

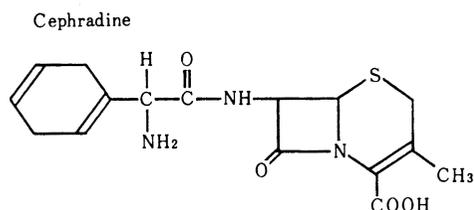
Cephadrine の *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性

菅原 眞一・五十嵐 勇・田島 政三

三共株式会社中央研究所

Cephadrine^{1),2)} ([7-D(-)-2-amino-2-(1,4-cyclohexadien-1-yl) acetamido]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4,2,0] oct-2-ene-2-carboxylic acid, CED と略記する, Fig. 1) は米国 Squibb 社の創製になる新規半合成セファロsporin系剤で, Cephalexin (CEX) と同様に経口吸収性が良好であり, 体内でほとんど変化を受けることなく高率に尿中へ排泄され³⁻⁶⁾, また低毒性⁷⁾であり, 海外ではすでに尿路, 呼吸器, 消化管その他の細菌感染症に対する治療効果が報じられている⁸⁻¹²⁾.

Fig. 1 Chemical formula of cephradine and cephalixin



我々は, Cephalexin を対照薬剤として, *in vitro*, *in vivo* の抗菌活性を検討したので報告する。

I 抗菌スペクトラム

グラム陽性菌, 陰性菌に対する試験管内抗菌力を日本化学療法学会感受性測定法により37℃, 20時間培養後の最小発育阻止濃度 MIC $\mu\text{g/ml}$ をもって表現した。

培地はハート・インフュージョン寒天(栄研)を用い, *Streptococcus* の場合には脱繊維素家兎血を10%, *Vibrio* の場合には NaCl を3%添加した。

その成績を Table 1 に示す。

Cephadrine の抗菌範囲は Cephalexin と一致し, *Pseudomonas* を除き広く G (+), (-) の細菌類に及んでいる。その力価も, ほぼ同等であった。

次に抗菌力価に及ぼす諸因子の影響を培地 pH の変動, 血清添加量, 接種菌量の変化などについて調べた。

ハート・インフュージョン寒天の pH を6~9に変化させた際の抗菌力価は Table 2 のとおりであった。

培地に馬血清を25%まで添加した際の力価変動は Table 3 のとおりで, Cephadrine 力価の著減を認めず, 血清蛋白との結合性が低いことを示唆する成績であった。

接種菌量の多寡と MIC, MBC の変化をハート・インフュージョン・ブイヨン(ニッサン)を基礎培地として

Table 1 Antibacterial spectra of cephradine and cephalixin

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
	CED	CEX
<i>Bacillus anthracis</i>	≤ 0.4	≤ 0.4
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	≤ 0.4	≤ 0.4
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P JC-1	1.5	1.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.8	0.8
* <i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.4	0.8
* <i>Streptococcus sanguis</i> ATCC 10558	3.1	6.2
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	12.5	12.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 805	6.2	6.2
<i>Proteus mirabilis</i> 203	12.5	12.5
<i>Proteus vulgaris</i> 025	12.5	6.2
<i>Proteus morgani</i>	50	50
<i>Proteus rettgeri</i>	12.5	25
<i>Salmonella enteritidis</i> Gaertner	6.2	6.2
<i>Salmonella typhosa</i> TD	6.2	3.1
<i>Shigella dysenteriae</i>	6.2	6.2
<i>Shigella flexneri</i> 2a	12.5	12.5
<i>Shigella sonnei</i>	12.5	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>200	>200
<i>Pseudomonas schuylkilliensis</i>	>200	>200
** <i>Vibrio alginolyticus</i>	25	25
** <i>Vibrio parahemolyticus</i>	12.5	12.5

