

## Biapenemの細菌学的研究

柴原京子, 横田 健  
順天堂大学細菌学教室\*

Biapenem(BIPM)の *Staphylococcus aureus*(n=49), methicillin-resistant *S.aureus*(n=47), coagulase-negative staphylococci(n=43), *Streptococcus pyogenes*(n=41),  $\beta$ -streptococci(n=16), *Streptococcus pneumoniae*(n=13), *Enterococcus faecalis*(n=39), *Enterococcus faecium*(n=41), *Escherichia coli* CS2(R<sup>+</sup>)(n=47), *Klebsiella pneumoniae*(n=47), *Proteus mirabilis*(n=48), *Proteus vulgaris*(n=35), *Providencia rettgeri*(n=29), *Morganella morganii*(n=50), *Serratia marcescens*(n=50), *Enterobacter cloacae*(n=50), *Citrobacter freundii*(n=50), *Pseudomonas aeruginosa*(n=50), *Pseudomonas cepacia*(n=31), *Xanthomonas maltophilia*(n=48), *Acinetobacter calcoaceticus*(n=26), ampicillin resistant *Haemophilus influenzae*(n=18) および *Bacteroides fragilis*(n=38) の臨床分離株に対する MIC<sub>80</sub> はそれぞれ 0.39, 6.25, 3.13,  $\leq 0.013$ , 0.025,  $\leq 0.013$ , 6.25, >100, 0.2, 0.2, 0.39, 1.56, 6.25, 1.56, 0.78, 0.39, 0.39, 1.56, 6.25, >100, 0.78, 6.25 および 0.39  $\mu\text{g/ml}$  であった。BIPM は各種  $\beta$ -lactamase に対し強い一時阻害力(小さな ki 値)および imipenem(IPM) より強い不活化力を示した。BIPM は *S. aureus* の PBPI に対して、*E. coli*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* の PBP2 に対して高い親和性を示した。BIPM は血清補体との協力的殺菌作用は顕著ではないがマウス培養 M $\phi$  には 1/8MIC 以上の BIPM 存在下で *E. coli* の生細胞を良く食菌・消化した。BIPM は、ヒト dehydropeptidase-I に対し検討した carbapenem 剤の中で最も安定性が高かった。

**Key words**: Biapenem, PBP,  $\beta$ -lactamase, ヒト DHP-I

Biapenem(BIPM)は日本レダリー株式会社にて新たに開発された carbapenem 系  $\beta$ -lactam 剤である。本剤の抗菌力に関する基礎的成績を集積するため、その試験管内抗菌力、作用点、PBPs への結合親和性、 $\beta$ -lactam 不活化作用、補体または M $\phi$  との協力作用を検討した。また、dehydropeptidase-I (DHP-I) に対する安定性についても検討した。

## I. 材料および方法

### 1. 使用菌種

順天堂大学附属病院および東京都老人研究所附属病院内の中央検査室から分与された *Staphylococcus aureus* 49 株、methicillin-resistant *S. aureus*(MRSA) 47 株、coagulase-negative Staphylococci (CNS) 43 株、*Streptococcus pyogenes* 41 株、その他の  $\beta$ -Streptococci 16 株、*Streptococcus pneumoniae* 13 株、*Enterococcus faecalis* 39 株、*Enterococcus faecium* 41 株、*Escherichia coli* CS2(R<sup>+</sup>) 47 株、*Klebsiella pneumoniae* 47 株、*Proteus mirabilis* 48 株、*Proteus vulgaris* 35 株、*Providencia rettgeri* 29 株、*Morganella morganii* 50 株、*Serratia marcescens* 50 株、*Enterobacter cloacae* 50 株、*Citrobacter freundii* 50 株、

*Pseudomonas aeruginosa* 50 株、*Pseudomonas cepacia* 31 株、*Xanthomonas maltophilia* 48 株、*Acinetobacter calcoaceticus* 26 株、ampicillin(ABPC) resistant *Haemophilus influenzae* 18 株および *Bacteroides fragilis* 38 株を用いた。R 因子保有 *E. coli* は *E. coli* CS2 に順天堂大学附属病院中央検査室の臨床分離株から得られた 50 種類の R 因子を当教室で接合伝達したものである。

### 2. 使用薬剤

BIPM の純末は日本レダリー株式会社から分与された。対照薬剤として imipenem(IPM) は萬有製薬株式会社から、panipenem(PAPM) は三共株式会社から、meropenem(MEPM) は住友製薬株式会社から分与された純末を使用した。

### 3. 試験管内抗菌力の測定

各種細菌臨床分離株に対する BIPM, IPM, PAPM および MEPM の試験管内抗菌力は、化学療法学会の定める平板希釈法<sup>1)</sup>で測定した。すなわち被検菌を 5 ml の L-broth 中で一夜振盪培養し、グラム陽性菌は 100 倍に、グラム陰性菌は 1,000 倍に希釈し、接種菌液として使用した。ただし、*S. pyogenes* および  $\beta$ -Streptococci は

\*〒113 東京都文京区本郷2-1-1

HI broth(DIFCO), *H. influenzae* は 5% Fildes enrichment 加 HIbroth, *B. fragilis* は GAM broth(日水)で前培養した。*S. pneumoniae* の接種菌液は血液平板上に一夜培養した集落をかきとり, HI broth中に懸濁し, 660 nmの波長でO.D.が0.5になるように調製しこれを100倍に希釈して接種菌液とした。

最小発育阻止濃度(MIC)の測定は2倍希釈の薬剤を含む Mueller-Hinton 寒天平板上にマイクロプランター(佐久間製作所)を使用して接種し, 37℃, 一夜培養後の菌増殖の有無から判定した。ただし, *S. pyogenes* および *S. pneumoniae* には血液寒天を *H. influenzae* には 5% Fildes

enrichment加 HI寒天を使用した。*B. fragilis* の MIC測定は GAM寒天を使用し, ガスパック法(BBL)で37℃, 一夜嫌気培養した。

