

大腸菌、インフルエンザ菌実験感染における

経口 Penicillin 剤 Bacampicillin の感染防禦効果および血清中濃度

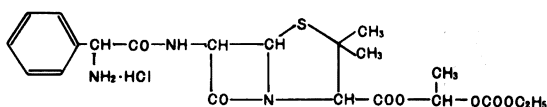
川崎賢二・関口金雄・小川正俊・辻 明良

金子康子・五島瑳智子

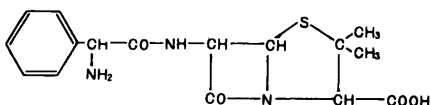
東邦大学医学部微生物学教室

経口ペニシリン剤として新しく開発された Bacampicillin (BAPC) は腸管吸収を良くすることにより、血中濃度の上昇を目指した Ampicillin (ABPC) のエステル型であり、化学名は 1'-ethoxycarbonyloxyethyl 6-(D- α -aminophenylacetamido) penicillinate、構造式は次のようである。

Structure of Bacampicillin hydrochloride



Structure of Ampicillin



この薬剤は胃液、腸液の pH に安定であり ABPC への移行はゆるやかであるが、腸管より吸収される間に非特異的エステラーゼのため速やかに ABPC となり、血中からは BAPC としては証明されない。BAPC の経口投与後の血中濃度のピークは、等力価の ABPC のそれと比べ、各種動物及び人でも早くかつ高く、マウス感染治療実験でも BAPC は ABPC より優れているといわれている。^{1), 2), 3)}

毒性は低く、ABPC とほぼ同程度であり、催奇形性も認められていない。この薬剤の *in vivo* 抗菌作用を ABPC、AMPC と比較検討したので報告する。

実験材料及び方法

1. 使用菌株

教室保存株、及び臨床分離の多数株を使用した。保存株は 2 日連日継代 3 日目の新鮮培養菌として用いた。

2. 薬剤

Bacampicillin (BAPC)

Ampicillin (ABPC)

Amoxycillin (AMPC)

3. 感受性測定法

日本化学療法学会標準法にしたがった。^{4), 5)}

4. 標準曲線作成

BAPC 200 μ g/ml (ABPC 力価に換算した量) buffer 溶液, pH 6.0, 10ml に、エステラーゼ (SIGMA 社, 2 mg protein/ml, 130 units/mg protein) 液 0.5ml を加え、37°C 1 時間 incubate したものを検体とし、thin layer disk 法にて標準曲線を作成した。測定用培地組成は polypeptone 0.7g, agar 1.2g/water 100ml であり、検定菌は *B. subtilis* PCI-219 である。

ABPC の場合もエステラーゼを加えることを除き他は同様の操作を行ない標準曲線を作成した。

感受性測定の際の BAPC の activation も以上の操作に準じている。

5. マウス血清中濃度測定法

ICR-JCL マウス 4 週令、雄、体重 19 ± 1 g を用い、BAPC、ABPC、AMPC を各 1 mg/mouse 経口投与し各時間毎に採血、1 群 9 匹の血清をプールして、bioassay により血清中濃度を測定した。

なお、全ての実験において、BAPC の秤量は ABPC との等力価を基準にして行なっている。

6. マウス実験感染における感染防禦効果

血清中濃度測定に用いた同系統、同一条件のマウスを使用し、*E. coli*, *H. influenzae* を感染菌として腹腔内感染 1 時間後に、経口投与にて、BAPC、ABPC、AMPC の種々の濃度の CMC 懸濁液による治療を行なった。感染時に使用した mucin の濃度は 5 % である。

効果の判定は 1 群 6 匹のマウスの生死により判定し、観察は感染後 7 日とし、生残率から ED₅₀ 値を LITCH-FIELD-WILCOXON 法にて算出した。

実験的白血球減少症マウスは、cyclophosphamide, 250mg/kg をマウス腹腔内投与により作成し、投与後 4 日目のものを感染治療実験に供した。

実験成績と考察

1. 抗菌スペクトラム (Table 1, 2)

BAPCは腸管より吸収される間にすみやかに水解され、生体内でABPCとなって抗菌作用を示すもので、ABPCと同様の抗菌スペクトラムを有する。即ち、グラム陽性菌、陰性菌に対して広域の抗菌作用を示すが、陰性菌のうち、*P. vulgaris*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* 等には無効である。

