

3位に置換基のない新 cephalosporin 誘導体 Ceftizoxime の 抗菌作用の特徴について

五島登智子・辻 明良・小川正俊
金子康子・宮崎修一・桑原章吾
東邦大学医学部微生物学教室

新 cephalosporin 剤 Ceftizoxime (CZX, FK 749) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を Cefazolin, Cefamandole, Cefuroxime, Cefoxitin, Cefmetazole, Cefotiam, Cefotaxime と比較検討し, 次の結果を得た。

Ceftizoxime はグラム陽性菌, グラム陰性菌に有効で, とくにグラム陰性桿菌に強い抗菌力を示し, 従来の cephalosporin 剤に感受性の弱かったインドール陽性の *Proteus* および *Serratia* に対する抗菌力は他の7剤より強かった。ブドウ糖非醗酵菌の *P. cepacia*, *A. calcoaceticus*, *F. meningosepticum* にも抗菌力を示したが, *P. aeruginosa* には Cefotaxime よりやや弱かった。*S. aureus* に対する抗菌力は Cefazolin, Cefamandole, Cefuroxime より弱い。

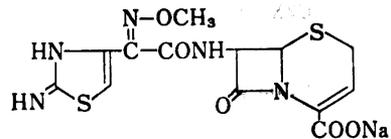
E. coli, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *C. freundii* の産生する不活化酵素 (penicillinase 型, cephalosporinase 型) に対し, Ceftizoxime は Cefotaxime, Cefuroxime, Cefmetazole, Cefoxitin と同様, きわめて安定であったが, *E. coli* のうち, RICHMOND の class V に相当すると思われる酵素に対しては Cefotaxime と同様やや不安定であった。

マウス実験感染では *in vitro* の抗菌力とはほぼ平行した成績が得られた。すなわち, *E. coli*, *Serratia*, *Klebsiella* などにおいては Cefazolin, Cefoxitin, Cefotiam より感染防御効果は強かったが, *Citrobacter freundii* では Cefoxitin とほぼ同等で Cefotaxime, Cefotiam より大きな ED₅₀を示した。

Ceftizoxime (CZX, FK 749) は新しい注射用 cephalosporin 剤で, 化学名を sodium (6R, 7R)-7-[(Z)-2-imino-4-thiazolin-4-yl]-2-methoxyiminoacetamido]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4. 2. 0] oct-2-ene-2-carboxylate と称し, 従来の cephalosporin 剤と構造上異なる点は 7-アミノセファロsporin 酸の3位に置換基がないことが最大の特徴であるが, 7位の側鎖にメトキシイミノ基を有するのは Cefotaxime, Cefuroxime と類似する。その構造式は Fig. 1 のようである。

本剤は広域抗生物質であるが, とくにグラム陰性桿菌に対する抗菌力が強く, 従来の cephalosporin 剤が無効であったインドール陽性 *Proteus*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* にも抗菌作用を示し, 各菌種の β -lactamase に対して安定であるため, 多くの β -lactam 剤耐性菌に対しても強い抗菌作用があるという¹⁾。本剤の臨床での有用性を検討するための基礎的資料として, *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用の特徴を従来の cephalosporin 剤の Cefazolin, Cefamandole, Cefuroxime, Cefoxitin, Cefmetazole, Cefotiam, Cefotaxime と比較し, 各菌種の酵素に対する安定性についても実験を行った。

Fig. 1 Chemical structure of Ceftizoxime



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されたグラム陽性菌, グラム陰性菌の多数株を用いた。

2. 薬 剤

| | | |
|-------------------|----------------|--------|
| Ceftizoxime (CZX, | 857 μ g/mg | 藤沢薬品) |
| Cefazolin (CEZ, | 944 μ g/mg | 藤沢薬品) |
| Cefamandole (CMD, | 960 μ g/mg | 塩野義製薬) |
| Cefuroxime (CXM, | 971 μ g/mg | 新日本実業) |
| Cefoxitin (CFX, | 938 μ g/mg | 第一製薬) |

Cefmetazole (CMZ, 959 μ g/mg 三共)
 Cefotiam (CTM, 820 μ g/mg 武田薬品)
 Cefotaxime (CTX, 925 μ g/mgヘキストジャパン)

3. 感受性測定法

日本化学療法学会標準法²⁾に準じて行ったが、測定用培地には普通寒天培地(栄研)を用いた。

4. 殺菌作用

E. coli C-11株を用い、普通ブイヨンに培養し、菌数が約 10^5 cells/ml になったとき、CZX の $\frac{1}{2}$ MIC, MIC, 2 MIC, 4MIC 量を添加し、37 $^{\circ}$ C にて振盪培養した。添加後、1, 3, 5, 7 および 24 時間目の生菌数を測定した。同時に CTX, CEZ についても実験を行い、比較した。

5. 各菌種の不活化酵素に対する安定性

E. coli 121, *E. coli* ML 1410 RGN 823, *E. coli* ML1410 RGN 238, *K. pneumoniae* GN69, *P. mirabilis* GN79, *P. vulgaris* No. 9 および *C. freundii* GN346 株を用い、37 $^{\circ}$ C 1 夜培養後集菌し、超音波破壊後、遠心上清を酵素液として使用した。

各基質は50 μ g/ml とし、37 $^{\circ}$ C で酵素液と反応させ、0.5, 1, 2 時間作用させた後、100 $^{\circ}$ C 1 分間の加熱処理を行い、残存活性を *Bacillus subtilis* ATCC6633 株を検定菌とする bioassay にて測定した。

6. マウス実験感染における防御効果

マウスは ICR 系、雄、体重 19 ± 1 g (4 週令) を用い、*E. coli* C-11, *E. coli* No. 94, *E. coli* HI 54, *K. pneumoniae* 3K-25, *K. oxytoca* No. 4, *P. mirabilis* GN79, *S. marcescens* No. 2 および *C. freundii* GN346 株を感染菌とし、腹腔内に感染させ、1 時間後に皮下投与にて、CZX, CEZ, CTM, CFX, CTX に

よる治療を行った。観察は感染後 5 日間行い、マウスの生残数から、ED₅₀ 値を算出した。ED₅₀ 値は VAN DER WAERDEN method により求めた。

7. マウス血清中濃度

実験感染に用いた同条件のマウスを使用した。薬剤は CZX, CEZ を用い 1 mg/mouse, 0.5 mg/mouse を皮下投与したのち、5 分, 15 分, 30 分, 1 時間, 2 時間後にマウス 10 匹から 1 ml ずつ採血したものをブールし、それぞれの血清中濃度を *Bacillus subtilis* ATCC 6633 株を検定菌とし、クエン酸 Na 培地を用い薄層 cup 法にて測定した。

