

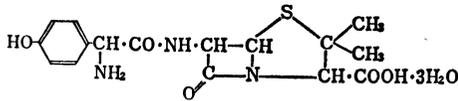
Amoxycillin の *in vitro* 抗菌作用について

三橋 進・小田倉義博・柳沼 慧
群馬大学医学部微生物学教室

I 緒 言

Amoxycillin (α -Amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin, AMPC) (Fig. 1) は Beecham Research Laboratories において合成された新しい広域性半合成ペニシリンである¹⁾。本物質は Aminobenzylpenicillin (ABPC) と同等の抗菌活性と抗菌スペクトルを有しているが²⁾、ABPC と同量の経口投与によつて ABPC の約2倍の血中濃度に達し得る特徴がある。今回、協和醸酵工業株式会社から本剤の提供をうけ、臨床分離株に対する抗菌活性および β -lactamase に対する態度について ABPC と比較したので、その成績を報告する。

Fig. 1 Structure of 6 [D(-) α -amino-*p*-hydroxyphenylacetamido] penicillanic acid (Amoxycillin)



II 実験材料および方法

1) 使用菌株: *Staphylococcus aureus* (150株) は耐性ブドウ球菌研究会 (班長: 市川篤二博士) によつて1971年に分離されたものの中から無作為的に選び実験に使用した。これらの菌は全て Coagulase 陽性菌である。*Shigella* (50株) および *Salmonella* (50株) は1971年に感染性腸炎研究会 (会長: 戸谷徹造博士) によつて集められ、当教室に送られて来たもの、および *Proteus mirabilis* (50株)、*Escherichia coli* (150株) はグラム陰性桿菌研究会 (班長: 石山俊次博士) によつて1970~1972年に分離され、当教室において細菌学的に同定されたものである。

St. aureus 由来 β -lactamase の酵素源としては、*St. aureus* S-642 を、I型 penicillinase の酵素源としては RGN 14 を持つ *E. coli* W 3630 RGN 14⁺ を、II型 penicillinase の酵素源としては *E. coli* W 3630 RGN 238⁺ を用い、cephalosporinase 調製のためには *Pseudomonas aeruginosa* GN 918 および *Proteus morganii* GN 926 が使用された。

2) 使用培地: 薬剤感受性測定には Heart infusion (HI) 寒天培地 (栄研) を使用した。ペプトン水は11中にペプトン 10g, NaCl 5g を含むものが使用された。 β -Lactamase 調製のためには Brain heart infusion (BHI) broth が用いられた。

3) 使用薬剤: AMPC, ABPC はいずれも協和醸酵工業株式会社から提供された粉末を用いた。Penicillin-G (PC G), 6-Aminopenicillanic acid (6-APA) および Cephaloridine (CER) はいずれも当教室保存の working standard を用いた。

4) 薬剤感受性測定: HI 寒天培地を用いた平板希釈法により測定した。被験菌のペプトン水18時間培養100倍希釈液1白金耳 (10^6 /ml) を薬剤含有培地平板に接種し、37°C 18時間培養後、最少発育阻止濃度 (MIC) を測定した。これを菌の薬剤感受性値として mcg/ml で表わした。

5) β -Lactamase sample の調製と酵素活性の測定: 酵素源として供試された菌の overnight culture 10ml を BHI broth 100 ml に加え、37°C で3時間振盪培養後遠心により菌体を集めた。生理食塩水で洗滌後、菌懸濁液をソニケーターで20 KC, 5分, 5°C 以下に冷却しつつ破碎する。得られた菌体破碎液を β -lactamase sample として使用した。*Ps. aeruginosa* および *P. morganii* については PC G (50 units/ml) で β -lactamase を誘導した後の菌体から sample を得た。 β -lactamase 活性の測定は沃度測定法により行なつた。 β -lactamase 活性の単位は30°C で毎時1 μ mole の PC G を Penicilloic acid に水解する β -lactamase 活性を1 unit とした。AMPC, ABPC および 6-APA の β -lactamase による加水分解量の測定も同様に行なつた。但し CER の場合は水解された CER 1 mole は iodine 4 mole を消費するとして計算した。

