

## 新しい Cephalosporin 誘導体, Ceftezole の基礎評価

西田 実・村川 武雄・上村 利明  
 岡田 直彦・坂本 博・深田 志計実  
 中本 昭治・横田 好子・三木 和代  
 藤沢薬品工業株式会社中央研究所

Cephalosporin 誘導体の合成と評価についての藤沢薬品・中央研究所における研究のコースにおいて、さきに Cefazolin (CEZ) が開発され<sup>1)</sup>、現在広く臨床的に応用されている<sup>2)3)4)</sup>。CEZ の抗菌作用、代謝および忍容性についてのすぐれた性質は、さらにその近縁物質から CEZ 以上に有用な誘導体を見出すための検討が必要であることを示唆した。本報に記載された Ceftezole (CTZ) (Fig. 1) は、このような目的の研究から見出されたもので、蛋白結合性、組織移行などについて CEZ と異なる性質をもった誘導体と考えられるものである。本報ではこの物質の *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性、吸収排泄、組織内分布などを他の関連抗生物質と比較したので、その結果を報告する。

## 実験材料と実験方法

## 1. 使用抗生物質

Ceftezole (CTZ, Fujisawa Research Laboratories)  
 Cefazolin (CEZ, Fujisawa Pharm. Co., Ltd.)  
 Cephaloridine (CER, Eli Lilly & Company)  
 Cephalothin (CET, Eli Lilly & Company)  
 Cephapirin (CEP, Bristol Laboratories)  
 Cephacetrile (CEC, Ciba-Geigy)  
 Cephalosporin C (Fujisawa Research Laboratories)

## 2. 使用動物

マウス: ICR 系, ♂, 4 W, 17~23 g  
 ラット: SD 系, ♂, 6 W, 170~245 g  
 イヌ: Beagle, ♂, 9.5~12.5 kg  
 サル: Rhesus Monkey, ♂, 6.4~9.9 kg  
 ヒト: 健康成人, ♂, 55~75 kg

## 3. 試験管内抗菌作用の測定

試験管内抗菌作用の測定は、日本化学療法学会感受性測定法に従って行なった。すなわち、Trypticase Soy Broth で一夜培養した菌液を、薬剤の倍数希釈濃度を含む Heart Infusion Agar (Difco) 上にエーゼあるいはスタンプで接種し、37°C、20 時間培養後、MIC を判定した。

なお、*Streptococcus*, および *Cory. diphtheriae* は、上記の培地に 10% ウサギ血液を加えた。

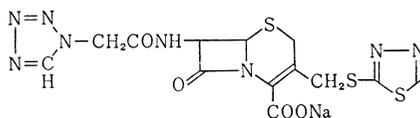
さらに、嫌気性菌については、GAM 寒天培地を使用し、Gas Pak 法で 37°C、48 時間培養後、MIC を判定した。

## 4. 殺菌作用

薬剤を 1/4 MIC, MIC, 4 MIC 濃度を含む HI-broth 中に *E. coli* NIHJ JC-2 の 10<sup>6</sup>/ml を植菌し、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。その間、培養液中の生菌数は一定間隔で測定した。

## 5. 蛋白結合

Fig. 1 Chemical structure of CTZ



Sodium (6*R*, 7*R*)-3-[(1,3,4-thiadiazol-2-yl)-thiomethyl]-8-oxo-7-[2-(1*H*-tetrazol-1-yl) acetamide]-5-thia-1-azabicyclo-[4,2,0] oct-2-ene-2-carboxylate  
 (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub>Na; molecular weight, 462.47)

## 1) 遠心限外濾過法

各種動物の新鮮血清 4.5 ml に、抗生物質の M/15 phosphate buffer (pH 7.0) 溶液 (300  $\mu$ g/ml), 0.5 ml を混合し、37°C 1時間 incubate した。この反応液を Visking tube (size: 8/32) に入れ、1,000 $\times$ g, 30 min. 遠心して得られた限外濾液中の遊離抗生物質を、*B. subtilis* ATCC 6633 を試験菌とする disc 法で測定した。この測定値を X とし、対照として血清の代りに、同量の M/15 phosphate buffer (pH 7.0) を用いて、同様の処理を行ない、得られた値を Y とすると、抗生物質の結合率 B は、次のように求められる。

$$B(\%) = \frac{Y-X}{Y} \times 100$$

## 2) 希釈による結合の解離

血清 4.5 ml と抗生物質の M/15 phosphate buffer (pH 7.0) 溶液 (500  $\mu$ g/ml) 0.5 ml を混合し、室温で 1 時間放置する。この混合液を M/15 phosphate buffer (pH 7.0) で倍数希釈し、disc 法で各希釈液中の抗生物質濃度を測定し、血清の代りに M/15 phosphate buffer (pH 7.0) を用いた場合の抗生物質濃度を 100 とした相対値で表示した。

## 6. マウス感染防御効果

実験マウスは、ICR 系、♂, 4 W (17~23g), 1 群 10 匹を使用した。

使用菌株と感染菌液の調製は、下記の通りである。

菌 株	前培養 培 地	Mucin 濃 度	調製菌液 cells/ml
<i>E. coli</i> 362	BHI Agar	5 %	4.4 $\times$ 10 <sup>8</sup>
<i>Pr. mirabilis</i> 504	"	5 %	4.0 $\times$ 10 <sup>8</sup>
<i>Kl. pneumoniae</i> 410	"	2 %	1.1 $\times$ 10 <sup>8</sup>
<i>Citrobacter</i> 821	"	5 %	4.4 $\times$ 10 <sup>8</sup>

斜面寒天上に 37°C 一夜培養した菌を上記の濃度の mucin 溶液に懸濁させ、所定の菌濃度とする。この菌液をマウスの腹腔内に 0.5 ml 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、プロビット法により ED<sub>50</sub> を求めた。

## 7. 吸収排泄

## 1) 血清中濃度

薬剤を 20 mg/kg 筋注した。ラットは各時点で 1 群 6~10 匹をクロロホルム蒸気中で麻酔し、心血を採取した。また、イヌおよびサルでは、各時間毎に同一個体より、前腕静脈から採血した。さらに、ヒトの場合は、500 mg を筋注した。各動物の血清で作成した標準液を用いて、disc 法により、濃度を求めた。

## 2) 尿中排泄

ラットは、採尿装置に固定し、薬剤を 20 mg/kg 筋注後、0~3, 3~6, 6~24 時間の各時間帯にわけて採尿した。イヌ、サルでは、薬剤筋注後、所定時間毎にカテーテルをカニューレートして、採尿した。各尿中の薬剤濃度を M/15 phosphate buffer (pH 7.0) で作成した標準液を用いて bioassay し、尿中回収率を算出した。

## 3) 尿中活性物質

CTZ を実験動物および志願者に筋肉内投与し、各時間帯に集めた尿を thin-layer chromatography と bioautography によって検索した。

Thin-layer chromatography は吸着剤 Eastman Chromagram Sheet No. 6061 と溶媒 n-butanol : acetic acid : water (4 : 1 : 5 top layer) を使用した。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 $\times$ 10<sup>8</sup> spores/ml) を 0.2 % 植菌した寒天培地上に約 15 分おいた。Sheet を除去し、寒天培地を 37°C 20 時間培養した後の活性物質を検索した。

## 4) 胆汁中排泄

ラットにペントバルビタールを 20 mg/kg、腹腔内投与して麻酔後、固定した。開腹して胆管にポリエチレンチューブをカニューレートした後、薬剤を 20 mg/kg 筋注し、0~3, 3~6, 6~24 時間の各時間帯にわけて、胆汁を採取した。胆汁試料中の薬剤濃度を、M/15 phosphate buffer (pH 7.0) で作成した標準液を用いて、bioassay し、胆汁中回収率を求めた。

## 5) 組織内分布

ラットに薬剤を 20 mg/kg 筋注後、各時点で 1 群 3 匹のラットを瀉血して殺し、それぞれの臓器を摘出した。摘出した臓器を軽く生理食塩水で洗浄後、濾紙で附着している水分を除き、各臓器毎に 3 四分を pool し、2 倍量のエタノールを加えて、ポリトロン・ホモジナイザーで均質化した。それを 10,000 r. p. m. で 10 分間遠心した上清中の薬剤濃度を 66 % エタノール含有・M/15 phosphate buffer (pH 7.0) で作成した標準液を用いて bioassay し、組織内濃度を算出した。この実験をくり返し、その平均値をとった。