実験成績

1. 抗菌スペクトル (Table 1, 2, 3)

教室保存のグラム陽性菌 (5 菌種 9 菌株)、腸内細菌 (8 菌種 12 菌株) およびブドウ糖非醗酵グラム陰性桿菌 (9 菌種 19 菌株) の感受性を CZX, CEZ, CMD, CFX, CXM の 5 薬剤について比較した成績を Table 1~3 に示した。

グラム陽性菌に対する CZX の抗菌力は CEZ, CMD より弱く、CFX と同程度の抗菌力を示し、*S. aureus* に対する MIC は 0.2 μ g/ml ~ 3.12 μ g/ml であった。

グラム陰性菌では、腸内細菌の各菌種に対し比較した薬剤の中で CZX の抗菌力が最も強く、*E. coli*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*, *P. mirabilis* に対し、0.1 μ g/ml 以下で発育を阻止し、*Serratia* にも強い抗菌力を示した。ブドウ糖非醗酵菌では多くのセファロsporin 剤は 100 μ g/ml 以上の耐性を示すが CZX は *P. aeruginosa* で 25 μ g/ml, *F. meningosepticum* では 3.12 μ g/ml の MIC を示し、他の菌種に対しても、12.5 μ g/ml ~ 100 μ g/ml の MIC を示した。

Table 1 Antibacterial spectrum

| Gram positive bacteria | 10 ⁶ cells/ml | | | | |
|----------------------------------|--------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Test strain | CZX | CEZ | CMD | CFX | CXM |
| <i>S. aureus</i> 209-P | 3.12 | 0.1 | 0.1 | 1.56 | 0.78 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.78 | 0.2 |
| <i>S. aureus</i> NEWMAN | 1.56 | 0.39 | 0.2 | 1.56 | 0.39 |
| <i>S. aureus</i> SMITH | 1.56 | 0.2 | 0.2 | 1.56 | 0.78 |
| <i>S. aureus</i> TERAJIMA | 1.56 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 0.78 |
| <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 | <0.002 | <0.012 | <0.012 | <0.012 | <0.012 |
| <i>B. subtilis</i> ATCC 6633 | 0.39 | 0.1 | <0.012 | 0.39 | 0.2 |
| <i>B. anthracis</i> | 50 | 0.2 | 0.2 | 12.5 | 50 |
| <i>M. luteus</i> ATCC 9341 | 0.05 | 0.2 | <0.012 | 0.2 | 0.05 |

MIC: μ g/ml

Table 2 Antibacterial spectrum

| Gram negative bacteria | 10 ⁶ cells/ml | | | | |
|--------------------------------|--------------------------|------|------|------|------|
| Test strain | CZX | CEZ | CMD | CFX | CXM |
| <i>E. coli</i> NIHJ JC-2 | <0.012 | 0.78 | 0.2 | 1.56 | 1.56 |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 0.1 | 0.78 | 1.56 | 6.25 | 6.25 |
| <i>Klebsiella</i> ARAKI | <0.012 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 1.56 |
| <i>S. flexneri</i> 103 R | 0.1 | 1.56 | 0.78 | 3.12 | 3.12 |
| <i>S. flexneri</i> MZ3a | <0.012 | 1.56 | 0.39 | 0.78 | 0.1 |
| <i>S. typhi</i> S 60 | <0.012 | 0.78 | 0.2 | 0.78 | 3.12 |
| <i>S. paratyphi</i> B | 0.1 | 1.56 | 0.78 | 3.12 | 12.5 |
| <i>S. enteritidis</i> M-11 | 0.025 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 3.12 |
| <i>P. mirabilis</i> 1287 | 0.025 | 3.12 | 0.39 | 1.56 | 0.1 |
| <i>P. mirabilis</i> ATCC 21100 | 0.1 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 0.05 |
| <i>S. marcescens</i> GN 629 | 1.56 | >100 | >100 | 25 | >100 |
| <i>S. marcescens</i> 16 | 0.2 | >100 | 100 | 12.5 | 100 |

MIC: µg/ml

Table 3 Antibacterial spectrum

| Glucose non-fermentative gram negative bacteria | 10 ⁶ cells/ml | | | | |
|---|--------------------------|------|------|------|------|
| Test strain | CZX | CEZ | CMD | CFX | CXM |
| <i>P. aeruginosa</i> IFO 3445 | 25 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 25 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. fluorescens</i> ATCC 13535 | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. fluorescens</i> IFO 3081 | 50 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. maltophilia</i> IID 1167 | 100 | >100 | 100 | >100 | >100 |
| <i>P. maltophilia</i> TMS 227 | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. maltophilia</i> TMS 228 | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. cepacia</i> ATCC 17759 | 12.5 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. cepacia</i> TMS 200 | 25 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. cepacia</i> TMS 201 | 12.5 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. putida</i> ATCC 17464 | 100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>P. putida</i> TMS 180 | 50 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844 | 100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| <i>A. faecalis</i> NCTC 655 | 25 | 50 | 0.78 | 3.12 | >100 |
| <i>A. faecalis</i> TMS 115 | 25 | 50 | 1.56 | 3.12 | >100 |
| <i>A. xylosoxidans</i> TMS 73 | >100 | 100 | 12.5 | >100 | >100 |
| <i>A. xylosoxidans</i> TMS 74 | >100 | 100 | 100 | >100 | >100 |
| <i>F. meningosepticum</i> TMS 461 | 3.12 | 100 | 50 | 25 | >100 |
| <i>F. meningosepticum</i> TMS 462 | 1.56 | 100 | 100 | 25 | >100 |

MIC: µg/ml

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離した *S. aureus* 49株, *E. coli* 47株, *Klebsiella* 50株, *P. vulgaris* 38株, *P. mirabilis* 123株, *P.morganii* 43株, *P. rettgeri* 41株, *P. inconstans* 112株, *S. marcescens* 50株, *P. aeruginosa* 49株, *P. maltophilia* 20株, *P. cepacia* 12株, *A. calcoaceticus* 19株および *F. meningosepticum* 14株の感受性分布をしらべ, CZX, CEZ, CMD, CFX, CXM, CTM, CMZ および CTX について比較した成績を Fig. 2~17 に示した。

1) 臨床分離株に対する CZX の抗菌力 (Fig. 2, Fig. 3)

検討した 14 菌種 667 株に対する CZX の抗菌力を接種菌量 10^8 cells/ml の場合の成績を Fig. 2 に, 接種菌量 10^6 cells/ml の成績を Fig. 3 に示した。

