

新しい Cephalosporin 誘導体, Cefazolin の評価

西田 実・松原忠雄・村川武雄

峯 靖弘・横田好子

藤沢薬品工業株式会社中央研究所

五島瑳智子

東邦大学医学部微生物学教室

Cefazolin は、図1に示すような化学構造をもつ新しい Cephalosporin C 誘導体である。この物質は、7-amino cephalosporanic acid のアミノ基に tetrazolylacetyl の側鎖をもち、3 位には 5-methyl-thiadiazolyl-thiomethyl 基をもっている。

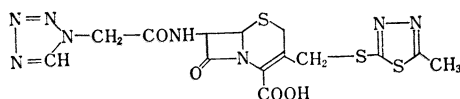


図1 Cefazolin (CEZ)

本報では、*in vitro* および *in vivo* における Cefazolin の活性、吸収排泄、組織内分布を、他の関連抗生物質と比較したので、その成績を報告する。

実験材料および実験方法

(1) 使用抗生物質

抗生物質はつぎのものを使用した。Cefazolin (CEZ, 954 mcg/mg : 藤沢薬品・中央研究所), Cephaloridine (CER, 988 mcg/mg : Glaxo Laboratories), Cephalothin (CET, 971 mcg/mg : Eli Lilly & Company), Ampicillin (AB-PC, 840 mcg/mg : Beecham Research Laboratories), Cephalexin (CEX, 975 mcg/mg : 試験的に藤沢薬品・中央研究所で合成したものを使用)。

(2) 使用菌株

標準菌株は当研究所に保存しているものを使用した。患者分離株は2, 3の病院より分与されたものである。

(3) 使用動物

この実験に使用した動物はつぎのとおりである。

マウス: dd 系, ♂, 体重 17~21 g

ラット: Sprague Dawley 系, ♂, 200~270 g

ウサギ: ♂, 2.0~2.5 kg

イヌ: 雑種, ♀, 10~12 kg

マウスを除いて、全て動物は使用前日絶食した。

(4) 試験管内抗菌作用の測定

Cefazolin の試験管内抗菌活性の測定は、カンテン希釈法で行なつた。すなわち Trypticase soy broth で1夜培養した菌液の1白金耳を、Cefazolin の倍数希釈濃度を含む Heart Infusion Agar (HI-agar) 上に画線接種した。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つて表わした。

(5) 薬物の微生物学的定量法 (ディスク法)

B. subtilis ATCC 6633 の孢子, 約 10⁵/ml を含む nutrient agar をシャーレに 10 ml ずつ分注した。抗生物質の標準液あるいは検液を抗生物質検定用ディスク (直径 6 mm) に浸し、上記の培地上においた。これを 37°C, 20時間培養後、その阻止帯を測定した。

(6) 液体培地中での安定性

5°C, 25°C, 37°C における種々の液体培地中での Cefazolin の安定性を調べた。HI, Brain heart infusion (BHI), Nutrient および Trypticase soy broth 中で、抗生物質を 10 mcg/ml の濃度で3日間放置した時の残存活性を、ディスク法で測定した。

(7) 培養液中の分解酵素に対する安定性

各抗生物質の 0.1 M-phosphate buffer 溶液 (500 mcg/ml) と等量の *Staph. aureus* および *E. coli* の BHI 培養液を混合して、37°C, 2時間振盪した後、直ちに 100°C 1分間煮沸した。この混合液中の抗生物質の残存活性をディスク法で測定した。

(8) 組織ホモジネートに対する安定性

SD 系ラット, ♂ (150 g) を実験前日絶食して使用した。組織ホモジネートは小腸, 肝, 腎は Krebs Ringer phosphate buffer (pH 7.2) で、又胃は pH 2.0 で 20% に調製した。抗生物質溶液 (200 mcg/ml) の 1 ml と 20% ホモジネートの 1 ml とを混合して 37°C, 30分または 90分振盪した。この反応液中に 99% エタノールを等量混合して酵素活性を止めた後、残存活性をディスク法で

測定した。

(9) 殺菌作用

Cefazolin を $\frac{1}{4}$ ・MIC, MIC, 4・MIC 濃度を含む nutrient broth 中に, *Staph. aureus* 209P および *E. coli* NIHJ を 10^6 /ml に植菌し, 37°C, 8 時間振盪培養した。その後24時間まで静置培養した。培養液中の生菌数は一定間隔で測定した。

(10) 試験管内耐性獲得

試験菌として *Staph. aureus* 209P および *E. coli* NIHJ を用い, nutrient broth で 37°C, 20 時間培養を 1 世代とする増量継代法によって, 17 代までの耐性獲得状況をみた。

(11) タンパク結合

抗生物質の血清タンパクとの結合率は, 遠心限外濾過法で測定した。動物の新鮮血清 9 ml に抗生物質の 0.1 M-phosphate buffer (pH 7.4) 溶液 (500 mcg/ml) 1 ml を混合し, 37°C, 1 時間振盪した。この反応液を Visking tube (size: 8/32) に入れ, 1000×g, 30 分遠心して得られた限外濾液中の遊離抗生物質を, ディスク法で測定した。

(12) マウスの実験的感染とその治療

実験マウスは, dd 系, ♂, 17~21g, 1 群 8 匹を使用した。感染菌は 10% 血清加 BHI broth に 37°C 1 夜培養した菌液の 0.5 ml を, *Staph. aureus* は静脈内に, *Diplo. pneumoniae*, *E. coli* および *Pr. mirabilis* は腹腔内に接種した。感染 1 時間後に各抗生物質を皮下投与した。実験マウスは, 2 週間観察した後の生存数から ED₅₀ を求めた。

(13) 健康志願者の血清中濃度と尿中排泄の測定

血清中, および尿中濃度は, 5 名の健康志願者について cross over 法で行なった。各志願者には Cefazolin の 250 mg, 500 mg および Cephaloridine の 500 mg を 1 回それぞれ筋肉内に投与した。尿は投与後 24 時間の間, 一定間隔で採集した。血清中および尿中の Cefazolin と Cephaloridine の濃度は, ディスク法によって測定した。この際, 抗生物質の標準希釈系列の調製には血清又は尿を用いた。

