

新しい経口用 cephem, Cefotiam hexetil の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について

西野武志・大槻雅子・松田早人・谷野輝雄

京都薬科大学微生物学教室*

Cefotiam (CTM) のエステル体である cefotiam hexetil (CTM-HE) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について cefixime (CFIX), cefaclor (CCL), amoxicillin (AMPC) を比較薬として *in vitro* は CTM, *in vivo* は CTM-HE を用いて行った。

CTM はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有し, グラム陽性菌に対する抗菌力は AMPC と CCL の中間的なものであった。CTM のグラム陰性菌に対する抗菌力は AMPC, CCL に比べ優れており, CFIX とほぼ同程度であった。しかし, 臨床分離のグラム陰性菌に対する感受性分布では, CTM は CCL, AMPC にはまさるものの CFIX の抗菌力より劣っていた。CTM の抗菌作用型式はいずれの菌種に対しても dose response のある殺菌作用を示した。マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果は, グラム陽性菌の場合には CTM-HE は CFIX より優れており, AMPC より劣っていた。一方, グラム陰性菌の場合には CTM-HE は CFIX に次ぐ治療効果を示し CCL とほぼ同等であった。

Key words : Cefotiam hexetil, 抗菌作用, *in vitro*, *in vivo*

近年, 注射用 cephem 抗生物質の進歩はめざましく, 抗菌スペクトルの拡大された多くの有用な薬剤が開発され, 臨床的に使用されている。しかしこれらの抗生物質は一般的に親水性で, 脂溶性に欠けるため消化管よりの吸収性に乏しく経口剤として使用することができない。現在, これら注射用 cephem の消化管吸収性の改善などを目的として新しい経口用 cephem 抗生物質の開発がなされている。Cefotiam hexetil (CTM-HE, SCE-2174) は上記の目的から合成された経口用 cephem 抗生物質で, cefotiam¹⁾ のエステル化により消化管よりの吸収性が改善され, 吸収時にエステル部分が加水分解され, cefotiam として抗菌活性を発揮する²⁾。本剤の化学名は (RS)-1-(cyclohexyloxy-carbonyloxy) ethyl(+)-(6R, 7R)-7-[2-(2-amino-4-thiazolyl) acetamido]-3-[[[1-(2-dimethylaminoethyl)-1H-tetrazol-5-yl] thio] methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-[4.2.0] oct-2-ene-2-carboxylate dihydrochloride といい, 分子式は C₂₇H₃₇N₉O₇S₃ · 2H₂O, 分子量 768.77 の白色～淡黄色の粉末である。その構造式を Fig. 1 に示した。

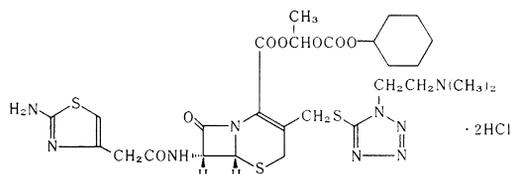


Fig. 1 Chemical structure of cefotiam hexetil

今回, 私どもは amoxicillin³⁾, cefaclor⁴⁾, cefixime⁵⁾ を比較薬として CTM-HE に関する細菌学的評価を行ったので報告する。なお, *in vitro* の実験では CTM-HE の活性体 cefotiam を用いた。

実験材料および実験方法

1. 使用菌株および使用薬剤

使用した菌株は教室保存のグラム陽性菌 20 株, グラム陰性菌 38 株, 嫌気性菌 11 株および臨床分離の *Staphylococcus aureus* 57 株, *Staphylococcus epidermidis* 29 株, *Streptococcus pyogenes* 35 株, *Escherichia coli* 62 株, *Klebsiella pneumoniae* 20

株, *Enterobacter cloacae* 29株, *Enterobacter aerogenes* 34株, *Serratia marcescens* 62株, *Proteus mirabilis* 29株, *Proteus vulgaris* 41株, *Morganella morganii* 28株, *Providencia rettgeri* 17株, *Branhamella catarrhalis* 18株, *Haemophilus influenzae* 44株, *Pseudomonas aeruginosa* 40株, *Acinetobacter calcoaceticus* 48株である。

使用した抗生物質は amoxicillin (AMPC), cefaclor (CCL), cefixime (CFIX), cefotiam (CTM) および CTM-HE で、いずれも力価の明らかな標品を用いた。

2. 感受性測定法

前培養に Trypto-Soya Broth (TSB, ニッスイ), 測定用培地に Heart infusion agar (HIA, ニッスイ) を用い、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁶⁾ に準じて行った。なお, *Streptococcus* 属, *Corynebacterium diphtheriae*, *Enterococcus faecalis* には10% 馬脱纖維血液, *Haemophilus influenzae* には5% Bacto Fildes enrichment (Difco) を含有する上記培地を用いた。また嫌気性菌には前培養に GAM broth (ニッスイ), 測定用培地に GAM agar (ニッスイ) を用いて、日本化学療

法学会嫌気性菌 MIC 測定法⁷⁾ に準じて行った。*Neisseria* 属には1% supplement (栄研) を加えた Gonococcus medium (栄研) を用いてローソク培養を行い、48時間後の MIC を求めた。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH, 馬血清添加, 接種菌量の影響を HIA を用いて寒天平板希釈法で測定した。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

TSB で37°C 培養した菌を HIB で希釈後振とう培養を行い、対数期途中で種々の濃度の抗生物質を作用させ、以後経時的に生菌数の測定を行った。

5. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

Streptococcus pyogenes C-203, *Streptococcus pneumoniae* III は10% 馬血清添加 HIB で37°C 18時間培養後0.9% 生理食塩水で希釈した。その他の菌株の場合には Nutrient broth (NB, ニッスイ) で37°C 18時間培養後、同培地で希釈し、6% Gastric mucin (Orthana Kemisk Fabrik A/S) と等量混合した。これらの菌液を1群10匹の std: ddY 系雄性マウス (体重18~20g) の腹腔内に接種した。接種2時間後に1回、経口投与により治療を行い、7日間生死の観察を行った。7日目の生存率から、LITCHFIELD-

Table 1 Antibacterial spectra of cefotiam and other antibiotics against gram-positive bacteria (10⁸ cells/ml)

Organism	MIC (μg/ml)			
	CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>S. aureus</i> 209-P JC	0.78	50	1.56	0.2
<i>S. aureus</i> Smith	0.78	25	1.56	0.2
<i>S. aureus</i> Terajima	1.56	25	12.5	0.78
<i>S. aureus</i> Neumann	0.78	25	3.13	0.39
<i>S. aureus</i> E-46	0.78	12.5	1.56	0.2
<i>S. aureus</i> No.80	0.78	25	6.25	>100
<i>S. epidermidis</i>	3.13	>100	3.13	0.39
<i>S. pyogenes</i> S-23	0.05	0.2	0.39	0.012
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.1	0.39	0.78	0.025
<i>S. pyogenes</i> C-203	0.05	0.2	0.39	0.012
<i>S. viridans</i>	>100	>100	>100	1.56
<i>S. pneumoniae</i> I	0.2	0.39	1.56	0.012
<i>S. pneumoniae</i> II	0.2	0.39	0.78	0.025
<i>S. pneumoniae</i> III	0.2	0.39	0.78	0.012
<i>E. faecalis</i>	>100	>100	>100	1.56
<i>C. diphtheriae</i>	0.78	50	0.39	0.2
<i>C. diphtheriae</i> Tronto	0.025	0.78	0.05	0.012
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.2	1.56	0.025	>0.006
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.2	>100	0.1	0.1
<i>B. anthracis</i>	1.56	>100	0.78	0.025

CTM, cefotiam; CFIX, cefixime; CCL, cefaclor; AMPC, amoxicillin

Table 2 Antibacterial spectra of cefotiam and other antibiotics against gram-positive bacteria (10⁶ cells/ml)

Organism	MIC (μg/ml)			
	CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>S. aureus</i> 209-P JC	0.39	50	0.78	0.1
<i>S. aureus</i> Smith	0.39	25	0.78	0.1
<i>S. aureus</i> Terajima	0.78	25	6.25	0.39
<i>S. aureus</i> Neumann	0.78	25	1.56	0.2
<i>S. aureus</i> E-46	0.78	12.5	0.78	0.1
<i>S. aureus</i> No.80	0.78	25	1.56	1.56
<i>S. epidermidis</i>	1.56	>100	1.56	0.39
<i>S. pyogenes</i> S-23	0.05	0.2	0.2	0.012
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.1	0.2	0.39	0.012
<i>S. pyogenes</i> C-203	0.05	0.1	0.2	0.012
<i>S. viridans</i>	>100	>100	50	0.78
<i>S. pneumoniae</i> I	0.1	0.2	0.78	0.012
<i>S. pneumoniae</i> II	0.1	0.2	0.39	0.025
<i>S. pneumoniae</i> III	0.1	0.2	0.39	0.012
<i>E. faecalis</i>	>100	>100	50	0.78
<i>C. diphtheriae</i>	0.78	25	0.39	0.2
<i>C. diphtheriae</i> Tronto	<0.006	0.39	0.012	<0.006
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.2	1.56	0.012	<0.006
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.1	0.78	0.05	0.012
<i>B. anthracis</i>	1.56	>100	0.39	0.012

