌量は 10^6 /ml および 10^8 /ml の 2 点法によった。なお *Streptococcus* 属は 5% 家兎血液加 HIA 培地、*Haemophilus influenzae* の場合はチョコレート寒天培地を用いた。*Neisseria gonorrhoeae* は GC 培地(栄研)を用い、5% CO_2 存在下で培養した。また嫌気性菌の場合は GAM 培地(ニ

ッスイ)を使用し Gas Pak System(BBL) による嫌気条件下で培養した。*Mycobacterium tuberculosis* は Dubos 培地(栄研)を用い 14 日間培養後、判定した。

3. 臨床分離株における感受性分布

1973 年国立大阪病院神木照雄博士から分与された臨床分離株を日本化学療法学会標準法により 10^6 /ml および 10^8 /ml の 2 点法で測定した。なお *Serratia* は 1977 年神戸大学泌尿器科三田俊彦博士および京都微生物研究所から分与されたものであり、*Acinetobacter calcoaceticus* は 1977 年京都微生物研究所から分与された株である。

4. 諸因子の影響

接種菌量: 試験菌株を TSB にて前培養しその 10 倍段階希釈液 1 白金耳量を薬剤加 HIA に接種した。

培地: トリプトソヤ寒天(ニッスイ)(以下 TSA と略す), HIA(ニッスイ), 普通寒天(ニッスイ)(以下 NA と略す) ミュラーヒントン寒天(栄研)(以下 MHA と略す)を用いて TSB にて前培養した菌液の 10^{4-7} /ml を 1 白金耳接種した。

pH: 培地は HIA(ニッスイ)を使用し、pH の調整は HCl または NaOH にて行なった。接種菌量は 10^{4-7} /ml の 1 白金耳であった。

血清添加: ヒト新鮮血清を液体培地の場合は TSB に、固形培地の場合は TSA に 10, 25, 50% 添加して影響を検討した。接種菌量は前者の場合は最終菌濃度 2.5×10^8 /ml であり、後者の場合は 10^6 /ml の 1 白金耳であった。

5. 殺菌作用

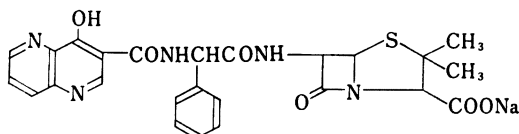
生菌数による検討: *Ps. aeruginosa* 104 または NCTC 10490 を使用し、TSB にて前培養後薬剤添加または無添加 HIB に接種し 37°C にて振盪培養後その生菌数を NAC 寒天(栄研)にて測定した。

MBC の測定: MIC を HIB にて 37°C, 20 hr. 培養後測定しその各希釈系列から 1 白金耳量を HIB 4 ml に接種して菌の生存の有無を判定した。

6. 安定性

培養液中の安定性: pH7.0 の M/15 リン酸緩衝液(以下 PB と略す)または HIB(pH7.2), TSB(pH7.3)中に 50 μg /ml の初期濃度の PC-904 溶液を作製し 37°C

Fig.1 Chemical structure of PC-904



Chemical name: sodium (2S,5R,6R)-6-[(R)-2-(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido)-2-phenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylate

Chemical formula: $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{NaO}_6\text{S}$

Molecular weight: 543.53

でインキュベートし経時的に残存活性を *B. subtilis* ATCC 6633を用いたバイオアッセイ(ディスク法)により測定した。

菌液中の安定性: *Ps. aeruginosa* NCTC 10490 の TSB 中 37°C 1夜培養液を 10^8 倍および 10^4 倍に HIB 中に希釈し PC-904 または CBPC を所定濃度になるように加えた後 37°C で振盪した。培養液中の残存活性を経時的に *B. subtilis* ATCC 6633 を用いたディスク法により、バイオアッセイした。

β -ラクタマーゼ抵抗性: 酵素源としては *E. coli* No. 33 と *K. pneumoniae* No. 10 は HIB 中での培養濾液を、*Ps. aeruginosa* IAM 1095 および同 No. 163 は 800 μ g/ml の PCG 存在下培養で得られた菌体の 50 mM PB (pH 7.0) 懸濁液の超音波処理抽出液を使用した。酵素液 4.5 ml に基質液 (3000 μ g/ml) 0.5 ml を加え、30°C (*Ps. aeruginosa*) あるいは 37°C (*E. coli*, *K. pneumoniae*) におけるインキュベーション混合液 0.5 ml を経時的に採取し、1.0 ml のエタノールを加えた後 50 mM PB (pH 7.0) 1.5 ml を加え、その残存活性をバイオアッセイした。バイオアッセイは *B. subtilis* ATCC 6633 を検定菌として 50 mM PB (pH 7.0): エタノール = 2:1 の混合液で希釈して得られた標準曲線により行なった。

7. マウス感染防御実験

体重 18 ± 1 g または 19 ± 1 g の ICR 系マウスを 1 群 10 匹使用した。感染は菌液 (HIB 中 $OD_{680nm} = 0.4$) の 5% ムチン懸濁希釈液 (*Str. pyogenes* を除く) を腹腔内投与し、治療は薬剤 1 回投与の場合は菌接種 2 hr. 後、分割投与の場合は感染後 1, 3; 1, 4; 2, 4 または 1, 3, 5 hr. に皮下または静脈内注射により行なった。1 週間後の生存率から ED_{50} 値を計算した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトラム

Table 1 および Table 2 に示されるように PC-904 はグラム陽性菌、陰性菌に亘り広域スペクトラムを有した。グラム陽性菌に対しては PC-904 は対照の CBPC と同等以上の活性を認め、とくに *Streptococcus* 属においては CBPC の 4~16 倍の活性を示し *Str. faecalis* に対して 10^8 /ml で 3.13~12.5 μ g/ml, 10^6 /ml で 3.13~25 μ g/ml の MIC 値を示した。

グラム陰性菌においては、本剤は *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* などの腸内細菌に対して CBPC に優る活性を示し、とくに *Ps. aeruginosa* には GM に匹敵する 0.2~6.25 μ g/ml の MIC 値を示した点が注目される。また *Proteus* に対してはインドール陰性、陽性株ともに CBPC と同等以上の活性であったが *Pr. morganii* においてだけ本剤は CBPC より若干弱い活性であった。PC-904 は

Table 1 Antibacterial spectra of PC-904, carbenicillin and gentamicin—gram-positive bacteria—

Organism	MIC (μ g/ml)					
	10^6 /ml			10^8 /ml		
	PC-904	CBPC	GM	PC-904	CBPC	GM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (209 P ₁ JC-1)	0.39	0.78	0.05	0.78	0.78	0.10
<i>Sta. aureus</i> Smith	0.78	0.78	0.20	0.78	0.78	0.20
<i>Sta. aureus</i> 1200 A	1.56	3.13	0.10	1.56	6.25	0.20
<i>Sta. epidermidis</i> IAM 1296	0.39	0.20	0.10	0.78	0.78	0.20
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.10	0.78	12.5	0.10	0.78	12.5
<i>Str. mitis</i> 90	0.20	3.13	6.25	0.39	3.13	6.25
<i>Str. pneumoniae</i> Neufeld	0.05	0.39	12.5	0.10	0.78	12.5
<i>Str. faecalis</i> 8043	6.25	50	25	25	200	50
<i>Str. faecalis</i> 8213	3.13	50	25	3.13	50	50
<i>Str. faecalis</i> 10541	12.5	50	25	25	200	50
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341 (PCI 1001)	0.025	0.20	0.39	0.025	0.20	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 (PCI 219)	0.20	0.20	0.10	1.56	0.78	0.10
<i>B. cereus</i> var. <i>mycoides</i> ATCC 9634	0.78	50	0.20	3.13	>200	0.39
<i>Corynebacterium xerosis</i> NCTC 9755	3.13	3.13	0.05	6.25	6.25	0.10
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	—	—	—	400	1600	—

Inoculum size: a loopful of bacterial suspension (10^6 /ml or 10^8 /ml)

Medium: HIA (Nissui)

Streptococcus: HIA supplemented with 5% rabbit blood

Mycobacterium tuberculosis: Dubos medium (Eiken)

Table 2 Antibacterial spectra of PC-904, carbenicillin and gentamicin—gram-negative bacteria—

