

## 新合成化学療法剤 AB-206 に関する細菌学的評価

西野武志・尾花芳樹・和田美智・故中澤昭三

京都薬科大学微生物学教室

AB-206 は住友化学工業株式会社に合成された新しい化学療法剤である。本物質は、化学名を 5,8-dihydro-5-methoxy-8-oxo-2H-1,3-dioxolo-[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid といい、既知化学療法剤 Nalidixic acid や Piromidic acid の類縁化合物で、分子式  $C_{12}H_9NO_6$ 、分子量 263.21、水に難溶の白色粉末である。その化学構造式は Fig.1 に示すとおりである。

また本物質は緑膿菌を含むほとんどすべてのグラム陰性菌、一部のグラム陽性菌、嫌気性菌、マイコプラズマなどに抗菌力を有し、Nalidixic acid, Piromidic acid に比べて強い抗菌力を示し、さらに Nalidixic acid 耐

性菌にも有効であるといわれている<sup>1)</sup>。

今回、われわれは、AB-206 の細菌学的評価について、Nalidixic acid<sup>2,3)</sup> および Pipemidic acid<sup>4,5)</sup> を比較薬剤として、種々の細菌学的検討を行ない、2, 3 の知見を得たので報告する。

## I. 実験材料および実験方法

## 1. 使用薬剤

薬剤としては、AB-206 (住友化学工業株式会社)、Nalidixic acid (NA) および Pipemidic acid (PPA) 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群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 broth (TSB: ニッスイ)、感受性測定に Heart infusion agar (HIA: ニッスイ) を用いて、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に準じて求めた。なお、レンサ球菌群、肺炎球菌群、ジフテリア菌については、10% 馬血液加 HIA を、嫌気性菌群の破傷風菌、ガス壊疽菌には Thioglycollate 培地 I (ニッスイ) を、淋菌、髄膜炎菌には GC 培地 (ニッスイ) を用いた。

## 3. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料から分離されたブドウ球菌 55 株、大腸菌 55 株、肺炎桿菌 42 株、変形菌 65 株、セラチア 54 株および緑膿菌 55 株について、日本化学療法学会 MIC 測定法に準じて、感受性測定を行なった。

## 4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

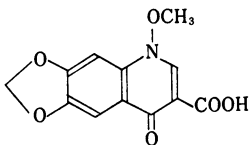
抗菌力に及ぼす培地 pH、馬血清添加、接種菌量の影響について、*Escherichia coli* NIH JC-2、*Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* T-55、*Pseudomonas aeruginosa* E-2 を試験菌として、Heart infusion broth (HIB: ニッスイ) を用いた液体希釈法 (37°C 18~20 時間培養) により検討を行なった。

## 5. 抗菌作用形式 (増殖曲線に及ぼす影響)

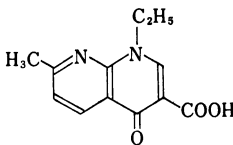
TSB で前培養した *E. coli* NIH JC-2、*K. pneumoniae*, *S. marcescens* T-55、*Ps. aeruginosa* E-2 を HIB に移し、対数期中期まで振とう培養する。この菌液を HIB で希釈し、おおよそ  $10^7$  cells/ml に調製後、所定の濃度になるように薬剤を添加し、以後経時的に生菌数を測定した。

## 6. 自然耐性菌出現頻度

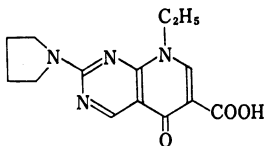
Fig.1 Chemical structures of AB-206, Nalidixic acid, Piromidic acid and Pipemidic acid



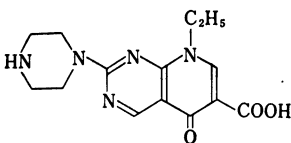
AB-206



Nalidixic acid



Piromidic acid



Pipemidic acid

TSB で前培養した *E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* T-55, *Ps. aeruginosa* E-2 を各菌株の 10 MIC の薬剤を含有させた HIA 上に塗りあげ、37°C 24 時間培養後に生じたコロニー数を測定した。

#### 7. マウス実験的感染症に対する治療効果

##### (a) 大腸菌感染症に対する治療効果

臨床分離の *E. coli* No. 29 を Nutrient broth (NB: ニュッスイ) に 37°C 14 時間培養後、同培地で希釈し、4% Gastric mucin (Nutritional Biochemicals Corporation) と等量混合した。この菌液の 1,000 LD<sub>50</sub> を 1 群 10 匹の ddY 系マウス (17~18g) の腹腔内に接種し、感染 2 時間後 1 回 0.5% CMC に懸濁させた AB-206, NA および PPA を経口投与した。その後 7 日間生死の観察を行ない、生残率を求め、LITCHFIELD-WILCOXON 法によって ED<sub>50</sub> 値を算出した。

##### (b) 肺炎桿菌感染症に対する治療効果

臨床分離の *K. pneumoniae* を NB に 37°C 18 時間培養後、生理食塩水で希釈した。この菌液の 100 LD<sub>50</sub> を 1 群 10 匹のマウスの腹腔内に接種し、感染 2 時間後に 1 回、AB-206, NA および PPA を経口投与した。

##### (c) セラチア感染症に対する治療効果

臨床分離の *S. marcescens* T-55 を 2/3 濃度の TSB に 37°C 18 時間培養後、同培地に 10% となるように菌を接種し、1.5 時間振とう培養し、同培地で希釈し、6% Gastric mucin (Orthana-Kemisk-Fabrik-A/S) と等量混合した。この菌液の 560 LD<sub>50</sub> を 1 群 10 匹のマウスの腹腔内に接種し、感染 2 時間後に 1 回、AB-206, NA および PPA を経口投与した。

##### (d) 緑膿菌感染症に対する治療効果

臨床分離の *Ps. aeruginosa* E-2 をセラチアの場合と同様に菌を培養、希釈調製後、6% Gastric mucin (Orthana-Kemisk-Fabrik-A/S) と等量混合した。この菌液の 60 LD<sub>50</sub> を 1 群 10 匹のマウス腹腔内に接種して、感染 2 時間後に 1 回、AB-206, NA および PPA を経口投与した。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌群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 に示すとおりである。AB-206 はブドウ球菌など一部のグラム陽性菌群に感受性を示したが、他の菌種には NA あるいは PPA 同様、耐性であった。また、グラム陰性菌群に対しては、NA および PPA よりも強い感受性を示した。その抗菌力 (MIC) を比較するとブドウ球菌の場合、AB-206 では 6.25~12.5 μg/ml, NA では >100 μg/ml, PPA では 12.5~50 μg/ml という感受性を示

Table 1 Antibacterial spectrum of AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid—Gram-positive bacteria—

Organism	MIC (μg/ml)		
	AB-206	NA	PPA
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-PJC	12.5	>100	25
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	6.25	100	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	12.5	>100	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	12.5	>100	25
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	12.5	>100	25
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	6.25	>100	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50	>100	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	>100	>100	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook*	>100	>100	>100
<i>Streptococcus viridans</i> *	>100	>100	>100
<i>Streptococcus faecalis</i> *	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	>100	>100	100
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	>100	>100	>100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1.56	6.25	3.12
<i>Bacillus anthracis</i>	0.78	6.25	6.25
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	12.5	>100	25
<i>Clostridium tetani</i> **	1.56	12.5	12.5
<i>Clostridium perfringens</i> **	3.12	25	25