## 6) Pouch 浸出液中濃度

ラットの背部皮内に、空気 20 ml を注射したのち、クロトン油を 1 % 含むオリーブ油 1 ml を pouch 内に注射して無菌炎症を作成した。作成後、6 日目と 7 日目に各抗生物質を 20 mg/kg、筋肉内に投与して、一定時間毎に浸出液を採取した。浸出液中の薬剤濃度を浸出液

で希釈した標準液を用いて bioassay した。

結 果

1. 抗菌作用

1) 抗菌スペクトラム

CTZ は, CEZ および他の Cephalosporin 類と同様, グラム陽性, 陰性菌に抗菌活性をもつ広範囲抗生物質である (Table 1)。ただ好気性菌では, *Pr. vulgaris* IAM 1025 および *Ps. aeruginosa* IAM 1095 に対

Table 1 Antibacterial spectrum of CTZ and other cephalosporins to aerobic bacteria

		MIC : $\mu\text{g/ml}$					
Strain		CTZ	CEZ	CER	CET	CEP	CEC
<i>Staphylococcus aureus</i>	209P JC-1	0.2	0.39	0.1	0.39	0.1	0.39
"	" Newman	0.39	0.78	0.1	0.39	0.1	0.78
"	" Terashima	0.78	1.56	0.1	0.39	0.78	1.56
"	" Smith	0.2	0.39	0.025	0.2	0.1	0.39
"	" ATCC 6538P	0.39	0.39	0.05	0.2	0.2	0.78
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	0.2	0.39	0.05	0.05	0.025	0.2
"	" PCI 219	0.2	0.39	0.05	0.05	0.025	0.2
<i>Micrococcus luteus</i>	PCI 1001	0.39	0.39	0.025	0.1	0.05	0.39
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	III	0.2	0.39	0.1	0.2	0.2	0.2
*	" <i>pyogenes</i> S-23	0.2	0.2	0.05	0.1	0.05	0.39
*	" " A-S-8	0.2	0.2	0.05	0.1	0.05	0.39
*	" <i>faecalis</i> 6733	25	50	25	25	25	12.5
* <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	PW-8	0.05	0.1	0.05	1.56	0.05	0.2
*	" " A-7	0.39	0.78	0.2	1.56	0.78	1.56
*	" " M 406 MGL	0.39	0.78	0.2	0.39	0.78	1.56
<i>Escherichia coli</i>	NIHJ JC-2	6.25	3.13	6.25	25	50	12.5
"	" Yukitoshi	6.25	3.13	6.25	12.5	25	12.5
"	" K-12	0.78	1.56	1.56	25	3.13	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 418	3.13	3.13	12.5	25	6.25	12.5
<i>Proteus vulgaris</i>	IAM 1025	100	>100	100	100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IAM 1095	100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Salmonella typhi</i>	T-287	0.78	1.56	3.13	1.56	3.13	6.25
"	" 0-901	1.56	1.56	3.13	3.13	3.13	6.25
"	" <i>paratyphi</i> A 1015	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13	12.5
"	" <i>schotmuelleri</i> 8006	1.56	3.13	3.13	12.5	6.25	6.25
"	" <i>typhimurium</i> 1406	1.56	3.13	3.13	3.13	6.25	12.5
"	" <i>enteritidis</i> 1891	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	12.5
<i>Shigella dysenteriae</i>	Al Shiga	3.13	3.13	6.25	12.5	12.5	12.5
"	" <i>flexneri</i> 1a EW-8	3.13	6.25	6.25	6.25	25	12.5
"	" " 1b Showa 15	6.25	3.13	3.13	12.5	12.5	12.5
"	" " 2a Komagome B III	3.13	3.13	3.13	12.5	25	12.5
"	" " 3a EW-14	3.13	3.13	6.25	25	12.5	6.25
"	" " 4a Saigon-Arai	1.56	1.56	3.13	12.5	25	6.25
"	" <i>sonnei</i> I EW-33	1.56	0.78	1.56	6.25	12.5	6.25
"	" " II EW-34	3.13	3.13	3.13	25	100	12.5

Streak method,  $10^8/\text{ml}$

\*supplemented with 10% rabbit blood

して全く活性を示さない。嫌気性菌に対しては、グラム陽性菌には全般に活性をもつが、グラム陰性菌には他の Cephalosporin と同様、*Bacteroides*, *Fusobacterium* に耐性である (Table 2)。

## 2) 感受性分布

患者分離の各種の病原菌の CTZ 感受性は、Table 3, 4, 5 および 6 のとおりである。

*Staph. aureus* (40 株) の CTZ 感受性 ( $10^8$ /ml) は、MIC 0.2~3.13  $\mu$ g/ml に分布し、そのうち 21 株 (52.5%) が MIC 0.39  $\mu$ g/ml に集中した。他の Cephalosporin 類と同様、耐性株は全く認められなかった (Table 3)。比較した各 Cephalosporin のうちでは CER が最も強く、ついで CEP, CET の順で、CTZ は CEZ とほぼ同程度であった。しかし、*Staph. aureus* は Cephalosporin 類に対し各種のグラム陰性桿菌よりも高い感受性を示した。

*E. coli* (40 株) の CTZ 感受性は、CEZ と同様に MIC : 1.56~>400  $\mu$ g/ml と広い濃度範囲に分布する。その 20 株 (50%) は 6.25  $\mu$ g/ml に集中した。試験株 40 株中 MIC : 100  $\mu$ g/ml またはそれ以上の高度耐性株は 4 株 (10%) であった。CTZ の *E. coli* に対する抗菌作用は CEZ とほぼ同程度で CET, CEP または

CEC などより明らかにすぐれた抗菌力を示した。

*Kl. pneumoniae* (60 株) の CTZ 感受性は、CEZ と同様に MIC : 1.56~400  $\mu$ g/ml に分布し、60 株中 37 株 (61.7%) が MIC : 3.13  $\mu$ g/ml に集中する。MIC : 100  $\mu$ g/ml またはそれ以上の高度耐性株は 5 株 (8.3%) 存在した。この結果から CTZ の *Kl. pneumoniae* に対する抗菌力は CEZ と同程度で、その他の Cephalosporin 類より強いものと考えられる。

*Pr. mirabilis* (40 株) の CTZ 感受性は、MIC : 3.13~25  $\mu$ g/ml に分布し、それらのうち 23 株 (57.5%) が 12.5  $\mu$ g/ml に集中した。MIC : 50  $\mu$ g/ml 以上の耐性株はなく、対照とした Cephalosporin 類中ではもっともすぐれた活性を示した。

Indole-positive *Proteus* group に対する CTZ の感受性分布は Table 4 のとおりである。

*Pr. vulgaris* (21 株) は  $10^8$ /ml 接種で MIC : 100~>800  $\mu$ g/ml, *Pr. morgani* (20 株) も同じ条件で MIC : 50~>800  $\mu$ g/ml に分布し、大部分の菌株が CTZ に耐性であることが判明した。対照とした Cephalosporin 類も同様の傾向を示した。

*Pr. rettgeri* (20 株) および *Pr. inconstans* (20 株) は、 $10^8$ /ml の接種で CTZ に感受性をもち、前者は

Table 2 Antibacterial spectrum of CTZ and other cephalosporins to anaerobic bacteria

Organism	MIC : $\mu$ g/ml					
	CTZ	CEZ	CER	CET	CEP	CEC
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i> Z-1003	0.78	0.39	1.56	1.56	0.39	1.56
<i>P. aerogenes</i> PL-4-2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.39
<i>P. anaerobius</i> ATCC 14955	1.56	3.13	1.56	1.56	0.78	6.25
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> NCTC 9801	0.39	0.39	0.39	1.56	0.78	6.25
<i>Eubacterium lentum</i> H-1	50	100	12.5	50	50	100
<i>Propionibacterium avidum</i> B-38	1.56	0.78	0.78	0.78	0.78	3.13
<i>Clostridium perfringens</i> SAKAI	0.39	0.78	0.78	1.56	0.78	1.56
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	1.56
<i>Fusobacterium mortiferum</i> H-14	>100	<100	>100	>100	>100	>100
<i>F. glutinosum</i> J-2-43	>100	<100	>100	>100	>100	>100
<i>F. nucleatum</i> B-1	0.2	0.39	0.39	0.2	0.2	0.39
<i>F. varium</i> ATCC 8501	>100	<100	>100	>100	>100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> ss <i>fragilis</i> H-6	>100	<100	>100	>100	>100	>100
<i>B. fragilis</i> ss <i>distasonis</i> W-7	>100	100	25	100	>100	100
<i>B. fragilis</i> ss <i>vulgatus</i> W-6	>100	100	100	>100	>100	>100
<i>B. melaninogenicus</i> ss <i>melaninogenicus</i> W-9	3.13	6.25	0.78	0.78	1.56	6.25

