

Carfecillin (Carbenicillin phenylester) に関する研究

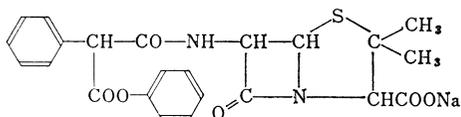
1. 試験管内抗菌作用, 加水分解, 感染防御効果について

西田 実・峯 靖弘・村川武雄
 上村利明・深田志計実・横田好子
 藤沢薬品工業株式会社中央研究所
 五島瑛智子
 東邦大学医学部微生物学教室

Carfecillin (P-CBPC) は Beecham 研究所において開発された Carbenicillin (CBPC) の phenyl ester で, Fig. 1 のような化学構造をもっている。この物質は経口投与により吸収され, 主として腸管内で ester 分解をうけ CBPC を遊離する。また Carindacillin (I-CBPC) と同様, P-CBPC 自体が *in vitro* で抗菌作用をもつことが知られている。

本報では, この物質の *in vitro* 抗菌活性, 各種溶液, 培養液, 生体成分中における P-CBPC の CBPC への加水分解, 両者の分離定量法, マウス感染治療効果などについて報告する。

Fig. 1 Chemical structure of P-CBPC



実験材料および方法

1) 抗生物質: Carfecillin (P-CBPC, Lot. 0438 T, CBPC 757 $\mu\text{g}/\text{mg}$), Carbenicillin (CBPC, Lot. 0138 T, 768 $\mu\text{g}/\text{mg}$) を使用した。

2) 試験菌株: 標準菌株は当研究所に保存中のもの, 患者分離株は東邦大学医学部微生物学教室, その他 2, 3 の施設から入手したものを使用した。

3) 試験管内抗菌作用: カンテン希釈法によって行なった。すなわち, Trypticase soy broth で 1 夜培養した菌液を, CBPC または P-CBPC の倍数希釈濃度を含む Heart infusion agar (HI agar) 上にスタンプで接種した。最小発育阻止濃度 (MIC) は 37°C, 20 時間培養後, 完全に菌の発育を阻止した最小濃度をもって表わした。

4) CBPC と P-CBPC の分離定量法

a) 試料の前処理

尿, 胆汁, ずい液はそのまま, または高濃度であると

推定される場合は 1/15M Phosphate buffer で適当な濃度に希釈する。血清, リンパ液, 組織などはタンパク成分が TLC の薬剤分離を妨害するので, 2 倍量のエタノール除タンパク後の上清を用いる。

b) P-CBPC, CBPC, PC G 3 者の分離法

4% シリコン・エーテル溶液で前処理した Eastman chromatogram sheet No. 6061 に常法どおり spot する。乾燥後 1/15 M Phosphate buffer pH 7.0 を溶媒として 8~10 cm 展開する。風乾した sheet を, *Bacillus subtilis* ATCC-6633 を seed したクエン酸ナトリウムカンテン培地 (ペプトン 0.5%, 肉エキス 0.3%, クエン酸ナトリウム 1%, カンテン 1%, pH 6.8) 上に 20 分はりつけ, 除去後, 培地を 37°C, 1 夜培養し, 生じた阻止帯の径を測定した。

c) P-CBPC と CBPC の分離法

無処理の Eastman chromatogram sheet No. 6061 に試料を spot し, n-Butanol : Ethanol : 水 (4 : 1 : 2) で 8~10 cm 展開後, 風乾する。この sheet を *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490 を seed した Antibiotic medium No. 1 (規定量の 7 割量を用いる) によって作成したカンテン平板上に 20 分はりつけ, 以下 b) のとおり処理する。

5) 常用培地, 種々の溶液および菌培養液中における安定性: 6 種の常用培地 (pH 7.0~7.4) それぞれ 9 容に, P-CBPC 11,280 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (CBPC として 10,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 溶液 1 容を加え, 0°C および 37°C における P-CBPC の半減期を, 生成した CBPC 量を分離定量することにより求めた。

また菌培養液中における安定性は, グラム陽性および陰性菌, 合計 6 菌株の overnight culture (HI broth) それぞれ 9 容に, P-CBPC 10,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液 1 容を混じり, 37°C で経時的に P-CBPC からの CBPC の生成を測定した。

6) 各種動物血清およびラット組織による P-CBPC

の加水分解：P-CBPC の 11,280 $\mu\text{g/ml}$ 溶液 (CBPC として 10,000 $\mu\text{g/ml}$) 1 容と各種動物の血清 9 容を混じ、37°C における半減期を、生成する CBPC を測定することにより求めた。

また絶食ラット (SD 系, ♂, 180~210 g) の 10% 組織ホモジネートの遠心上清 9 容に、P-CBPC 11,280 $\mu\text{g/ml}$ 溶液 (CBPC として 10,000 $\mu\text{g/ml}$) 1 容を加え、37°C における半減期を同様に求めた。