(14) ヒト尿中に排泄された活性物質の同定

Cefazolin を 2 名の健康志願者に 250 mg 1 回筋肉内投与した。尿は 24 時間にわたって集め, thin-layer chromatography と bioautography によって検索した。

a) Thin-layer chromatography は次の溶媒を使用した。

n-butyl alcohol-acetic acid-water (4:1:5, top layer)

n-butyl alcohol-ethyl alcohol-water (4:1:5)
methyl alcohol-n-propyl alcohol-water (6:1:2)

吸着剤は Eastman Chromagram Sheet no. 6061 を使用した。

b) Bioautography には上記の溶媒で展開した Sheet を乾かし, *B. subtilis* ATCC 6633 の孢子浮遊液 (2×10^8 spores/ml) を 0.2% 植菌したカンテン培地上においた。37°C, 20 時間培養した後の活性物質を検索した。

(15) 胆汁中排泄の測定

イヌをエーテル麻酔し, 常法に従ってポリエチレンチューブを挿入した。Cefazolin および他の抗生物質を, 20 mg/kg 筋肉内に投与した。胆汁中の抗生物質濃度を, ディスク法で測定した。

(16) 組織内分布の測定

Cefazolin および他の抗生物質を, 12 匹のラットに 20 mg/kg 筋肉内投与した。投与後 0.5, 1, 2, 3 時間目に各グループの 3 匹のラットを頸部を切つて殺した。肝, 腎, 肺, 心および脾を取り除き, 生食で洗つた後, 各臓器に 99% エタノールの 3 倍量を加えて Waring Blender でホモジネートにした。ホモジネートは 6800 ×g で 10 分遠心分離し, 上清液をディスク法で測定した。

結 果

1. 抗菌スペクトラム

Cefazolin と他の抗生物質の抗菌スペクトラムは表 1 に要約した。Cefazolin は, *Ps. aeruginosa*, *Pr. vulgaris* および *St. faecalis* を除くグラム陽性およびグラム陰性の広範囲の菌に対して抗菌活性を持つている。グラム陰性菌に対しては, 全般的に Cefazolin は Cephaloridine よりも感受性は強い。しかし *Staph. aureus* の標準株は Cefazolin には Cephaloridine や Ampicillin よりも感受性はやや悪い。表 1 の結果から Cefazolin は Cephaloridine と同様に広範囲抗生物質と考えることができる。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

数種の臨床分離株に対する Cefazolin と他の抗生物質の MIC 分布を, 表 2 に示す。

Penicillinase 産生株を含む 64 株の *Staph. aureus* にたいし, Cefazolin は Cephaloridine よりも抗菌活性はやや低い。Cefazolin に対して高度耐性を示す株はみられなかった。*E. coli* の 42 株のうち, 40 株は Cefazolin

表1 Antimicrobial spectra of cefazolin and related antibiotics

organism	antibiotic	CEZ	CER	CET	CEX	AB-PC
<i>Staph. aureus</i> 209-P		0.39	0.1	0.39	3.13	0.2
" " Newman		0.39	0.1	0.78	6.25	0.2
" " Terashima		0.78	0.2	0.78	12.5	0.39
" " Smith		0.39	0.1	0.39	3.13	0.2
* <i>Strept. hemolyticus</i> S-23		0.2	0.05	0.1	1.56	0.05
* " <i>faecalis</i> 6733		50	12.5	25	100<	1.56
* <i>Diplo. pneumoniae</i> I		0.2	0.05	0.39	3.13	0.05
* " " II		0.2	0.05	0.2	6.25	0.05
* " " III		0.2	0.1	0.39	3.13	0.1
* <i>Cory. diphtheriae</i> P. W. 8		0.39	0.1	0.39	1.56	0.2
** <i>Clostr. perfringens</i> PB 6 K		1.56	3.13	3.13	25	3.13
*** <i>Myco. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv		12.5	6.25	25	50	50
<i>B. subtilis</i> ATCC-6633		0.39	0.025	0.05	0.39	0.39
<i>S. lutea</i> PCI-1001		0.78	0.05	0.2	0.39	0.01
**** <i>N. gonorrhoeae</i> Nakanishi		1.56	1.56	3.13	6.25	0.78
<i>Sal. typhi</i> T-287		1.56	3.13	1.56	3.13	0.2
" " O-901		1.56	3.13	1.56	3.13	0.2
" <i>enteritidis</i>		6.25	12.5	12.5	25	3.13
<i>Kl. pneumoniae</i> ST-101		1.56	6.25	12.5	25	1.56
<i>E. coli</i> NIHJ		1.56	3.13	3.13	6.25	1.56
<i>Sh. flexneri</i> 2a		1.56	3.13	6.25	6.25	1.56
<i>Sh. sonnei</i> I		0.78	3.13	6.25	6.25	3.13
<i>Pr. vulgaris</i> IAM-1025		100<	50	100	100	100<
<i>Ps. aeruginosa</i> IAM-1095		100<	100<	100<	100<	100<

Each figure shows MIC in terms of mcg/ml

*added 10% serum

**Zeissler's glucose blood agar

***Dubos medium

****GC chocolate agar

に感受性である。これらの株に対する Cefazolin の活性は、Cephaloridine に等しく、他の抗生物質よりも優れている。*Pr. mirabilis* の30株のうち26株は、Cefazolin の3.13~12.5 mcg/ml の濃度範囲で発育が阻止される。残り4株は耐性であつた。また *Kl. pneumoniae* の33株のうち19株は、Cefazolin の1.56~3.13 mcg/ml, 8株は6.25~12.5 mcg/ml で発育阻止がみられた。

