

## Sultamicillin の抗菌活性

川崎 賢二・新美 博仕・松村 好章・沖 俊一

台糖ファイザー株式会社 新薬開発センター生化学研究所

Sultamicillin (SBTPC) は ampicillin (ABPC) 感受性のグラム陽性菌、グラム陰性菌に有効で、 $\beta$ -lactamase を産生する *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *H. influenzae*, *B. fragilis* の ABPC 耐性株に対しても強い抗菌力を示した。

SBTPC の抗菌活性は、培地の種類、pH、接種菌量及び血清添加量の影響を受けなかった。

各種の ABPC 感受性菌及び耐性菌に対して SBTPC は MIC 濃度付近で殺菌的に作用し、ABPC 耐性 *E. coli* の増殖曲線に対して cephalexin とほぼ同等の効果を示した。

*In vitro* 実験成績と対応して、各種の ABPC 耐性菌を用いたマウス実験感染に対して SBTPC は良好な治療効果を示した。

Mutual prodrug としての効果は ABPC 感受性菌を用いたマウス実験感染に対する治療効果でも認められた。ABPC 感受性の *S. aureus* 及び *S. pneumoniae* に対しては、SBT の ABPC 抗菌力増強効果は認められないにもかかわらず、SBTPC (ABPC 含量 58.8% 重量比) の ED<sub>50</sub> は ABPC 単独投与でのそれとほぼ同等であった。

ラット pouch 内実験的混合感染において、SBT は  $\beta$ -lactamase 産生菌に対する ABPC の抗菌力増強効果を示すと共に、 $\beta$ -lactamase による pouch 内滲出液中の ABPC 濃度の低下、これに伴う ABPC 感受性菌に対する効果減弱を防いだ。

ペニシリン系経口剤の腸管からの吸収を改善する目的でエステル誘導体の開発が試みられ、talampicillin, bacampicillin が臨床的に使用されている。新しい試みとして、ampicillin と  $\beta$ -lactamase 阻害剤である sulbactam をエステル結合させ、所謂 mutual prodrug である sultamicillin が合成された<sup>1)</sup>。Sultamicillin は腸管からの吸収過程においてエステラーゼにより当量の ABPC と SBT とを遊離し、それぞれの血清中濃度の推移はほぼ等しいことがヒトあるいは各種実験動物で認められている<sup>2,3)</sup>。臨床第一相試験において、sultamicillin 375mg 経口投与時の ampicillin 及び sulbactam の尿中回収率はそれぞれ 54.5%、65.0% と効率よく腸管から吸収されることが示された<sup>4)</sup>。

SBT を CPZ 等の  $\beta$ -lactam 抗生物質に配合したときに認められる抗菌力増強効果に関しては、既に多くの報告がなされているが<sup>5-8)</sup>、本報では sultamicillin の *in vitro* 及び *in vivo* での抗菌活性について検討した成績を報告する。

## I. 実験材料および方法

## 1. 使用薬物

Sultamicillin tosilate (以下 SBTPC と略す。758 $\mu$ g

力価/mg・台糖ファイザー) 及び sodium ampicillin (ABPC, 880 $\mu$ g 力価/mg・台糖ファイザー), sodium sulbactam (SBT, 956 $\mu$ g 力価/mg・台糖ファイザー), bacampicillin (BAPC, 660 $\mu$ g 力価/mg・台糖ファイザー), cephalexin (CEX, 927 $\mu$ g 力価/mg・吉富製薬), cefaclor (CCL, 880 $\mu$ g 力価/mg・塩野義製薬), cefadroxil (CDX, 923 $\mu$ g 力価/mg・ブリistol 萬有製薬) を使用した。

*In vitro* 試験用の薬液は滅菌水又は dimethyl sulphoxide (以下 DMSO と略す) で用時調整した。薬物の溶解及び希釈に DMSO を用いた場合には、培地中へ DMSO 薬液 1% を添加した。

動物実験では、0.15% carboxymethyl cellulose に薬物を懸濁し、経口投与した。

## 2. 使用菌株

標準菌株は当研究所で継代保存しているものを用い、臨床分離株は国内の臨床施設より分与を受けた新鮮な分離株を使用した。

## 3. MIC 測定

日本化学療法学会標準法に準じ<sup>9,10)</sup>、Mueller-Hinton agar (Difco) を用いて寒天平板希釈法によって測定し

た。ただし、*Streptococcus* 属、*Haemophilus* 属、*Neisseria* 属には5%馬脱線維血液を添加した培地を用いた。また *Bacteroides* 属には GAM 培地 (日水) を使用し、培養は GAS-PAK 法で行った。 $10^8$  及び  $10^6$  cells/ml の菌浮遊液をスタンプ法で接種した。

抗菌力に対する培地の種類の影響は、nutrient agar (栄研)、heart infusion agar (栄研)、brain heart infusion agar (栄研)、tryptosoy agar (栄研) 及び Mueller Hinton agar (Difco) を用いて検討した。

平均 MIC は geometric mean MIC で表わした。

#### 4. 殺菌作用

倍数希釈濃度の被験薬物を含む Mueller-Hinton broth (Difco) 又は GAM broth (日水) に試験菌を  $10^5$  cells/ml 接種し 37°C、18時間培養後、生菌数を  $10^2$  cells/ml 以下に減少させた最小薬物濃度を MBC とした。

増殖曲線に及ぼす影響については、一夜培養した *E. coli* 2 及び *S. aureus* 31 を Mueller-Hinton broth で 10,000 倍に希釈し、37°C で振盪培養し、菌数が約  $10^6$  cells/ml に達したときに各薬物を添加して、経時的に生菌数を測定した。なお液体培地希釈法での MIC と寒天培地希釈法での MIC の関連をみる目的で、培地中へ添加する薬物量は寒天培地希釈法で  $10^6$  cells/ml の接種菌量で得られた MIC の2倍量あるいは8及び32倍量とした。

#### 5. 試験管内耐性獲得

Muller-Hinton broth を用い、液体培地希釈法で MIC を測定した。対照と同程度の発育を示した最高薬物濃度含有菌液を用い、倍数希釈濃度の被験薬物含有する Mueller-Hinton broth へ約  $10^5$  cells/ml となるように接種した。同様に25代継代してこの間の MIC の変動を観察した。

#### 6. マウス実験感染

感染菌は heart infusion agar (栄研) で 37°C、18時間培養後滅菌生理食塩液、又は5%ムチン液に懸濁した。1薬物濃度当たり1群10匹の ICR 系雄マウス (体重18~20g) の腹腔内へ菌液 0.5ml を接種した。感染1時間後に薬物を1回経口投与し、7日後のマウスの生存数より ED<sub>50</sub> を Probit 法で算出した。

#### 7. ラット pouch 内実験的局所感染

Sprague-Dawley 系雄ラット (体重175~200g) を用いた。炎症 pouch の作成は H. SELVE の方法に準じた<sup>14)</sup>。すなわち、ラット背部皮下に20mlの空気を注入して空嚢を作成し、更に1%クロトン油を含有するオリーブ油 1 ml を注入して急性滲出性炎症を惹起した。炎症惹起2日後に空気を除去し、7日後に実験に供した。

*S. aureus* 391 及び *B. fragilis* 84 を感染菌とした。*S. aureus* は HI 寒天培地 (栄研) で 37°C、18時間培養後、*B. fragilis* は GAM broth (日水) を用い、GAS-PAK 法で 37°C、18時間培養後、*S. aureus*  $1.6 \times 10^8$  cells/ml 及び *B. fragilis*  $6.0 \times 10^7$  cells/ml の菌混合浮遊液を作り、その0.5ml を pouch 内へ接種した。感染1時間後に SBTPC、BAPC 又は CDX を 100mg/kg 経口投与した。薬物投与3時間後及び6時間後に滲出液 0.5ml ずつを採取し、直ちに嫌気性希釈液で10倍段階希釈系列を作成、その0.1ml ずつを卵黄食塩寒天培地 (日水) および BBE 寒天培地上に取った。培地全面への塗布を行った後、卵黄食塩寒天培地は好気条件下で 37°C、18時間培養、BBE 寒天培地は嫌気条件下 (GAS-PAK 法) で 37°C、20時間培養し、コロニー数より生菌数を算出した。

Pouch 内滲出液中の薬物濃度を感染群と非感染群で比較した。薬物投与後0.5、1、2、3、4及び8時間に pouch 内滲出液 0.5ml を採取し、直ちに 1/10M リン酸塩緩衝液 (pH7.0) で2倍希釈して、bioassay まで氷水中に保存した。

ABPC 及び CDX は、*M. luteus* ATCC9341 を検定菌とし、SBT は *E. coli* 273 を検定菌として薄層ディスク法で定量した<sup>12)</sup>。標準検量線は滲出液のリン酸塩緩衝液2倍希釈液を用いて作成した。

## II 実験成績

### 1. 抗菌スペクトル

SBTPC の標準株に対する抗菌活性を、ABPC、SBT 及び CEX のそれと比較して Table 1 に示した。

*S. aureus*、*S. pyogenes* 及び *S. pneumoniae* に対する SBTPC の抗菌力はほぼ ABPC と同等で、CEX に比べ8倍以上優れていた。