Gas Pak method  
 $10^8$ /ml, Stamp method

Table 3 Distribution of susceptibilities of clinical isolates to CTZ and other cephalosporins

Organism	Anti-biotic	MIC: $\mu\text{g/ml}$ ( $10^8/\text{ml}$ )													Stamp method			
		$\leq 0.05$	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	$>400$	
<i>Staph. aureus</i> 40 strains	CTZ			9	21	3	5	2										
	CEZ			6	19	9	4	2										
	CER	10	14	3	6	2	3	2										
	CET			14	19	7												
	CEP		3	19	13	3	2											
	CEC			1	23	13	3											
<i>E. coli</i> 40 strains	CTZ						2	5	20	3	4	2		1	2		1	
	CEZ						5	5	18	2	3	2		3	1		1	
	CER							5	18	3	4	2		4			2	
	CET							2	3	10	16	4			1		4	
	CEP							1	2	2	4	19	7				5	
	CEC							3	15	12	4	1		3	1		1	
<i>Kl. pneumoniae</i> 60 strains	CTZ						5	37	4	2	5	2		3	1		1	
	CEZ						4	31	9	7	4	1		3			1	
	CER							4	19	27	2	1		3	1		2	
	CET						1	1	12	30	8	2		4	2			
	CEP							4	13	26	9	1		2	3		1	
	CEC									30	22	4		4	2		1	
<i>Pr. mirabilis</i> 41 strains	CTZ							1	11	23	6							
	CEZ							3	5	17	11	5						
	CER								1	9	25	6						
	CET							2	8	18	11	2						
	CEP								5	13	14	9						
	CEC									5	21	15						

Table 4 Distribution of susceptibilities of clinical isolates to CTZ and other cephalosporins

Organism	Anti-biotic	MIC: $\mu\text{g/ml}$ ( $10^6/\text{ml}$ )										MIC: $\mu\text{g/ml}$ ( $10^8/\text{ml}$ )							
		$\leq 0.78$	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	>800	50	100	200	400	800	>800
<i>Pr. vulgaris</i> 21 strains	CTZ						7	2	10	1	1								21
	CEZ					2	4	6	5	4									21
	CER						2	5	10	4									21
	CET						2	3	10	6							1		20
	CEP					1	1	7	5	7									21
	CEC					1	6	5	5	4									21
<i>Pr. morgani</i> 20 strains	CTZ						2	8	7	1	1					3	12	2	3
	CEZ						3	10	3	1	3						5	7	8
	CER							1	8	7	4							5	15
	CET									4	16								20
	CEP									1	19								20
	CEC								3	10	3	4				1		8	11
<i>Pr. rettgeri</i> 20 strains	CTZ	1	1					2	2	1	3	10							15
	CEZ	1	1	1				1	2	1	6	7					1	2	17
	CER							2	1		1	16						13	7
	CET							1	1	1	1	2	13					2	18
	CEP							2	1	1	1	1	13	1				1	19
	CEC							2	1	3	8	6				2	2	9	7
<i>Pr. inconstans</i> 20 strains	CTZ								3	4	6	3							9
	CEZ			1	2	8	2	4	3							1	1	1	17
	CER							3	2	8	4	3					1	1	17
	CET							1	1	7	5	3	3			1	1	2	16
	CEP							1	5	8	2	4				1	1	2	16
	CEC							1	2	9	4	2	2			1	1	2	9

Stamp method

Table 5 Distribution of susceptibilities of clinical isolates to CTZ and other cephalosporins

Organism	Anti-biotic	MIC: $\mu\text{g/ml}$ ( $10^6/\text{ml}$ )											MIC: $\mu\text{g/ml}$ ( $10^9/\text{ml}$ )							Stamp method			
		$\leq 0.78$	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	>800	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>Citrobacter</i> 20 strains	CTZ	1				1	6	4	4			2	2	1				5	3	7	4		
	CEZ		1			5	2	4	3	1		4	4	1					1	3	15		
	CER			1		2	4	7	3	3		3	3	1					2	11	6		
	CET				1	2	8	2	2	1		4	4			1			5	5	9		
	CEP				1	5	5	4	4	1		4	4	1		1		2	2	5	10		
	CEC				1			6	4	5	4	4	4		1				1	9	9		
<i>Ent. aerogenes</i> 19 strains	CTZ	1	4	4	1	3	3	1	2			2	2					2	2	15			
	CEZ	2	4	3	1	1	3	2	2			2	2					1	3	15			
	CER			2	1	2	2	5	4	3		3	3					3	3	13			
	CET				3	4	3	4	4		2	3	3					1	1	18			
	CEP				3	2	5	1	2	1	2	3	3						1	1	18		
	CEC				1	2	1	4	4	6	1	1	1						5	14			
<i>Ent. cloacae</i> 20 strains	CTZ	1			1			6	5	7							2		18				
	CEZ	1			1			4	4	10							1	1	18				
	CER				1		1	4	8	5							1	1	18				
	CET				1	1	1	3	15								1	1	18				
	CEP				1	1	1	1	17								1	1	18				
	CEC				1	1	1	18									1	1	18				
<i>Serratia</i> 18 strains	CTZ							5	13										18				
	CEZ							1	17										18				
	CER						6	1	11										18				
	CET								18										18				
	CEP								18										18				
	CEC								18										18				

MIC :  $\leq 0.78 \sim 200 \mu\text{g/ml}$ , 後者は  $1.56 \sim 100 \mu\text{g/ml}$  に分布した。しかし  $10^8/\text{ml}$  の接種では、両者ともほとんどが CTZ に耐性となった。

*Citrobacter* (20 株), *Ent. aerogenes* (19 株), *Ent. cloacae* (20 株) および *Serratia* (18 株) の CTZ 感受性は Table 5 のとおりである。  $10^6/\text{ml}$  の接種では *Citrobacter* は MIC :  $\leq 0.78 \sim > 800 \mu\text{g/ml}$ , *Ent. aerogenes* (19 株) も MIC :  $1.56 \sim 400 \mu\text{g/ml}$  と感受性株と耐性株が広範囲に分布する。しかし  $10^8/\text{ml}$  の接種では両者ともほとんどが CTZ に耐性であった。

*Ent. cloacae* (20 株) では 2 株 (10%) が CTZ に感受性 (MIC :  $1.56$  および  $6.25 \mu\text{g/ml}$ ) であったが、他のすべての株は高度耐性株 ( $\geq 400 \mu\text{g/ml}$ ) であった。また *Serratia* (18 株) はすべて CTZ に耐性であった。

Table 6 には *Acinetobacter* (15 株) の CTZ 感受性を示す。  $10^6/\text{ml}$  および  $10^8/\text{ml}$  の接種で 2~3 株が感受性を示したが、残りの株はすべて CTZ に耐性であった。

### 3) 抗菌作用に対する各種の因子の影響

培地の種類 : 5 種類の常用寒天培地を用い、CTZ の抗菌力を比較した。CTZ および対照とした 5 種の Cephalosporin 類の 4 菌株に対する抗菌力は、これらの異なった培地間で異常な変動を示さなかった (Table 7)。

培地 pH : CTZ の抗菌活性は酸性側で強く、アルカ

リ側で弱くなる傾向にある (Table 7)。最も影響の大きい菌株は *Kl. pneumoniae* 4106 株で、少ない菌株は *Strept. faecalis* 1215 株であった。CTZ の pH による MIC の変化傾向は CEZ のそれと合わせて類似している。

接種菌量 : CTZ の各試験菌に対する MIC 値は、一般に接種菌量の減少によって小さくなる (Table 7)。この傾向と程度は、CEZ の場合とほとんど同じである。

血清添加 : 血清の 10, 25, 50% をそれぞれ培地に添加しても、抗菌力が全く変化しない試験菌と、軽度の抗菌力の低下が認められた株がある (Table 7)。

### 4) 殺菌作用

HI-Broth 中における *E. coli* NIHJ JC-2 に対する殺菌作用を CEZ および CET と比較した (Fig 2)。CTZ の  $1/4$  MIC を含む条件において、*E. coli* NIHJ JC-2 は、培養開始 4 時間まで、CEZ と同様に生菌数が減少し、6 時間以降、増菌傾向が認められた。CET ではこの条件で、CTZ および CEZ より増菌傾向が急速である。MIC および 4 MIC の添加条件では、3 者ともまったく同じような殺菌効果が認められ、長時間培養においても菌数の増加は認められなかった。

### 5) $\beta$ -lactamase に対する安定性

各種の菌株から分離した Penicillinase (PC-ase) および Cephalosporinase (Ceph-ase) type の  $\beta$ -