Table 1 Antibacterial spectrum

Inoculum size: 10^8 cells/ml		MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
Organism		ABPC	*BAPC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P		0.39	0.39
"	Smith	0.78	0.39
"	Newmann	0.78	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		1.56	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook		≤ 0.19	≤ 0.19
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		≤ 0.19	≤ 0.19
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		1.56	1.56
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219		3.12	3.12
<i>Escherichia coli</i> NIHJ-JC2		6.25	6.25
<i>Citrobacter freundii</i> GN-346		>100	>100
<i>Salmonella typhi</i> Tanaka		1.56	1.56
<i>Shigella flexneri</i> 2a		6.25	6.25
"	2b	6.25	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> GN-69		>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> No-2		>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i>		100	100
<i>Proteus vulgaris</i>		>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		>100	>100
IFO 3445			

* Activated Bacampicillin by esterase

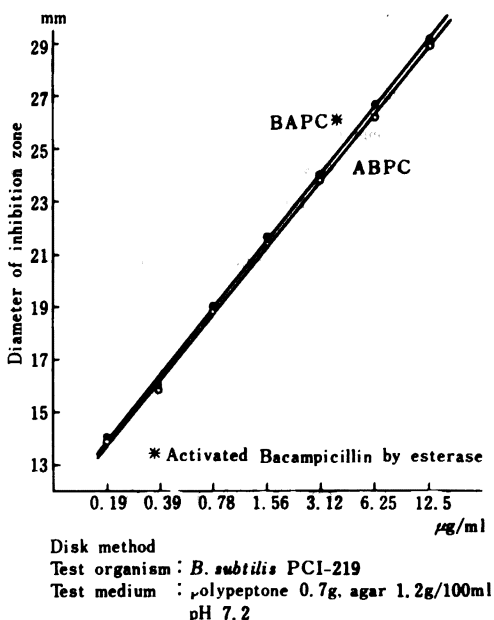
Table 2 Antibacterial spectrum

Inoculum size: 10^6 cells/ml		MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
Organism		ABPC	*BAPC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P		≤ 0.19	≤ 0.19
"	Smith	≤ 0.19	≤ 0.19
"	Newmann	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		≤ 0.19	≤ 0.19
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook		≤ 0.19	≤ 0.19
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		≤ 0.19	≤ 0.19
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		≤ 0.19	≤ 0.19
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219		0.78	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIHJ-JC2		3.12	3.12
<i>Citrobacter freundii</i> GN-346		>100	>100
<i>Salmonella typhi</i> Tanaka		0.78	0.39
<i>Shigella flexneri</i> 2a		1.56	1.56
"	2b	1.56	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> GN-69		>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> No-2		50	50
<i>Proteus mirabilis</i>		1.56	1.56
<i>Proteus vulgaris</i>		12.5	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		>100	>100
IFO 3445			

* Activated Bacampicillin by esterase

Table 1, Table 2はABPC等力価のBAPCをエステラーゼにて37°C 1時間加水分解したものの抗菌作用をABPCと比較したものである。グラム陽性菌、陰性菌の各株においてABPCとほぼ同様のMICを示し、差があるものでも1管程度であって、ABPCとの間に抗菌力の差はみとめられない。

Fig. 1 Standard curve



2. 標準曲線 (Fig. 1)

エステラーゼ処理したBAPCとABPCの標準曲線を比較したのがFig.1である。

両者のcurveはほとんど一致している。

3. マウス血清中濃度 (Fig. 2, Table 3)

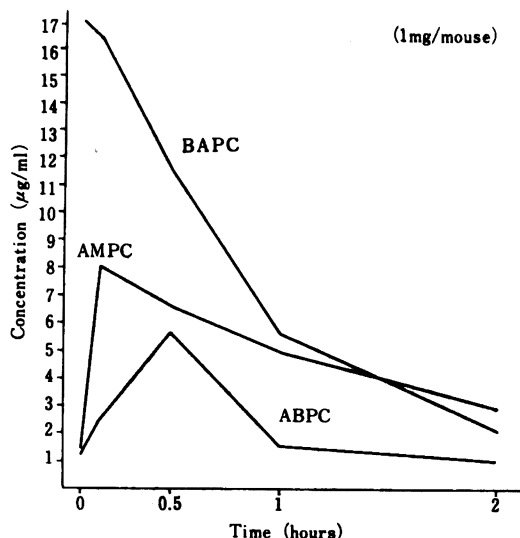
BAPCの特徴はABPCの血清中濃度の上昇である。マウス血清中濃度においてBAPCの濃度がどの程度かをABPC及びAMPCと比較してみると、Fig. 2に示すように、血清中濃度のピークの出現時間は投与後BAPCは5～15分、AMPCは15分、ABPCは30分である。ピーク値の比較では、BAPCの値はAMPCのほぼ2倍、ABPCのほぼ3倍であった。しかしBAPCは排泄も早く、投与後2時間ではAMPCよりもやや低値を示した。

