

## Panipenem/betamipronに関する細菌学的評価(第2報) panipenemの抗菌機作

大屋 哲・宇津井幸男・矢島 努・土門春樹・竹之内俊・  
福岡 隆・安食洋子・関根奈穂子・川田晴美・安田 紘  
三共株式会社・生物研究所\*

桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

Panipenem(PAPM)の作用機作に関して以下の検討を行った。

1)  $\beta$ -Lactamase安定性, 阻害作用, 誘導活性: PAPMはpenicillinase, cephalosporinase, cefuroximaseのいずれによってもほとんど加水分解を受けず, 高い安定性を示した。阻害作用はcefuroximase, cephalosporinaseに対して強く, グラム陰性菌のpenicillinaseに対しても阻害活性を示した。誘導活性はimipenem(IPM)と同等であった。

2) Penicillin-binding proteins(PBPs)に対する親和性: *Staphylococcus aureus*ではPBP-4, 1, 3, 2の順に高い親和性を示し, methicillin-resistant *S. aureus*のPBP-2'に対してもIPM, cefuzonam, flomoxefより高い親和性を示した。*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*ではPBP-1A, 1Bのほか, 2に高く, 3に低いカルバペネムに特徴的な親和性を示した。

3) 細菌形態に及ぼす影響: PAPMは*E. coli*および*P. aeruginosa*において菌体中央部が膨化した特徴的な形態を誘発し, セフェム系薬剤に特徴的なフィラメント化は見られなかった。MIC以上の濃度では速やかな溶菌像が観察された。

4) Postantibiotic effect (PAE): PAPMは*S. aureus*に対し120分以上, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*などのグラム陰性菌に対しても60分程度のPAEを示した。

5) ヒト血清, 白血球との協力的殺菌作用: 他の $\beta$ -ラクタム剤同様*E. coli*, *P. aeruginosa*に対し協力的殺菌作用を示した。

**Key words:** Panipenem/betamipron, カルバペネム,  $\beta$ -Lactamase, Postantibiotic effect, Penicillin-binding proteins

Panipenem/betamipron(PAPM/BP)はカルバペネム系抗生物質panipenem(PAPM)と腎毒性軽減作用を有するアミノ酸誘導体betamipron(BP)との1:1の合剤である。PAPMはグラム陽性, グラム陰性, 嫌気性菌に及ぶ広い抗菌スペクトルと強い殺菌作用を有する<sup>1)</sup>。これはカルバペネムが他の $\beta$ -ラクタム系薬剤と比べて異なる作用メカニズムを持つことによるものと考えられるので,  $\beta$ -lactamaseに対する安定性, 阻害作用, 標的酵素penicillin-binding proteins(PBPs)に対する親和性, postantibiotic effect(PAE), ヒト血清, 白血球との協力的殺菌作用などについて検討しPAPMの特徴を明らかにしたので報告する。

### 1. 実験材料および方法

#### 1. 使用薬剤および菌株

PAPMは三共研究所で合成した検体を使用した。以下の検体は市販品を使用した。Imipenem(IPM, 万有製薬), cephaloridine(CER, 塩野義製薬), cefsulodin(CFS, 武田薬品), cefotaxime(CTX, ヘキストジャパン), cefoperazone(CPZ, 富山化学), ceftizoxime(CZX, 藤沢薬品), ceftazidime(CAZ, 日本グラクソ), cefuzonam(CZON, 日本レタリー), penicillin G(PCG, 明治製薬), ampicillin(ABPC, 明治製薬), piperacillin(PIPC, 三共), latamoxef(LMOX, 塩野義製薬), flomoxef(FMOX, 塩野義製薬), methicillin(万有製薬)。使用菌株は三共研究所保有の標準株および臨床分離株を使用した。

## 2. MICの測定

日本化学療法学会標準法に従った<sup>2)</sup>。

3.  $\beta$ -Lactamaseの分離精製, 活性の測定

Fujii-Kuriyamaら<sup>3)</sup>, Ohyaら<sup>4)</sup>, Tajimaら<sup>5)6)</sup>の方法に従い $\beta$ -lactamaseの精製および活性測定を行った。 $\beta$ -Lactamase阻害活性はcephalosporinase, cefuroximaseに対しては50 $\mu$ M CERを, penicillinaseに対しては200 $\mu$ M PCGを基質として, 50mMリン酸緩衝液(pH7.5)中UV法で測定した。 $\beta$ -Lactamaseの誘導活性は以下の方法で行った。Brain heart infusion brothでの一夜培養液を同培地で20倍に希釈し, 37°Cで2時間振盪培養後, 薬剤を添加してさらに2時間振盪培養した。菌体を集菌し50mMリン酸緩衝液に浮遊させた後, 超音波で破碎して $\beta$ -lactamase活性をCERを基質として測定した。蛋白量はLowry法<sup>7)</sup>で測定した。

