

# 新経口 Cephalosporin 剤 Cefroxadine (CGP-9000) の *in vitro, in vivo* 抗菌作用

五島達智子・辻 明良・小川正俊・金子康子・桑原章吾  
東邦大学医学部微生物学教室

新経口 Cephalosporin 剤 Cefroxadine (CGP-9000, CXD) の *in vitro, in vivo* 抗菌作用を Cephalexin (CEX), Cefatrisine (CFT) と比較し、次の結果を得た。

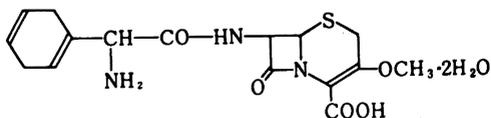
CXD は CEX とほぼ同様の抗菌スペクトルを有し、*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. mirabilis* などに対する抗菌力も CEX と同程度であったが、CFT より弱い。しかし、*E. coli* に対する殺菌作用は CEX より強く、CEX では再増殖が認められる株に対し CXD は著明な菌数の減少が認められた。

$\beta$ -lactamase に対する安定性は Penicillinase 型の酵素 (*E. coli*, *Klebsiella*) に対し CEX より安定であったが Cephalosporinase 型の酵素 (*Citrobacter*) では CEX と同様、不安定であった。

*E. coli*, *P. mirabilis* を感染菌としたマウス実験感染では CXD の治療効果は CEX よりすぐれていた。

## 序 文

経口 Cephalosporin 剤として新しく開発された Cefroxadine (CGP-9000, CXD) は 7-Amino cephalosporanic acid (7-ACA) の 3 位にメトキシ基を導入したもので、化学名は 7 $\beta$ -[D-2-Amino-2-(1,4-cyclohexadienyl)-acetamido]-3-methoxy-ceph-3-em-4-carboxylic acid で、その構造式は次の如くである。



本剤の抗菌スペクトルはグラム陽性菌、グラム陰性菌に広く抗菌作用を示し、その抗菌力は従来の経口 Cephalosporin 剤の 1 つである Cephalexin より強く、短時間で強い殺菌作用を有し、感染防御効果も Cephalexin より *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, において有効であるといわれている。また、本剤は経口投与により Cephalexin とほぼ同等の血中濃度を示し、生体内ではほとんど代謝されることなく、主として尿中に排泄されるという。

本報告は CXD の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を同系統の経口剤である Cephalexin および Cefatri-

zine と比較したものである。

## 実験材料および実験方法

### 1. 使用菌株

教室保存株および臨床材料から分離したグラム陽性菌、グラム陰性菌の多数株を使用した。

### 2. 薬 剤

CXD (881  $\mu$ g/mg) 日本チバガイギー  
Cephalexin (CEX, 952  $\mu$ g/mg) 武田薬品  
Cefatrisine (CFT, 843  $\mu$ g/mg) 万有製薬

### 3. 薬剤感受性測定法

日本化学療法学会標準法にしたがって行った。

### 4. $\beta$ -lactamase に対する安定性

#### 1) 酵素液の調整

*E. coli* ML 1410 RGN 823, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN 79 および *C. freundii* GN 346 株をそれぞれ普通ブイヨン (500 ml) にて 37°C 18 時間培養した菌液を遠心にて集菌したあと、少量の生理食塩液に浮遊し、超音波にて菌体を破壊した。さらに破壊液を無菌濾過し、その濾液をもとの量 (500 ml) になるようブイヨンで希釈して得た液を被検酵素液とした。

#### 2) 酵素活性の測定 (Bioassay 法)

上記酵素液に CXD を 50  $\mu$ g/ml になるよう加え 37°C で 0.5, 1, 2, 4, 6 時間 incubation したのち 100°C 1 分

間処理して酵素を不活化し, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 株を検定菌とする disc 法にて残存活性をもとめた。また, 対照として CEX を用い, 同時に行った。

5. 殺菌作用

*E. coli* No. 121 および *E. coli* HI 54 株を用い普通ブイオンに接種し, 菌数が約  $10^8$  cells/ml になったとき, CXD の  $\frac{1}{2}$  MIC, MIC, 2 MIC, および 4 MIC 量を追加し, 37°C にて振盪培養した。添加後 1, 2, 4, 6, 9 および 24 時間目の生菌数を測定した。また, 同時に CEX についても行い比較した。