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	10 ⁶ /ml			10 ⁸ /ml		
	PC-904	CBPC	GM	PC-904	CBPC	GM
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> A	0.10	0.39	3.13	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> NIH ¹ JC-2	0.39	6.25	0.20	0.39	6.25	0.78
<i>E. coli</i> O111	0.78	3.13	0.39	0.78	6.25	0.39
<i>E. coli</i> K12	0.39	1.56	0.20	0.39	3.13	0.78
<i>Salmonella typhi</i> 901	0.39	0.78	0.39	0.39	1.56	0.39
<i>Sal. typhi</i> 58	0.20	0.78	0.20	0.39	1.56	0.39
<i>Sal. paratyphi</i> 1015	0.05	0.78	0.39	0.05	1.56	0.78
<i>Sal. schottmuelleri</i> 8006	0.10	1.56	0.39	0.10	3.13	1.56
<i>Sal. enteritidis</i> G 14	1.56	6.25	3.13	3.13	25	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a	0.10	0.78	0.78	0.10	1.56	0.78
<i>Shig. flexneri</i> V5	0.10	1.56	0.78	0.20	1.56	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> GN 45	0.39	0.78	0.20	0.39	0.78	0.78
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031 (PCI 602)	3.13	200	0.20	6.25	200	0.39
<i>Serratia marcescens</i> X100	3.13	12.5	0.20	3.13	12.5	1.56
<i>Proteus mirabilis</i> GN 2425	0.78	0.78	0.39	1.56	1.56	1.56
<i>Pr. vulgaris</i> HX19	0.012	1.56	0.39	25	25	3.13
<i>Pr. morganii</i> Kono	6.25	0.78	0.78	100	6.25	0.78
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	0.39	100	1.56	0.78	100	1.56
<i>Flavobacterium meningosepticum</i> ATCC 13254	50	>200	12.5	200	>200	50
<i>Haemophilus influenzae</i> No. 1	0.10	0.78	3.13	0.20	0.78	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC10490	0.2	0.78	1.56	0.39	1.56	1.56
<i>Ps. aeruginosa</i> 104	0.78	25	0.78	3.13	50	1.56
<i>Ps. aeruginosa</i> IFO 3445	1.56	50	0.78	3.13	100	1.56
<i>Ps. aeruginosa</i> IFO 12045	3.13	100	1.56	6.25	100	6.25
<i>Ps. aeruginosa</i> IAM 1095	3.13	100	6.25	25	200	12.5
<i>Ps. aeruginosa</i> T	3.13	100	3.13	50	100	6.25

Inoculum size : a loopful of bacterial suspension (10⁶/ml or 10⁸/ml)

Medium : HIA (Nissui)

Haemophilus : chocolate agar (Nissui), 5% CO₂.*Neisseria* : TSA (Nissui) supplemented with 5% rabbit blood, cultured for 48 hrs., 5% CO₂.

K. pneumoniae, *Serratia marcescens* にも 3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$ とかなりの活性が認められたほか *Vibrio parahaemolyticus*, *Haemophilus influenzae* およびグラム陰性球菌の *Neisseria gonorrhoeae* に対する MIC も 0.1~0.78 $\mu\text{g/ml}$ と優れていた。

本剤の嫌気性菌に対する活性は Table 3 に示されるように芽胞および無芽胞いずれの嫌気性菌に対しても MIC 0.05~0.78 $\mu\text{g/ml}$ の株が大部分で, *Bacteroides fragilis* では MIC は 0.2 または 6.25 $\mu\text{g/ml}$ といずれも CBPC に優っていた。

なお, 結核菌, 真菌類, *Mycoplasma pneumoniae* には本剤は活性を示さなかった。

2. 臨床分離株における感受性分布

PC-904 の臨床分離株における感受性分布は CBPC および GM と比較して Fig. 2 a~l に示されている。

Sta. aureus では 10⁸/ml の場合は CBPC に比し 3 管程度感受性側に寄っていたが, 10⁶/ml では PC-904 耐性株はむしろ CBPC の場合より多かった。*Str. faecalis* の場合は MIC 分布のピークは 10⁶/ml で 1.56 $\mu\text{g/ml}$, 10⁸/ml で 3.13 $\mu\text{g/ml}$ と GM に匹敵し CBPC の 25~50 $\mu\text{g/ml}$ に比し強力であった。

E. coli の場合は, 約 1/3 の株が本剤耐性傾向であったが残り 2/3 は 10⁶/ml で 1.56 $\mu\text{g/ml}$ に, 10⁸/ml で 1.56~6.25 $\mu\text{g/ml}$ にピークを認め CBPC より 1~2 管優れていた。*Enterobacter*, *K. pneumoniae* においても *E. coli* 同様約 1/3 の株に本剤耐性傾向を認めたが CBPC に比し