\* HIA with 10% horse blood (Inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml)  
\*\* Thioglycollate medium

し、本剤が最もすぐれていた。レンサ球菌群、肺炎球菌群には、AB-206, NA, PPA 3 剤ともに >100 μg/ml と抗菌力を示さなかった。グラム陰性菌の大腸菌に対しては、AB-206 では 0.39~0.78 μg/ml, NA では 3.12~6.25 μg/ml, PPA では 1.56 μg/ml であり、変形菌や緑膿菌に対して、AB-206 はそれぞれ 0.78~1.56 μg/ml, 3.12~25 μg/ml という値を示した。また、エルシニア、サイトロバクター、ハフニアなどの腸内細菌類にも、AB-206 は 0.78~3.12 μg/ml という感受性を示した。

2. 臨床分離株に対する感受性分布および感受性相関  
臨床的に分離されたブドウ球菌 55 株、大腸菌 55 株、肺炎桿菌 42 株、変形菌 65 株、セラチア 54 株、緑膿菌 55 株に対する感受性分布、累積分布および NA, PPA との相関関係を検討した結果は Fig. 2~37 に示すとおりである。

#### (a) ブドウ球菌の場合

接種菌量が 10<sup>8</sup> cells/ml の場合は、Fig. 2, 3 に示す

Table 2 Antibacterial spectrum of AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid—Gram-negative bacteria—

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	AB-206	NA	PPA
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	3.12	1.56	0.78
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.78	0.78	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.39	6.25	1.56
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.78	3.12	1.56
<i>Escherichia coli</i> No. 29	0.39	3.12	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	1.56	12.5	3.12
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.78	3.12	6.25
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.78	3.12	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	3.12	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> B	1.56	12.5	6.25
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.78	12.5	3.12
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.78	3.12	3.12
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.78	3.12	3.12
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.39	3.12	1.56
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.39	3.12	3.12
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.78	6.25	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	1.56	12.5	1.56
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.78	6.25	3.12
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	3.12	25	25
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	1.56	6.25	3.12
<i>Yersinia enterocolitica</i> Te 19(0:5)	0.78	3.12	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	1.56	6.25	3.12
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	1.56	6.25	3.12
<i>Proteus morganii</i> Kono	0.78	6.25	3.12
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.78	3.12	1.56
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.78	6.25	3.12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	3.12	50	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	25	>100	12.5

\* GC medium (Inoculum size :  $10^8$  cells/ml)

ように、AB-206は6.25~12.5  $\mu\text{g/ml}$  にピークを有する分布を示した。対照としたNAではほとんどすべての株が >100  $\mu\text{g/ml}$  の耐性であり、PPAでは25~>100  $\mu\text{g/ml}$  に分布しており、AB-206はこれら2剤よりもすぐれていた。 $10^8$  cells/mlの場合は、Fig. 4, 5に示すとおり、AB-206では、6.25  $\mu\text{g/ml}$ 、PPAでは25  $\mu\text{g/ml}$  にピークを示したが、NAではほとんどすべての株が  $\geq 100$   $\mu\text{g/ml}$  であった。

またいずれの接種菌量の場合においても、Fig. 6, 7に示すように、AB-206とNAあるいはPPAの間に相

Fig. 2 Sensitivity distributions of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

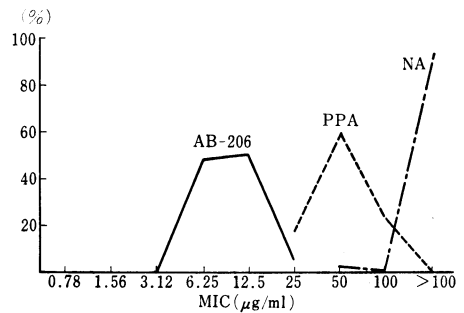


Fig. 3 Sensitivity distributions of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

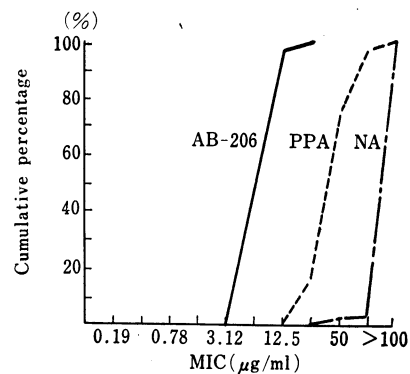
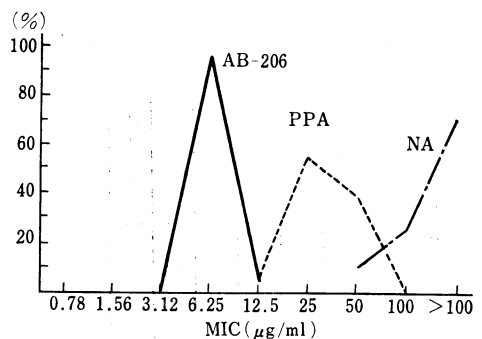


Fig. 4 Sensitivity distributions of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml



関関係は認められなかった。

(b) 大腸菌の場合

$10^8$  cells/mlの場合はFig. 8, 9に示すように、AB-206ではほとんどすべての株が0.39~1.56  $\mu\text{g/ml}$  に分布したが、12.5  $\mu\text{g/ml}$ を示す株も1株認められた。またNAに対してはほとんどの株が3.12~12.5  $\mu\text{g/ml}$ に、PPAに対しては1.56~6.25  $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。 $10^6$  cells/mlの場合は、Fig. 10, 11に示すように、感受

Fig.5 Sensitivity distributions of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (55 strains) Inoculum size :  $10^6$  cells/ml

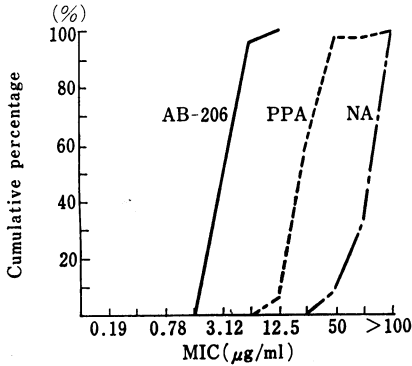


Fig.6 Cross resistance between AB-206 and Nalidixic acid *Staphylococcus aureus* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

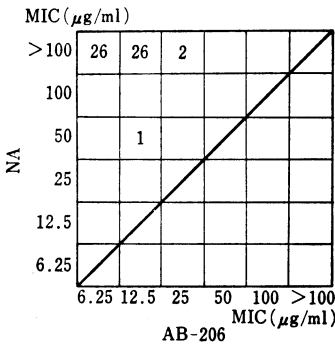
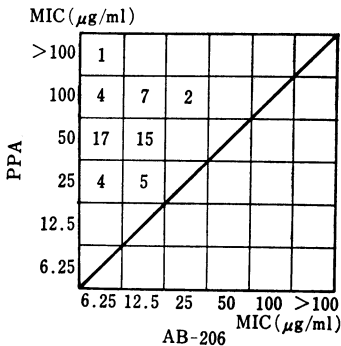