10^8 cells/ml 接種での CZX の抗菌力は *Klebsiella*, *E. coli* に対し強く, すべての菌株は $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以下に分布し, *Proteus* に対しては $\leq 0.012 \mu\text{g/ml} \sim 100 \mu\text{g/ml}$ 以上と幅広い分布を示した。 *Serratia*, *P. aeruginosa*, *P. maltophilia* に対する抗菌力は弱く, ほとんどが $50 \mu\text{g/ml}$ 以上の耐性を示した。しかし, 10^6 cells/ml 接種ではほとんどの菌株が感性側に移行し, とくに *Klebsi-*

ella, *E. coli*, *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*) では大部分の菌株は $0.2 \mu\text{g/ml}$ 以下に分布していた。 *P.morganii*, *S. marcescens*, *S. aureus*, *P. cepacia* では菌株の 80% は $6.25 \mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で阻止され, *A. calcoaceticus*, *F. meningosepticum* では $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった。

P. aeruginosa, *P. maltophilia* に対する抗菌力は弱く, そのピークは $25 \mu\text{g/ml} \sim 100 \mu\text{g/ml}$ であった。

2) 各菌種の感受性分布 (Fig. 4~17)

S. aureus に対する CZX の抗菌力は検討した薬剤と比べ劣っていたが, 接種菌量 10^6 cells/ml での MIC のピークは $0.78 \mu\text{g/ml}$ であった。

E. coli, *Klebsiella* に対しては CZX の抗菌力は最も強く, 10^6 cells/ml 接種での MIC のピークは *E. coli* で $0.05 \mu\text{g/ml}$, *Klebsiella* で $0.012 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。

インドール陰性の *P. mirabilis* において, 10^8 cells/ml の接種での CZX の抗菌力は CTX とほぼ同程度で, 他の 6 剤よりすぐれ, 10^6 cells/ml では菌株の 90% は $0.012 \mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で発育が阻止され, 他の 7 剤より強い抗菌力を示した。

インドール陽性の *Proteus* では *P.morganii* を除く, 他の *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* に対

Fig. 2 *In vitro* activity of CZX against clinical isolates

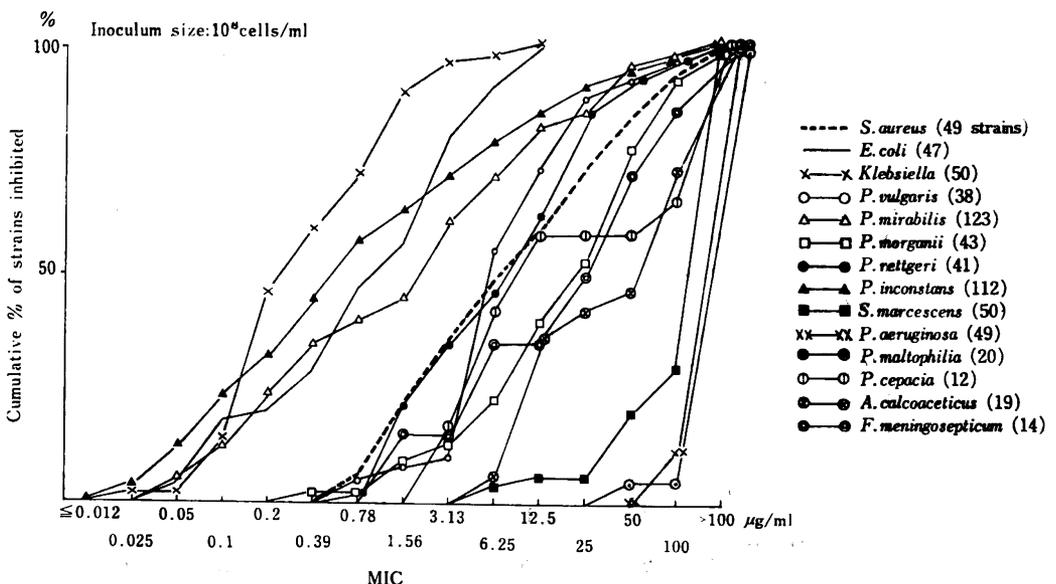


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* 47 strains

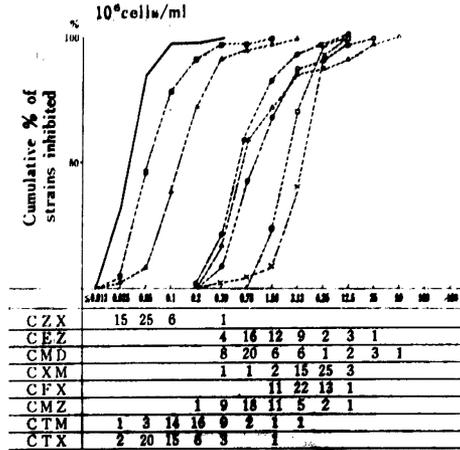
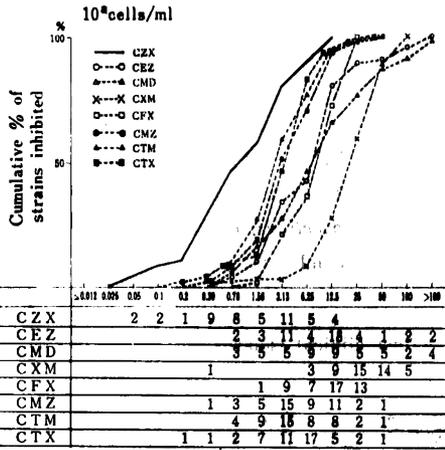


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical-isolates *Klebsiella* 50 strains

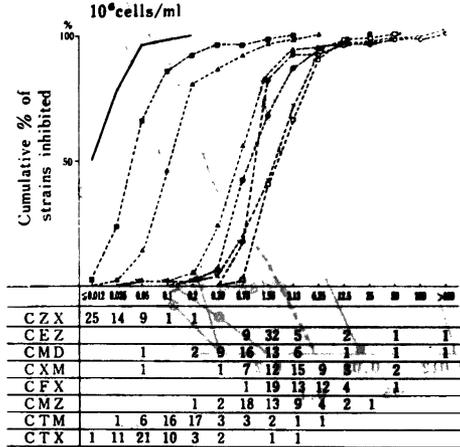
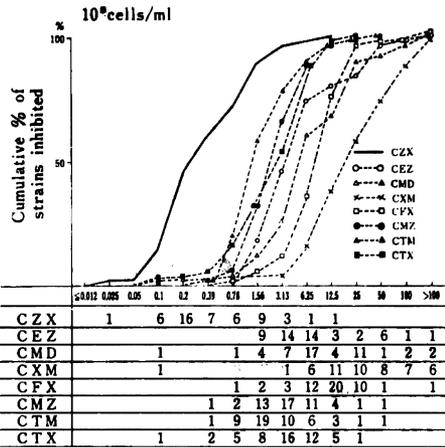