## 4. PAEの測定

Bundtzenら<sup>8)</sup>の方法により測定した。Trypticase soy broth (TSB) での一夜培養液を同培地で希釈して(10<sup>5</sup> CFU/ml), 37°Cで2時間振盪培養の後, 所定の濃度で薬剤を添加し, 菌と薬剤とを37°Cで30分接触させた。培養液をTSBで1000倍に希釈して薬剤を除去した後, 菌液をさらに37°Cで振盪培養して一定時間ごとに生菌数を寒天平板法によって測定した。1000倍希釈した時

の薬剤の影響をあらかじめ検討しておき, 菌増殖に影響である薬剤濃度を用いた。PAEは薬剤除去後, 菌数が10倍となるのに要する時間から対照(薬剤無処理)の菌数が10倍となるのに要する時間を引いた値(min)として求めた。

## 5. 血清, 白血球との協力的殺菌作用

血清との協力的殺菌作用の検討は15%ヒト血清含有 basal medium Eagle (BME) 中に1/2MICの薬剤および対数増殖期の菌液(1.5 $\times$ 10<sup>5</sup>CFU/ml)を加え, 所定の時間にサンプリングし, 寒天平板法により生菌数を調べるにより行った。血清および白血球との協力的殺菌作用は上記に4 $\times$ 10<sup>6</sup>ヒト白血球を添加して同様に検討した。

## II. 実験結果

1.  $\beta$ -Lactamase安定性, 阻害作用, 誘導活性

13菌種から分離精製した各種 $\beta$ -lactamaseに対するPAPMの安定性をTable 1に示す。PAPMは penicillinase, cephalosporinase, cefuroximaseのいずれによってもほとんど加水分解を受けず, 極めて高い安定性を示した。どの $\beta$ -lactamaseに対してもCERまたはPCGの値を100とした時の相対加水分解速度(relative  $V_{max}$ )は0.1以下であり, 特に加水分解を受け易い $\beta$ -lactamaseはなかった。

Table 1. Stability of panipenem against hydrolysis by  $\beta$ -lactamases purified from various species

$\beta$ -Lactamase producer	relative rate of hydrolysis ( $V_{max}$ ) <sup>a)</sup>							
	Panipenem	Imipenem	Cefotaxime	Ceftazoxime	Cefepime	Cephaloridine	Ampicillin	Penicillin G
<b>Cephalosporinase</b>								
<i>Citrobacter freundii</i> GN 7391	<0.1	<0.1	<0.1	0.7	0.1	100	0.1	N.D. <sup>b)</sup>
<i>Enterobacter cloacae</i> IFO 12937C	<0.1	<0.1	0.1	2.2	0.5	100	0.4	N.D.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 5-1089	<0.1	<0.1	<0.1	2.9	1.2	100	9.5	N.D.
<i>Morganella morganii</i> 1510	<0.1	<0.1	<0.1	1.5	2.4	100	0.6	N.D.
<i>Serratia marcescens</i> GN 7647	<0.1	<0.1	0.6	14	2.2	100	<0.1	N.D.
<b>Cefuroximase</b>								
<i>Proteus vulgaris</i> 1427	<0.1	<0.1	26	5.0	12	100	24	N.D.
<i>Proteus vulgaris</i> GN 7919	<0.1	<0.1	77	7.0	2.0	100	16	N.D.
<i>Clostridium symbiosum</i> T-1	<0.1	<0.1	23	43	2.5	100	<0.1	N.D.
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI 3025	<0.1	<0.1	5.4	7.3	6.0	100	11	N.D.
<i>Bacteroides bivius</i> GAI 1834	<0.1	<0.1	21	37	3.0	100	<0.1	N.D.
<b>Penicillinase</b>								
<i>Escherichia coli</i> 609	<0.1	<0.1	<0.1	10	N.D.	N.D.	850	100
<i>Serratia marcescens</i> GN 7647	<0.1	<0.1	<0.1	17	N.D.	N.D.	99	100
<i>Bacillus cereus</i> (Calbiochem)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	N.D.	N.D.	108	100

a) The hydrolysis of cephaloridine or penicillin G is given a value of 100.

b) not determined.