Fig.7 Cross resistance between AB-206 and Pipemidic acid *Staphylococcus aureus* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml



性パターンにそれほど大きな変動は認められず、いずれの菌量の場合においても、AB-206>PPA>NAの順にすぐれていた。また Fig.12, 13 に示すように AB-206 と NA との間には相関関係が認められなかったが、AB-206 と PPA の間に相関関係にある菌株が一部認められた。

Fig.8 Sensitivity distributions of clinical isolates *Escherichia coli* (55 strains) Inoculum size:  $10^8$  cells/ml

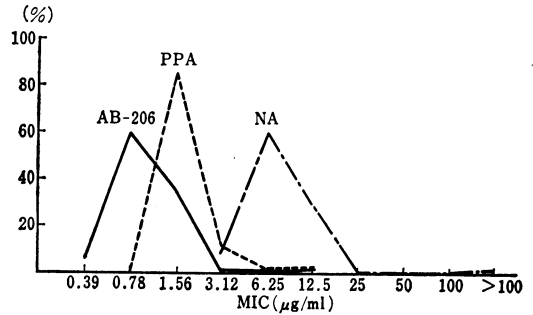


Fig.9 Sensitivity distributions of clinical isolates *Escherichia coli* (55 strains) Inoculum size:  $10^8$  cells/ml

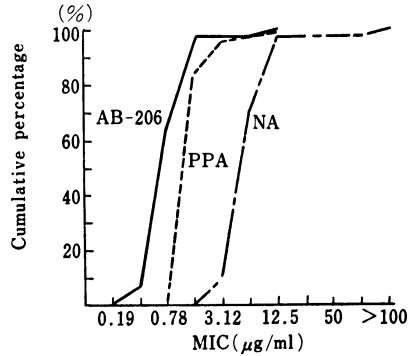
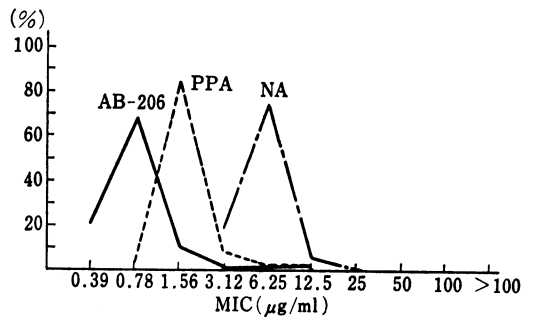


Fig.10 Sensitivity distributions of clinical isolates *Escherichia coli* (55 strains) Inoculum size :  $10^6$  cells/ml



(c) 肺炎桿菌の場合

$10^8$  cells/ml の場合は Fig.14, 15 に示すとおり、AB-206 では 0.78~12.5  $\mu\text{g/ml}$ 、NA では 6.25~100  $\mu\text{g/ml}$ 、PPA では 1.56~12.5  $\mu\text{g/ml}$  に分布し、本剤が最もすぐれた抗菌力を示した。 $10^6$  cells/ml の場合は Fig.16, 17 に示すように、AB-206 では 0.39~6.25  $\mu\text{g/ml}$ 、NA では 3.12~50  $\mu\text{g/ml}$ 、PPA では 1.56~12.5  $\mu\text{g/ml}$  に

Fig.11 Sensitivity distributions of clinical isolates *Escherichia coli* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

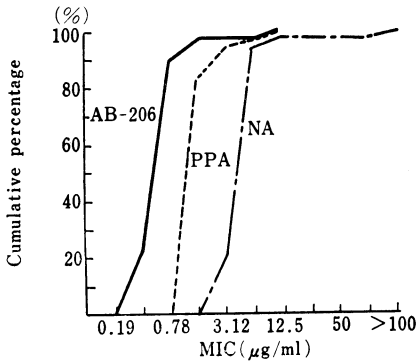


Fig.12 Cross resistance between AB-206 and Nalidixic acid *Escherichia coli* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

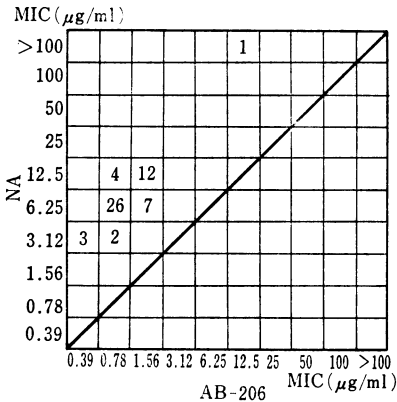


Fig.13 Cross resistance between AB-206 and Pipemidic acid *Escherichia coli* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

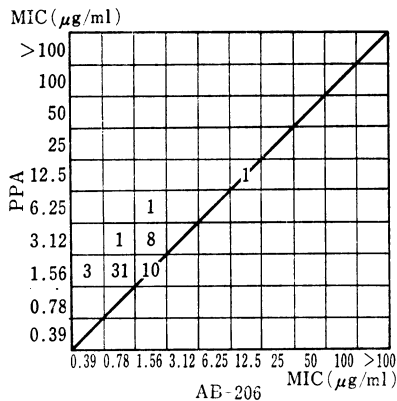


Fig.14 Sensitivity distributions of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* (42 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

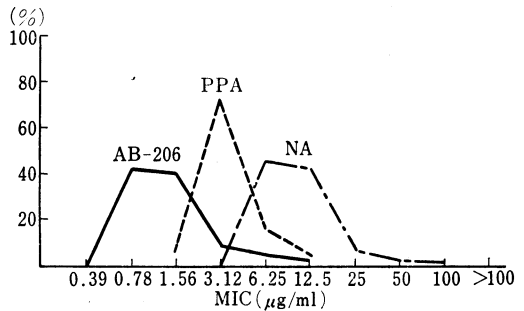


Fig.15 Sensitivity distributions of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* (42 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

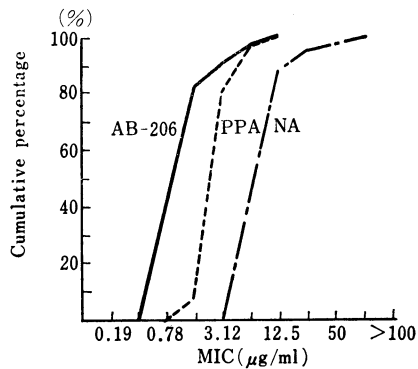
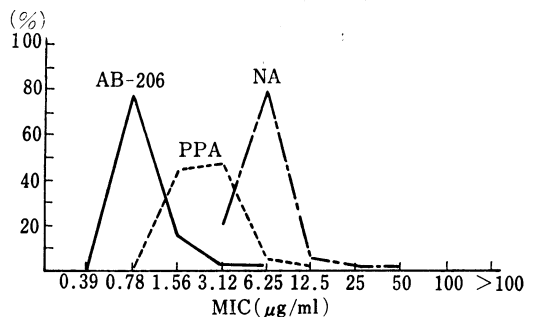


Fig.16 Sensitivity distributions of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* (42 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml



分布し、3剤とも  $10^8$  cells/ml に比べて感受性は2倍良くなった。また、Fig.18, 19に示すとおり、AB-206とNAの間に相関関係は認められなかったが、AB-206とPPAの間に一部の菌株で相関関係が認められた。

Fig.17 Sensitivity distributions of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* (42 strains)

Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

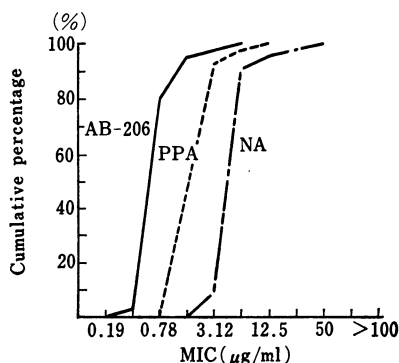


Fig.18 Cross resistance between AB-206 and Nalidixic acid *Klebsiella pneumoniae* (42 strains)

Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

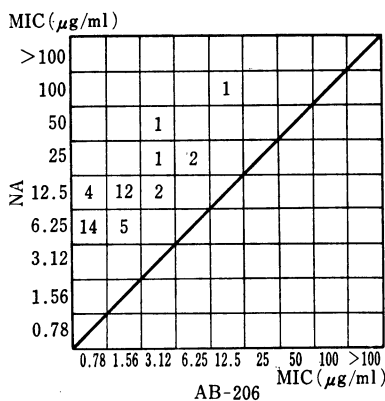
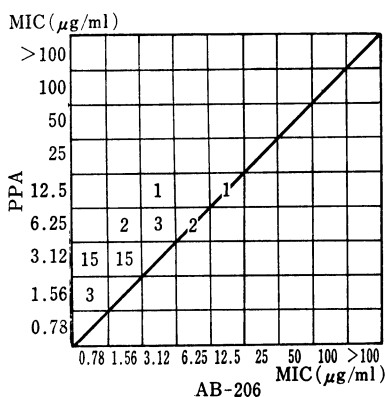


Fig.19 Cross resistance between AB-206 and Pipemidic acid *Klebsiella pneumoniae* (42 strains)

Inoculum size :  $10^8$  cells/ml



(d) 変形菌の場合

Indole (+) および (-) 菌を含めた変形菌に対しては  $10^8$  cells/ml の場合, Fig. 20, 21 に示すとおり, AB-206 では  $\leq 0.19 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ , NA では  $3.12 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ , PPA では  $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$  に分布し, 本剤が最もすぐれていた。 $10^6$  cells/ml の場合は, Fig. 22, 23 に示すように, AB-206 では  $10^8$  cells/ml の場合に比べて感受性に変動はほとんど認められなかった。また, Fig. 24, 25 に示すように AB-206 と NA あるいは PPA との間に相関関係は認められなかった。

(e) セラチアの場合

Fig. 26, 27 に示すように,  $10^8$  cells/ml の場合, AB-206 では  $0.78 \sim 100 \mu\text{g/ml}$ , NA では  $3.12 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ , PPA では  $1.56 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に広く分布し, 3 剤ともに  $\geq 100 \mu\text{g/ml}$  を示す株が認められた。 $10^6$  cells/ml の場合は Fig. 28, 29 に示すように 3 剤とも  $10^8$  cells/ml に比べて感受性は 2 倍良くなった。また Fig. 30, 31 に示すように, AB-206 と NA の間に相関関係がわずか

Fig.20 Sensitivity distributions of clinical isolates *Proteus* group (65 strains)

Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

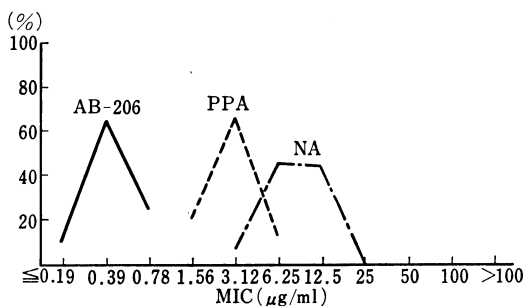


Fig.21 Sensitivity distributions of clinical isolates *Proteus* group (65 strains)

Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

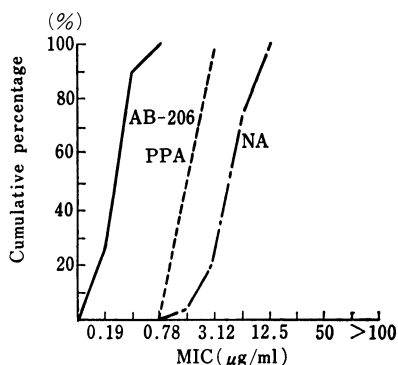


Fig.22 Sensitivity distributions of clinical isolates *Proteus* group (65 strains)  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

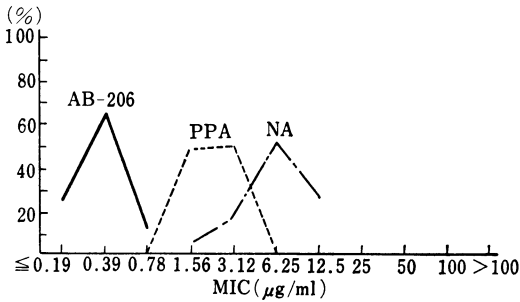


Fig.25 Cross resistance between AB-206 and Pipemidic acid *Proteus* group (65 strains)  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

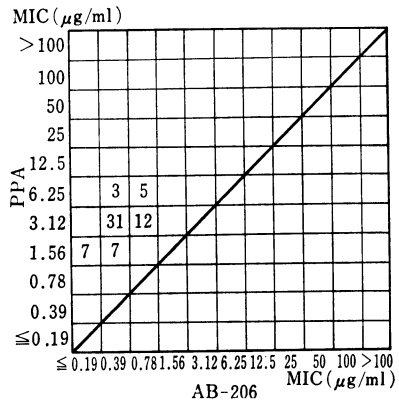


Fig.23 Sensitivity distributions of clinical isolates *Proteus* group (65 strains)  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

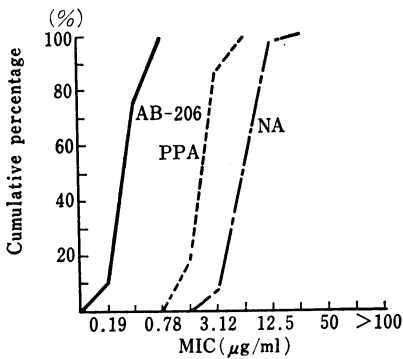


Fig.26 Sensitivity distributions of clinical isolates *Serratia marcescens* (54 strains)  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

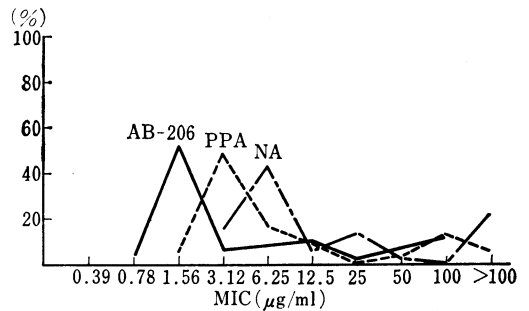


Fig.24 Cross resistance between AB-206 and Nalidixic acid *Proteus* group (65 strains)  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