7) 脂溶性の測定：P-CBPC の脂溶性を CBPC を含む各種の Penicillin 類と次のように比較した。

1. n-Butanol-1/15 M Phosphate buffer 系

各種 Penicillin 類の、それぞれ 1 mg/ml 溶液 (1/15 M Phosphate buffer, pH 7.0) 5 ml と n-Butanol の 5 ml を 20°C で 20 分間振盪し、一定時間静置後 1/15 M Phosphate buffer (pH 7.0) 中の Penicillin 濃度を Bioassay で測定し、分配係数を求めた。

$$\text{分配係数} = \frac{\text{n-Butanol 中の濃度}}{\text{1/15M Phosphate buffer 中の濃度}}$$

2. 逆相 TLC における Rf 値

3% シリコン含有エーテル溶液で、Eastman chrom-

agram sheet No. 6061 を処理し、シリカゲルをシリコンで coat した後、各種 Penicillin を 1/15 M Phosphate buffer (pH 7.0) で展開し、Bioautography によって Rf 値を求めた。Rf 値が小さいほど、脂溶性が大となる。

8) マウス感染防御実験：ICR 系マウス (20~25 g, ♂, 4 週令) 1 群 10 匹に各々表示の条件で、菌を腹腔内に接種した。感染 1 時間後に P-CBPC の経口投与および CBPC の皮下投与を行ない、1 週間観察後に動物の生存数からプロビット法により ED₅₀ 値を求めた。なお薬剤無投与の対照群は、すべて 3 日以内に死亡した。

また、薬剤の投与時点と防御効果との関係を知るため、上記の感染条件で、薬剤を感染 3, 2, 1 時間前、および感染 1, 3 時間後に投与し、ED₅₀ 値を求めた。

実験結果

1. 抗菌スペクトラム

各種グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する P-CBPC の抗菌作用は Table 1 のとおりである。すなわち、P-CBPC は phenyl ester ではあるが、CBPC と同様、

Table 1 Antibacterial spectrum

		MIC : $\mu\text{g/ml}$		
Organism		P-CBPC	CBPC; 1 + Phenol; 1	CBPC
<i>Staph. aureus</i>	209-P JC-1	0.78	1.56	1.56
"	Newman	0.78	1.56	0.78
"	Terashima	1.56	3.13	3.13
"	Smith	0.78	1.56	1.56
"	ATCC-6538P	1.56	3.13	1.56
<i>B. subtilis</i>	ATCC-6633	3.13	3.13	1.56
"	PCI-219	6.25	3.13	1.56
<i>M. luteus</i>	PCI-1001	0.1	0.2	0.2
* <i>Str. pneumoniae</i>	III	0.39	0.78	0.78
* <i>Str. hemolyticus</i>	S-23	12.5	12.5	12.5
* <i>Str. faecalis</i>	6733	50	50	50
* <i>C. diphtheriae</i>	A-7	25	25	12.5
*"	M406MGL	25	25	12.5
<i>E. coli</i>	NIHJ JC-2	50	50	25
"	K-12	3.13	1.56	1.56
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 418	>100	>100	>100
<i>Pr. vulgaris</i>	IAM-1025	100	100	100
<i>Ps. aeruginosa</i>	IAM-1095	>100	>100	100
<i>S. typhi</i>	T-287	12.5	12.5	6.25
<i>S. paratyphi</i>	A-1015	12.5	6.25	6.25
<i>S. dysenteriae</i>	A-1 Shiga	6.25	6.25	3.13
<i>S. flexneri</i>	EW-8	50	25	25
<i>S. sonnei</i>	1 EW-33	3.13	3.13	1.56

HI-agar, Stamp method, 37°C, 20 hr.

Inoculum size : 10⁸/ml

* supplemented with 10% rabbit blood

Table 2 Sensitivity of clinical isolates to P-CBPC and CBPC

Organism	Antibiotic	Inoc.	MIC: $\mu\text{g/ml}$											
			>50	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	<0.1
<i>Staph. aureus</i> 42 strains	P-CBPC	10 ⁸	2	1	4	10	7	7	2	2	4	2	1	
		10 ⁶			1	2	1	7	12	11	5	2	1	
	CBPC	10 ⁸	2		3	11	12	4	3	6	1			
		10 ⁶				2	5	12	12	7	3		1	
<i>Str. faecalis</i> 21 strains	P-CBPC	10 ⁸		1		1	18	1						
		10 ⁶				1	1	19						
		10 ⁴			1		1	11	8					
	CBPC	10 ⁸		21										
		10 ⁶		17	4									
		10 ⁴		4	17									

HI-agar, Stamp method, 37°C, 20 hr.