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

WILCOXON 法⁹⁾により ED₅₀ 値を算出した。

実験結果

1. 抗菌スペクトル

教室保存のグラム陽性菌、陰性菌および嫌気性菌に対する CTM-HE の抗菌力を AMPC, CCL, CFIX を比較薬として検討した結果を、Table 1~6 に示した。CTM-HE の活性原体である CTM はグラム陽性菌、陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有していた。その抗菌力を比較すると CTM はグラム陽性菌では AMPC と CCL の中間の抗菌力を示し、CFIX に比べ非常に優れていた。しかし、CTM は *viridans* group *Streptococcus*, *Enterococcus faecalis* には CCL, CFIX 同様抗菌力を示さなかった (Table 1, 2)。グラム陰性菌では CTM は AMPC, CCL に比べ優れた抗菌力を示し、CFIX とほぼ同等な値を示した。*Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Hafnia alvei*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* では、10⁸ cells/ml 接種時の CTM の MIC は >100 μg/ml と接種菌量によって大きな変動を示した。*Pseudomonas aeruginosa* と一部の *Acinetobacter calcoaceticus* には 4 薬剤とも抗菌力を示さなかった

(Table 3, 4)。嫌気性菌に対しては CTM, CFIX, CCL, AMPC は *Clostridium* 属には抗菌力を示したが、*Bacteroides* 属には抗菌力を示さなかった。4 薬剤の中では AMPC の抗菌力が良好であった (Table 5, 6)。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料より分離された被検菌に対する各抗生物質の感受性分布および累積百分率を Fig. 2~17 に示した。いずれも 10⁶ cells/ml 接種時の成績である。

1) *S. aureus* の場合

Fig. 2 に示すように CTM の *S. aureus* に対する MIC は 0.39~1.56 μg/ml に、CFIX は 6.25~50 μg/ml に、CCL は 0.78~6.25 μg/ml に AMPC は 0.1~3.13 μg/ml に分布し、それぞれ 0.78, 12.5, 1.56, 0.2 μg/ml にピークを有する 1 峰性の分布が認められた。CTM は AMPC に次いで良好な MIC を示した。

2) *S. epidermidis* の場合

Fig. 3 に示すように *S. epidermidis* の CTM に対する MIC は 0.2~3.13, CFIX は 1.56~>100, CCL は 0.2~100, AMPC は 0.025~25 μg/ml に分布し、それぞれ 0.78, 6.25, 0.78, 0.2 μg/ml にピークを

Table 3 Antibacterial spectra of cefotiam and other antibiotics against gram-negative bacteria (10⁸ cells/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>N. gonorrhoeae</i>	0.025	<0.006	0.39	0.05
<i>N. meningitidis</i>	0.05	<0.006	3.13	0.05
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	0.39	0.025	1.56	0.78
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0.2	0.78	25	12.5
<i>E. coli</i> NIH	0.2	0.78	12.5	12.5
<i>E. coli</i> K-12	0.1	0.78	25	6.25
<i>E. coli</i> KC-14	0.1	0.78	25	6.25
<i>C. freundii</i> NIH 10018-68	50	>100	>100	>100
<i>S. typhi</i> T-287	0.05	0.05	0.78	0.39
<i>S. typhi</i> 0-901	0.05	0.012	0.78	0.39
<i>S. paratyphi</i> A	0.05	0.025	1.56	0.78
<i>S. paratyphi</i> B	0.1	0.05	0.78	0.78
<i>S. enteritidis</i>	1.56	0.78	3.13	3.13
<i>S. dysenteriae</i> EW-7	0.1	0.39	6.25	6.25
<i>S. flexneri</i> 2a EW-10	0.1	0.39	6.25	3.13
<i>S. flexneri</i> Komagome	0.2	0.78	6.25	3.13
<i>S. boydii</i> EW-28	0.1	0.78	3.13	12.5
<i>S. sonnei</i> EW-33	0.1	0.39	6.25	3.13
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0.1	0.05	1.56	0.78
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 9632	0.2	0.025	3.13	100
<i>K. pneumoniae</i> DT-S	0.2	0.1	0.78	1.56
<i>E. cloacae</i> NCTC 9394	>100	6.25	>100	>100
<i>E. aerogenes</i>	>100	1.56	>100	>100
<i>E. aerogenes</i> NCTC 10006	>100	6.25	>100	>100
<i>H. alvei</i> NCTC 9540	>100	3.13	>100	50
<i>S. marcescens</i> IFO 3736	>100	0.39	>100	>100
<i>S. marcescens</i> T-55	>100	0.39	>100	50
<i>P. vulgaris</i> OX-19	>100	0.012	>100	>100
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.2	0.012	12.5	1.56
<i>P. mirabilis</i> 181	1.56	0.025	25	3.13
<i>M. morgani</i> Kono	100	25	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> NIH 96	0.012	<0.006	>100	12.5
<i>P. inconstans</i> NIH 118	3.13	<0.006	>100	100
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> E-2	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> NC-5	>100	>100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> Ac-54	50	25	>100	25
<i>A. faecalis</i> IFO 1311	3.13	6.25	6.25	>100

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

有していたが、CTM を除き幅広い分布を示していた。

3) *S. pyogenes* の場合

Fig. 4 に示すように *S. pyogenes* に対する CTM の MIC は 0.05~0.2, CFIX は 0.1~0.39, CCL は 0.2~1.56, AMPC は 0.012~0.025 でピークはそれぞれ 0.05, 0.2, 0.2, 0.012 $\mu\text{g/ml}$ に存在した。*S.*

pyogenes に対しては AMPC の抗菌力が最も良好で次いで CTM, CFIX, CCL の順であった。

4) *E. coli* の場合

E. coli に対する感受性分布を Fig. 5 に示した。CTM の MIC は 0.05~6.25, CFIX は 0.1~>100, CCL は 0.78~>100, AMPC は 0.2~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、ピークはそれぞれ 0.2, 0.78, 1.56, 6.25

Table 4 Antibacterial spectra of cefotiam and other antibiotics against gram-negative bacteria (10⁶ cells/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>N. gonorrhoeae</i>	0.025	<0.006	0.05	0.05
<i>N. meningitidis</i>	0.05	<0.006	0.78	0.05
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	0.39	0.025	1.56	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0.1	0.39	1.56	12.5
<i>E. coli</i> NIH	0.1	0.39	1.56	6.25
<i>E. coli</i> K-12	0.1	0.39	1.56	6.25
<i>E. coli</i> KC-14	0.1	0.39	0.78	3.13
<i>C. freundii</i> NIH 10018-68	0.78	1.56	100	>100
<i>S. typhi</i> T-287	0.025	0.025	0.2	0.2
<i>S. typhi</i> O-901	0.05	0.012	0.39	0.39
<i>S. paratyphi</i> A	0.05	0.025	0.78	0.39
<i>S. paratyphi</i> B	0.05	0.05	0.39	0.78
<i>S. enteritidis</i>	0.1	0.025	0.78	0.39
<i>S. dysenteriae</i> EW-7	0.1	0.39	1.56	6.25
<i>S. flexneri</i> 2a EW-10	0.1	0.39	1.56	3.13
<i>S. flexneri</i> Komagome	0.1	0.39	1.56	3.13
<i>S. boydii</i> EW-28	0.05	0.39	0.78	6.25
<i>S. sonnei</i> EW-33	0.1	0.2	0.78	3.13
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0.1	0.025	0.39	0.78
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 9632	0.2	0.025	0.78	50
<i>K. pneumoniae</i> DT-S	0.1	0.025	0.39	0.78
<i>E. cloacae</i> NCTC 9394	1.56	3.13	>100	>100
<i>E. aerogenes</i>	0.39	0.2	50	>100
<i>E. aerogenes</i> NCTC 10006	0.78	3.13	>100	>100
<i>H. alvei</i> NCTC 9540	0.78	0.39	50	25
<i>S. marcescens</i> IFO 3736	6.25	0.2	>100	50
<i>S. marcescens</i> T-55	6.25	0.2	50	12.5
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.39	0.012	25	50
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.1	0.012	3.13	0.78
<i>P. mirabilis</i> 181	0.39	0.025	3.13	1.56
<i>M. morgani</i> Kono	0.2	0.2	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> NIH 96	<0.006	<0.006	3.13	0.2
<i>P. inconstans</i> NIH 118	0.05	<0.006	6.25	50
<i>P. aeruginosa</i> No.12	>100	100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> E-2	>100	100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> NC-5	>100	100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> Ac-54	50	6.25	25	25
<i>A. faecalis</i> IFO 1311	1.56	3.13	1.56	12.5