*N. gonorrhoeae* に対する SBTPC、ABPC、SBT 及び CEX の MIC はそれぞれ 0.10、 $\leq 0.05$ 、0.39、0.39  $\mu\text{g/ml}$  であった。

腸内細菌科の菌種の中、 $\beta$ -lactamase 産生が認められる *K. pneumoniae*、*Enterobacter* spp., indole 陽性 *Proteus* spp. に対しては SBTPC と ABPC の MIC には明らかな差があり、SBT による ABPC の抗菌力の増強が認められた。

ABPC 感受性 *H. influenzae* に対する SBTPC、ABPC の MIC は 0.20~0.39  $\mu\text{g/ml}$  に分布したが、CEX の MIC は 25~50  $\mu\text{g/ml}$  にあった。

SBTPC の抗菌力は *P. aeruginosa* に対して弱いが、*A. calcoaceticus* に対しては 0.39  $\mu\text{g/ml}$  で発育を抑制した。

Table 1 Antimicrobial spectrum of SBTPC, ABPC, SBT and CEX against gram-positive and gram-negative bacteria

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )											
	SBTPC			ABPC			SBT			CEX		
	$10^8$ a)	$10^6$	$10^4$	$10^8$	$10^6$	$10^4$	$10^8$	$10^6$	$10^4$	$10^8$	$10^6$	$10^4$
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.10	0.10	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	0.78	0.78	0.78	0.78
SMITH	0.39	0.39	0.20	0.20	0.20	200	200	200	3.13	3.13	3.13	1.56
NEUMAN	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	100	100	100	3.13	3.13	3.13	3.13
209-P	0.10	0.05	0.10	0.10	$\leq 0.05$	100	100	100	1.56	1.56	1.56	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	3.13	1.56	12.5	12.5	1.56	100	100	100	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	0.78	0.78	0.78	0.78
S 8	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	0.78	0.78	0.78	0.78
T 3	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	25	25	0.78	0.78	0.78	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	25	25	3.13	3.13	3.13	3.13
Type II	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	3.13	3.13	3.13	1.56
Type III	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	50	50	50	3.13	3.13	3.13	1.56
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> IID 839	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	50	25	25	6.25	6.25	6.25	3.13
NIH JC-2	3.13	1.56	3.13	3.13	1.56	50	25	25	6.25	6.25	6.25	3.13
25	12.5	12.5	400	400	25	50	25	25	3.13	3.13	3.13	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IID 979	3.13	3.13	6.25	6.25	3.13	50	25	25	25	25	25	12.5
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 17	25	25	200	200	100	50	50	50	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	100
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	400	200	800	800	800	200	200	100	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	12.5	12.5	$\geq 1600$	$\geq 1600$	800	200	200	100	400	400	200	200
<i>Serratia marcescens</i> No. 10	0.20	0.10	0.39	0.39	0.20	100	100	100	6.25	6.25	6.25	3.13
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	6.25	6.25	400	400	25	50	50	50	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	200
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 1203	50	12.5	200	200	200	100	100	100	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	200
<i>Proteus morganii</i> KONO	0.20	$\leq 0.05$	0.20	0.20	$\leq 0.05$	50	25	25	1.56	1.56	1.56	0.78
<i>Salmonella typhi</i> 0901	0.39	0.20	0.20	0.20	0.20	50	50	50	1.56	1.56	1.56	0.78
TANAKA	0.78	0.39	0.78	0.78	0.39	25	25	25	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>Shigella flexneri</i> 2a	0.39	0.20	0.39	0.39	0.20	25	25	25	1.56	1.56	1.56	1.56
2b	0.39	0.20	0.39	0.39	0.20	25	25	25	1.56	1.56	1.56	0.78
<i>Shigella sonnei</i> EW 33	50	1.56	25	25	1.56	25	25	25	3.13	3.13	3.13	1.56
<i>Haftia alvei</i> NIH 64	0.20	0.20	0.39	0.39	0.20	50	50	50	200	200	200	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 9327	0.39	0.20	0.39	0.39	0.20	200	200	200	50	50	50	25
ATCC 9334	800	400	$\geq 1600$	$\geq 1600$	0.39	100	100	100	50	50	50	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.39	0.39	3.13	3.13	0.39	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> No. 1	3.13	1.56	200	200	100	50	50	50	25	25	25	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> No. 4	3.13	1.56	200	200	100	50	50	50	$\geq 1600$	$\geq 1600$	$\geq 1600$	800

a) : Inoculum size (cells/ml)

*B. fragilis* に対して SBTPC は ABPC, CEX よりはるかに優れた抗菌力を示した。

また、トシル酸の標準株に対する抗菌活性を測定したが、トシル酸は 800 $\mu\text{g/ml}$  でも菌発育抑制効果を示さなかった。

## 2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床検体からの検出頻度の高い菌種に対する SBTPC, ABPC, SBT, CEX および CCL の抗菌力を Table 2 及び 3 に示した。

*S. aureus* 237 株に対する SBTPC の平均 MIC は  $10^8$  cells/ml で 8.62 $\mu\text{g/ml}$ ,  $10^6$  cells/ml で 3.06 $\mu\text{g/ml}$  であり、供試薬剤中もっとも優れていた。 $10^6$  cells/ml で MIC 100 $\mu\text{g/ml}$  以上の耐性を示す菌株は SBTPC ではなく、ABPC で 27.4%, CEX で 25.7%, CCL で 33.3% 認められた。

*S. epidermidis* 249 株に対する SBTPC の平均 MIC は  $10^6$  cells/ml で 2.88 $\mu\text{g/ml}$  であり、ABPC の 8.47 $\mu\text{g/ml}$ , CCL の 7.61 $\mu\text{g/ml}$  に比べて約 3 倍の抗菌活性を示した。 $10^6$  cells/ml では SBTPC と ABPC の間に抗菌力の明らかな差は認められなかった。

*S. pyogenes* 24 株に対する SBTPC の MIC は 0.20 $\mu\text{g/ml}$  以下に分布し、ABPC とほぼ等しく、CCL に比べて 5 倍以上勝る抗菌活性を示した。

*S. pneumoniae* 24 株に対する MIC 分布の上限は SBTPC, ABPC, CEX 及び CCL でそれぞれ 0.39, 0.20, 25, 6.25 $\mu\text{g/ml}$  であった。

*S. faecalis* 83 株に対する SBTPC の平均 MIC は 2 $\mu\text{g/ml}$  で、3.13 $\mu\text{g/ml}$  では 90% 以上の菌株の発育を阻止した。

*E. coli* 343 株に対する SBTPC の平均 MIC は  $10^8$  cells/ml で 15.6 $\mu\text{g/ml}$  であり、CEX の 13.0 $\mu\text{g/ml}$ , CCL の 12.4 $\mu\text{g/ml}$  とほぼ同等であった。 $10^6$  cells/ml では CCL の抗菌力がもっとも優れ、SBTPC の抗菌活性は CCL の約 1/4 であった。

*K. pneumoniae* 121 株に対する SBTPC の平均 MIC は  $10^8$  cells/ml で 40 $\mu\text{g/ml}$  であり、ABPC の 313 $\mu\text{g/ml}$  に比べ約 8 倍の抗菌力増強が認められたが、CCL の 9.51 $\mu\text{g/ml}$ , CEX の 10.7 $\mu\text{g/ml}$  には及ばなかった。

*P. mirabilis* 66 株は大半が ABPC 感受性のため平均 MIC では SBTPC, ABPC, CCL の間に明らかな差はみられなかったが、 $10^6$  cells/ml で ABPC に 1600 $\mu\text{g/ml}$  以上の MIC を示す耐性株が 4 株認められ、SBTPC は 200 $\mu\text{g/ml}$  以下でこれらの菌株の発育を阻止した。

Indole 陽性 *Proteus* 特に *P. vulgaris* に対する ABPC, CEX, CCL の抗菌力は弱く平均 MIC はいずれも 200 $\mu\text{g/ml}$  以上であったが、SBTPC の平均 MIC は  $10^8$  cells/ml で 25.4 $\mu\text{g/ml}$ ,  $10^6$  cells/ml で 11.3 $\mu\text{g/ml}$  と良好であった。*M. morganii* 及び *P. rettgeri* に対しても SBTPC の抗菌力は ABPC, CEX, CCL を明らかに上回っていたが、*P. inconstans* に対する SBTPC の抗菌力は ABPC と同等であった。

既存の経口  $\beta$ -lactam 抗生剤に感受性が低い *C. freundii*, *E. aerogenes*, *E. cloacae* 及び *S. marcescens* に対して、SBTPC は ABPC, CEX, CCL より明らかに優れた抗菌力を示したが、これらの菌種に対する SBTPC の平均 MIC は  $10^6$  cells/ml で 19.1 $\mu\text{g/ml}$ , 32.2 $\mu\text{g/ml}$ , 85.5 $\mu\text{g/ml}$ , 及び 171 $\mu\text{g/ml}$  と比較的高値であった。