Table 2にはこれらの $\beta$ -lactamaseに対する阻害作用を示す。基質はcephalosporinase, cefuroximaseには50 $\mu$ M CERを, penicillinaseには200 $\mu$ M PCGを用いて測定した。PAPMはcefuroximaseに対して最も強力な阻害作用を示し、 $K_i$ 値は0.05 $\mu$ M以下であった。またcephalosporinaseに対してもセフェム系薬剤同様強力な阻害活性を示した。*Escherichia coli*, *Serratia marcescens*などのグラム陰性菌のpenicillinaseに対しては阻害作用を示したが、*Bacillus cereus*の酵素は全く阻害しな

かった。PAPMの $\beta$ -lactamase阻害様式は検討したどの酵素に対しても拮抗型であった。

グラム陰性菌の $\beta$ -lactamaseの誘導活性を *Enterobacter cloacae* No.1143, *Proteus vulgaris* No.1417 および *Pseudomonas aeruginosa* No.2397株で検討したところ、IPMと同様に1 $\mu$ g/mlの濃度で最も強い誘導活性を示した (Fig. 1)。これ以上の濃度では比活性はむしろ低下する傾向にあった。

Table 2. Inhibitory activity of panipenem against  $\beta$ -lactamases purified from various species.

$\beta$ -Lactamase producer	$K_i$ ( $\mu$ M) <sup>a)</sup>					
	Panipenem	Imipenem	Cefotaxime	Cefoperazone	Ceftizoxime	Ampicillin
<b>Cephalosporinase</b>						
<i>Citrobacter freundii</i> GN 7391	0.14	0.07	0.01	7.9	0.04	0.11
<i>Enterobacter cloacae</i> IFO 12937C	0.65	0.04	0.03	2.0	0.04	0.82
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 5-1089	7.3	6.1	0.11	3.9	0.41	0.70
<i>Morganella morganii</i> 1510	1.1	0.22	0.05	N.D. <sup>b)</sup>	0.10	0.34
<i>Serratia marcescens</i> GN 7647	0.051	0.46	1.1	N.D.	7.7	0.01
<b>Cefuroximase</b>						
<i>Proteus vulgaris</i> 1427	0.03	0.58	— <sup>c)</sup>	—	—	3.2
<i>Proteus vulgaris</i> GN 7919	0.05	0.37	—	—	>100	2.4
<i>Clostridium symbiosum</i> T-1	0.008	0.004	—	—	—	0.24
<b>Penicillinase</b>						
<i>Escherichia coli</i> 609	1.2	29	>50	>50	>50	—
<i>Serratia marcescens</i> GN 7647	5.1	42	N.D.	N.D.	N.D.	—
<i>Bacillus cereus</i> (Calbiochem)	>33	>33	N.D.	N.D.	>50	—

a) determined with cephaloridine as the substrate for cephalosporinases and cefuroximases, and with penicillin G as the substrate for penicillinases.

b) not determined.

c) no inhibitory activity because of a rapid hydrolysis of the inhibitor ( $K_i > 100 \mu$ M).