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

と>100 $\mu\text{g/ml}$ で AMPC だけが2峰性の分布を示した。CTM の抗菌力が最も優れ、CFIX, CCL, AMPC の順で続いた。AMPC の約42%が>100 $\mu\text{g/ml}$ の耐性を示した。

5) *K. pneumoniae* の場合

Fig. 6 に *K. pneumoniae* に対する感受性分布を示した。CTM の MIC は 0.1~0.2, CFIX は ≤ 0.006

~0.2, CCL は 0.39~3.13, AMPC は 50~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、ピークはそれぞれ 0.2, 0.05, 0.78, 100 $\mu\text{g/ml}$ であった。CFIX, CTM, CCL, AMPC の順に良好な感受性分布を示したが、CFIX に比べ、CTM はその感受性分布の幅がせまかった。

6) *E. cloacae* の場合

Fig. 7 に示すように CTM の MIC は 0.2~100,

Table 5 Antibacterial spectra of cefotiam and other antibiotics against anaerobic bacteria (10⁸ cells/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>C. tetani</i>	0.39	3.13	1.56	0.1
<i>C. perfringens</i>	25	>100	6.25	0.39
<i>C. sporogenes</i> GAI 0005	1.56	12.5	6.25	0.39
<i>B. fragilis</i> GM 7000	50	50	>100	25
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	>100	100	>100	25
<i>B. fragilis</i> V-240-2	>100	>100	>100	>100
<i>B. fragilis</i> V-283	>100	>100	>100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> 5600	>100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> clin 99-3	>100	50	>100	>100
<i>B. vulgatus</i> ES-14	25	6.25	100	12.5
<i>B. ovatus</i> Ju-6-1	>100	50	>100	25

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

Table 6 Antibacterial spectra of cefotiam and other antibiotics against anaerobic bacteria (10⁶ cells/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>C. tetani</i>	0.2	0.78	0.78	0.05
<i>C. perfringens</i>	6.25	3.13	3.13	0.1
<i>C. sporogenes</i> GAI 0005	0.78	12.5	3.13	0.1
<i>B. fragilis</i> GM 7000	12.5	6.25	>100	12.5
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	25	12.5	>100	12.5
<i>B. fragilis</i> V-240-2	>100	>100	>100	>100
<i>B. fragilis</i> V-283	>100	>100	>100	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> 5600	>100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> clin 99-3	100	12.5	>100	100
<i>B. vulgatus</i> ES-14	12.5	1.56	50	12.5
<i>B. ovatus</i> Ju-6-1	100	25	>100	25

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

CFIX は 0.05~100, CCL は 1.56~>100, AMPC は 100~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, CTM は CFIX 同様幅広いならだとした分布を示したが, CCL, AMPC に比べると良好な成績であった。

7) *E. aerogenes* の場合

Fig. 8 に示すように CTM の MIC は 0.2~>100, CFIX は 0.39~>100 $\mu\text{g/ml}$, CCL は 12.5~>100, AMPC は 100~>100 $\mu\text{g/ml}$ にあり, CTM は CFIX とほぼ同等の分布を示した。

8) *S. marcescens* の場合

Fig. 9 に *S. marcescens* に対する MIC の分布を示した。CTM は 3.13~>100, CFIX は 0.2~100, CCL と AMPC は 50~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, CFIX が最も優れた抗菌力を示した。CTM がこれ

に続き, AMPC と CCL はそれぞれ 74%, 98% が >100 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。

9) *P. mirabilis* の場合

P. mirabilis に対する感受性分布を Fig. 10 に示した。CTM は 0.1~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, CFIX が最も優れた抗菌力を示し, CTM, AMPC, CCL がこれに続いた。いずれも 1 峰性の分布を示し, ピークはそれぞれ 0.012, 0.39, 1.56, 0.78 $\mu\text{g/ml}$ に存在した。

10) *P. vulgaris* の場合

Fig. 11 に示すように, CFIX が最も優れており, 次いで CTM であった。CFIX の MIC は ≤ 0.006 ~0.39, CTM は 0.1~>100, CCL は 1.56~>100, AMPC は 0.78~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布をしていた。

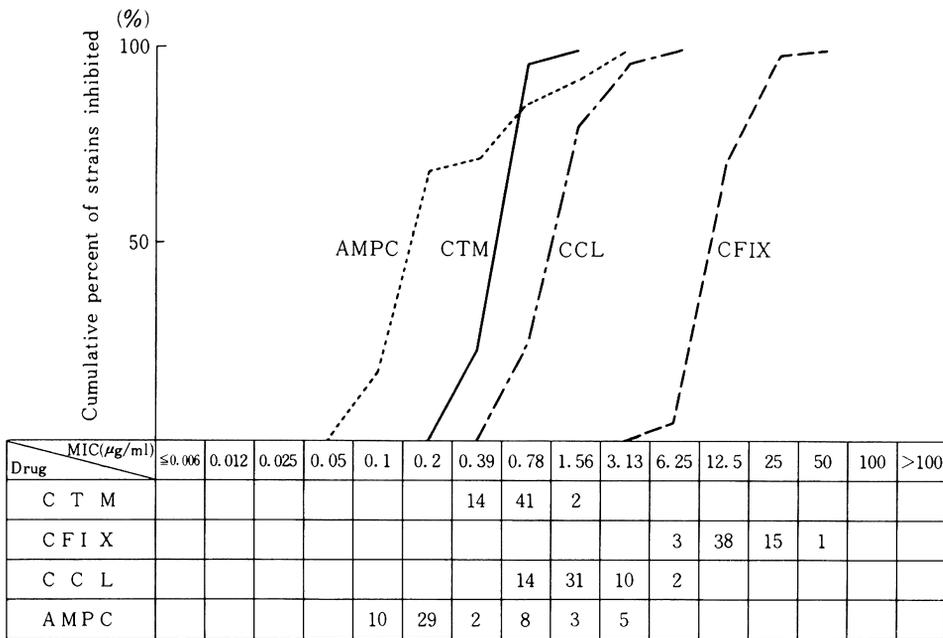


Fig. 2 Sensitivity distribution of 57 strains of clinically isolated *Staphylococcus aureus* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFI X, cefixime ; C C L, cefaclor ; A M P C, amoxicillin

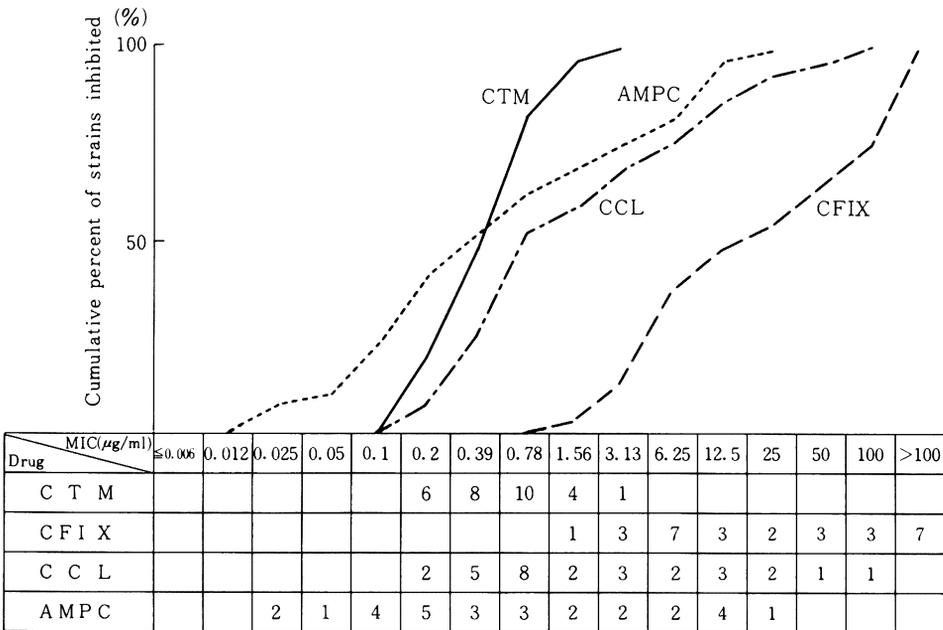


Fig. 3 Sensitivity distribution of 29 strains of clinically isolated *Staphylococcus epidermidis* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFI X, cefixime ; C C L, cefaclor ; A M P C, amoxicillin