Table 3 Sensitivity of clinical isolates to P-CBPC and CBPC

Organism	Antibiotic	Inoc.	MIC: $\mu\text{g/ml}$											
			>800	800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	<1.56
<i>Ps. aeruginosa</i> 41 strains	P-CBPC	10 ⁸	39		1			1						
		10 ⁶	4		3	7	18	7		1		1		
	CBPC	10 ⁸	31	9	1									
		10 ⁶	3	2	1	3	11	18	1	1				1
<i>E. coli</i> 42 strains	P-CBPC	10 ⁸	12	3	3	3	4	2	8	6	1			
		10 ⁶	6	2				2	11	17	4			
	CBPC	10 ⁸	8				9	8	7	9	1			
		10 ⁶	8					2	2	15	13	2		
<i>Pr. mirabilis</i> 42 strains	P-CBPC	10 ⁸	2	6	14	15	2	2	1					
		10 ⁶			1	2	2	1		1	1	16	13	5
	CBPC	10 ⁸	2		1	8	17	5	1	5		1	2	
		10 ⁶				1	3	1				4	16	17

HI-agar, Stamp method, 37°C, 20 hr.

広範囲の抗菌スペクトラムをもつことがわかった。また両者の抗菌力を比較したが、全体として大差は認められなかった。また表示のとおり、CBPCとPhenolをモル比で1:1に混合し、常法どおりMICを測定したが、使用した全菌株にわたりCBPCの抗菌作用には影響を与えなかった。

2. 各種患者分離株の感受性

各種の患者分離株の感受性分布はTable 2および3のとおりである。患者分離 *Staphylococcus aureus* 42株の場合10⁸接種では著明ではないが、10⁶接種ではP-CBPCはCBPCよりも全般的にやや強い抗菌活性を示した。つぎに *Streptococcus faecalis* 21株では、10⁸, 10⁶および10⁴のいずれの接種量においても、P-CBPCは

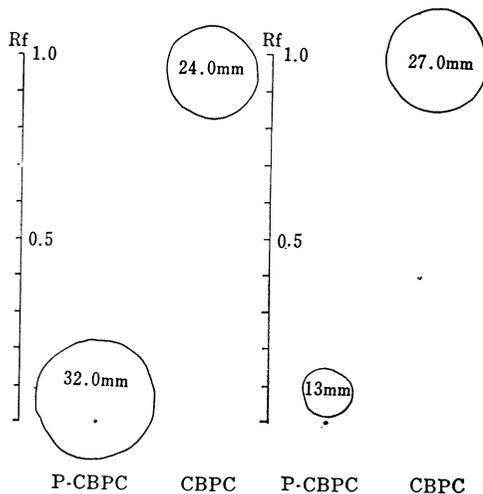
CBPCより著明に強い抗菌活性を示した。

患者分離 *Ps. aeruginosa* 41株, *Escherichia coli* 42株, および *Proteus mirabilis* 42株の感受性は、10⁸接種ではいずれの菌株も両薬剤に同等の感受性を示した。しかし10⁶接種では、P-CBPCよりもCBPCにやや感受性が良い傾向が認められた。

P-CBPCがグラム陽性菌、とくに *Staph. aureus* および *Str. faecalis* に対し、CBPCよりも抗菌力が強いという現象を確認するため、P-CBPCとCBPCをTLC展開後、*Staph. aureus* 209-P JC-1または *Ps. aeruginosa* NCTC 10490を試験菌として、それぞれBioautographyをおこなった。結果はFig. 2のとおりである。*Staph. aureus* 209-P JC-1を試験菌として

seed したとき, CBPC によって生ずる阻止帯よりも P-CBPC による阻止帯のほうが大きい。他方, *Ps. aeruginosa* では P-CBPC によって生ずる阻止帯よりも, CBPC による阻止帯のほうが大きい。この結果から, P-CBPC 本体はグラム陽性菌, とくに *Staph. aureus* 209-P JC-1 および *Str. faecalis* に対しては, CBPC よりも強い抗菌力をもつことが確認された。

Fig. 2 Comparison of antibacterial activity of P-CBPC and CBPC using bioautography *Staph. aureus* 209-P JC-1
Ps. aeruginosa NCTC 10490



Thin layer : Eastman chromatogram sheet No. 6061
(treated with 3% Silicon-Ether solution)
Solvent : 1/15 M Phosphate buffer solution
(pH 7.0)
Concentration : P-CBPC, CBPC 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$
solution, 4 μl spot

3. 常用培地, 種々の pH 溶液中における加水分解

実験の項に記載した方法に従い, P-CBPC の水解速度を検討した。Table 4 のとおり, 0°C では 1/15 M Phosphate buffer 溶液中における半減期は 160~240 時間ときわめて安定である。各種の常用培地中でも 22~32 時間と比較的 P-CBPC は ester 分解を受け難い。しかし, 37°C の条件では, 2.5~5 時間と比較的 CBPC に転換し易い。