6. マウス実験感染における感染防御効果

マウスは ICR 系 4 W, 雄,  $19 \pm 1$  g を用い, *E. coli* C-11, *E. coli* No. 121, *E. coli* HI 54 および *P. mirabilis* GN 79 株を感染菌とし, マウス腹腔内に感染させ, 1 時間後に経口投与にて, CXD および CEX による治療を行った。観察は感染後 5 日間行い, マウスの生死にて  $ED_{50}$  値を算出した。

実験成績

1. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離した *Staphylococcus aureus* 32 株, *Staphylococcus epidermidis* 50 株, *E. coli* 57 株, *Proteus mirabilis* 50 株, *Proteus vulgaris* 38 株, *Proteus rettgeri* 41 株, *Proteus morganii* 43 株, *Proteus inconstans* 102 株, *Pseudomonas aeruginosa* 39 株 および *Achromobacter xylosoxidans* 58 株の感受性分布を CXD, CEX および CFT について, 比較した成績を Fig. 1~Fig.

10 に示した。

グラム陽性菌の *S. aureus*, *S. epidermidis* に対する CXD の抗菌力は CFT より劣り, CEX とほぼ同等で, その MIC のピークは  $10^6$  cells/ml 接種で  $1.56 \sim 3.13$   $\mu$ g/ml であった。

*E. coli* では CEX よりわずかにすぐれた感受性を示したが, CFT より劣り, その感受性ピークは  $6.25$   $\mu$ g/ml であった。

インドール反応陰性の *P. mirabilis* に対しては CFT の抗菌力がもっともすぐれ, CXD は CEX とほぼ同等の抗菌力を示した。

インドール反応陽性の *P. vulgaris*, *P. morganii* に対しては 3 薬剤とも抗菌力が弱く, ほとんどの株が耐性を示した。また, *P. rettgeri* では  $10^8$  cells/ml 接種で, CXD の抗菌力は CFT, CEX よりすぐれていたが,  $10^6$  cells/ml 接種で CFT より劣り  $3.13$   $\mu$ g/ml から  $100$   $\mu$ g/ml 以上と幅広い分布を示した。*P. inconstans* に対しても, CXD は  $0.78$   $\mu$ g/ml から  $100$   $\mu$ g/ml 以上と幅広く分布し, CEX と同程度の抗菌力を示した。

*P. aeruginosa* に対しては, 3 薬剤とも全株  $100$   $\mu$ g/ml 以上の MIC を示すすべて耐性株であった。

*A. xylosoxidans* では CXD は全株耐性であり, CFT より劣っていた。

2.  $\beta$ -lactamase に対する安定性

*E. coli* ML 1410 RGN 823, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN 79 および *C. freundii* GN 346 株より得られた酵素に対する CXD の安定性を CEX と比較し