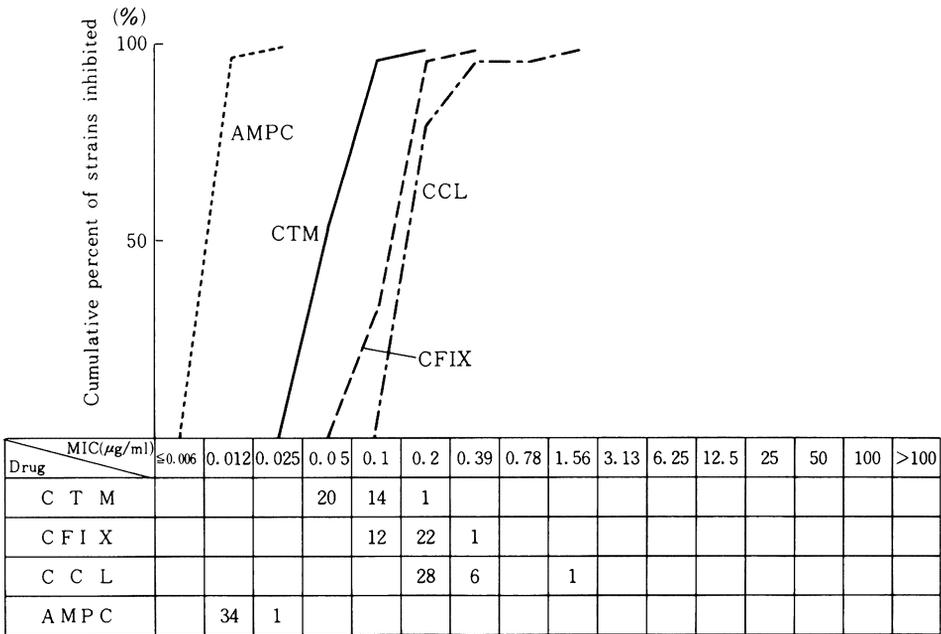


Fig. 4 Sensitivity distribution of 35 strains of clinically isolated *Streptococcus pyogenes* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

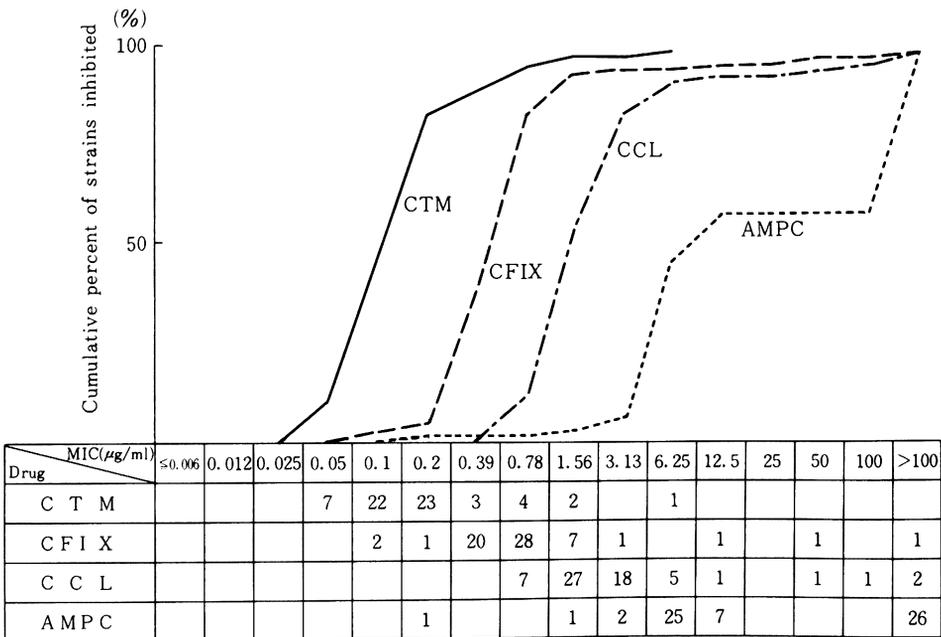


Fig. 5 Sensitivity distribution of 62 strains of clinically isolated *Escherichia coli* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

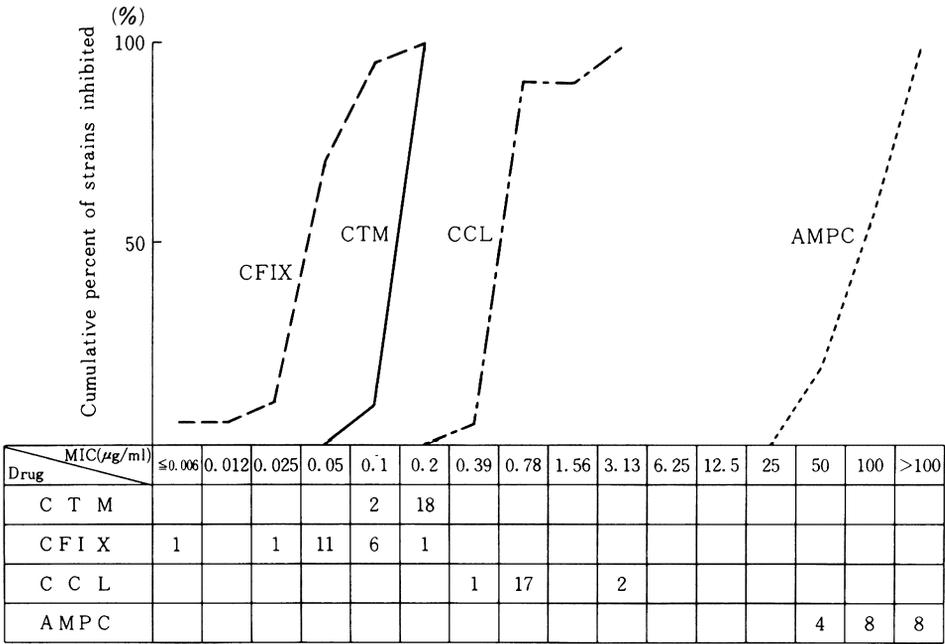


Fig. 6 Sensitivity distribution of 20 strains of clinically isolated *Klebsiella pneumoniae* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

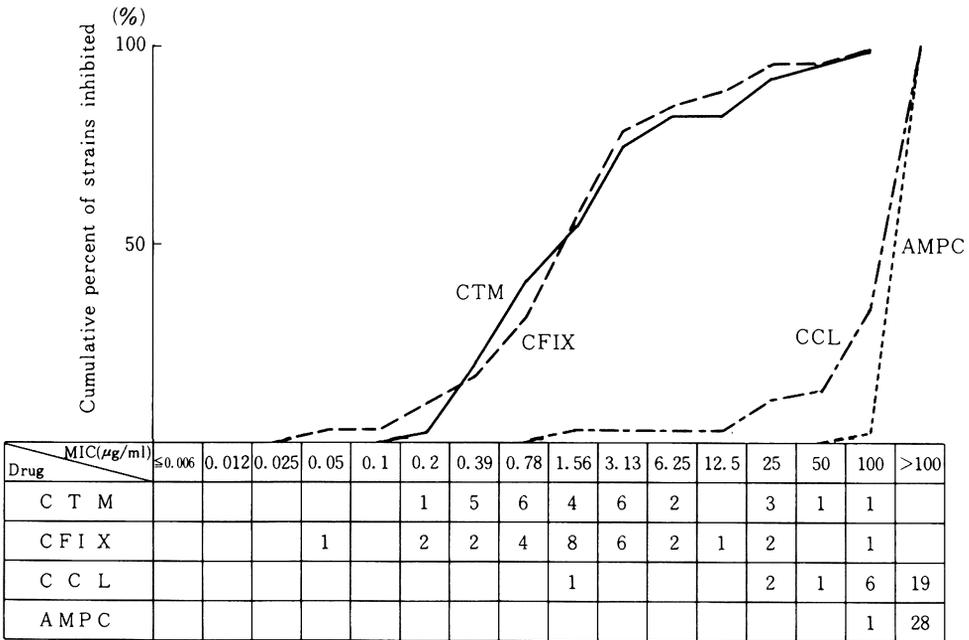


Fig. 7 Sensitivity distribution of 29 strains of clinically isolated *Enterobacter cloacae* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