$\beta$ -lactamase 産生 ABPC 耐性の 3 株を含む *H. influenzae* 21 株は SBTPC に対して極めて感受性であり、 $10^6$  cells/ml での MIC は 3.13 $\mu\text{g/ml}$  以下に分布した。

*P. aeruginosa* に対する SBTPC の抗菌力は弱く、その MIC は 100 $\mu\text{g/ml}$  以上に分布した。

*A. calcoaceticus* 24 株は SBT に高感受性を示し、 $10^8$  cells/ml での平均 MIC は 2.09 $\mu\text{g/ml}$  であった。SBTPC の MIC は SBT 単独の約 2 倍の値を示した。

*B. fragilis* 38 株に対する SBTPC の MIC は 6.25 $\mu\text{g/ml}$  以下に分布し、平均 MIC の比較で ABPC の約 10 倍、CEX の約 100 倍強い抗菌活性を示した。

## 3. 抗菌力に対する諸因子の影響

培地の種類、培地 pH、接種菌量及び血清添加による抗菌力の変動を *S. aureus* 209-P, *E. coli* NIHJ JC-2, *E. coli* 273 及び *K. pneumoniae* IID979 を用いて検討し、成績を Table 4~7 に示した。

SBTPC の抗菌力は培地の種類による影響を受けなかった (Table 4)。Table 5 に示すように培地 pH を 5 から 8 の範囲で変化させても、SBTPC の抗菌力に大きな変動は認められなかった。

Table 6 に示したように  $\beta$ -lactamase 産生 *E. coli* 273 及び *K. pneumoniae* IID979 に対する ABPC の MIC は接種菌量の増加に伴い 2~4 管上昇したが、SBTPC の MIC の変動中はいずれの菌種でも 1 管以内であった。

Table 7 に示すように SBTPC の抗菌力は馬血清添加の影響を受けなかった。

## 4. 殺菌作用

Table 8 に示すように、SBTPC は ABPC 耐性 *E.*

Table 2-1 Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	$\geq 1600$
<i>S. aureus</i>	SBTPC	2	6	16	8	2	4	10	52	51	25	50	10	1	14	21	58	8.62
	ABPC	6	11	14	5	2	4	10	7	15	26	22	19	16	30	41	24	61.0
	SBT													12	15	43	8	327
	CEX				1	9	13	32	57	38	22	7	2	12	15	43	8	28.8
<i>S. epidermidis</i>	CCL																	17.7
	SBTPC	5	29	14	20	12	24	29	31	30	23	19	10	1	2	1	2	2.88
	ABPC	28	16	18	8	4	4	10	17	24	19	26	20	20	18	11	6	8.47
	SBT													47	79	30	28	59
<i>S. pyogenes</i>	CEX				3	25	19	86	36	16	14	23	18	15	8	11	3	33.3
	CCL																	13.8
																		7.61
																		0.0671
<i>S. pneumoniae</i>	ABPC	18	1	5														0.0581
	SBT	18	6															54.5
	CEX				7	9	2	5	1		6	9	9					0.984
	CCL				11			6										0.478
<i>S. pneumoniae</i>	SBTPC	16	6	2	2													0.0691
	ABPC	22																0.0548
	SBT																	63.0
	CCL				1	21	4	17	2		2	4	4	1	1	1	1	3.13
<i>S. faecalis</i>																		0.902
	SBTPC	2	2	2	2	10	28	41	1		1	1	1	1	1	1	1	2.08
	ABPC																	1.33
	SBT																	145.0
<i>E. coli</i>	CEX																	169
	CCL																	109
	SBTPC																	15.6
	ABPC																	56.0
<i>E. coli</i>	SBT				1	5	15	68	83	14	3	3	15	3	5	8	2	45.3
	CEX																	13.0
	CCL				3	9	18	31	79	72	26	16	10	7	11	6	5	12.4
																		40.0
<i>K. pneumoniae</i>	SBTPC																	31.3
	ABPC																	44
	SBT																	80.5
	CCL																	10.7
<i>P. mirabilis</i>																		9.51
	SBTPC																	4.66
	ABPC																	5.12
	SBT																	151
<i>P. vulgaris</i>	CEX																	31.2
	CCL																	5.39
																		25.4
																		1123
<i>P. vulgaris</i>	ABPC																	178
	SBT																	1360
	CEX																	20
	CCL																	1380
<i>P. morgani</i>																		46.1
	SBTPC																	339
	ABPC																	156
	SBT																	975
<i>P. morgani</i>	CEX																	485
	CCL																	

(continued)

Table 2-2 Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														Mean MIC	
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400		800
<i>P. reingeri</i>	SBTPC				1	4	3	1	1	1	4	11	3	1	1	6	16.9
	ABPC				1	6	1	1	3	3	4	3	3	2	3	6	40.6
	SBT											8	14	5	3	214	
	CEX						3	1	3	1	1	1	1	5	5	10	195
	CCL													2	4	1270	
<i>P. inconstans</i>	SBTPC						1	1	1	6	10	3				34.3	
	ABPC						1	1	6	6	5	8	4	1		48.5	
	SBT								3	3	15	4	4	2	1	103	
	CEX						1	1	1	1	1	4	2	1	12	548	
<i>C. freundii</i>	SBTPC				1	1	5	5	8	7	5	12	2	2	2	1	31.1
	ABPC				1	6	2	3	2	4	6	5	5	4	8	11	152
	SBT						2	8	32	7	7	7	1	3	3	57.3	
	CEX						2	4	2	2	4	2	3	8	5	19	259
	CCL						2	4	2	1	1	1	2	3	3	4	400
<i>E. aerogenes</i>	SBTPC						3	3	7	16	4	7	1	1		49.2	
	ABPC						1	4	4	5	7	8	5	11		349	
	SBT								8	19	13	1	3	9	23	773	
	CEX						1	1	1	1	3	3	3	5	5	690	
	CCL																
<i>E. cloacae</i>	SBTPC						2	2	6	7	5	15	9	7		132	
	ABPC								2	2	3	4	8	3	6	474	
	SBT								10	10	27	11	4	1	1	117	
	CEX								1	1	1	1	4	7	39	1120	
	CCL										3	2	5	15	971		
<i>S. marcescens</i>	SBTPC								4	4	14	15	28	25	30	8	246
	ABPC								3	10	8	12	8	12	75	658	
	SBT								1	1	29	35	27	27	9	302	
	CEX								1	1	1	1	2	7	117	1440	
	CCL										1	1	1	85	1530		
<i>H. influenzae</i>	SBTPC			3	12	2	1	1	2							1.16	
	ABPC			7	10	1				1	1	1	10	10	1	1.42	
	SBT											5	1	1		269	
	CEX									4	10	1	1	1		61.0	
	CCL										6	12	1	1		13.3	
<i>P. aeruginosa</i>	SBTPC										3	11	57	67	32	637	
	ABPC										3	3	3	9	155	1450	
	SBT										1	1	2	27	140	1390	
	CEX												1	1	1	169	1590
	CCL												1	1	149	1590	
<i>A. calcoaceticus</i>	SBTPC															3.94	
	ABPC				1	1	13	6	3	1	8	9	3	1	1	44.5	
	SBT						8	3	1	1	1	1	8	11	4	2.09	
	CEX						1	1	1	1	1	5	7	8	3	617	
	CCL						1	1	1	1	5	7	8	3	437		
<i>B. fragilis</i>	SBTPC			1	20	6	4	4	2	15	5	4	1	1	3	0.805	
	ABPC					3	1	1	7	13	19	2	1	1	4	11.4	
	SBT								2	4	14	9	2	1	1	21.2	
	CEX								1	4	14	9	2	1	3	61.1	

Table 3-1 Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	$\geq 1600$
<i>S. aureus</i>	SBTPC	7	6	18	6	6	40	58	26	34	31	5						3.06
	ABPC	9	18	9	4	4	33	38	27	12	8	10	30	15	38	31	11	5.98
	SBT												27	10	10			27.0
	CEX CCL				1	2	17	84	38	15	10	11	26	22	10	3		12.7
<i>S. epidermidis</i>	SBTPC	9	33	17	49	24	24	24	24	11	17	12	2	3				1.25
	ABPC	34	17	34	48	19	8	18	16	11	11	16	11	3	41	25	40	1.09
	SBT												12	64	65	8	277	
	CEX CCL			1	6	50	59	20	22	15	8	8	12	7	11	2	3	8.56
<i>S. pyogenes</i>	SBTPC	18	1	5														0.0671
	ABPC	19	5															0.0564
	SBT				1	7	9	1	6		6	10	8					53.0
	CEX CCL	1	4	9														0.877
<i>S. pneumoniae</i>	SBTPC	22		2														0.0381
	ABPC	22												2				0.0548
	SBT				1	1	9	11		1	6	15						47.2
	CEX CCL			3	3	16	1	1		2								2.48
<i>S. faecalis</i>	SBTPC	3																1.96
	ABPC				3	10	31	38	2				1					1.27
	SBT				2	25	44	6					1	1	27	49	2	1420
	CEX CCL							1		1	1	10	39	13	11	71	2	158
<i>E. coli</i>	SBTPC																	11.0
	ABPC				2	12	25	101	69	36	63	25	18	12	6	2	42	33.5
	SBT							4	25	26	206	56	12	10	2	2	2	27.1
	CEX CCL			1	1	4	9	54	173	76	14	4	5	1	2	2		7.16
<i>K. pneumoniae</i>	SBTPC	1																19.5
	ABPC	1																95.0
	SBT																	45.9
	CEX CCL		1		4	32	8	7	5	5	4	2	2	1	1	1	1	5.42
<i>P. mirabilis</i>	SBTPC																	3.13
	ABPC				3	23	28	4	3	3	3	2	2	1	2	1	2	3.16
	SBT				6	41	8	2	1	2	1	25	33	6	1	2	1	81.9
	CEX CCL				8	11	14	3	2	1	1	2	2	1	1	2	2	16.1
<i>P. vulgaris</i>	SBTPC				2													11.3
	ABPC				1													277
	SBT																	109
	CEX CCL																	444
<i>P. morganii</i>	SBTPC																	24.2
	ABPC																	172
	SBT																	114
	CEX CCL				1													530