Heart Infusion Agar, * HIA+10% Rabbit Blood

** HIA+3% NaCl

検討し、Table 4 の成績をえた。この際、菌量の増多は MIC を高めた。また、MBC/MIC は 2~4 となり殺菌能にやや甘さを感じさせた。

Biophotometer による、菌の増殖過程への影響を *Staphylococcus aureus* 209 P, *Escherichia coli* NIHJ-JC 2, *Klebsiella pneumoniae* 805, *Proteus vulgaris* 025 の諸株について検討したが、Cephadrine と Cephalixin との間に顕著な差を認めることができなかった。

臨床分離株における感受性分布を *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* について検討し、Table 5 の成績をえた。

Table 2 Effect of medium pH on the antibacterial activity of cephradine

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	pH	6	7	8	9
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P		0.2	0.8	0.8	0.4
<i>Staphylococcus aureus</i> A 704		25	100	200	>200
<i>Escherichia coli</i> NIHJ		50	12.5	25	50
<i>Escherichia coli</i> 605		25	100	200	>200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 805		50	12.5	12.5	12.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 846		100	200	200	200
<i>Proteus vulgaris</i> 025		100	12.5	12.5	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		>200	>200	>200	>200

Heart Infusion Agar

Table 3 Effect of serum addition on the antibacterial activity of cephradine

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	0	5	10	25%
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	0.8	1.5	1.5	1.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.5	1.5	1.5	1.5
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	12.5	12.5	25	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 805	6.2	6.2	6.2	6.2
<i>Proteus vulgaris</i> 025	25	25	25	25
<i>Salmonella enteritidis</i>	6.2	6.2	6.2	6.2

Heart Infusion Agar, horse serum added

Table 4 Influence of inoculum size on MIC and MBC of cephradine

		MIC ($\mu\text{g/ml}$)	MBC ($\mu\text{g/ml}$)	MBC/MIC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	H	1.5	> 25	> 16
	L	0.4	1.5	4
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	H	25	50	2
	L	12.5	25	2
<i>Proteus vulgaris</i> 025	H	50	200	4
	L	12.5	25	2

Heart Infusion Broth

H : 10^6 cells/ml

L : 10^8 cells/ml

Table 5 Susceptibility of clinical isolates to cephradine and cephalixin

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
	>100	100	50	25	12.5	6.2	3.1	1.5	0.8	0.4
<i>Staphylococcus aureus</i> (208 strains)										
CED	0	6	5	4	7	50	116	20	0	0
CEX	6	3	1	3	11	68	102	12	2	0
<i>Escherichia coli</i> (125 strains)										
CED	2	7	41	69	6	0	0	0	0	0
CEX	2	3	38	69	11	2	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (89 strains)										
CED	9	4	12	27	37	0	0	0	0	0
CEX	5	3	5	22	37	17	0	0	0	0

Table 6 Organ concentration in mice after oral administration of cephradine and cephalixin ($\mu\text{g/g}$ or ml)

(CED, 50 mg/kg, p. o.)

	7.5'	15'	30'	60'	120'	180'
Brain	NT	ND	ND	ND	ND	ND
Heart	NT	4.8	2.7	1.5	1.5	1.6
Lung	4.5	4.9	8.4	2.2	2.0	1.6
Liver	64.0	62.5	40.6	25.6	9.0	4.6
Kidney	48.0	134.7	81.7	40.9	20.3	13.7
Spleen	2.2	1.9	1.7	1.4	1.0	1.0
Muscle	2.5	5.7	4.3	1.9	1.9	ND
Serum	30.0	34.1	23.7	10.8	8.3	3.6

(CEX, 50 mg/kg, p. o.)

	7.5'	15'	30'	60'	120'	180'
Brain	NT	ND	ND	ND	ND	ND
Heart	NT	6.2	3.6	2.1	2.4	2.3
Lung	4.0	5.2	12.0	2.7	2.6	2.2
Liver	40.0	89.2	69.0	31.2	13.9	3.2
Kidney	42.0	93.3	90.0	46.8	21.5	6.7
Spleen	2.8	3.0	2.4	1.6	1.8	1.9
Muscle	1.4	5.9	2.8	2.1	ND	ND
Serum	30.0	43.3	31.7	13.7	9.2	2.6

ND : Not Detected. NT : Not Tested.