Fig. 1 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 32 strains

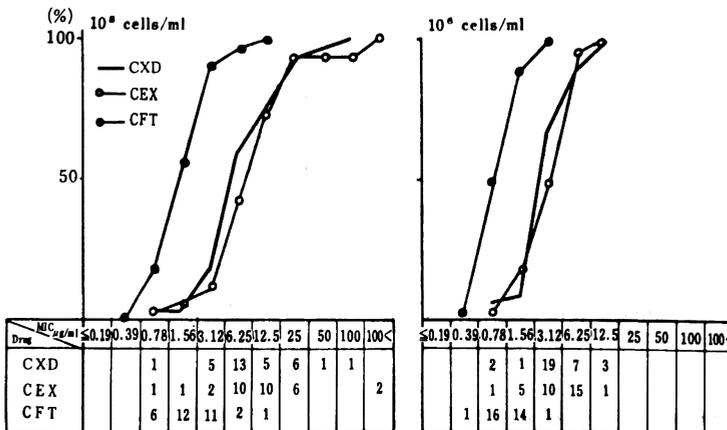


Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*S. epidermidis* 50 strains

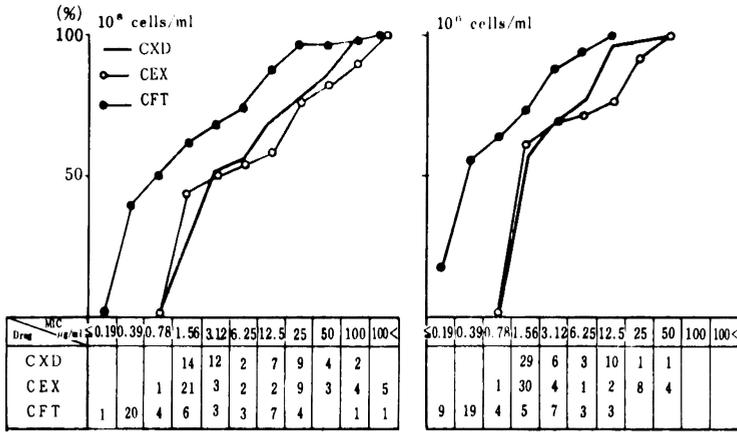


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*E. coli* 57 strains

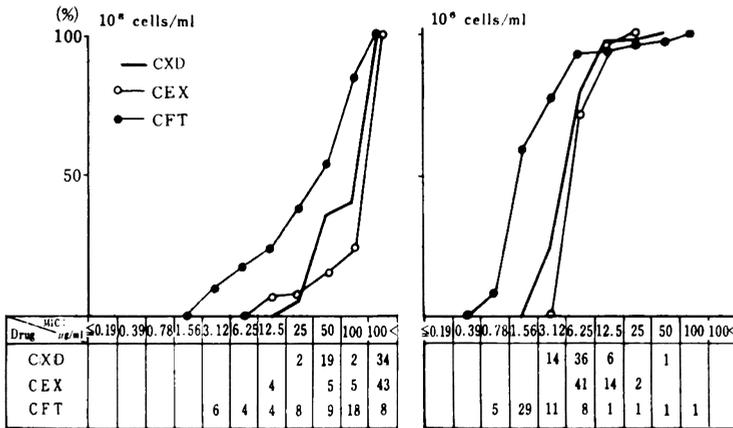


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*P. mirabilis* 50 strains

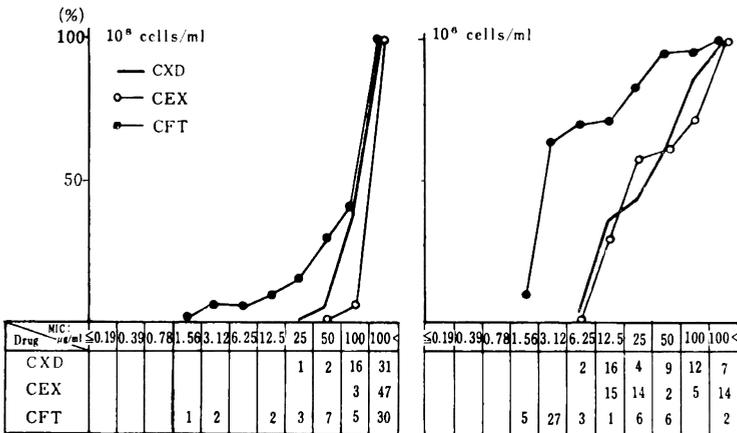


Fig. 5 Sensitivity distribution of Clinical isolates  
*P. vulgaris* 38 strains

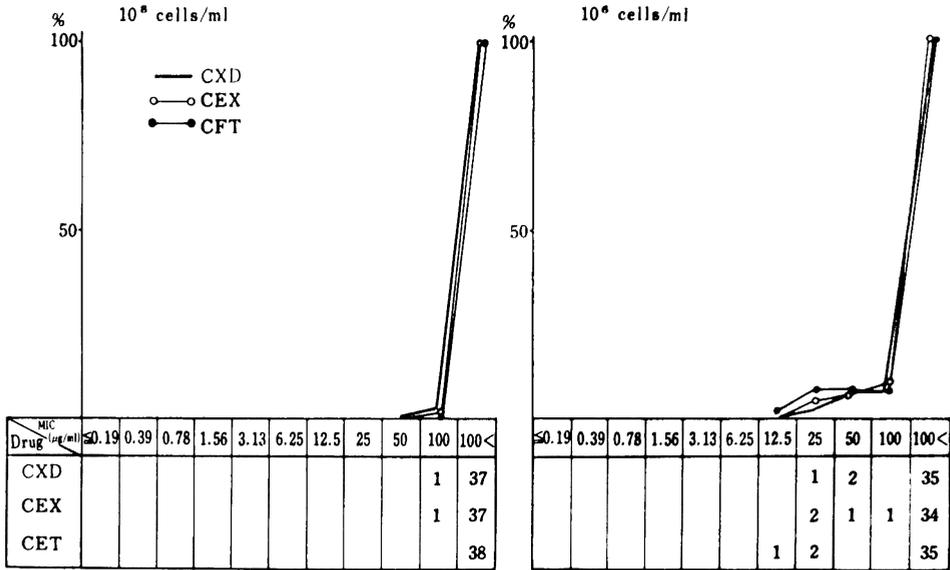


