

6059-S の *in vivo* 抗菌作用

松浦 真三・三和 秀明・深尾 孝

塩野義製薬株式会社研究所

新しく合成された Oxacephem 系の注射用抗生物質 6059-S の *in vivo* 抗菌作用について、Cefazolin, Cefmetazole, Sulbenicillin および Piperacillin を対照として比較検討した。

マウスの実験的腹腔内感染における本薬の治療効果は、グラム陽性菌感染に対しては Cefazolin, Cefmetazole より劣ったが、各種のグラム陰性菌感染には極めて強力かつ広範囲に効果を示し、今回試験された *E. coli*, *K. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Proteus*, *Enterobacter*, *C. freundii* および *S. marcescens* のほとんどすべての感染に対して 1 mg/kg 以下の ED<sub>50</sub> 値を示し、Cefazolin, Cefmetazole に比べ著しく優れた治療効果を認めた。

*P. aeruginosa* 感染に対する 6059-S の効果は、他のグラム陰性菌感染に対するよりもやや劣ったが、Sulbenicillin, Piperacillin に較べて優れていた。

6059-S の治療効果は、接種菌量の増加または投与時期の遅れにともなって減弱する傾向を示したが、一方では、頻回投与によって著しい効果の増大を認めた。

*E. coli* および *P. aeruginosa* によるマウスの上行性尿路感染においても、腹腔内感染と同様、6059-S の有効性が認められた。

## 緒 言

6059-S は、塩野義製薬株式会社研究所で新しく開発された Oxacephem 系の注射用抗生物質で、Cephamycin 構造をもちながら Cephalosporin 骨格中の硫黄が酸素原子に置き換えられた構造を有する。同じ Cephamycin 構造をもつ Cefmetazole は、従来の Cephalosporin 系抗生物質が十分に抗菌力を発揮し得ない indole 陽性 *Proteus* や *S. marcescens* などにも抗菌力を示すことが報告<sup>1)</sup>されているが、6059-S は、これらの菌種に加え、さらに Cefmetazole に対して感受性の低い *Enterobacter* 属、*C. freundii* および *P. aeruginosa* にも抗菌力を示し、*in vitro* 抗菌スペクトラムは極めて広範なことが知られている<sup>2)</sup>。

本報では、マウスを用いた実験的感染症に対する 6059-S の *in vivo* 抗菌作用について報告する。

## 材料と方法

(1) 使用動物：腹腔内感染には SLC-ICR の 5 週令、雌マウス、体重 19~23 g、尿路感染には JCL-ICR の 5 週令、雌マウス、体重 17~21 g を用いた。

(2) 試験薬：6059-S (Lot. No. F 55 K 063 S 009 N, F 55 K 063 S 0010 N), Cefazolin (CEZ), Cefmetazole (CMZ), Sulbenicillin (SBPC) および Piperacillin (PIPC) を用い、各試験薬とも滅菌蒸留水に溶解した。

(3) 使用菌株：当研究所保存のグラム陽性菌 4 株およびグラム陰性菌 29 株を用いた。感染実験用には、寒天斜面培地で一夜培養した菌苔をハート・インフュージョ

ン・ブイオン培地 (HIB:栄研) で 10<sup>8-9</sup> CFU/ml の菌濃度に懸濁し、保護剤として非働化牛血清またはスキムミルクを加え、小容器に分注して -80°C で凍結保存した。使用に際しては、これらの凍結菌液を温浴中で速やかに融解し、それぞれの毒力に応じて適宜希釈して実験に供した。

(4) MIC の測定：日本化学療法学会標準法に準拠した吉田らの方法<sup>3)</sup>に従って行なった。

## (5) 感染および治療試験

## i) 腹腔内感染：

*S. pyogenes* C-203, *S. pneumoniae* Type-1 および *K. pneumoniae* SRL-1 は HIB に、その他の菌株は 5% ムチン (American Laboratories Inc.) に懸濁し、0.5 または 1 ml を腹腔内に接種した。薬物の投与は、とくにことわりのない限り、菌接種 1, 5 時間後の 2 回皮下投与によって行なった。1 群 4~8 匹のマウスを使用し、2 ないし 3 回の繰返し実験を行ない、7 日後の生存率より Probit 法によって 50% 有効量 (ED<sub>50</sub>) を求め、1 回の投与量で表現した。