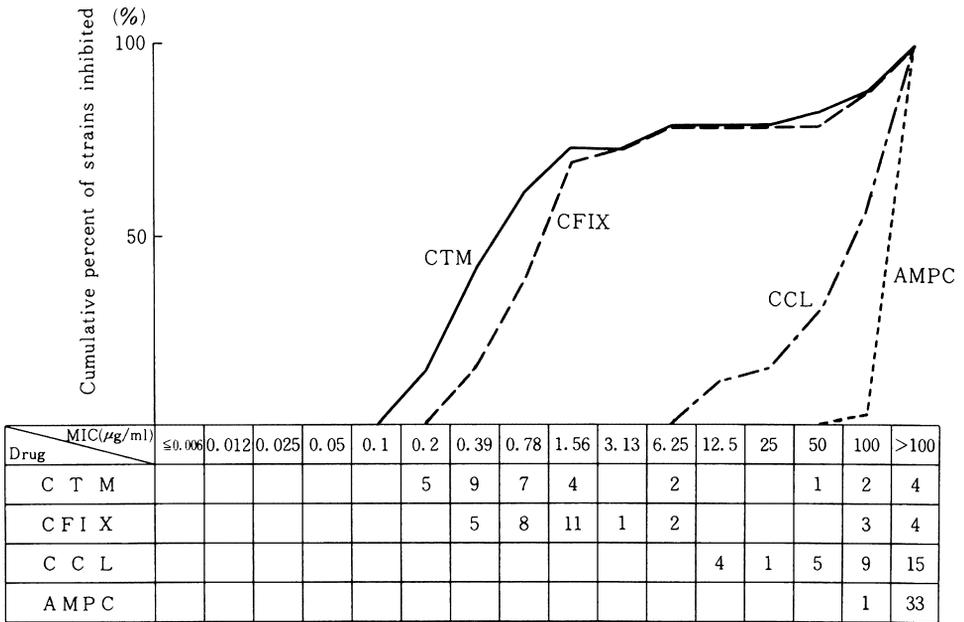


Fig. 8 Sensitivity distribution of 34 strains of clinically isolated *Enterobacter aerogenes* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

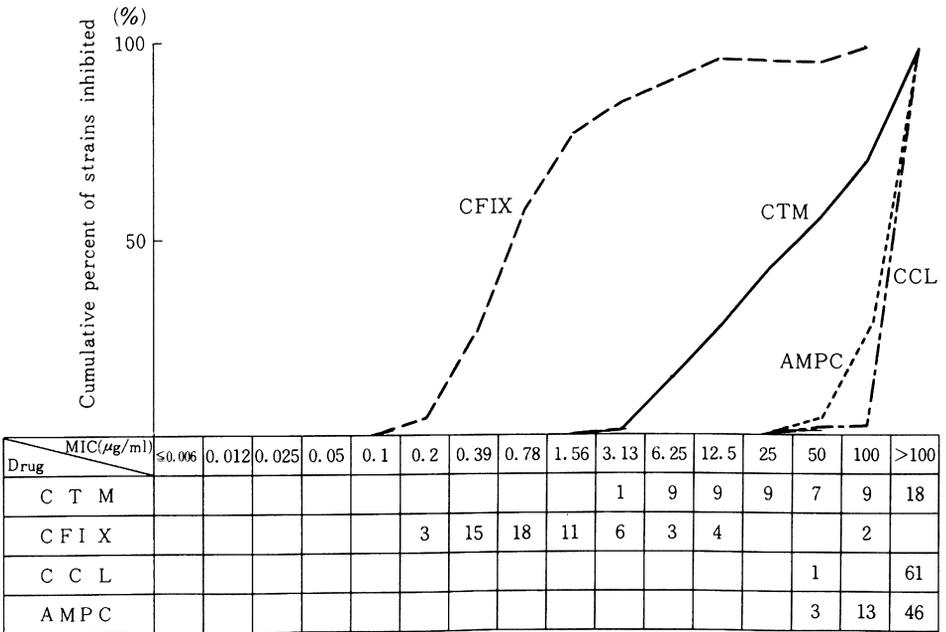


Fig. 9 Sensitivity distribution of 62 strains of clinically isolated *Serratia marcescens* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

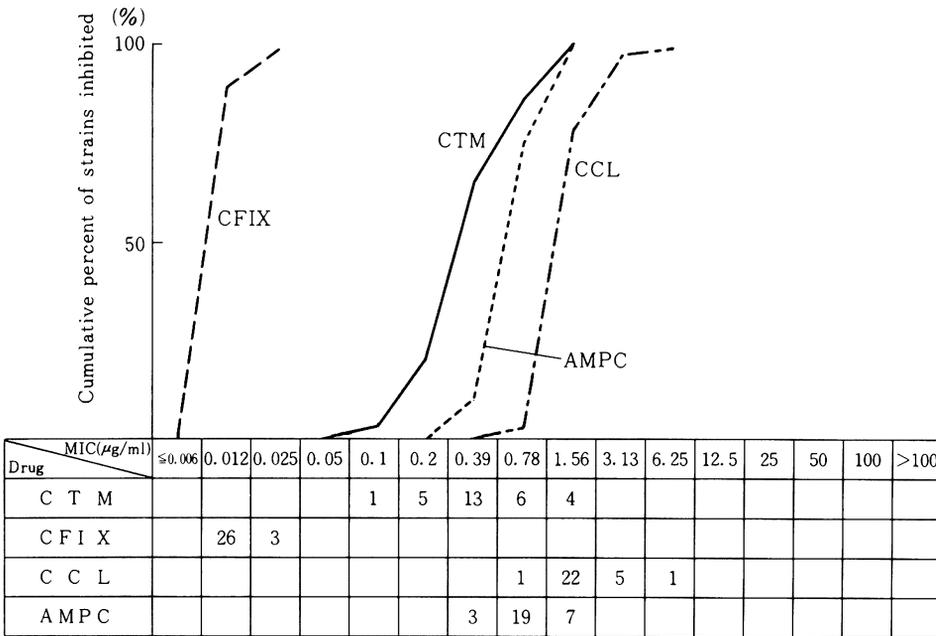


Fig. 10 Sensitivity distribution of 29 strains of clinically isolated *Proteus mirabilis* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

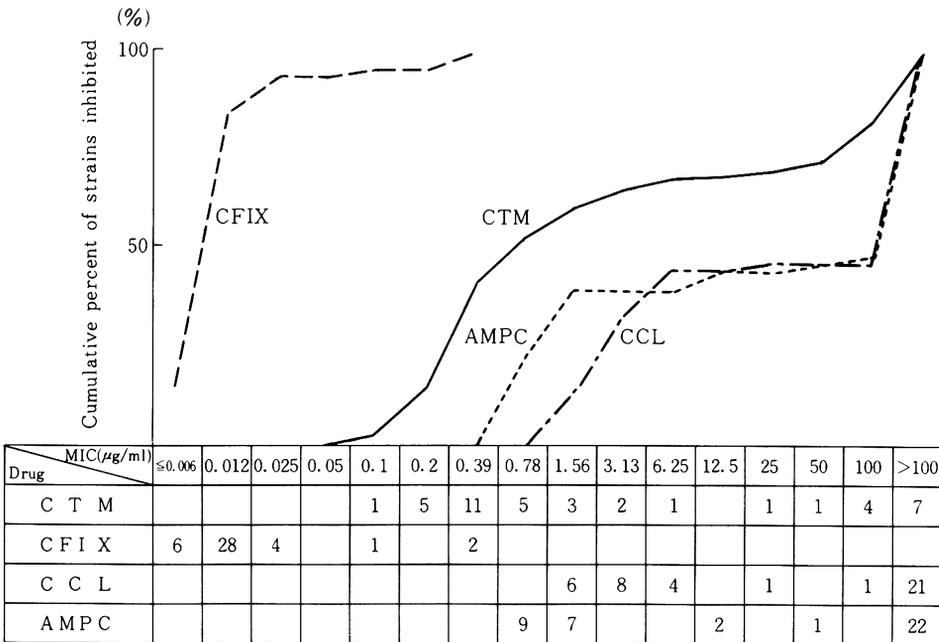


Fig. 11 Sensitivity distribution of 41 strains of clinically isolated *Proteus vulgaris* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

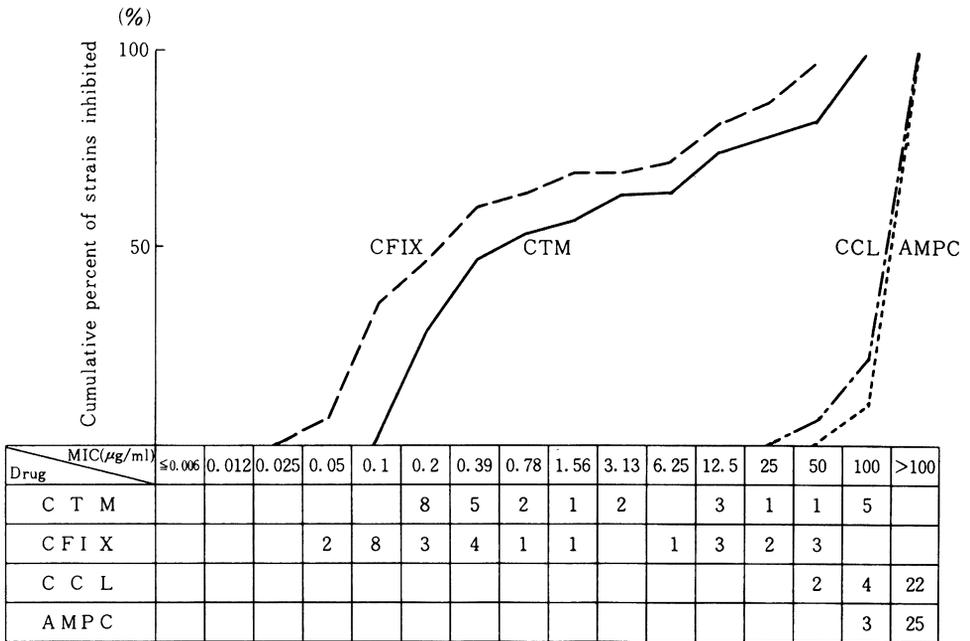


Fig. 12 Sensitivity distribution of 28 strains of clinically isolated *Morganella morganii* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

