

新広域半合成ペニシリン剤 TA-058 の *in vitro*, *in vivo* 細菌学的評価

五島 聡智子・宮崎 修一・辻 明良

小川 正俊・金子 康子・桑原 章吾

東邦大学医学部微生物学教室

アモキシシリンにアスパラギン酸を結合した TA-058 の *in vitro* 抗菌作用を検討した結果、グラム陽性菌、グラム陰性菌の各菌種に対し広い抗菌スペクトルを有し、特に *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *P. mirabilis* に対し優れた抗菌力を確認した。*S. aureus*, *S. faecalis*, *E. coli*, *B. fragilis* に対する抗菌力も強く PIPC と同様であった。*K. pneumoniae*, *P. inconstans*, *P. aeruginosa* に対する抗菌力は弱く、また *P. vulgaris*, *S. marcescens* ではほとんどの株が 100 µg/ml 以上に分布していた。

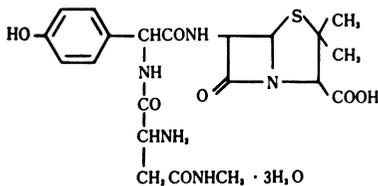
β-lactamase に対しては、cephalosporinase に対しては安定であるが、penicillinase には従来の広域ペニシリン剤同様不安定であった。

E. coli C-11 株, *K. pneumoniae* No. 10 株, *P. aeruginosa* PI-21 株を感染菌とした正常マウス実験感染に対する TA-058 の治療効果は、APPC よりやや劣るが、PIPC と同等、CBPC, SBPC, ABPC, AMPC より優れていた。*E. coli* C-11 株, *P. aeruginosa* PI-21 株を感染菌とした cyclophosphamide 処理マウス実験感染に対する TA-058 の治療効果は、CBPC, PIPC, ABPC, CEZ より優れていた。

はじめに

TA-058 は、アスパラギン酸の結合したアモキシシリン誘導体で、化学名は (2S, 5R, 6R)-6-[2R-2-(2R-2-amino-3-N-methyl carbamoylpropionamido)-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-3, 3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3. 2. 0]heptane-2-carboxylic acid trihydrate であり、構造式は Fig. 1 の如くである。

Fig. 1 Chemical structure of TA-058



本剤の抗菌スペクトルは従来の広域ペニシリン剤同様グラム陽性菌、グラム陰性菌に有効で、その作用は殺菌的であり、かつ接種菌量の影響が少ない。この *in vitro* における抗菌力が、*in vivo* マウス実験感染症に対する治療効果に反映するといわれている¹⁾。

本報告は、TA-058 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を既存の広域ペニシリン剤 Ampicillin, Carbenicillin,

Piperacillin および Apalcillin などと比較した細菌学的評価の概要である。

実験材料および実験方法

1. 使用菌株

教室保存株および臨床材料から分離したグラム陽性菌、グラム陰性菌の多数株を使用した。

2. 試験薬剤

TA-058 (TA-058, 994 µg/mg, 田辺製薬)

Ampicillin (ABPC, 903 µg/mg, 台糖ファイザー)

Carbenicillin (CBPC, 790 µg/mg, 藤沢薬品)

Piperacillin (PIPC, 915 µg/mg, 富山化学)

Apalcillin (APPC, 856 µg/mg, 住友化学)

3. 感受性測定法

日本化学療法学会標準法、日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法委員会法に従って行った^{2,3)}。なお *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* は、5%ウマ血液加ミューラーヒントン寒天平板を用いた。

4. 殺菌効果測定法

E. coli C-11 株を用い、普通ブイオンに接種し、菌数が約 10⁶ CFU/ml になった時、TA-058 の各濃度を添加し、添加後 1 時間、2 時間、4 時間、6 時間、9 時間および 24 時間毎にそれぞれ生菌数を測定した。同時に ABPC, CBPC, APPC, Amoxicillin (AMPC) につい

でも検討した。

5. 不活化酵素に対する安定性

1) 酵素液の調製

E. coli 35, *E. coli* ML-1410 RGN-238, *E. coli* ML-1410 RGN-823, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN-69, *C. freundii* GN-346, *E. cloacae* No. 91, *P. mirabilis* No. 9, *P. rettgeri* GN-624, *P. inconstans* GN-627, *S. marcescens* No. 79, *P. aeruginosa* No. 47, *P. aeruginosa* No. 11, *B. fragilis* GM 7004, *B. fragilis* GM 7002, *B. fragilis* GM 7000, *B. fragilis* No. 69, *B. fragilis* No. 48, *B. fragilis* No. 32 および *B. fragilis* No. 19 株を用い, 普通ブイヨンあるいは GAM ブイヨン中で 37°C, 一夜培養した菌体を超音波で破壊し, その遠心上清を粗酵素液とした⁴⁾。

2) 酵素活性の測定 (Bioassay)

薬剤は TA-058 のほか Penicillin G (PCG), ABPC, CBPC, Sulbencillin (SBPC), Mezlocillin (MZPC), APPC, PIPC, Ticarcillin (TIPC), Cloxacillin (MCI PC), AMPC を用いた。

各薬剤液を 50 µg/ml になるように前述の粗酵素液に加え, 37°C, 4 時間作用させた後, 100°C, 1 分間の加温処理によって酵素を不活化させ, 薬剤の残存力価をディスク法により測定した。検定菌は, TA-058 では *M. luteus* ATCC 9341, その他の薬剤はすべて *B. subtilis* ATCC 6633 を用いた。

6. 正常マウス実験感染における感染防禦効果

E. coli C-11 株, *K. pneumoniae* No. 10 株, *P. aeruginosa* PI-21 株を感染菌とした。感染に際しては, 普通寒天斜面培地で 24 時間培養した菌を集菌し, 目的とする菌量に生理食塩液で希釈し, 腹腔内に接種した。感染 1 時間後に TA-058, CBPC, SBPC, APPC, PIPC, AMPC を皮下投与し, 7 日間観察し, マウスの生死により, ED₅₀ 値を算出した。マウスは ICR 系, 雄, 体重 20 ± 1 g を一群 6 匹使用した。

7. Cyclophosphamide 処理マウス実験感染における感染防禦効果

感染菌として *E. coli* C-11 株と *P. aeruginosa* PI-21 株を用いた。薬剤は TA-058, CBPC, PIPC, ABPC, CEZ