## ii) 尿路感染：

*E. coli* EC-14 および *P. aeruginosa* PA-116 を感染菌として用いた。感染は既に報告<sup>4)</sup>した方法に従って行なったが、その概略を述べると、前夜より給水制限したマウスに排尿させたのち、麻酔し、先端をまるめた 1/3 針装着のツベルクリン注射筒を用いて、希釈菌液 0.125 ml を経尿道的に膀胱内に注入してから、直ちに外尿道

口を小型クリップで閉鎖し、以後 4 時間排尿を停止させた。*E. coli* 感染系では接種 6 時間後に、*P. aeruginosa* 感染系では 4 および 7 時間後に試験薬を皮下投与し、以後翌日より朝夕 2 回、3 日間治療を継続した。最終投薬の翌日、すなわち、接種 4 日後に両腎を摘出し、HIB を加えてホモジナイズしたのち、ドリガルスキー改良培地 (BTB: 栄研) による定量培養を行ない、腎 1 g 当りの生菌数を求めた。1 群 5~7 匹のマウスを用い、2 ないし 3 回実験を繰り返して腎内生菌数が  $10^4$  CFU/g 以下の場合を有効と判定し、各投与量における有効率から Logit 法によって  $ED_{50}$  ならびに信頼限界 (95%) を算出した。

(6) 腹腔内生菌数の測定: 1 群 3 匹のマウスを使用し、腹腔内に菌液を接種したのち、種々の時間にマウスを屠殺し、HIB 2.5 ml を腹腔内に注入して洗滌後、その回収液についてハート・インフュージョン寒天培地 (HIA: 栄研) による定量培養を行ない、生菌数を求めた。

### 実験成績

#### (1) マウス腹腔内感染に対する治療効果

感染に用いた各種の菌株を、CEZ 感受性、CEZ 非感

受性および *P. aeruginosa* の 3 群に分け、これらの感染系に対する 6059-S ならびに対照薬の治療効果 ( $ED_{50}$ ) を  $10^6$  CFU/ml 接種時の MIC とともに Table 1~3 に示した。

#### a) CEZ 感受性株に対する効果

Ampicillin または Cephalothin 耐性株を含むグラム陽性陰性合わせて 11 菌株の感染に対する成績を Table 1 に示した。グラム陽性菌感染マウスに対する 6059-S の効果は、*in vitro* の抗菌力に平行して比較的弱く、CEZ、CMZ にはおよばなかった。しかし、*S. pyogenes* や *S. pneumoniae* 感染系での 6059-S の  $ED_{50}$  値は CMZ と極めて接近しており、MIC の差ほどの違いは治療効果に現われなかった。一方、グラム陰性菌感染マウスに対し、6059-S は、*K. pneumoniae* SRL-1 を除くすべての感染系において  $0.034\sim 0.25$  mg/kg の  $ED_{50}$  を示し、CEZ の  $0.12\sim 14.8$  mg/kg に較べていずれの感染系においても優れた治療効果が観察された。とくに、*E. coli* 377 (CET 耐性)、*H. influenzae* 88562、*E. cloacae* CL-113 の各感染系に対する活性は、CEZ の 100 倍以上強力であった。CMZ の効果は、CEZ と同等もしくはやや優れていた。

#### b) CEZ 非感受性株に対する効果

Table 1 Protective effects of 6059-S, CEZ and CMZ against experimental intraperitoneal infections with CEZ-susceptible strains in mice

| Organism                            | Challenge dose (CFU/mouse) | $ED_{50}$ (mg/kg) |      |      | MIC ( $\mu$ g/ml) |      |      |
|-------------------------------------|----------------------------|-------------------|------|------|-------------------|------|------|
|                                     |                            | 6059-S            | CEZ  | CMZ  | 6059-S            | CEZ  | CMZ  |
| <i>S. aureus</i> SMITH              | $9 \times 10^5$            | 10.6              | 0.12 | 2.90 | 6.25              | 0.2  | 0.78 |
| <i>S. aureus</i> C-14 <sup>a)</sup> | $2 \times 10^6$            | 10.2              | 0.58 | 2.22 | 6.25              | 0.2  | 1.56 |
| <i>S. pyogenes</i> C-203*           | $2 \times 10^3$            | 14.9              | 0.65 | 10.6 | 3.13              | 0.1  | 0.78 |
| <i>S. pneumoniae</i> Type-1*        | $4 \times 10^3$            | 75.5              | 4.66 | 46.0 | 3.13              | 0.05 | 0.39 |
| <i>E. coli</i> EC-14                | $3 \times 10^4$            | 0.049             | 2.35 | 1.18 | 0.1               | 0.78 | 0.78 |
| <i>E. coli</i> 377 <sup>b)</sup>    | $4 \times 10^6$            | 0.13              | 14.8 | 8.41 | 0.1               | 6.25 | 3.13 |
| <i>K. pneumoniae</i> SRL-1*         | $3 \times 10^4$            | 13.3              | 177  | 69.3 | 0.1               | 0.78 | 0.78 |
| <i>K. pneumoniae</i> KL-76          | $5 \times 10^6$            | 0.23              | 3.75 | 3.76 | 0.2               | 1.56 | 1.56 |
| <i>P. mirabilis</i> PR-4            | $4 \times 10^6$            | 0.25              | 7.98 | 11.1 | 0.1               | 3.13 | 1.56 |
| <i>E. cloacae</i> CL-113            | $1 \times 10^6$            | 0.089             | 12.5 | 5.54 | 0.1               | 6.25 | 6.25 |
| <i>H. influenzae</i> 88562          | $1 \times 10^6$            | 0.034             | 8.34 | 6.45 | 0.03              | 1.56 | 0.78 |