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. mirabilis* 123 strains

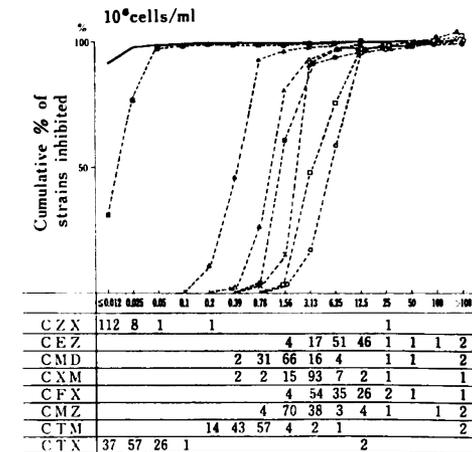
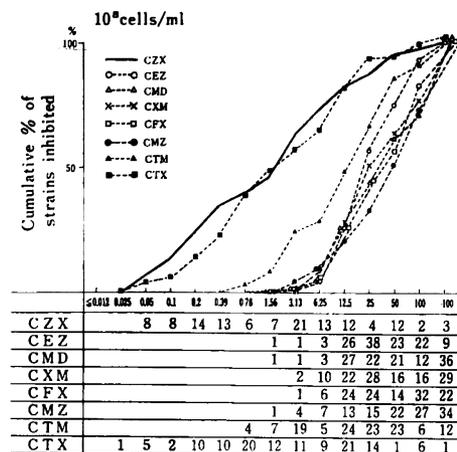


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. maltophilia* 20 strains

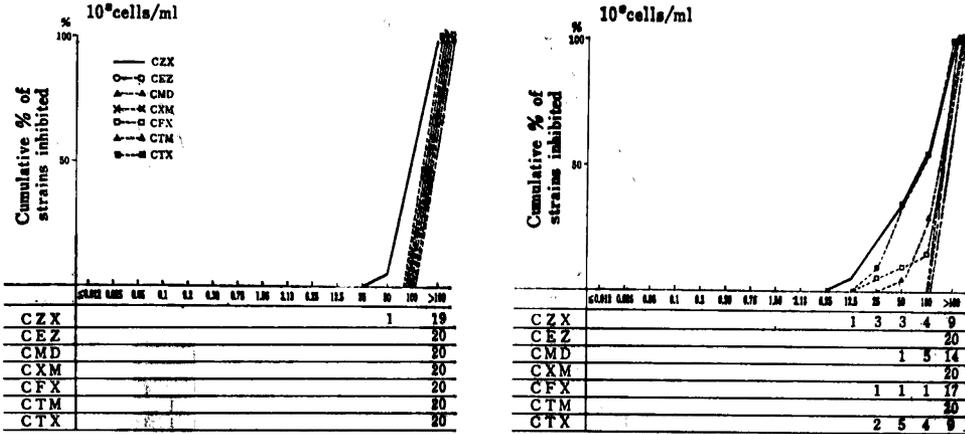


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. cepacia* 12 strains

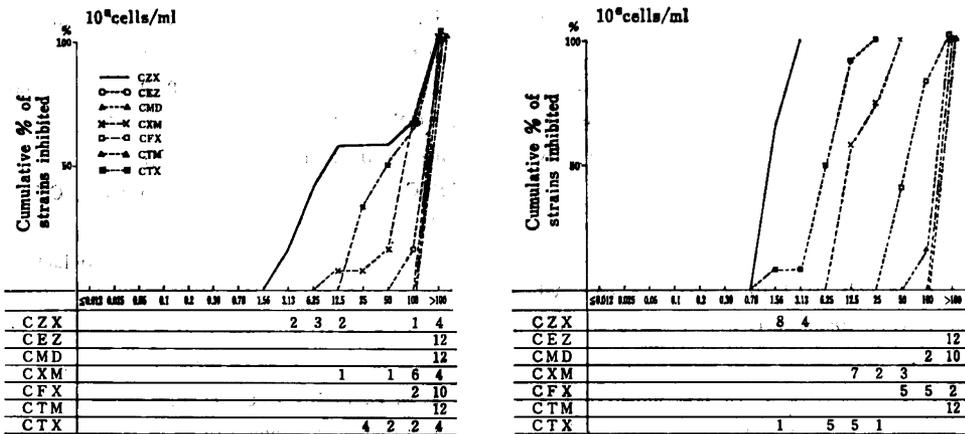


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. calcoaceticus* 19 strains

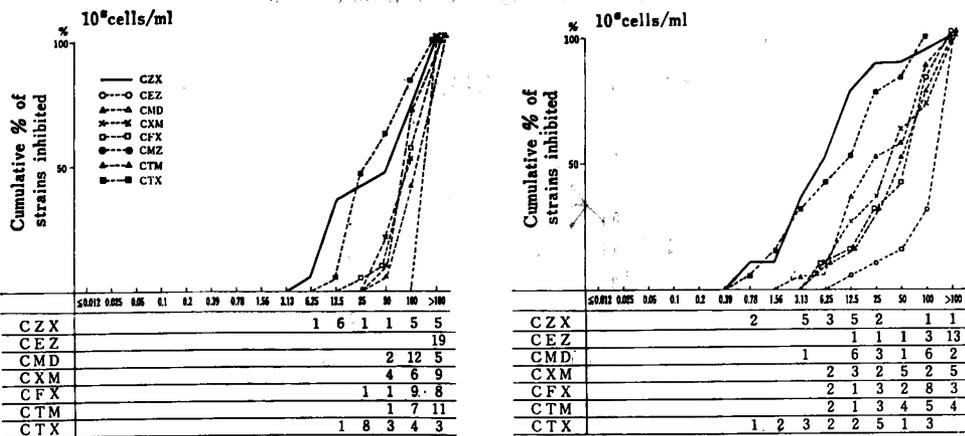
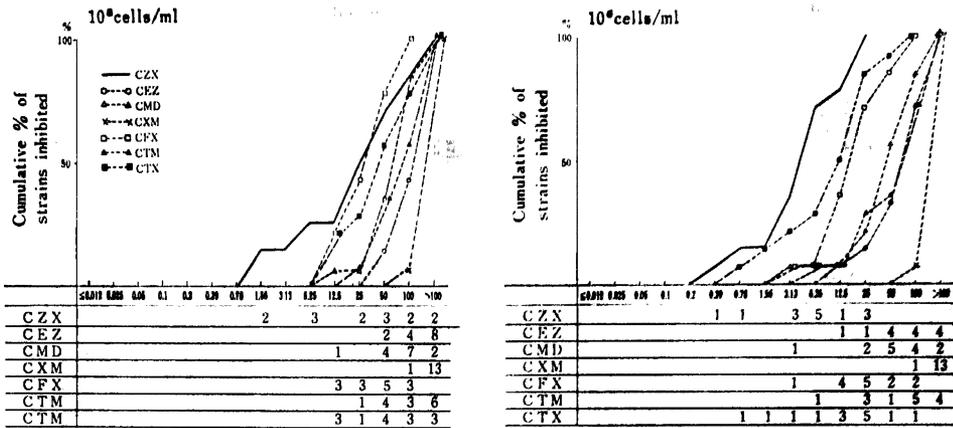