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*P. rettgeri* 41 strains

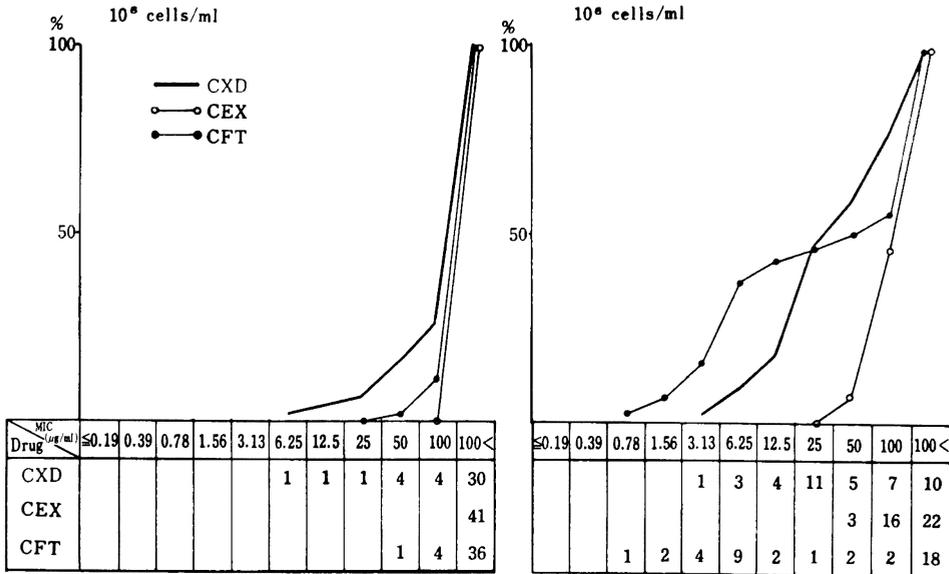


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*P. morgani* 43 strains

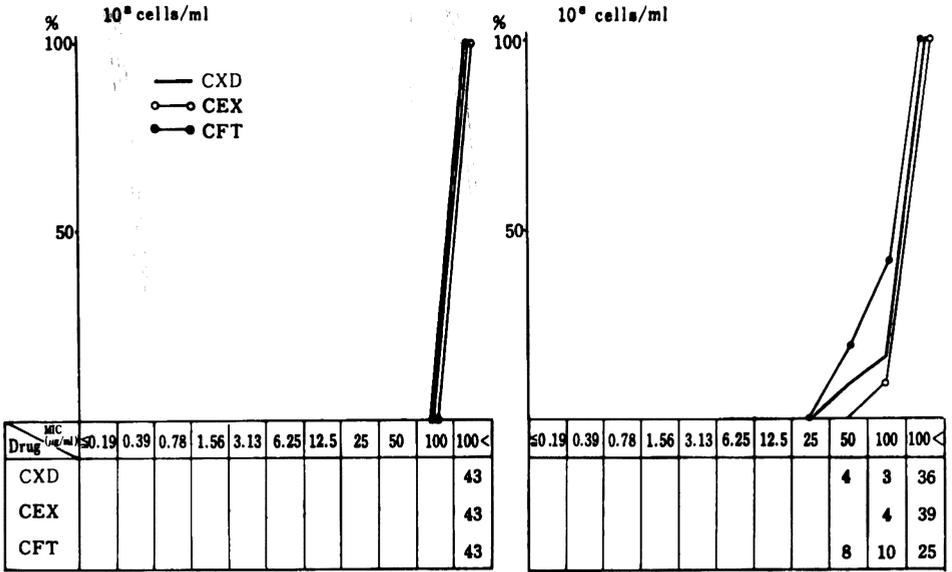


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*P. inconstans* 102 strains

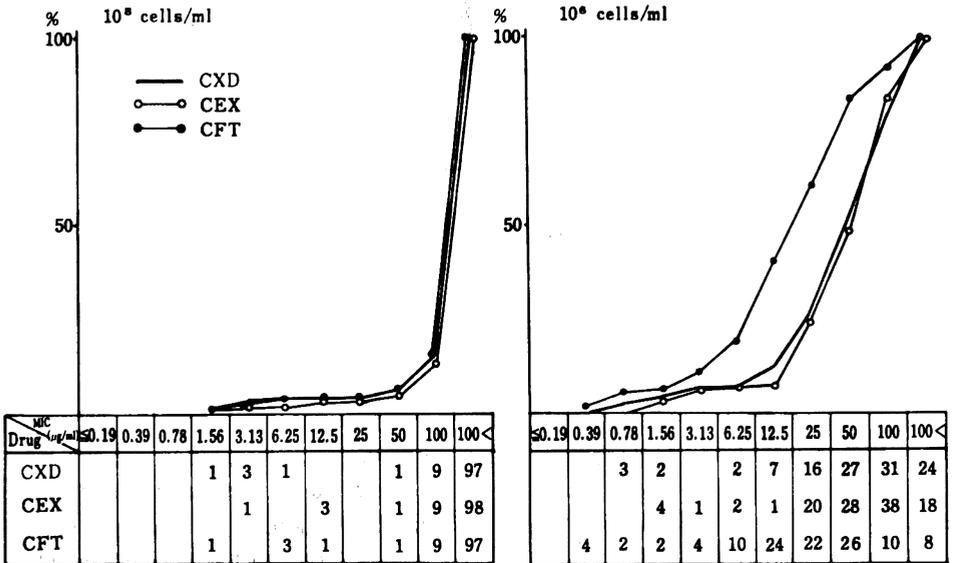


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*P. aeruginosa* 39 strains

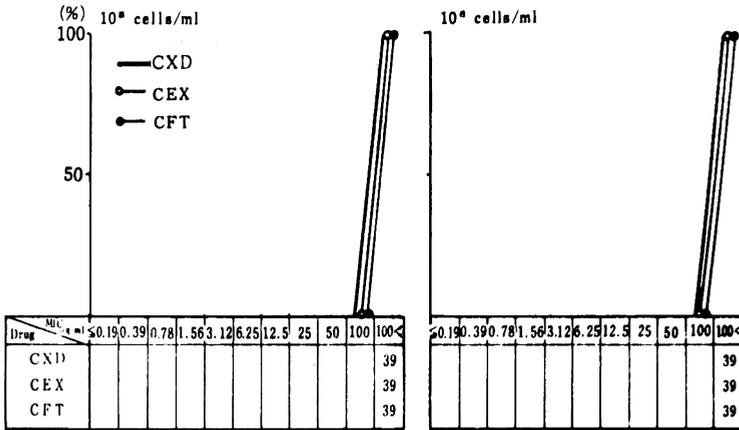
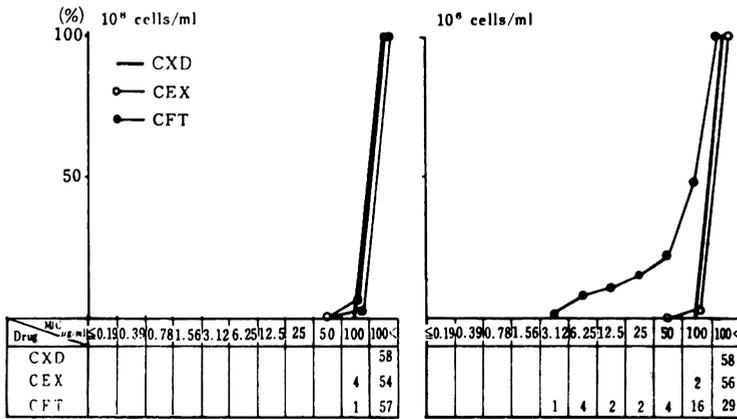


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates  
*Ach. xylosoxidans* 58 strains



た成績を Fig. 11に示した。

R 因子由来で Penicillinase 型の *E. coli* ML 1410 RGN 823株では CXD, CEX はともに作用時間が長くなるにしたがい力価が減少したが, CXD の方が CEX よりわずかに安定であった。*E. coli* 121から得た酵素に対しては, CXD, CEX とともに6時間まで安定であった。*K. pneumoniae* GN 79では CXD は6時間まで力価の減少が認められず, 安定で CEX より優れていた。

Cephalosporinase 型である *C. freundii* GN 346 では CXD, CEX とともに不安定で, 2時間目で100%失活

した。

### 3. 殺菌作用

*E. coli* No. 121株, *E. coli* HI 54株に対する CXD および CEX の殺菌作用を検討した成績を Fig. 12~ Fig. 13に示した。

*E. coli* No. 121株では CXD の殺菌作用は CEX のそれより強く, MIC 以上の添加で CXD は著明な菌数の減少がみられたが CEX では添加6時間以降より再増殖がみとめられた。