Mice were infected intraperitoneally with test organism in 5% mucin.

Antibiotics were administered at 1 and 5 hrs after infection.

$ED_{50}$  value was expressed as a single dose.

MIC was assayed by the agar dilution method and inoculum size was one loopful of  $10^6$  CFU/ml.

\*: Without 5% mucin

a): Ampicillin-resistant strain

b): Cephalothin-resistant strain

CEZ の MIC 値が 25  $\mu\text{g/ml}$  以上を示したグラム陰性菌 15 株の感染に対する治療成績を Table 2 に示した。6059-S は、これらのほとんどすべてに対して 1 mg/kg 以下の ED<sub>50</sub> 値を示し、CEZ 感受性株による感染と同程度の良好な治療効果が得られた。CMZ は、これらの感染系に対して CEZ よりも明らかに優れた治療効果を示したが、6059-S の効果は CMZ をさらに大きく

上回り、とくに、*Enterobacter*, *C. freundii*, *S. marcescens* の各感染系ではその差が著しかった。

c) *P. aeruginosa* に対する効果

Gentamicin 耐性を含む 7 株の *P. aeruginosa* 感染に対する治療成績を Table 3 に示した。この実験では、対照薬として、とくに SBPC と PIPC を選んだ。これらの感染系に対する 6059-S の ED<sub>50</sub> 値は 11.6~64.4

Table 2 Protective effects of 6059-S, CEZ and CMZ against experimental intraperitoneal infections with CEZ-insusceptible strains in mice

| Organism                        | Challenge dose (CFU/mouse) | ED <sub>50</sub> (mg/kg) |      |      | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) |      |      |
|---------------------------------|----------------------------|--------------------------|------|------|--------------------------|------|------|
|                                 |                            | 6059-S                   | CEZ  | CMZ  | 6059-S                   | CEZ  | CMZ  |
| <i>E. coli</i> 73               | 4 × 10 <sup>6</sup>        | 0.25                     | 38.3 | 5.56 | 0.2                      | 25   | 1.56 |
| <i>K. pneumoniae</i> 363        | 2 × 10 <sup>7</sup>        | 0.37                     | >500 | 7.74 | 0.05                     | >100 | 0.39 |
| <i>K. pneumoniae</i> KL-124     | 8 × 10 <sup>5</sup>        | 0.90                     | 72.5 | 15.0 | 1.56                     | 100  | 12.5 |
| <i>K. pneumoniae</i> KL-184     | 3 × 10 <sup>6</sup>        | 0.27                     | >500 | 5.32 | 0.2                      | >100 | 0.78 |
| <i>P. mirabilis</i> PM-50       | 5 × 10 <sup>6</sup>        | 0.47                     | 8.87 | 17.8 | 0.2                      | 25   | 6.25 |
| <i>P. vulgaris</i> CN-329       | 7 × 10 <sup>5</sup>        | 0.52                     | 56.4 | 16.3 | 0.2                      | >100 | 1.56 |
| <i>P. rettgeri</i> RET-21       | 9 × 10 <sup>6</sup>        | 2.77                     | 363  | 97.6 | 0.39                     | >100 | 6.25 |
| <i>P. morgani</i> MOR-50        | 3 × 10 <sup>6</sup>        | 1.41                     | 178  | 10.6 | 0.2                      | >100 | 3.13 |
| <i>P. inconstans</i> IN-25      | 8 × 10 <sup>6</sup>        | 0.50                     | 40.5 | 17.8 | 0.2                      | >100 | 12.5 |
| <i>E. aerogenes</i> TB-510      | 1 × 10 <sup>5</sup>        | 0.14                     | 77.1 | 135  | 0.39                     | 50   | >100 |
| <i>E. cloacae</i> CL-25         | 6 × 10 <sup>5</sup>        | 0.10                     | >500 | 133  | 0.39                     | >100 | >100 |
| <i>E. cloacae</i> CL-47         | 4 × 10 <sup>6</sup>        | 0.17                     | 363  | 90.7 | 0.1                      | >100 | >100 |
| <i>C. freundii</i> CT-23        | 8 × 10 <sup>5</sup>        | 0.089                    | 74.9 | 9.80 | 0.1                      | 50   | 1.56 |
| <i>C. freundii</i> CT-29        | 3 × 10 <sup>6</sup>        | 0.080                    | 58.0 | 19.5 | 0.2                      | >100 | 12.5 |
| <i>S. marcescens</i> ATCC-13880 | 3 × 10 <sup>4</sup>        | 0.99                     | >500 | 60.1 | 0.39                     | >100 | 12.5 |