Fig.2 (1) Susceptibility distribution of clinical isolates

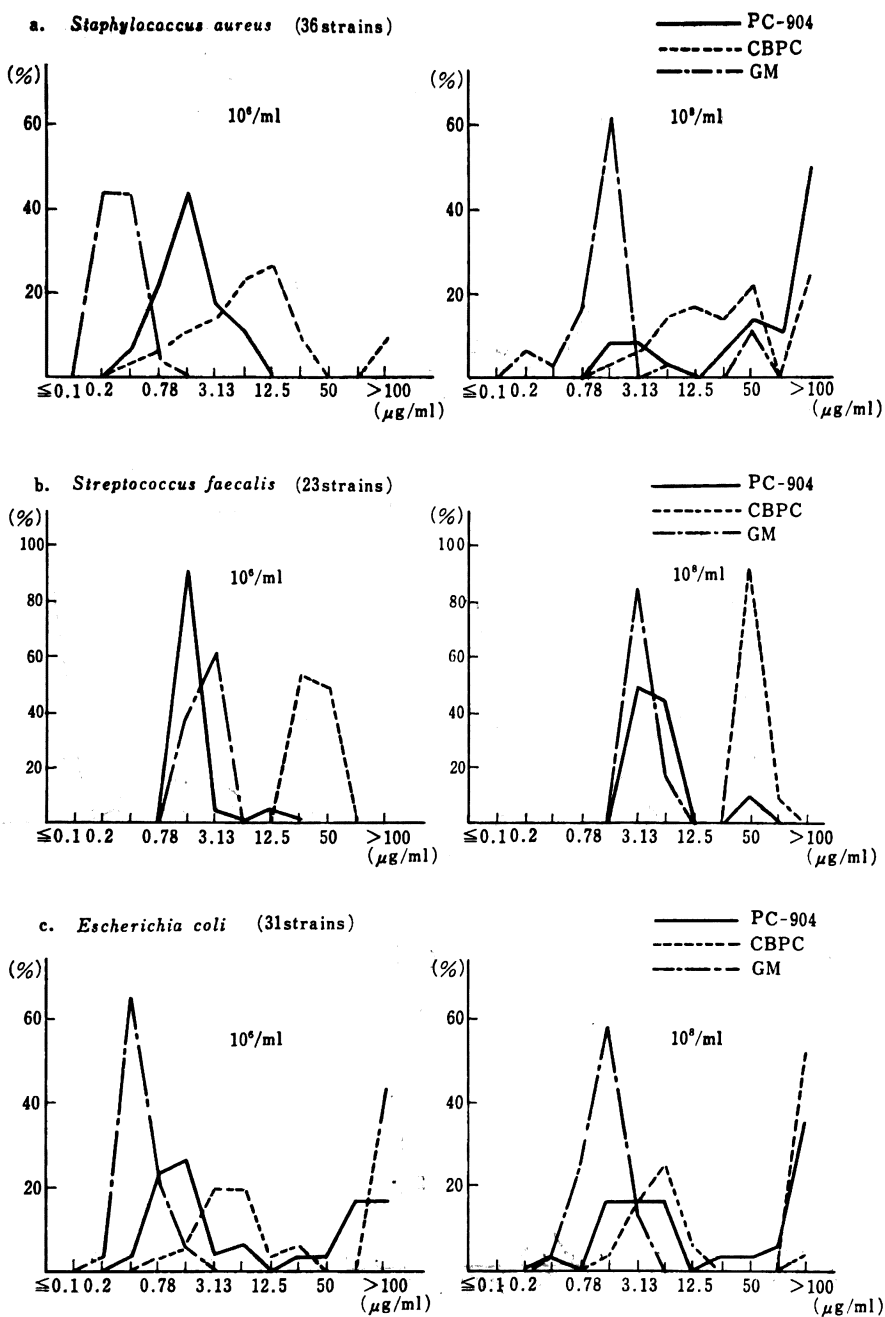


Fig.2 (2) Susceptibility distribution of clinical isolates

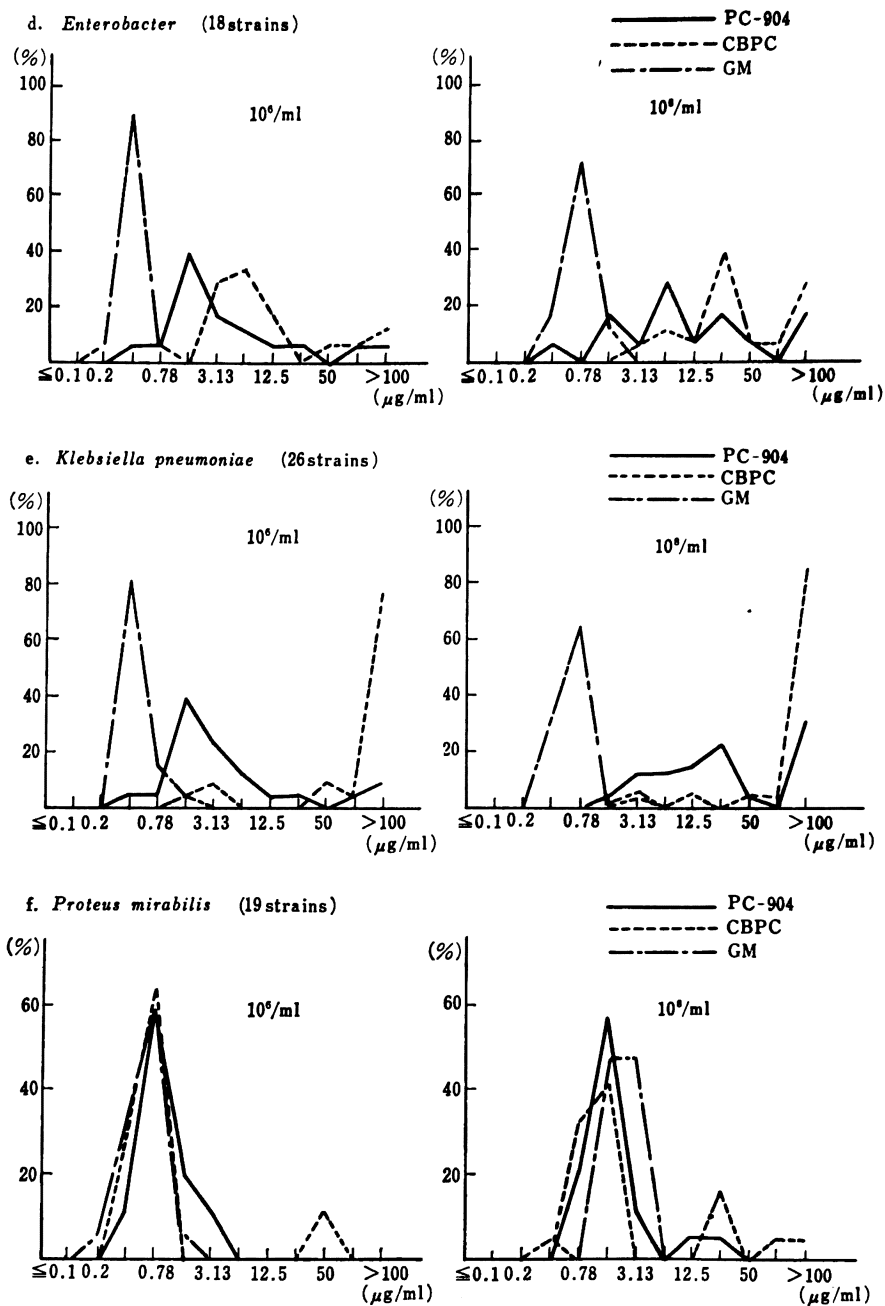


Fig.2 (3) Susceptibility distribution of clinical isolates

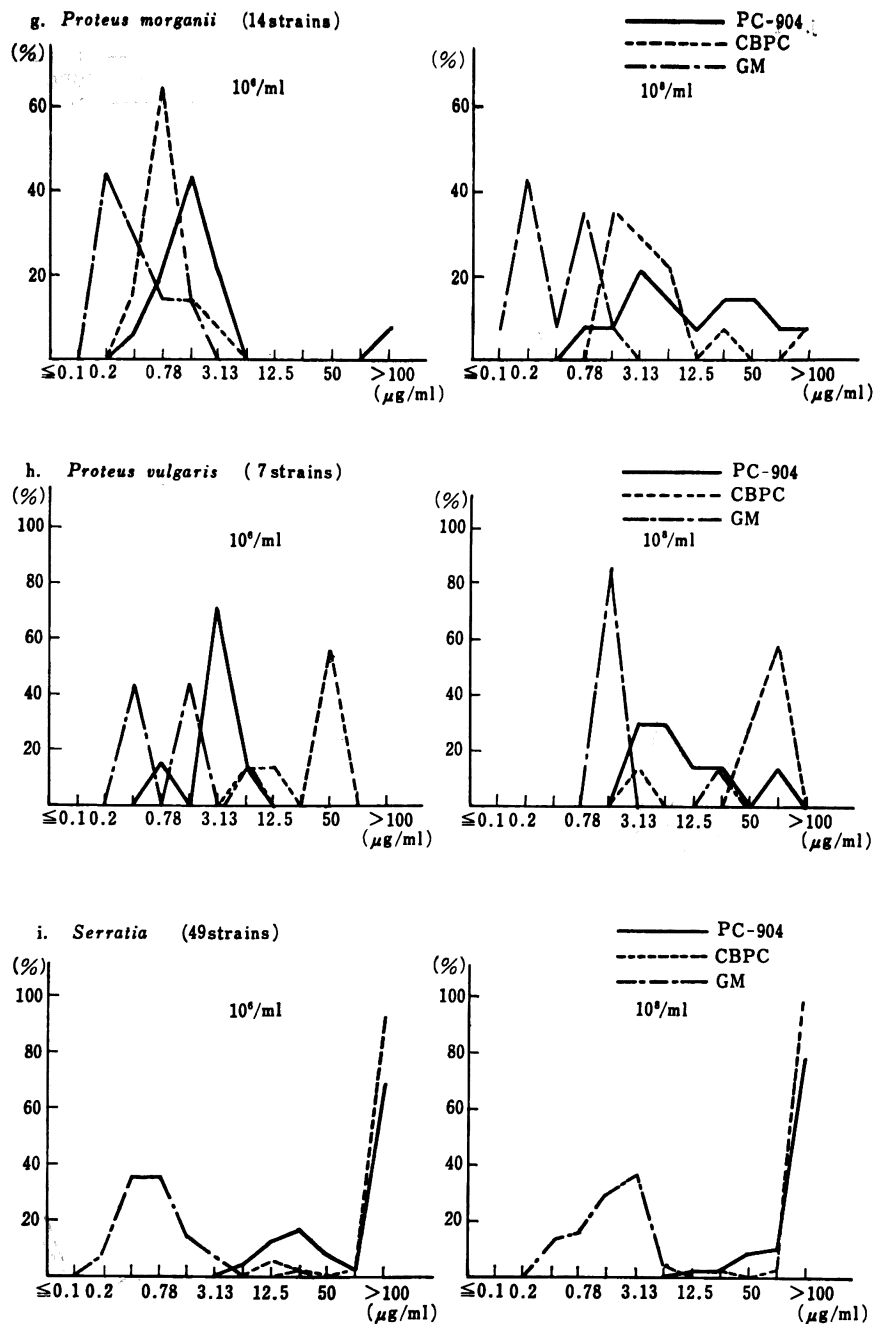


Fig.2 (4) Susceptibility distribution of clinical isolates

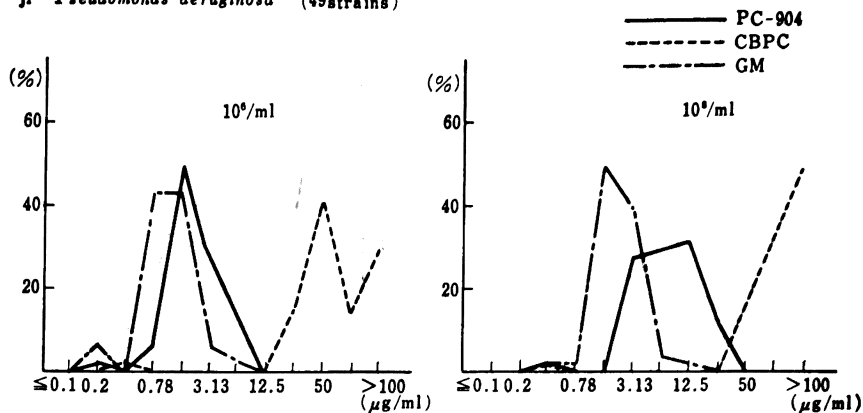
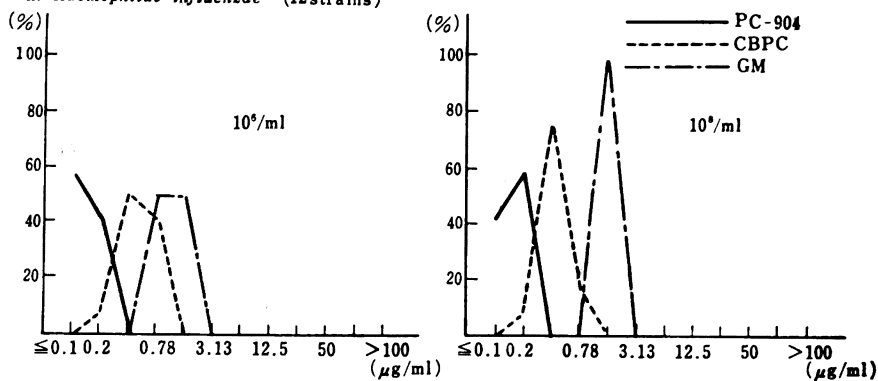
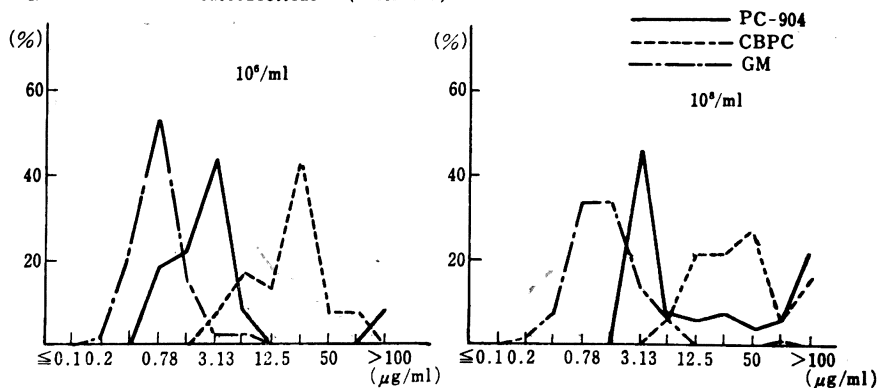
j. *Pseudomonas aeruginosa* (49 strains)k. *Haemophilus influenzae* (12 strains)l. *Acinetobacter calcoaceticus* (50 strains)