#### 4. 作用点 PBP<sub>s</sub> に対する結合親和性の検討

Sprattの方法<sup>2)</sup>を改良した著者らの方法で行った。すなわち, *S. aureus* 209P, *S. aureus* 108-1(MRSA), *E. coli* NIHJ JC-2, *S. marcescens* 13 および *P. aeruginosa* PAO1 の対数増殖期後半を集め, BRANSON sonifir で菌体を破碎し, その10,000×g, 15分間遠心上清を超速心して, 膜画分を集めた。BIPM と IPM との PBP<sub>s</sub> に対する結合親和性は, 競合結合法で検討した。すなわち最終濃度 0.1~

Table 1-1. Antibacterial activity of biapenem against gram-positive clinical isolates

		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>S. aureus</i> (49)	Biapenem	≦ 0.013 ~ 25	0.1	0.39	0.78
	Imipenem	≦ 0.013 ~ 50	0.025	0.1	0.39
	Panipenem	0.025 ~ 50	0.05	0.2	0.78
	Meropenem	0.05 ~ 25	0.2	0.78	3.13
MRSA (47)	Biapenem	0.05 ~ 100	0.39	6.25	25
	Imipenem	0.025 ~ 100	6.25	25	50
	Panipenem	0.05 ~ 100	6.25	25	50
	Meropenem	0.2 ~ 50	3.13	12.5	25
CNS (43)	Biapenem	≦ 0.013 ~ >100	0.39	3.13	12.5
	Imipenem	≦ 0.013 ~ >100	0.1	25	100
	Panipenem	≦ 0.013 ~ >100	0.2	25	100
	Meropenem	≦ 0.013 ~ >100	0.78	12.5	100
<i>S. pneumoniae</i> (13)	Biapenem	≦ 0.013 ~ 0.05	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Imipenem	≦ 0.013 ~ ≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Panipenem	≦ 0.013 ~ ≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Meropenem	≦ 0.013 ~ 0.05	≦ 0.013	0.025	0.05
<i>S. pyogenes</i> (41)	Biapenem	≦ 0.013 ~ 0.1	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Imipenem	≦ 0.013 ~ 0.05	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Panipenem	≦ 0.013 ~ 0.05	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Meropenem	≦ 0.013 ~ 0.025	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
β-streptococci (16)	Biapenem	≦ 0.013 ~ 0.05	0.025	0.025	0.025
	Imipenem	≦ 0.013 ~ ≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Panipenem	≦ 0.013 ~ ≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013	≦ 0.013
	Meropenem	≦ 0.013 ~ 0.05	0.05	0.05	0.05
<i>E. faecalis</i> (39)	Biapenem	0.025 ~ 12.5	6.25	6.25	6.25
	Imipenem	0.05 ~ 1.56	0.78	1.56	1.56
	Panipenem	0.1 ~ 3.13	1.56	1.56	1.56
	Meropenem	0.39 ~ 12.5	6.25	6.25	6.25
<i>E. faecium</i> (41)	Biapenem	0.78 ~ >100	>100	>100	>100
	Imipenem	0.1 ~ >100	100	>100	>100
	Panipenem	0.2 ~ >100	>100	>100	>100
	Meropenem	12.5 ~ >100	>100	>100	>100

12.5  $\mu\text{g/ml}$  の BIPM または IPM と 30°C 10 分間反応させた膜画分に  $^{14}\text{C}$ -PCG (50  $\mu\text{Ci/ml}$ : AMERSMAM) をさらに反応させ、10% acrylamide 0.06% bisacrylamide (ただしブドウ球菌には 8% acrylamide) 平板電気泳動にかけた後、蛋白を固定し増感剤を浸み込ませ、乾燥して KODAK X-O mat film と密着し、-80°C 20 日間感光させて蛍光オートラジオグラフィーを行った。

#### 5. $\beta$ -lactamase 不活化作用

I a 型および I c 型 cephalosporinase (CEPase) はそれぞれ *E. cloacae* Nek 39 および *P. vulgaris* 33 を、II b, III (TEM), IV b および V 型 penicillinase (PCase) はそれぞれ *P. mirabilis* JY10, *E. coli* CS2/RK1, *K. pneumoniae* 42 および *E. coli*

CS2/RE45 の対数増殖期後期の細胞を集め、BRANSON sonifir で菌体を破碎し、その 100,000  $\times$  g, 30 分間遠心上清を粗酵素液とした。

一時阻害作用は、PCase 型酵素には ABPC を CEPase 型酵素には cephaloridine を基質とし、acidometry 法<sup>3)</sup>によりその分解を約 50% 阻害する各薬剤濃度を  $K_i$  値として Lineweaver-Burk plot から算出した。BIPM の  $\beta$ -lactamase 永久不活化作用は Fisher ら<sup>4)</sup> による希釈法により検討した。すなわち約 100 単位/0.1 ml の  $\beta$ -lactamase 粗酵素液と 0.01 M リン酸緩衝液 (pH7.0) に 0.5~10  $\mu\text{g}$ /0.1 ml になるよう溶解した各薬剤を試験管中で混合し、30°C 50 分間保温した後基質溶液で 200 倍に希釈、さらに 30°C 30 分