Table 6 Distribution of susceptibilities of clinical isolates to CTZ and other cephalosporins

Organism	Anti-biotic	MIC : $\mu\text{g/ml}$												
		$\leq 0.39$	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	>800
<i>Acinetobacter</i> 15 strains ( $10^6/\text{ml}$ )	CTZ	1	1				1		1	1	2	1	3	4
	CEZ	1		1			1			2	2	2	3	3
	CER		1		1	1		2	1	3	1	2	2	1
	CET	1			1		1		1		2	4		5
	CEP	1			1			1			1	2	3	6
	CEC		1			1	1		2		4		2	4
<i>Acinetobacter</i> 15 strains ( $10^8/\text{ml}$ )	CTZ	1				1	1			1	1	2	2	6
	CEZ	1					1	1			2	2	1	7
	CER			1		1	1		2		2	1	1	6
	CET	1					1	1			1	1	3	7
	CEP	1						2				1	1	10
	CEC			1		1	1			2	2	2		6

Stamp method

Table 7 Influence of various factors on the antibacterial activity of CTZ and CEZ

Factor		Antibiotic	Organism*			
			A	B	C	D
Medium	HI Agar (Difco)	CTZ	0.2	12.5	3.13	1.56
	Nutrient Agar (Difco)		0.1	3.13	3.13	1.56
	BHI Agar (Difco)		0.1	3.13	6.25	3.13
	Trypticase Soy Agar (BBL)		0.1	3.13	6.25	3.13
	Mueller-Hinton Agar (Difco)		0.1	3.13	6.25	3.13
	HI Agar (Difco)	CEZ	0.2	12.5	1.56	1.56
	Nutrient Agar (Difco)		0.1	6.25	1.56	1.56
	BHI Agar (Difco)		0.2	6.25	1.56	1.56
	Trypticase Soy Agar (BBL)		0.2	6.25	1.56	3.13
	Mueller-Hinton Agar (Difco)		0.2	6.25	1.56	1.56
pH	6.0	CTZ	≤0.05	6.25	1.56	1.56
	7.0		0.1	12.5	1.56	0.78
	8.0		0.2	12.5	1.56	1.56
	9.0		0.2	12.5	6.25	6.25
	6.0	CEZ	0.1	6.25	1.56	3.13
	7.0		0.2	12.5	1.56	1.56
	8.0		0.2	12.5	1.56	1.56
	9.0		0.2	12.5	6.25	12.5
Inoculum size	10 <sup>8</sup>	CTZ	0.39	25	3.13	3.13
	10 <sup>6</sup>		0.2	12.5	3.13	1.56
	10 <sup>4</sup>		0.1	6.25	1.56	0.78
	10 <sup>8</sup>	CEZ	0.39	25	3.13	3.13
	10 <sup>6</sup>		0.2	12.5	1.56	1.56
	10 <sup>4</sup>		0.1	6.25	1.56	1.56
Serum**	0	CTZ	0.2	12.5	1.56	0.78
	10%		0.2	25	3.13	1.56
	25		0.39	25	1.56	3.13
	50		0.39	50	1.56	3.13
	0	CEZ	0.2	12.5	3.13	0.78
	10%		0.2	25	3.13	1.56
	25		0.39	50	1.56	3.13
	50		0.39	50	1.56	6.25

\* Organism; A : *Staph. aureus* 209-P JC-1

MIC : µg/ml

B : *Strept. faecalis* 1215C : *E. coli* NIHJ JC-2D : *Kl. pneumoniae* 4106

\*\* Serum ; Rabbit

lactamase に対する CTZ の安定性を、同一反応条件における CEZ の水解速度を 100 とする指数で求めた (Table 8)。 *E. coli* 40 および 2 株の *Kl. pneumoniae* 由来の  $\beta$ -lactamase (PC-ase type) では、CTZ は CEZ の 1.3~1.7 倍水解をうけやすかった。また Cephase type の  $\beta$ -lactamase, 5 標品による結果では CTZ を CEZ より強く水解する標品 (約 1.6~2.0 倍) と、同程度または CEZ より弱く水解する標品 (0.79~0.98 倍) がみられた。この実験結果から、CTZ の  $\beta$ -lactamase に対する安定性は、CEZ よりやや低いものであると考えられる。

6) 血清蛋白結合

(1) 結合率

CTZ とヒトおよび各種動物の血清蛋白との結合率を、

Fig. 2 Bactericidal activity of CTZ, CEZ and CET against *E. coli* NIHJ JC-2

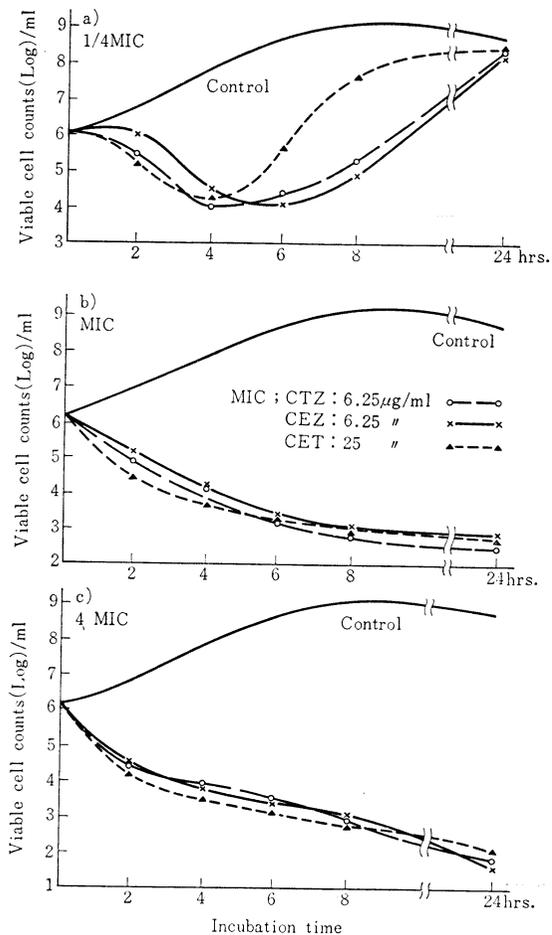


Table 8 Hydrolysis of CTZ and other cephalosporins by different types of  $\beta$ -lactamases

Organism	Cephalosporinase type							
	<i>E. coli</i> 40	<i>Kl. pneumoniae</i> * 118	<i>Kl. pneumoniae</i> ** 164	<i>E. coli</i> 36	<i>Ent. aerogenes</i> 3	<i>C. freundii</i> 15	<i>Ps. aeruginosa</i> 79	<i>Pr. rettigeri</i> 8
Substrate								
CEZ	100	100	100	100	100	100	100	100
CTZ	129	171	128	204	157	79	162	98
CER	487	549	78	133	159	97	83	74
CET	200	147	82	710	479	95	404	120
Cephalosporin C	1133	32	8	1170	468	216	175	205

Relative activity (The velocity of CEZ=100)

\* Indole negative *Kl. pneumoniae*

\*\* Indole positive *Kl. pneumoniae*

$\beta$ -lactamase: partially purified by Gel-filtration on sephadex G-200

$\beta$ -lactamase activity: Initial hydrolysis velocity at the concentration of 50  $\mu$ g/ml at 37°C by U.V. method.

遠心限外濾過法で測定した。結果は Table 9 のとおりで、動物種差がみられる。ヒト血清蛋白との CTZ の結合率は、86%と CET とほぼ同程度である。蛋白結合率の低い CEX および CER よりも結合率は高いが、CEZ より低率である。他の動物血清では、ラットおよびウサギの血清蛋白とは約 90%と、CEZ と同程度に高い結合率を示すが、マウスおよびイヌ血清蛋白との結合率は 27 および 19%と CEZ より低い。

(2) 希釈による結合の解離

抗生物質と血清蛋白との結合の強さを検討するため、抗生物質と蛋白との結合体を、M/15 phosphate buffer (pH 7.0) で倍数希釈し、この操作による抗菌力価の回復を比較した。