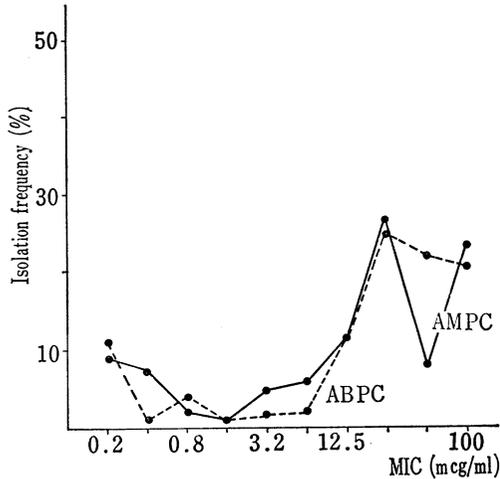
III 実験成績

1) 臨床分離株に対する抗菌活性

各種臨床分離株に対する AMPC の抗菌活性を調べた。Fig. 2 に示すとおり、臨床分離ブドウ球菌150株に対して AMPC はそれぞれ ≤ 0.2 mcg/ml, 25 mcg/ml および ≥ 100 mcg/ml の3つのピークを示した。いわゆ

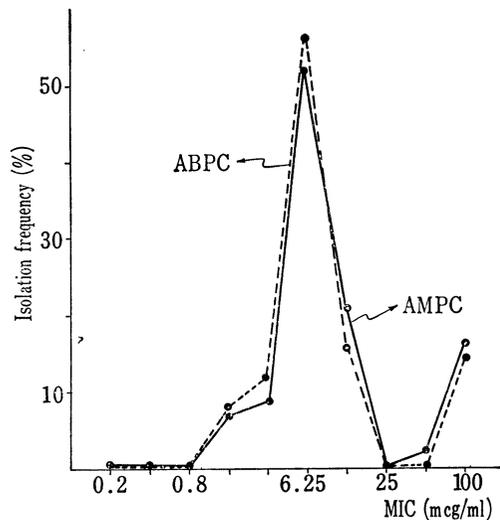
る高度耐性菌は約25%の割合で出現し ABPC との間で交叉耐性が認められた。感受性分布の様相は ABPC とほぼ同等であつた。

Fig. 2 Antibacterial activity of amoxycillin against *Staphylococcus aureus* (150 strains)



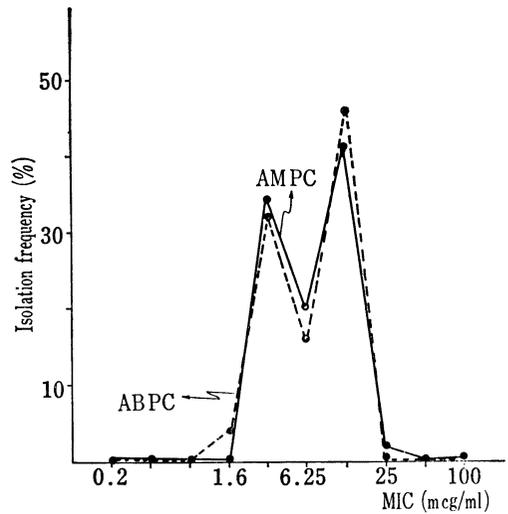
E. coli 150 株に対する感受性分布は Fig. 3 に示した。AMPC, ABPC 共に 6.25 mcg/ml にそれぞれ52%および56%のピークを認め、 ≥ 100 mcg/ml の高度耐性菌は両薬剤共15%であつた。

Fig. 3 Antibacterial activity of amoxycillin against *Escherichia coli* (150 strains)



Shigella については Fig. 4 に示した。AMPC および ABPC 共に 3.2 mcg/ml および 12.5 mcg/ml に2峰性のピークを示し、両薬剤はほぼ同等の感受性分布を示し

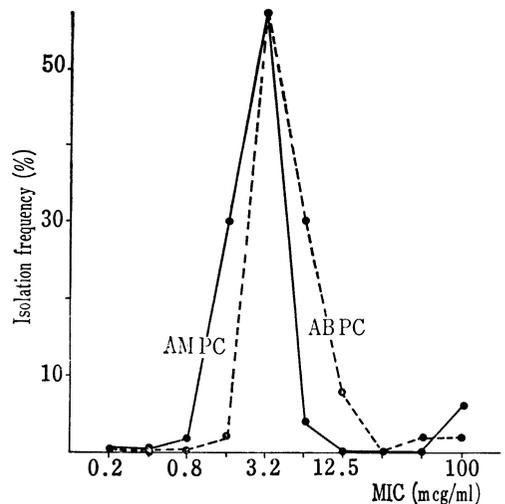
Fig. 4 Antibacterial activity of amoxycillin against *Shigella* (50 strains)