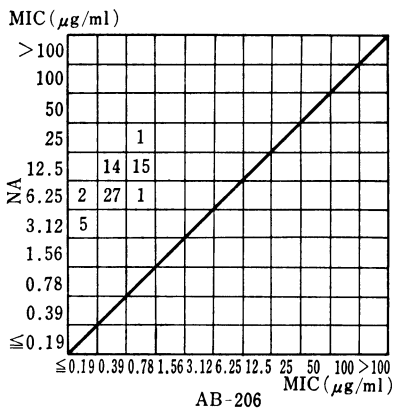


Fig.27 Sensitivity distributions of clinical isolates *Serratia marcescens* (54 strains)  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

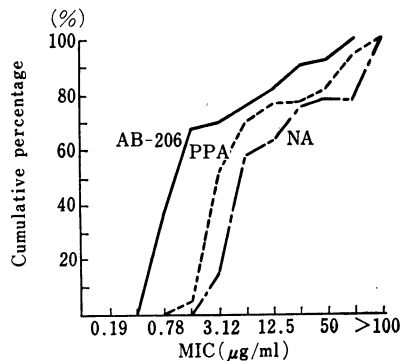


Fig.28 Sensitivity distributions of clinical isolates *Serratia marcescens* (54 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

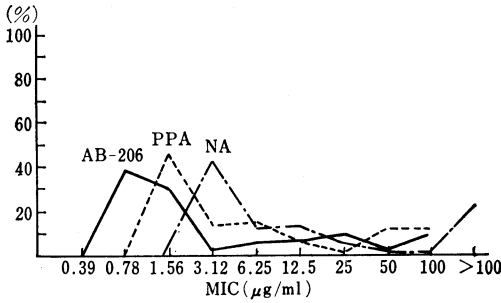


Fig.29 Sensitivity distributions of clinical isolates *Serratia marcescens* (54 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

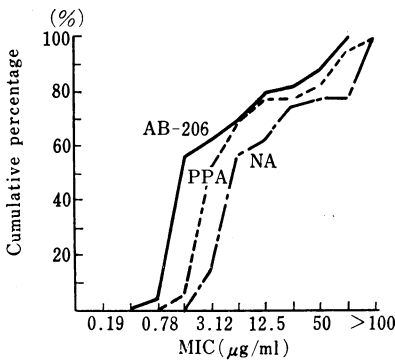


Fig.30 Cross resistance between AB-206 and Nalidixic acid *Serratia marcescens* (54 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

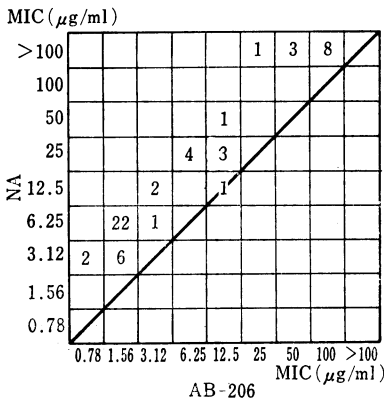


Fig.31 Cross resistance between AB-206 and Pipemidic acid *Serratia marcescens* (54 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

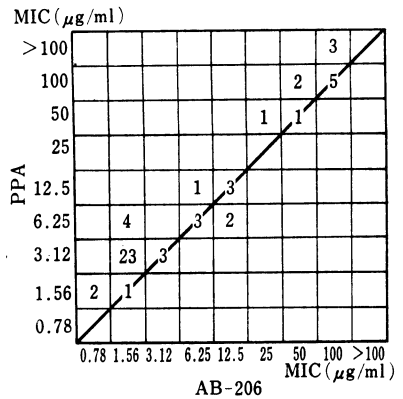


Fig.32 Sensitivity distributions of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

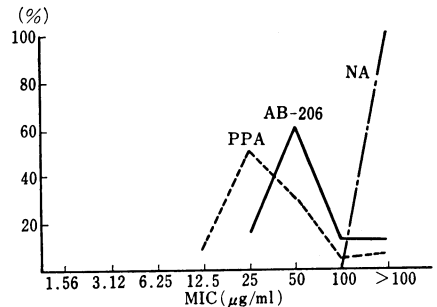


Fig.33 Sensitivity distributions of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* (55 strains) Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

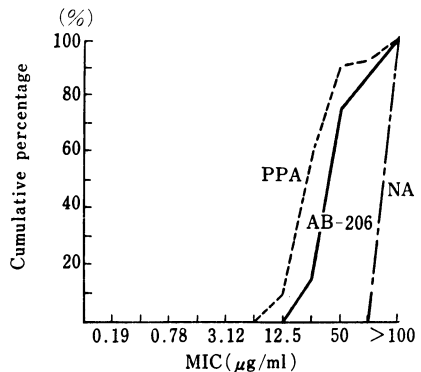




Fig.34 Sensitivity distributions of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* (55 strains)  
Inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml

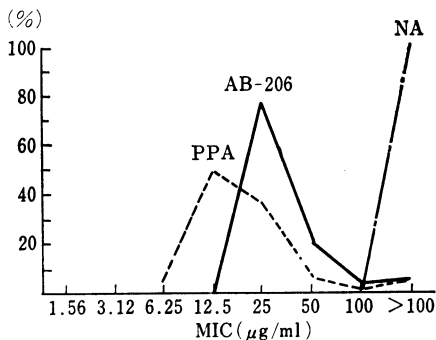


Fig.35 Sensitivity distributions of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* (55 strains)  
Inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml

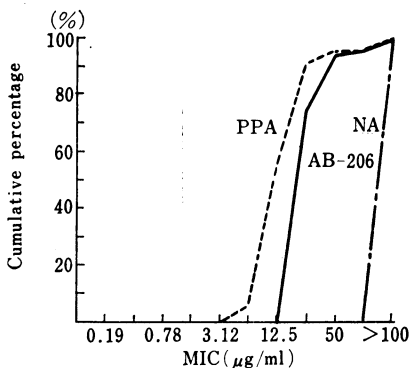


Fig.36 Cross resistance between AB-206 and Nalidixic acid *Pseudomonas aeruginosa* (55 strains)  
Inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml

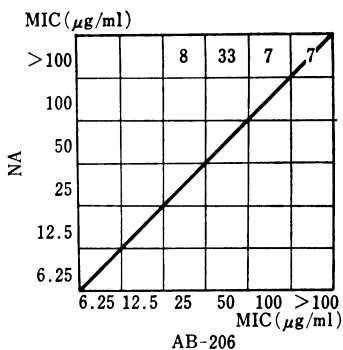
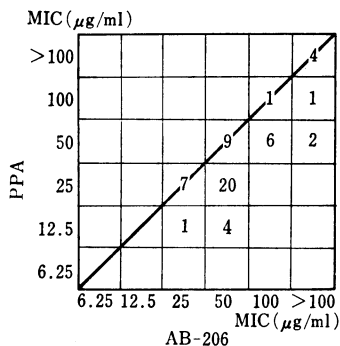


Fig.37 Cross resistance between AB-206 and Pipemidic acid *Pseudomonas aeruginosa* (55 strains)  
Inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml



に認められたに過ぎないが、AB-206 と PPA の間には顕著であった。

(f) 緑膿菌の場合

Fig. 32, 33 に示すように、10<sup>8</sup> cells/ml の場合、AB-206 では 25~>100 μg/ml、PPA では 12.5~>100 μg/ml に分布し、NA ではすべての株が >100 μg/ml の耐性を示した。10<sup>8</sup> cells/ml の場合は、Fig. 34, 35 に示すとおり AB-206、PPA とともに感受性は2倍良くなるが、NA ではやはり >100 μg/ml の耐性であった。いずれの菌量の場合においても、PPA>AB-206>NA の順にすぐれていた。また Fig. 36, 37 に示すように AB-206 と PPA の間に相関関係が認められた。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

*E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* T-55, *Ps. aeruginosa* E-2 を用いて抗菌力に及ぼす培地 pH、馬血清添加、接種菌量の影響について検討した

Table 3 Influence of various factors on MIC *Escherichia coli* NIH JC-2

		MIC (μg/ml)		
		AB-206	NA	PPA
pH	6	0.19	6.25	6.25
	7	0.39	6.25	3.12
	8	0.39	12.5	1.56
Horse serum (%)	50	0.78	12.5	3.12
	10	0.39	3.12	1.56
	0	0.39	3.12	1.56
Inoculum size (cells/ml)	2×10 <sup>8</sup>	—	—	—
	2×10 <sup>7</sup>	3.12	25	1.56
	2×10 <sup>6</sup>	0.39	12.5	1.56
	2×10 <sup>5</sup>	0.39	6.25	1.56
	2×10 <sup>4</sup>	0.39	6.25	1.56

Fig.38 Bactericidal effect of AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid against *Escherichia coli* NIH JC-2

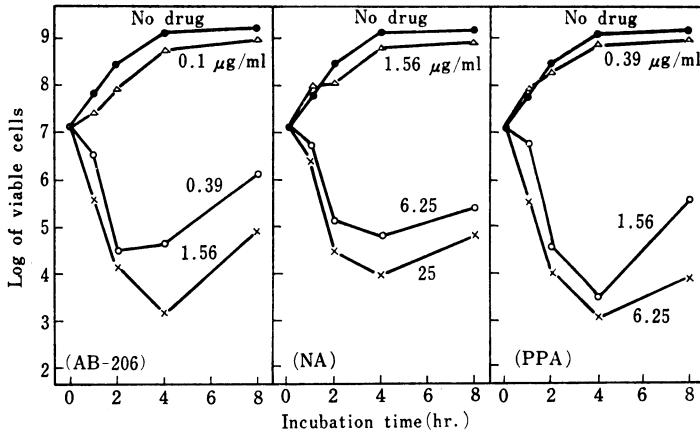


Table 4 Influence of various factors on MIC *Klebsiella pneumoniae*

		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		AB-206	NA	PPA
pH	6	0.19	1.56	12.5
	7	0.19	3.12	3.12
	8	0.78	6.25	1.56
Horse serum (%)	50	0.78	6.25	3.12
	10	0.39	3.12	1.56
	0	0.39	3.12	1.56
Inoculum size (cells/ml)	$2 \times 10^8$	1.56	6.25	3.12
	$2 \times 10^7$	0.39	3.12	3.12
	$2 \times 10^6$	0.39	3.12	1.56
	$2 \times 10^5$	0.39	3.12	1.56
	$2 \times 10^4$	0.39	3.12	1.56

Table 5 Influence of various factors on MIC *Serratia marcescens* T-55

		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		AB-206	NA	PPA
pH	6	1.56	6.25	12.5
	7	3.12	12.5	6.25
	8	6.25	25	6.25
Horse serum (%)	50	3.12	25	12.5
	10	0.78	6.25	6.25
	0	0.78	6.25	3.12
Inoculum size (cells/ml)	$1 \times 10^8$	6.25	25	25
	$1 \times 10^7$	3.12	12.5	12.5
	$1 \times 10^6$	1.56	6.25	6.25
	$1 \times 10^5$	1.56	6.25	3.12
	$1 \times 10^4$	0.39	1.56	1.56

Table 6 Influence of various factors on MIC *Pseudomonas aeruginosa* E-2

		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		AB-206	NA	PPA
pH	6	12.5	>100	25
	7	25	>100	12.5
	8	50	>100	12.5
Horse serum (%)	50	50	>100	25
	10	25	>100	12.5
	0	12.5	>100	12.5
Inoculum size (cells/ml)	$2 \times 10^8$	50	>100	50
	$2 \times 10^7$	50	>100	25
	$2 \times 10^6$	25	>100	25
	$2 \times 10^5$	12.5	>100	25
	$2 \times 10^4$	12.5	>100	6.25

結果は Table 3~6 に示すとおりである。培地 pH の影響では AB-206 や NA はいずれの菌の場合も、酸性側で抗菌力がやや高まる傾向にあった。しかし PPA の場合、アルカリ側で抗菌力が良くなった。馬血清添加の場合 3 剤ともあまり大きな影響を受けなかった。接種菌量では菌量が多くなっても 3 剤ともほとんど影響を受けなかった。

4. 抗菌作用形式 (増殖曲線に及ぼす影響)

(a) *E. coli* NIH JC-2 について

大腸菌の増殖曲線に及ぼす影響について、生菌数測定の結果を Fig.38 に示す。最小発育阻止濃度 (MIC) すなわち AB-206 の  $0.39 \mu\text{g/ml}$ , NA の  $6.25 \mu\text{g/ml}$ , PPA の  $1.56 \mu\text{g/ml}$  以上の濃度により殺菌作用が認められたが、いずれの薬剤の場合も、薬剤作用 4 時間目以後に再増殖が認められた。

Fig. 39 Bactericidal effect of AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid against *Klebsiella pneumoniae*

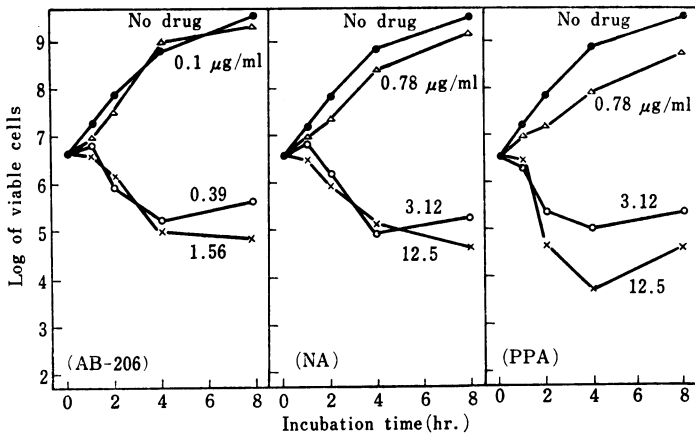


Fig. 40 Bactericidal effect of AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid against *Serratia marcescens* T-55