Table 1-2. Antibacterial activity of biapenem against gram-negative clinical isolates

			range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>E. coli</i> CS2 (R <sup>+</sup> )(47)	Biapenem		0.05~0.39	0.1	0.2	0.39
	Imipenem		0.1~0.39	0.39	0.39	0.39
	Panipenem		0.1~0.39	0.2	0.2	0.2
	Meropenem		≤ 0.013~0.1	0.05	0.05	0.05
<i>K. pneumoniae</i> (R <sup>+</sup> )(47)	Biapenem		0.05~1.56	0.1	0.2	0.78
	Imipenem		0.1~1.56	0.1	0.2	0.2
	Panipenem		0.1~1.56	0.1	0.2	0.2
	Meropenem		0.025~0.78	0.025	0.025	0.025
<i>P. mirabilis</i> (48)	Biapenem		0.05~1.56	0.2	0.39	0.78
	Imipenem		0.2~3.13	0.78	1.56	3.13
	Panipenem		0.2~1.56	0.78	0.78	1.56
	Meropenem		≤ 0.013~0.05	0.05	0.05	0.05
<i>P. vulgaris</i> (35)	Biapenem		0.05~3.13	0.78	1.56	1.56
	Imipenem		0.2~6.25	1.56	1.56	3.13
	Panipenem		0.2~3.13	0.78	1.56	1.56
	Meropenem		0.025~0.1	0.05	0.1	0.1
<i>P. rettgeri</i> (29)	Biapenem		0.2~12.5	0.78	6.25	12.5
	Imipenem		0.39~6.25	1.56	6.25	6.25
	Panipenem		0.39~25	1.56	6.25	25
	Meropenem		0.05~3.13	0.39	3.13	3.13
<i>M. morgani</i> (50)	Biapenem		0.05~>100	1.56	1.56	1.56
	Imipenem		0.05~3.13	1.56	1.56	3.13
	Panipenem		0.1~3.13	1.56	1.56	1.56
<i>S. marcescens</i> (50)	Biapenem		0.1~12.5	0.39	0.78	6.25
	Imipenem		0.1~12.5	0.39	0.78	6.25
	Panipenem		0.1~25	0.2	1.56	12.5
	Meropenem		0.025~25	0.05	1.56	6.25
<i>E. cloacae</i> (50)	Biapenem		0.05~1.56	0.2	0.39	0.78
	Imipenem		0.1~3.13	0.39	0.78	0.78
	Panipenem		0.1~3.13	0.39	0.39	0.78
	Meropenem		≤ 0.013~6.25	0.1	0.2	0.39
<i>C. freundii</i> (50)	Biapenem		0.05~0.78	0.2	0.39	0.78
	Imipenem		0.2~0.78	0.2	0.39	0.39
	Panipenem		0.1~0.78	0.2	0.2	0.78
	Meropenem		≤ 0.013~0.78	0.025	0.1	0.39

間反応させた後、残存酵素活性を macroiodometry 法で測定した。

6. BIPM と血清補体またはマウス培養 Mφ との協力的殺菌作用の検討

*E. coli* NIHJ JC-2 を 10 ml の L-broth 中で一夜 37°C 振盪培養した。これを新鮮 L-broth で約  $1 \times 10^5$  cells/ml になるよう希釈した。1 本目は、コントロールとして接種菌のみを、2 本目には増殖に影響を与えない最高濃度のモルモット補体 0.75 units/ml と 20% ヒト非働化血清を、3 本目には、5 時間後の生菌数が接種菌量とほぼ同じになる BIPM (0.023  $\mu$ g/ml) を、4 本目には BIPM と補体およびヒト非働化血清を加え 37°C で振盪培養を続けた。培養開始後、それぞれの試験管から 1, 3, 5 および 24 時間後に一部をとり適当に希釈した後、HI 寒天に 0.1 ml 塗布し、生残菌数を測定した。

Mφ は ICR5 週齢マウスの腹腔内を 10 ml の Saline G で洗って採取し、円形カバースリップを沈めた CORNING multi dish に 10% fetal calf serum 加 F12 培地 (日水製

薬) に浮遊した Mφ を  $10^4$  cells/well ずつ培養した。これを著者らの方法で L-CM<sup>5)</sup> 培地で活性化し、一夜 L-broth 中で振盪培養した *E. coli* NIHJ JC-2 を  $1 \times 10^5$  /well 感染させた。一部 well には 1~1/16 MIC の BIPM を加えた。37°C 5% CO<sub>2</sub> 存在下で培養を続け、5 時間後にカバースリップを取り出し、軽く Saline G で洗った後、メタノール固定、Giemsa 染色して光顕像を観察した。

7. BIPM のヒト DHP-I に対する安定性

基質液として BIPM, PAMP, MEPM, IPM および IPM/CS を 50 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH7.6) に 0.1 mg/ml 濃度になるように調製した。この薬剤液 0.5 ml とヒト DHP-I 10  $\mu$ l を 37°C で 0, 30, 60, 90, 120, 150 および 180 分間反応させた。反応後 80°C 5 分間加熱して酵素を失活させ、残存薬剤量を bioassay により測定した。なお、検定菌として *Micrococcus luteus* ATCC 9341 を使用した。

## II. 成 績

1. BIPM の試験管内抗菌力

BIPM の試験管内抗菌力を 23 菌種の 13~50 株の臨床

Table 1-3. Anti-bacterial activity of biapenem against gram-negative clinical isolates