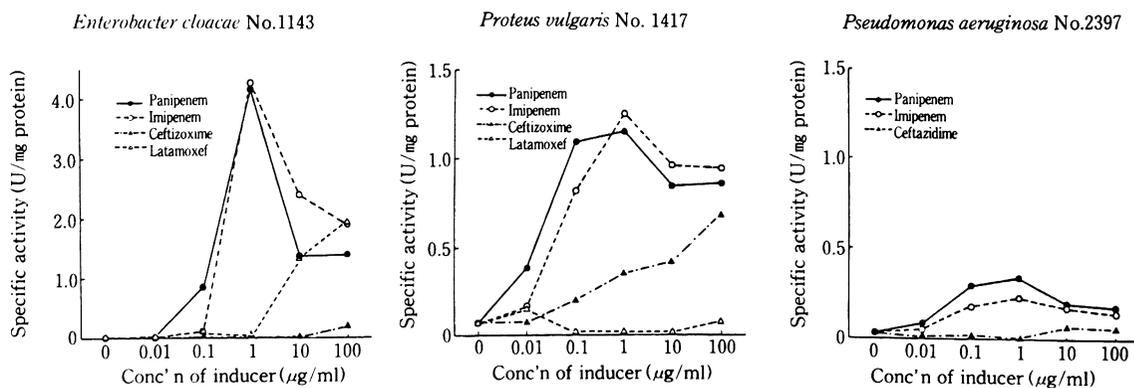


Fig. 1.  $\beta$ -Lactamase inducing activity of panipenem

## 2. Penicillin-binding proteins (PBPs) に対する親和性

*Staphylococcus aureus* No.123-1株はmethicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)臨床分離株であり、methicillinのMICは400 $\mu$ g/mlであった。本株のPBPに対するPAPMの親和性はPBP-4, 1, 3, 2, 2'の順に高かった (Table 3-1)。MRSA特有のPBP-2'に対しては他のPBPに比べ親和性が低かったが、IPM, CZON, FMOXはいずれも100 $\mu$ g/mlでは全く親和性を示さなかったのに対し、PAPMはある程度の親和性を示した。このことは本株の感受性が検討薬剤中PAPMに最も高い点と一致していた。本株からmethicillin感受性 (MIC=1.56 $\mu$ g/ml) 突然変異株No.123-1-2株を分離した。この株はPBP-2'を産生せず、どの薬剤に対しても感受性が上昇していた。また、各PBPsの薬剤感受性も概ね上昇していた。PAPMのPBPs親和性も親株と比べると高くなっていた (Table 3-2)。Methicillin感受性変異株に対するPAPMのPBPs親和性およびMICはIPMとはほぼ同等であったが、親株に対してはPAPMの方がより優れている傾向にあった。

Table 4には*E. coli* NIHJ JC-2株のPBPsに対する親和性を示す。PAPMはPBP-3以外のすべてのPBPsに対して IC<sub>50</sub>が 1 $\mu$ g/ml以下の高い親和性を示した。セ

フェム系薬剤と異なりPBP-2に対する親和性が高く、PBP-3に対して親和性が低いカルバペネムの特徴を示した。また分子量の小さいPBP-4, 5, 6に対する親和性も高かった。*P. aeruginosa* IID 1117株では*E. coli*と類似の親和性パターンを示したが、*E. coli*と異なる点はPBP-3に対してもかなり高い親和性を示したことであった (Table 5)。

## 3. 細菌形態に及ぼす影響

位相差顕微鏡による検討の結果 (Fig. 2), PAPMは*E. coli* No. 3229株 (MIC=0.2 $\mu$ g/ml) では0.025 $\mu$ g/ml以上でカルバペネム特有のspherical-formの形成を引き起こし (Fig. 3a), MIC以上の濃度では溶菌像が観察された。セフェム剤でしばしば見られるフィラメント化はどの濃度でも全く観察されなかった。*P. aeruginosa* No.1008株 (MIC=6.25 $\mu$ g/ml) でも*E. coli*の場合と同様にどの濃度でもフィラメント化を引き起こさなかった。0.78 $\mu$ g/ml以上の濃度で菌体中央部が膨化した特徴的な形態を誘発し (Fig. 3b), MIC以上の濃度では速やかな溶菌像が観察された。この結果は本剤がPBP-2に高い親和性を示し、PBP-3に対してはセフェム剤より低い結果と一致していた。

## 4. Postantibiotic effect (PAE)

グラム陽性菌に対するPAPMのPAEをTable 6に示

Table 3-1. Affinity of panipenem for penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* No. 123-1 (MRSA<sup>a)</sup>)

Antibiotic	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml) for [ <sup>14</sup> C] PCG-binding to PBP-					MIC ( $\mu$ g/ml)
	1	2'	2	3	4	
Panipenem	0.06	58	0.76	0.23	<0.025	6.25
Imipenem	0.25	>100	0.32	0.31	0.10	25
Cefuzonam	<0.025	>100	<0.025	0.35	0.06	100
Flomoxef	<0.025	>100	0.09	0.05	<0.025	12.5

a) MIC of methicillin = 400  $\mu$ g/ml.

Table 3-2. Affinity of panipenem for penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* No. 123-1-2, a methicillin-sensitive revertant of No. 123-1

Antibiotic	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml) for [ <sup>14</sup> C] PCG-binding to PBP-				MIC ( $\mu$ g/ml)
	1	2	3	4	
Panipenem	<0.025	0.05	0.10	<0.025	0.05
Imipenem	0.04	0.03	0.06	<0.025	0.025
Cefuzonam	0.03	0.04	0.30	4.1	0.78
Flomoxef	<0.025	0.03	<0.025	<0.025	0.39

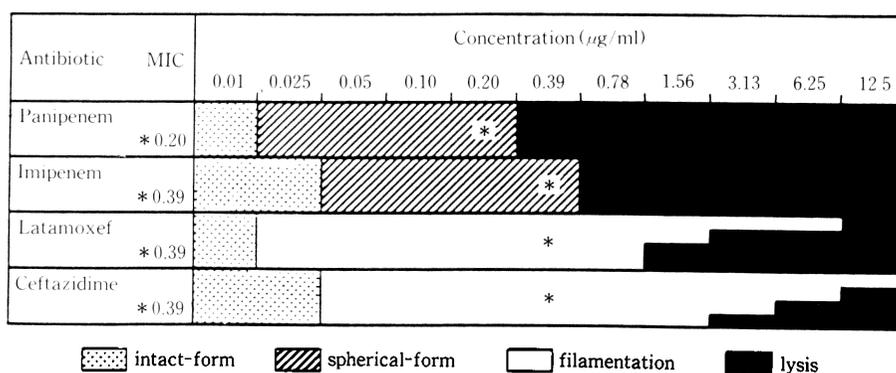
a) A revertant of No. 123-1 that is susceptible to 1.56  $\mu$ g/ml of methicillin.