Table 1 Antibacterial spectra of TA-058, ABPC, CBPC, PIPC, APPC against aerobic bacteria

Organisms	MIC (µg/ml)				
	TA-058	ABPC	CBPC	PIPC	APPC
<i>S. aureus</i> 209-P	6.25	≤0.2	0.39	25	>100
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	1.56	1.56	3.13	>100	>100
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1.56	1.56	1.56	>100	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	>100	100	100	50	>100
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	>100	>100	>100	25	12.5
<i>K. oxytoca</i> 1004	>100	>100	>100	>100	>100
<i>S. flexneri</i> 103R	12.5	50	>100	100	>100
<i>S. typhi</i> S 60	6.25	12.5	50	6.25	12.5
<i>P. mirabilis</i> 1287	>100	>100	>100	50	>100
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. morgani</i> IFO 3858	100	12.5	12.5	50	6.25
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	>100	12.5	100	>100	50
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	>100	100	>100	100	>100
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100	100	>100
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> TMS 180	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. maltophilia</i> TMS 227	>100	>100	>100	100	50
<i>P. cepacia</i> TMS 201	>100	>100	>100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	>100	>100	100	6.25
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	>100	>100	>100	>100	100
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	>100	>100	>100
<i>F. meningosepticum</i> TMS 462	>100	>100	>100	>100	>100

Inoculum size : 10⁸ cells/ml

を使用した。マウスの cyclophosphamide 処理法は川崎らの方法に準じ感染4日前に cyclophosphamide 250 mg/kg をマウス腹腔内に投与した。感染法は前述の正常マウスでの方法と同様である。

8. 薬剤の正常マウス血清中濃度の測定

マウスは実験感染と同条件のものをを用い、1群10匹とした。

TA-058, ABPC, AMPC および CBPC をそれぞれ 1 mg/mouse, 0.5 mg/mouse 皮下投与し、5分, 15分, 30分, 1時間, 2時間後にそれぞれマウスを断頭採血 (0.4 ml) 後直ちに血清を採取し、各群の血清をそれぞれプールし、不活化酵素に対する安定性試験で用いた株を検定菌としてディスク法にて血清中の薬剤濃度を測定した。

実験成績

1. 抗菌スペクトラム

グラム陽性菌3菌種, グラム陰性菌19菌種に対する抗菌力を検討した成績を Table 1, 2 に示した。 10^6 cells/

ml 接種においてグラム陽性菌 (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*) に対する TA-058 の MIC は従来のペニシリン剤同様 $0.2 \mu\text{g/ml}$ 以下と小さい値である。腸内細菌科の11菌種中8菌種 (*E. coli*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *P. mirabilis*, *P. morgani*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*, *S. marcescens*) に対する TA-058 の MIC は $0.39 \mu\text{g/ml}$ 以下を示し、ABPC, CBPC よりやや優れ、PIPC APPC とほぼ同等である。ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌に対する TA-058 の抗菌力は、ABPC より優れ、CBPC とほぼ同等、PIPC, APPC より劣っていた。

嫌気性菌18菌種に対する TA-058 の抗菌力を Table 3, 4 に示した。 10^6 cells/ml 接種時の *B. fragilis*, *C. difficile* に対する TA-058 の MIC はそれぞれ $100 \mu\text{g/ml}$ 以上と $6.25 \mu\text{g/ml}$ であり、この値は他の4薬剤とほぼ同等の抗菌力であり、その他の菌種に対する TA-058 の抗菌力は、他の4薬剤同様優れ、 $6.25 \mu\text{g/ml} \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された *S. aureus* 40株, *S. epide-*

Table 2 Antibacteria spectra of TA-058, ABPC, CBPC, PIPC, APPC against aerobic bacteria

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	TA-058	ABPC	CBPC	PIPC	APPC
<i>S. aureus</i> 209-P	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2	0.78	3.13
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2	50
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.39	6.25	25	0.39	1.56
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	50	25	>100	3.13	12.5
<i>K. oxytoca</i> 1004	50	25	>100	3.13	6.25
<i>S. flexneri</i> 103R	0.39	1.56	25	1.56	12.5
<i>S. typhi</i> S 60	0.39	0.78	3.13	0.39	1.56
<i>P. mirabilis</i> 1287	≤ 0.2	0.37	1.56	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	6.25	3.13	0.78	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>P. morgani</i> IFO 3858	≤ 0.2	0.78	0.78	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	0.39	1.56	1.56	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.39	6.25	0.78	0.78	12.5
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.39	50	3.13	0.78	12.5
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	6.25	>100	1.56	3.13	3.13
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	100	>100	>100	12.5	12.5
<i>P. putida</i> TMS 180	6.25	>100	25	1.56	0.78
<i>P. maltophilia</i> TMS 227	100	1.56	≤ 0.2	1.56	
<i>P. cepacia</i> TMS 201	50	>100	25	50	100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	25	25	25	100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	6.25	>100	100	6.25	6.25
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	0.39	25	12.5	0.78	12.5
<i>F. meningosepticum</i> TMS 462	25	100	>100	3.13	6.25

Inoculum size : 10^6 cells/ml

rmidis 33株, *S. faecalis* 20株, *S. pyogenes* 20株, *S. pneumoniae* 20株, *E. coli* 43株, *K. pneumoniae* 27株, *P. mirabilis* 35株, *P. rettgeri* 20株, *P. inconstans* 20株, *S. marcescens* 20株, *P. aeruginosa* 20株, *B. fragilis* 27株に対する TA-058, ABPC, CBPC, PIPC, APPC の5薬剤の MIC 分布を比較検討した成績を Fig. 2~16 に示した。

S. aureus に対する TA-058 の抗菌力は, 接種菌量 10^6 cells/ml において APPC より優れ, CBPC, PIPC とほぼ同等であるが, ABPC より劣り, MIC のピーク値は $3.13 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 2)。

S. epidermidis, *S. faecalis* に対する TA-058 の抗菌力は 10^6 cells/ml 接種で CBPC, APPC より優れているが, ABPC, PIPC より劣り, これら2菌種に対する TA-058 の80%発育阻止濃度 (菌株の80%の発育

を阻止する濃度) はそれぞれ 3.13 と $6.25 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 3, 4)。