		range	MIC <sub>20</sub>	MIC <sub>40</sub>	MIC <sub>80</sub>
<i>P. aeruginosa</i> (50)	Biapenem	0.2~25	0.78	1.56	1.56
	Imipenem	0.78~25	1.56	3.13	3.13
	Panipenem	0.78~50	6.25	12.5	12.5
	Meropenem	0.1~>100	0.78	1.56	1.56
<i>P. cepacia</i> (31)	Biapenem	1.56~6.25	3.13	6.25	6.25
	Imipenem	3.13~6.25	6.25	6.25	6.25
	Panipenem	12.5~25	12.5	25	25
	Meropenem	0.39~1.56	1.56	1.56	1.56
<i>X. maltophilia</i> (48)	Biapenem	1.56~>100	>100	>100	>100
	Imipenem	0.2~>100	>100	>100	>100
	Panipenem	1.56~>100	>100	>100	>100
	Meropenem	12.5~>100	>100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> (26)	Biapenem	0.1~12.5	0.39	0.78	0.78
	Imipenem	0.2~3.13	0.2	0.39	0.78
	Panipenem	0.2~25	0.2	1.56	1.56
	Meropenem	0.2~12.5	0.78	0.78	1.56
<i>H. influenzae</i> (18)	Biapenem	0.2~12.5	1.56	6.25	6.25
	Imipenem	0.39~1.56	1.56	1.56	1.56
	Panipenem	0.2~1.56	0.39	0.78	1.56
	Meropenem	$\leq 0.013 \sim \leq 0.013$	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$
<i>B. fragilis</i> (38)	Biapenem	0.2~1.56	0.2	0.39	1.56
	Imipenem	0.2~6.25	0.78	0.78	1.56
	Panipenem	0.2~6.25	0.78	1.56	1.56
	Meropenem	0.05 1.56	0.2	0.39	1.56

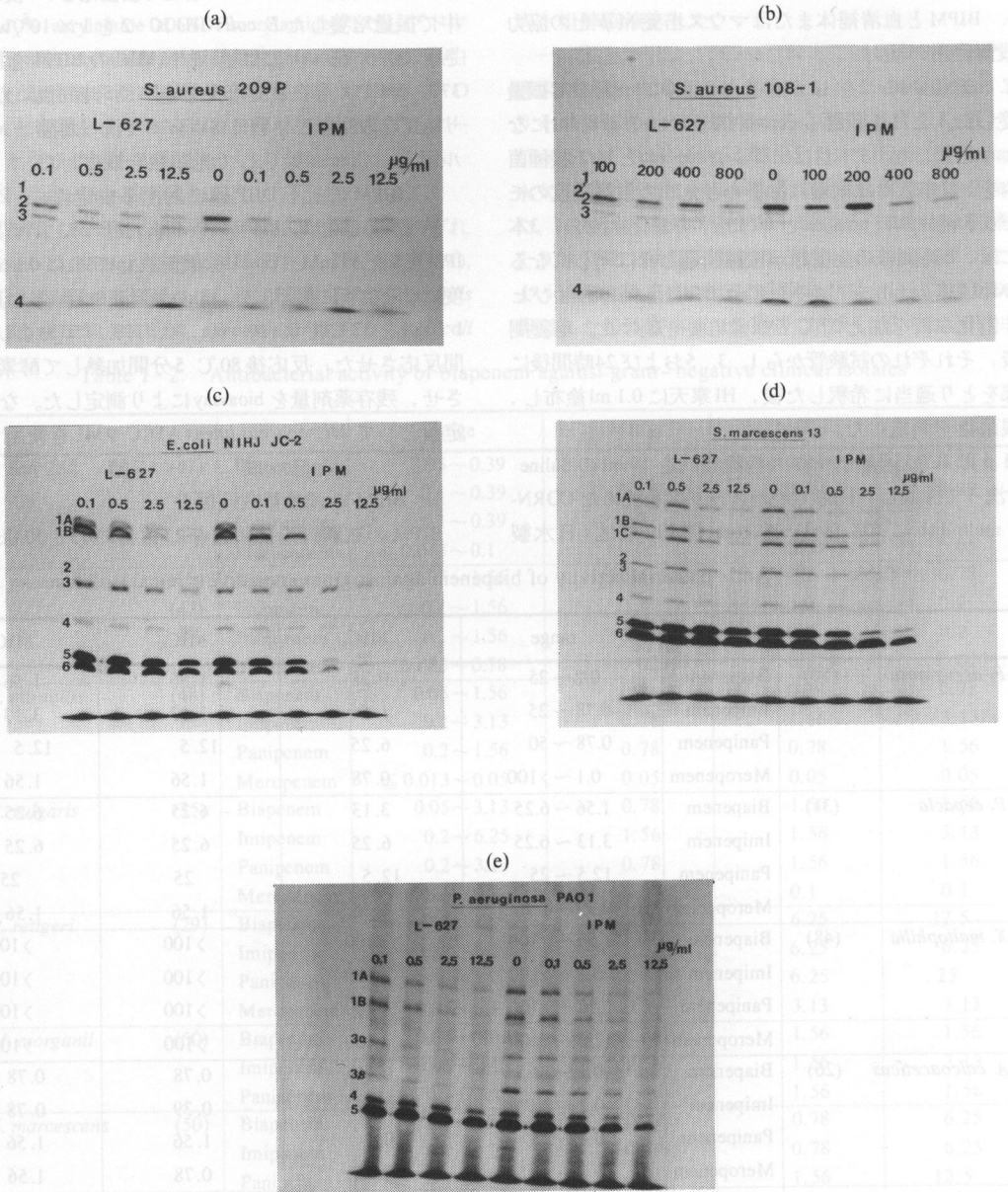


Fig. 1 Competition of biapenem and imipenem for penicillin-binding proteins.