これらの結果は、全般に Cefazolin が臨床分離のグラム陰性菌に対して、他の抗生物質よりもより有効であることを示唆している。

3. 液体培地中での安定性

Cefazolin および他の抗生物質を、nutrient broth 中濃度10 mcg/ml で放置した時の安定性を検討した(図2)。Cefazolin を5℃で3日間放置した時、

表2 Distribution of susceptibilities of clinical isolates to cefazolin and related antibiotics

MIC (mcg/ml)		≥100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.1	0.05
<i>Staph. aureus</i> 64 strains	CEZ					13				51	
	CER		1			18				20	25
	CET									62	2
	CEX		31			33					
	AB-PC	14	18			21				10	1
<i>E. coli</i> 42 strains	CEZ		2		23			17			
	CER		3		37			2			
	CET	14	27		1						
	CEX	39	2		1						
	AB-PC	1	18		23						
<i>Pr. mirabilis</i> 30 strains	CEZ	3	1		11			15			
	CER	2	9		19						
	CET	3	5		22						
	CEX	10	20								
	AB-PC	2			5			21		2	
<i>Kl. pneumoniae</i> 33 strains	CEZ	2	4		8			19			
	CER	4	17		10			2			
	CET	4	23		6						
	CEX	24	7		2						
	AB-PC	33									

Each figure indicates number of strains which showed the appropriate MIC

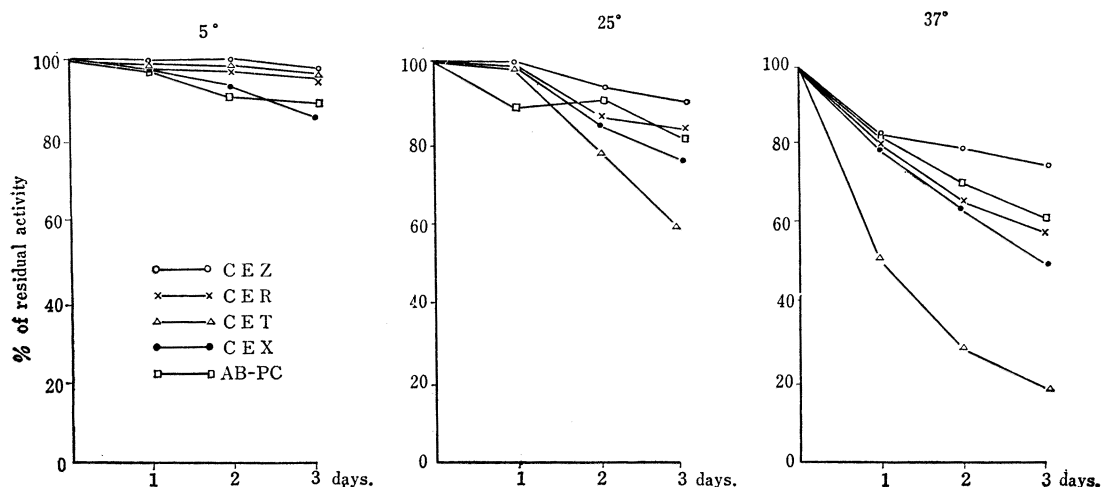


図2 Stability of cefazolin and related antibiotics in nutrient broth (pH 7.0) (10 mcg/ml)

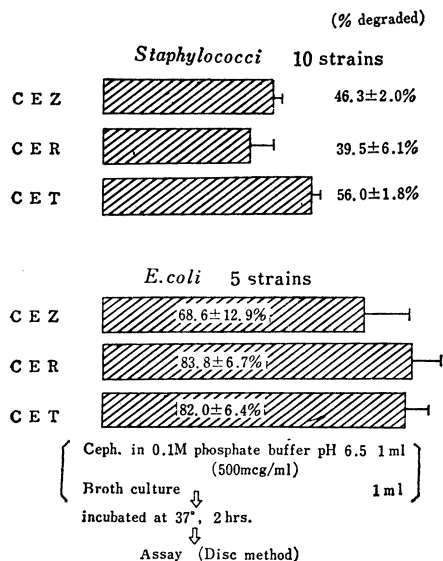


図3 Sensitivity of cefazolin and related antibiotics to bacterial enzymes

特異的な活性低下はみられなかった。室温 (25°C) では約10%の活性低下が認められたが、Cephalothin ではよりすみやかな分解が観察された。37°C では、実験に使用した抗生物質中では最も安定で、わずかに20%が分解された。

同様の傾向が他の液体培地 (HI, BHI, Trypticase soy) においても認められた。従つて、Cefazolin は一般の培地中で比較的安定であることがわかった。

4. 培養液中の分解酵素に対する安定性

Cefazolin および他の抗生物質の酵素的分解は、酵素源として *Staph. aureus* 10 株および *E. coli* 5 株の1夜培養液を使用して検討した (図3)。

Ampicillin または Benzylpenicillin の500 mcgが、*Staph. aureus* の培養液で完全に分解される条件下で、Cefazolin は Cephaloridine および Cephalothin と同様に、40~60%が分解された。

E. coli では Ampicillin および Benzylpenicillin が完全に分解される条件下で、Cefazolin は、*E. coli* の2株により完全に分解をうけるが、残り3株では40~50%の分解にとどまった。Cefazolin と他の Cephalosporin 間には酵素的分解による著明な差は認められなかった。

5. 組織ホモジネートに対する安定性

Cephalothin は、ラットの胃を除く他の組織ホモジネートによりすみやかにその活性を失う。その不活化は腎において著明で、わずか30分の incubation で約90%が不活化される。これに対し、Cefazolin は全てのホモジネートに安定で90分の incubation で90%以上が活性型で残存した。同様の傾向が、Cephalothin を除く他の抗生物質で観察された。以上の結果は、Cefazolin が組織ホモジネートの酵素的分解に対して安定であることを示している (図4)。

6. 殺菌作用

Staph. aureus 209P および *E. coli* NIHJ を試験菌として、Cefazolin の殺菌作用を検討した (図5)。*Staph. aureus* 209P を、Cefazolin の MIC または MIC の4倍