CXD, CEX とともに高度耐性株である *E. coli* HI 54株

Fig. 11 Stability of CXD to  $\beta$ -lactamase

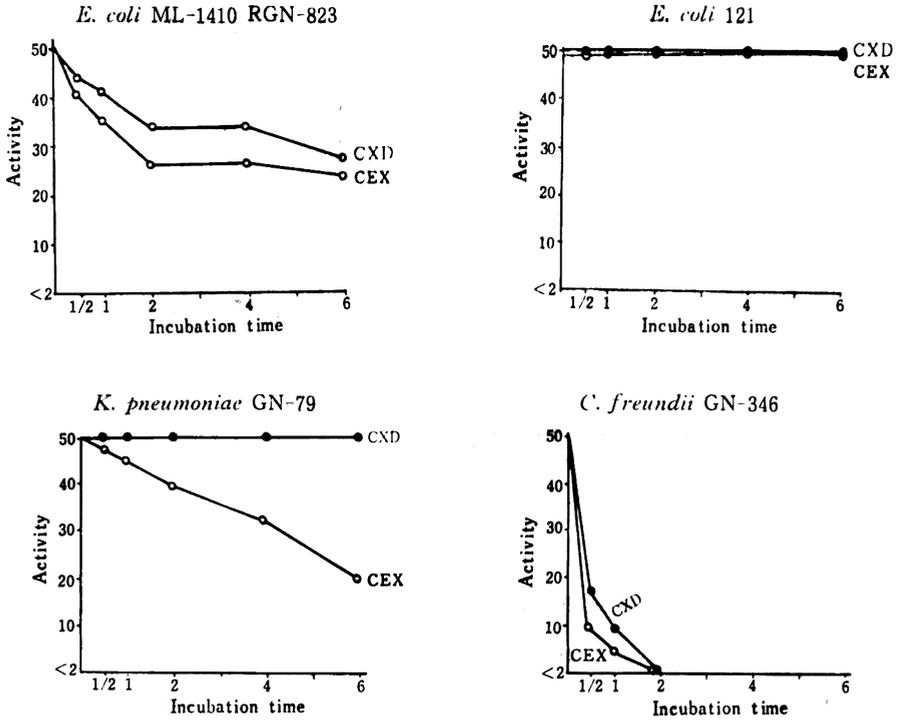


Fig. 12 Bactericidal activity of CXD and CEX against *E. coli* No. 121

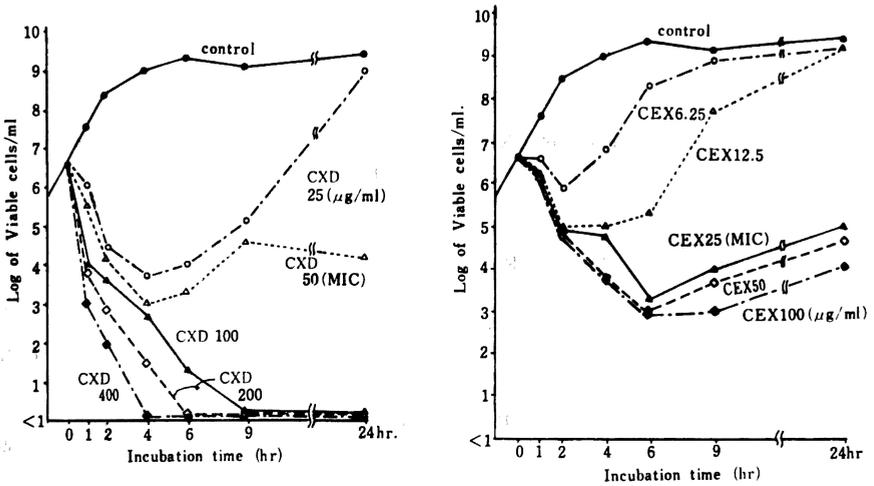


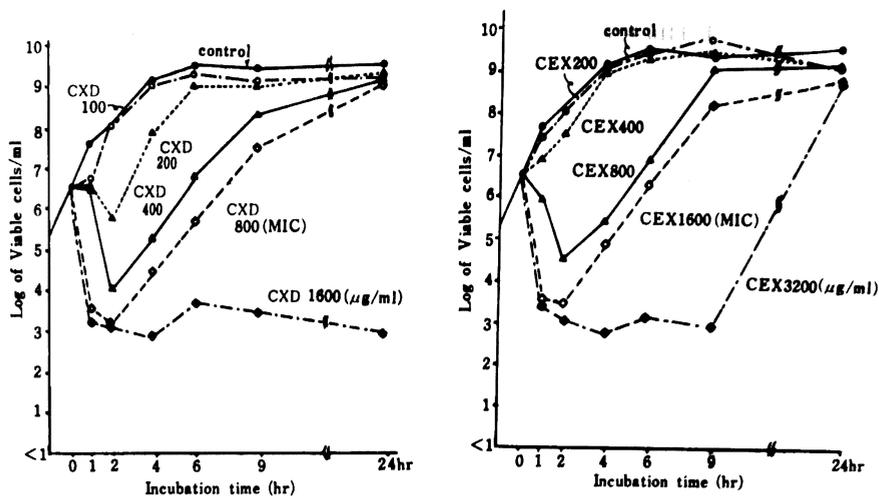
Fig. 13 Bactericidal activity of CXD and CEX against *E. coli* HI-54