分離株に対し、IPM、PAPMおよびMEPMのそれと比較検討した (Table 1-1, 1-2, 1-3)

BIPMの *S. aureus* 49株に対する抗菌力は MIC<sub>80</sub>が 0.39 μg/mlでMEPMより2管優れていたが、IPMおよびPAPMより劣った。MRSA 47株に対してはBIPMのMIC<sub>80</sub>は 6.25 μg/mlでMEPMより1管、IPMおよびPAPMより2管優れていた。CNS 43株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 31.3 μg/mlでMEPMより2管、IPMおよびPAPMより3管優れていた。*S. pyogenes* 41株および *S. pneumoniae* 13株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は共に 0.013 μg/ml以下で、比較薬剤同様強い抗菌力を示した。 $\beta$ -Streptococci 16株に対してはIPMおよびPAPMより劣ったが、BIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.025 μg/mlと低かった。*E. faecalis* 39株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 6.25 μg/mlでMEPMと同程度であったが、IPMおよびPAPMよりも2管劣った。*E. faecium* 41株に対しては比較薬剤同様、そのMIC<sub>80</sub>は 100 μg/ml以上で抗菌力は弱かった。

グラム陰性菌に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は、*E. coli* CS2 (R<sup>+</sup>) 47株に対しては 0.2 μg/mlでIPMより1管優れていたが、PAPMと同程度であり、MEPMが最も優れていた。*K. pneumoniae* 47株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.2 μg/mlでMEPMが最も強い抗菌力を示したが、IPMおよびPAPMと同程度であった。*P. mirabilis* 48株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.39 μg/mlでMEPMより劣ったが、PAPMおよびIPMより1~2管優れていた。*P. vulgaris* 35株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 1.56 μg/mlでMEPMより劣ったが、IPMおよびPAPMと同程度であった。*P. rettgeri* 29株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 6.25 μg/mlでMEPMより1管劣ったが、IPMおよびPAPMと同程度であった。*M. morgani* 50株に対しても本剤のMIC<sub>80</sub>は 1.56 μg/mlでIPMおよびPAPMと同程度であった。*S. marcescens* 50株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.78 μg/mlでIPMと同程度であ

たが、PAPMおよびMEPMより1管劣った。*E. cloacae* 50株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.39 μg/mlでIPMより1管優れておりPAPMと同等であったが、MEPMより劣った。*C. freundii* 50株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.39 μg/mlでIPMと同程度であった。*P. aeruginosa* 50株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 1.56 μg/mlでIPMおよびPAPMより優れ、MEPMと同程度であった。*P. cepacia* 31株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 6.25 μg/mlでMEPMより2管劣ったがIPMと同程度でPAPMより2管優れていた。*X. maltophilia* 48株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 100 μg/ml以上で比較薬剤同様抗菌力は弱かった。*A. calcoaceticus* 26株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.78 μg/mlでIPMより若干劣ったが、MEPMと同程度であり、PAPMより優れていた。ABPC resistant *H. influenzae* 18株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 6.25 μg/mlで比較薬剤中最も弱い抗菌力であった。*B. fragilis* 38株に対するBIPMのMIC<sub>80</sub>は 0.39 μg/mlでMEPMと同程度でありIPMおよびPAPMより1~2管優れていた。

## 2. BIPMの作用点PBP'sに対する結合親和性

BIPMは Fig. 1-aのとおり、*S. aureus* 209PのPBP's 1に対する結合親和性が高く、その強さはIPMと同程度であったが、PBP 3および2に対してはIPMより若干劣った。BIPMは Fig. 1-bのとおり、*S. aureus* 108-1(MRSA)に対する結合親和性は、PBP3に対しIPMより低かったがPBP 2'に対しては、若干高かった。*E. coli* NIHJ JC-2に対するBIPMの結合親和性はPBP 2対して最も強く、PBP 1A, 1Bsの順に強かった。その結合親和性の強さはIPMと同程度であったがPBP 1Bsに対してはBIPMの方が強かった (Fig. 1-c)。Fig. 1-dのとおり、*S. marcescens*に対するbiapenemの結合親和性はPBP 2に対して最も強く、その強さはIPMと同程度であった。*P. aeruginosa*に対してもBIPMはPBP 2に対する結合親和性が強く、IPMよりもPBP 3βに対して強い親和性を示した (Fig. 1-e)。

Table 2. Ki values of biapenem and others against various  $\beta$ -lactamase

$\beta$ -lactamase			Ki ( $\mu$ M)			
RICHMOND	Mitsuhashi & Yamagishi	Source	Biapenem	IPM	SBT	CVA
I a	CEPase	<i>E. cloacae</i> Nek39	0.052	0.14	78.3	496
I c	CEPase	<i>P. vulgaris</i> 33	0.14	0.16	1.52	0.53
II b		<i>P. mirabilis</i> JY10	1.57	8.47	0.41	0.089
III	PCase I	<i>E. coli</i> CSH2(RK1)	0.12	2.30	0.69	0.30
IV b		<i>K. pneumoniae</i> 42	0.60	1.38	0.96	0.26
V a	PCase II	<i>E. coli</i> CSH2(RE45)	0.81	4.13	32.8	12.5