Table 3 Antibacterial spectra of PC-904, carbenicillin and gentamicin—anaerobic bacteria—

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	PC-904	CBPC	GM
<i>Clostridium perfringens</i> Hobbs	0.10	0.20	3.13
<i>Clo. chauvoei</i> Okinawa	0.78	6.25	200
<i>Clo. tetani</i> T 3	0.78	6.25	200
<i>Clo. septicum</i>	0.78	6.25	200
<i>Propionibacterium acnes</i> P11	0.05	0.20	3.13
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> B38	0.39	12.5	50
<i>Fusobacterium nucleatum</i> 2390	0.39	1.56	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> Ju 9-1	0.20	12.5	100
<i>Bacteroides fragilis</i> WS 12	6.25	25	—

Inoculum size: a loopful of bacterial suspension ($10^8/\text{ml}$)

Medium: GAM agar (Nissui), 48 hr. culture, anaerobically

かなり感受性側にピークが移行し、とくに *K. pneumoniae* では CBPC は大部分が耐性であるのに反し本剤では $10^8/\text{ml}$ で $1.56\mu\text{g/ml}$, $10^9/\text{ml}$ で $25\mu\text{g/ml}$ にピークが認められた。*Pr. mirabilis* に対しては CBPC の感受性は優れているが、PC-904 も同様の MIC 分布のピーク値 $0.78\sim 1.56\mu\text{g/ml}$ を示した。*Pr.morganii* では CBPC に比し約 1 管劣る模様であった。*Pr. vulgaris* は株数が少ないが、CBPC が $50\sim 100\mu\text{g/ml}$ に分布のピークを示すのに反し、本剤は $3.13\sim 6.25\mu\text{g/ml}$ にピークが認められ、CBPC に比し明らかに優れていた。

Serratia については、神戸大学泌尿器科分与の大部分の株が本剤耐性であったが、CBPC に比較すれば若干感受性傾向を示す株が認められた。一方、京都微生物研究所分与の 47 株での結果は、 $10^8/\text{ml}$ の場合 PC-904 では $1.56\mu\text{g/ml}$ に 72.4% の株が集中し、 $100\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株は 2.1% だけであった。また CBPC では $3.13\mu\text{g/ml}$ に 42.5% が集中し、 $100\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株は 6.4% であり、PC-904 は CBPC に比し優れていた。

Ps. aeruginosa の場合は $10^8/\text{ml}$ で $1.56\mu\text{g/ml}$ に、 $10^9/\text{ml}$ では $3.13\sim 12.5\mu\text{g/ml}$ に本剤の MIC 分布のピークが存在し、耐性株は認められなかった。一方、CBPC では $10^8/\text{ml}$ で $50\mu\text{g/ml}$ にピークがあり約 1/3 の株は耐性であり、 $10^9/\text{ml}$ では約半数の株は $100\mu\text{g/ml}$ で阻止されなかった。すなわち $10^8/\text{ml}$ では本剤は CBPC の約 32 倍の活性であり、GM に匹敵する感受性分布を示した。

Haemophilus influenzae では $0.1\sim 0.2\mu\text{g/ml}$ にピーク

Table 4 Effect of inoculum size on the antibacterial activity of PC-904 and carbenicillin

Organism	Inoculum (cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
		PC-904	CBPC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	3×10^8	0.78	1.56
	3×10^7	0.78	1.56
	3×10^6	0.39	0.20
	3×10^5	0.10	0.10
	3×10^4	0.05	0.05
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 8034	1.5×10^8	25	200
	1.5×10^7	12.5	100
	1.5×10^6	12.5	50
	1.5×10^5	12.5	50
	1.5×10^4	6.25	25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	6×10^7	1.56	1.56
	6×10^6	0.39	0.39
	6×10^5	0.20	0.05
	6×10^4	0.10	0.05
	6×10^3	<0.006	<0.006
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	3×10^8	0.05	0.10
	3×10^7	0.05	0.05
	3×10^6	0.025	0.05
	3×10^5	0.012	0.05
	3×10^4	<0.006	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	1.4×10^9	0.78	12.5
	1.4×10^8	0.78	6.25
	1.4×10^7	0.78	6.25
	1.4×10^6	0.20	3.13
	1.4×10^5	0.20	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	3.3×10^9	12.5	>400
	3.3×10^8	6.25	400
	3.3×10^7	3.13	400
	3.3×10^6	3.13	200
	3.3×10^5	0.78	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 104	1.2×10^9	3.13	50
	1.2×10^8	1.56	50
	1.2×10^7	1.56	50
	1.2×10^6	0.78	25
	1.2×10^5	0.39	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	1.7×10^9	0.78	1.56
	1.7×10^8	0.39	0.78
	1.7×10^7	0.10	0.78
	1.7×10^6	0.10	0.78
	1.7×10^5	0.10	0.78
<i>Proteus mirabilis</i> GN2425	2×10^9	1.56	1.56
	2×10^8	1.56	0.78
	2×10^7	1.56	0.78
	2×10^6	0.78	0.78
	2×10^5	0.78	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> HX 19	1.9×10^9	25	25
	1.9×10^8	1.56	12.5
	1.9×10^7	0.012	0.78
	1.9×10^6	<0.006	0.78
	1.9×10^5	<0.006	0.78

Medium: HIA (Nissui)

Inoculum size: a loopful of bacterial suspension

クがあり CBPC より 1~2 管優れていた。

Acinetobacter calcoaceticus では $3.13\mu\text{g/ml}$ にピーク

Fig. 3 Cross sensitivity between PC-904 and CBPC in clinically isolated *Ps. aeruginosa* (48 strains)