Table 4. Affinity of panipenem for penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* NIHJ JC-2

Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) for [ <sup>14</sup> C] PCG-binding to PBP-						
		1A	1B	2	3	4	5	6
Panipenem	0.05	0.027	0.23	<0.025	3.61	0.08	0.18	0.33
Imipenem	0.10	0.082	0.73	<0.025	4.55	0.33	0.27	0.42
Cefotaxime	0.025	0.036	0.26	0.52	<0.025	8.9	>100	>100
Latamoxef	0.10	0.26	2.1	8.9	0.12	1.9	22	19
Ceftizoxime	0.012	0.027	0.15	32	<0.025	>100	>100	>100
Ceftazidime	0.20	0.26	1.2	13	<0.025	>100	>100	>100
Cefuzonam	0.10	0.051	0.48	0.30	<0.025	0.86	>100	>100

Table 5. Affinity of panipenem for penicillin-binding proteins of *Pseudomonas aeruginosa* IID 1117

Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) for [ <sup>14</sup> C] PCG-binding to PBP-						
		1A	1B	2	3	4	5	6
Panipenem	6.25	0.04	0.15	<0.025	0.05	0.20	0.44	1.9
Imipenem	1.56	0.03	0.09	<0.025	0.04	0.08	0.16	2.0
Ceftazidime	1.56	0.04	5.4	>100	<0.025	1.5	>100	>100
Piperacillin	3.13	0.03	1.3	>100	<0.025	3.1	62.5	>100

Fig. 2. Effect of panipenem on the morphology of *Escherichia coli* No. 3229

す。PAPMは検討したすべての*S. aureus*に対し2時間以上のPAEを示し、多くの株では3時間以上であった。PAEの長さはIPMのそれとほぼ等しかった。*E. faecalis*に対しては*S. aureus*に対してよりやや短いPAEを示したが、IPMと比べるとやはりやや長い傾向にあった。

グラム陰性菌では (Table 7), グラム陽性菌に対してよりPAEが短かったセフェム系薬剤とは異なり明ら

かにPAEを示した。*Klebsiella pneumoniae*に対しては2時間以上のPAEを示し、IPMよりやや長かった。*E. coli*に対してはIPMとほぼ同等のPAEを示した。*P. aeruginosa*では多くの株に対しIPMよりやや長いPAEを示す傾向にあった。