Fig. 2 Organ concentration in mice after oral administration of cephradine

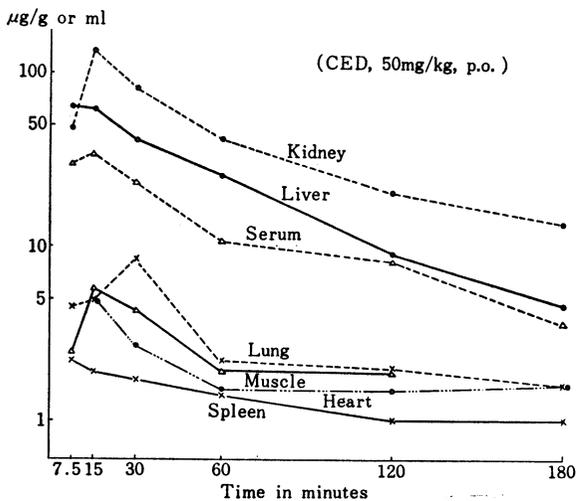
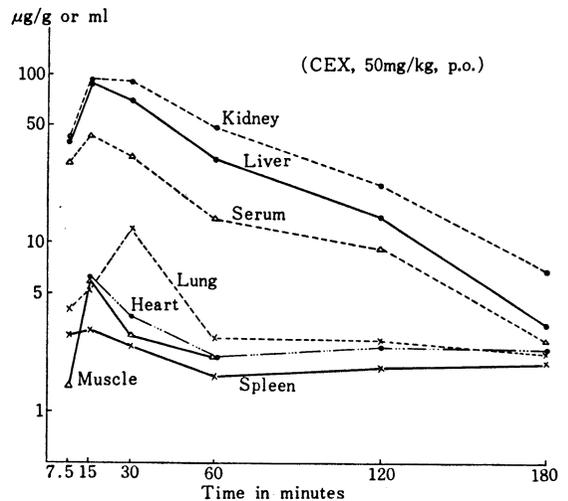


Fig. 3 Organ concentration in mice after oral administration of cephalixin



以上を総括して Cephadrine は Cephalexin とほぼ同等の *in vitro* 抗菌活性を保有するものと判断された。

II マウスにおける吸収、臓器内分布および尿中排泄

マウスは ddY 系、雄、4~5 週齢のもの 1 群 3~6 匹を用い、検体の力価測定は *Bacillus subtilis* PCI 219 を用いた薄層平板ディスク法によった。

薬剤は滅菌水に溶解し、50mg/kg あてを経口または皮下投与し、7.5, 15, 30, 60, 120, 180分の各時点で断頭放血により採血後、各臓器(脳、心、肺、肝、腎、脾、筋)を摘出し、M/15 PBS, pH 6.0 でホモジェネートを作り、適当に希釈してその力価を測定した。尿は 0~3, 3~6, 6~24時間毎に採尿し、PBS 希釈後、力価を測定した。

実験はおのおの 3 回繰り返し、その平均値をもって表示した。

Table 6, Fig. 2, 3 は Cephadrine および Cephalexin 50 mg/kg 経口投与時の諸臓器内濃度の成績で、両剤とも投与後 7.5 分です

Fig. 4 Organ concentration in mice after subcutaneous administration of cephradine

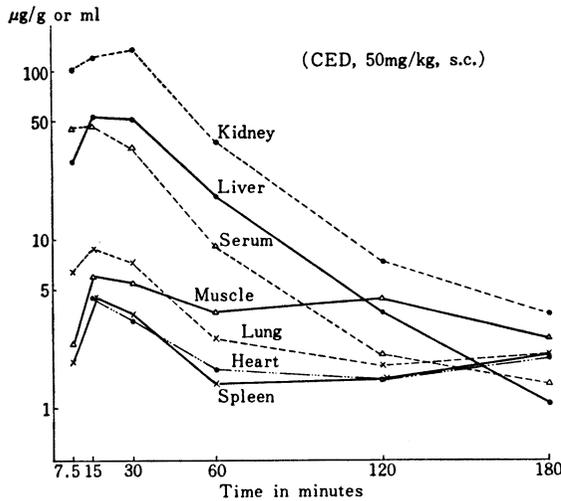


Fig. 5 Organ concentration in mice after subcutaneous administration of cephalixin