た。

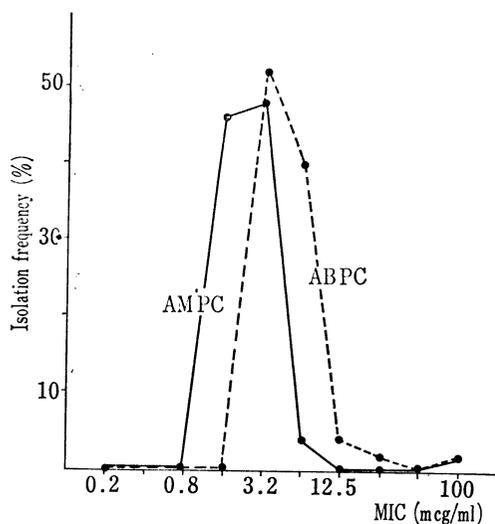
Salmonella に対しては Fig. 5 に示すような感受性分布を示し、AMPC および ABPC 共に 3.2 mcg/ml にそれぞれ55%のピーク、および ≥ 100 mcg/ml の高度耐性菌に大別された。両薬剤間に抗菌力の差は認められな

Fig. 5 Antibacterial activity of amoxycillin against *Salmonella* (50 strains)



かつた。

P. mirabilis に対しては Fig. 6 に示したとおり、その50%近くの株は AMPC および ABPC 両薬剤の3.2 mcg/ml の濃度で発育が阻止されているが、AMPC の

Fig. 6 Antibacterial activity of amoxycillin against *Proteus mirabilis* (50 strains)

および β -lactamase に対する安定性を ABPC と比較検討した。

AMPC は *P. mirabilis* に対して ABPC より約 2 倍ほど優れた抗菌力を示している。さらに本剤は、ABPC の 1/2 量経口投与で ABPC と同程度の血中濃度を得ることが出来⁴⁾、しかも大部分がそのままの形で腎に移行、排泄される³⁾こと等から、*Proteus* に起因する腎疾患にはかなりの効果が期待出来るものと思われる。また、*St. aureus*, *E. coli*, *Shigella* および *Salmonella* に対しても ABPC と同等の抗菌力が示されたことから、ABPC の half-dose での治療が期待出来るであろう。

E. coli の 15% と *Salmonella* の 6% は AMPC に対し 100 mcg/ml 以上の高度耐性菌であつた (Fig. 3, 5)。これらの菌は ABPC に対し耐性を示す R 因子を保有しており、AMPC は episome にコントロールされている β -lactamase によつて容易に水解されて不活性な物質となり、結果的に菌は耐性を示している。これは Table 1 に示したように、グラム陽性または陰性菌から

Table 1 Hydrolysis of amoxycillin by β -lactamase

Organism	Specific activity (u/mg of dry wt)		Substrate profile ^{a)}				
	PC-ase	CS-ase	PC G	ABPC	AMPC	6 APA	CER
<i>St. aureus</i> S 642	143	1	100	183	177	25	1
<i>E. coli</i> W 3630 RGN 14 ⁺	36	40	100	115	123	87	130
<i>E. coli</i> W 3630 RGN 238 ⁺	1.5	0.5	100	450	469	263	36
<i>Ps. aeruginosa</i> GN 918	13	96	100	8	8	8	769
<i>P. morgani</i> GN 926	75	398	100	3	3	3	578

^{a)} Rate of hydrolysis of penicillins and cephaloridine are expressed in per cent of hydrolysis of PC G.

ほうが ABPC より若干優れた抗菌力を示した。

2) β -Lactamase に対する安定性

Table 1 にペニシリン類と CER に対する各菌株の β -lactamase の基質特異性を示した。基質特異性からみると、既に報告されたとおり、*St. aureus*, *E. coli* R⁺ 菌の β -lactamase は penicillinase (PC-ase) タイプであり、*Ps. aeruginosa* および *P. morgani* の β -lactamase は cephalosporinase (Cs-ase) タイプである。AMPC は PC-ase によつて ABPC と同程度水解され不安定であるが、Cs-ase に対しては ABPC と同様安定であつた。