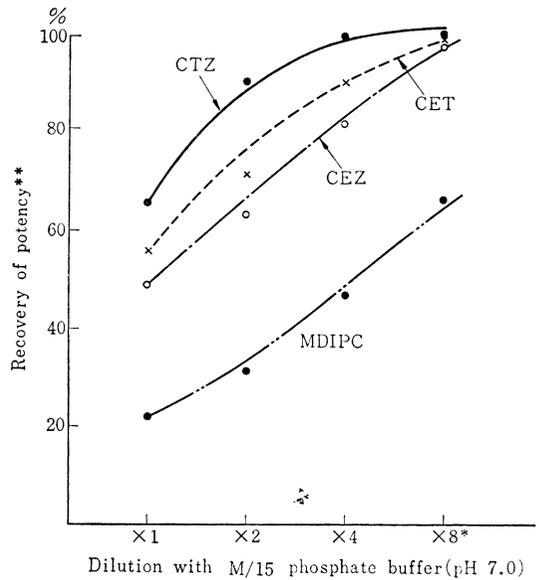
Table 9 Extent of protein-binding of CTZ and other cephalosporins by centrifugal ultrafiltration technique

Serum Antibiotic	Human	Dog	Rabbit	Rat	Mouse
CTZ	86	19	97	90	27
CEZ	92	54	92	94	49
CER	55	22	55	67	32
CET	86	44	86	87	57
CEX	20	7	20	32	12
ABPC	20	10	20	17	5
MDIPC	96	92	96	94	60

Protein-binding (%)

Fig. 3 のとおり、CTZ-蛋白結合体を phosphate buffer で 4 倍に希釈すると、CTZ の力価は完全に回復する。他方 CEZ では、4 倍希釈で約 80%、8 倍希釈で完全に回復する。さらに対照とした CET は、CTZ よりもやや結合が強い。また MDIPC の結合は最も強

Fig. 3 Release of free antibiotics from antibiotic-protein complex by buffer-dilution



\* Human serum (Consera), Conc. of antibiotic: 50 μg/ml  
 \*\* Potency in M/15 phosphate buffer = 100

Table 10 Protecting effect of CTZ and other cephalosporins against experimental infections in mice

Organism	362	ED <sub>50</sub> : mg/mouse			
		CTZ	CEZ	CER	CET
<i>E. coli</i>	362	0.92 (0.451~2.004)	0.63 (0.317~1.289)	0.19 (0.087~0.447)	7.03 (7.014~7.055)
<i>Kl. pneumoniae</i>	410	0.05 (0.033~0.073)	0.03 (0.010~0.039)	0.06 (0.038~0.087)	0.90 (0.591~1.339)
<i>Pr. mirabilis</i>	504	0.37 (0.23~0.71)	0.51 (0.35~0.78)	0.45 (0.23~0.96)	1.53 (0.79~3.08)
<i>Citrobacter</i> sp.	821	3.60 (2.365~5.357)	4.19 (2.787~6.409)	5.00 (3.31~7.68)	>20

( ) = 95% confidence limit

固であった。以上の結果から、CTZ の血清蛋白との結合は、比較的ゆるやかなものであると考えられる。

#### 7) 感染防御効果

実験の項に記載した方法にしたがい、マウスの全身感染症に対する CTZ の皮下注時の治療効果を検討した (Table 10)。

*E. coli* 362 感染に対する CTZ の ED<sub>50</sub> 値は 0.92 mg/mouse で、CEZ に相当する治療効果が得られた。この感染系に対する CTZ の治療効果は、CER よりも弱く、CET よりも有効であった。

*Kl. pneumoniae* 410 感染に対し、CTZ の ED<sub>50</sub> 値は 0.05 mg/mouse と、CER と同等の効果が得られた。またこの感染系に対する CTZ の治療効果は、CEZ よりも弱く、CET よりも有効であった。

*Pr. mirabilis* 504 感染に対する CTZ の ED<sub>50</sub> 値は 0.37 mg/mouse で、CEZ および CER と同等の効果が得られた。またこの感染系に対し CTZ は CET よりも有効であった。

*Citrobacter* sp. 821 感染に対し、CTZ の ED<sub>50</sub> 値は 3.60 mg/mouse で、CEZ と同程度の効果を示した。また CTZ はこの感染系に対し、CER および CET よりすぐれた効果を示した。

## 2. 吸収排泄

### 1) 血清中濃度

#### (1) ラット

SD 系の正常ラットに、CTZ を 20 mg/kg 筋注した際の血清中濃度は Fig. 4 のとおりである。CTZ の投与後15分で平均 33.8  $\mu$ g/ml と最高血清中濃度に達し、1時間で 10.5  $\mu$ g/ml、2時間で 0.9  $\mu$ g/ml となる。

CTZ の最高血清中濃度および、それにつづく30分および60分値は CEZ の約 1/2 である。しかし CTZ の血清中濃度は、CEZ を除く他の Cephalosporin 類 (CER, CET, CEP および CEC) のいずれよりも高いことが認められた。

#### (2) イヌ

健康なビーグル犬に CTZ を 20 mg/kg 筋注すると、CTZ の血清中濃度は30分で平均 49.7  $\mu$ g/ml と最高値に達し、その後6時間で 1.1  $\mu$ g/ml と減少傾向をたどる (Fig. 5)。CTZ のイヌにおける血清中濃度は30分値を除き、対照とした CEZ および CER と大差はない。しかし CET はこれら3種の Cephalosporin 類と比較してかなり低値を示した。

#### (3) サル

健康なサルに CTZ を 20 mg/kg 筋注し、血清中濃度を CEZ, CER および CET と比較した。

Fig. 6 に示すように CTZ の投与後30分で 40.0

Fig. 4 Serum levels of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in rats

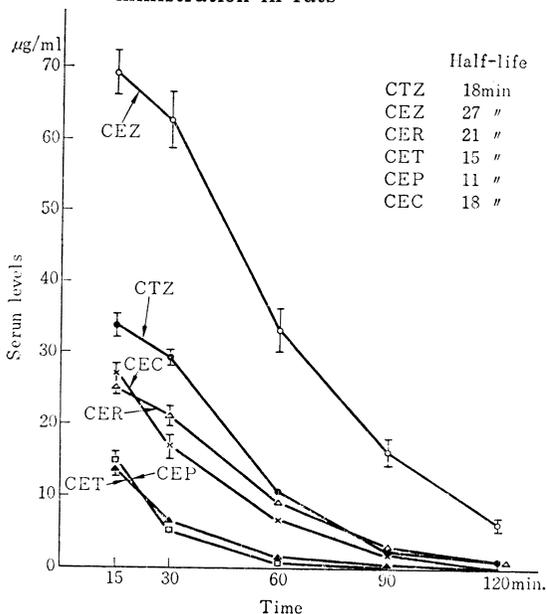
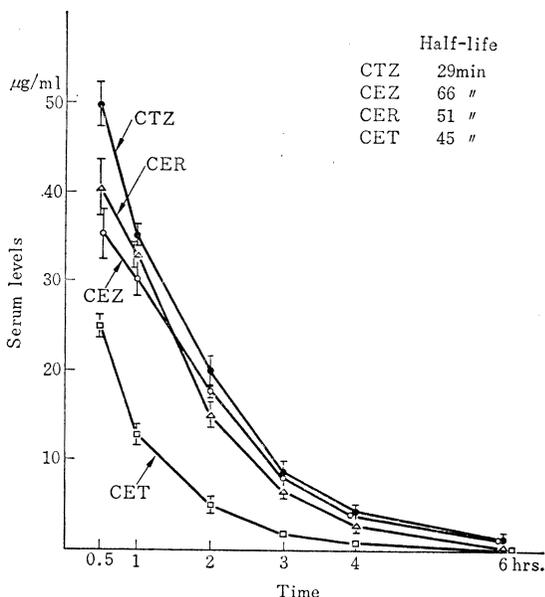


Fig. 5 Serum levels of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in dogs.