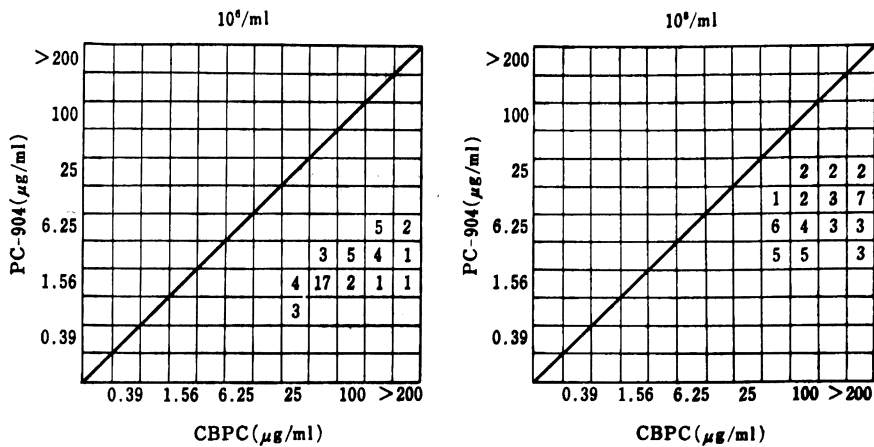


Fig. 4 *In vitro* activity of PC 904 on clinical isolates

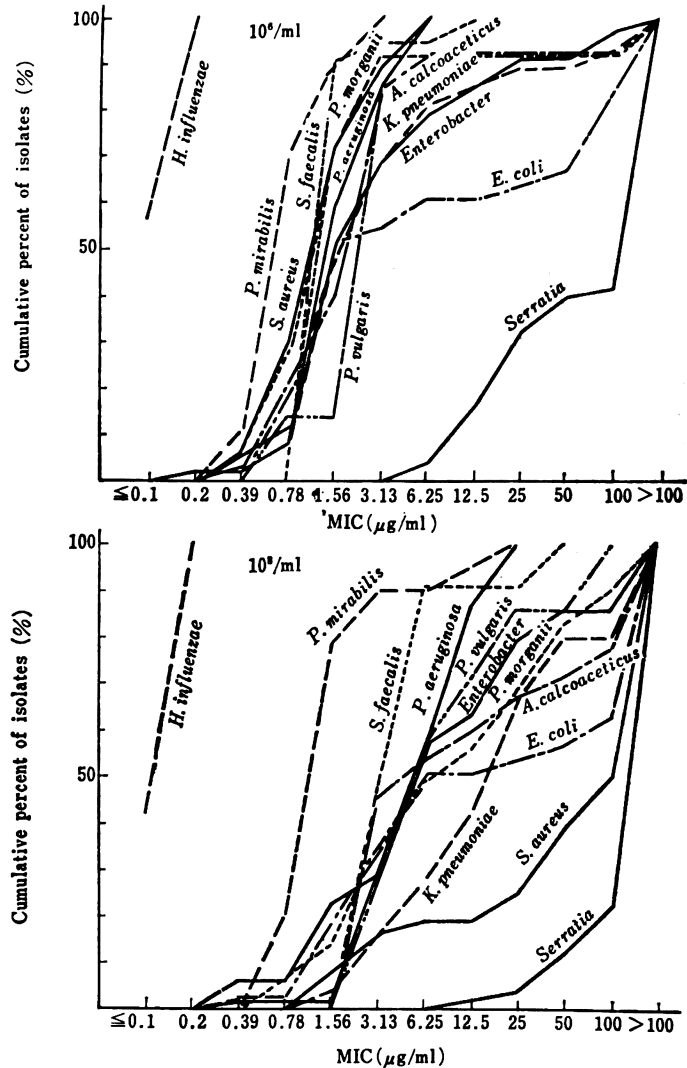


Table 5 Effect of medium on the antibacterial activity of PC-904 and carbenicillin

Organism	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		Agar			
		TSA	HIA	NA	MHA
<i>Sta. aureus</i> 209P	PC-904	0.78	0.39	0.78	0.39
	CBPC	0.78	0.39	0.78	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	PC-904	0.78	0.39	0.39	0.78
	CBPC	6.25	3.13	6.25	6.25
<i>K. pneumoniae</i> ATCC10031	PC-904	3.13	3.13	6.25	1.56
	CBPC	800	400	400	200
<i>Ps. aeruginosa</i> NCTC10490	PC-904	0.10	0.10	0.10	0.10
	CBPC	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>Pr. vulgaris</i> HX 19	PC-904	0.006	0.006	0.012	0.006
	CBPC	0.78	0.78	1.56	0.78
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	PC-904	0.025	0.025	0.025	0.05
	CBPC	0.10	0.10	0.10	0.10
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	PC-904	0.20	0.20	0.39	0.20
	CBPC	0.10	0.10	0.20	0.20

TSA : Tryptosoya Agar (Nissui)

NA : Nutrient Agar (Nissui)

HIA : Heart Infusion Agar (Nissui)

MHA : Mueller-Hinton Agar (Eiken)

Inoculum size : a loopful of bacterial suspension ($10^{8-7}/\text{ml}$)

Table 6 Effect of medium pH on the antibacterial activity of PC-904 and carbenicillin

Organism	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
		pH				
		5	6	7	8	9
<i>Sta. aureus</i> 209P	PC-904	0.05	0.10	0.39	0.39	0.39
	CBPC	0.10	0.20	0.39	0.39	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	PC-904	0.78	0.78	0.39	0.39	0.39
	CBPC	6.25	6.25	3.13	3.13	3.13
<i>K. pneumoniae</i> ATCC10031	PC-904	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13
	CBPC	200	400	400	400	400
<i>Ps. aeruginosa</i> NCTC10490	PC-904	0.05	0.05	0.10	0.10	0.10
	CBPC	0.10	0.20	0.39	0.39	0.39
<i>Pr. vulgaris</i> HX 19	PC-904	0.012	0.006	0.006	0.006	0.006
	CBPC	1.56	0.78	0.78	0.78	0.78
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	PC-904	0.012	0.012	0.025	0.025	0.05
	CBPC	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	PC-904	0.05	0.05	0.05	0.10	0.20
	CBPC	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10

Medium : HIA (Nissui)

Inoculum size : a loopful of bacterial suspension ($10^{8-7}/\text{ml}$)

ークが認められ GM には劣っていたが、CBPC に比し 3～4 管強力であった。

Fig. 3 に示されるように、CBPC と PC-904 の感受性相関を *Ps. aeruginosa* について見ると CBPC 耐性株に対しても本剤は活性を示し、CBPC と交差耐性を示さなかった株が存在する点が注目される。

以上の結果をまとめて PC-904 に対する臨床分離株の感受性分布の累積百分率を図示すると、Fig. 4 のとおりである。

すなわち 10^8 /ml では $3.13 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ で *Haemophilus influenzae*, *Pr. mirabilis* は 100%, *Serratia aureus*, *Str. faecalis*, *Pr. vulgaris*, *Pr. morganii*, *Ps. aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* などの菌種は約 90% が、*K. pneumoniae*, *Enterobacter* では約 80%, *E. coli* は約 60% の株が発育を阻止された。

10^8 /ml では $3.13 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ で *Haemophilus influenzae* 100%, *Pr. mirabilis*, *Str. faecalis* 90%, *Ps. aeruginosa*, *Pr. vulgaris*, *Pr. morganii*, *Enterobacter*, *E. coli*, *Acinetobacter calcoaceticus* などは 50～60% の株が発育を阻止された。

3. 諸因子の影響

菌量：Table 4 に示されるようにグラム陽性菌 4 株、グラム陰性菌 6 株について検討すると PC-904 の *in vitro* 抗菌活性は CBPC 同様に接種菌量の影響を受けた。

培地：TSA, HIA, NA, MHA の 4 種の間では本剤の MIC 値に大きな変動は認められなかった (Table 5)。

pH：*Sta. aureus* 他のグラム陽性菌および *Ps. aeruginosa* の場合に酸性側で抗菌活性の増強が認められたが、一般には著明な影響は見られなかった (Table 6)。

血清添加：液体培養の場合 50% ヒト血清添加で生育状態の不良の菌株があり、その場合は判定から除外したが、一般にヒト血清添加により抗菌力は $1/2 \sim 1/4$ の減弱に止まった。また固形培地の場合も、PC-904 の抗菌活性は 50% ヒト血清添加時 $1/2 \sim 1/8$ に減弱した。(Table 7)。

4. 殺菌力

生菌数による検討：Fig. 5 に示されるように *Ps. aeruginosa* 104 株につき 10^5 /ml 弱の接種菌量の場合は MIC ～2 MIC レベルで完全に殺菌的であり CBPC と同等以上の殺菌力が観察された。また *Ps. aeruginosa* NCTC 10490 株に約 10^5 /ml と約 10^8 /ml の低および高菌量を接種した場合、低接種菌量では殺菌的であったが、高接種菌量時には 5 hr. までは $10^2 \sim 3$ /ml 程度菌の減少が認められた。すなわち PC-904 により 99～99.9% の菌は殺菌されたが、以後再増殖が認められた (Fig. 6)。

MBC による検討：液体培養で 10^8 /ml オーダーの菌

Table 7 Effect of human serum addition on the antibacterial activity of PC-904
Broth dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	Serum (%)			
	0	10	25	50
<i>Sta. aureus</i> 209P	0.39	0.39	0.78	0.78
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0.78	0.78	1.56	—
<i>Ps. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.20	0.20	0.20	—
<i>Ps. aeruginosa</i> 104	0.78	0.78	1.56	—
<i>Ps. aeruginosa</i> T	1.56	1.56	6.25	6.25
<i>Pr. mirabilis</i> GN 2425	0.78	0.78	1.56	3.13
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.20	0.20	0.39	—
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.025	0.05	0.025	—

Medium: TSB (Nissui)

Inoculum size: 2.5×10^8 /ml (final)

Agar dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	Serum (%)			
	0	10	25	50
<i>Sta. aureus</i> 209P	0.78	1.56	1.56	3.13
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0.39	0.39	0.78	0.78
<i>Ps. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.39	0.39	0.78	3.13
<i>Ps. aeruginosa</i> 104	0.78	0.78	0.78	3.13
<i>Ps. aeruginosa</i> T	3.13	6.25	12.5	25
<i>Pr. mirabilis</i> GN 2425	0.39	0.78	1.56	3.13
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	1.56	1.56	1.56
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.025	0.05	0.10	—

Medium: TSA (Nissui)

Inoculum size: a loopful of bacterial suspension (10^8 /ml)

量の場合、Table 8 に示されるように MBC は MIC と同一値を示し CBPC 同様殺菌的であった。一方、 $10^8 \sim 7$ /ml 以上の菌量では MBC 値は MIC 値とともに増大する傾向が認められた (Table 9)。

5. 安定性

培地中の安定性：PC-904 は pH 7.0 の M/15 リン酸緩衝液中では 3 日間安定であり、HIB (pH 7.2) 中では 2 日間、TSB (pH 7.3) 中では 1 日後までほとんど分解は認められなかったので 37°C 培養時培地中での本剤の分解による MIC 測定への影響はないものと考えられる (Fig. 7)。