つぎに pH 3.0~9.0 の水溶液, 人工胃液および人工腸液中における半減期を同様の方法によって求めた (Table 5)。酸性領域では比較的加水分解を受けにくく, とくに pH 3.0 では半減期は 24 時間以上と安定であった。pH 7.0 では 6~8 時間, さらにアルカリ領域では半減期は 0.2 時間以下と, 急速な ester 分解が認められた。人工胃液

(pH 1.2) では 2~3 時間, とくに人工腸液 (pH 8.3) 中では 0.2 時間以下ときわめて短時間に水解をうけた。

Table 4 Hydrolysis of P-CBPC in usual media

Medium	T 1/2 (hr.)	
	0°C	37°C
Nutrient broth (pH 7.0)	28~32	4~5
Antibiotic medium No. 3 (pH 7.0)		
Mueller-Hinton broth (pH 7.4)	22~28	2.5~4
Heart infusion broth (pH 7.4)		
Trypticase soy broth (pH 7.3)		
Brain heart infusion broth (pH 7.4)		
1/15 M Sørensen phosphate buffer (pH 7.0)	160~240	6~8

Table 5 Hydrolysis of P-CBPC in various pH solutions and artificial gastric and intestinal juice at 37°C

Solution	pH	T 1/2 (hr.)
1/1000 M HCl	3.0	> 24
1/15 M Sørensen phosphate buffer	6.0	11~13
"	7.0	6~8
"	8.0	0.9~1.4
1/5 M Na ₂ CO ₃ -1/5 M NaHCO ₃ buffer	9.0	< 0.2
Artificial gastric juice	1.2	2~3
Artificial intestinal juice	8.3	< 0.2

4. 菌培養液中における加水分解

グラム陽性および陰性菌, 合計 6 菌株の over-night culture (HI broth) それぞれ 9 容に, P-CBPC の 10,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 液 1 容を混じ, 37°C で経時的な P-CBPC の CBPC への分解性を検討した。

Fig. 3 に明らかとなり, *Str. faecalis* 1270, *Staph. aureus* 209-P JC-1, *Pr. vulgaris* IAM-1025 および *E. coli* NIHJ JC-2 の各培養液中では, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 418, *Ps. aeruginosa* NCTC 10490 の培養液中より ester 分解速度は遅い。

これらの各菌株の培養液の pH 変化は Fig. 4 に示す。*Str. faecalis* 1270, *Staph. aureus* 209-P JC-1 は pH 6.0 またはそれ以下にあり, このような培地の環境下では, 前述のとおり P-CBPC の加水分解はゆるやかで, 本体の培養液中濃度が相対的に高いことが明らかである。

Fig. 3 Stability of P-CBPC in over-night culture broth of various strains

Over-night culture 9 ml
P-CBPC (10,000 µg/ml) 1 ml

↓ Incubation at 37°C
Separation assay by TLC and bioautography

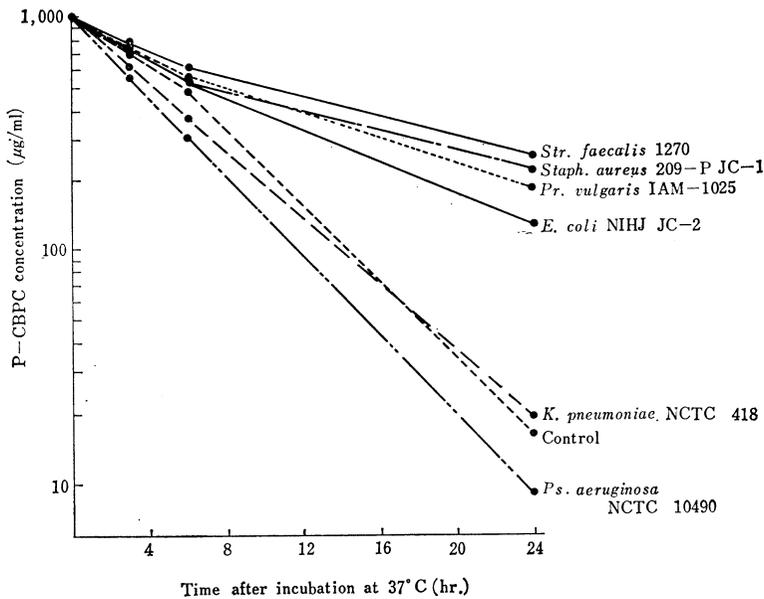
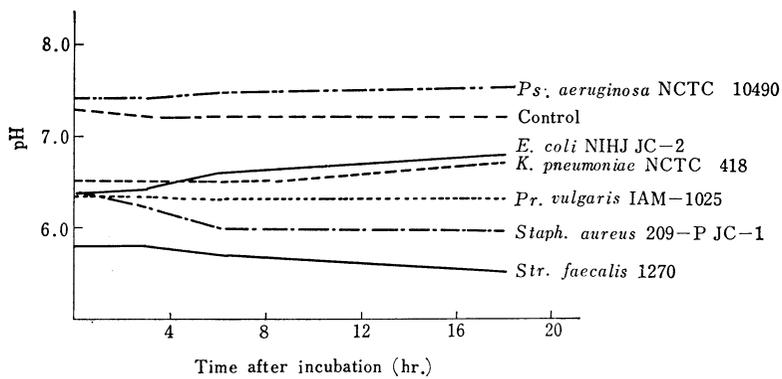