(continued)

Table 3-2 Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC		
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800
<i>P. rettgeri</i>	SBTPC				4	4	1	1	6	5	5	2	1	1	1	3	8.44
	ABPC		1		4	3	1	2	4	3	1	3	1	1	1	3	16.9
	SBT						6	1	1	2	2	14	10	2	2	3	15.7
	CEX						6	1	1	1	1	6	4	2	3	2	57.4
	CCL						1			1	1	1	1	1	2	12.6	
<i>P. inconstans</i>	SBTPC				2		1	6	6	6	1					10.3	
	ABPC						7	3	3	3	5	1	1	1	2	12.5	
	SBT						1		1	13	8	8	3	3	2	62.3	
	CEX						1		3	1	1	6	3	2	2	11.7	
<i>C. freundii</i>	SBTPC			1			1	8	9	5	9	5	1	2	2	19.1	
	ABPC			1			4	6	5	7	4	3	2	3	9	67.4	
	SBT						1	6	20	25	3	2	1	1	5	43.7	
	CEX						6	2	4	6	11	4	1	4	2	72.2	
	CCL						1	1	3	1	1	1	2	2	2	64.4	
<i>E. aerogenes</i>	SBTPC						4	9	11	6	8	2	1	1	5	32.2	
	ABPC						1	3	17	8	4	7	5	6	6	137.2	
	SBT						1	17	3	7	7	3	5	3	11	42.2	
	CEX						1	3	7	7	2	2	3	3	2	24.4	
	CCL						2	1	1	1	2	2	3	3	2	11.6	
<i>E. cloacae</i>	SBTPC						1	2	6	6	7	9	11	7	3	85.5	
	ABPC						1	1	4	3	5	4	6	1	12	304.3	
	SBT						1	22	22	8	8	1	12	17	17	86.6	
	CEX						1	4	3	5	3	1	3	5	2	500.6	
	CCL						1	4	3	1	1	1	1	2	12	329	
<i>S. marcescens</i>	SBTPC						2	6	11	15	13	28	29	20	4	171	
	ABPC						1	2	9	10	12	10	10	69	4	489	
	SBT						1	1	1	2	37	37	25	20	6	247	
	CEX						1	1	1	1	4	6	4	5	102	1101	
	CCL						1	1	1	2	3	4	2	75	1220		
<i>H. influenzae</i>	SBTPC						3									0.808	
	ABPC		5		6	11	1			2	1	1	4	16		0.708	
	SBT				11	1				11	1	1	1	1		318	
	CEX								2	6	11	1	1	1		41.0	
	CCL						4	8	8	1	1	1	1		7.87		
<i>P. aeruginosa</i>	SBTPC											10	36	59	48	445	
	ABPC								1			2	5	5	21	1250	
	SBT											1	2	2	52	1220	
	CEX											1	1	2	170	1600	
	CCL												1	1	149	1590	
<i>A. calcoaceticus</i>	SBTPC															2.55	
	ABPC											4	11	4	2	27.3	
	SBT											2	6	10	3	32.39	
	CEX											1	2	6	2	109	
	CCL										2	5	6	3	1	109	
<i>B. fragilis</i>	SBTPC	4	1	9	15	1	7	3	11	12	1	4	1	1	6	0.363	
	ABPC	1		2	2		1	2	2	25	8	2	1	1	1	6.85	
	SBT						2	3	3	7	11	7	2	2	2	16.4	
	CEX						2	3	7	11	7	2	2	2	6	37.4	



Table 4 Effect of medium on antimicrobial activity of SBTPC, ABPC and SBT

Organism	Medium	SBTPC		ABPC		SBT	
		10 <sup>8</sup> a)	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	NA <sup>b)</sup>	0.10 <sup>c)</sup>	≤0.05	0.10	≤0.05	100	100
	HI	0.10	≤0.05	0.10	≤0.05	100	100
	BHI	0.10	≤0.05	0.10	≤0.05	100	100
	TS	0.10	≤0.05	≤0.05	≤0.05	200	100
	MH	0.10	≤0.05	0.10	≤0.05	200	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	NA	3.13	1.56	1.56	1.56	25	25
	HI	3.13	3.13	1.56	1.56	50	25
	BHI	3.13	3.13	1.56	1.56	50	50
	TS	3.13	3.13	3.13	1.56	50	50
	MH	3.13	3.13	1.56	1.56	50	25
<i>E. coli</i> 273	NA	6.25	6.25	12.5	6.25	25	25
	HI	6.25	6.25	100	50	50	25
	BHI	12.5	6.25	200	100	50	50
	TS	12.5	6.25	200	50	25	25
	MH	6.25	6.25	200	100	25	25
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	NA	50	25	400	50	50	25
	HI	25	25	200	50	25	25
	BHI	50	50	200	50	25	25
	TS	50	25	400	50	25	25
	MH	50	25	400	50	50	25

a) : Inoculum size (cells/ml)

b) : Abbreviations of media: NA; nutrient agar, HI; heart infusion agar, BHI; brain heart infusion agar, TS; tryptosoy agar, MH; Mueller-Hinton agar

c) : MIC (μg/ml) by agar dilution method

Table 5 Effect of pH on antimicrobial activity of SBTPC, ABPC and SBT

Organism	pH of Medium	SBTPC		ABPC		SBT	
		10 <sup>8</sup> a)	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	5	0.10 <sup>b)</sup>	0.10	≤0.05	≤0.05	25	12.5
	6	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05	100	50
	7	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05	100	50
	8	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05	100	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	5	1.56	1.56	1.56	1.56	50	25
	6	1.56	1.56	1.56	0.78	50	25
	7	3.13	1.56	1.56	1.56	50	25
	8	1.56	1.56	1.56	1.56	50	25
<i>E. coli</i> 273	5	3.13	3.13	6.25	3.13	25	25
	6	3.13	3.13	6.25	3.13	25	25
	7	3.13	3.13	100	50	25	25
	8	3.13	1.56	400	200	25	25
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	5	25	25	400	50	25	25
	6	50	12.5	200	50	25	25
	7	50	25	400	50	50	25
	8	50	25	400	50	25	25

a) : Inoculum size (cells/ml)

b) : MIC (μg/ml) by agar dilution method

Table 6 Effect of inoculum size on antimicrobial activity of SBTPC, ABPC and SBT

Organism	Drug	Inoculum size (cells/ml)				
		10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	SBTPC	0.10 <sup>a)</sup>	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05
	ABPC	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05
	SBT	100	100	50	50	50
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	SBTPC	3.13	1.56	1.56	1.56	1.56
	ABPC	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56
	SBT	25	25	25	25	12.5
<i>E. coli</i> 273	SBTPC	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13
	ABPC	100	50	50	50	25
	SBT	25	25	25	25	12.5
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	SBTPC	25	25	12.5	12.5	12.5
	ABPC	400	100	50	50	25
	SBT	50	25	25	25	12.5

a) : MIC (μg/ml) by agar dilution method

Table 7 Effect of horse serum concentration on antimicrobial activity of SBTPC, ABPC and SBT

Organism	Horse serum (%)	SBTPC		ABPC		SBT	
		10 <sup>8</sup> a)	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	0	0.10 <sup>b)</sup>	≤0.05	≤0.05	≤0.05	100	50
	5	0.10	≤0.05	≤0.05	≤0.05	100	50
	10	0.10	≤0.05	≤0.05	≤0.05	100	50
	20	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05	100	50
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	3.13	3.13	1.56	1.56	25	25
	5	3.13	3.13	1.56	1.56	25	25
	10	3.13	3.13	1.56	1.56	25	25
	20	3.13	3.13	3.13	1.56	25	25
<i>E. coli</i> 273	0	6.25	3.13	100	50	25	25
	5	6.25	3.13	100	50	25	25
	10	6.25	3.13	100	50	25	25
	20	6.25	3.13	100	50	12.5	12.5
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	0	25 <sup>a)</sup>	25	400	50	25	25
	5	25	25	200	100	25	12.5
	10	25	12.5	200	50	25	25
	20	25	12.5	200	50	25	12.5

a) · Inoculum size (cells/ml)

b) : MIC (μg/ml) by agar dilution method

*coil* 273及び ABPC, CCL耐性の *S. aureus* 312, *P. vulgaris* IAM1203, *H. influenzae* 210及び *B. fragilis* 84に対しても殺菌的に作用し, MICとMBCの隔たりは1管以内であった。