菌液中の安定性：高接種菌量で MIC および MBC に変動の認められる *Ps. aeruginosa* NCTC 10490 株につき PC-904 の本菌液中での安定性を検討した。 10^8 希釈菌

Fig. 5 Bactericidal activity of PC-904 and carbenicillin on *Ps. aeruginosa* 104
 Medium : HIB(Nissui), Culture : Shaken at 37°C, Viable cell count : NAC agar(Eiken)
 MIC : PC-904 1.56 µg/ml, CBPC 50 µg/ml

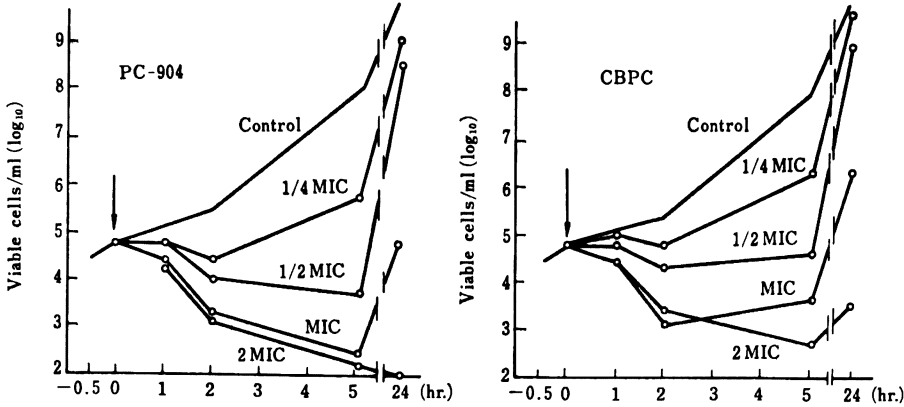


Fig. 6 Bactericidal activity of PC-904 on *P. aeruginosa* NCTC10490
 Medium : HIB(Nissui), Culture : Shaken at 37°C, Viable cell count : NAC agar(Eiken)

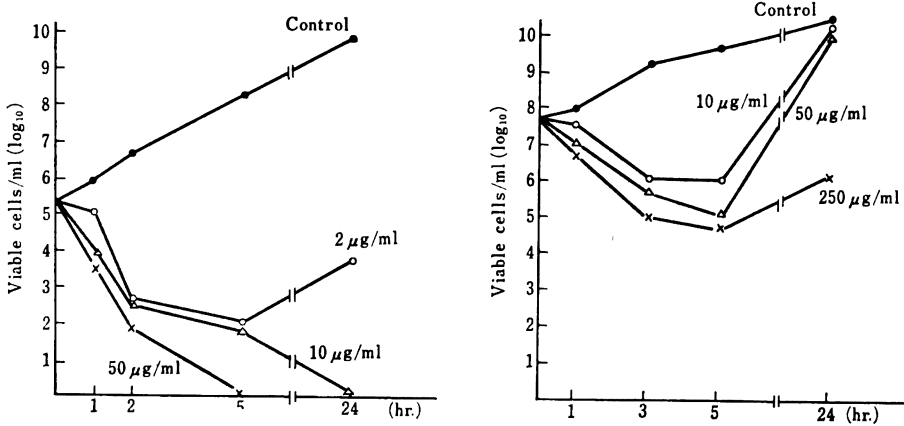


Table 8 MBC of PC-904 and carbenicillin

Organism	Inoculum size ($\times 10^3$ /ml)	PC-904		CBPC	
		MIC*	MBC*	MIC*	MBC*
<i>Sta. aureus</i> 209P	1.6	0.20	0.39	0.20	0.78
<i>E. coli</i> NIH JC-2	1.1	0.39	0.39	6.25	6.25
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	1.9	3.13	6.25	400	400
<i>K. pneumoniae</i> GN45	0.5	0.39	0.78	1.56	1.56
<i>Pr. mirabilis</i> GN 2425	2.3	0.78	3.13	0.78	0.78
<i>Pr. vulgaris</i> HX 19	0.6	<0.025	<0.025	0.78	1.56
<i>Ps. aeruginosa</i> 104	0.6	0.78	0.78	50	50
<i>Ps. aeruginosa</i> NCTC 10490	1.6	0.39	0.39	0.78	0.78

Medium : HIB (Nissui), * µg/ml

Table 9 Effect of inoculum size on MBC of PC-904 and carbenicillin

Organism	Inoculum size (/ml)	PC-904		CBPC	
		MIC*	MBC*	MIC*	MBC*
<i>Ps. aeruginosa</i> 104	5×10^7	6.25	1600	100	>1600
	5×10^6	1.56	400	50	>1600
	5×10^5	1.56	12.5	50	50
	5×10^4	0.78	0.78	25	25
	5×10^3	0.78	0.78	25	25
	5×10^2	0.39	0.39	25	25
<i>Ps. aeruginosa</i> NCTC 10490	1.1×10^8	100	200	12.5	400
	1.1×10^7	1.56	200	0.78	6.25
	1.1×10^6	0.39	0.39	0.78	0.78
	1.1×10^5	0.39	0.39	0.78	0.78
	1.1×10^4	0.20	0.39	0.78	0.78
	1.1×10^3	0.20	0.20	0.39	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	9×10^7	6.25	25	12.5	50
	9×10^6	1.56	1.56	12.5	25
	9×10^5	0.39	0.39	6.25	25
	9×10^4	0.39	0.39	6.25	6.25
	9×10^3	0.39	0.39	6.25	6.25
	9×10^2	0.39	0.39	3.13	3.13

Medium: HIB (Nissui) * $\mu\text{g/ml}$

液の場合経時的に活性が減少し 5hr. で残存活性は約 1/2 に減少するのに反し, 10^4 希釈菌液の場合は 48hr. 後でも分解は認められなかった (Fig. 8)。すなわち *Ps. aeruginosa* の高接種菌量時には培養液中の PC-904 の分解が認められるのに反し低接種菌量時には分解は認められなかった。

β -ラクタマーゼ抵抗性: Table 10 に示されるように *E. coli* および *K. pneumoniae* 由来の penicillinase によって本剤は分解を受けるが PCG, ABPC よりは若干安定であった。*Ps. aeruginosa* 由来の cephalosporinase に対しては, ABPC, CBPC 同様安定であった。

6. マウス全身感染防御効果

マウスの腹腔内に感染し薬剤は皮下注または静注により投与し生存率から ED_{50} 値を求めた。

Ps. aeruginosa では PC-904 は CBPC に比し数分の 1 ~ 10 分の 1 程度の投与量で同等の効果が認められ, *E. coli*, *Pr. mirabilis* では CBPC とほぼ同等の効果が認められた。

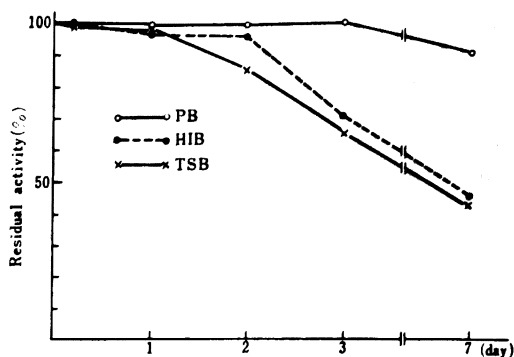
K. pneumoniae では CEZ に比し PC-904 は約 8 倍の投与量を要した。静注と皮下注による投与経路により, PC-904 と CBPC との効力比の差はほとんど認められなかった (Table 11)。

Fig. 7 Stability of PC-904 in PB and test media at 37°C (initial, 50 $\mu\text{g/ml}$)

PB: M/15 phosphate buffer, pH 7.0

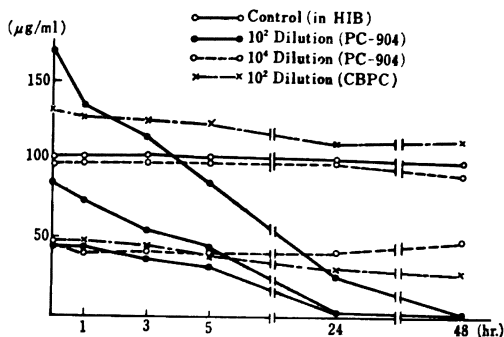
HIB: Heart infusion broth, pH 7.2 (Nissui)

TSB: Tryptosoya broth, pH 7.3 (Nissui)

Bioassay: Disc method using *B. subtilis* ATCC 6633Fig. 8 Stability of PC-904 and CBPC in bacterial suspension (*Ps. aeruginosa* NCTC 10490)

Medium: HIB (Nissui)

Culture: Shaken at 37°C

Bioassay: Disc method using *B. subtilis* ATCC 6633

薬剤投与回数の ED_{50} 値に対する影響を検討すると, Table 12 のとおりで PC-904 は投与回数を増すと ED_{50} 値が減少し, その傾向は CBPC の場合より著明であった。