Fig. 4 pH change of culture broth during incubation



上記の *Str. faecalis* 1270 および *Staph. aureus* 209-P JC-1 培養液中の安定性は、Table 2 および Fig. 2 でみられた現象、すなわち患者分離 *Str. faecalis* および *Staph. aureus* が、CBPC よりも P-CBPC 感受性が高

いという事実と関連をもつと考えられる。

5. 動物血清およびラット組織による加水分解

1) 血清による加水分解

ヒトおよび各種の動物血清による P-CBPC の CBPC

への加水分解について検討した。Table 6 に明らかとなり、マウスおよびラット血清の水解活性はひじょうに強く、両者とも半減期は2分以下、ウサギおよびイヌはそれぞれ25および21分、ヒトでは10分という値が得られた。動物種により血清の P-CBPC 水解活性にはかなりの相違があることが明らかとなった。この結果から、ヒト血清の水解活性は、マウス、ラットとウサギ、イヌとの中間的なものであった。

Table 6 Hydrolysis of P-CBPC by serum from various species of animals at 37°C

Serum	T 1/2 (min.)
Mouse (ICR, ♂, ♀)	< 2
Rat (SD, ♂, ♀)	< 2
Rabbit (White, ♂)	25
Dog (Beagle, ♂)	21
Human (Healthy volunteer, ♂)	10

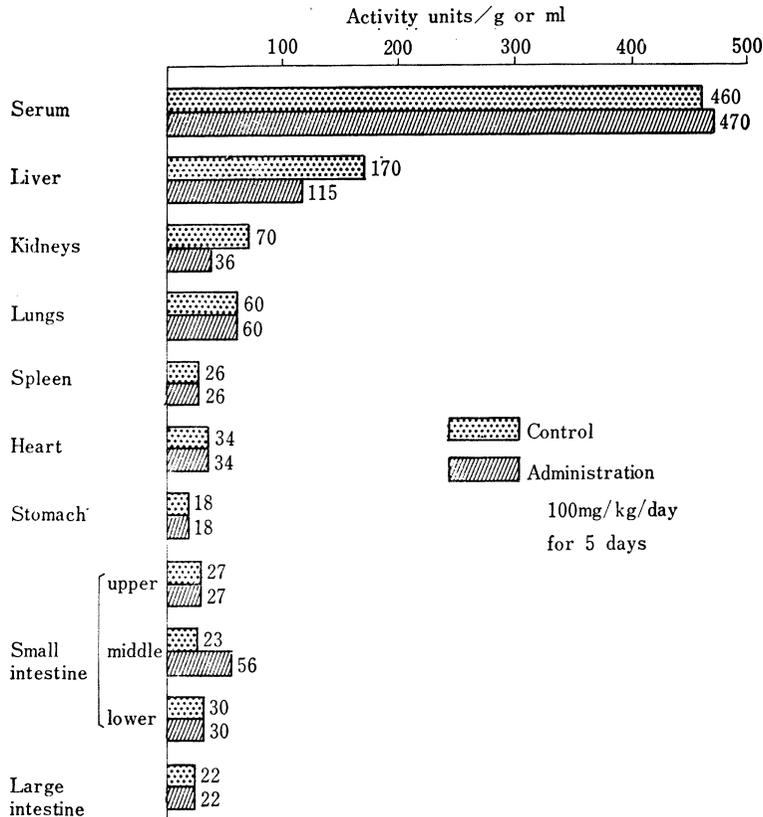
2) ラット組織ホモジネートによる加水分解

結果は Table 7 のとおりである。血清、肝、腎は半減期5分以下と最も水解活性が強く、肺、小腸各部および

Table 7 Hydrolysis of P-CBPC by rat tissue homogenates at 37°C

Tissue	T 1/2 (min.)
Liver	< 5
Kidneys	< 5
Lungs	5~9
Heart	20~30
Spleen	40~50
Stomach	60~70
Small intestine upper	5~15
" middle	5~15
" lower	10~20
Large intestine	10~20
Serum	< 5

Fig. 5 P-CBPC hydrolyzing activity of serum and tissue homogenates of rats after repeated dose of P-CBPC