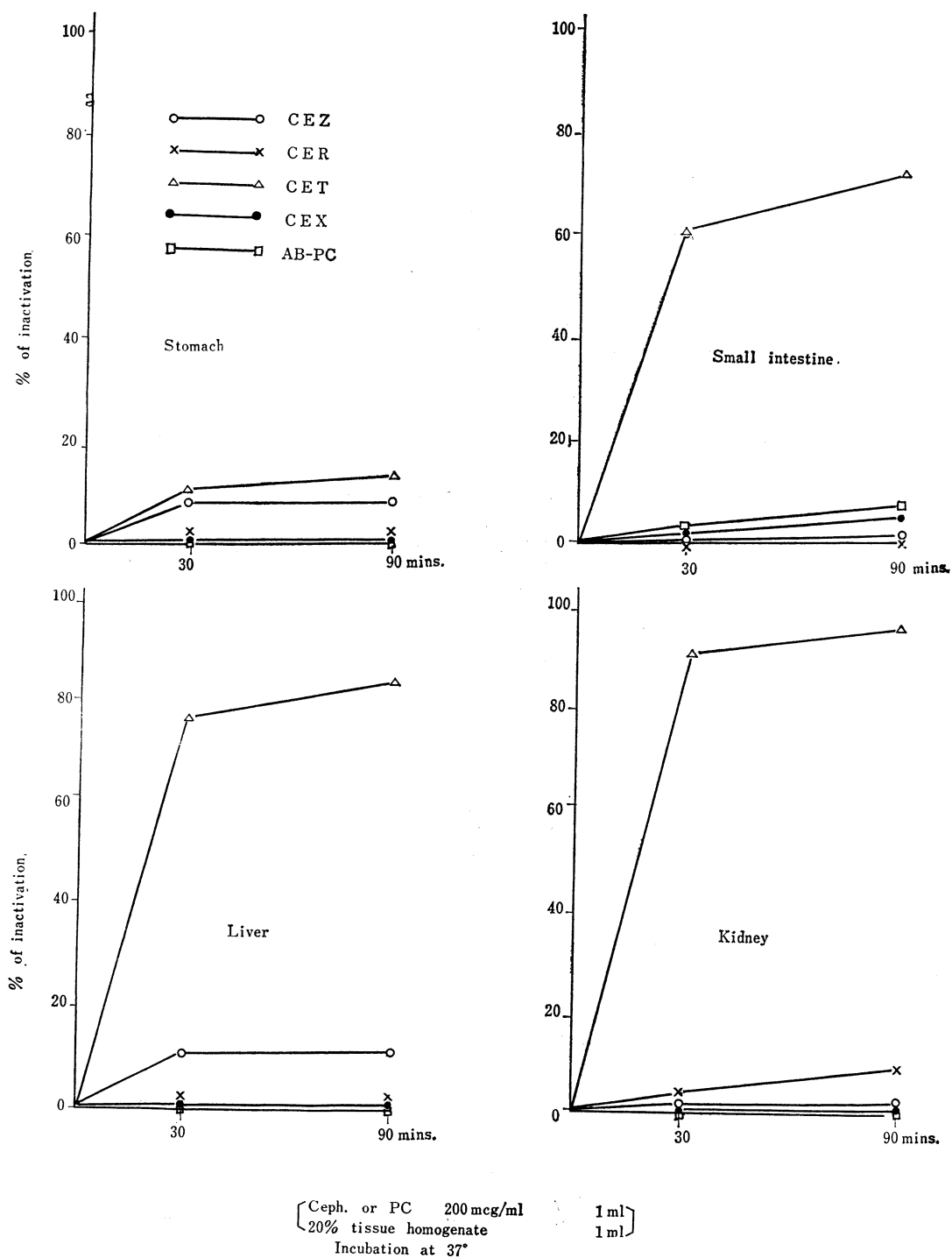


图4 头孢唑林及相关抗生素对大鼠组织匀浆的稳定性

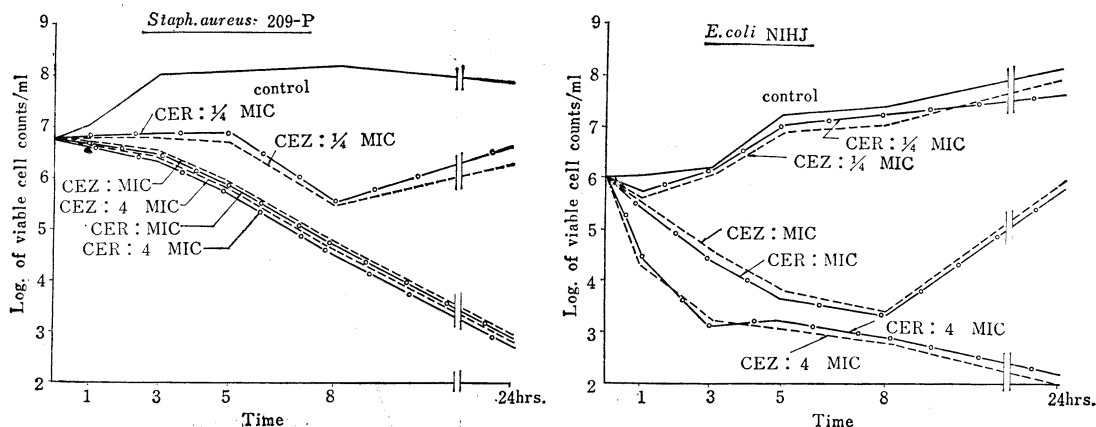


図5 Bactericidal activity of cefazolin and cephaloridine

濃度を添加した nutrient broth 中で培養すると、生菌数は著明に減少する。MIC の $\frac{1}{4}$ 濃度では最初の段階において生菌数の減少がおこるが、8時間目から増加した。同様の傾向が、*E. coli* においても観察された。従つて Cefazolin は Cephaloridine と同様に殺菌的作用をもつことが判明した。