S. pyogenes に対する5薬剤の MIC 分布は, 10^6 cells/ml 接種時 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 以下であり, TA-058 の抗菌力は APPC, PIPC より優れているが, ABPC, CBPC より劣っていた (Fig. 5)。

S. pneumoniae に対する各薬剤の MIC 分布は接種菌量 10^6 cells/ml では各薬剤とも $0.19 \mu\text{g/ml}$ 以下に分布し, TA-058 の80%発育阻止濃度は ABPC, PIPC と同じ $0.025 \mu\text{g/ml}$ 以下と小さい値であった (Fig. 6)。

E. coli に対する TA-058 の抗菌力は, ABPC, CBPC, APPC より優れていたが, PIPC より劣っていた。TA-058 の MIC ピーク値は $1.56 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 7)。

K. pneumoniae に対する TA-058 の抗菌力は, ABPC, PIPC, APPC より劣るが, CBPC より優れてい

Table 3 Antibacterial spectra of TA-058, ABPC, CBPC, PIPC, APPC against anaerobic bacteria

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	TA-058	ABPC	CBPC	PIPC	APPC
<i>B. fragilis</i> GM 7004	>100	>100	>100	>100	>100
<i>B. fragilis</i> TMS 26	>100	100	>100	>100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	0.78	≤ 0.20	3.13	≤ 0.20	1.56
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS 126	>100	>100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> TMS 58	50	50	>100	50	100
<i>B. distasonis</i> TMS 128	>100	100	>100	>100	>100
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	1.56	0.39	6.25	1.56	12.5
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	>100	100	100	12.5	100
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	>100	>100	>100	>100	>100
<i>F. varium</i> TMS 112	0.78	≤ 0.20	1.56	0.78	12.5
<i>F. nucleatum</i> TMS 110	6.25	0.78	6.25	3.13	12.5
<i>P. prevotii</i> GM 1001	≤ 0.20	≤ 0.20	1.56	0.39	1.56
<i>P. variabilis</i> GM 1002	0.39	≤ 0.20	12.5	≤ 0.20	0.78
<i>P. asaccharolyticus</i> GM 1003	0.39	≤ 0.20	50	≤ 0.20	1.56
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	≤ 0.20	≤ 0.20	0.39	≤ 0.20	≤ 0.20
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78	≤ 0.20	0.39
<i>E. limosum</i> GM 1005	≤ 0.20	≤ 0.20	50	0.39	1.56
<i>E. aerofaciens</i> TMS 121	1.56	0.39	25	1.56	6.25
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	0.39	≤ 0.20	25	≤ 0.20	1.56
<i>C. botulinum</i> 62 A (type A)	6.25	≤ 0.20	25	0.78	3.13
<i>C. botulinum</i> Okra (type B)	6.25	0.39	25	0.78	3.13
<i>C. botulinum</i> Gelman spratts (type E)	0.39	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78
<i>C. botulinum</i> Langeland (type F)	0.78	0.39	1.56	0.78	0.39
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	0.78	0.39	3.13	1.56	6.25
<i>C. perfringens</i> GM 1006	1.56	≤ 0.20	0.39	1.56	6.25
<i>C. difficile</i> NO. 11011	6.25	3.13	12.5	12.5	12.5
<i>C. difficile</i> TMS 29	6.25	3.13	12.5	12.5	12.5
<i>C. tetani</i> TMS 89	6.25	0.78	6.25	0.78	1.56

Inoculum size : 10^8 cells/ml

た。各菌株に対する MIC は 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布していた (Fig. 8)。

P. mirabilis に対し TA-058 は、接種菌量 10^6 cells/ml において他の 4 剤より優れた抗菌力を示し、80% 阻止濃度は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 9)。

インドール陽性 *Proteus* 群のうち、*P. vulgaris*, *P. inconstans* に対する TA-058 の MIC は CBPC, AP PC, PIPC より耐性側に分布し (接種菌量 10^6 cells/ml の場合)、ABPC とほぼ同程度であった。*P. morgani*, *P. rettgeri* に対しては CBPC, PIPC, APPC より抗菌力は劣っていたが、ABPC より優れていた (Fig. 10~13)。

S. marcescens に対する TA-058 の抗菌力も *P. vulgaris*, *P. inconstans* 同様、ほとんどの株が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示し、PIPC, APPC, CBPC より劣っていた

(Fig. 14)。

P. aeruginosa に対する TA-058 の抗菌力は、接種菌量 10^6 cells/ml において ABPC, CBPC より優れているが、PIPC, APPC より劣っており、TA-058 の 80% 阻止濃度は 50 $\mu\text{g/ml}$ であった (Fig 15)。

B. fragilis では TA-058 の抗菌力は、PIPC より劣るが、CBPC と同等で ABPC, APPC より優れていた (Fig. 16)。

3. 臨床分離株に対する TA-058 の MIC 分布

検討した 15 菌種 400 菌株に対する TA-058 の抗菌力 (接種菌量 10^6 cells/ml) を Fig. 17 に示した。

S. pyogenes, *S. pneumoniae*, *P. mirabilis* に対し TA-058 は強い抗菌力を示し、それぞれ 0.05, 0.1, 1.56 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で全ての菌株の発育が阻止された。*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. faecalis* および *E. coli*

Table 4 Antibacterial spectra of TA-058, ABPC, CBPC, PIPC, APPC against anaerobic bacteria