$\mu\text{g/ml}$  と最高値に達し、その後減少して4時間で、1.3  $\mu\text{g/ml}$ 、6時間では検出限界濃度以下になる。サルではCTZの血清中濃度は、CERの同量投与とほぼ近い値が得られる。しかしラットの場合と同様、投与初期ではCTZの血清中濃度はCEZの約1/2であるが、CETよりも著明に高値を示した。

Fig. 6 Serum levels of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in monkeys

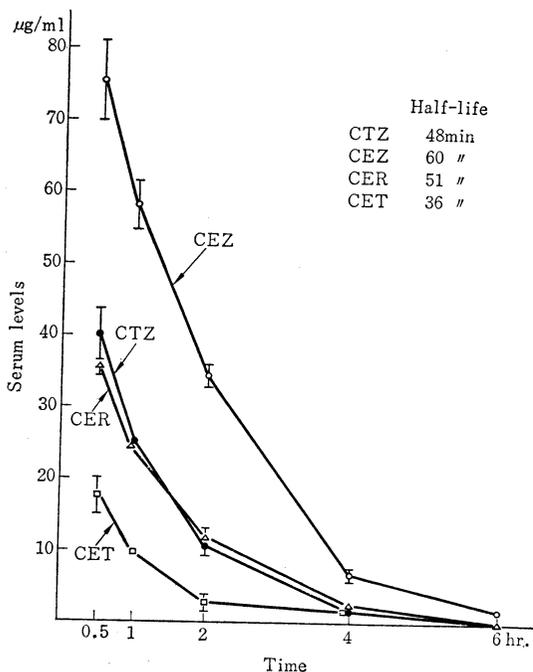


Table 11 Serum levels of CTZ after intramuscular administration in healthy volunteers

Volunteer		Serum levels $\mu\text{g/ml}$					
No.	Weight	0.25 hr.	0.5 hr.	1.0 hr.	2.0 hr.	4.0 hr.	6.0 hr.
A	75 kg	15.5	18.2	17.5	15.2	4.8	1.6
B	69	22.5	20.0	15.5	8.6	0.9	<0.5
C	60	30.5	18.2	13.6	8.2	2.3	<0.5
D	60	29.5	23.0	19.5	9.4	1.5	<0.5
E	56	23.0	19.5	17.2	11.6	2.5	<0.5
F	55	23.0	22.5	19.0	8.7	1.8	<0.5
G	69	30.0	22.5	20.0	8.4	4.2	<0.5
Mean		24.9	20.6	17.5	10.0	2.6	<0.5
± S.E.		2.1	0.8	0.9	1.0	0.5	—

#### (4) 健康成人

Table 11 に示すように、健康な志願者7例に500 mgのCTZを筋注すると、15分で平均24.9  $\mu\text{g/ml}$ の最高値に達し、1時間で17.5  $\mu\text{g/ml}$ 、2時間で10.0  $\mu\text{g/ml}$ 、4時間まで2.6  $\mu\text{g/ml}$ と血清中濃度が維持される。6時間では1例を除き血清中に抗菌活性が認められなかった。この血清中濃度の推移をもとにして、CTZのヒトにおける半減期を求めると56分となる。

#### 2) 尿中排泄

##### (1) ラット

血清中濃度と同様、SD系ラットにCTZを20 mg/kg筋注し、24時間までの尿中回収率を求めた (Table 12)。

CTZの平均83.0%に対し、CEZは80.2%、CERは82.2%と3者間の尿中排泄率にほとんど差はなく、大部分が尿中に排泄されることが認められた。他のCephalosporin類、CET: 22.1%、CEP: 35.1%、CEC: 41.7%に比較してCTZが生体内で比較的安定であることが認められた。

##### (2) イヌ

ビーグル犬にCTZを20 mg/kg筋注後、24時間までの尿中回収率を求めた (Table 13)。

CTZは平均73.5%に対し、CEZ: 80.1%、CER: 78.9%とラットの場合と同様、これらのCephalosporin類は高率に尿中に排泄され、相互に有意差が認められなかった。ただCETは35.1%とCTZなどに比較して低率であった。

##### (3) サル

健康なサルにCTZを20 mg/kg筋注して、24時間までの尿中回収率をCEZおよびCERと比較した

Table 12 Urinary excretion of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in rats

Antibiotic	0 ~ 3 hr.		3 ~ 6 hr.		6 ~ 24 hr.		Total	
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	mg	%
CTZ (n=10)	1900 (368)	72.0 (2.7)	168 (32.0)	5.80 (1.20)	4.50 (1.50)	0.53 (0.15)	3.41 (0.10)	83.0 (1.9)
CEZ (n=10)	1580 (195)	75.7 (1.9)	171 (24.7)	4.05 (0.50)	4.04 (0.90)	0.44 (0.09)	3.59 (0.06)	80.2 (1.7)
CER (n=10)	1420 (125)	79.7 (2.1)	83.6 (12.6)	2.2 (0.30)	2.02 (0.35)	0.31 (0.05)	3.54 (0.12)	82.2 (2.2)
CET (n=10)	391 (60.4)	21.8 (1.5)	12.2 (3.2)	0.3 (0.07)	0.25 (0.15)	0.02 (0.01)	0.95 (0.06)	22.1 (1.5)
CEP (n=5)	570 (102)	34.7 (2.1)	20.7 (8.2)	0.39 (0.16)	0.23 (0.15)	0.04 (0.02)	1.52 (0.08)	35.1 (2.1)
CEC (n=5)	1030 (222)	40.5 (1.1)	51.2 (16.6)	1.16 (0.40)	0.46 (0.23)	0.07 (0.03)	1.86 (0.08)	41.7 (1.0)

( ) =  $\pm$  S.E.

Table 13 Urinary excretion of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in dogs

Antibiotic	0 ~ 3 hrs.		3 ~ 6 hrs.		6 ~ 24 hrs.		Total	
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	mg	%
CTZ (n=6)	2480 (447)	54.1 (3.5)	896 (215)	15.9 (2.8)	119 (48.1)	3.6 (1.3)	170 (6.7)	73.5 (2.1)
CEZ (n=5)	3030 (743)	64.5 (2.8)	718 (95)	14.2 (0.6)	29.1 (4.8)	1.4 (0.1)	175 (8.4)	80.1 (2.9)
CER (n=5)	2040 (344)	70.1 (4.7)	388 (30)	7.8 (0.6)	19.6 (3.2)	1.0 (0.1)	177 (8.6)	78.9 (4.8)
CET (n=5)	622 (54)	33.1 (2.3)	71 (25)	1.5 (0.3)	6.7 (3.9)	0.4 (0.2)	76.3 (6.0)	35.1 (2.0)

( ) =  $\pm$  S.E.

Table 14 Urinary excretion of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in monkeys

Antibiotic	0 ~ 2 hr.		2 ~ 4 hr.		4 ~ 6 hr.		6 ~ 24 hr.		Total	
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	mg	%
CTZ (n=6)	2020 (859)	52.7 (2.8)	1020 (132)	15.8 (0.8)	354 (121)	4.0 (1.4)	3.0 (0.9)	0.2 (0.04)	108 (4.8)	72.7 (1.4)
CEZ (n=3)	1410 (139)	45.0 (8.3)	1240 (441)	28.6 (6.8)	139 (38)	4.6 (0.7)	48.6 (17.5)	2.2 (0.7)	120 (10)	80.3 (0.5)
CER (n=3)	764 (37)	58.6 (2.9)	780 (234)	15.8 (3.2)	218 (75)	2.2 (0.6)	6.3 (2.0)	0.3 (0.1)	115 (10)	74.4 (1.5)
CET (n=3)	602 (92)	38.8 (4.7)	405 (63.3)	9.8 (4.1)	25.4 (9.1)	0.83 (0.27)	0.25 (0.03)	0.02 (0.01)	77.2 (8.2)	49.4 (2.7)

( ) =  $\pm$  S.E.

(Table 14)。

CTZ, CEZ および CER は、それぞれ 72.7%, 80.3% および 74.4% と、他の実験動物と同様 3 者の回収率に大差がなく、CET は 49.4% と比較的 low 率であった。

(4) 健康成人

健康な志願者 7 名に CTZ を 500 mg, 1 回筋注し、24 時間までの尿中排泄を検討した (Table 15)。24 時間の総回収率は、平均 86.6% と実験動物における成績から推察されるとおり高率に尿中から回収され、この Cephalosporin のヒト生体内における安定性が確認された。また総排泄量の約 75.8% は、筋注後 3 時間までの尿中から回収され、CTZ の排泄が迅速であることが認められた。

また尿中濃度は 1 時間までの尿に平均 2,390  $\mu\text{g/ml}$

と最も高く、以後濃度は低下するが 3~6 時間尿にも平均 244  $\mu\text{g/ml}$  (80~440  $\mu\text{g/ml}$ ) と、CTZ の感受性菌に対して有効濃度に排泄されることが認められた。

(5) 尿中活性物質

実験動物に 20 mg/kg, および志願者に 500 mg 筋注後、尿中に排泄された活性物質が CTZ であるかどうかを検索するため、Fig. 7 に記載した方法により TLC で展開し、bioautography で CTZ 標品と Rf 値を比較した。使用した Fig. 7 の溶媒系では、各動物の尿中活性物質は CTZ 標品のそれとよく一致した。また他の溶媒系における展開結果も同様な結果を示した。従って各動物の尿中に排泄された抗菌活性物質は CTZ であることが確認された。

3) 胆汁中排泄

Table 15 Urinary excretion of CTZ after intramuscular administration in healthy volunteers