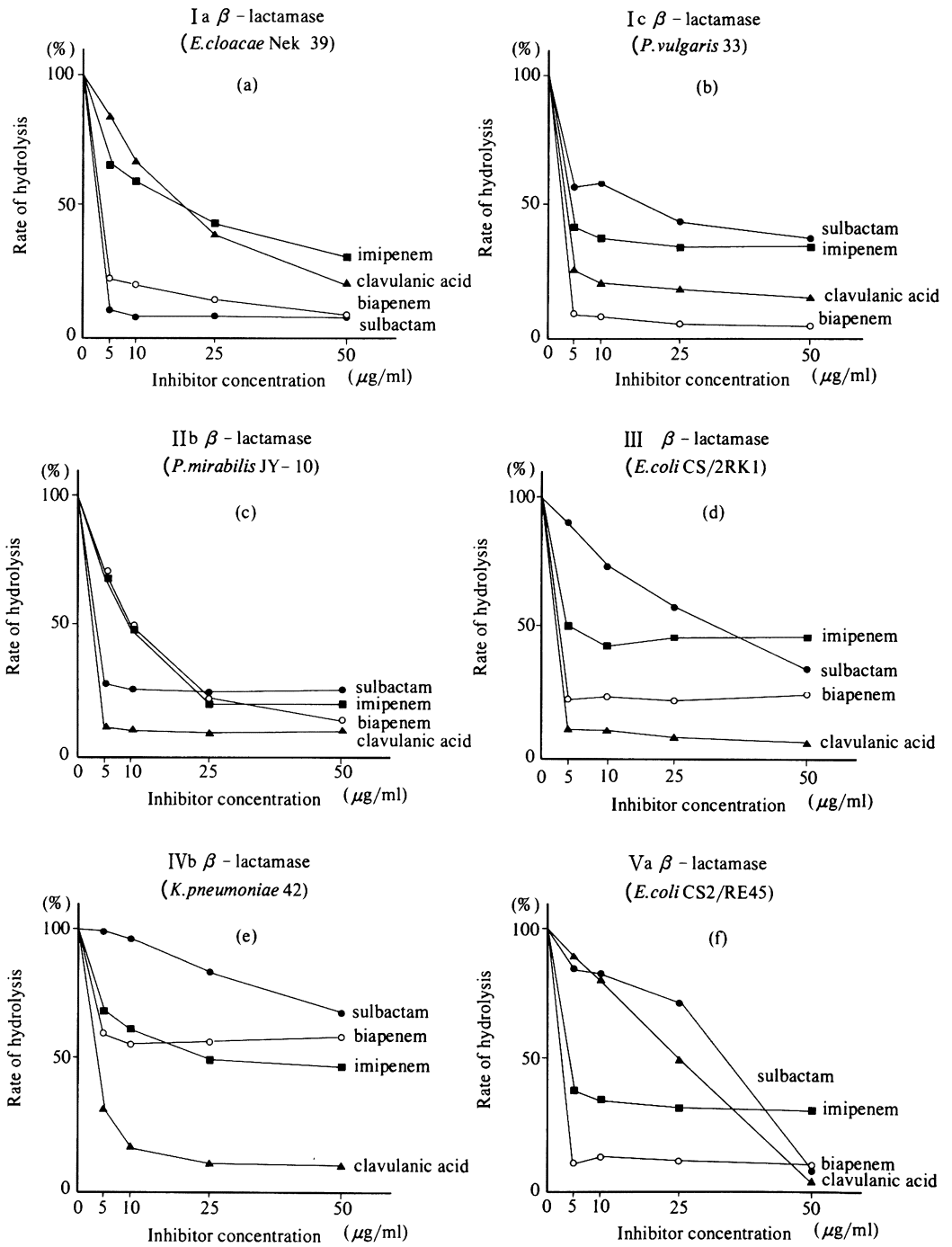


Fig. 2 Permanent inactivation of the various types of  $\beta$  - lactamases by biapenem and others.

### 3. $\beta$ -lactamase 不活化作用

BIPMの各種 $\beta$ -lactamaseに対する一時阻害力を $K_i$ 値として subactam(SBT), clavulanic acid(CVA) および IPM と比較すると Table 2のごとく、BIPMは平均して小さな $K_i$ 値を示した。BIPMの $\beta$ -lactamaseに対する永久~半永久不活化作用をFisherの方法でSBT, CVAおよびIPMと比較するとFig. 2-aのごとく、SBTとともに極めて強い不活化作用を示した。Fig. 2-bのごとく、BIPMはType I c  $\beta$ -lactamaseに対しても最も強い不活化作用を示した。Type II b  $\beta$ -lactamaseに対してもFig. 2-cのごとくBIPMは強い不活化作用を示したが、低濃度における不活化力はCVAとSBTがIPMおよびBIPMより強かった。Type IIIの $\beta$ -lactamaseに対してはFig. 2-dのごとく、CVAの不活化力が最も強く次いでBIPM, SBT, IPMの順であった。*K. pneumoniae*が染色体性に産生するType IV b  $\beta$ -lactamaseに対してはFig. 2-eのごとく、CVAが最も強く、BIPMはIPMと同程度であった。Type V aの $\beta$ -lactamaseにはFig. 2-fのごとくBIPMが最も強い不活化力を示した。

### 4. 血清補体またはマウス培養中M $\phi$ との協力的食菌

### 殺菌作用

Fig. 3のごとく、本条件下においては血清補体とBIPMの協力的殺菌作用は認められなかった。

マウス培養M $\phi$ に*E. coli* NIHJ JC-2を食菌させると、培養M $\phi$ の殺菌力が生体内ほど強くないので、Fig. 4-aのごとく食菌された*E. coli*が細胞内で分裂し、遊出する。これに1 MICのBIPMを共存させるとFig. 4-bのごとく薬剤の影響で球状になった*E. coli*細胞が食菌消化され、食空胞が観察された。1/2 MICおよび1/4 MIC存在下でも食菌消化されている像が観察され(Fig. 4-c, d)、1/8 MIC存在下ではM $\phi$ の殺菌力と菌の増殖力とがほぼ平行化する(Fig. 4-e)。1/16 MICになると、菌の増殖力の方がやや優れた(Fig. 4-f)。