7. 試験管内耐性獲得

Staph. aureus 209P および *E. coli* NIHJ の耐性化を検討した(図6)。*Staph. aureus* 209P の場合、Cefazolin の MIC は17代の継代により 0.78 mcg/ml から 25 mcg/ml とゆるやかな耐性上昇がみられた。この耐性化は、Ampicillin のそれに類似している。

また *E. coli* NIHJ では、Cefazolin の 1.56 mcg/ml から 25 mcg/ml と耐性を獲得したが、この耐性化パターンは、Cephaloridine のそれによく類似し、Ampicillin より比較的ゆるやかである。この結果から、Cefa-

zolin の試験管内耐性化は比較的ゆるやかであることがわかる。

8. タンパク結合

Cefazolin および他の抗生物質と、種々の動物による血清タンパクとの結合を、遠心限外濾過法で測定した(表3)。一般に血清タンパクとの結合は、Dicloxacillin を除き動物の種類に大きく依存する。この傾向は、Cefazolin において著明に表われ、イヌ血清による結合率は20%、ヒトで74%、ウサギで90%であった。Cefazolin のタンパク結合は、Cephaloridine や Cephalixin よりも、いくらか高い傾向にあるが、*in vitro* や *in vivo* における抗菌活性を減少する程強いものとは思われない。

9. マウスの実験的感染に対する防御効果

マウスの実験的感染に対する Cefazolin の防御効果を、他の抗生物質と比較した。種々の菌に対する抗生物質の MIC と ED₅₀ を表4に要約した。

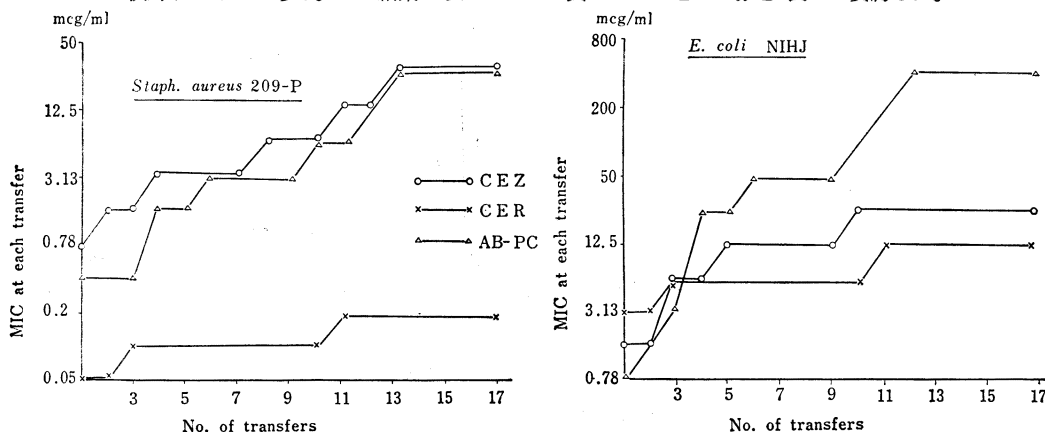


図6 Rate of development of resistance to cefazolin and related antibiotics over 17 serial transfers

表3 Extent of binding of cefazolin and related antibiotics to serum of different animals

Antibiotic Animal	Bound antibiotics (%)					
	CEZ	CER	CET	CEX	PC-G	MDI-PC
Human	74	31	79	12	41	95
Dog	20	11	50	3	8	92
Rabbit	90	29	85	15	43	96
Rat	91	11	73	5	6	93

[Serum Antibiotic (500 mcg/ml) 1 " 9 volume] 37°, 1 hr.
→Ultra-filtration

Staph. aureus および *E. coli* の感染に対する Cefazolin の防御効果は, *in vitro* での活性と近似的で Cephaloridine の場合と, ほぼ等しい。Cefazolin は, *Diplo. pneumoniae* や *Pr. mirabilis* に対しては Cephaloridine や Ampicillin よりも効果はいくらか劣る。

10. 健康志願者における血清中濃度と尿中排泄

(a)血清中濃度: Cefazolin および Cephaloridine を5名の健康志願者に筋肉内投与した(図7)。Cefazolin の250 mgまたは500 mgを1回筋肉内投与すると, 最高

表4 Protecting effect of cefazolin and related antibiotics against experimental infections in mice

Organism		MIC (mcg/ml)			ED ₅₀ (S. C.)		
		CEZ	CER	AB-PC	CEZ	CER	AB-PC
<i>Staph. aureus</i>	226	3.13	3.13	100	<0.09	0.28	1.8
	T-5	1.25	1.25	50	1.78	0.19	6.0<
	STP	0.31	0.1	≤0.05	0.53	0.13	0.53
	204	3.13	3.13	100<	<0.09	<0.09	0.26
	213	1.56	3.13	100<	0.18	0.30	0.75
	235	6.25	6.25	100<	0.55	0.12	2.59
<i>Dip. pneumoniae</i> III		0.2	0.1	0.1	2.73	0.39	0.58
<i>E. coli</i>	T-16	3.13	6.25	6.25	0.44	0.29	0.48
	T-15	3.13	6.25	6.25	2.15	1.11	1.31
	2-E-5	12.5	6.25	12.5	0.56	<0.2	0.34
	2-E-6	6.25	6.25	25	3.02	<0.2	1.54
	2-E-7	12.5	6.25	12.5	3.42	4.06	1.64
	312	3.13	12.5	6.25	3.63	1.11	0.93
	323	12.5	50	100	0.78	3.15	0.88
	324	3.13	6.25	6.25	3.60	12.0≤	8.51
<i>Pr. mirabilis</i>	519	6.25	6.25	3.13	5.20	2.20	6.30
	522	6.25	12.5	3.13	3.60	5.10	8.60
	524	3.13	3.13	0.78	4.28	1.55	0.40
	523	6.25	6.25	1.56	2.31	1.27	1.05