##### 5. ヒト血清, 白血球との協力的殺菌作用

ヒト血清共存下で1/2MICの薬剤を作用させた場合の

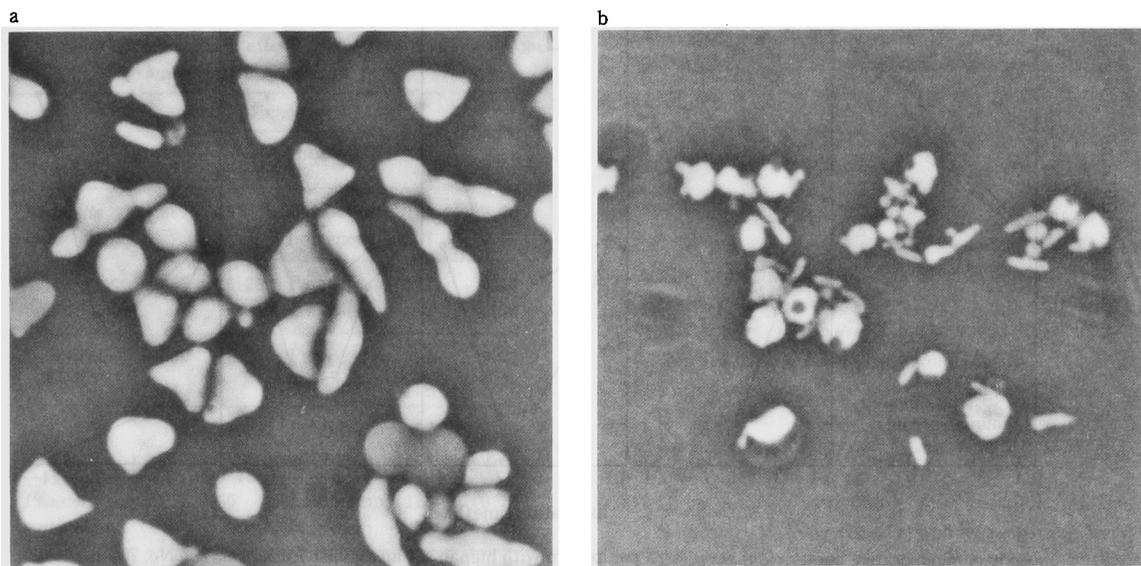


Fig. 3. Morphologies of *Escherichia coli* No.3229(a) and *Pseudomonas aeruginosa* No.1008(b) induced by exposing to panipenem at 1/2 MIC (0.1 and 3.13  $\mu\text{g/ml}$ , respectively) for 2h

Table 6. Postantibiotic effect of panipenem against gram-positive organisms.

Organism	Exposure		PAE (min)	MIC <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	Conc'n ( $\mu\text{g/ml}$ )	antibiotic			
<i>Staphylococcus aureus</i>	4-1039	25	Panipenem	251	3.13
			Imipenem	255	3.13
	4-1219	12.5	Panipenem	>255	6.25
			Imipenem	>270	6.25
	4-1234	12.5	Panipenem	270	3.13
			Imipenem	268	3.13
	4-1303	12.5	Panipenem	358	6.25
			Imipenem	364	12.5
	4-1310	25	Panipenem	128	6.25
			Imipenem	246	12.5
	5-1151	25	Panipenem	256	6.25
			Imipenem	300	6.25
<i>Enterococcus faecalis</i>	640	50	Panipenem	84	3.13
			Imipenem	72	0.78
	681	50	Panipenem	123	0.39
			Imipenem	105	0.39

a) medium : TSB ; inoculum size:  $10^6$  CFU/ml.

*E. coli* No.704株に対する殺菌作用をFig. 4に示す。PAPMはLMOXとともにIPM, CTXより強力な協力的殺菌作用を示した。ヒト血清および白血球との協力的殺菌作用では(Fig. 5), IPM, CTX, LMOXなどの対照薬剤とはほぼ同等の作用を示した。

### III. 考 察

新カルバペネム系抗生物質PAPMはグラム陽性菌、グラム陰性菌、嫌気性菌に至るまでの幅広い抗菌スペクトルと強い殺菌力を持つ薬剤である<sup>1)</sup>。本剤の優れた抗菌力は $\beta$ -ラクタム剤の標的であるpenicillin-binding proteins(PBPs)に対する高い親和性と、それぞれのPBPsに対する親和性パターンの特異性に由来するものと考えられる。*E. coli*, *P. aeruginosa*においてはセフェム系薬剤が高い親和性を示すPBP-3よりむしろmecillinamが選択的な親和性を示すことで知られるPBP-2に対し高い親和性を示した。これによりセフェム系薬剤でしばしば見られるフィラメント化を引き起こさずに溶菌に至らしめるものと考えられる。*S. aureus*に対しても高いPBP親和性を示し、MRSAのPBP-2'にもある程度の親和性を示したことは本剤が $\beta$ -ラクタム系薬剤の中ではMRSAに対する抗菌力が強い点と一致する。グラム陽性菌のみならずグラム陰性菌に対してもPAEを示したことは本剤のグラム陰性菌に対する殺菌力がセフェム剤より優れている理由の一つと考えられる。