Volunteer		0~1 hr.		1~2 hr.		2~3 hr.		3~6 hr.		6~24 hr.		Total	
No.	Weight	$\mu\text{g/ml}$	%	mg	%								
A	75 kg	887	24.0	887	26.2	730	17.7	395	20.0	11.7	3.86	459	91.8
B	69	1150	39.8	897	31.6	540	13.8	144	7.34	3.40	0.86	467	93.4
C	60	1440	41.4	835	25.0	690	12.3	185	5.00	2.74	1.06	424	84.8
D	60	8000	38.4	4630	33.4	1380	8.0	440	7.66	4.30	0.82	441	88.3
E	56	1370	29.0	1170	30.0	780	12.3	358	17.2	3.00	0.83	447	89.3
F	55	1710	30.4	960	27.2	290	12.4	80.0	7.64	2.50	0.91	393	78.6
G	69	2170	41.6	670	24.6	305	11.7	105	1.55	1.48	0.29	399	79.7
Mean		2390	34.9	1440	28.3	674	12.6	244	9.48	4.16	1.23	433	86.6
± S.E.		948	2.7	535	1.3	139	1.1	56.5	2.50	1.29	0.44	10.8	2.17

Fig. 7 Bioautograms of urine of rats, dogs, monkeys (20 mg/kg) and healthy volunteers (500 mg) after i. m. injection of CTZ

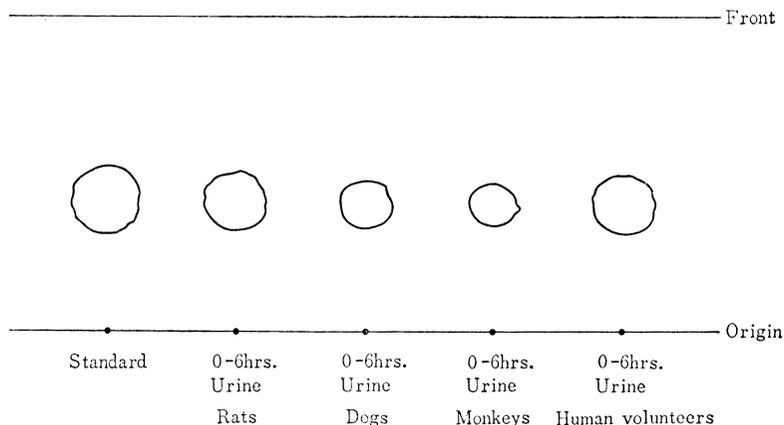


Table 16 Biliary excretion of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in rats

Antibiotic	0 ~ 3 hr.		3 ~ 6 hr.		6 ~ 24 hr.		Total	
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	mg	%
CTZ (n=10)	67.4 (10.2)	4.3 (0.6)	1.6 (0.4)	0.08 (0.02)	—	—	0.194 (0.029)	4.4 (0.6)
CEZ (n=10)	141 (17.1)	9.4 (1.3)	12.3 (1.3)	0.5 (0.05)	0.05 (0.02)	0.01 (0.00)	0.430 (0.06)	9.9 (1.3)
CER (n=10)	6.0 (0.72)	0.37 (0.05)	1.23 (0.14)	0.05 (0.01)	0.05 (0.02)	0.01 (0.00)	0.017 (0.002)	0.44 (0.06)
CET (n=10)	12.0 (1.8)	0.90 (0.14)	0.05 (0.02)	0.0 (0.00)	0.05 (0.02)	0.01 (0.00)	0.041 (0.007)	0.91 (0.14)
CEP (n=6)	22.9 (1.3)	1.59 (0.13)	0.26 (0.07)	0.01 (0.00)	0.10 (0.00)	0.02 (0.00)	0.060 (0.005)	1.62 (0.13)
CEC (n=6)	<0.6 (0.00)	<0.04 (0.00)	<0.6 (0.00)	<0.12 (0.01)	<0.60 (0.00)	<0.05 (0.00)	<0.010 (0.001)	<0.22 (0.01)

( ) =  $\pm$  S.E.

Table 17 Tissue distribution of CTZ and other cephalosporins after intramuscular administration in rats

Antibiotic	Time (min.)	Tissue levels : $\mu\text{g/g}$					Serum : $\mu\text{g/ml}$
		Liver	Kidneys	Lungs	Heart	Spleen	
CTZ (n=6)	15	9.2	71.3	8.7	5.1	2.3	33.1
	30	9.8	48.0	6.4	4.8	1.9	29.0
	60	4.8	22.8	3.5	2.2	0.6	13.5
	90	1.4	6.9	0.9	0.5	—	3.8
CEZ (n=9)	15	11.0	53.4	13.2	8.3	3.2	63.8
	30	16.3	45.4	10.9	5.8	2.7	50.0
	60	9.5	33.4	6.6	4.7	1.8	30.8
	90	5.0	13.6	3.5	2.1	1.0	12.5
CER (n=9)	30	8.6	70.3	6.8	3.0	2.1	19.6
	60	6.8	27.9	3.3	1.4	1.1	7.8
	90	4.9	8.7	1.3	0.7	1.0	2.7
CET (n=9)	30	2.4	8.5	0.6	0.3	—	5.5
	60	0.4	1.6	0.1	—	—	1.4
	90	—	—	—	—	—	0.3
CEP (n=6)	30	1.1	8.1	0.9	0.5	0.2	6.3
	60	0.6	3.0	0.2	0.04	—	1.2
	90	—	—	—	—	—	—
CEC (n=6)	30	3.6	15.2	2.5	2.0	0.4	19.3
	60	2.5	3.6	0.9	0.3	—	6.3
	90	—	—	—	—	—	—

(—) : not detected

SD系ラットにCTZを20 mg/kg筋注し、24時間までの胆汁中への排泄を他のCephalosporin類と比較した(Table 16)。

CTZの排泄率は平均4.4%で、CEZの9.9%に比較すると低率ではあるが他のCephalosporin類(CER, CET, CEPおよびCEC)の<0.22~1.62%に比較するとやや胆汁中移行性が良い。

#### 4) 組織内分布

SD系ラットにCTZを20 mg/kg筋注し、各組織内の濃度を測定した(Table 17)。この投与量で検討したすべての組織に活性が認められ、最高濃度(15~30分値)は腎(71.3  $\mu\text{g/g}$ )、肝(9.8  $\mu\text{g/g}$ )、肺(8.7  $\mu\text{g/g}$ )、心(5.1  $\mu\text{g/g}$ )、脾(2.3  $\mu\text{g/g}$ )の順となった。

CTZの組織内濃度をCEZと比較すると、投与後15~30分の腎中濃度を除いて他のすべての組織内濃度は、CEZより低かった。しかし、CTZはCET, CEPおよびCECよりもすべての組織において高い濃度を示した。

#### 5) ラット pouch 浸出液中濃度

実験の項に記載した方法により、無菌炎症 pouch を作成したSD系ラットにCTZおよびCEZをそれぞれ20 mg/kg筋注し、pouch内の浸出液中の濃度を比較した(Fig. 8-a, b)。Pouch作成後6日および7日目で、CTZおよびCEZの浸出液中濃度は異なり、日数の経過によって移行性は低下する。しかし、いずれの条件においてもCTZの浸出液中濃度は、CEZの場合と比較してやや低値であった。

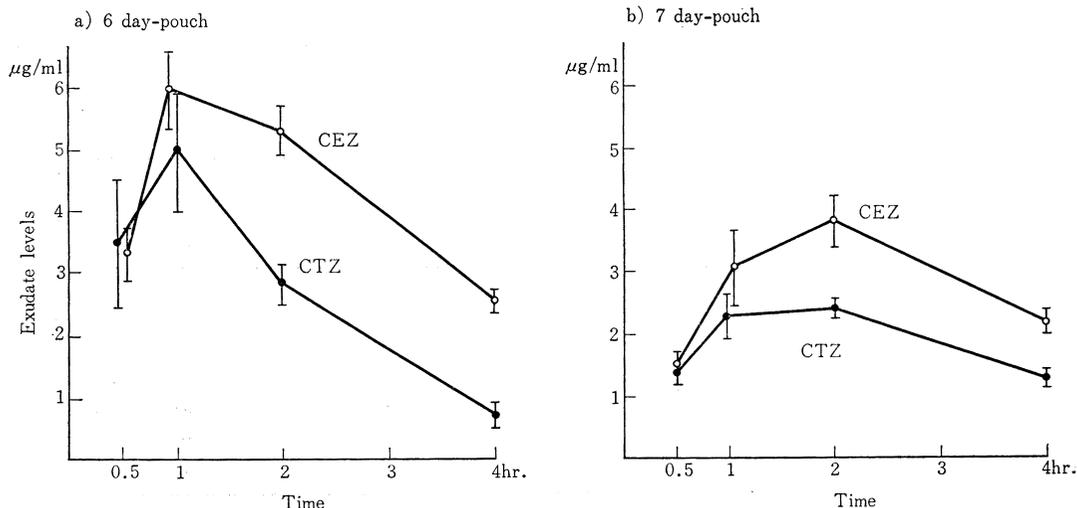
## 考 察

本報における実験結果から、各種病原細菌に対する抗菌活性について、CTZとCEZの間には明らかな相違が認められなかった。CTZはCEZと同様、グラム陰性桿菌群のうち、起因菌として最も検出頻度の高い*E. coli*, *Pr. mirabilis*, *Kl. pneumoniae*に対し既知のCephalosporin誘導体のうち最も活性が強い。またCephalosporin類に耐性菌とみなされているグラム陰性桿菌のうち、*Pr. rettgeri*, *Pr. inconstans*, *Citrobacter* および *Ent. aerogenes*などは、低接種菌量においてCTZおよびCEZに中等度またはそれ以上の感受性を示す菌株が多かった。