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *F. meningosepticum* 14 strains



3. 殺菌作用

E. coli C-11 株に対する CZX, CTX, CEZ の殺菌作用を検討した成績を Fig. 18 に示した。

CZX, CTXのMICは0.01 µg/ml でCEZの1/25を示し, MIC添加でCZXはCTXとほぼ同程度の殺菌作用を示し, CEZより殺菌作用が強かった。また1/2MIC添加でもCZX, CTXは増殖抑制作用が著明に認められるのに比べ, CEZはわずかししか認められなかった。

4. 不活化酵素に対する安定性

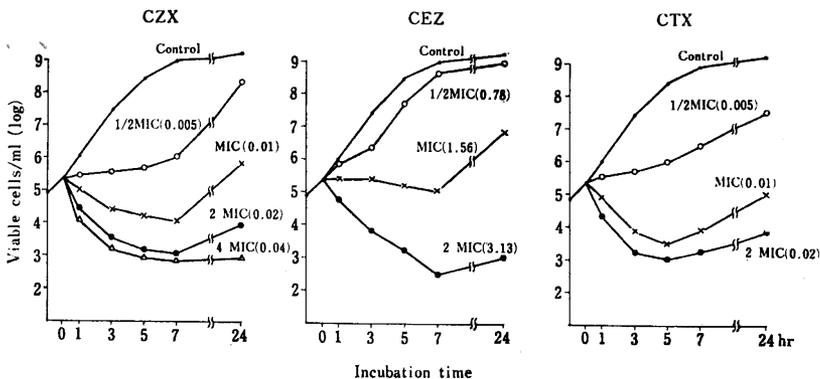
E. coli 121, *E. coli* ML1410 Rcn823, *E. coli* ML1410 Rcn238, *K. pneumoniae* GN69, *P. mirabilis* GN79, *P. vulgaris* No.9および*C. freundii* GN346株からそれぞれ得られた不活化酵素(β-lactamase)に対するCZXの安定性をCEZ, CMD, CXM, CFX, CMZ,

CTM, CTX, Cephaloridine (CER), Penicillin G (PCG), Ampicillin (ABPC) および Cloxacillin (MCIPC) と比較した成績を Fig. 19 に示した。

E. coli 121, *E. coli* ML1410 Rcn823, *K. pneumoniae* GN69, *P. mirabilis* GN79 から得られた β-lactamase は penicillinase type の酵素であるため, PCG, ABPC はともに不活化されたが, CZX は CTX, CFX, CMZ, CXM, CTM と同様, 安定であった。しかし, *E. coli* ML1410 Rcn238 から得られた β-lactamase は RICHMOND の分類の class V に相当すると思われる酵素で CZX は CTX, CXM と同様, 不安定で, 作用2時間後で CZX は 58% が不活化された。

P. vulgaris No.9, *C. freundii* GN 346から得られた β-lactamase は cephalosporinase type の酵素で, *P.*

Fig. 18 Bactericidal activity of CZX against *E. coli* C-11



vulgaris の酵素では CER, CTM, CMD, CEZ は約 30%~60% 不活化され, *C. freundii* の酵素で CER, CEZ はほとんど不活化されたが, CZX は両酵素とも, CTX, CFX, CMZ, CXM と同様, 作用 2 時間後でも全く不活化されなかった。

5. マウス実験感染における防御効果

1) *E. coli* 感染 (Table 4, Table 5)

E. coli C-11, *E. coli* No. 94 および *E. coli* HI 54 株を感染菌としたときの防御効果を ED₅₀ 値で表わし, Table 4, Table 5 に示した。

E. coli C-11 株では大量菌感染の場合 CZX の ED₅₀ 値は CTX, CFX, CEZ, CTM より小さく, 少量菌感染では CZX と CTX とはほぼ同程度の ED₅₀ 値を示し, 他の薬剤より小さい値が得られた。

E. coli No. 94 株感染では CZX の ED₅₀ 値は 0.0098 mg/mouse で CTX, CEZ, CTM, CFX より小さく, すぐれた治療効果を示した。

CEZ 耐性菌である *E. coli* HI 54 株では CZX の ED₅₀

値は感性菌ほど小さくないが, CFX より小さな ED₅₀ 値を示した。しかし, CTX より MIC, ED₅₀ 値ともに劣る成績であった。

2) *Klebsiella* 感染 (Table 6)

K. pneumoniae 3K-25 および *K. oxytoca* No. 4 株を感染菌としたときの成績を Table 6 に示した。

K. pneumoniae 3K-25 株では大量菌および少量菌感染において, CEZ, CTM, CFX の ED₅₀ 値は 20 mg/mouse 以上を示すのに比べ, CZX は 12.59 mg/mouse (大量菌感染), 1.576 mg/mouse (少量菌感染) で著しい差が認められ, CTX の ED₅₀ 値よりも小さかった。

K. oxytoca No. 4 株では CZX の ED₅₀ 値は CTX, CTM, CEZ, CFX より小さく, CEZ 耐性, 感性の *Klebsiella* に対し, いずれも *in vitro* と同様, *in vivo* の抗菌力もすぐれていることがたしかめられた。

3) *Proteus* 感染 (Table 7)