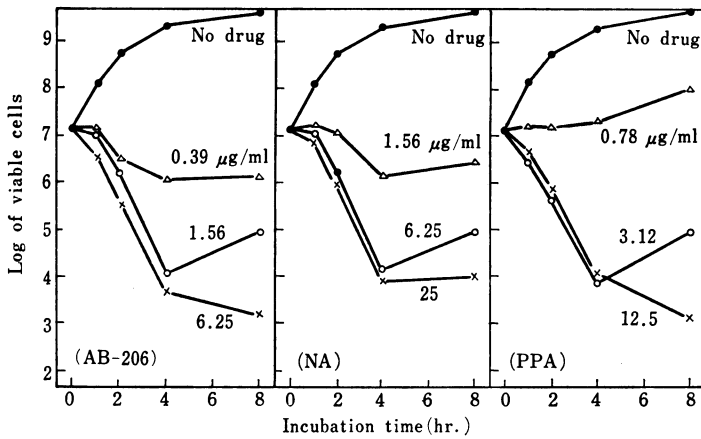
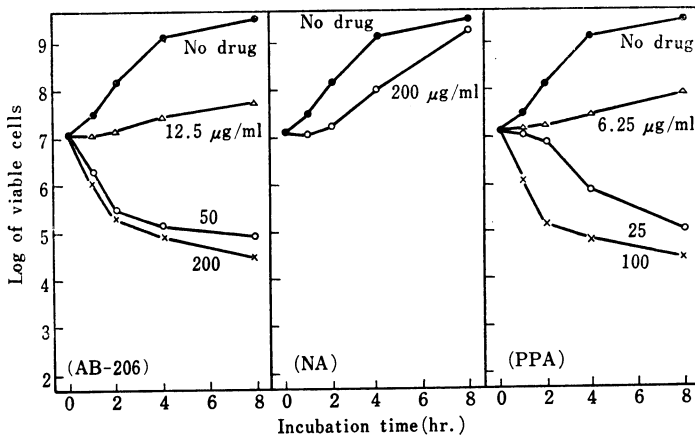


Fig. 41 Bactericidal effect of AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid against *Pseudomonas aeruginosa* E-2



(b) *K. pneumoniae* について

Fig. 39 に示すように、MIC すなわち AB-206 の 0.39  $\mu\text{g/ml}$ , NA の 3.12  $\mu\text{g/ml}$ , PPA の 3.12  $\mu\text{g/ml}$  以上の濃度により殺菌作用が認められたが、この菌の場合も薬剤作用 4 時間目以後、一部の濃度において再増殖が認められた。

(c) *S. marcescens* T-55 について

Fig. 40 に示すように、MIC すなわち AB-206 の 1.56  $\mu\text{g/ml}$ , NA の 6.25  $\mu\text{g/ml}$ , PPA の 3.12  $\mu\text{g/ml}$  以上の濃度により殺菌作用が認められたが、この 1/4 量の濃度では静菌的な作用であった。また薬剤作用 4 時間目以後、ある濃度では再増殖が認められた。

(d) *Ps. aeruginosa* E-2 について

Fig. 41 に示すように、MIC すなわち AB-206 の 50  $\mu\text{g/ml}$ , PPA の 25  $\mu\text{g/ml}$  以上の濃度により殺菌作用が認められ、この 1/4 量の濃度では、2 時間ぐらいの増殖抑制が認められた。また NA では  $>200 \mu\text{g/ml}$  耐性のため、増殖抑制作用は認められなかった。

## 5. 自然耐性菌出現頻度

*E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* T-55, *Ps. aeruginosa* E-2 を用いて自然耐性菌出現頻度について検討した結果は、Table 7 に示すとおりである。選択薬剤濃度が 10 MIC の場合、AB-206 は *E. coli* NIH JC-2 では  $<1.0 \times 10^{-9}$ , *K. pneumoniae* では  $5.0 \times 10^{-8}$ , *S. marcescens* T-55 では  $<1.6 \times 10^{-9}$ , *Ps. aeruginosa* E-2 では  $<2.0 \times 10^{-9}$  の出現頻度であり、NA あるいは PPA に比べて自然耐性菌は少なかった。

## 6. マウス実験の感染症に対する治療効果

## (a) 大腸菌感染症に対する治療効果

*E. coli* No. 29 感染症に対する治療効果は、Table 8 に示すとおりである。AB-206 の治療効果は NA あるいは PPA よりも約 2 倍程度良く、それらの ED<sub>50</sub> 値は AB-206 が 0.66 mg/mouse, NA が 1.16 mg/mouse, PPA が 1.17 mg/mouse であった。なお、( ) 内は 95 % 信頼限界値を示している。

## (b) 肺炎桿菌感染症に対する治療効果

*K. pneumoniae* 感染症に対する治療効果は、Table 9

Table 7 Frequency of natural resistant mutants to AB-206

	Selected concentration	<i>E. coli</i> NIHJC-2	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Ps. aeruginosa</i> E-2	<i>S. marcescens</i> T-55
AB-206	10 MIC	$<1.0 \times 10^{-9}$	$5.0 \times 10^{-8}$	$<2.0 \times 10^{-9}$	$<1.6 \times 10^{-9}$
NA	10 MIC	$5.0 \times 10^{-7}$	$1.3 \times 10^{-8}$	$(5.0 \times 10^{-8})$	$3.2 \times 10^{-8}$
PPA	10 MIC	$2.0 \times 10^{-8}$	$2.5 \times 10^{-8}$	$2.0 \times 10^{-9}$	$1.6 \times 10^{-9}$

Table 8 Protecting effect with AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid for experimental *E. coli* No. 29 infection in mice

	Challenge dose		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> * (mg/mouse)
	cells/mouse	LD <sub>50</sub>		
AB-206	$1.5 \times 10^6$	1,000	6.25	0.66 (0.43~1.02)
NA			$>100$	1.16 (0.79~1.69)
PPA			12.5	1.17 (0.69~1.99)

\* LITCHFIELD-WILCOXON method

Table 9 Protecting effect with AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid for experimental *K. pneumoniae* infection in mice

	Challenge dose		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> * (mg/mouse)
	cells/mouse	LD <sub>50</sub>		
AB-206	$3.0 \times 10^4$	100	0.39	1.73 (1.41~2.13)
NA			3.12	3.82 (3.26~4.48)
PPA			1.56	1.84 (1.38~2.52)

\* LITCHFIELD-WILCOXON method

Table 10 Protecting effect with AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid for experimental *S. marcescens* T-55 infection in mice

Drug	Challenge dose		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> * (mg/mouse)
	cells/mouse	LD <sub>50</sub>		
AB-206	$1.4 \times 10^6$	560	1.56	0.353 (0.205~0.607)
NA			6.25	0.785 (0.473~1.303)
PPA			3.12	0.732 (0.488~1.098)

\* LITCHFIELD-WILCOXON method

に示すとおりである。AB-206 の治療効果は NA より 2 倍以上良いが、PPA とはほぼ同等であり、それらの ED<sub>50</sub> 値は AB-206 が 1.73 mg/mouse, NA が 3.82 mg/mouse, PPA が 1.84 mg/mouse であった。

## (c) セラチア感染症に対する治療効果

*S. marcescens* T-55 感染症に対する治療効果は Table 10 に示すとおりである。AB-206 の治療効果は NA あるいは PPA に比べて 2 倍以上良く、それらの ED<sub>50</sub> 値は AB-206 が 0.353 mg/mouse, NA が 0.785 mg/mouse, PPA が 0.732 mg/mouse であった。