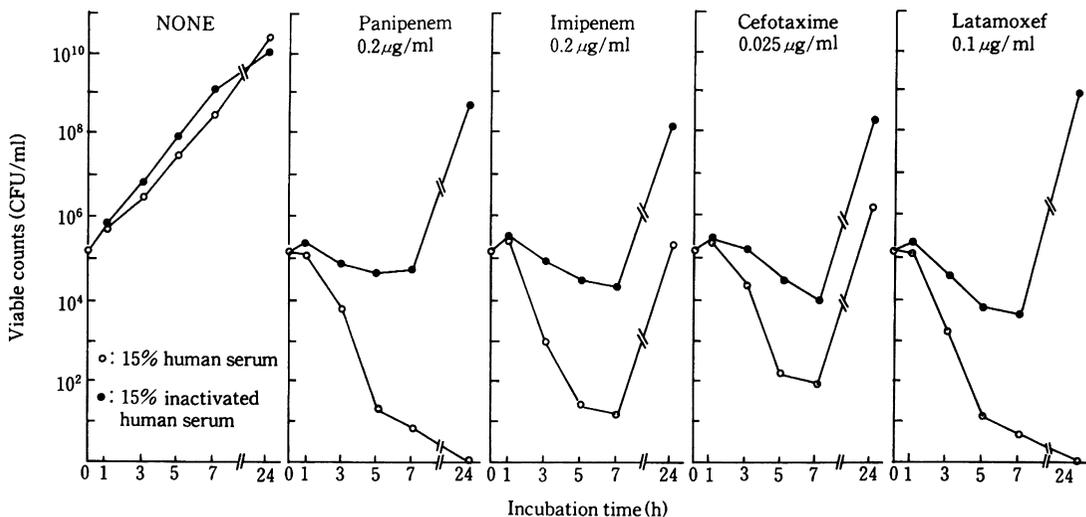
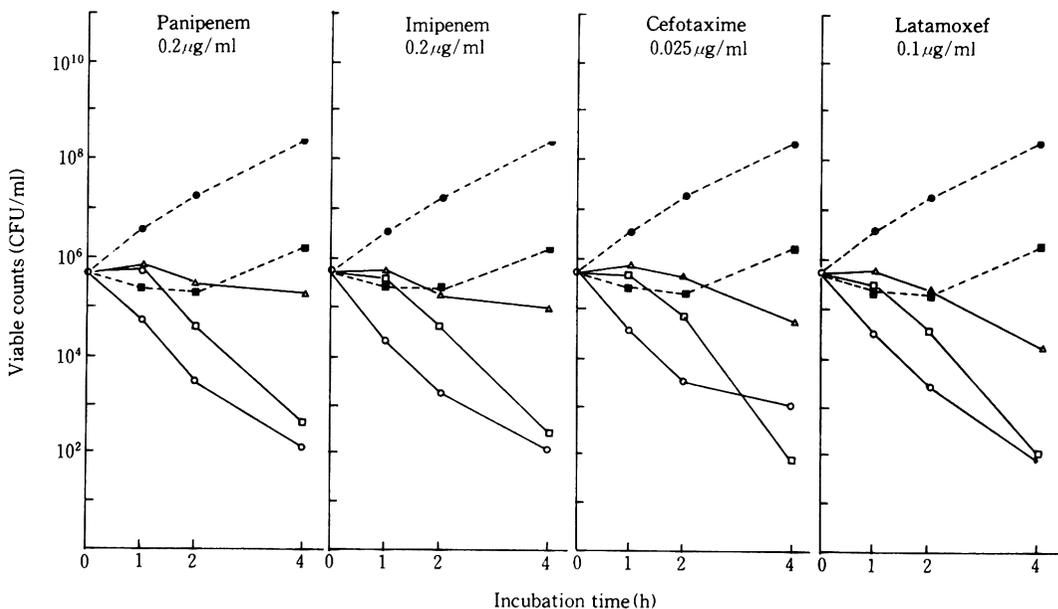


Fig. 4. Cooperative bactericidal activity of panipenem with human serum against *Escherichia coli* No. 704



●: None ■: Human serum + Human white blood cell △: Antibiotic alone □: Antibiotic + Human serum  
○: Antibiotic + Human serum + Human white blood cell

Fig. 5. Cooperative bactericidal activity of panipenem with human serum and white blood cells against *Escherichia coli* No. 704

Table 7. Postantibiotic effect of panipenem against gram-negative organisms

Organism	Exposure		PAE (min)	MIC <sup>a)</sup> ( $\mu$ g/ml)	
	Conc'n ( $\mu$ g/ml)	antibiotic			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	289	25	Panipenem	120	0.20
			Imipenem	108	0.39
	866	6.25	Panipenem	122	0.10
			Imipenem	90	0.20
<i>Escherichia coli</i>	609	6.25	Panipenem	93	0.39
			Imipenem	78	0.78
	704	6.25	Panipenem	75	0.10
			Imipenem	81	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2287	50	Panipenem	126	0.78
			Imipenem	78	0.78
	2396	50	Panipenem	54	1.56
			Imipenem	48	1.56
	3406	50	Panipenem	84	6.25
			Imipenem	66	1.56
	3473	100	Panipenem	81	12.5
			Imipenem	84	3.13
	3498	100	Panipenem	90	25
			Imipenem	96	6.25
	3520	50	Panipenem	63	12.5
			Imipenem	54	3.13
	3525	100	Panipenem	96	6.25
			Imipenem	81	3.13
	3586	50	Panipenem	75	1.56
			Imipenem	45	1.56
3589	50	Panipenem	78	3.13	
		Imipenem	78	1.56	
3596	50	Panipenem	66	3.13	
		Imipenem	60	0.78	