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	TA-058	ABPC	CBPC	PIPC	APPC
<i>B. fragilis</i> GM 7004	>100	100	>100	50	>100
<i>B. fragilis</i> TMS 26	>100	100	100	100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78	≤ 0.20	0.78
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS 126	>100	>100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> TMS 58	12.5	25	25	6.25	100
<i>B. distasonis</i> TMS 128	3.13	6.25	12.5	3.13	25
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	3.13
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	3.13	6.25	25	3.13	25
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	0.39	1.56	0.78	3.13	12.5
<i>F. varium</i> TMS 112	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	3.13
<i>F. nucleatum</i> TMS 110	0.78	≤ 0.20	3.13	0.78	3.13
<i>P. prevotii</i> GM 1001	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78	≤ 0.20	1.56
<i>P. variabilis</i> GM 1002	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78	≤ 0.20	0.39
<i>P. asaccharolyticus</i> GM 1003	≤ 0.20	≤ 0.20	25	≤ 0.20	0.78
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78	≤ 0.20	0.39
<i>E. limosum</i> GM 1005	≤ 0.20	≤ 0.20	25	≤ 0.20	0.39
<i>E. aerofaciens</i> TMS 121	0.78	≤ 0.20	3.13	0.78	3.13
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	≤ 0.20	≤ 0.20	25	≤ 0.20	0.78
<i>C. botulinum</i> 62 A (type A)	6.25	≤ 0.20	25	0.78	3.13
<i>C. botulinum</i> Okra (type B)	6.25	0.39	0.78	0.78	3.13
<i>C. botulinum</i> Gelman spraaits (type E)	0.39	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78	≤ 0.20
<i>C. botulinum</i> Langeland (type F)	0.78	≤ 0.20	≤ 0.20	0.39	≤ 0.20
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	0.39	≤ 0.20	3.13	0.78	0.78
<i>C. perfringens</i> GM 1006	0.39	≤ 0.20	≤ 0.20	0.78	0.39
<i>C. difficile</i> NO 11011.	6.25	1.56	6.25	6.25	6.25
<i>C. difficile</i> TMS 29	6.25	1.56	12.5	6.25	6.25
<i>C. tetani</i> TMS 89	6.25	0.39	3.13	0.39	≤ 0.20