#### 5. 増殖曲線に及ぼす影響

ABPC及びCEXに高度耐性を示す *S. aureus* 31に對してSBTPCは寒天培地希釈法, 接種菌量 $10^6$  cells/mlで得られたMICの2倍濃度で静菌効果を示し, 8倍濃度で殺菌的に作用した (Fig. 1)。

ABPC高度耐性の *E. coli* 2に對してSBTPCはCEX同様に寒天培地希釈法によるMICの8倍濃度で完全な殺菌作用を示した (Fig. 2)。

#### 6. 試験管内耐性獲得

*S. aureus* 209-Pを試験菌として用いた場合, 25代の継代でSBTPC, ABPC及びSBTに対しそれぞれ4段階, 5段階, 1段階の耐性獲得が認められた。*E. coli* NIHJ JC-2ではSBTに対する耐性獲得は認められず, ABPCに對して5段階, SBTPCに對しては4段階のMIC上昇が観察された (Fig. 3)。

#### 7. マウス実験感染に対する治療効果

マウス実験感染に対する各薬物の治療効果をED<sub>50</sub>で比較し, Table 9に示した。

ABPCに感受性を示す *S. aureus* 251及び *S. pneumoniae* 50による感染に對し, SBTPCの治療効果はBAPCに劣るもののABPCにほぼ等しくCCL, CEX

に勝った。

ABPC耐性の *S. aureus* 253及び *S. aureus* 31による感染に對しては, SBTPCの治療効果がもっとも優れていた。

ABPC耐性の *E. coli* 488及び *E. coli* 508の感染でマウス腹腔内への接種量を大量とした場合, SBTPCのED<sub>50</sub>はCEXと同等であった。ムチンを添加し接種菌量を少量とするとCEXの治療効果がSBTPCを上回った。

*K. pneumoniae* 107感染に對する治療効果はCCLがもっとも優れ, 次いでCEX, SBTPCの順でありBAPC, ABPCは1000mg/kgの投与でも効果を示さなかった。

ABPC, CEX及びCCLに耐性を示す *P. mirabilis* 17及び *P. vulgaris* 24による感染に對しては *in vitro* 同様, *in vivo* でもSBTPCの効果がもっとも優れていた。

*A. calcoaceticus* 24感染に對するSBTPCのED<sub>50</sub> (16.8mg/kg) はSBT (12.4mg/kg) とほぼ同等で, CCL (76.0mg/kg) に比べ5倍, ABPC (135mg/kg) に比べ8倍の抗菌活性を示した。

#### 8. ラット pouch 内実験的局所感染に対する効果

感染菌として用いたABPC感受性 *S. aureus* 391及びABPC耐性 *B. fragilis* 84に對するSBTPC, 及びABPC, CDXのMICをTable 10に, 薬物投与後のpouch内生菌数の変化をFig. 4に示した。

Table 8 Comparison of MIC and MBC values for SBTPC, ABPC and CCL

Organism	SBTPC		ABPC		CCL	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>S. aureus</i> 209-P	0.10	0.20	0.05	0.20	0.39	0.78
<i>S. aureus</i> 314	0.39	0.39	0.20	0.39	1.56	3.13
<i>S. aureus</i> 312	12.5	25	>200	>200	50	>200
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	1.56	0.78	0.78	1.56	1.56
<i>E. coli</i> 273	6.25	12.5	>200	>200	3.13	3.13
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	25	25	50	50	0.78	0.78
<i>P. mirabilis</i> 1287	1.56	1.56	0.78	0.78	1.56	3.13
<i>P. vulgaris</i> IAM 1203	1.56	3.13	50	>200	100	>200
<i>H. influenzae</i> 191	0.78	0.78	0.39	0.39	6.25	25
<i>H. influenzae</i> 210	6.25	6.25	>200	>200	25	50
<i>B. fragilis</i> 84	6.25	6.25	>200	>200	>200	>200

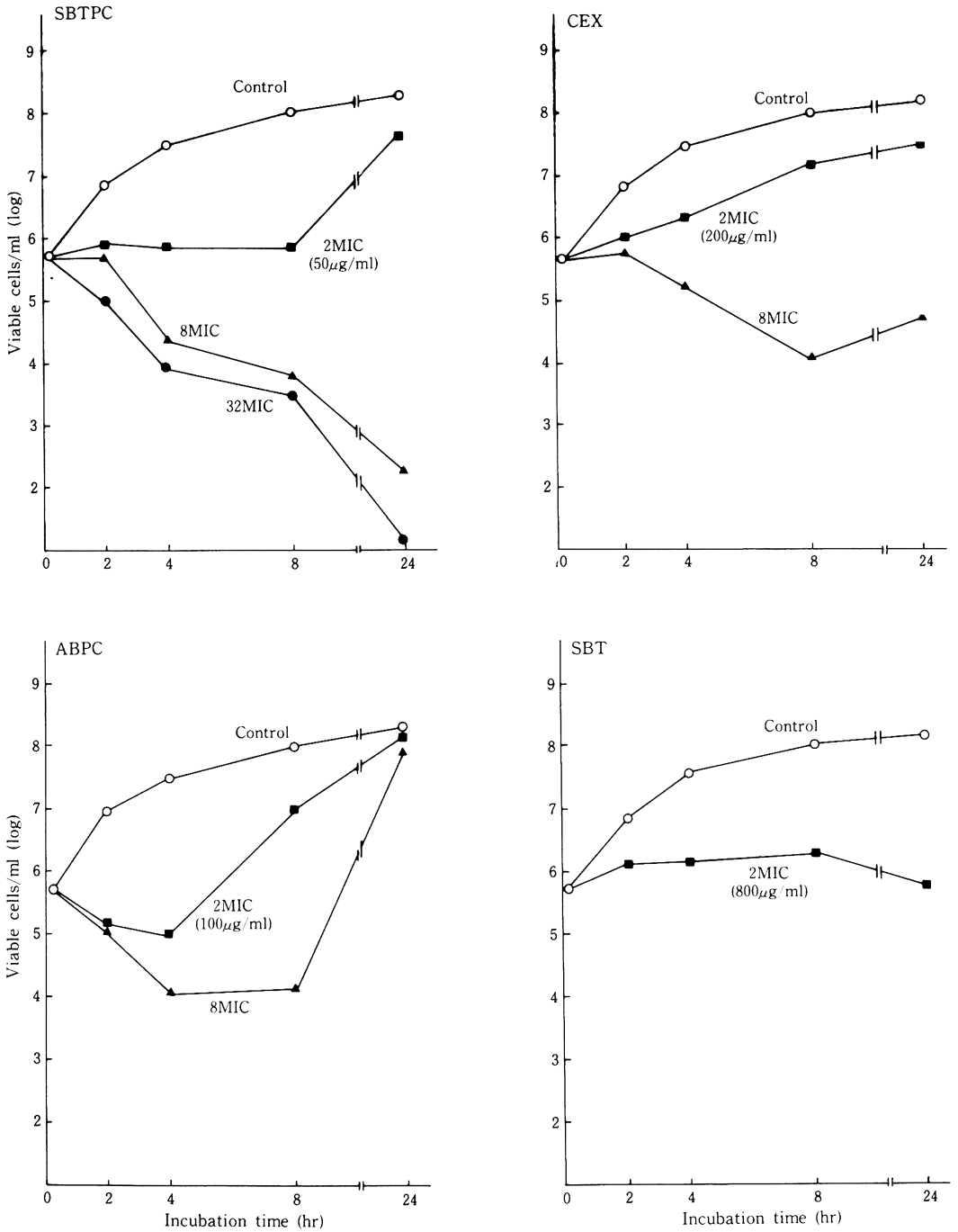
Inoculum size:  $10^5$  cells/ml

Medium: Mueller-Hinton broth for aerobes

Hemin (10 µg/ml) and NAD (1 µg/ml) were added to the medium for *H. influenzae*.