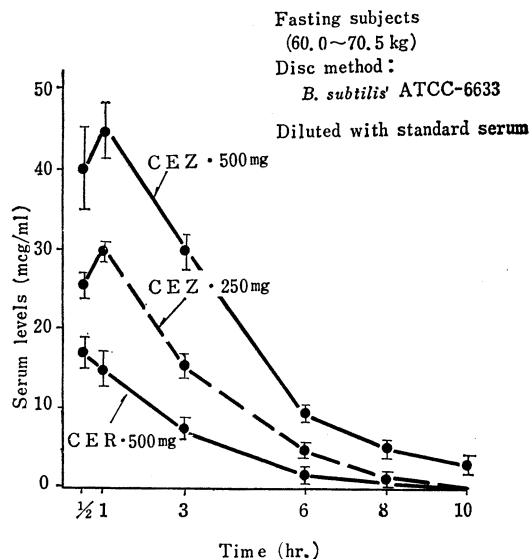


図7 Mean serum levels after intramuscular administration of cefazolin and cephaloridine in the same 5 healthy volunteers

血清中濃度29.8と44.6 mcg/mlが, 投与後1時間目に得られた。同様に Cephaloridine の500 mgを同じヒトに投与した時, 投与30分後に17.2 mcg/mlのピーク濃度が得られた。従つて Cefazolin のピーク濃度は, Cephaloridine のそれと比べて約2.5倍高い。また500 mg投与によつて得られた Cefazolin の血清中濃度は, Cephaloridine に比べて常に高い値を示した。

(b)尿中排泄: 尿中排泄は, 同じ志願者について同時に検討した(図8)。24時間中の尿中排泄は, Cefazolin の250 mg投与で95.9%, 500mg投与で82.4%, これに対して Cephaloridine の500 mg投与では70.2%であつた。Cefazolin の最高尿中濃度は, 1000 mcg/ml以上が, 8時間尿に得られた。その治療的有効濃度は, 8~10時間まで持続した。

11. ヒト尿中の活性物質の同定

異なつた溶媒系と吸着剤を使用した thin-layer chromatography の

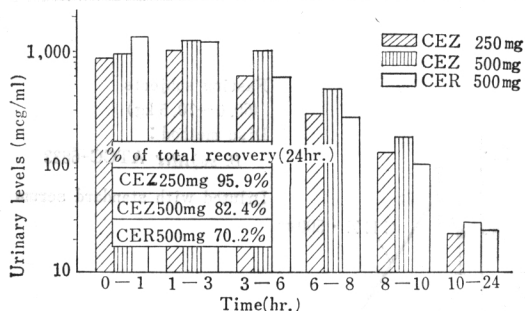


図8 Urinary levels after intramuscular administration of cefazolin and cephaloridine in the same 5 healthy volunteers

結果、唯一つの阻止円が bioautogram 上で Cefazolin に対応する位置に得られた(図9)。その結果は、尿中の活性物質が、Cefazolin 自身であり、ヒト生体内においては活性をもつ代謝物は形成されなかつたことを示している。

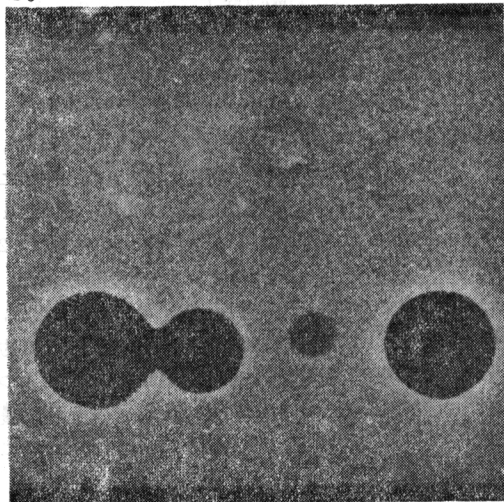


図9 Bioautograms of urine

after I. M. injection of CEZ
 Urine : Healthy volunteer (adult);
 Dose, 250 mg single
 TLC : Adsorbents, Eastmanchromagram 6061
 Solvent, BuOH : AcOH : H₂O (4 : 1 : 5)
 Bioautography : Test organism, *B. subtilis* ATCC 6633

12. 胆汁中排泄

Cefazolin および他の抗生物質の、イヌにおける胆汁排泄を検討した(図10)。一般に抗生物質は、殆んどが尿路系を経て排泄される為、胆汁中への排泄は低い。しか

しこの実験では Cefazolin が Cephaloridine や Cephalothin よりも多く量の量が胆汁中へ排泄されることを証明した。Cefazolin の 20 mg/kg を筋肉内投与すると、胆汁中に治療的有效な濃度 (120~923mcg/ml) が8時間にわたって持続した。24時間までの Cefazolin の胆汁中の総排泄率は、3.3%で、これに対して Cephaloridine は 0.1%, Cephalothin 0.2%, および Ampicillin 1.4% であつた。この結果、Cefazolin の胆汁中排泄は Ampicillin と同程度で、Cephaloridine や Cephalothin より高いことを示している。

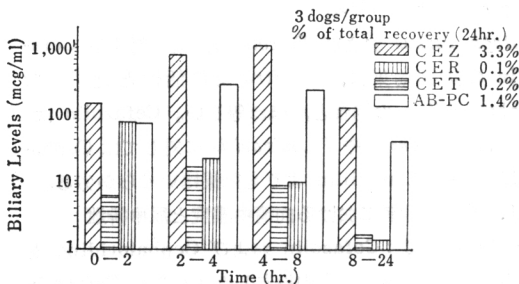


図10 Biliary levels after intramuscular administration of cefazolin and related antibiotics of 20 mg/kg in dogs

13. 組織内分布

Cefazolin の組織内分布を、ラットに 20 mg/kg 筋肉内投与して他の抗生物質と比較した(図11)。Cefazolin をラットに筋肉内投与すると、種々の組織中によく分布する。肺(12.5 mcg/g)と心(5.2 mcg/g)の Cefazolin 濃度が、他の抗生物質よりも高いのに対して、腎(45.2 mcg/g)と肝(14.0 mcg/g)の最高濃度は、Ampicillin あるいは Cephaloridine よりいくらか低い。同様の傾向が皮下投与の場合にも観察された。