本剤に対する耐性株が少ないのは本剤が耐性株の産生する $\beta$ -lactamaseによる加水分解作用に対し高い安定性を保ち、かつ強い $\beta$ -lactamase阻害作用を有していることによるものと考えられる。本剤は多くの菌種に対しIPMと同等あるいはやや優れた抗菌力を示すが緑膿菌に対してはやや劣るMICを示す<sup>1)</sup>。しかし、PBPsに対する阻害活性はIPMとほぼ同等であったのでこの差は主に緑膿菌の外膜透過性の差によるものと思われる。カルバペネムは緑膿菌外膜のD2蛋白によって形成され

る透過孔を介して透過すると言われており<sup>9)10)</sup>、Gotohら<sup>11)</sup>はPAPMよりIPMの方がD2透過孔からの透過性が高いと報告している。また、これらカルバペネムが他剤との交差耐性が少ないのは他剤が利用できないD2透過孔を利用できることに由来するものと思われる。

#### 文 献

- 1) 宇津井幸男, 他: Panipenem/betamipronに関する細菌学的評価(第1報) *In vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 39(S-3): 83~101, 1991
- 2) 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
- 3) Fujii-Kuriyama Y, Yamamoto M, and Sugawara S: Purification and properties of  $\beta$ -lactamase from *Proteus morganii*. *J Bacteriol* 131: 726~734, 1977
- 4) Ohya S, Fujii-Kuriyama Y, Yamamoto M, and Sugawara S: Purification and some properties of  $\beta$ -lactamases from *Proteus rettgeri* and *Proteus inconstans*. *Microbiol Immunol* 24: 815~824, 1980
- 5) Tajima M, Masuyoshi S, Inoue M, Takenouchi Y, Sugawara S, and Mitsuhashi S: Purification and properties of  $\beta$ -lactamase from *Serratia marcescens*. *J Gen Microbiol* 126: 179~184, 1981
- 6) Tajima M, Takenouchi Y, Sugawara S, Inoue M, and Mitsuhashi S: Purification and properties of chromosomally mediated  $\beta$ -lactamase from *Citrobacter freundii* GN7391. *J Gen Microbiol* 121: 449~456, 1980
- 7) Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, and Randall R J: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265~275, 1951
- 8) Bundtzen R W, Gerber A U, Cohn D L, and Craig W A: Postantibiotic suppression of bacterial growth. *Rev Infect Dis* 3: 28~37, 1981
- 9) Trias J, and Nikaido H: Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 52~57, 1990
- 10) Trias J, and Nikaido H: Protein D2 channel of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane has a binding site for basic amino acids and peptides. *J Biol Chem* 265: 15680~15684, 1990
- 11) Gotoh N, and Nishino T: Decreases of the susceptibility to low molecular weight  $\beta$ -lactam antibiotics in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants: role of outer membrane protein D2 in their diffusion. *J Antimicrob Chemother* 25: 191~198, 1990

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF PANIPENEM/BETAMIPRON,  
A NEW PARENTERALLY ACTIVE CARBAPENEM  
II. MECHANISM OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PANIPENEM

Satoshi Ohya<sup>1)</sup>, Yukio Utsui<sup>1)</sup>, Tsutomu Yajima<sup>1)</sup>, Haruki Domon<sup>1)</sup>,  
Takashi Takenouchi<sup>1)</sup>, Takashi Fukuoka<sup>1)</sup>, Yoko Ajiki<sup>1)</sup>, Naoko  
Sekine<sup>1)</sup>, Harumi Kawada<sup>1)</sup>, Hiroshi Yasuda<sup>1)</sup>, and Shogo Kuwahara<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Biological Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

1-2-58 Hiromachi, Shinagawa-ku, Tokyo 140, Japan

<sup>2)</sup>Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

Mechanism of antibacterial activity of panipenem (PAPM), a new carbapenem antibiotic, was studied. PAPM showed a high stability against hydrolysis by  $\beta$ -lactamases of various classes, including penicillinases, cephalosporinases and cefuroximes. This antibiotic strongly inhibited cephalosporinases and cefuroximes of gram-negative species. It also inhibited penicillinases of gram-negative species, whereas it did not inhibit a penicillinase of gram-positive organisms. It showed a high affinity for penicillin-binding protein (PBP) 1A, 1B, 2, 4, 5, and 6 of *Escherichia coli*. It induced spherical cells from *E. coli* treated with 1/8 MIC or higher concentrations, and at the MIC or higher concentrations it immediately lysed cells. Affinity for PBPs and influence on the morphology of PAPM in *Pseudomonas aeruginosa* was similar to those of *E. coli*. PAPM showed postantibiotic effect not only against gram-positive organisms but also against gram-negative organisms. PAPM showed a cooperative bactericidal activity with human serum and white blood cells on *E. coli*.