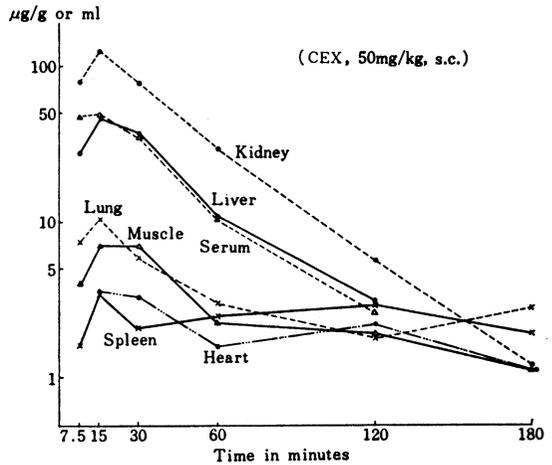


Table 7 Organ concentration in mice after subcutaneous administration of cephradine and cephalixin ($\mu\text{g/g}$ or ml)

(CED, 50 mg/kg, s. c.)

	7.5'	15'	30'	60'	120'	180'
Brain	NT	ND	ND	ND	ND	ND
Heart	NT	4.6	3.4	1.7	1.5	2.0
Lung	6.4	8.8	7.3	2.6	1.8	2.1
Liver	28.8	51.8	51.0	17.9	3.8	1.1
Kidney	104.0	120.5	135.0	37.9	7.5	3.6
Spleen	1.9	4.6	3.6	1.4	1.5	2.1
Muscle	2.4	6.1	5.5	3.7	4.5	2.6
Serum	44.4	46.3	35.0	9.2	2.1	1.4

(CEX, 50 mg/kg, s. c.)

	7.5'	15'	30'	60'	120'	180'
Brain	NT	ND	ND	ND	ND	ND
Heart	NT	3.6	3.3	1.6	2.2	1.1
Lung	7.0	10.5	5.9	3.0	1.8	2.8
Liver	28.0	47.0	36.6	10.8	3.1	ND
Kidney	80.0	126.2	77.3	29.6	5.7	1.2
Spleen	1.6	3.5	2.1	2.5	2.9	1.9
Muscle	4.0	7.1	6.9	2.3	1.9	1.1
Serum	46.5	49.3	35.8	10.6	2.6	ND

ND : Not Detected. NT : Not Tested.

に主要臓器への明らかな移行が認められ、肺の30分を除き、7.5~15分後にはピーク値に達し、経口吸収性のきわめて良好なことが示された。投与後30分における濃度序列は腎>肝>血>肺>筋、心、脾であり、その後各臓器とも経時的に漸減したが、180分後にも筋を除き力価の検出が可能であった。また、脳からはいかなる時点でも抗菌力を検出しなかった。

Table 7, Fig 4, 5はCephradineおよびCephalixin 50 mg/kg皮下投与時の成績で、両剤とも投与後15分でピークに達し、30分後の濃度序列は腎>肝>血>肺、筋>心、脾であり、その後経時的に減衰するが120~180分後も大部分の臓器で力価の検出が可能であり、また、脳からの力価検出はないなど、経口投与時の成績と酷似する分布パターンがえられた。ピーク値も投与経路の違いによる大差を認め難かったが、体内半減期は皮下注時のほうが経口時よりもやや短いとの印象を受けた。

Table 8は経口投与、Table 9は皮下投与時の両剤の尿中排泄率であるが、初期(0~3時間)の

尿中排泄量は CEX>CED, 中・後期(3~6, 6~24 時間)では CED>CEX となり, Cephadrine は Cephallexin に比してやや持続型の排泄パターンを示したが, 0~24時間における尿中への力価回収率は両剤, 両投与経路いずれも60%前後で大差を認めなかった。