Experimental conditions were the same as footnotes in Table 1.

Table 3 Protective effects of 6059-S, SBPC and PIPC against experimental intraperitoneal infections with *P. aeruginosa* in mice

| Organism                    | Challenge dose (CFU/mouse) | ED <sub>50</sub> (mg/kg) |      |      | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) |      |      |
|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|------|------|--------------------------|------|------|
|                             |                            | 6059-S                   | SBPC | PIPC | 6059-S                   | SBPC | PIPC |
| <i>P. aeruginosa</i> PS-24  | 7 × 10 <sup>3</sup>        | 11.6                     | 35.7 | 28.3 | 25                       | 50   | 6.25 |
| <i>P. aeruginosa</i> E-2    | 7 × 10 <sup>3</sup>        | 14.7                     | 99.2 | 37.2 | 50                       | 100  | 12.5 |
| <i>P. aeruginosa</i> NC-5   | 3 × 10 <sup>3</sup>        | 27.1                     | 239  | 60.9 | 50                       | 100  | 12.5 |
| <i>P. aeruginosa</i> X-239  | 7 × 10 <sup>5</sup>        | 18.5                     | 58.6 | 29.8 | 25                       | 50   | 6.25 |
| <i>P. aeruginosa</i> PA-18  | 3 × 10 <sup>6</sup>        | 24.8                     | 169  | 134  | 25                       | >400 | 400  |
| <i>P. aeruginosa</i> PA-116 | 4 × 10 <sup>6</sup>        | 64.4                     | 185  | 143  | 12.5                     | 25   | 6.25 |
| <i>P. aeruginosa</i> PI-67  | 2 × 10 <sup>6</sup>        | 25.0                     | 77.1 | 46.8 | 6.25                     | 12.5 | 3.13 |

Experimental conditions were the same as footnotes in Table 1.

mg/kg の範囲で、前述の *P. aeruginosa* 以外のグラム陰性菌感染に対する効果に比べるとやや劣ったが、試験されたすべての感染系を通じて SBPC よりも 3~9 倍優れた治療効果を示した。また、6059-S は、*in vitro* 活性では PIPC よりも劣るにもかかわらず、治療効果は 2~5 倍優れていた。

## (2) 治療効果におよぼす諸因子の影響

### a) 感染菌量による影響

感染菌として *E. coli* EC-14 および *P. aeruginosa* PS-24 を用い、感染菌量の増加にともなう治療効果の変動を感染 1 時間後の 1 回投与によって検討し、その成績を Table 4 に示した。*E. coli* 感染系では、感染菌量を  $1 \times 10^8$  CFU (80 LD<sub>50</sub>) から  $1 \times 10^6$  CFU に増加しても各薬剤の ED<sub>50</sub> 値に有意の変動は認められなかったが、 $1 \times 10^7$  CFU 以上の接種では各薬剤とも ED<sub>50</sub> 値の上昇を示し、とくに、6059-S は CEZ, CMZ に較べて影響を受け易い傾向が見られた。一方、*P. aeruginosa* 感染系では、感染菌量が  $7 \times 10^2$  CFU (20 LD<sub>50</sub>) から 10 倍ずつ増量されるに従って、6059-S の ED<sub>50</sub> 値は 3~4 倍ずつ上昇したが、この変動は SBPC と同程度であり、PIPC に較べて菌量の影響を受けにくかった。