Inoculum size : 10^6 cells/ml

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 40 strains

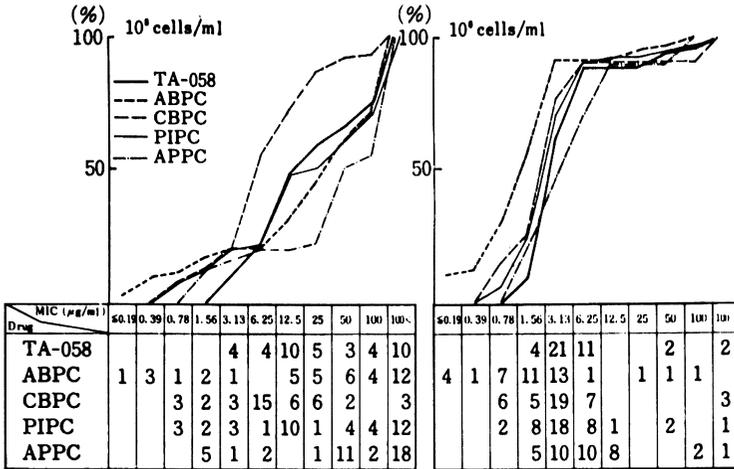


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. epidermidis* 33 strains

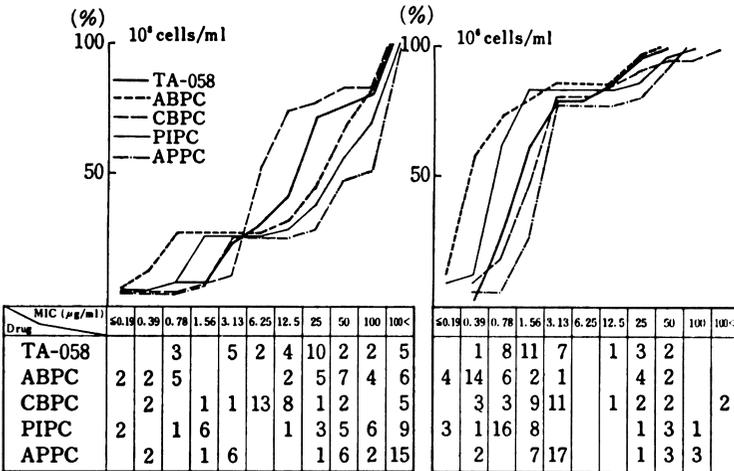


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. faecalis* 20 strains

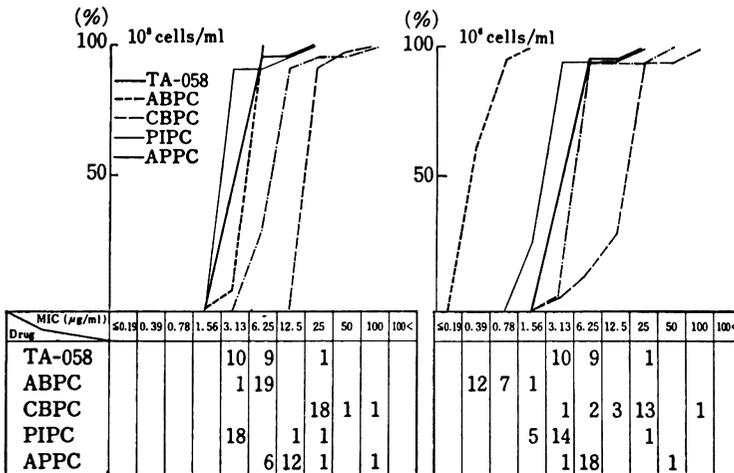


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pyogenes* 20 strains

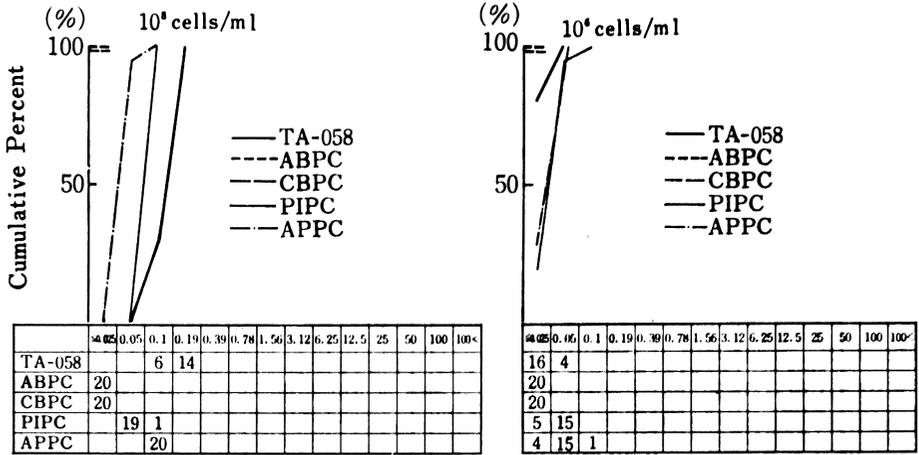


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pneumoniae* 20 strains

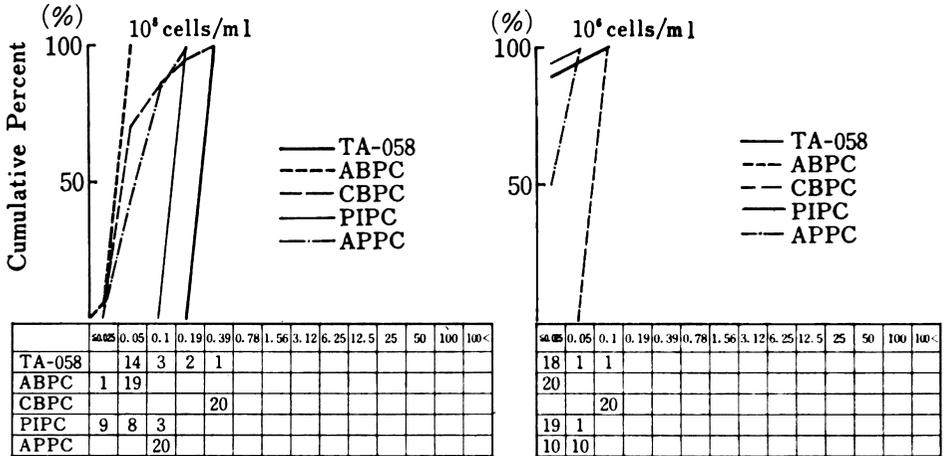


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* 43 strains

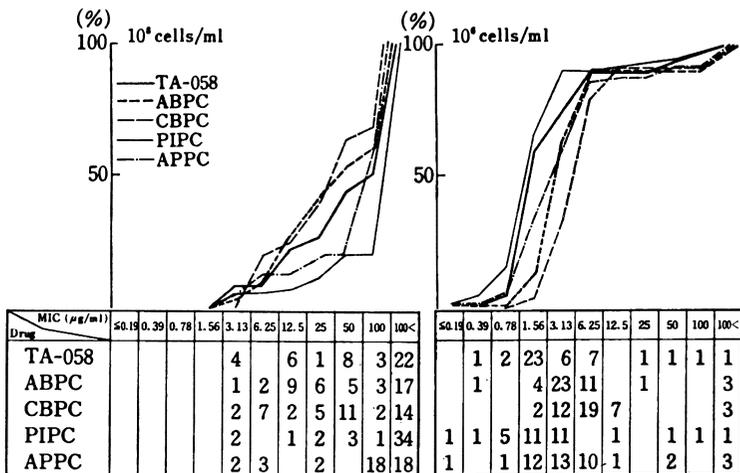


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *K. pneumoniae* 27 strains

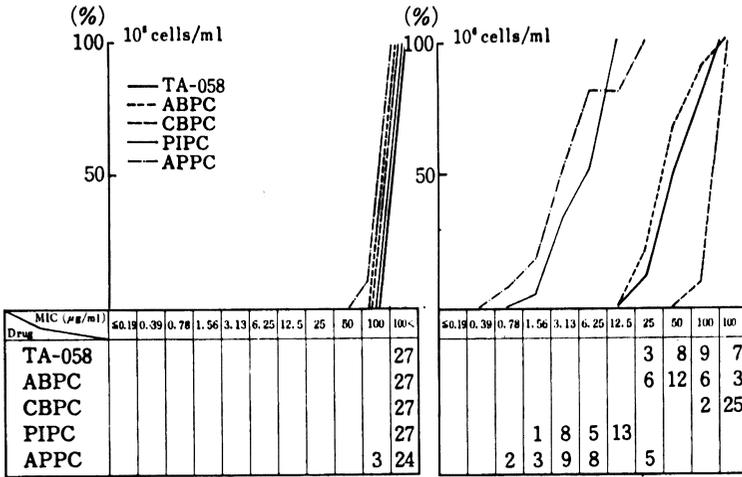


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. mirabilis* 35 strains

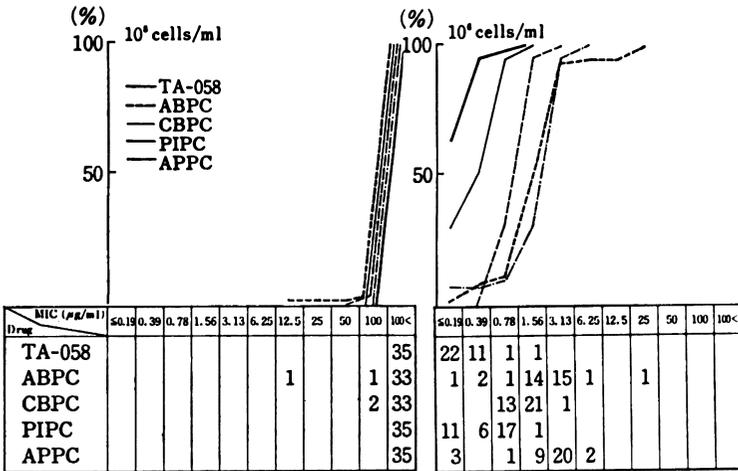


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* 35 strains

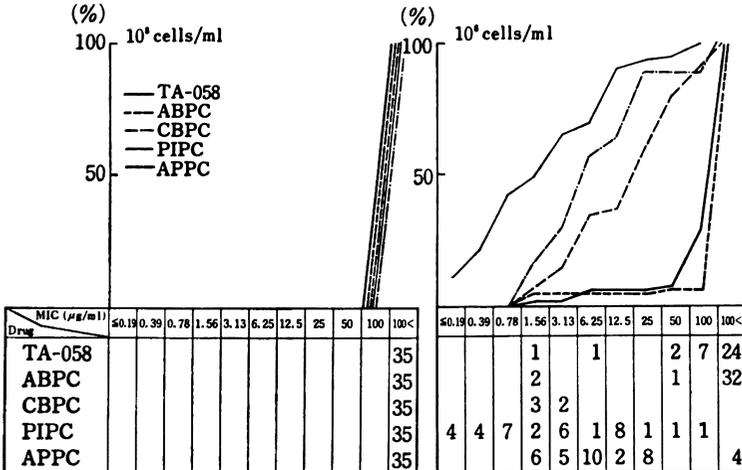


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. marcescens* 20 strains

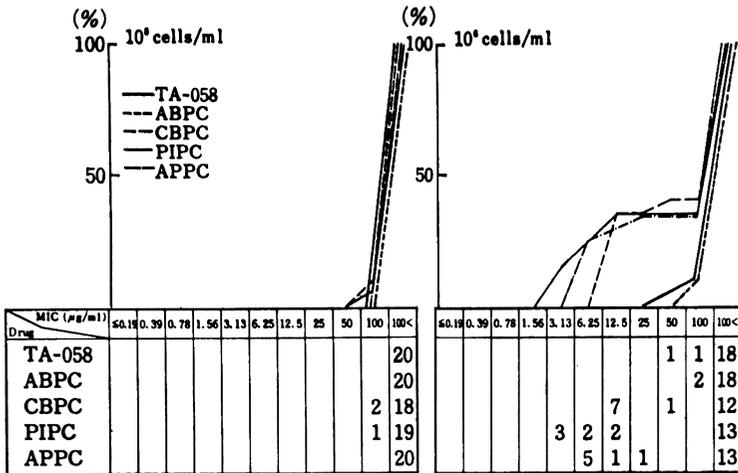


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. aeruginosa* 20 strains