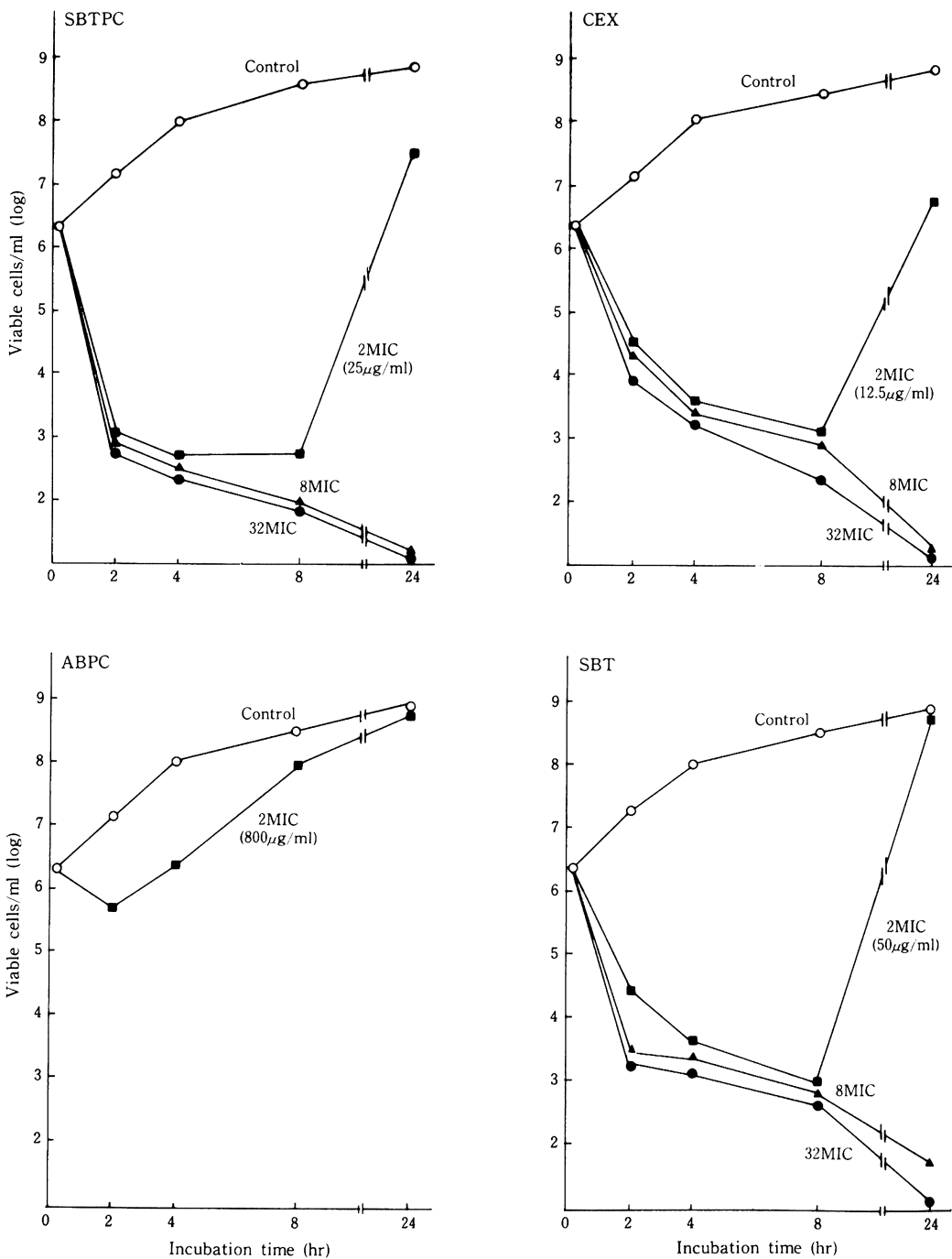
GAM broth for *B. fragilis*

Fig. 1 Bactericidal activity of SBTPC, ABPC, SBT and CEX against *S. aureus* 31



MICs were determined by agar dilution method.

Fig. 2 Bactericidal activity of SBTPC, ABPC, SBT and CEX against *E. coli* 2



MICs were determined by agar dilution method.

Fig. 3 Development of resistance of *S. aureus* 209-P and *E. coli* NIHJ JC-2 to SBTPC, ABPC and SBT

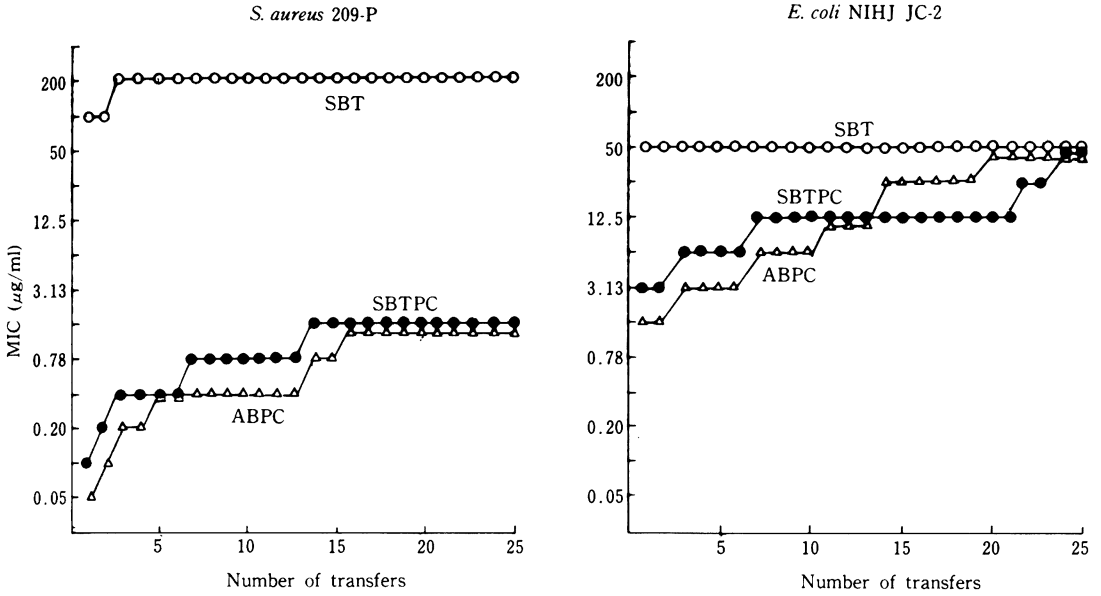


Fig. 4 Bactericidal effect of orally administered SBTPC, BAPC and CDX against mixed infection of *S. aureus* 371 and *B. fragilis* 84 into rat pouches

Antibiotics (100 mg/kg) were administered at one hour after inoculation of *S. aureus* 371 ( $8 \times 10^7$ ) and *B. fragilis* 84 ( $3 \times 10^7$ ). Control group was given saline. Values represent mean  $\pm$  S.D. of 4 rats.