### b) 試験薬の投与時間による影響

*E. coli* EC-14 および *P. aeruginosa* PS-24 を感染菌として菌接種後の種々な時間に 1 回皮下投与を行ない、投与時間の違いによる治療効果の変動を検討し、同時に薬物投与時の腹腔内生菌数を測定した。

Fig. 1 に示すとおり、*E. coli* 感染系では、腹腔内に接

種された菌は対数的な増殖を示し、接種 1 時間後の  $2 \times 10^8$  CFU から 6 時間後の  $2 \times 10^9$  CFU へと約 1,000 倍に増加した。各試験薬の ED<sub>50</sub> 値は、菌接種から投与までの時間が延長するに従い上昇の傾向を示したが、CEZ, CMZ ではその変動が緩やかなのに対し、6059-S は、菌接種後 1~3 時間のいわゆる感染初期では極めて優れた治療効果を示す反面、腹腔内生菌数が  $10^7$  CFU に達する 4 時間以降の投与では急激に ED<sub>50</sub> 値が上昇し、5 時間後では 3 試験薬の ED<sub>50</sub> が極めて接近した値を示した。

一方、Fig. 2 に示すとおり、*P. aeruginosa* 感染系は、*E. coli* 感染系に較べて、菌接種後の腹腔内生菌数の増加は比較的緩やかな経過をたどり、感染 5 時間後においても接種時の約 40 倍の増加に過ぎなかった。それにもかかわらず、各試験薬とも投与時間によって ED<sub>50</sub> 値の変動が認められ、とくに、PIPC ではその影響が大きかった。これに対して、6059-S, SBPC ではその変動が比較的少なく、従って、感染初期の投与で優れた効果を示した 6059-S が、いずれの投与時期においても対照薬に比し治療成績が優れていた。

### c) 試験薬の投与回数による影響

*K. pneumoniae* SRL-1 を用いたムチン非添加の感染系において、菌接種 1 時間後から 1 時間間隔で 5 回投与を行ない、1 時間後 1 回および 1, 5 時間後 2 回投与の治療効果と比較した。この実験に限り ED<sub>50</sub> 値は総投与量で表わし、その成績を Table 5 に示した。1 回と 2 回投与の比較では、各試験薬とも ED<sub>50</sub> 値にそれ

Table 4 Effect of challenge dose on ED<sub>50</sub> of 6059-S and reference compounds against experimental infections in mice

#### *E. coli* EC-14

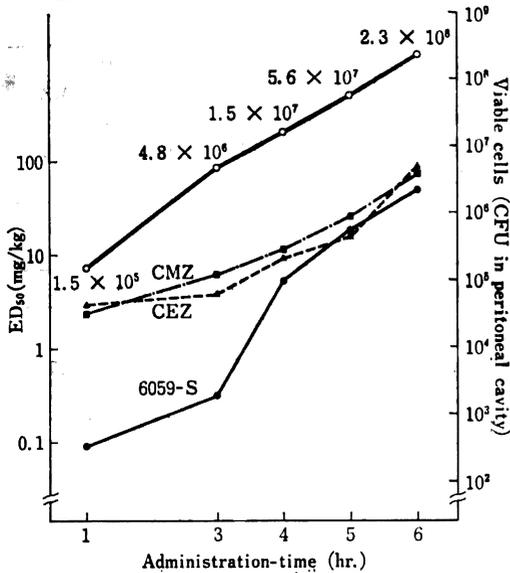
| Compound | MIC (μg/ml)     |                 | ED <sub>50</sub> (mg/kg) |                     |                     |                     |
|----------|-----------------|-----------------|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|          | 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>8</sup> | 1 × 10 <sup>5</sup>      | 1 × 10 <sup>6</sup> | 1 × 10 <sup>7</sup> | 1 × 10 <sup>8</sup> |
| 6059-S   | 0.1             | 0.2             | 0.13                     | 0.18                | 2.52                | 26.1                |
| CEZ      | 0.78            | 1.56            | 2.48                     | 2.86                | 15.1                | 184                 |
| CMZ      | 0.78            | 1.56            | 1.80                     | 3.45                | 8.06                | 310                 |

#### *P. aeruginosa* PS-24

| Compound | MIC (μg/ml)     |                 | ED <sub>50</sub> (mg/kg) |                     |                     |                     |
|----------|-----------------|-----------------|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|          | 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>8</sup> | 7 × 10 <sup>2</sup>      | 7 × 10 <sup>3</sup> | 7 × 10 <sup>4</sup> | 7 × 10 <sup>5</sup> |
| 6059-S   | 25              | 100             | 11.1                     | 41.5                | 140                 | >500                |
| SBPC     | 50              | 100             | 55.8                     | 145                 | 559                 | >1,000              |
| PIPC     | 6.25            | 100             | 20.7                     | 253                 | 658                 | >1,000              |

Mice were infected with test organism in 5% mucin.  
Antibiotics were administered at 1 hr after infection.