Rat ; SD-strain, ♂, 200~230g, 5 rats/group

び大腸はいずれも5~20分, ついで心, 脾, 胃の順となり, ラット組織のすべてに活性が認められた。

3) P-CBPC を連続投与した動物組織の水解活性

P-CBPC を 100mg/kg, 5日間連続経口投与した5匹のラットから調製した各組織の10%ホモジネートの上清, および10%血清の P-CBPC 水解活性を, 無投与の対照群のそれらと比較した結果を Fig.5 に示す。なお水解活性は反応液中の 1,000 μ g/ml の P-CBPC が, 37°C, 1時間で加水分解をうける活性を 1 unit とし, 各組織 1g または血清 1ml 当りに換算して示した。

図から明らかとなっており, P-CBPC のこの条件における連続投与によって, 血清, その他各組織の水解活性は著明に変動しなかった。ただ, 肝および腎においてわずかに活性の低下が認められた。

6. 脂溶性

実験の項に記載した方法, すなわち 1/15 M Phosphate buffer (pH 7.0)—n-Butanol からなる溶媒系における分配係数を求めた。Table 8 の結果から明らかとなっており, P-CBPC の分配係数は6.8~8.5と, 対照とした他の Penicillin 類のうちで最も大きく, CBPC はこれと

対照的に0.03と脂溶性は小さく, むしろ水溶性の大きい化合物である。

Table 8 Lipophilicity

Penicillin	Partition coefficient*	Rf value**
P-CBPC	6.8~8.5	0.07
MCIPC	4.8	0.15
PC G	1.2	0.44
ABPC	0.3	0.59
CBPC	0.03	0.90

* 1/15 M Phosphate buffer (pH 7.0)—n-Butanol

** Reverse phase TLC, silicon-phosphate buffer

同様の傾向は逆相 TLC によるシリコンに対する親和性の検討でも P-CBPC は Rf 0.07とシリコン層に親和性が強く, CBPC は Rf 0.90と水溶性が大であることが明らかになった。

7. マウス感染防御効果

1) 感染1時間後の薬剤投与効果

Table 9 は感染1時間後に P-CBPC の経口投与また

Table 9 Protecting effect of P-CBPC and CBPC

Treatment at 1 hr after challenge

Organism	cells/mouse	Mucin	\times LD ₅₀	ED ₅₀ (mg/mouse)	
				*P-CBPC	CBPC
<i>E. coli</i> 324	8.8 \times 10 ⁴	2% M	4.2	2.5 +	0.24
<i>Pr. mirabilis</i> 504	1.0 \times 10 ⁶	5% M	46	1.1 +	2.23
<i>Pr. morgani</i> 6701	9.4 \times 10 ⁵	5% M	348	1.11-	0.63
<i>Pr. vulgaris</i> 626	1.0 \times 10 ⁷	5% M	20	1.92+	7.4
<i>Ps. aeruginosa</i> 708	4.5 \times 10 ⁶	5% M	30	3.38+	8.71
<i>Ps. aeruginosa</i> 724	7.0 \times 10 ⁶	5% M	167	12.5	>20

Organism	Inoculum size	MIC : μ g/ml			
		P-CBPC		CBPC	
		10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶
<i>E. coli</i> 324		12.5	12.5	6.25	3.13
<i>Pr. mirabilis</i> 504		3.13	1.56	1.56	0.78
<i>Pr. morgani</i> 6701		1.56	1.56	1.56	0.78
<i>Pr. vulgaris</i> 626		400	50	400	50
<i>Ps. aeruginosa</i> 708		50	12.5	25	3.13
<i>Ps. aeruginosa</i> 724		50	6.25	25	3.13

Mouse; ICR-strain, 10/group, ♂, 4 weeks, 21~25g.

P-CBPC : p.o. (*CBPC equivalent)

CBPC : s.c.

(+) CBPC (s.c.) Statistically significant difference (p=0.05)

(-) CBPC (s.c.) No statistically significant difference (p=0.05)

は CBPC の皮下投与を行なった場合の ED₅₀ 値を比較したものである。この条件では感染菌種によって、両薬剤の効果は一定傾向がみられなかった。すなわち 6 菌種による感染のうち、CBPC および P-CBPC の MIC が 10⁸, 10⁸ で 1.56 µg/ml 付近にある *Pr. mirabilis* 504, *Pr. morgani* 6701 感染では、両薬剤の ED₅₀ 値はともに 1~2 mg/mouse と同等の効果を示した。*E. coli* 324 の感染系では、CBPC の皮下投与が有効で ED₅₀ 値は 0.24 mg/mouse, P-CBPC の経口投与では 2.5 mg/mouse と、両 ED₅₀ 値間に有意差が認められた。*Pr. vulgaris* 626, *Ps. aeruginosa* 708, *Ps. aeruginosa* 724 の感染系では、表示の ED₅₀ 値から明らかなおと、P-CBPC の経口投与が CBPC の皮下投与よりも有効な治療効果を示した。