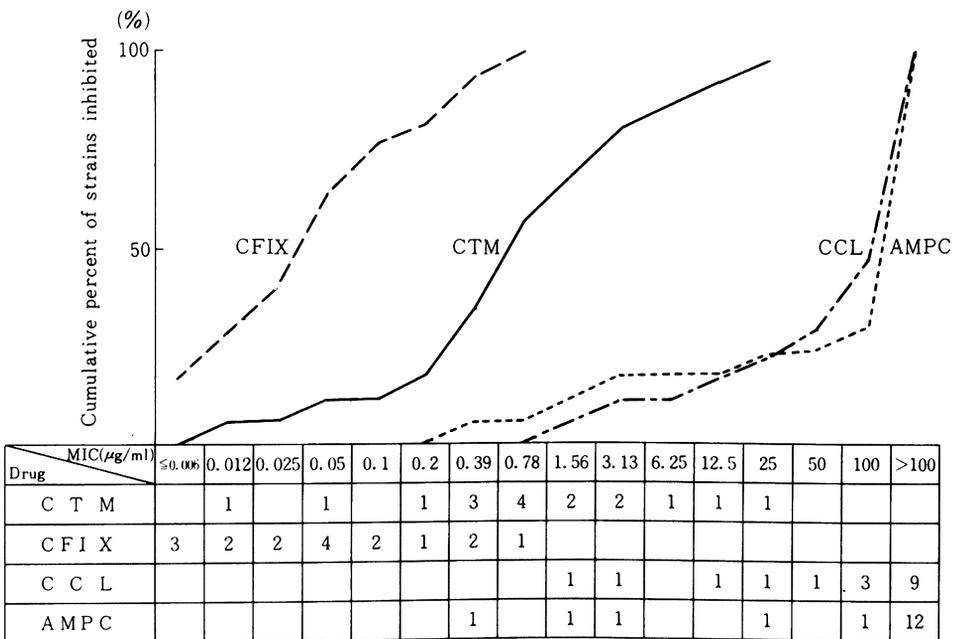


Fig. 13 Sensitivity distribution of 17 strains of clinically isolated *Providencia rettgeri* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

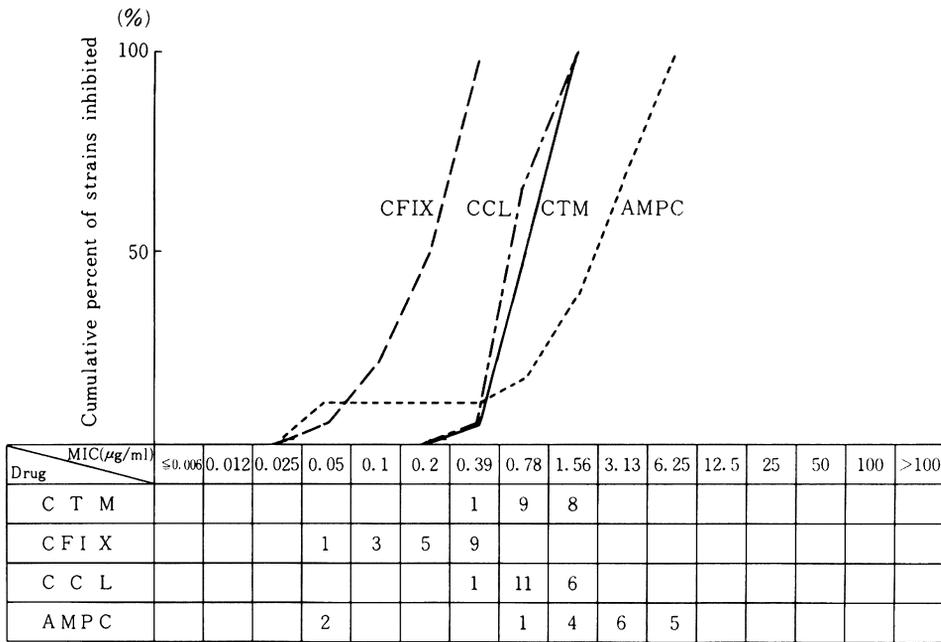


Fig. 14 Sensitivity distribution of 18 strains of clinically isolated *Branhamella catarrhalis* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

11) *M. morgani* の場合

Fig. 12 に *M. morgani* に対する感受性分布を示した。CFIX は 0.05~50, CTM は 0.2~100 μg/ml に幅広い分布を示し, CCL および AMPC はそれぞれ 79%, 89% が >100 μg/ml であった。

12) *P. rettgeri* の場合

Fig. 13 に示すように *P. rettgeri* に対して CFIX は ≤0.006~0.78, CTM は 0.012~25, AMPC は 0.39~>100, CCL は 1.56~>100 μg/ml に分布していた。CFIX が CTM に比べ優れていたが, どちらもその感受性の分布域が広がった。

13) *B. catarrhalis* の場合

B. catarrhalis に対する感受性分布を Fig. 14 に示した。CTM は 0.39~1.56, CFIX は 0.05~0.39, CCL は 0.39~1.56, AMPC は 0.05~6.25 μg/ml に分布し, CFIX が良好な分布を示し, CTM と CCL がこれに次ぐ成績であった。

14) *H. influenzae* の場合

Fig. 15 に示すように *H. influenzae* に対して, CTM は 0.1~1.56, CFIX は ≤0.006~0.39, CCL は 0.1~3.13, AMPC は 0.1~6.25 μg/ml に分布していた。ピークはそれぞれ 0.39, 0.025, 1.56, 0.39

μg/ml で CTM は AMPC とほぼ同等の分布を示し, *H. influenzae* に対しては CFIX の抗菌力が優れていた。

15) *P. aeruginosa* の場合

Fig. 16 に示すように *P. aeruginosa* に対しては CTM, CCL, AMPC は全て >100 μg/ml であった。CFIX はわずかに感受性を示したが, ピークは 100 μg/ml に存在していた。

16) *A. calcoaceticus* の場合

Fig. 17 に示すように *A. calcoaceticus* に対しては CTM, CFIX, AMPC は 3.13~100, CCL は 6.25~>100 μg/ml に分布し, CTM は CCL と同等の分布を示した。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH, 馬血清添加および接種菌量による影響について検討した結果を Table 7~9 に示した。培地 pH の影響では Table 7 に示すように *S. aureus* の場合はいずれの抗生物質においても酸性側で抗菌力が良好となった。*E. coli*, *K. pneumoniae* などの場合には AMPC を除き, アルカリ側での抗菌力が良好となったが, pH 9 では逆に若干劣る傾向が認められた。一方, AMPC では *E.*

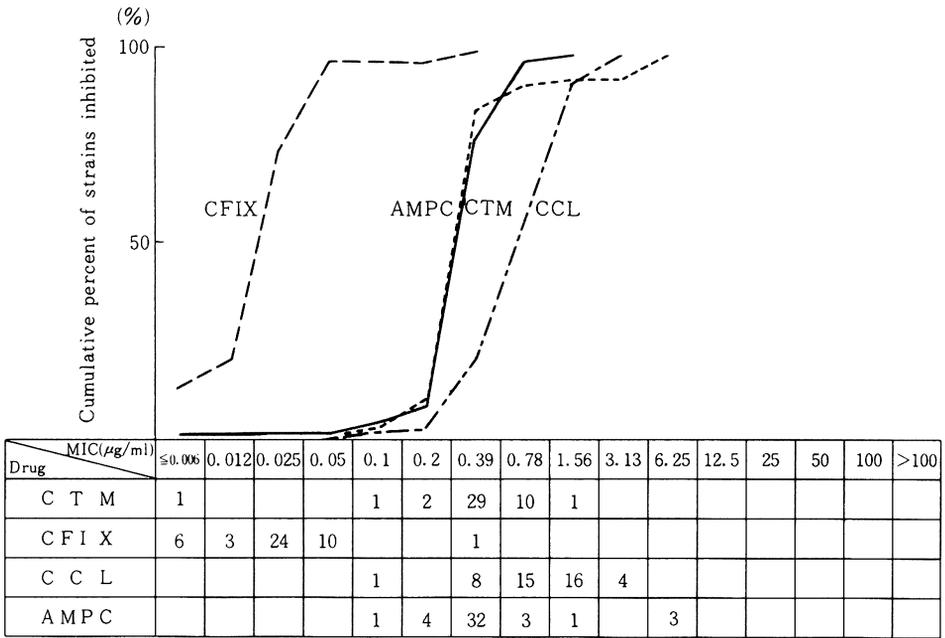


Fig. 15 Sensitivity distribution of 44 strains of clinically isolated *Haemophilus influenzae* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