Fig. 1 Effect of administration-time on ED<sub>50</sub> of 6059-S, CEZ and CMZ against experimental *E. coli* EC-14 infection in mice

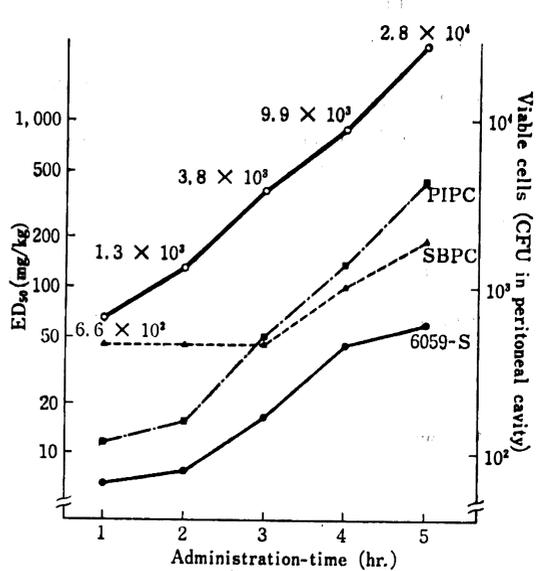


○ showed the number of viable bacteria in peritoneal cavity non-treated control.

Antibiotics were administered as a single dose at the indicated hour after infection.

Mice were infected with *E. coli* EC-14 ( $7 \times 10^4$  CFU/mouse) in 5% mucin.

Fig. 2 Effect of administration-time on ED<sub>50</sub> of 6059-S, SBPC and PIPC against experimental *P. aeruginosa* PS-24 infection in mice



○ showed the number of viable bacteria in peritoneal cavity non-treated control.

Antibiotics were administered as a single dose at the indicated hour after infection.

Mice were infected with *P. aeruginosa* PS-24 ( $7 \times 10^2$  CFU/mouse) in 5% mucin.

Table 5 Effect of multiple administrations on ED<sub>50</sub> of 6059-S, CEZ and CMZ against experimental *K. pneumoniae* SRL-1 infection in mice

Challenge dose:  $5 \times 10^4$  CFU/mouse

| Compound | MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )<br>$10^6$ | ED <sub>50</sub> (mg/kg) |               |                     | Ratio   |         |
|----------|------------------------------------|--------------------------|---------------|---------------------|---------|---------|
|          |                                    | (a)<br>1 hr              | (b)<br>1,5 hr | (c)<br>1,2,3,4,5 hr | (a)/(b) | (a)/(c) |
| 6059-S   | 0.1                                | 50.6                     | 24.8          | 2.67                | 2.0     | 19.0    |
| CEZ      | 0.78                               | 579                      | 370           | 103                 | 1.6     | 5.6     |
| CMZ      | 0.78                               | 382                      | 115           | 49.9                | 3.3     | 7.7     |

Mice were infected intraperitoneally with test organism in HIB.

Antibiotics were administered at the indicated hours in the Table after infection.

ED<sub>50</sub> value was expressed as total doses.

ほど大きな変動は認められなかったが、5回投与では一般に ED<sub>50</sub> 値の減少を示し、とくに 6059-S では 1回投与に較べて 5回投与の ED<sub>50</sub> 値は約 1/20 に減少し、CEZ の 1/6, CMZ の 1/8 に較べて頻回投与の効果が著明であった。

### (3) マウス尿路感染に対する治療効果

感染菌として *E. coli* EC-14 および *P. aeruginosa* PA-116 を用いたマウスの上行性尿路感染に対する治療成績を、Table 6 に示した。*E. coli* 感染系での 6059-S

の ED<sub>50</sub> 値は 8.91 mg/kg/dose で、CEZ, CMZ に比べ 7~8 倍優れ、*in vitro* 活性に応じた治療効果を示した。また、*P. aeruginosa* 感染系に対し、6059-S は 32.0 mg/kg/dose の ED<sub>50</sub> 値を示し、その効果は SBPC, PIPC に較べ約 2 倍優れていた。