2) 薬剤投与时差と防御効果

つぎに P-CBPC の経口投与および CBPC の皮下投与時の防御効果が、薬剤の投与时差によってどのように影響されるかという問題を検討した。

結果は Table 10 のとおりである。*E. coli* 324 株による感染に対し、CBPC の皮下投与を感染 2 および 3 時間前におこなったが、ED₅₀ 値は 20 mg/mouse 以上と効果を認めなかった。感染 1 時間前の投与で 8.9 mg/mouse の値が得られた。これに対し、P-CBPC の感染 3, 2, 1 時間前投与では 8.9~11.4 mg/mouse と、CBPC の皮下投与よりも一定した効果が得られた。また P-CBPC の経口投与および CBPC の皮下投与とも、感染前投与より感染後 1~3 時間目の投与がより効果的で、この場合、ED₅₀ 値は P-CBPC の経口投与で 2.5~2.8 mg/mouse, CBPC の皮下投与で 0.78~0.81 mg/mouse となった。

Ps. aeruginosa 708 株の感染に対しても、同様に P-CBPC の経口、CBPC の皮下投与の比較を行なった。感染 2 時間前に両者はほぼ同一の効果を示したが、他の投与時間では P-CBPC の経口投与が、CBPC の皮下投与よりも優れた効果を示した。

Table 10 Protecting effect of P-CBPC and CBPC

Treatment at different time after challenge

Organism	cells/ml	Mucin	Time** of treat.	ED ₅₀ (mg/mouse)	
				*P-CBPC	CBPC
<i>E. coli</i> 324	8.5×10 ⁴	2% M	-3 hr	10.0	>20
				(7.0~14.8)	
				11.4	>20
				(8.4~16.0)	
				8.9	8.9
				(6.6~12.0)	(6.6~12.0)
				2.5	0.81
(1.7~3.7)	(0.45~1.6)				
			+3	2.8	0.78
				(1.9~4.6)	(0.63~1.05)
<i>Ps. aeruginosa</i> 708	4.9×10 ⁶	5% M	-3 hr	4.4	19.5
				(3.0~6.4)	(6.6~57.2)
				1.5	1.4
				(0.33~3.8)	(0.3~3.8)
				0.91	4.1
				(0.14~2.1)	(1.1~11.4)
				2.5	10.3
(1.6~4.3)	(8.4~12.9)				
			+3	2.9	5.9
				(2.1~4.4)	(3.9~9.1)

Mouse : ICR-strain, 10/group, ♂, 4 weeks, 21~25g

P-CBPC : p.o. (*CBPC equivalent)

CBPC : s.c.

** (-) Drug was administered before challenge.

(+) Drug was administered after challenge.

MIC : µg/ml (CBPC)	
10 ⁸	12.5
10 ⁶	12.5
10 ⁴	6.25

MIC : µg/ml (CBPC)	
10 ⁸	50
10 ⁶	12.5
10 ⁴	3.13

考 察

P-CBPC の MIC を常法に従って測定すると、前述のとおり CBPC と同程度の一定の抗菌力が得られる。このような現象は Pivampicillin¹⁾²⁾³⁾ または Carindacillin (I-CBPC)⁴⁾⁵⁾⁶⁾ など Penicillin 類の経口用 ester 体に共通して認められる。しかし P-CBPC が各種の常用培地中で、37°C で半減期が2.5~5時間と比較的急速に水解され、CBPC を生成する事実から、MIC 値として得られた値が P-CBPC そのものの抗菌力を示すかどうか疑わしい。ただ一部の菌種、*Str. faecalis*、*Staph. aureus* などの培養液中で、P-CBPC の CBPC への水解率が低く、半減期が 37°C で8時間という結果が得られた。つぎに P-CBPC が CBPC と比較して、ひじょうに大きい脂溶性をもつことが判明した。K. BUTLER⁵⁾ らは I-CBPC について同様の性状を報告し、その脂溶性が消化管からの吸収性と関係があることを示唆している。また、G. L. BIAGI⁷⁾ らの Cephalosporin および Penicillin 類の脂溶性と抗菌力との関連性についての研究によれば、脂溶性の大きい誘導体ほど *Staph. aureus* に抗菌力が強いことを立証している。P-CBPC が *Staph. aureus* および *Str. faecalis* に CBPC よりも抗菌力が強い現象は、その脂溶性との関係が一因であると考えられることでもできよう。さらに P-CBPC の水解率が各種の菌培養液中で一定でないという事実は、P-CBPC 本体の正確な抗菌力の解明をいっそう複雑なものとしている。しかし P-CBPC が腸管組織で CBPC に転換し、CBPC として生体内で抗菌力を発揮するとすれば、この抗生物質の基礎的検討の主要な課題は、P-CBPC の生体成分による加水分解性を把握することであると考えられる。