Table 1 Protecting effect of CXD and CEX against experimental mice infection

Strain: *E. coli* C-11Mouse: ICR, 4W, m,  $19 \pm 1$  g

Antibiotics	Challenge dose cells/mouse	MLD cells/mouse	5 % Mucin	Administration			MIC $\mu\text{g/ml}$		ED <sub>50</sub> mg/mouse
				Route	Number	After the infection	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
CXD	$4.8 \times 10^8$	$3 \times 10^8$	-	P.O.	1	1	100	3.12	>20
	$4.8 \times 10^5$	$1 \times 10^3$	+						0.062 (0.042~0.091)
CEX	$4.8 \times 10^8$	$3 \times 10^8$	-	P.O.	1	1	100	12.5	>20
	$4.8 \times 10^5$	$1 \times 10^3$	+						0.15

Table 2 Protecting effect of CXD and CEX against experimental mice infection

*E. coli* No. 121

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5 % Mucin	Administration			MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
			Route	Number	After infection	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
CXD	$4 \times 10^8$	-	P.O.	1	1 h	25	3.12	>20
	$1 \times 10^7$	+						0.31
CEX	$4 \times 10^8$	-	P.O.	1	1 h	50	6.25	>20
	$1 \times 10^7$	+						0.39

ICR, 4W, m,  $19 \pm 1$ g 6 animals/groupMLD:  $2.4 \times 10^8$  $3.6 \times 10^6$  (5% mucin)

Table 3 Protecting effect of CXD against experimental mice infection  
*E. coli* HI 54

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	Administration			MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> * (mg/mouse)
		Route	Number	After the infection	10 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	
CXD	2 × 10 <sup>9</sup>	P.O.	1	1	100<	100<	>20
	2 × 10 <sup>8</sup> (+)	P.O.	1	1	100<	100<	>20
CEX	2 × 10 <sup>9</sup>	P.O.	1	1	100<	100<	>20
	2 × 10 <sup>8</sup> (+)	P.O.	1	1	100<	100<	>20

\* Van der Waerden method

ICR, 4W, m, 19 ± 1g 6 animals/group

(+): 5% mucin

MLD: 2 × 10<sup>8</sup>

2 × 10<sup>7</sup>(+)

Table 4 Protecting effect of CXD and CEX against experimental mice infection

Strain: *P. mirabilis* GN 79

Mouse: ICR, 4W, m, 19 ± 1g

Antibiotics	Challenge dose cells/mouse	MLD cells/mouse	5 % Mucin	Administration			MIC $\mu\text{g/ml}$		ED <sub>50</sub> mg/mouse
				Route	Number	After the infection	10 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	
CXD	4 × 10 <sup>7</sup>	2 × 10 <sup>7</sup>	+	P.O.	1	1	25	12.5	0.99 (0.74~1.32)
CEX	4 × 10 <sup>7</sup>	2 × 10 <sup>7</sup>	+	P.O.	1	1	100	50	5.0 (3.22~7.74)

ではほぼ同程度の殺菌作用を示したが、2 MIC 添加で CXD は24時間目で菌数が 10<sup>8</sup> cells/ml まで抑制されたが、CEX では添加9時間目より再増殖が認められた。

#### 4. マウス実験感染における防御効果

##### 1) *E. coli* 感染

*E. coli* C-11, *E. coli* No. 121および *E. coli* HI 54株を感染菌としたときの成績を Table 1~Table 3 に示した。

*E. coli* C-11株では大量菌攻撃は CXD, CEX ともに無効であるが、少量菌攻撃では CXD の治療効果は CEX よりすぐれていた。*E. coli* No. 121株の場合、大量菌攻撃はともに無効であったが、少量菌攻撃では CXD CEX ともほぼ同等の治療効果を示した。Cephalosporin 剤に耐性である *E. coli* HI 54の場合、大量菌、少量菌攻撃とも ED<sub>50</sub> 値は 20 mg/mouse 以上を示し無効であった。