### 考 察

構造的に従来の Cephalosporin とは異なる特異性を有する 6059-S は、極めて広範囲な抗菌スペクトラム

Table 6 Protective effects of 6059-S and reference compounds against experimental urinary tract infections in mice

*E. coli* EC-14

| Challenge dose (CFU/mouse) | Therapy                    | ED <sub>50</sub> (mg/kg) |                     |                     | MIC (μg/ml): 10 <sup>6</sup> |      |      |
|----------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|------------------------------|------|------|
|                            |                            | 6059-S                   | CEZ                 | CMZ                 | 6059-S                       | CEZ  | CMZ  |
| 2 × 10 <sup>4</sup>        | 6 hr and b.i.d. for 3 days | 8.91<br>(5.80-12.0)      | 63.6<br>(46.8-80.4) | 69.3<br>(57.5-81.1) | 0.1                          | 0.78 | 0.78 |

*P. aeruginosa* PA-116

| Challenge dose (CFU/mouse) | Therapy                       | ED <sub>50</sub> (mg/kg) |                     |                     | MIC (μg/ml): 10 <sup>6</sup> |      |      |
|----------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|------------------------------|------|------|
|                            |                               | 6059-S                   | SBPC                | PIPC                | 6059-S                       | SBPC | PIPC |
| 3 × 10 <sup>3</sup>        | 4, 7 hr and b.i.d. for 3 days | 32.0<br>(24.2-39.8)      | 66.8<br>(47.3-86.3) | 64.6<br>(46.4-82.8) | 12.5                         | 25   | 6.25 |

Mice were infected transurethrally with test organism in 0.125 ml of HIB.

ED<sub>50</sub> value was expressed as a single dose.

Number in parentheses indicated 95% confidence limits.

を示し、とくにグラム陰性菌に対する活性の強さは顕著であり、R 因子由来の penicillinase, 種特異の cephalosporinase のいずれにも極めて安定な性質<sup>9)</sup> を反映して、既存の β-lactam 薬に耐性の菌に対しても感受性菌と同等の抗菌活性を示すことが知られている。In vitro でこのように優れた活性を有する 6059-S が、マウスを用いた感染実験において如何にその効果を発現するかを検討するために、我々は、先ず CEZ 非感受性菌を含む数多くの菌種菌株について腹腔内感染系を作製し、それによって本薬の in vivo 活性に関する幅広い評価を試みた。

グラム陽性菌感染系に対する 6059-S の治療効果は必ずしも強調されるものではなかったが、*P. aeruginosa* を除くグラム陰性菌感染系に対しては極めて広範囲に有効で、その in vivo 抗菌スペクトラムは、現在臨床的に重要視されているグラム陰性菌の大半を網羅し、とくに従来の Cephalosporin が効果を示し難い indole 陽性 *Proteus*, *Enterobacter*, *S. marcescens* にまでおよぶことが注目された。しかも、その ED<sub>50</sub> は、CEZ 感受性、非感受性を問わず、試験されたほとんどすべての感染系に対して 1 mg/kg 以下の値を示し、本剤の治療効果が、従来の Cephalosporin に較べて著しく強力であることが確認された。

*P. aeruginosa* 感染系に対する 6059-S の効果は、他のグラム陰性菌感染に較べてそれほど強力ではなかったが、現在、抗核濃菌性ペニシリンとして評価されている SBPC<sup>9)</sup> や PIPC<sup>9)</sup> よりも優れた治療成績を示したことは、本菌による感染症に対する有用性を十分に示唆する

ものと考えられる。

6059-S の治療効果は、CMZ や PIPC に較べ、in vitro の抗菌力から予想される以上に優れることが、試験された感染系の多くについて観察された。本薬のマウス血中への移行性が CEZ と同程度に良好であること<sup>9)</sup> が、その理由の一部を説明するものと推察される。

治療効果におよぼす諸因子の影響として、感染菌量、投与時期ならびに投与回数に関して検討した。6059-S は、低菌量接種および感染初期において極めて強力な治療効果を発揮する反面、感染菌量の増加または感染の進行にともなってその効果は減弱する傾向を示した。これは、本剤の in vitro 殺菌作用が *P. aeruginosa* では接種菌量によって影響を受け易いこと<sup>9)</sup> と関連があるように思われる。一方、in vitro の感受性は良好であるにもかかわらず、各試験薬が異常に高い ED<sub>50</sub> 値を示した *K. pneumoniae* SRL-1 感染系 (Table 1) において、1 時間毎の頻回投与により 6059-S の治療効果を著しく改善することが可能となった。これは、同菌株を用いた形態変化の観察において、6059-S の溶菌作用が作用時間の延長によって著しく増強される事実<sup>9)</sup> と考え合わせて、感染菌の種類および感染の程度によっては、体内での薬物濃度を維持し菌との接触時間を保たせるような投与法を用いることによって 6059-S の効果をさらに増強し得ることが示唆された。