本報で明らかとなっており、P-CBPC は酸性 pH 領域で水解をうけ難く、中性ないしアルカリ性で水解速度が大である。とくに pH 6~8 の範囲で水解速度が微妙に変化することは P-CBPC の胃における安定性と、小腸における吸収を特徴づける1つの特性であると考えられる。つぎに組織の P-CBPC 水解活性を比較した結果によれば、正常ラットでは血清、肝、腎が強い活性をもつことが明らかになった。とくに血清は小腸部の約20倍に相当する活性をもち、このような高い血清の esterase 活性は、腸管組織から生体内への ester 体の侵入に対して、一種の Barrier 的役割を果たすと考えることができよう。また、ラットの血清および各種の組織の水解活性は、P-CBPC の大量連続投与によって影響をうけることなく維持される。この事実から生体側にこの種の ester 体の相当量を水解し、CBPC を遊離するための活性が保持されていると推定される。

要 約

Carfecillin (P-CBPC) は CBPC の phenyl ester で、CBPC と類似した抗菌スペクトラムをもつ。患者分離の *Staph. aureus*、*Str. faecalis* に対しては CBPC より強い抗菌活性を示す。しかし P-CBPC は 37°C で、中性ないしアルカリ溶液、常用培地中では比較的速やかに加水分解をうけ、CBPC を遊離するので、P-CBPC の示す抗菌活性が、ester 体固有のものかどうか不明である。各種の菌培養液中における P-CBPC の水解率は一定でなく、菌種によって CBPC の生成率は異なる。また血清の P-CBPC の水解活性には、動物種差があり、マウス、ラットは最も活性が強く、ついでヒト、ウサギ、イヌの順となる。つぎにラット組織の P-CBPC 水解活性を血清と比較したが、血清の活性が最も強く、肝、腎がこれにつぎ、肺、小腸、大腸の順となった。また、これらの活性は P-CBPC の大量連続投与によって変化しない。

マウスの実験的感染に対する P-CBPC の経口投与による防御効果は、菌種により一定しないが、CBPC の皮下投与と遜色のない効果が得られた。

文 献

- 1) DAEHNE, VON W.; *et al.*: Acyloxymethyl esters of ampicillin. *J. Med. Chem.* 13: 607~612, 1970
- 2) DAEHNE, VON W.; *et al.*: Pivampicillin, a new orally active ampicillin ester. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* -1970: 431~437, 1971
- 3) 第21回日本化学療法学会総会, シンポジウム "Pivampicillin", 1973
- 4) ENGLISH, ARTHUR R.; *et al.*: Carbenicillin indanyl sodium, an orally active derivative of carbenicillin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1(3): 185~191, 1972
- 5) BUTLER, K.; *et al.*: Indanyl carbenicillin: Chemistry and laboratory studies with a new semisynthetic penicillin. *J. Infectious Diseases* 127, Suppl: S 97~104, 1973
- 6) 第22回日本化学療法学会総会, シンポジウム "Carbenicillin indanyl sodium", 1974
- 7) BIAGI, G. L.; *et al.*: Influence of lipophilic character on the antibacterial activity of cephalosporins and penicillins. *J. Med. Chem.* 13(3): 511~516, 1970

LABORATORY EVALUATION OF CARFECILLIN,
A CARBENICILLIN PHENYL ESTER

I. *IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITY, HYDROLYSIS AND
PROTECTING EFFECT AGAINST INFECTIONS IN MICE

MINORU NISHIDA, YASUHIRO MINE, TAKEO MURAKAWA, TOSHIAKI KAMIMURA,
SHIGEMI FUKADA and YOSHIKO YOKOTA
Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

SACHIKO GOTO

Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine

Carfecillin has an antimicrobial spectrum similar to that of carbenicillin. Carfecillin provides more potent antimicrobial activity than carbenicillin against *Staph. aureus* and *Str. faecalis* isolated from patients. As carbenicillin is easily liberated from carfecillin in neutral and alkaline solutions and conventional media at 37°C, it is not certain whether the antimicrobial activity of carfecillin is based on the ester substance. The hydrolysis of carfecillin in broth cultures differed according to the kind of bacteria and the hydrolytic activity of the sera differed among species of animals. The activity was the most potent in mice and rats, followed by man, rabbits and dogs. When the hydrolytic activity of rat tissue homogenates was compared with that of serum, the hydrolytic activity of the serum was the highest, followed in the tissues by liver, kidneys, lungs and small and large intestines. After repeated massive doses of carfecillin no changes in hydrolytic activity of rat tissues were observed. Given orally to mice, the protecting effect of carfecillin against experimentally induced infections varied according to the kind of bacteria, and was comparable to that of carbenicillin given subcutaneously.