IV 考 察

Amoxycillin (α -Amino-p-hydroxybenzylpenicillin) について、臨床分離株に対する *in vitro* 抗菌力

分離された β -lactamase によつて水解されることから明らかである。その程度は ABPC と同等であり AMPC 耐性は菌体が生産する β -lactamase 活性に related していることが示唆される。

近年抗生物質の化学的修飾の 1 つには、血中濃度および臓器内移行上昇を狙うことが 1 手段とされている。確かに血中濃度の高い薬剤は少量で効果が期待され、また大量投与によつては感染菌に強い抗菌作用を与えることが出来る。このことは、これまでの合成ペニシリンに比し Amoxycillin によりすぐれた治療効果が期待される。しかし臨床分離株の中に高度の ABPC 耐性菌が出現している事実も見逃せない。大岡ら⁶⁾は臨床分離株から多くの ABPC 高度耐性菌を分離し、また小田倉ら⁷⁾も *Proteus* から ABPC 6400 mcg/ml 以上に耐性を示

すR因子を分離している。さらに小田倉⁹⁾は ABPC 耐性R因子を持つ菌から人工的に ABPC 高度耐性株を分離している。

V 総 括

Amoxycillin (α -amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin) は, Beecham 社において開発された新合成ペニリンである。本物質は ABPC と類似した構造を有しているが経口投与によつて ABPC 投与時の約 2 倍の血中濃度が得られる。我々は *in vitro* における抗菌力について検討を加え, 次の成績を得た。

- (1) *St. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* および *Shigella* に対する Amoxycillin の抗菌力は ABPC とほぼ同等であつた。しかし *P. mirabilis* に対しては ABPC の約 2 倍程度有効であつた。
- (2) Amoxycillin は, グラム陽性および陰性菌から分離した β -lactamase (penicillinase) によつて水解され, その程度は ABPC と同じであつた。

文 献

1. LONG, A. A. W.; J. H. C. NAYLER, H. SMITH, T. TAYLOR & N. WARD: Derivatives of 6-amino-penicillanic acid. XI. α -Amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin. J. Chem. Soc. (C): 1920~1922, 1971
2. SUTHERLAND, R. & G. N. ROLINSON: α -Amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin (BRL 2333), a new semisynthetic penicillin: *In vitro* evaluation. Antimicrob. Agents & Chemoth.: 411~415, 1971
3. CROYDON, E. A. P. & R. SUTHERLAND: α -Amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin (BRL 2333), a new semisynthetic penicillin: Absorption and excretion in man. Antimicrob. Agents & Chemoth.: 427~430, 1970
4. ACRED, P.; PAMELA A. HUNTER, LINDA MIZEN & G. N. ROLINSON: α -Amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin (BRL 2333), a new broad-spectrum semisynthetic penicillin: *In vivo* evaluation. Antimicrob. Agents & Chemoth.: 416~422, 1971
5. PERRET, C. T.: Iodometric assay of penicillinase. Nature (London) 174: 1012~1013, 1954
6. OOKA, T.; H. HASHIMOTO & S. MITSUHASHI: Comparison of penicillinase produced by R factor isolated from ampicillin-resistance gramnegative bacteria. Jap. J. Microbiol. 14: 123~128, 1970
7. ODAKURA, Y.; T. TANAKA & S. MITSUHASHI: Drug-resistance and distribution of R factors among *Proteus* strains. Jap. J. Microbiol. 15: 367~372, 1971
8. ODAKURA, Y.; T. TANAKA, H. HASHIMOTO & S. MITSUHASHI: Mutation of R factors capable of specifying hypersynthesis of penicillinase. Antimicrob. Agents & Chemoth. 3: 315~324, 1973

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AMOXYCILLIN *IN VITRO*

SUSUMU MITSUHASHI, YOSHIHIRO ODAKURA and KAORU YAGINUMA

Department of Microbiology, School of Medicine, Gunma University, Maebashi

The antimicrobial activities of amoxycillin (α -amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin), a new semisynthetic penicillin synthesized in the chemistry laboratories of Beecham Research Laboratories, were studied *in vitro*.

The results obtained are summarized as follows.

- (1) The antibacterial effects of amoxycillin against *St. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* and *Shigella* isolated from clinical specimens were almost identical to those of ABPC, while about twice of those of ABPC against *P. mirabilis*.
- (2) Amoxycillin was hydrolyzed by β -lactamases isolated from gram-positive and-negative bacteria, and the relative rate of hydrolysis was similar to that of ABPC.