考 察

周知のごとく、Cephaloridine は *in vitro* で高い抗菌性^{1,2)}と安定性³⁾を持ち、ウサギに対する腎毒性^{4,5)}を除いてきわめて毒性が低い点で、広範囲抗生物質中でも最も有用な薬剤といえる。Cephalothin は、Cephaloridine よりも毒性は低い、生体内でやや不安定で、比較的活性の低い desacetyl 化合物に容易に変わる^{6,7)}。

Cefazolin の *in vitro* における活性は、Cephaloridine にほぼ等しく、他の Cephalosporin C 誘導体よりも明らかに高い。Cefazolin の活性は、細菌の不活化酵素に対してのみならず、種々の組織ホモジネートに対

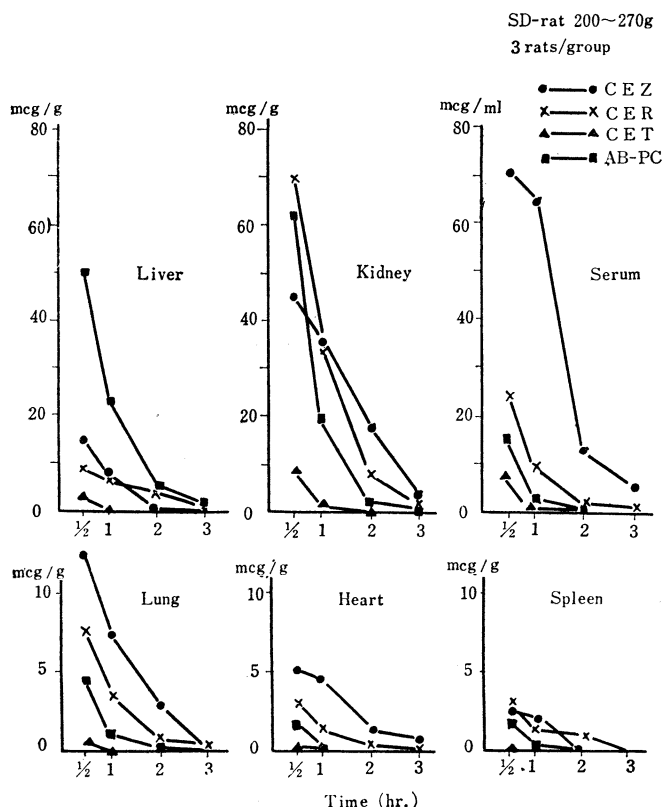


図11 Tissues and serum levels after intramuscular administration (20 mg/kg) of cefazolin and related antibiotics in rats

しても比較的安定である。*Staph. aureus*, *E. coli* で感染したマウスの防御効果は、Cephaloridine のそれに近似的で、ED₅₀ 値と MIC とは平行する^{8,9)}。これらの結果は、Cefazolin のタンパク結合が *in vivo* での抗菌活性を減ずる程、強いものではないことを示唆している^{10,11)}。

Cefazolin は、非常に毒性の低い物質で、動物やヒトに筋肉内投与すると、血清中および種々の組織中によく吸収される¹²⁾。尿中への高い排泄率とその持続性は、Cefazolin が生体内で非常に安定であることを示唆している。従つて尿路感染症の治療に対してその有効性を示唆する。さらに胆汁中の Cefazolin 濃度は、Cephaloridine^{13,14)} や Cephalothin¹²⁾ よりもはるかに高く、Ampicillin¹⁵⁾ に等しい。従つて Cefazolin は胆道感染の治療に Ampicillin と同程度に有効であると考えられる¹⁶⁾。

Cefazolin の血清中濃度が高いことは、逆に組織内濃度が低いことに起因するとも考えられた。しかしこの仮定は、我々の実験で得られた組織内濃度の結果により否

定される。

この一連の実験結果より、新しい抗生物質、Cefazolin が臨床的に十分その有効性を発揮するものと思われる。さらに未発表のデータでは、Cefazolin が動物に対してきわめて低い毒性しかないことが確認されている。この結果、Cefazolin が臨床実験に十分使用可能な物質であるといえる。

以上の実験に加えて、Cefazolin が消化器系である程度吸収される為、経口剤^{17,18)} としての研究を目下検討中である。

結 論

Cefazolin, 7-[1-(1H)-tetrazolylacetamido]-3-(2-(5-methyl-1,3,4,-thiadiazolyl)-thiomethyl]-4th-cephem-4-carboxylic acid は、7-aminocephalosporanic acid から誘導された新しい抗生物質である。Cefazolin は広範囲抗生物質で、*Staph. aureus* の penicillinase 産生株に対しても活性をもち、*E. coli* や *Kl. pneumoniae* の新鮮分離株に対する抗菌性は、この実験に使用した抗生物質のいずれよりも優れている。Cefazolin の活性は、*in vitro* で MIC あるいはそれ以上の濃度で明らかに殺菌的に作用す

る。マウスにおける *Staph. aureus* (PC 感受性および耐性)、*Diplo. pneumoniae*, *E. coli* および *Pr. mirabilis* の実験的感染に対する防御効果においても、その活性は確認された。さらに健康志願者に Cefazolin を 500 mg 筋肉注射すると、血清中、尿中にかなり高濃度が検出され、その血清中の最高濃度は 44.6 mcg/ml で Cephaloridine (17.2 mcg/ml) の約 2.5 倍に相当する。また 24 時間までの尿中回収率は Cefazolin 250 mg 投与量に対し、95.9%、500 mg の投与量に対しては 82.4% が得られた。これに対して Cephaloridine は、500 mg 投与量で 70.2% であった。500 mg の投与で得られる Cefazolin の血清中および尿中における治療的有效濃度は、投与後 10 時間持続する。イスに Cefazolin を 20 mg/kg の筋肉注射により 3.3% が 24 時間中の胆汁中に回収された。この割合は Ampicillin のそれと同程度で、Cephaloridine や Cephalothin の排泄率よりもはるかに高い値を示した。Cefazolin をラットに 20 mg/kg 筋肉注射した時の組織内分布は、腎、肝、心、脾、肺に広く分布される。