III マウス実験的感染症に対する治療効果

マウスは ddY, 雄, 4 週齢, 体重 20 g のものを 1 群 10 匹として用いた。

治療薬剤は滅菌水に溶解, 希釈し, 経口治療の場合 0.25 ml 中, 皮下注時 0.1~0.2 ml 中に必要量が含まれるようにして, 感染直後および 4 時間後の 2 回投与した。

菌の感染はブドウ球菌の場合菌液 0.25 ml ずつを尾静脈に注入し, 溶連菌, 大腸菌, 肺炎桿菌, 変形菌の場合には菌液 0.25 ml ずつを腹腔内に注入する方法により, それぞれ 1 週目の生残数からプロビット法により ED₅₀

値を算出した。

治療成績一覧表を Table 10 に示す。

いずれの菌に対しても Cephadrine は Cephallexin に匹敵する治療効果を発揮しうることが示された。しかも, 我々の実験では経口治療の成績のほうが皮下注時よりも良好な成績をうるが多かったが, これは薬剤の体内半減期の長短の差によるものと思われる。また両剤の経口吸収性のきわめて良好なことをも示している。

ま と め

Cephadrine の抗菌範囲は Cephallexin と等しく, その抗菌力価への培地 pH, 血清添加, 接種菌量の多寡などの影響も Cephallexin とほぼ同様の傾向にあり, 臨床分離株の感受性分布もほとんど差を認めなかった。

経口吸収性にすぐれ, 諸臓器によく分布し, 尿中への排泄が高いことなども Cephallexin とほぼ同様であった。

Table 8 Urinary recoveries of cephradine and cephallexin in mice after oral administration of 50 mg/kg

Exp. No.	Fractions excreted during hours (%)			Total amount excreted during 0~24 hours (%)	
	0~3	3~6	6~24		
CED	I	41.7	40.4	17.9	61.7
	II	58.6	11.9	29.5	62.0
	III	66.5	—	33.5	61.9
	Mean	/	/	/	61.9
CEX	I	64.8	16.0	19.2	60.1
	II	69.2	5.8	27.0	64.4
	III	72.6	5.8	21.6	53.7
	Mean	/	/	/	59.4

Table 9 Urinary recoveries of cephradine and cephallexin in mice after subcutaneous administration of 50 mg/kg

Exp. No.	Fractions excreted during hours (%)			Total amount excreted during 0~24 hours (%)	
	0~3	3~6	6~24		
CED	I	29.8	45.1	25.1	66.6
	II	57.4	19.5	23.1	58.0
	III	36.4	—	63.6	59.4
	Mean	/	/	/	61.3
CEX	I	60.6	10.0	29.4	62.7
	II	69.6	16.8	13.6	51.5
	III	88.2	9.6	2.2	60.9
	Mean	/	/	/	58.4

Table 10 Effectiveness of cephradine and cephalixin in experimental bacterial infections of mice

Strain No.	Challenge route	MIC : $\mu\text{g/ml}$		Treatment route	ED ₅₀ : mg/kg/dose		CEX/CEC
		CEC	CEX		CEC	CEX	
<i>Staph. aureus</i> 42	(iv)	3.1	3.1	(po)	11.0	11.0	1.0
				(sc)	25.0	25.0	1.0
<i>Strep. sp.</i> 501	(ip)	1.5	3.1	(po)	1.1	2.2	2.0
				(sc)	2.0	3.8	1.9
<i>Esch. coli</i> 704	(ip)	25	25	(po)	17.7	12.5	0.7
				(sc)	35.4	31.2	0.9
<i>Kleb. pneum.</i> 825	(ip)	25	12.5	(po)	30.1	27.1	0.9
				(sc)	119.0	70.8	0.6
<i>Prot. mirab.</i> 1973	(ip)	25	25	(po)	125.0	69.2	0.6
				(sc)	110.9	62.4	0.6