P. mirabilis GN 79 株を感染菌とした成績は Table 7 に示した。

Table 4 Protecting effect of CZX against *E. coli* infection in mice (1)

| Organism | Drug | Challenge dose (cells/mouse) | MLD (cells/mouse) | 5% Mucin | MIC: $\mu\text{g/ml}$ | | ED ₅₀ (mg/mouse) |
|------------------------|------|---------------------------------|-----------------------|-------------|-----------------------|-----------------|--------------------------------|
| | | | | | Inoculum (cells/ml) | | |
| | | | | | 10 ⁸ | 10 ⁶ | |
| <i>E. coli</i> C-11 | CZX | 5.0 × 10 ⁸ | 3.0 × 10 ⁸ | - | 0.78 | <0.2 | 0.124 (0.110~0.139) |
| | CEZ | | | | 3.12 | 1.56 | 0.992 (0.857~1.157) |
| | CTM | | | | 12.5 | 1.56 | 2.5 (1.46~4.26) |
| | CFX | | | | 3.12 | <0.2 | 0.62 (0.28~1.32) |
| | CTX | | | | 1.56 | <0.2 | 0.394 (0.340~0.456) |
| | CZX | 5.0 × 10 ⁸ | 1 × 10 ³ | + | 0.78 | <0.2 | 0.062 (0.051~0.075) |
| | CEZ | | | | 3.12 | 1.56 | 0.394 (0.334~0.466) |
| | CTM | | | | 12.5 | 1.56 | 0.49 (0.21~1.140) |
| | CFX | | | | 3.12 | <0.2 | 0.091 (0.06~0.140) |
| | CTX | | | | 1.56 | <0.2 | 0.061 (0.05~0.071) |

Mice: ICR 4W ♂ 19 ± 1 g 6 animals/group

Challenge: I. P.

Administration: S. C. 1 hr after infection

Table 5 Protecting effect of CZX against *E. coli* infection in mice (2)

| Organism | Drug | Challenge dose (cells/mouse) | MLD (cells/mouse) | 5% Mucin | MIC: $\mu\text{g/ml}$ | | ED ₅₀ (mg/mouse) |
|--------------------------|------|---------------------------------|----------------------|-------------|-----------------------|-----------------|--------------------------------|
| | | | | | Inoculum (cells/ml) | | |
| | | | | | 10 ⁸ | 10 ⁶ | |
| <i>E. coli</i> No. 94 | CZX | 8 × 10 ⁸ | 3.2 × 10 | + | 0.39 | <0.2 | 0.0098 (0.0077~0.012) |
| | CEZ | | | | 1.56 | 0.78 | 1.574 (1.235~2.001) |
| | CTM | | | | 0.78 | <0.2 | 0.787 (0.653~0.948) |
| | CFX | | | | 1.56 | 0.78 | 3.152 (2.808~3.538) |
| | CTX | | | | 0.39 | 0.2 | 0.0195 (0.0162~0.0235) |
| <i>E. coli</i> HI 54 | CZX | 1.2 × 10 ⁹ | 2 × 10 ⁸ | - | 50 | 6.25 | 3.15 (2.549~3.899) |
| | CEZ | | | | >100 | 100 | >20 |
| | CFX | | | | 100 | 50 | 5.00 (3.18~7.84) |
| | CTX | | | | 12.5 | 3.12 | 0.993 (0.805~1.226) |
| | CZX | 1.2 × 10 ⁸ | 2 × 10 ⁷ | + | 50 | 6.25 | 1.25 (1.231~1.46) |
| | CEZ | | | | >100 | 100 | ≥10 |
| | CFX | | | | 100 | 50 | 3.13 (1.92~5.16) |
| | CTX | | | | 12.5 | 3.12 | 0.124 (0.100~0.153) |

Mice: ICR 4W ♂ 19 ± 1 g 6 animals/group

Challenge: I. P.

Administration: S. C. 1 hr after infection

CZX の ED₅₀ 値は CEZ, CFX, CTM より小さかったが, CTX と比べ, わずかに大きい値を示した。

4) *Serratia* 感染 (Table 8)

S. marcescens No. 2 株を感染菌とした成績を Table 8 に示した。

大量菌感染では CZX は CTX, CTM, CFX, CEZ と同様に治療効果を示さなかったが, 少量菌感染では CZX の DE₅₀ 値は 0.788 mg/mouse を示し, CTX, CFX, CTM, CEZ と比べ, すぐれた治療効果を示した。

5) *Citrobacter* 感染 (Table 9)

C. freundii GN 346 株を感染菌とした成績を Table 9 に示した。

大量菌感染の場合, CZX は CEZ, CTM, CFX と同様, 治療効果を示さなかったが, CTX は 15.87 mg/mouse の ED₅₀ 値を示した。

少量菌感染では CZX は CFX と同程度の ED₅₀ 値を示した。しかしながら, 本菌に対する効果は CTM, CTX におよばなかった。

Table 6 Protecting effect of CZX against *Klebsiella* infection in mice

| Organism | Drug | Challenge dose (cells/mouse) | MLD (cells/mouse) | 5% Mucin | MIC: $\mu\text{g/ml}$ | | ED ₅₀ (mg/mouse) |
|-------------------------------|------|---------------------------------|-----------------------|-------------|-----------------------|-----------------|--------------------------------|
| | | | | | Inoculum (cells/ml) | | |
| | | | | | 10 ⁸ | 10 ⁶ | |
| <i>K. pneumoniae</i> 3K-25 | CZX | 3.1 × 10 ⁸ | 3.0 × 10 ⁶ | - | >100 | 6.25 | 12.59 (10.45~15.17) |
| | CEZ | | | | >100 | >100 | >20 |
| | CTM | | | | >100 | 50 | >20 |
| | CFX | | | | >100 | 50 | >20 |
| | CTX | | | | >100 | 12.5 | 15.87 (13.71~18.37) |
| | CZX | 3.1 × 10 ⁵ | 1 × 10 ³ | + | >100 | 6.25 | 1.576 (1.266~1.962) |
| | CEZ | | | | >100 | >100 | >20 |
| | CTM | | | | >100 | 50 | >20 |
| | CFX | | | | >100 | 50 | >20 |
| | CTX | | | | >100 | 12.5 | 7.94 (7.07~8.91) |
| <i>K. oxytoca</i> No. 4 | CZX | 7.2 × 10 ⁷ | 3 × 10 ⁶ | + | 1.56 | < 0.2 | 0.0123 (0.011~0.0138) |
| | CEZ | | | | 50 | 6.25 | 2.501 (2.123~2.945) |
| | CTM | | | | 3.12 | < 0.2 | 0.197 (0.156~0.250) |
| | CFX | | | | 12.5 | 1.56 | 3.968 (3.428~4.592) |
| | CTX | | | | 6.25 | < 0.2 | 0.0781 (0.0669~0.0912) |

Mice: ICR 4W ♂ 19 ± 1 g 6 animals/group

Challenge: I. P.