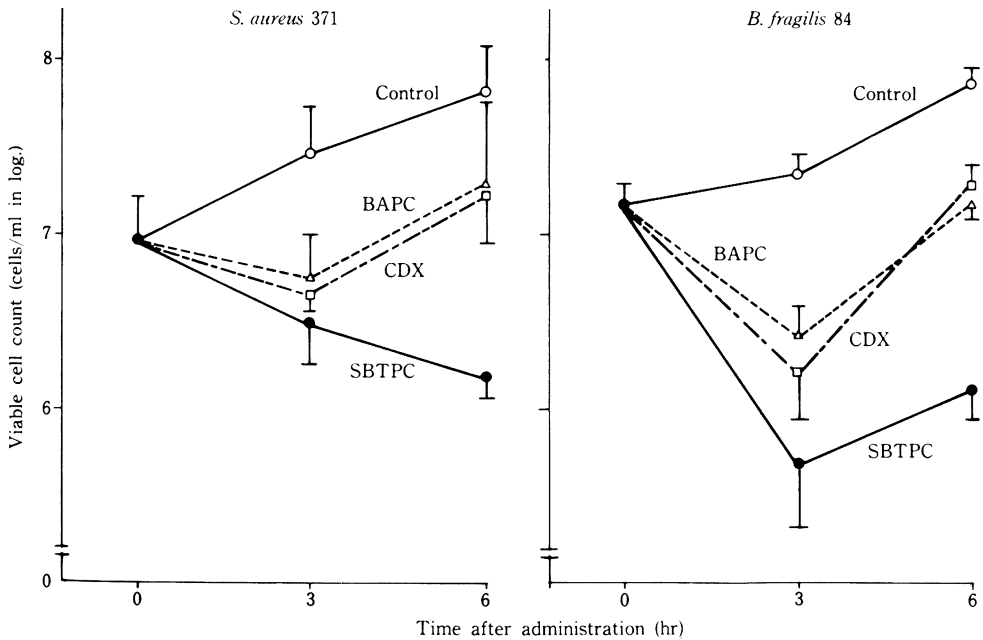


Table 9-1 Protective effect against experimental infection in mice

Organism	Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	MIC: $\mu\text{g/ml}$		ED <sub>50</sub> (mg/kg)
			Inoculum (cells/ml)		
			10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
<i>S. aureus</i> 251	SBTPC		0.20	0.20	3.82 (3.08-4.73)
	BAPC	8.3 × 10 <sup>7</sup>	0.20	0.10	1.73 (1.45-2.04)
	ABPC	(4.8 MLD)	0.20	0.10	3.12 (2.58-3.80)
	CEX	with mucin	3.13	3.13	15.2 (12.5-19.4)
	CCL		3.13	1.56	4.44 (3.56-5.55)
	SBT		200	200	>500
<i>S. aureus</i> 253	SBTPC		3.13	1.56	122 (102-145)
	BAPC	9.6 × 10 <sup>7</sup>	12.5	3.13	>500
	ABPC	(4.5 MLD)	12.5	3.13	>500
	CEX	with mucin	12.5	3.13	259 (201-354)
	CCL		12.5	3.13	>500
	SBT		200	200	>500
<i>S. aureus</i> 31	SBTPC		50	25	31.2 (21.2-47.0)
	BAPC	6.5 × 10 <sup>7</sup>	800	50	32.7 (21.4-49.9)
	ABPC	(2.8 MLD)	800	50	40.9 (29.0-59.5)
	CEX	with mucin	200	100	42.5 (26.3-71.7)
	SBT		400	400	>1000
	<i>S. pneumoniae</i> 50	SBTPC		≤0.05	≤0.05
BAPC		7.5 × 10 <sup>2</sup>	≤0.05	≤0.05	0.591 (0.477-0.717)
ABPC		(75 MLD)	≤0.05	≤0.05	1.39 (1.17-1.65)
CEX		with mucin	1.56	0.78	19.9 (16.6-23.8)
CCL			0.39	0.20	2.23 (1.90-2.60)
SBT			50	25	>500
<i>E. coli</i> 488	SBTPC		12.5	12.5	309 (257-370)
	BAPC	3.8 × 10 <sup>7</sup>	>800	400	>1000
	ABPC	(1.9 MLD)	>800	400	>1000
	CEX		6.25	3.13	344 (280-423)
	SBT		25	25	>1000
	SBTPC		12.5	12.5	159 (133-190)
	BAPC	9.5 × 10	>800	400	>1000
	ABPC	(1.9 MLD)	>800	400	>1000
	CEX	with mucin	6.25	3.13	14.6 (11.7-18.1)
	SBT		25	25	312 (258-387)

(continued)

Table 9-2 Protective effect against experimental infection in mice

Organism	Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	MIC: $\mu\text{g/ml}$		ED <sub>50</sub> (mg/kg)
			Inoculum (cells/ml)		
			10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
<i>E. coli</i> 508	SBTPC		12.5	12.5	411 (336-507)
	BAPC	3.1 × 10 <sup>7</sup> (1.6 MLD)	> 800	400	> 1000
	ABPC		> 800	400	> 1000
	CEX		12.5	3.13	593 (462-849)
	SBT		25	25	> 1000
	SBTPC		12.5	12.5	172 (140-211)
	BAPC	1.3 × 10 <sup>2</sup> (2.6 MLD) with mucin	> 800	400	> 1000
	ABPC		> 800	400	> 1000
	CEX		12.5	3.13	13.7 (11.2-16.8)
	SBT		25	25	276 (229-339)
<i>K. pneumoniae</i> 107	SBTPC		3.13	1.56	112 (88.6-138)
	BAPC	2.7 × 10 <sup>7</sup> (5.7 MLD) with mucin	100	3.13	> 500
	ABPC		100	3.13	> 500
	CEX		3.13	1.56	53.8 (39.8-70.5)
	CCL		0.39	0.39	5.99 (4.69-7.74)
	SBT		25	25	> 500
<i>P. mirabilis</i> 17	SBTPC		12.5	6.25	71.4 (54.9-91.1)
	BAPC	3.4 × 10 <sup>5</sup> (6.1 MLD) with mucin	> 800	200	1500
	ABPC		> 800	200	> 500
	CEX		800	100	171 (138-212)
	CCL		800	100	93.2 (74.4-117)
	SBT		200	200	> 500
<i>P. vulgaris</i> 24	SBTPC		12.5	6.25	569 (104-405)
	BAPC	2.3 × 10 <sup>8</sup> (1.6 MLD)	> 800	100	> 1000
	ABPC		> 800	100	> 1000
	CEX		800	400	> 1000
	SBT		100	100	> 1000
	SBTPC		12.5	6.25	48.1 (40.1-57.6)
	BAPC	1.2 × 10 <sup>5</sup> (8.0 MLD) with mucin	> 800	100	460
	ABPC		> 800	100	(370-586)
	CEX		800	400	503 (395-679)
	SBT		100	100	> 1000
<i>A. calcoaceticus</i> 24	SBTPC		0.78	0.78	16.8 (13.4-20.9)
	BAPC	1.0 × 10 <sup>7</sup> (4.2 MLD)	12.5	12.5	126
	ABPC		12.5	12.5	(105-152)
	CEX		200	200	135 (114-161)
	CCL	50	25	> 500	
	SBT	0.39	0.39	76.0 (55.7-100)	
				12.4 (9.85-15.5)	

Mouse: ICR strain, male (19 ± 1 g), 10 mice/group

Infection: 5% Mucin suspension or saline suspension, i.p.

Therapy: 1 hour after challenge, p.o.

Numbers in parenthesis at ED<sub>50</sub> values indicate 95% confidence limit.

MLD means Minimum lethal dose.



Table 10 MICs of SBTPC, ABPC and CDX on test organisms by agar dilution method

Organism	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )/Inoculum size (cells/ml)				
		$10^9$	$10^8$	$10^7$	$10^6$	$10^5$
<i>S. aureus</i> 371	SBTPC	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
	ABPC	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	CDX	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13
<i>B. fragilis</i> 84	SBTPC	12.5	6.25	3.13	3.13	3.13
	ABPC	400	200	200	100	100
	CDX	> 800	> 800	800	800	800

SBTPC投与群の *S. aureus* は  $9.3 \times 10^6$  cells/ml から薬物投与3時間後に  $3.5 \times 10^6$  cells/ml, 6時間後には  $1.5 \times 10^6$  cells/ml へ減少した。*B. fragilis* は  $1.3 \times 10^7$  cells/ml から3時間後に  $5.0 \times 10^5$  cells/ml へ減少し, 6時間後に  $1.2 \times 10^6$  cells/ml へ増加した。

BAPC投与群及びCDX投与群の *S. aureus* は薬物投与3時間後にそれぞれ  $5.8 \times 10^6$  cells/ml,  $4.9 \times 10^6$  cells/ml に減少したが, 6時間後には薬物投与時の菌数を上回る  $1.9 \times 10^7$  cells/ml,  $1.8 \times 10^7$  cells/ml へ増加した。*B. fragilis* も同様の挙動を示し, 薬物投与3時間後にBAPC投与群で  $2.1 \times 10^6$  cells/ml, CDX投与群で  $1.5 \times 10^6$  cells/ml に減少した。*B. fragilis* は, 6時間後にそれぞれ  $1.5 \times 10^7$  cells/ml,  $1.7 \times 10^7$  cells/ml へ増加し, 薬物投与時の生菌数へ戻った。

このときの pouch 内滲出液中薬物濃度を非感染時の成績と比較して Fig. 5 に示した。

非感染時には血清中濃度を反映して滲出液中濃度もCDX投与群が最も高く<sup>13)</sup>、薬物投与2時間後に最高濃度  $18.5 \mu\text{g/ml}$  が検出された。BAPC投与群では投与2時間後にABPCの最高濃度  $9.93 \mu\text{g/ml}$  が検出され、SBTPC投与群では同時点にABPC  $2.47 \mu\text{g/ml}$ , SBT  $3.43 \mu\text{g/ml}$  が認められた。一方, *S. aureus* 391 と  $\beta$ -lactamase 産生の *B. fragilis* 84 を感染させた動物では, CDX投与群及びBAPC投与群で非感染時に比べて滲出液中薬物濃度の著明な低下が観察されたが, SBTPC投与群の滲出液中薬物濃度は感染菌の影響を受けなかった。

### III 考 察

SBTPCはABPC感受性のグラム陽性菌, グラム陰性菌に有効で,  $\beta$ -lactamase を産生しABPCに耐性を示す *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *H. influenzae*, *B. fragilis* に対しても強い抗菌力を発揮した。

ABPC本来の抗菌力を損うことなく  $\beta$ -lactamase への抵抗性を獲得し, 更に既存の  $\beta$ -lactam 経口剤が無効であった indole 陽性 *Proteus* 及び *B. fragilis* にまで抗菌スペクトルが及んだ点が本剤の抗菌活性上の特徴として挙げられる。