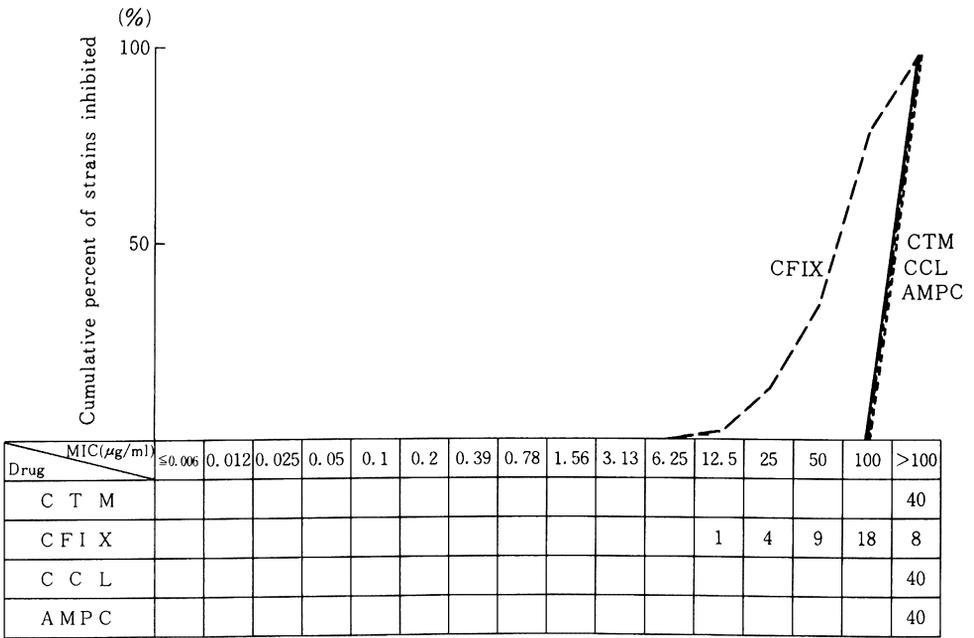


Fig. 16 Sensitivity distribution of 40 strains of clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa* (10^6 cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

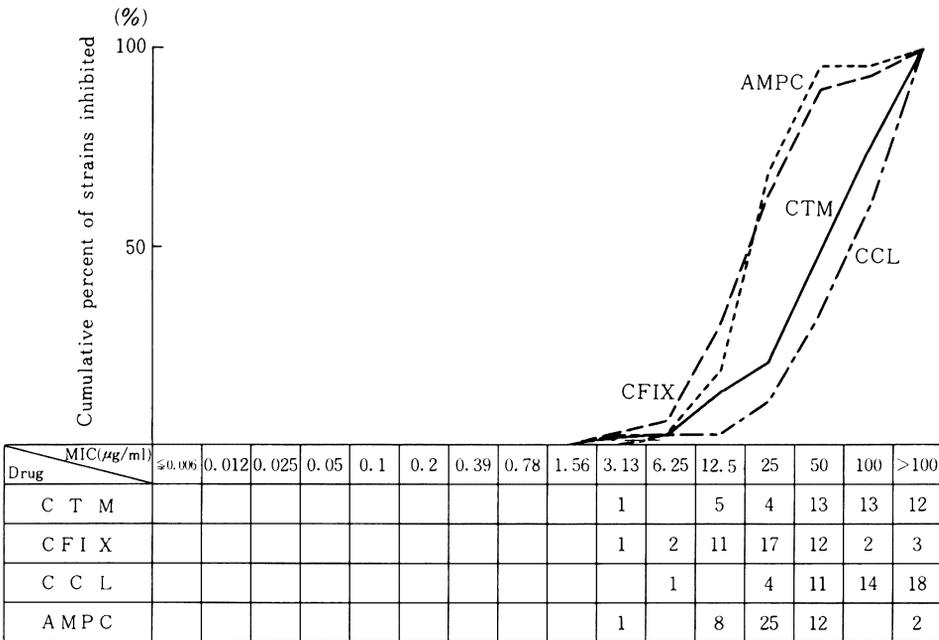


Fig. 17 Sensitivity distribution of 48 strains of clinically isolated *Acinetobacter calcoaceticus* (10⁶ cells/ml). CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

Table 7 Influence of medium pH on the antibacterial activity

Organism	Medium pH	MIC (μg/ml)			
		CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>S. aureus</i> 209P JC	5	<0.006	0.05	0.012	<0.006
	6	0.2	12.5	0.39	0.1
	7	0.39	50	1.56	0.1
	8	0.39	50	3.13	0.1
	9	0.39	50	3.13	0.1
<i>E.coli</i> NIH JC-2	5	1.56	0.2	1.56	3.13
	6	0.39	0.39	0.78	3.13
	7	0.1	0.39	1.56	12.5
	8	0.1	0.39	6.25	12.5
	9	0.39	0.39	25	25
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	5	1.56	0.1	1.56	0.78
	6	0.39	0.1	0.78	0.78
	7	0.1	0.012	0.78	0.39
	8	0.1	0.012	1.56	0.78
	9	0.39	0.05	6.25	1.56
<i>S. marcescens</i> T-55	5	100	1.56	100	12.5
	6	1.56	0.2	50	12.5
	7	3.13	0.2	>100	25
	8	3.13	0.2	>100	50
	9	12.5	0.2	>100	50
<i>P. mirabilis</i> 1287	5	6.25	0.012	3.13	1.56
	6	0.39	<0.006	0.78	0.78
	7	0.1	<0.006	1.56	0.39
	8	0.1	0.012	3.13	0.78
	9	0.2	0.012	25	1.56

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

Table 8 Influence of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Horse serum (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>S. aureus</i> 209P JC	0	0.39	50	0.78	0.1
	10	0.39	25	0.78	0.1
	25	0.39	25	1.56	0.1
	50	0.39	25	1.56	0.1
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0	0.1	0.78	1.56	12.5
	10	0.1	0.39	3.13	12.5
	25	0.2	0.39	3.13	12.5
	50	0.2	0.39	6.25	12.5
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0	0.2	0.025	0.78	0.78
	10	0.1	0.012	0.78	0.78
	25	0.1	0.012	0.78	0.78
	50	0.1	0.012	1.56	0.78
<i>S. marcescens</i> T-55	0	3.13	0.39	>100	50
	10	3.13	0.39	>100	50
	25	3.13	0.39	>100	50
	50	6.25	0.2	>100	50
<i>P. mirabilis</i> 1287	0	0.1	<0.006	0.78	0.39
	10	0.1	<0.006	0.78	0.39
	25	0.1	<0.006	1.56	0.39
	50	0.1	<0.006	3.13	0.39

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

Table 9 Influence of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		CTM	CFIX	CCL	AMPC
<i>S. aureus</i> 209P JC	10^8	0.78	50	1.56	0.2
	10^7	0.39	50	1.56	0.2
	10^6	0.39	50	0.78	0.1
	10^5	0.2	50	0.78	0.1
	10^4	0.2	25	0.78	0.1
<i>E. coli</i> NIH JC-2	10^8	0.2	0.78	12.5	12.5
	10^7	0.1	0.78	3.13	12.5
	10^6	0.1	0.78	1.56	12.5
	10^5	0.1	0.39	1.56	12.5
	10^4	0.1	0.39	1.56	6.25
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	10^8	0.2	0.1	1.56	1.56
	10^7	0.2	0.05	0.78	1.56
	10^6	0.1	0.025	0.78	0.78
	10^5	0.1	0.012	0.39	0.78
	10^4	0.1	0.012	0.39	0.78
<i>S. marcescens</i> T-55	10^8	>100	0.78	>100	100
	10^7	12.5	0.78	>100	50
	10^6	3.13	0.39	>100	25
	10^5	1.56	0.2	100	25
	10^4	1.56	0.2	25	12.5
<i>P. mirabilis</i> 1287	10^8	0.2	0.012	6.25	0.78
	10^7	0.1	0.012	3.13	0.78
	10^6	0.1	<0.006	1.56	0.78
	10^5	0.1	<0.006	1.56	0.78
	10^4	0.1	<0.006	1.56	0.78