III. 考 察

近年, 抗緑膿菌性 β -ラクタム抗生物質の研究が活発化し, -COOH 基または -SO₃H 基を有するものとして CBPC, SBPC に次いで ticarcillin⁹⁾, SCE-129¹⁰⁾ が, また ABPC 誘導体として BL-P 1654⁹⁾, azlocillin⁹⁾, mezlocillin⁷⁾, piperacillin (T-1220)⁹⁾, PC-455⁹⁾, CP-33994¹⁰⁾ など報告されている。

著者らは ABPC 誘導体の研究中, ABPC の -NH₂ 基のモノクロル酢酸アシル化体が緑膿菌に対して CBPC 程度

Table 10. Relative inactivation rate of PC-904 and other β -lactam antibiotics by β -lactamase

Antibiotic	Enzyme source							
	<i>E. coli</i> No. 33		<i>K. pneumoniae</i> No. 10		<i>Ps. aeruginosa</i> IAM 1095		<i>Ps. aeruginosa</i> No. 163	
	MIC (μ g/ml)	Inactivation rate (%)	MIC (μ g/ml)	Inactivation rate (%)	MIC (μ g/ml)	Inactivation rate (%)	MIC (μ g/ml)	Inactivation rate (%)
Penicillin G	1600	100	>3200	100	>3200	100	>3200	100
PC-904	100	68	800	57	3.13	0	3.13	0
Carbenicillin	>3200	51	>3200	58	50	0	200	0
Ampicillin	1600	111	>3200	108	1600	0	1600	0
Cefazolin	6.25	13	25	20	>3200	1130	>3200	1013

Enzyme preparation : *E. coli*, *K. pneumoniae* : cell free broth of overnight culture

Ps. aeruginosa : cell free extracts from sonicated cells which were cultured in medium containing PCG (800 μ g/ml)

Incubation condition : enzyme solution 4.5ml+substrate solution 0.5 ml (3 mg/ml), incubated at 37°C

Assay : 1.0 ml of ethanol was added to 0.5 ml of incubation mixture to stop the enzyme reaction and then 1.5 ml of PB (pH7.0) was added. Residual activity of this solution was bioassayed using *B. subtilis* ATCC 6633

Table 11 Protective effect of PC-904 on systemic infection in mice

Organism	Inoculum size /mouse ($\times$ LD ₅₀)	Treatment		MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/kg)	
		route	hr. after challenge	PC-904	CBPC	PC-904	CBPC
<i>Ps. aeruginosa</i> NC5	4 $\times$ 10 ² (5)	sc	2	6.25	200	100	620
		sc	1, 3			4.2	66
<i>Ps. aeruginosa</i> No. 158	2.2 $\times$ 10 ⁴ (2.3)	sc	1, 4	3.13	100	12	50
		sc	2, 4			8.8	140
<i>Ps. aeruginosa</i> No. 158	2.6 $\times$ 10 ⁶ (25)	iv	1, 3	3.13	100	240	1060
<i>Ps. aeruginosa</i> T	6.5 $\times$ 10 ⁴ (2.5)	sc	2	3.13	100	58	460
	2 $\times$ 10 ⁵ (8)	sc	1, 4	3.13	(3.13) *1	29	290
	7 $\times$ 10 ⁴ (18)	sc	1, 4			42	(14) *1
<i>E. coli</i> NIH JC-2	6.3 $\times$ 10 ⁶ (6)	sc	2	0.39	6.25	160	130
<i>E. coli</i> O 111	4.7 $\times$ 10 ⁷ (25)	sc	2	0.78	3.13	160	180
<i>E. coli</i> No. 34	276 (20)	sc	2	1.56	3.13	35	35
	112 (8)	sc	1, 3	1.56	(3.13) *2	18	15
	212 (25)	iv	1, 3			33	(30) *2
<i>K. pneumoniae</i> No. 18	2.3 $\times$ 10 ⁶ (20)	sc	2	25	(1.56) *3	47	(6.0) *3
<i>Pr. mirabilis</i> GN 2425	4.8 $\times$ 10 ⁵ (14)	sc	2	1.56	1.56	30	30
<i>Pr. vulgaris</i> No. 1	1.9 $\times$ 10 ⁶ (8.5)	sc	2	0.05	0.1	320	640
<i>Str. pyogenes</i> S23	1.6 $\times$ 10 ⁵ (3.3)	sc	1, 3	0.02	0.2	2.5	1.8

Animal : ICR mice (♂) weighing 18 $\pm$ 1g, 10 mice/group

Challenge : suspended in 5% mucin (except for *Str. pyogenes*) ip

Observation : 1 week

() *1 : GM

() *2 : SBPC

() *3 : CEZ

の *in vitro* 活性を示すことを見出し, ABPC の-NH₂ 基の種々の異項環カルボン酸シル化体を検討した結果, 最も抗緑膿菌活性が強く, 吸収・分布・排泄および安全性試験の評価に耐える化合物として PC-904 を選んだ。

本剤の *in vitro* 抗菌活性は広域スペクトラムであり, グラム陽性菌では CBPC と同等以上で *Streptococcus* 属と共に *Str. faecalis* の臨床分離株に対して 1.56(10⁶/ml) ~ 3.13 μ g/ml (10⁶/ml) に感受性分布のピークが認められた点が注目される。 *Staphylococcus* には, 本剤は

CBPC とほぼ類似の傾向を示し, 感受性株には CBPC より若干優れていたが, β -ラクタマーゼ産生株には活性を示さなかった。

グラム陰性桿菌においては, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* などの腸内細菌に対し CBPC の 2~16 倍の活性が本剤で認められた。さらに CBPC の活性が低い *K. pneumoniae*, *Serratia*, *Vibrio*, *Flavobacterium* にもかなりの活性が認められ, *E. coli*, *Enterobacter*, *K. pneumoniae* の臨床分離株では約 1/3 の株が本剤耐

Table 12 Potentiation of protective effect of PC-904 by divided dosing

Treatment (hr. after challenge)	ED ₅₀ (mg/kg)		Efficacy ratio (CBPC/PC- 904)
	PC-904	CBPC	
once (1)	> 600	1160 (601-2240)	—
twice (1, 3)	252 (117-542)	600 (248-1450)	2.4 (0.74-7.7)
3times (1, 3, 5)	99 (63-156)	294 (153-564)	3.0 (1.3-6.6)

Organism : *Ps. aeruginosa* No. 158Animal : ICR mice (♂) weighing 19±1g, 10 mice/
groupChallenge : suspended in 5% mucin, ip ; 4.7×10^8
cells/mouse ($3.5 \times \text{LD}_{50}$)

Treatment : sc

Observation : 1 week

MIC : PC-904 3.13 $\mu\text{g/ml}$, CBPC 100 $\mu\text{g/ml}$

性傾向を示したが、CBPC に比し優れた感受性分布が認められた。とくに CBPC にほとんど耐性を示す *K. pneumoniae* にも本剤はかなりの活性を有していた。CBPC は *Pr. mirabilis* に強力な活性を示すが、本剤も同様に良好な活性を示した。またインドール陽性 *Proteus* については、*Pr. vulgaris* は CBPC 耐性傾向であったが本剤には感受性を示した。*Pr. morganii* では本剤の活性は、CBPC に比し 1 管程度劣っていた。*Serratia* については、1973 年分離の株は本剤に対してかなりの感受性を示したが、最近分離された株の中、神戸大泌尿器科の株に対しては本剤はほとんど活性を示さなかったが、京都微研分与の株はかなり感受性を示した。従って *Serratia* に対する本剤の活性は菌の分離年度、分離機関によりかなり変動する模様である。

Ps. aeruginosa においては、臨床分離株で $10^6/\text{ml}$ の場合 1.56 $\mu\text{g/ml}$ に、 $10^8/\text{ml}$ では 3.13~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に本剤の感受性分布のピークが認められた。これは CBPC に比し 32 倍以上の活性であり GM に匹敵する点は、本剤の抗菌活性上の最大の特徴である。さらに PC-904 耐性の *Ps. aeruginosa* は本実験では存在せず、CBPC 耐性株に対しても本剤は感受性菌に近い MIC 値を示したことは特筆される事実である。

Haemophilus influenzae には PC-904 は CBPC より 1~2 管強力度で ABPC に匹敵するものと考えられる。最近増加しているといわれる弱毒菌の *Acinetobacter calcoaceticus* に対しても本剤は CBPC に比し 3~4 管優れていた。

本剤の嫌気性菌に対する活性は一般に優れていて芽胞および無芽胞嫌気性菌に強力に作用した。*Bacteroides*

fragilis に対しては本質的には活性を示したが、 β -ラクタマーゼ産生株には中等度の活性であった。

以上のとおり、PC-904 は CBPC に比しその抗菌活性は増強されており、CBPC 非感受性菌にも活性が拡大され、とくに CBPC 耐性緑膿菌に対しても活性を示した点は本剤の抗菌活性上の特徴である。