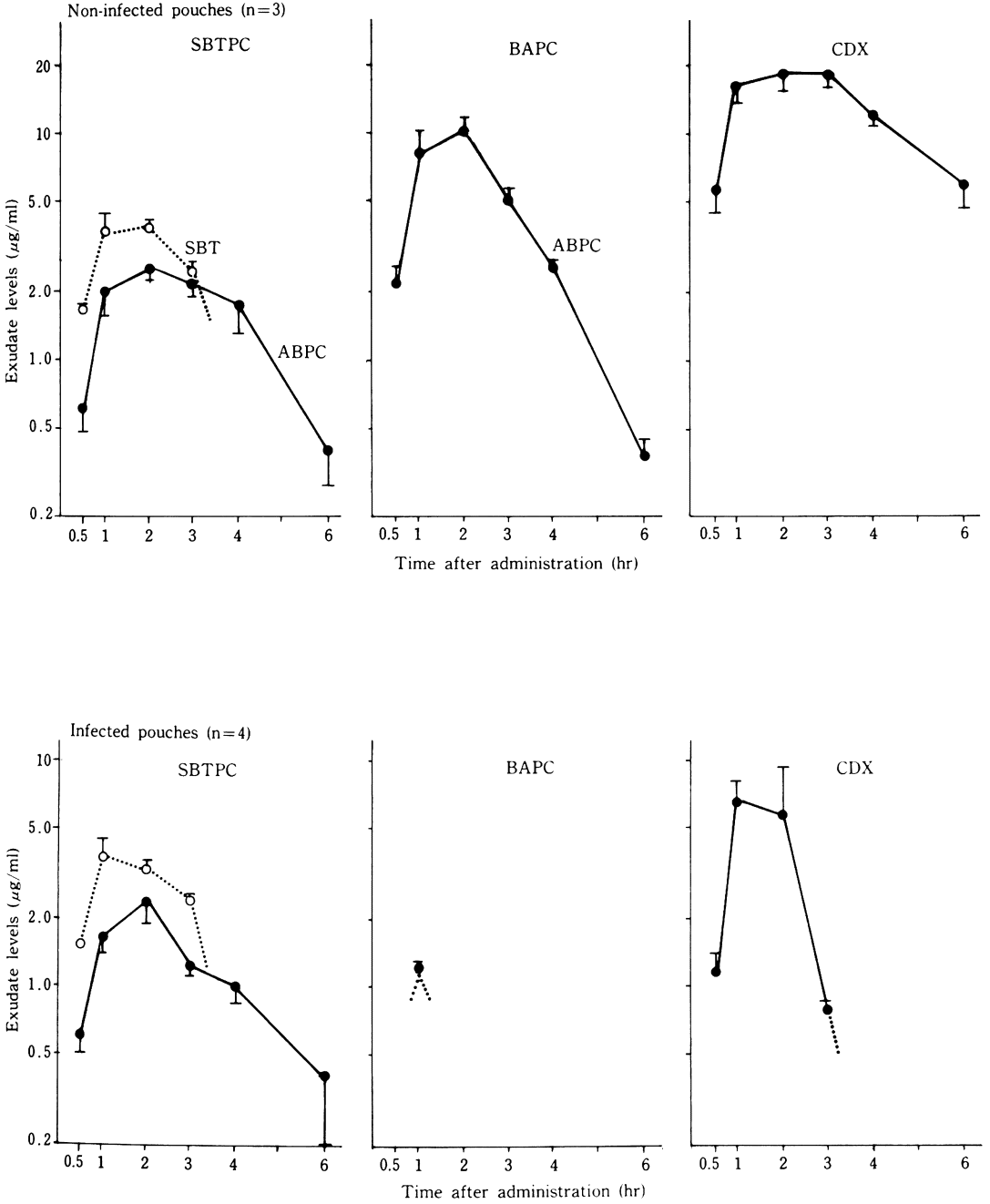
各菌種で観察されたSBTによるABPC抗菌力増強効果の強弱は各菌種の産生する  $\beta$ -lactamase に対するSBTの親和性とよく相関し, SBTが  $\beta$ -lactamase を不活性化しABPCの分解を防ぐ結果, ABPCの抗菌力が増強されるものと考えられる。SBTPCは培地中で速やかにABPCとSBTに加水分解されるため, *in vitro* ではSBTPCの抗菌力は等モル量のABPCとSBTを併用した場合の抗菌力と同等で差は認められない。

*In vitro* 実験で確認された抗菌活性上の優れた特性は *in vivo* 効果にも反映し, 種々のABPC耐性菌を用いたマウス感染実験においてSBTPCは良好な治療効果を示した。ABPC感受性の *S. aureus* 251, *S. pneumoniae* 50 を用いたマウス感染実験におけるSBTPCの  $\text{F}_{50}$ ,  $3.82 \text{mg/kg}$  及び  $1.72 \text{mg/kg}$  をABPC量に換算すると,  $2.25 \text{mg/kg}$  及び  $1.01 \text{mg/kg}$  となり, ABPC単独投与での  $\text{ED}_{50}$  の72%, 73%に該当した。同様にSBT感受性の *A. calcoaceticus* 24 に対するSBTPCの  $\text{ED}_{50}$  をSBT量に換算すると  $6.59 \text{mg/kg}$  となり, SBT単独投与での  $\text{ED}_{50}$  の53%に当たった。これら感受性菌に対するABPCとSBTの抗菌活性上の協力効果は認められないが, 観察された治療効果の増強は mutual pro-drug の効果, すなわちABPCとSBTの吸収効率改善に基づくものと考えられた。

ラット pouch 内実験的局所感染では,  $\beta$ -lactamase 産生菌が関与する混合感染病巣内薬物濃度は  $\beta$ -lactamase によって不活性化されて低値となり, 感受性菌への効果も減弱した。このような場合SBTとABPCの協力効果は単にABPC耐性菌に対する抗菌力増強にと

Fig. 5 Comparison of exudate levels of antibiotics in the pouches inoculated *S. aureus* 391 and *B. fragilis* 84 with those in the non-infected pouches.

Methods were the same as described in Fig. 4.



どまらず、病巣内 ABPC 濃度を維持し、BAPC 及び CDX 投与群でみられた感受性菌に対する治療効果減弱を防止する結果が得られた。

### 文 献

- 1) BALTZER, B. ; E. BINDERUP, W. VON DAEGNE, W. O. GODTFREDSSEN, K. HANSEN, B. NIELSEN, H. SØRENSEN & S. VANGEDAL : Mutual pro-drug of  $\beta$ -lactam antibiotics and  $\beta$ -lactamase inhibitors. *J. Antibiotics* 33 : 1183~1192, 1980
- 2) HARTLEY, S. ; R. WISE : A three-way crossover study to compare the pharmacokinetics and acceptability of sultamicillin at two dose levels with that of ampicillin. *J. Antimicrob. Chemother.* 10 : 49~55, 1982
- 3) ENGLISH, A. R. ; D. GIRARD & S. L. HASKELL : Pharmacokinetics of sultamicillin in mice, rats, and dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25 : 599~602, 1984
- 4) 斎藤 篤 : Sultamicillin にかんする研究。 *Chemotherapy* 33 (S-2) : 226~235, 1985
- 5) ENGLISH, A. R. ; J. A. RETSEMA, A. E. GIRARD, J. E. LYNCH & W. E. BARTH : CP-45,899, a beta-lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of beta-lactams : initial bacteriological characterization. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14 : 414~419, 1978
- 6) RETSEMA, J. A. ; A. R. ENGLISH & A. E. GIRARD : CP-45,899 in combination with penicillin or ampicillin against penicillin-resistant *Staphylococcus*, *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 17 : 615~622, 1980
- 7) WISE, R. ; J. M. ANDREWS & K. A. BEDFORD : Clavulanic acid and CP-45,899 : a comparison of their *in vitro* activity in combination with penicillin. *J. Antimicrob. Chemother.* 6 : 197~206, 1980
- 8) 横田 健, 東 映子, 鈴木 映子 : Sulbactam と Cefoprazone 合剤の各種細菌臨床分離株に対する抗菌力。 *Chemotherapy* 32(S-4) : 1~10, 1984
- 9) 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 10) 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
- 11) SELYE, H. : Use of "granuloma pouch" technic in the study of antiphlogistic corticoid. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 82 : 328~333, 1953
- 12) 加納 弘, 竹居春実, 村上昌弘, 下岡新雄, 福島英明, 沖 俊一 : Sultamicillin の実験動物における吸収, 分布, 代謝及び排泄。 *Chemotherapy* 33 (S-2) : 128~153, 1985
- 13) 荒谷春恵, 河野静子, 建石英樹, 裨宣田純子, 山中康光 : Cefadroxil に関する薬理学的研究 第2報 生体内動態。 *Chemotherapy* 28(S-2) : 75~82, 1980

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SULTAMICILLIN

KENJI KAWASAKI, HIROSHI NIIMI,  
YOSHIAKI MATSUMURA and TOSHIKAZU OKI  
Biochemistry Laboratory,  
New Product Research Center, Pfizer Taito Co., Ltd.

Sultamicillin (SBTPC) was found to be widely effective against both gram-positive and gram-negative bacteria, particularly showing the profound activity against  $\beta$ -lactamase-producing ABPC-resistant strains of *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *H. influenzae* and *B. fragilis*.

The MIC values of SBTPC were scarcely affected by medium pH, inoculum size and concentration of horse serum in the medium.

Bactericidal action of SBTPC was observed at concentrations of around its MIC value.

In mice, the therapeutic effect of orally administered SBTPC was remarkable against various infections caused by ABPC-resistant strains, essentially consistent with the findings in the *in vitro* antibacterial activity.

The advantages of mutual pro-drug over single ABPC were also observed in the treatment of infections caused by ABPC-sensitive strains. Although SBTPC contains only 58.8% of ABPC in total weight, ED<sub>50</sub> values of SBTPC were practically comparable to those of ABPC against infections by ABPC-sensitive isolates of *S. aureus* and *S. pneumoniae*.

In mixed infection of ABPC-sensitive *S. aureus* and ABPC-resistant *B. fragilis* in rat pouches, sulbactam consisting of SBTPC not only potentiated the activity of ABPC against  $\beta$ -lactamase-producing *B. fragilis*, but kept relatively high level of ABPC in the exudate. As a result SBTPC showed greater bactericidal activity against both *B. fragilis* and *S. aureus* than bacampicillin and cefadroxil.