4. マウス実験感染における防製効果

E. coli 5株, *H. influenzae* 4株をそれぞれ感染菌とし、同一条件でBAPC, ABPC, AMPCで治療した成績がFig. 3, Fig. 4である。

E. coli No.70株の実験ではddN系マウス5週令、雄、体重19±1gを用いた。

Fig. 2 Serum levels after oral administration of BAPC, AMPC and ABPC in mice



1) 大腸菌感染 (Fig. 3, Table 4)

ABPC, AMPCに感性である *E. coli* No. 70, 57, 85株の実験では、ED₅₀値の比較で、BAPCはABPCと同程度から約1/4の低値の間に分布し、AMPCとの比較ではほぼ同程度であるが、*E. coli* No. 70, 85株の mucin 無添

Table 3 Serum levels after oral administration of BAPC, AMPC and ABPC in mice

ICR mouse 4W ♂ B.W. 18~19g

Time	5 min	15	30	60	120
Drug					
B A P C	17.0	16.5	11.5	5.6	2.05
A M P C	1.65	8.0	6.6	4.9	2.9
A B P C	1.22	2.4	5.7	1.42	0.95

(µg/ml)

Doses : AMPC 1mg/0.3ml

ABPC 1mg/0.2ml

BAPC 1mg/0.2ml

values by BAPC are given as ABPC

Area under the concentration curve

Drug	Area
B A P C	17.152
A M P C	12.373
A B P C	5.279

加の大量菌攻撃では、MIC値に比例し、1/2程度のED₅₀値を示している。ABPC, AMPCに耐性である *E. coli* No. 93, 52株の実験では3剤とも無効であった。

2) インフルエンザ菌感染 (Fig. 4, Table 5)

H. influenzae はマウスに対する virulence が弱く、4

株の実験全てで mucin 添加の大量菌攻撃を余儀なくされたが、全般的にBAPCがもっとも優れ、BAPCのED₅₀値は、ABPCのそれの約1/2から約1/40、AMPCのそれと同程度から約1/10の間に分布している。

3) 実験的白血球減少症マウスにおける大腸菌感染 (Fig. 5, Table 6)

感染菌として *E. coli* C-11株を用いた。対照として無処置マウスを用いた実験では、BAPCはAMPCと同程度、ABPCより2倍程度優れたED₅₀値を示しているが、白血球数が通常の1/10程度に減少したマウスでは、BAPCはAMPC、ABPCよりも2倍以上の優れたED₅₀値を示している。

以上のようにマウス実験感染における効果は、全体として大量菌攻撃の場合、BAPCは他の2剤より優れた効果を示しており、この現象の裏づけとしてBAPCの血清中濃度が他の2剤より高いことが主な理由と考えられる。

また、白血球減少症マウスにおいては、無処置マウス (通常マウス) に比べ、BAPCの

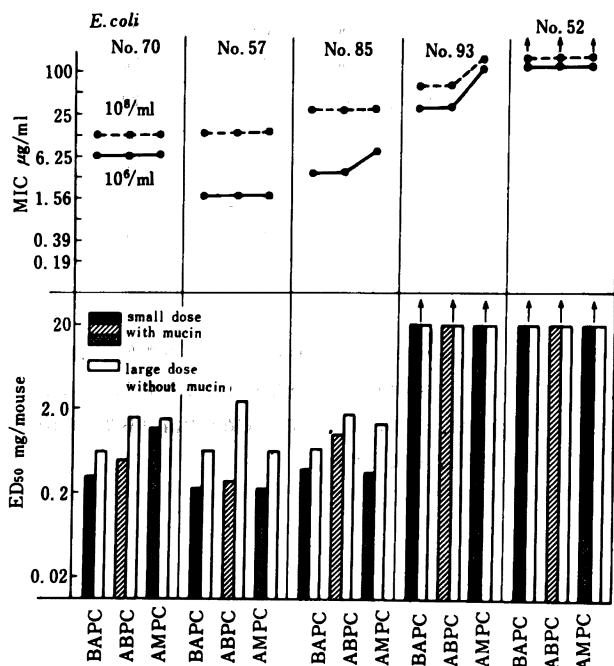
Fig. 3 Comparison of *in vitro* and *in vivo* activity