PC-904 の抗菌活性はグラム陽性菌の場合、酸性側 pH で抗菌力の増強が見られるのは他のペニシリンと同様の現象である。血清添加の影響が若干観察されるのは、本剤の血清蛋白結合率が高率であることに由来するものと考えられるが、結合率から予想されるよりも影響はかなり小さかった。この原因は本剤の蛋白結合が比較的ルーズで可逆的なこと¹¹⁾によるものと考えられる。

本剤の抗菌活性は接種菌量により変動を受ける。低接種菌量時には本剤は殺菌的であるが、一方、高接種菌量時には Fig. 6 に示されるように 99~99.9% の菌は殺菌されるが、残存した一部の菌が抵抗型となり再増殖したのと考えられる。なお残存した菌は遺伝的な耐性菌ではなかった。この原因は、Fig. 8 に示されるように培地中で薬剤が不活化を受けて薬剤濃度が低下した時点で再増殖を開始することも一因として考えられる。高接種菌量時の菌量の影響のメカニズムについては、本剤の作用機作とも関連して今後検討を要する課題であろう。また生体内での菌量の影響の有無および本現象が生じた場合生存した菌の病原性の強弱、生体の食細胞や生体防御因子などの生体防御機構の存在下において本剤に抵抗して生存した菌が生体内でいかなる態度をとるか興味ある問題である。

本剤の β -ラクタマーゼ抵抗性は *E. coli* および *K. pneumoniae* 由来の penicillinase には、PCG または ABPC よりは若干安定であり、*Ps. aeruginosa* 由来の cephalosporinase には ABPC, CBPC 同様安定であった。PC-904 および対照薬のこれらの菌での MIC 値と β -ラクタマーゼ抵抗性の関係をみると、本剤の強力な活性は β -ラクタマーゼ抵抗性ばかりでなく、本剤の菌体透過性または作用部位への親和性の良好なことによる可能性も推察される。

本剤のマウス感染防御効果は緑膿菌では CBPC の数倍ないし 10 倍程度強力であったが、大腸菌、変形菌では活性の強い CBPC とほぼ同程度の強さであった。

PC-904 と CBPC の *in vitro* 抗菌力の差は *in vivo* においては若干縮小していたが、本剤の *in vivo* 効果は分割投与により増強された。この事実は感染菌の大部分は 1 回投与の薬剤で殺菌されるが、生残した菌の増殖を阻止するのにさらに薬剤との接触を必要とするものと考えられる。生体防御機構の働く場合には分割投与等によ

り薬剤の生体内濃度維持時間を延長させることにより本剤の生体内での効果の増強が期待され得る。

投与経路は、皮下注または静注によっても本剤と、CBPC との効果比に大差なく、いずれの投与経路でも効果が発揮された。

本剤の酸安定性は比較的良好で pH 2 での半減期は 4.7 hr. であった¹⁾が、経口投与による感染治療効果は認められなかったため、本剤の腸管吸収は不良なことが予想される。

IV. ま と め

1. PC-904は広域スペクトラムを示し、とくに *Ps. aeruginosa* を始め、グラム陰性桿菌に強力に作用した。*in vitro* での抗 *Ps. aeruginosa* 活性は GM に匹敵した。

2. CBPC 耐性 *Ps. aeruginosa*, *E. coli* などの菌株および CBPC 非感受性の *K. pneumoniae*, *Serratia*, *Pr. vulgaris*, *Str. faecalis* さらに GM 非感受性嫌気性菌などにも本剤は活性を示した。

3. 本剤の抗菌活性および殺菌力は菌量により影響を受けた。

4. 皮下注または静注によるマウス全身感染治療実験で、PC-904 は *Ps. aeruginosa* の場合 CBPC の数分の 1~10 分の 1 量で CBPC と同等の効果を示した。また *E. coli*, *Pr. mirabilis* の場合は CBPC と同程度の効果が認められた。

5. マウス全身感染防御実験において、PC-904 は分割投与により ED₅₀ 値の減少が著明に認められた。

(本実験は昭和 50 年 1 月から昭和 52 年 8 月にわたって実施された。)

本研究に当り終始ご懇篤なるご指導を賜った大阪市立大学医学部第一内科 塩田憲三教授、並びに同 三木文雄助教授に深甚の謝意を表します。また本実験実施に当りご助力をいただいた東仲真理子、中井マツ子、堀井てるみ諸氏に深謝致します。

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. Antimicrob. Agents & Chemother. 9

: 262~273, 1976

- 2) 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. Chemotherapy 23 : 1~2, 1975
- 3) SUTHERLAND, R.; J. BURNETT & G. N. ROLINSON : α -Carboxy-3-thienylmethyl penicillin, (BRL 2288), a new semisynthetic penicillin : *in vitro* evaluation. Antimicrob. Agents & Chemother. 1970 : 390~395, 1971
- 4) NOMURA, H.; I. MINAMI, T. HITAKA & T. FUGONO : Semisynthetic β -lactam antibiotics, 8. Structure activity relationships of α -sulfocephalosporins. J. Antibiotics 29 : 928~936, 1976
- 5) 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 : Antimicrob. Agents & Chemother. 1970 : 17~28, 1971
- 6) STEWART, D.; G. P. BODEY : Azlocillin, *in vitro* studies of a new semisynthetic penicillin. Antimicrob. Agents & Chemother. 11 : 865~870, 1977
- 7) BODEY, G. P. & T. PAN : Mezlocillin, *in vitro* studies of a new broad-spectrum penicillin. Antimicrob. Agents & Chemother. 11 : 74~79, 1977
- 8) MITSUHASHI, S.; I. SAIKAWA, & T. YASUDA : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities on a new synthetic penicillin, T-1220 : 16th Interscience Conference on Antimicrob. Agents & Chemother. p. 349, 1976
- 9) TACHIBANA, A.; K. YANO, K. KOMIYA, K. MURAKAMI, T. OSONO & K. MASHIMO : A new broad-spectrum penicillin, PC-455 II. Antimicrobial and biological studies : 15th Interscience Conference on Antimicrob. Agents & Chemother. p. 256, 1975
- 10) RETSEMA, J. A.; A. R. ENGLISH & J. E. LYNCH : Laboratory studies with a new semi-synthetic penicillin, CP-33994 : 15th Interscience Conference on Antimicrob. Agents & Chemother. 252, 1975
- 11) 小松敏昭, 木崎容子, 入江健二, 奥田隆夫, 赤栗信二, 野口 浩, 井沢昭雄, 紺野昌俊 : PC-904 の血清蛋白および組織成分との結合について. Chemotherapy 26 S-2 : 154~158, 1978

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF PC-904, A NEW SEMISYNTHETIC PENICILLIN

TOSHIAKI KOMATSU, AKIO IZAWA, KENJI IRIE,
YOKO KISAKI, TAKAO OKUDA, YASUKO EDA NOBUTSUGU AKAKURI
and HIROSHI NOGUCHI

Research and Development Center, Pharmaceuticals Division,
Sumitomo Chemical Co., Ltd.

PC-904, sodium 6-[D(-)- α -(4-hydroxy-1,5-naphthyridine-3-carboxamido) phenylacetamido]-penicillanate, is a broad-spectrum semisynthetic penicillin with marked antipseudomonal activity, derived from ampicillin. Following results concerning its *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities were obtained.

1. Its antibacterial activities against gram-positive bacteria were comparable or superior to carbenicillin. In particular, PC-904 exhibited more potent activity than carbenicillin against *Streptococci*. This agent possessed a characteristic to be active on *Streptococcus faecalis* insensitive to carbenicillin and gentamicin to a considerable extent.

2. As far as gram-negative bacteria concerns, PC-904 was generally much more active than carbenicillin. Particularly, on *Ps. aeruginosa*, it exhibited about 30 to 100 times more potent activity than carbenicillin.

3. PC-904 also possessed potent antibacterial activities on carbenicillin-resistant *Ps. aeruginosa* or *E. coli*, and on carbenicillin-insensitive *K. pneumoniae*, indole-positive *Proteus*, *Serratia* and gentamicin-insensitive anaerobes *etc.*

4. Its antibacterial activities were only little influenced with test media and pH. Its activity was weakened to only about 1/2 to 1/4 by serum addition.

5. Antibacterial activities of PC-904 were influenced with heavy inoculum size.

6. This agent acted bactericidally in light inoculum size, but in heavy inoculum size majority of bacteria were killed and only a portion of bacteria survived and regrew after a latent period.

7. *In vivo* effect of PC-904 in experimental systemic infection in mice was also confirmed in both subcutaneous and intravenous injection.

On *Ps. aeruginosa* its efficacy was several to 10 times more potent than carbenicillin and on *E. coli* and *Pr. mirabilis* comparable to carbenicillin.

8. When dividedly dosed, the effect of PC-904 was potentiated. The ED₅₀ values in divided dosing were more markedly lowered than carbenicillin compared with those in single dose.