CTZとCEZの最も明瞭な相違は、血清蛋白との結合性に認められた。CTZの血清蛋白との結合率はCEZと比較してそれ程大きく相違しない。しかし希釈による結合体よりの活性物質の遊離率から、CTZの蛋白結合の強度はCEZよりもかなり低率であることが推定される<sup>9)</sup>。抗生物質の蛋白結合の臨床効果におよぼす影響については、現在まで多くの論議がなされてきたが、ほとんど解明がなされていない。従って*in vitro*抗菌活性が類似し、蛋白との結合強度が異なる両薬剤の臨床的効果ならびに忍容性の比較検討は、血清蛋白結合の臨床面におよぼす影響の解明にある示唆を与えるかも知れない。

つぎにラットを用いた実験において、CTZの腎内濃度がCEZよりも投与初期に著明に高いことが注目される。CTZの腎内濃度/血清中濃度を求めると、2.15(15分)、1.65(30分)および1.69(60分)となり、各時

Fig. 8 Exudate levels of CTZ and CEZ after intramuscular administration in rats with granuloma pouch



間とも血清中濃度の約1.6~2倍の高濃度にCTZは腎内に存在した。これに対しCEZはそれぞれ0.84, 0.91および1.08倍と血清中濃度とほぼ対応した結果が得られた。腎以外の組織ではこのように極端ではないが、全体として組織内濃度/血清中濃度はCEZよりも大となる。この結果からCTZの血液中から組織内への移行率がCEZよりも高いことを示している。またこの事実はCTZの血清蛋白との結合強度がCEZよりも弱いことに起因するかも知れない。またラットを用いた実験で、CTZの投与初期の腎内濃度が特異的に高いことは、腎よりのこの抗生物質の排泄がCEZより速いことを反映しているかも知れない。事実、健康志願者にCTZを筋注した際の血清中濃度の半減期、すなわち約1時間は既報のCEZのその約1/2に相当する。CEZと同等の抗菌力を持ち、CEZより腎排泄の速いこの新しい抗生物質は、腎障害を伴った症例における抗生物質の蓄積性を考慮すると有用であるかも知れない。

#### ま と め

藤沢薬品中央研究所で合成された新しい注射用Cephalosporin誘導体、CTZの細菌学的評価を行ない、つぎのような結果が得られた。

1. CTZは、他の注射用Cephalosporin類と同様、グラム陽性および陰性菌に作用する広範囲抗生物質である。
2. 患者分離の各種の病原菌に対し、CEZとほぼ同程度の抗菌力を示す。
3. CTZの抗菌作用は培地の種類によって変動しないが、酸性側pHおよび低接種菌量において増強される。しかし、血清の存在下における抗菌力の低下は比較的軽度である。
4. CTZの作用は、CEZと同様殺菌的である。
5. 各種菌株から分離した $\beta$ -lactamase(PC-aseおよびCeph-ase)に対しては、概してCEZよりやや不安定である。
6. CTZの血清蛋白結合は、動物種差があり、ヒト、イヌおよびマウスの血清蛋白とはCEZより結合率が低い。しかし、ラットおよびウサギの血清蛋白とはCEZと同程度の結合率を示す。

また、その結合は、CEZ, MDIPCよりもゆるやかである。

7. 4種のグラム陰性菌によるマウスの全身感染症に対するCTZの皮下投与時の治療効果は、概してCEZと同等で、CETよりも有効であった。
8. CTZの筋注時の血清中濃度を健康成人(500mg)および各種の実験動物(20mg/kg)について検討し

た。ラットおよびサルでは、CTZの血清中濃度は、CEZの約1/2と低いが、CETよりも明らかに高い濃度を示した。またイヌでは、CEZおよびCERと大差のない濃度が得られた。健康成人では、筋注15分で24.9 $\mu$ g/mlとpeakに達し、4時間(2.6 $\mu$ g/ml)まで、血清中濃度が維持された。この条件におけるCTZの血清中半減期は56分である。

9. ラット、イヌ、サルに20mg/kg筋注時の24時間尿中回収率は、それぞれ平均83.0%, 73.5%, 72.7%とCEZおよびCERなどと大差はない。しかし、いずれの動物においてもCETよりも明らかに高率であった。また健康志願者に500mg1回の筋注後24時間の回収率は86.6%であった。最高尿中濃度は、平均2,390 $\mu$ g/ml(1時間尿)で、3~6時間尿にも平均244 $\mu$ g/mlと有効濃度で排泄された。

10. ラット、イヌ、サルおよび志願者の尿中に排泄された活性物質は、CTZだけであることが、bioautographyによって確認された。

11. CTZをSD系ラットに20mg/kg筋注すると24時間に平均4.4%が胆汁中に排泄される。CEZよりやや低率であるが、CER, CET, CEP, およびCECよりも高率であった。

12. SD系ラットに20mg/kg筋注によって、CTZは腎、肝、肺、心、脾など検討したすべての組織に活性が分布した。それらの値は投与初期の腎中濃度を除き、CEZより低くCETよりも高かった。

13. CTZをSD系ラットに20mg/kg、筋注すると、ラットのpouch浸出液中によく移行する。

#### 文 献

1. NISHIDA, M., T. MATSUBARA, T. MURAKAWA, Y. MINE, Y. YOKOTA, S. KUWAHARA & S. GOTO.: *Antimicro. Agents & Chemother.* 236-243, 1969
2. The Symposium at the 18th Annual Meeting of the Japan Society of Chemotherapy. Okayama, June, 7, 1970
3. Clinical Symposium on cefazolin, Key Biscayne, Florida, March 29-30, 1973
4. Supplement Editors; H. Knothe, W. Marget, R. Timmler, *Infection* 2: 1-106, 1974, Supplement 1
5. SHIMIZU, T.: Studies on protein binding of cefazolin and other antibiotics. *Jap. J. Antibiotics* 27(3): 296-301, 1974

## IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION OF CEFTEZOLE, A NEW CEPHALOSPORIN C DERIVATIVE

MINORU NISHIDA, TAKEO MURAKAWA, TOSHIAKI KAMIMURA,  
NAOHIKO OKADA, HIROSHI SAKAMOTO, SHIGEMI FUKADA,  
SHOJI NAKAMOTO, YOSHIKO YOKOTA and KAZUYO MIKI  
Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd. Osaka, Japan

Ceftazole (CTZ), a new cephalosporin C derivative, is a broad-spectrum bactericidal antibiotic. It has almost identical antimicrobial activity against pathogenic organisms isolated from patients with that of cefazolin (CEZ) which is similar in chemical structure. The therapeutic effect of CTZ on experimental infections in mice was similar to that of CEZ and was superior to cephalothin (CET). The binding of CTZ to serum proteins was somewhat lower than that of CEZ. It is apparent from other bacteriological studies that CTZ and CEZ do not differ significantly in antibacterial properties. The serum levels of CTZ in the test animals and volunteers were determined after i.m. injection of 20 mg/kg and after a single dose of 500 mg, respectively. The serum levels of CTZ in volunteers peaked at 24.9  $\mu\text{g/ml}$  15 min after injection and remained effective (about 2.6  $\mu\text{g/ml}$ ) at 4 hours. The serum half-life under the same conditions was 56 min, i.e., about one half that of CEZ. The 24 hr. urinary recovery rate was 86.6%. Most of the administered CTZ was excreted unchanged mainly through the urinary tract. The biliary excretion rate in SD strain rats after i.m. injection of 20 mg/kg was about 4.4%. As compared with commercially available cephalosporins, CTZ was second only to CEZ in biliary excretion rate. Various tissue levels of CTZ in animals were higher than CET, but with the exception of renal levels in the early stage after administration, were lower than CEZ.