動物に投与された 6059-S の大部分が未変化のまま尿中に排泄されること<sup>9)</sup> から、マウスを用いた実験的尿路感染における治療効果を検討した結果、*E. coli*, *P. aeruginosa* いずれの感染系に対しても、6059-S は対照薬に

較べて優れた治療成績を示した。

以上のように、6059-S は *in vitro* での優れた抗菌活性がそのまま *in vivo* に反映して、各種の感染系に対して極めて広範囲かつ強力な治療効果を示し、さらに、人において CEZ と同程度の血中濃度が得られること<sup>9)</sup> から、臨床での効果が十分に期待されるものと考えられる。

## 謝 辞

本研究の実施に際し、種々ご助力をいただいた弊社研究所の東山伊佐夫、島岡 登両氏に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 菅原真一, 田島政三, 五十嵐 勇, 宇津井幸男, 大屋 哲, 中原正城: 新セフェマイシン系 抗生物質 CS-1170 の抗菌活性. *Chemotherapy* 26 (S-5): 81~98, 1978
- 2) 吉田 正, 亀田康雄, 元川清司: Oxacephem 系抗生物質の *in vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 28 (S-7): 86~131, 1980
- 3) NEU, H. C.; N. ASWAPOKKE, K. P. FU & P. ASWAPOKKE: Antibacterial activity of a new 1-oxa cephalosporin compared with that of other  $\beta$ -lactam compounds. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 16: 141~149, 1979
- 4) 松浦真三, 三和秀明, 東山伊佐夫, 島岡 登: Cefaclor の *in vivo* 抗菌作用. *Chemotherapy* 27 (S-7): 98~104, 1979
- 5) 村上和久, 吉田 正: Oxacephem 系抗生物質 6059-S のグラム陰性菌由来の  $\beta$ -lactamase に対する安定性とその抗菌活性に及ぼす影響. *Chemotherapy* 28 (S-7): 132~138, 1980
- 6) YAMAZAKI, T. & K. TSUCHIYA: *In vivo* antibacterial activity of disodium  $\alpha$ -sulfbenzylpenicillin. *J Antibiot.* 24 (9): 620~625, 1971
- 7) UEO, K.; Y. FUKUOKA, .T. HAYASHI, T. YASUDA, H. TAKI, M. TAI, Y. WATANABE, I. SAIKAWA & S. MITSUHASHI: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of T-1220, a new semisynthetic penicillin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 12: 455~460, 1977
- 8) 吉田 正, 木村増雄, 羽野義博: Oxacephem 系抗生物質 6059-S の各種動物における体内動態. *Chemotherapy* 28 (S-7): 194~206, 1980
- 9) 山田秀雄ほか: 6059-S の健康成人における吸収・排泄. *Chemotherapy* 28 (S-7): 251~262, 1980

## IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 6059-S

SHINZO MATSUURA, HIDEAKI MIWA and TAKASHI FUKAO  
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

The therapeutic efficacy of 6059-S, a new parenterally active oxacephem derivative antibiotic, against experimental infections in mice was compared with those of cefazolin, cefmetazole, sulbenicillin or piperacillin.

6059-S showed excellent *in vivo* activity against intraperitoneal infections caused by gram-negative organisms including *Haemophilus influenzae*, indole-positive *Proteus*, *Enterobacter* sp., *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens*. The doses less than 1 mg/kg of 6059-S were enough to protect mice from most of these infections, which proved to be strikingly more effective than either cefazolin or cefmetazole. However, the protective effect of 6059-S was inferior to these reference compounds against infections with gram-positive organisms.

Against pseudomonal infection, 6059-S was found to be significantly more active than sulbenicillin or piperacillin, although its activity was rather low in comparison with the results obtained in other gram-negative organisms.

The *in vivo* activity of 6059-S varied with the challenge dose of organisms or the dosing schedule. The multiple administrations of 6059-S enhanced its protective effect compared with single injection.

Furthermore, against ascending urinary tract infections of mice, 6059-S also exhibited potent activity in treatment of infections caused by either *E. coli* or *Pseudomonas aeruginosa*.