### 5. BIPMのヒトDHP-Iに対する安定性

Fig. 5のごとく、IPMは速やかに加水分解された。BIPMはMEPMや、安定化剤を加えたIPM/CSよりもはるかに安定であった。

## III. 考 察

グラム陽性菌に対し、BIPMはCNSに対して比較薬剤中最も強い抗菌力を示した。特にMRSAに対してはIPM

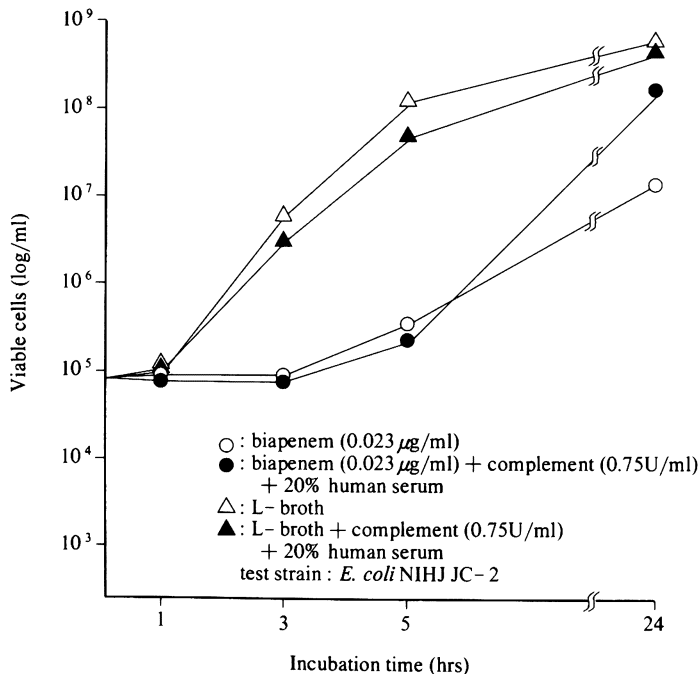


Fig. 3. Influence of biapenem(0.023 µg/ml) on the bactericidal effect of serum complement of *E. coli* NIHJ JC-2



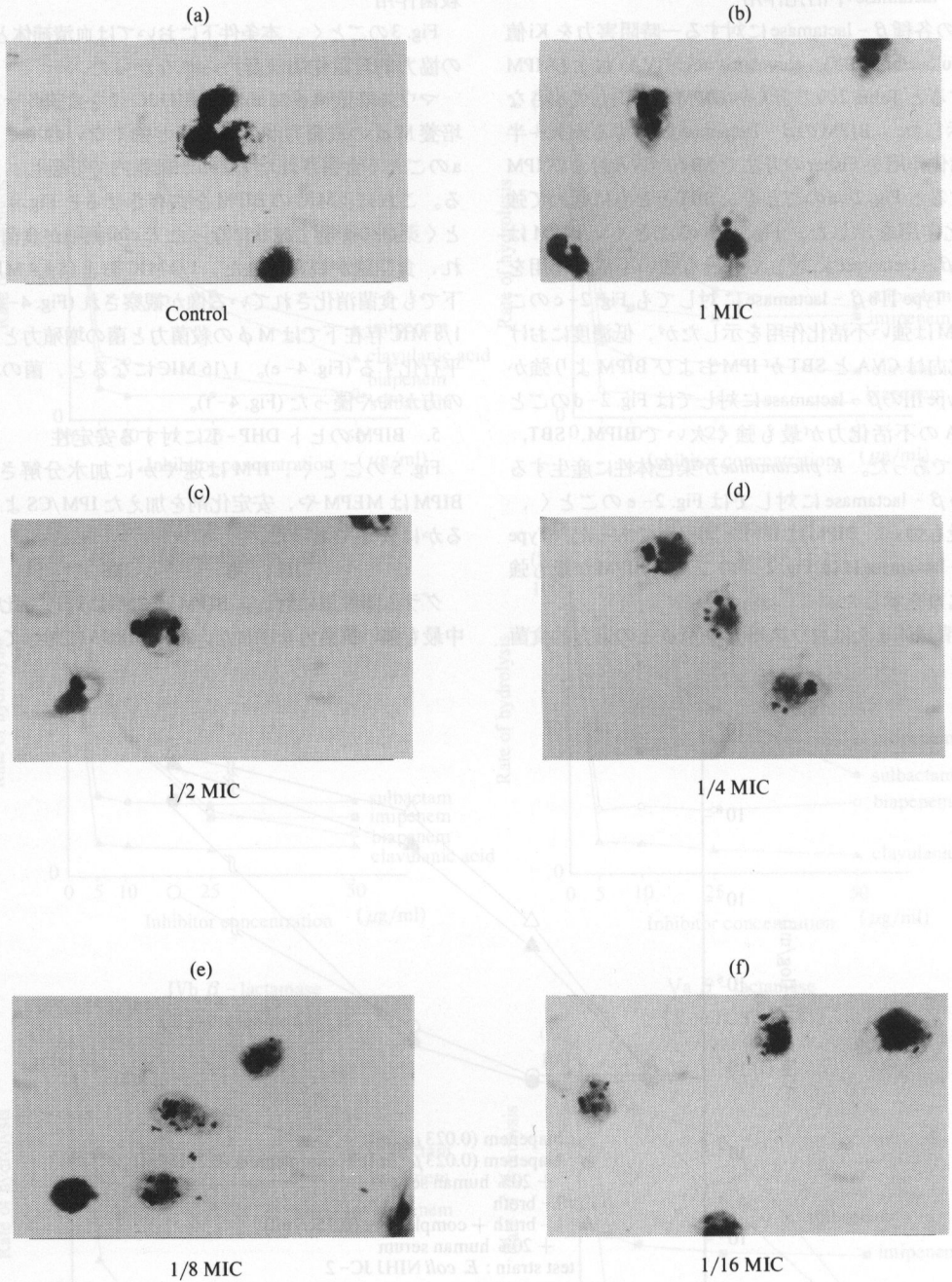


Fig. 4 Phagocytosis of *E. coli* NIMJ JC-2 by mouse cultured macrophage in the presence of 1~1/16MIC of biapenem

Fig. 2 Permanent inactivation of the various types of  $\beta$ -lactamases by biapenem and others.