##### 2) *P. mirabilis* 感染

*P. mirabilis* GN 79株を感染菌とした場合 CXD の

ED<sub>50</sub> 値は 0.99 mg/mouse を示し、CEX の治療効果よりすぐれていた (Table 4)。

#### 考 察

新経口 Cephalosporin 剤である CXD は CEX とほぼ同様の抗菌スペクトルを有し、その抗菌力も CEX とほぼ同程度であったが CFT より劣っていた。しかも、インドール陽性の *P. vulgaris*, *P. morganii* やブドウ糖非発酵菌である *P. aeruginosa*, *A. xylosoxidans* に対しては、CEX と同様無効であった。しかし、CXD の殺菌作用は CEX に比べて強く、CEX では再増殖が認められる株に対し、CXD は著明な菌数の減少が認められた。また、 $\beta$ -lactamase に対する安定性についても R 因子由来の Penicillinase 型 (*E. coli*, *Klebsiella*) から得た酵素に対して CXD は CEX より安定であった。しかし、Cephalosporinase 型の  $\beta$ -lactamase を有する *Citrobacter* の酵素に対しては CXD の安定性は弱く、CEX と同様、短時間で完全に水解された。

マウス実験感染での成績は *in vitro* での MIC とほぼ相関し、*E. coli*, *P. mirabilis* 感染では CXD の治療効果は CEX よりはるかにすぐれていた。このことは用いた菌株の感受性がわずかによかったことと殺菌作用がすぐれていることが考えられる。

以上、CXD の *in vitro*, *in vivo* の細菌学的検討の結果、殺菌作用および  $\beta$ -lactamase に対する態度においては、CEX よりすぐれている点が認められ、ヒトにおける吸収、排泄などの体内動態が CEX と同等であるならば、臨床での有効性が期待できる。

### 文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 23 : 1~2, 1975
- 2) 五島瑛智子, 滝田聖親, 金子康子, 小川正俊, 堂ヶ崎 勲, 桑原章吾：経口 Cephalosporin 剤,

- Cefatrizine (S-640P) の基礎的評価。Chemotherapy 24 : 1668~1673, 1976
- 3) ZAK, O. ; W. A. VISCHER, C. SCHNK, W. TOSCH, W. ZIMMERMANN, J. REGÖS, E. R. SUTER, F. KRADOLFER & J. GELZER : CGP-9000 : A new orally active, broad-spectrum cephalosporin. J. Antibiotics 29 : 653~655, 1976
  - 4) VISCHER, W. A. ; O. ZAK, E. A. KONOPKA, H. FEHLMANN, J. REGÖS & W. TOSCH : Experimental evaluation of CGP-9000, a new orally active cephalosporin. Current chemotherapy. Proc. of 10th Internat. Congr. of Chemother., Zurich/Switzerland, 18~23 Sept. 1977. Ed. W. Siegenthaler, R. Luethy, Vol. II. Washington, D.C., Amer. Soc. f. Microbiol. 825~827, 1978
  - 5) ZAK, O. ; W. TOSCH, W. A. VISCHER & F. KRADOLFER : Comparative experimental studies on 3-methoxy and 3-methyl cephem. Drug Exptl. Clin. Res. 3 : 11~20, 1977

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFROXADINE (CGP-9000), A NEW ORALLY EFFECTIVE CEPHALOSPORIN, IN VITRO AND IN VIVO

SACHIKO GOTO, AKIYOSHI TSUJI, MASATOSHI OGAWA,

YASUKO KANEKO and SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University, Tokyo

The antibacterial activity of cefroxadine (CGP-9000, CXD), a new orally effective cephalosporin, was studied *in vitro* and *in vivo* and compared with those of cephalexin (CEX) and cefatrizine (CFT).

The antibacterial spectrum of CXD was almost identical with that of CEX. Its antibacterial activity against *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. mirabilis*, and so forth was comparable to that of CEX, but was weaker than that of CFT. Against *E. coli* CXD showed stronger antibacterial activity than CEX. Such strains of *E. coli* that could proliferate against CEX were inhibited to grow by CXD.

As for stability against  $\beta$ -lactamase, CXD was more stable against Penicillinase type enzyme (*E. coli*, *Klebsiella*) than CEX, but was unstable against Cephalosporinase type enzyme (*Citrobacter*) as with CEX.

The therapeutic effect of CXD against infection experimentally induced with *E. coli* and *P. mirabilis* in mice was superior to that of CEX.