Table 4 Protecting effect of BAPC, AMPC and ABPC

Organism		Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	Mucin	Drug	MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
						10 ⁵	10 ⁶	
<i>E. coli</i>	No. 70	1.06×10 ⁵	3.10×10 ²	+	BAPC	25	3.12	0.37 (0.18—0.55)
					AMPC	25	6.25	1.25 (0.50—3.14)
					ABPC	25	3.12	0.52 (0.27—0.99)
		4.30×10 ⁵	6.20×10 ⁷	—	BAPC	25	3.12	0.62 (0.35—1.1)
					AMPC	25	6.25	1.4 (0.40—4.9)
					ABPC	25	3.12	1.6 (0.86—2.9)
	No. 57	4.30×10 ⁵	4.16×10 ²	+	BAPC	12.5	1.56	0.23 (0.16—0.33)
					AMPC	12.5	1.56	0.23 (0.16—0.33)
					ABPC	12.5	1.56	0.27 (0.19—0.39)
		5.76×10 ⁵	1.66×10 ⁵	—	BAPC	12.5	1.56	0.62 (0.35—1.1)
					AMPC	12.5	1.56	0.63 (0.17—2.3)
					ABPC	12.5	1.56	2.5 (1.4—4.4)
	No. 85	1.06×10 ⁵	3.10×10 ²	+	BAPC	25	3.12	0.37 (0.24—0.55)
					AMPC	25	6.25	0.36 (0.090—1.4)
					ABPC	25	3.12	1.1 (0.66—1.6)
		4.30×10 ⁵	6.20×10 ⁷	—	BAPC	25	3.12	0.62 (0.35—1.1)
					AMPC	25	6.25	1.3 (0.81—1.9)
					ABPC	25	3.12	1.8 (1.2—2.8)
	No. 93	3.75×10 ⁴	3.06×10 ⁴	+	BAPC	50	25	>20
					AMPC	100	100	>20
					ABPC	50	25	>20
		1.50×10 ⁵	4.68×10 ⁷	—	BAPC	50	25	>20
					AMPC	100	100	>20
					ABPC	50	25	>20
	No. 52	2.19×10 ⁴	3.91×10 ³	+	BAPC	1,600	800	>20
					AMPC	1,600	800	>20
					ABPC	1,600	800	>20
		4.38×10 ⁵	4.50×10 ⁷	—	BAPC	1,600	800	>20
					AMPC	1,600	800	>20
					ABPC	1,600	800	>20

ED₅₀値が他の2剤に比較し小さいことは、生体防禦機能の低下した場合の大量菌での攻撃例では、とくに血清中濃度が高いことは有利であると考えられる。

これらの実験から、BAPCは血清中濃度を高めることによってABPCの作用を増強させる薬剤であることが認められ、とくに実験感染の成績と血清中濃度との関連が明確にとらえられた。

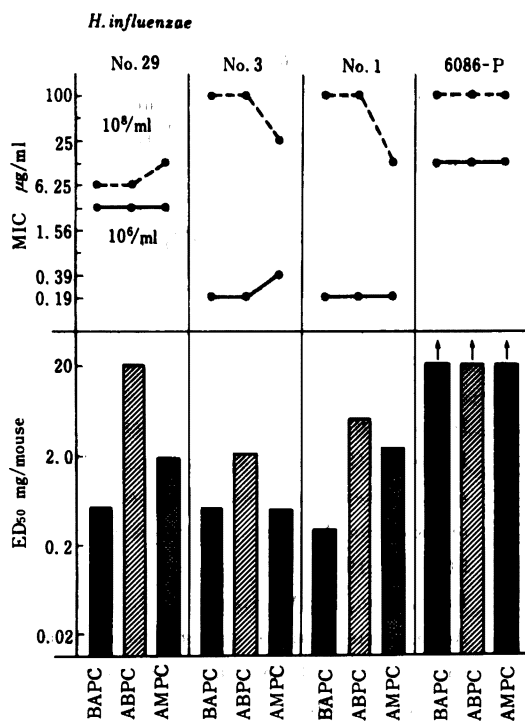
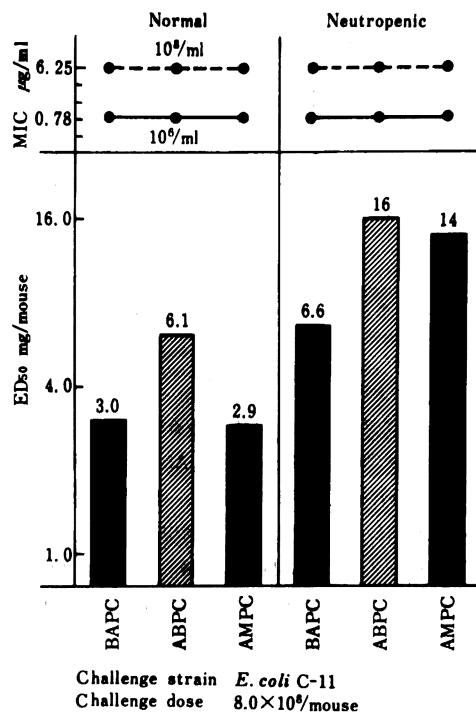
Fig. 4 Comparison of *in vitro* and *in vivo* activityFig. 5 Comparison of *in vivo* activity with neutropenic mice