Animals were treated twice at 0 and 4 hours post-infection

ブドウ球菌, 溶連菌, 大腸菌, 肺炎桿菌, 変形菌のマウス実験的感染症に対する経口および皮下注治療効果も Cephalexin とほぼ同等であり, したがって Cephadrine は Cephalexin 同様の適応可能物質と判断された。

参 考 文 献

- 1) DOLFINI, J. E.; H. E. APPLGATE, G. BACH, H. BASCH, J. BERNSTEIN, J. SCHWARTZ & F. L. WEISENBORN: A new class of semisynthetic penicillins and cephalosporins derived from D-2-(1, 4-cyclohexadienyl) glycine. *J. Med. Chem.* 14: 117~119, 1971
- 2) GADEBUSCH, H. H.; G. J. MIRAGLIA, H. I. BASCH, C. GOODWIN, S. PAN & K. RENZ: Cephadrine—a new orally absorbed cephalosporin antibiotic. *Advan. Antimicrob. Antineoplastic Chemoth.* 1: 1059~1062, 1972
- 3) MIRAGLIA, G. J.; K. J. RENZ & H. H. GADEBUSCH: Comparison of the chemotherapeutic and pharmacodynamic activities of cephradine, cephalothin, and cephaloridine in mice. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 3: 270~273, 1973
- 4) WELIKY, I.; H. H. GADEBUSCH, K. KRIPALANI, P. ARNOW & E. C. SCHREIBER: Cephadrine: absorption, excretion, and tissue distribution in animals of a new cephalosporin antibiotic. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 5: 49~54, 1974
- 5) HARVENGT, C.; P. DESCHAPPER, F. LAMY & J. HANSEN: Cephadrine absorption and excretion in fasting and nonfasting volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* 1973, 36~40
- 6) RENZINI, G. & F. FILADORO: Proprieta microbiologica della cefradina. *Il Farmaco, Ed. Pr.* 28: 659~676, 1973
- 7) HASSERT, G. L.; P. J. DEBAECK, J. S. KULESZA, V. M. TRINA, D. P. SINHA & E. BERNAL: Toxicological, pathological, and teratological studies in animals with cephradine. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 3: 682~685, 1973
- 8) LIMSON, B. M.; R. E. SIASOCO & F. P. DIAL: A new cephalosporin derivative, cephradine, in the treatment of acute infective diseases. *Curr. Ther. Res.* 14: 101~106, 1972
- 9) LANDA, L.: Cephadrine in the treatment of intestinal infections caused by *Shigella* or *Salmonella* organisms. *Curr. Ther. Res.* 14: 496~502, 1972
- 10) KLASTERSKY, J.; D. DANEAU & D. WEERTS: Cephadrine—antibacterial activity and clinical effectiveness. *Chemotherapy (Basel)* 18: 191~204, 1973
- 11) PAPADOYANAKIS, N.; C. ROUSSOS & C. CONSTANTINIDES: Cephadrine (Velocef)—a new oral cephalosporin—a clinico-laboratory evaluation. *Clin. Trials J. No.* 3, 1973, 87~90
- 12) WHITWORTH, J. A.; K. F. FAIRLEY & M. M. McIVOR: Cephadrine in recurrent urinary tract infection. *Med. J. Australia* 2: 742~743, 1973

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF CEPHRADINE, A NEW
ORALLY ABSORBED CEPHALOSPORIN DERIVATIVE

SHINICHI SUGAWARA, ISAMU IGARASHI and MASAZO TAJIMA

Central Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

Antibacterial activity of cephradine was compared in *in vitro* and *in vivo* with that of cephalixin.

Antimicrobial spectrum, influence of medium pH, serum protein binding, MBC/MIC ratio and susceptibility of clinical isolates with cephradine were all quite similar to those with cephalixin.

Cephradine was well absorbed, distributed into various organs, and highly excreted into urine in mice by oral administration equally by subcutaneous administration as was in the case of cephalixin.

Cephradine was equally effective to cephalixin in protecting various bacterial infections in mice.