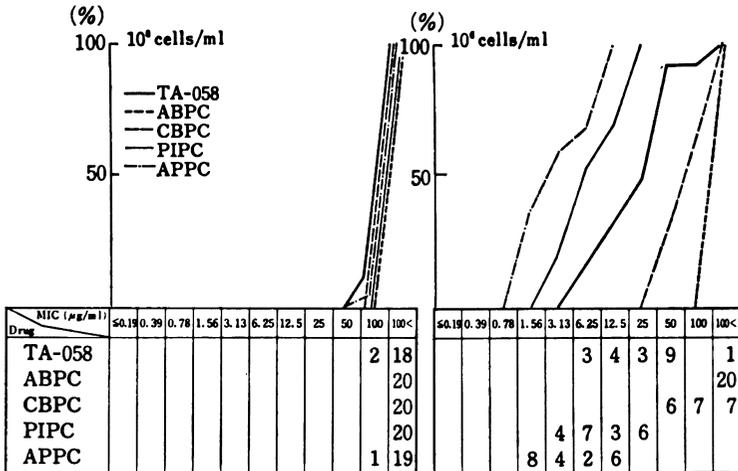
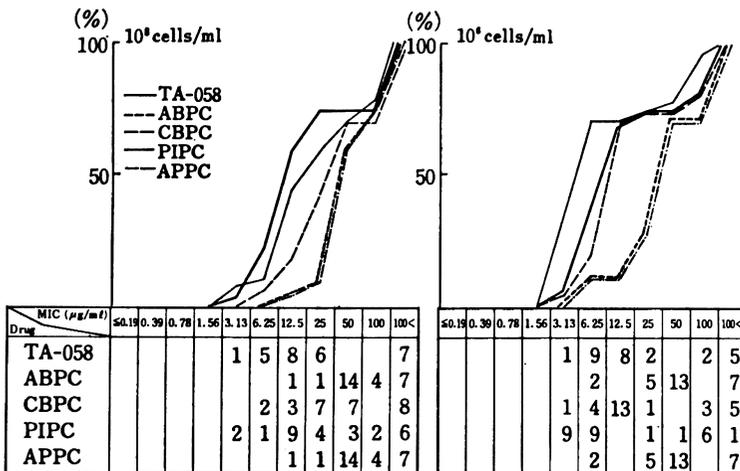


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 27 strains



に対してはやや弱く、80%阻止濃度が6.25 µg/mlであった。*P. morgani*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*, *P. aeruginosa* および *B. fragilis* に対する TA-058 の MIC は広い範囲に分布していた。*K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *S. marcescens* に対する TA-058 の抗菌力はほとんど認められず、80%阻止濃度は100 µg/ml 以上であった。

4. 殺菌作用

E. coli C-11 株に対する TA-058 の殺菌作用を ABPC AMPC, CBPC, APPC と比較検討した成績を Fig. 18 に示した。TA-058 1MIC 添加における短時間(2時間)殺菌作用は、生菌数が100分の1に減少し AMPC と同等で ABPC, CBPC, APPC より優れているが、添加9時間以後他剤同様再増殖がみられた。

5. 不活化酵素に対する安定性

腸内細菌科13菌株、*P. aeruginosa* 2菌株より得られた不活化酵素に対する TA-058 の安定性をペニシリン系10薬剤と比較した成績を Fig. 19 に示した。

TA-058 は *E. coli* ML-1410 RGN-238, *E. coli* ML-1410 RGN-832, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN-69, *P. vulgaris* No. 9 の産生不活化酵素で一部不活化された。この成績は従来の ABPC, CBPC, PIPC, APPC などと同様であった。

一方 *B. fragilis* の産生不活化酵素に対して TA-058 は、他のペニシリン剤同様ほとんど不活化されなかった (Fig. 20)。

6. 正常マウス実験感染における防禦効果

1) *E. coli* 感染 (Table 5)

E. coli C-11株感染マウスに対する TA-058 の ED₅₀ 値は0.077 mg/mouse であり, ABPC, CBPC, SBPC,

Fig. 20 Enzymatic stability of penicillins

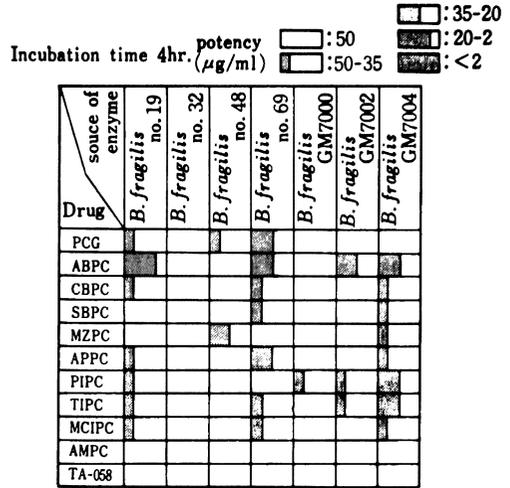


Table 5 Protecting effect of TA-058 against experimental mice infection *E. coli* C-11