Administration: S. C. 1 hr after infection

6. マウス血清中濃度

CZX および CEZ をそれぞれ 1 mg/mouse, 0.5 mg/mouse 皮下投与したマウスの血清中濃度の成績を Fig. 20 に示した。

CZX は 5 分がピークで 1 mg/mouse 投与の場合 56 $\mu\text{g/ml}$ の値を示し, 15 分では 53.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。CEZ

では 15 分がピークで同じ投与量で 110 $\mu\text{g/ml}$ を示し, CEZ のほうがすぐれ, 血中移行はすべての時点で CEZ のほうが CZX より高い濃度を示した。

考 察

本実験は CZX の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を同系

Table 7 Protecting effect of CZX against *Proteus* infection in mice

| Organism | Drug | Challenge dose (cells/mouse) | MLD (cells/mouse) | 5 % Mucin | MIC: $\mu\text{g/ml}$ | | ED ₅₀ (mg/mouse) |
|------------------------------|------|---------------------------------|-----------------------|--------------|-----------------------|-----------------|--------------------------------|
| | | | | | Inoculum (cells/ml) | | |
| | | | | | 10 ⁸ | 10 ⁶ | |
| <i>P. mirabilis</i> GN 79 | CZX | 2.4 × 10 ⁸ | 2.0 × 10 ⁷ | + | 3.12 | < 0.2 | 0.197 (0.159~0.244) |
| | CEZ | | | | >100 | 50 | 12.59 (10.45~15.19) |
| | CFX | | | | >100 | 25 | 20 |
| | CTM | | | | 50 | 3.12 | ≥20 |
| | CTX | | | | 6.25 | < 0.2 | 0.124 (0.103~0.150) |

Mice: ICR 4W ♂ 19±1 g 6 animals/group

Challenge: I. P.

Administration: S. C. 1 hr after infection

Table 8 Protecting effect of CZX against *Serratia* infection in mice

| Organism | Drug | Challenge dose (cells/mouse) | MLD (cells/mouse) | 5 % Mucin | MIC: $\mu\text{g/ml}$ | | ED ₅₀ (mg/mouse) |
|-------------------------------|------|---------------------------------|-----------------------|--------------|-----------------------|-----------------|--------------------------------|
| | | | | | Inoculum (cells/ml) | | |
| | | | | | 10 ⁸ | 10 ⁶ | |
| <i>S. marcescens</i> No. 2 | CZX | 6.5 × 10 ⁸ | 9.0 × 10 ⁷ | - | >100 | < 0.2 | >20 |
| | CEZ | | | | >100 | >100 | >20 |
| | CFX | | | | >100 | 25 | >20 |
| | CTM | | | | >100 | 25 | >20 |
| | CTX | | | | >100 | 0.39 | >20 |
| | CZX | 3.3 × 10 ⁸ | 1 × 10 ⁵ | + | >100 | < 0.2 | 0.788 (0.637~0.975) |
| | CEZ | | | | >100 | >100 | >20 |
| | CFX | | | | >100 | 25 | 3.968 (3.081~5.111) |
| | CTM | | | | >100 | 25 | 12.592 (10.452~15.17) |
| | CTX | | | | >100 | 0.39 | 1.250 (1.038~1.506) |

Mice: ICR 4W ♂ 19±1 g 6 animals/group

Challenge: I. P.

Administration: S. C. 1 hr after infection

Table 9 Protecting effect of CZX against *Citrobacter* infection in mice

| Organism | Drug | Challenge dose (cells/mouse) | MLD (cells/mouse) | 5 % Mucin | MIC: $\mu\text{g/ml}$ | | ED ₅₀ (mg/mouse) |
|------------------------------|------|------------------------------|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------------|-----------------------------|
| | | | | | Inoculum (cells/ml) | | |
| | | | | | 10 ⁸ | 10 ⁶ | |
| <i>C. freundii</i> GN 346 | CZX | 9.0 × 10 ⁸ | 2.5 × 10 ⁷ | - | 50 | 12.5 | >20 |
| | CEZ | | | | > 100 | >100 | >20 |
| | CTM | | | | > 100 | 50 | >20 |
| | CFX | | | | > 100 | 50 | >20 |
| | CTX | | | | 25 | 3.12 | 15.87 (13.08~19.26) |
| | CZX | 4.5 × 10 ⁷ | 7.8 × 10 ⁵ | + | 50 | 12.5 | 6.30 (5.09~7.80) |
| | CEZ | | | | > 100 | >100 | >20 |
| | CTM | | | | > 100 | 50 | 3.15 (2.47~4.01) |
| | CFX | | | | > 100 | 50 | 6.30 (4.84~8.20) |
| | CTX | | | | 25 | 3.12 | 5.001 (3.993~6.265) |

Mice: ICR 4W ♂ 19 ± 1 g 6 animals/group

Challenge: I. P.

Administration: S. C. 1 hr after infection

の CEZ, CMD, CXM, CTM, CTX と cephamycin 系の CFX, CMZ と比較し、本物質の抗菌作用上の特徴を検討したものである。その結果、CZX はグラム陽性菌、グラム陰性菌に有効で、とくにグラム陰性菌に対し強い抗菌力を有し、従来の cephalosporin 剤に感受性の低かったインドール陽性の *Proteus* (*P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*), *Serratia* に対する抗菌力がすぐれ、さらに *P. cepacia*, *A. calcoaceticus*, *Flavobacterium* なども本剤に感受性を示すことが確認された^{3,4)}。しかし、*S. aureus* に対しては CEZ, CMD, CXM より弱く、*P. aeruginosa* に対しても 25 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示すが CTX と比べると抗菌力はわずかに弱い。

CZX の殺菌作用は cephalosporin 剤のなかではすぐれている CEZ とほぼ同程度ないし優れる成績であり、CZX のほうが MIC が小さいだけさらに有利といえるであろう。

E. coli, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* から得た penicillinase 型の不活化酵素に対し、CZX は CTX, CMZ, CFX, CXM, CTM と同様、安定であったが、*E. coli* のうち、RICHMOND の class V type の酵素に対しては CTX, CXM と同様やや不安定であった。*P. vulgaris*, *C. freundii* から得た cephalosporinase 型の酵素に対し、CZX は CTX, CXM, CMZ, CFX と同様、安定であった。これら不活化酵素に対し、CZX が安定なのは構造上の特徴の1つである母核の7位の側鎖にメトキシイミノ基を有するためと考えられる。

マウス実験感染での成績は、*in vitro* の MIC の成績とほぼ関連し、CEZ 耐性の *E. coli* には CTX より大きな ED₅₀ 値を示す場合があったが、CEZ, CTM, CFX 耐性の *K. pneumoniae*, CEZ, CFX 耐性の *S. marcescens* 感染では CEZ, CTM, CFX, CTX よりすぐれ、耐性菌にも有効なことが実証された。