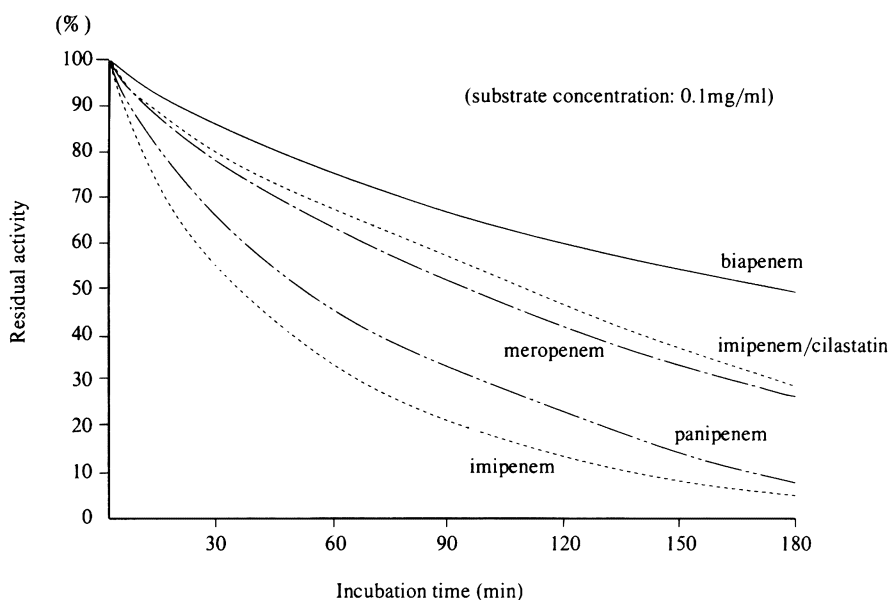


Fig. 5. Stabilities of biapenem and imipenem against human renal dehydropeptidase- I

中等度感受性株に MEPM よりも強い抗菌力を示した。しかし、BIPM は *S. aureus* および *E. faecalis* に対し、MEPM よりも強かったが、IPM より若干抗菌力が弱かった。グラム陰性菌に対しては MEPM が最も強い抗菌力を示した。BIPM は IPM とほぼ同程度の抗菌力を示したが、*E. coli*、*Proteus* 属、*Pseudomonas* 属および *B. fragilis* に対して若干強い抗菌力を示した。

BIPM は *S. aureus* の PBP 1 に対して強い結合親和性を持つが、必須と考えられている PBP 2 に対して IPM より弱かった。そのため、感受性 *S. aureus* に対する抗菌力が IPM より若干弱いと考えられた。しかし、MRSA に対し若干強い抗菌力を示すのは MRSA の PBP 2' に対して IPM よりも若干結合親和性が強いいためおよびすべての  $\beta$ -lactamase に対し強い一時阻害力と不活化作用を持つためと考えられた。

グラム陰性菌の PBP に対する結合親和性は PBP 2 に対して最も強く、そのため薬剤を作用させると菌は球形となる。BIPM が IPM よりも *E. coli* に対して抗菌力が若干強いのは PBP 1bs に対して、強い結合親和性を持つからと考えられた。また、*P. aeruginosa* に対しては PBP 3 $\beta$  が IPM よりも強い結合親和性をもつからと考えられた。

BIPM は補体との協力作用は顕著ではないが、マウス

培養 M $\phi$  とは強い協力的食菌作用を示し、その 1/8 MIC 存在下まで協力作用が認められた。

ヒト DHP-I に対する優れた安定性を持つ BIPM は以上の成績から体内動態が良好であれば MRSA、*Enterococcus* 属および *X. maltophilia* 感染症以外の広範囲の感染症に対し優れた臨床効果が期待できるものと考えられた。

#### 文 献

- 1) 日本化学療法会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29:76~79, 1981
- 2) Spratt R G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K-12. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 72:2999~3003, 1975
- 3) Rubin F, Smith A and Smith D F: Characterization of R factor  $\beta$  lactamase by the acidometric method. Antimicrob Agents Chemother. 3:68~73, 1973
- 4) Fisher J, Charnas R C and Knowles J R: Kinetic studies on the inactivation of *Escherichia coli* R TEM  $\beta$  lactamase by clavulanic acid. Biochemistry 17:2180~2184, 1978
- 5) Nozawa R T and Yokota T: Inhibition by glucocorticoids and choeragen of the conditional growth of

poorly adherent mononuclear phagocytes of newborn  
hamster liver and lung(Hormonal control of macrophage

growth). Cell Physiol 100:351~364, 1979

## A new carbapenem, biapenem, its *in vitro* activity, affinity to bacterial PBPs, and stability to human renal dehydropeptidase- I

Kyoko Kuwahara and Takeshi Yokota

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University

2-2-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

Eighty percent minimum inhibitory concentrations(MIC<sub>80</sub>) of biapenem(BIPM) were 0.39, 6.25, 3.13,  $\leq$  0.013, 0.025,  $\leq$  0.013, 6.25, >100, 0.2, 0.2, 0.39, 1.56, 6.25, 1.56, 0.78, 0.39, 0.39, 1.56, 6.25, >100, 0.78, 6.25 and 0.39  $\mu\text{g/ml}$  against 13 to 50 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin - resistant *S. aureus*, coagulase - negative Staphylococci, *Streptococcus pyogenes*,  $\beta$  - *Streptococci*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2(R<sup>+</sup>), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin - resistant *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides fragilis*, respectively.

Biapenem(BIPM) was very stable against all  $\beta$  - lactamases tested and also showed potent first-order inhibitory activities(i.e. small Ki values), which were stronger than those of imipenem(IPM) against both PCase and CEPase.

BIPM manifested higher binding affinity to PBP 1 of *S. aureus*, and PBP 2 of *E. coli*, *S.marcescens*, and *P.aeruginosa* than IPM.

BIPM manifested good synergy with mouse cultured macrophages in live *E. coli* phagocytosis at concentrations of morer than 1/8 the MIC of BIPM.

The stability of BIPM to human renal dehydropeptidase- I (DHP- I ) was compared with those of other carbapenems; IPM, panipenem and meropenem. BIPM was the most stable to DHP - I in carbapenems tested.