## (d) 緑膿菌感染症に対する治療効果

*Ps. aeruginosa* E-2 感染症に対する治療効果は Table 11 に示すとおりである。AB-206 の治療効果は NA より 5 倍、PPA より約 2 倍程度良く、それらの ED<sub>50</sub> 値

Table 11 Protecting effect with AB-206, Nalidixic acid and Pipemidic acid for experimental *Ps. aeruginosa* E-2 infection in mice

Drug	Challenge dose		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> * (mg/mouse)
	cells/mouse	LD <sub>50</sub>		
AB-206	7.5×10 <sup>2</sup>	60	50	2.03 (1.47~2.80)
NA			>200	10.2 (6.0~17.2)
PPA			25	3.80 (2.88~5.02)

\* LITCHFIELD-WILCOXON method

は AB-206 が 2.03 mg/mouse, NA が 10.2 mg/mouse, PPA が 3.80 mg/mouse であった。また AB-206 は PPA に比べると *in vitro* 抗菌力では 2 倍劣るのに対して, *in vivo* の治療効果では約 2 倍すぐれているという結果が得られた。

### III. 総括および考察

住友化学工業株式会社で合成された新しい化学療法剤 AB-206 に関する細菌学的評価を既知化学療法剤 Nalidixic acid (NA) および Pipemidic acid (PPA) を比較薬剤として検討を行なった。その結果, 本剤はブドウ球菌など一部のグラム陽性菌に対して感受性を示したが, その他のグラム陽性菌には NA や PPA と同様無効であった。グラム陰性菌に対しては強い抗菌力を有し, NA あるいは PPA よりもすぐれていた。しかしながら緑膿菌に対しては, PPA より劣っていた。臨床分離ブドウ球菌, 大腸菌, 肺炎桿菌, 変形菌, セラチア, 緑膿菌に対する感受性分布について検討した結果, 緑膿菌を除く菌種については, NA あるいは PPA よりすぐれていたが, 緑膿菌では PPA より 2 倍程度劣っていた。また本剤と NA の間には相関関係を認めにくかったが, 本剤と PPA の間にはわずかに相関関係が認められた。抗菌力に及ぼす諸因子の影響では, 大腸菌, 肺炎桿菌, セラチア, 緑膿菌のいずれの菌種を用いた場合も, さほど大きな影響は認められなかった。

抗菌作用形式では 3 剤とも最小発育阻止濃度 (MIC) 以上で殺菌作用が認められたが, 薬剤作用 4 時間以後に菌の再増殖が認められた。自然耐性菌出現頻度では, 大腸菌, 肺炎桿菌, セラチア, 緑膿菌のいずれの菌種を用いた場合も出現頻度は NA あるいは PPA よりも低かった。マウス実験的感染症に対する治療効果では, 大腸菌を用いた場合, 本剤は NA あるいは PPA の約 2 倍すぐれていた。肺炎桿菌の場合, NA より 2 倍以上すぐれていたが, PPA とは同等であった。セラチアの場合, NA あるいは PPA の約 2 倍すぐれていた。緑膿菌の場合, NA より 5 倍すぐれ, PPA に比べ *in vitro* 抗菌力が劣るにもかかわらず *in vivo* 抗菌力では約 2 倍すぐれていた。

この点については, 本剤の吸収排泄と殺菌力に起因しているものと考えている<sup>6)</sup>。

### IV. ま と め

新しく合成された化学療法剤 AB-206 について, Nalidixic acid (NA), Pipemidic acid (PPA) を比較薬剤として細菌学的評価を行なった結果, つぎのような成績が得られた。

1. 本剤はグラム陰性菌群に強い抗菌力を示し, その抗菌力は NA あるいは PPA よりもすぐれていた。またブドウ球菌群にも感受性を示したが, 他のグラム陽性菌群に対しては, NA および PPA 同様耐性であった。
2. 臨床分離ブドウ球菌, 大腸菌, 肺炎桿菌, 変形菌, セラチアに対する感受性は NA あるいは PPA よりもすぐれ, 緑膿菌に対しては, PPA より劣っていた。また NA との間に相関関係は認められなかったが, PPA との間には, わずかに認められた。
3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響については, さほど大きな影響を受けなかった。
4. 大腸菌, 肺炎桿菌, セラチア, 緑膿菌に対する抗菌作用形式では, 最小発育阻止濃度 (MIC) 以上で殺菌作用が認められた。
5. 自然耐性菌出現頻度では, NA あるいは PPA よりも出現頻度は低かった。
6. マウス実験的感染症に対する治療効果では, 大腸菌, 肺炎桿菌, セラチア, 緑膿菌を用いた場合, NA あるいは PPA よりもすぐれており, 約 2 倍以上の治療効果を示した。

### 文 献

- 1) 石神襄次: 第 24 回日本化学療法学会東日本支部総会 新薬シンポジウム AB-206, 札幌, 1977
- 2) 中澤昭三, 中村敏子, 丹羽能子, 余公元子: 新化学療法剤 Nalidixic acid に関する基礎的研究。Chemotherapy 13: 139~145, 1965
- 3) 石山正光, 中澤昭三: 抗生物質 Rifampicin と合成化学療法剤 Nalidixic acid との併用効果に関する細菌学的研究。Jap. J. Antibiotics 27: 643~652, 1974
- 4) SHIMIZU, M.; Y. TAKASE, S. NAKAMURA, H. KATAE, A. MINAMI, K. NAKATA & N. KUROBE: Pipemidic acid: Its activities against various experimental infections. Antimicrob. Agents & Chemoth. 9: 569~574, 1976
- 5) 中澤昭三, 西野武志, 浜洲泰久, 石山正光: 合成化学療法剤 Pipemidic acid に関する細菌学的研究。Chemotherapy 23: 2647~2658, 1975
- 6) 尾花芳樹, 西野武志, 中澤昭三: 化学療法剤の投与方法に関する実験的解析, (8) 緑膿菌に対する AB-206 の効果。Chemotherapy, 26 (Suppl. 4): 41~47, 1978

## BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF AB-206, A NEW CHEMOTHERAPEUTIC AGENT

TAKESHI NISHINO, YOSHIKI OBANA, MICHI WADA  
and the late SHOZO NAKAZAWA

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of AB-206 was compared with those of nalidixic acid (NA) and pipemidic acid (PPA). The following results were obtained.

- 1) The antibacterial activity of AB-206 against Gram-negative bacteria was superior to those of NA and PPA.
- 2) The *in vitro* antibacterial activity of AB-206 against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus* species, *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens* was superior to those of NA and PPA, but was inferior to PPA for *Pseudomonas aeruginosa*.
- 3) Influence of medium pH, the addition of horse serum and inoculum size on *in vitro* antibacterial activity of AB-206 showed the same tendency to NA and PPA.
- 4) Bactericidal action of AB-206 against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa* was similar to those of NA and PPA.
- 5) Frequency of natural resistant mutants to AB-206 was lower than NA and PPA.
- 6) On the protecting effect for systemic infections in mice, the effect of AB-206 was superior to NA and PPA for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa*.