C. freundii 感染ではこの菌の β -lactamase には安定

Fig. 19 Enzymatic stability of CZX and other β -lactam antibiotics

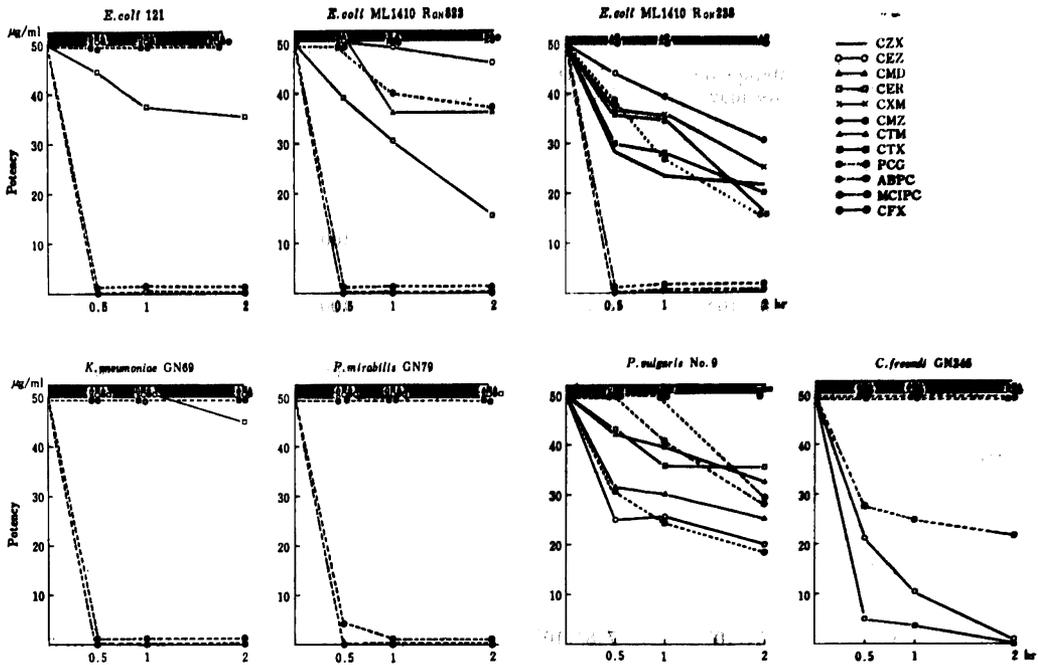
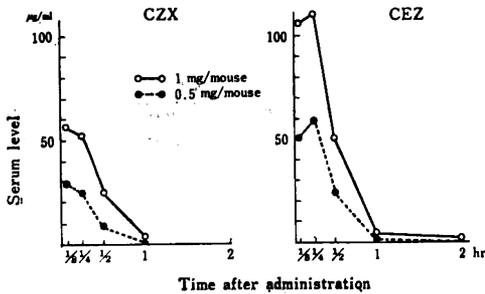


Fig. 20 Serum levels of CZX in mice
Administration: S. C.
Method: Cup method
Test strain: *B. subtilis* ATCC 6633



であるのに MIC は CTX より大きく、ED₅₀では CTX、CTM より劣り、この菌種に対する外膜透過性の差などが考えられる。

CZX のマウス血清中移行については、従来の cephalosporin 剤のなかですぐれている CEZ と比較したが、CZX は CEZ と比べ、血清移行、持続性とも劣っていた。しかし、抗菌力の強さと、酵素に対する安定性がこの差を補ってあまりある *in vivo* 効果をもたらしたと

考えられる。

以上、抗菌力に関する各種因子の検討結果から、臨床での有用性が期待される薬剤であると判断された。

文 献

- 1) KAMIMURA, T.; Y. MATSUMOTO, N. OKADA, Y. MINE, M. NISHIDA, S. GOTO & S. KUWAHARA: Ceftiozime (FK 749), a new parenteral cephalosporin: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 16 : 540~548, 1979
- 2) 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
- 3) 五島遊智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 桑原章吾: Cephamycin 系の新物質 CS-1170 の細菌学的評価. *Cephalosporin 剤および Cefoxitin との抗菌作用の比較.* *Chemotherapy* 26 (S-5): 1~20, 1978
- 4) 五島遊智子, 辻 明良, 小川正俊, 金子康子, 桑原章吾: Cephalosporinase に安定な新誘導体 Cefuroxime の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用および不活化酵素に対する安定性の検討. *Chemotherapy* 27 (S-6): 1~18, 1979
- 5) 沢井哲夫, 山岸三郎: β -ラクタマーゼペニシリン / セファロスポリン加水分解酵素. *蛋白質・核酸・酵素* 20: 1202~1213, 1975

CHARACTERISTICS OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CEFTIZOXIME, A NEW CEPHALOSPORIN DERIVATIVE WITHOUT SUBSTITUENT GROUP AT THE 3-POSITION

SACHIKO GOTOH, AKIYOSHI TSUJI, MASATOSHI OGAWA,
YASUKO KANEKO, SHUICHI MIYAZAKI and SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, Toho University School of Medicine

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of ceftizoxime (CZX), a new cephalosporin antibiotic, was studied in comparison with cefazolin, cefamandole, cefuroxime, cefoxitin, cefmetazole, cefotiam and cefotaxime.

Ceftizoxime was found effective against both gram-positive and gram-negative bacteria, with particularly profound activity against gram-negative bacilli. The compound showed a greater activity than all other seven antibiotics against strains of indole-positive *Proteus* and *Serratia* which were poorly susceptible to the previously introduced cephalosporins. Ceftizoxime was also active against such non-glucose-fermenting species as *P. cepacia*, *A. calcoaceticus* and *F. meningosepticum* but was slightly less active than cefotaxime against *P. aeruginosa*. Strains of *S. aureus* were less susceptible to the compound than to cefazolin, cefamandole and cefuroxime.

Ceftizoxime proved to be as remarkably stable as cefotaxime, cefuroxime, cefmetazole and cefoxitin to inactivation by β -lactamases (penicillinase type and cephalosporinase type) elaborated by such organisms as *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris* and *C. freundii*. However, it was slightly labile as cefotaxime to enzymes produced by some *E. coli* strains, possibly falling under class V of the RICHMOND classification.

Experiments in mice demonstrated antibacterial activity of ceftizoxime against infections, essentially consistent with the findings for its *in vitro* antibacterial activity. The compound exerted a greater protective effect than cefazolin, cefoxitin and cefotiam against *E. coli*, *Serratia* or *Klebsiella* infection. Against infection by *Citrobacter freundii*, it was practically as effective as cefoxitin and showed higher ED₅₀ values than cefotaxime and cefotiam.