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC (µg/ml)		ED ₅₀ * (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
TA-058	1 × 10 ⁶	+	S. C.	1	1	0.78	0.19	0.077 (0.057-0.105)
Carbenicillin						1.56	1.56	0.78 (0.62-0.98)
Sulbenicillin						6.25	1.56	0.625
Apalcillin						6.25	0.39	0.195 (0.130-0.290)
Piperacillin						25	0.78	0.390 (0.268-0.576)
Ampicillin						0.78	0.39	0.154 (0.112-0.213)
Amoxicillin						1.56	1.56	0.195 (0.136-0.279)

*ED₅₀: Van der Waerden method
 Mouse: ICR, 4 W, ♂, (19±1 g) 6 animals/group
 MLD: 1 × 10⁵ (+) cells/mouse

Table 6 Protecting effect of TA-058 against experimental mice infection
K. pneumoniae No. 10

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
TA-058	5 × 10 ⁸	+	S. C.	1	1	>100	12.5	6.2569 (4.0742—9.6088)
Carbenicillin						>100	100	24.6229 (20.4439—29.6561)
Sulbenicillin						>100	>100	20
Apalcillin						>100	1.56	3.5355
Piperacillin						>100	12.5	12.5992 (9.4063—16.8760)
Ampicillin						>100	6.25	6.5975 (5.1485—8.4544)
Amoxicillin						>100	50	7.9101 (5.3627—11.6674)

*ED₅₀ : Van der Waerden method

Mouse : ICR, 4 W, ♂, (19 ± 1 g) 6 animals/group

MLD : 1 × 10⁸ (+) cells/mouse

Table 7 Protecting effect of TA-058 against experimental mice infection
P. aeruginosa PI-21

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
TA-058	3 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	25	3.15 (2.13—4.64)
Carbenicillin						>100	50	5.0 (3.58—6.78)
Sulbenicillin						>100	25	3.97 (2.70—5.83)
Apalcillin						>100	0.78	1.98 (1.36—2.87)
Piperacillin						>100	1.56	2.5 (1.62—3.84)
Ampicillin						>100	>100	>20
Amoxicillin						>100	>100	>20

*ED₅₀ : Van der Waerden method

Mouse : ICR, 4 W, ♂, (19 ± 1 g), 6 animals/group

MLD : 8 × 10⁴ (+) cells/mouse

AMPC, PIPC および APPC の2分の1~10分の1の値を示し、優れた治療効果が認められた。

2) *K. pneumoniae* 感染 (Table 6)

K. pneumoniae No. 10 株感染マウスに対する TA-058 の ED₅₀ 値は 6.2569 mg/mouse であり, CBPC, SBPC, AMPC, PIPC より小さく, ABPC と同程度であるが, APPC より大きい値であった。

3) *P. aeruginosa* 感染 (Table 7)

P. aeruginosa PI-21 株感染マウスに対する TA-058

の ED₅₀ 値は 3.15 mg/mouse で, APPC, PIPC より大きい, CBPC, SBPC, ABPC, AMPC より小さい値であった。

7. Cyclophosphamide 処理マウス実験感染における防衛効果

1) *E. coli* 感染 (Table 8)

E. coli C-11 株感染 cyclophosphamide マウスに対する TA-058 の ED₅₀ 値は 0.0391 mg/mouse であり, CBPC, PIPC, ABPC, CEZ より 4~13 倍小さい値を

Table 8 Protecting effect of TA-058 against experimental cyclophosphamide-treated mice infection *E. coli* C-11

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ^a	10 ^b	
TA-058	4 × 10 ²	+	S. C.	1	1	0.78	0.19	0.0391 (0.0282—0.0542)
Carbenicillin						1.56	1.56	0.4961 (0.3240—0.7596)
Piperacillin						25	0.78	0.2480 (0.1528—0.4027)
Ampicillin						0.78	0.39	0.1562 (0.1008—0.2422)
Cefazolin						3.12	1.56	0.2480 (0.1969—0.3125)

*ED₅₀ : Van der Waerden method

Mouse : ICR, 4 W, ♂, (19 ± 1 g) 6 animals/group

MLD : <1 × 10 (+) cells/mouse

Table 9 Protecting effect of TA-058 against experimental cyclophosphamide-treated mice infection *P. aeruginosa* PI-21

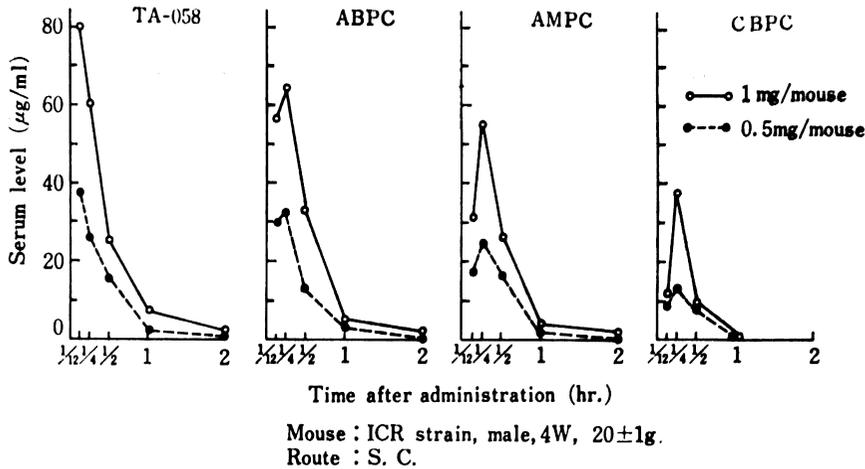
Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ^a	10 ^b	
TA-058	3.5 × 10 ³	+	S. C.	1	1	>100	25	1.5589 (1.0552—2.3031)
Carbenicillin						>100	50	6.2996 (4.7031—8.4380)
Piperacillin						>100	1.56	3.1498 (2.5—3.9685)
Ampicillin						>100	>100	>20
Cefazolin						>100	>100	>20