稿を終るにあたり、本実験に御援助いただきました当中央研究所長、中野博士および熊田部長に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) GOTO, S. & S. KUWAHARA : Antimicrobial activity of cephaloridine. J. Antibiotics, Ser. B 18 : 306—309, 1965
- 2) THOMSON, M.; D. BARRETT, S. MADDEN & M. RIDLEY : *In vitro* activity of cephaloridine against *Staphylococci* and *Gonococci*. Postgrad. Med. J. 43 : 36—39, 1967
- 3) SABATH, L. D.; M. JAGO & E. P. ABRAHAM : Cephalosporinase and penicillinase activities of a β -lactamase from *Pseudomonas pyocyanea*. Biochem. J. 96 : 739—752, 1965
- 4) GOWER, P. E. : The effect of cephaloridine on renal function in patients with renal failure. Postgrad. Med. J. 43 : 92—94, 1967
- 5) WELLES, J. S.; W. R. GIBSON, P. N. HARRIS, R. M. SMALL & R. C. ANDERSON : Toxicity, distribution, and excretion of cephaloridine in laboratory animals. Antimicrob. Agents & Chemother. —1965 P. 863—869, 1966
- 6) BONIECE, W. S.; W. E. WICK, D. H. HOLMES & C. E. REDMAN : *In vitro* and *in vivo* laboratory evaluation of cephalothin, a new broad spectrum antibiotic. J. Bacteriol. 84 : 1292—1296, 1962
- 7) SULLIVAN, H. R. & R. E. McMAHN : Metabolism of oral cephalothin and related cephalosporins in the rat. Biochem. J. 102 : 976—982, 1967
- 8) QUINN, E. L.; J. M. COLVILLE, L. BALLARD; D. JONES & F. DEBNAM : Ampicillin, antimicrobial activity and pharmacological behavior with reference to certain Gram-positive cocci. Antimicrob. Agents & Chemother. —1964 : 339—349, 1965
- 9) MUGGLETON, P. W. & C. H. O'CALLAGHAN : The antibacterial activities of cephaloridine, laboratory investigation. Postgrad. Med. J. 43 : 17—22, 1967
- 10) HOFSTEN, B. V. & S. O. FALKBRING : A simple arrangement for the concentration of protein solutions. Anal. Biochem. 1 : 436—439, 1960
- 11) KUNIN, C. M. : Inhibitors of penicillin binding to serum proteins. Antimicrob. Agents & Chemother. 1964 : 338—343, 1965
- 12) LEE, C. C. & R. C. ANDERSON : Blood and tissue distribution of cephalothin. Antimicrob. Agents & Chemother. —1962 : 695—701, 1963
- 13) DENNIS, M.; J. R. ASCH & H. K. HASTING : Clinical evaluation of cephaloridine. Antimicrob. Agents & Chemother. —1965 : 724—727, 1966
- 14) STEWART, G. T. : Laboratory and clinical results with cephaloridine. Lancet II : 1305—1309, 1964
- 15) QUINN, E. L.; F. COX, D. JONES & L. ZARINS : Clinical experience with parenteral ampicillin. Antimicrob. Agents & Chemother. 1964 : 226—232, 1965
- 16) HARRISON, P. M. & G. T. STEWART : Excretion of antibiotics in bile. Brit. J. Pharmacol. 17 : 420—423, 1961
- 17) PARKINS, R. L.; G. E. GLONTZ & S. SASLAW : Cephaloglycin, crossover absorption studies and clinical evaluation. Clin. Pharmacol. Ther. 10 : 244—249, 1969
- 18) WICK, W. E. : Cephalexin, a new orally absorbed cephalosporin antibiotic. Appl. Microbiol. 15 : 765—769, 1967

IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION OF CEFAZOLIN,
A NEW SEMISYNTHETIC CEPHALOSPORIN ANTIBIOTIC

MINORU NISHIDA, TADAO MATSUBARA, TAKEO MURAKAWA,
YASUHIRO MINE and YOSHIKO YOKOTA

Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

SACHIKO GOTO

Department of Microbiology,
Toho University, School of Medicine

Cefazolin, 7-[1-(1H)-tetrazolylacetamido]-3-[2-(5-methyl-1, 3, 4-thiadiazolyl)-thiomethyl]-4th-cephem-4-carboxylic acid, is a new antibiotic derived from 7-aminocephalosporanic acid. Cefazolin is a broad-spectrum antibiotic active against penicillinase-producing *Staphylococcus aureus* also. Cefazolin was apparently bactericidal *in vitro* at or above the minimal inhibitory concentration. In mice, Cefazolin provided an excellent effect against experimental infections caused by various strains of *Staph. aureus* (penicillin-susceptible and penicillin-resistant), *Diplococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*. In volunteers, satisfactory concentrations of Cefazolin in serum and urine were obtained after single intramuscular doses. The maximal concentration in serum at dosing of 500mg was 44.6mcg/ml, which was about twice as high as that of Cephaloridine (17.2mcg/ml). The recovery rate of Cefazolin in the 24 hour urine was at 95.9% dosing of 250mg and 82.4% at 500mg which were also higher than that of Cephaloridine (70.2% at 500mg). Therapeutically effective concentrations of Cefazolin in serum and urine were maintained as long as 10 hours after administration. Biliary excretion of Cefazolin in dogs revealed that 3.3% of the intramuscularly administered dose (20mg/kg) was recovered in the 24 hour bile. This rate was similar to that of ampicillin, and was markedly higher than that of Cephaloridine or Cephalothin. In rats, Cefazolin was well distributed in the kidneys, liver, heart, spleen, and lungs when given in a dose of 20mg/kg intramuscularly.