Table 5 Protecting effect of BAPC, AMPC and ABPC

Organism		Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	Mucin	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
						10 ⁸	10 ⁶	
<i>H. influenzae</i>	No. 29	4.11×10^7	2.50×10^7	+	BAPC	6.25	3.12	0.54 (0.15-1.9)
					AMPC	12.5	3.12	1.9 (0.45-7.8)
					ABPC	6.25	3.12	20 (2.0-190)
	No. 3	2.63×10^7	1.50×10^7	+	BAPC	>100	≤ 0.19	0.54 (0.21-1.4)
					AMPC	25	0.39	0.51 (0.40-0.66)
					ABPC	>100	≤ 0.19	2.2 (0.71-6.5)
	No. 1	3.00×10^8	2.32×10^8	+	BAPC	100	≤ 0.19	0.29 (0.040-2.1)
					AMPC	12.5	≤ 0.19	2.4 (0.52-11)
					ABPC	100	≤ 0.19	5.0 (2.0-12)
	6086-P	9.63×10^9	8.50×10^9	+	BAPC	>100	12.5	>20
					AMPC	>100	12.5	>20
					ABPC	>100	12.5	>20

Table 6 Protecting effect in neutropenic mice

Organism		Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	Mucin	Drug*	MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
						10 ⁵	10 ⁶	
<i>E. coli</i>	C-11	8.0×10^8	3.0×10^8	—	BAPC	6.25	0.78	^{3.0} (1.80—5.01)
					AMPC	6.25	0.78	^{2.9} (1.32—6.17)
					ABPC	6.25	0.78	^{6.1} (3.28—11.4)
					BAPC	6.25	0.78	^{6.6} (3.02—14.4)
					AMPC	6.25	0.78	¹⁴ (5.27—45.6)
					ABPC	6.25	0.78	¹⁶ (5.91—32.2)

* Neutropenic mice by Cyclophosphamide

ま と め

ABPC のエステル型誘導体である経口ペニシリン剤 BAPC の細菌学的特徴を、ABPC、AMPC と比較検討した結果、*in vivo* 抗菌作用において、BAPC が優れていることが判明した。その原因は血清中濃度の高さであり、BAPC のピーク値は、AMPC の 2 倍、ABPC の 3 倍であった。この現象は、実験的白血球減少症マウスを用いた感染防禦効果においても確認された。

文 献

- 1) BODIN, N.; B. EKSTRÖM, U. FORSGREN, L. JALAR, L. MAGNI, C. RAMSAY & B. SJÖBERG: Bacampicillin: a new orally well-absorbed derivative of ampicillin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 8 : 518—525, 1975
- 2) ROZENCWEIG, M.; M. STAQUET & J. KLASTRSKY: Antibacterial activity and pharmacokinetics of bacampicillin and ampicillin. *Clin. Pharm. Ther.* 19:592—597, 1975
- 3) KLEIN, J. O. & M. FINLAND: Ampicillin activity *in vitro* and absorption and excretion in normal young men. *Am. J. Med. Sci.* 245:544—545, 1963
- 4) 石山俊次, 他: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. *Chemotherapy* 16 : 98—99, 1968
- 5) 小酒井望, 他: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について. *Chemotherapy* 22 : 1126—1128, 1974

SERUM LEVEL AND PROTECTING EFFECT AGAINST EXPERIMENTAL INFECTION WITH BACAMPICILLIN

KENJI KAWASAKI, KANEO SEKIGUCHI, MASATOSHI OGAWA,
AKIYOSHI TSUJI, YASUKO KANEKO and SACHIKO GOTO

Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine

Bacteriological examinations of bacampicillin, an esterized derivative of ABPC were performed in comparison with ABPC and AMPC.

Bacampicillin showed an excellent antibacterial effect *in vivo* because of its high serum level.

The peak serum level with bacampicillin was twice as high as AMPC, and three times as high as ABPC.

This excellent *in vivo* antibacterial effect was also confirmed by its protecting effect against experimental infection in neutropenic mice.