*ED₅₀ : Van der Waerden method

Mouse : ICR, 4 W, ♂, (19 ± 1 g) 6 animals/group

MLD : 2.8 × 10³ cells/mouse

Fig. 21 Serum level of TA-058, ABPC, AMPC, CBPC in mice



示し、優れた治療効果が認められた。

2) *P. aeruginosa* 感染 (Table 9)

P. aeruginosa PI-21 株感染 cyclophosphamide マウスに対する TA-058 の ED_{50} 値は、1.5589 mg/mouse であり、CBPC, PIPC の ED_{50} 値の2分の1～4分の1であった。

8. マウス血清中濃度

実験感染の防禦効果を解析する一つの方法として、治療実験と同条件のマウスにおける TA-058 の血清中濃度を測定した。マウスに 1 mg/mouse および 0.5 mg/mouse 皮下投与した血清中濃度成績を Fig. 21 に示した。TA-058 は 1 mg/mouse, 0.5 mg/mouse 皮下投与 5 分後が最も高くそれぞれ 80 µg/ml と 37 µg/ml であり、ABPC, AMPC, CBPC より高かった。血清中の持続性は、CBPC より優れ、ABPC, AMPC と同程度であった。

考 察

TA-058 はアモキシシリン側鎖に N^4 -メチル-D-アスパラギンを結合した薬剤で、広域ペニシリン剤に属し、グラム陽性、グラム陰性菌にも有効で、特に *P. mirabilis* に対し従来の広域ペニシリン剤より優れた抗菌力のあること、および *E. coli* に対し PIPC 同様優れた抗菌力のあることが確認できた。

またグラム陽性 *S. aureus*, *S. faecalis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* および嫌気性 *B. fragilis* に対し PIPC と同等の抗菌力を示すことが明らかとなった。

一方、グラム陰性の *K. pneumoniae*, *P.morganii* に対する抗菌力は弱く、*P. vulgaris*, *P. inconstans*, *S. marcescens* に対してはほとんどの株が 100 µg/ml 以上

に分布していた。

S. epidermidis, *P. rettgeri* に対し広い MIC 分布を示す特徴があり、*P. aeruginosa* に対し PIPC, APIC より劣るが、CBPC, ABPC より優れた抗菌力のあることが明らかとなった。

TA-058 の *E. coli* C-11 株を用いた短時間内殺菌作用は、ABPC と同様強いことが明らかになった。西野らは、接種菌量が多くなった場合でも TA-058 が強い殺菌作用を示すと報告している。したがって、TA-058 は従来の多くのペニシリン剤と異なる PBP 親和性が示唆された。

腸内細菌科の菌種、*P. aeruginosa*, *B. fragilis* から得た β -lactamase に対する TA-058 の安定性は、*B. fragilis* などの産生する cephalosporinase に対しては安定であるが、他の広域ペニシリン剤同様 penicillinase により不活化されることが確認された。

正常マウス実験感染に対する TA-058 の治療効果は、*in vitro* 抗菌力とほぼ相関し、CBPC, SBPC, ABPC, AMPC より優れ、PIPC と同程度、APIC よりやや劣る成績を得た。cyclophosphamide 処理により白血球減少症をおこさせたマウス実験感染に対する TA-058 の治療効果は、CBPC, PIPC, ABPC, CEZ より優れた成績を得た。TA-058 の正常でのマウス血清中濃度は既存の広域ペニシリン剤より優れており、この成績が *in vitro* 抗菌力に比べ *in vivo* 抗菌力が優れていたことを裏付けるものと推察された。

文 献

- 1) NISHINO, T.; N. ISHII, T. TANINO, S. OHSHIMA, and T. YAMAGUCHI: *In vitro* and *in vivo*

- antibacterial activity of TA-058, a new broad-spectrum semisynthetic penicillin. Current Chemotherapy and Infectious Disease (Proceedings of the 11 th ICC and the 19 th ICAAC) Vol. I: 362~363, 1980
- 2) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改定について, Chemotherapy 29: 76~79, 1981
 - 3) 日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会：嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 Chemotherapy 27: 559~560, 1979
 - 4) 吉田 勇, 小川正俊, 宮崎修一, 西勝恵子, 五島聡智子：グラム陰性桿菌の産生する不活化酵素に対する各種 β -lactam 系薬剤の安定性. Chemotherapy 29: 865~879, 1981
 - 5) 五島聡智子, 小川正俊, 金子康子, 辻 明良, 桑原章吾：広域合成ペニシリン T-1220 の *in vitro* 抗菌作用と, グラム陰性桿菌のマウス実験感染における治療効果について. Chemotherapy 25 (S-5): 719~730, 1977
 - 6) 小川正俊, 金子康子, 辻 明良, 五島聡智子：抗緑膿菌作用のある広域合成ペニシリン PC-904 の *in vitro* 抗菌作用とグラム陰性桿菌のマウス実験感染における治療効果, およびマウス血清中濃度について. Chemotherapy 26 (S-2): 39~51, 1978

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL EVALUATIONS ON TA-058, A NEW SEMISYNTHETIC PENICILLIN WITH BROAD SPECTRUM

SACHIKO GOTO, SHUICHI MIYAZAKI, AKIYOSHI TSUJI
MASATOSHI OGAWA, YASUKO KANEKO and SHOGO KUWAHARA
Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine

The *in vitro* antibacterial activities of TA-058, a new amoxicillin derivative with aspartic acid residue, were found to be broad against both gram positive and negative bacteria, especially effective against *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* and *P. mirabilis*. Its activities against *S. aureus*, *S. faecalis*, *E. coli* and *B. fragilis* were sufficient as PIPC, whereas less active against *K. pneumoniae*, *P. inconstans* and *P. aeruginosa*. The minimum inhibitory concentrations of most of the strains of *P. vulgaris* and *S. marcescens* were distributed in over 100 $\mu\text{g/ml}$.

TA-058 was stable in cephalosporinase but labile in penicillinase as those other broad spectrum penicillins.

Therapeutic effects of TA-058 in the experimentally infected mice either with *E. coli* C-11 or *K. pneumoniae* No. 10 or *P. aeruginosa* PI-21 were similar to those of PIPC and thus, superior to CBPC, SBPC, ABPC and AMPC but inferior to APPC. Therapeutic effects on cyclophosphamide-treated mice infected either with *E. coli* C-11 or *P. aeruginosa* PI-21 were superior to CBPC, PIPC, ABPC or CEZ.