CTM, cefotiam ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ; AMPC, amoxicillin

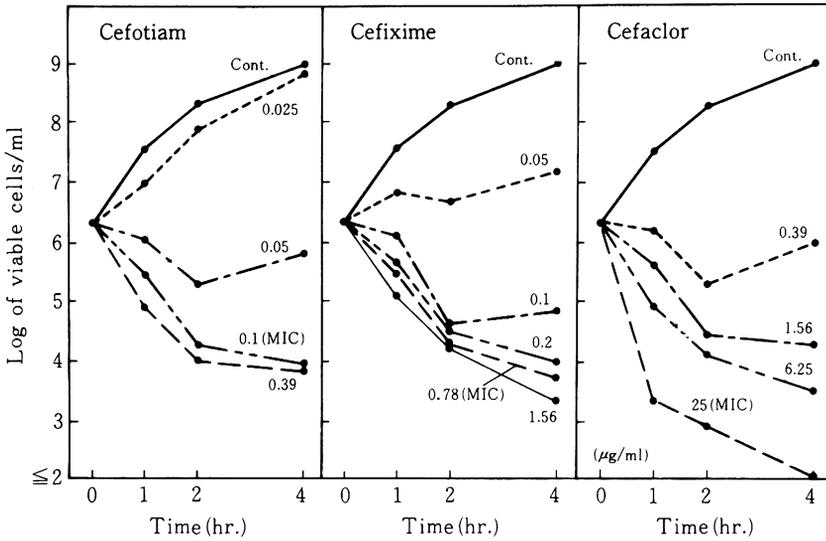


Fig. 18 Effect of cefotiam, cefixime and cefaclor on viability of *Escherichia coli* KC-14

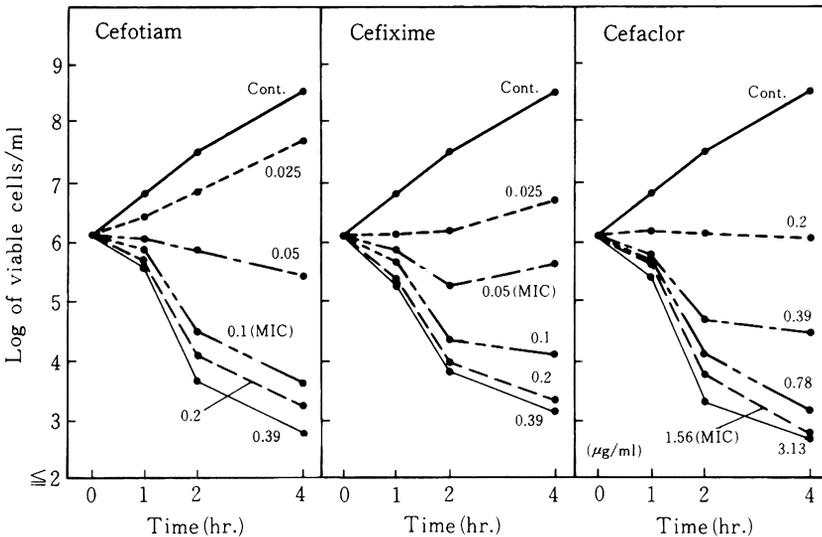


Fig. 19 Effect of cefotiam, cefixime and cefaclor on viability of *Klebsiella pneumoniae* KC-1

coli や *S. marcescens* は *S. aureus* の場合と同様、酸性側で抗菌力が良好となった。血清添加の影響では、Table 8 に示すように、いずれの抗生物質も抗菌力にはほとんど影響が見られなかった。接種菌量による影響を検討した結果を Table 9 に示した。*S. marcescens* の場合を除き、いずれの抗生物質も接種菌量が減少すると抗菌力は変動しないか、わずかに良好となった。しかし、*S. marcescens* に対しては CTM, CCL で抗菌力の変動が大きかった。

4. 殺菌作用に及ぼす影響

Fig. 18 は *E. coli* KC-14 の増殖曲線に及ぼす殺菌効果について検討を行った成績で、いずれの抗生物質も dose response のある殺菌作用を示したが、CTM では MIC 以上、CFIX では 1/2 MIC 以上で同程度の殺菌作用を示した。Fig. 19 に *K. pneumoniae* KC-1 に対する作用を検討した結果を示したが、*E. coli* 同様 dose response のある殺菌作用がみられた。CTM では MIC, CFIX では 2 MIC

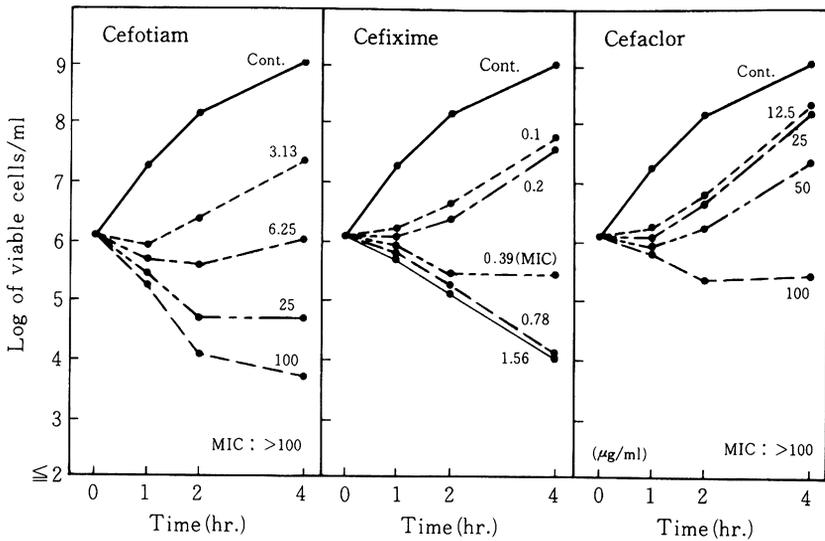


Fig. 20 Effect of cefotiam, cefixime and cefaclor on viability of *Serratia marcescens* T-55

Table 10 Protecting effect of cefotiam hexetil, cefixime, cefaclor and amoxicillin on experimental infection in mice^{a)} — Gram-positive bacteria —

Organisms	Challenge ^{b)} dose (cells/mouse)	Antibiotics	ED ₅₀ (mg/mouse) ^{c)}	MIC (µg/ml)	
				10 ⁸	10 ⁶
<i>S. aureus</i> Smith	3.4 × 10 ⁶ (45LD ₅₀)	CTM-HE	0.042 (0.036 ~ 0.050)	0.78	0.39
		CFIX	2.70 (2.00 ~ 3.65)	25	25
		CCL	0.0016 (0.0012 ~ 0.0021)	1.56	0.78
		AMPC	0.025 (0.017 ~ 0.036)	0.2	0.1
<i>S. pyogenes</i> C-203	3.0 × 10 ² (25LD ₅₀)	CTM-HE	0.073 (0.055 ~ 0.096)	0.05	0.05
		CFIX	0.053 (0.042 ~ 0.067)	0.2	0.1
		CCL	0.035 (0.028 ~ 0.043)	0.39	0.2
		AMPC	0.0021 (0.0015 ~ 0.0030)	0.012	0.012
<i>S. pneumoniae</i> III	3.3 × 10 ¹⁰ (12LD ₅₀)	CTM-HE	0.13 (0.10 ~ 0.16)	0.2	0.1
		CFIX	0.28 (0.22 ~ 0.36)	0.39	0.2
		CCL	0.30 (0.17 ~ 0.52)	0.78	0.39
		AMPC	0.0068 (0.0051 ~ 0.0091)	0.012	0.012

CTM-HE, cefotiam hexetil ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor ;
AMPC, amoxicillin

() : 95% confidence limits

a), std: ddY ♀ (18~20 g) n=10

b), i.p. c), p.o. 2hr. after infection

以上で、それぞれ殺菌作用を示した。Fig. 20に *S. marcescens* T-55に対する作用を示した。CTMではMICが>100 µg/mlであったが、作用後4時間までの短時間殺菌作用が25 µg/mlで認められた。また、6.25 µg/ml以上では静菌作用を示した。CFIXはMICに相当する0.39 µg/mlで静菌的、2MIC以上で殺菌作用を示したが、4時間目の殺菌率はCTMの100 µg/mlと同等であった。

5. マウス実験的感染症に対する治療効果

Table 10にはグラム陽性菌3株、Table 11にはグ

ラム陰性菌5株を用いての腹腔内感染に対するCTM-HE, CFIX, CCL, AMPCの治療効果をED₅₀で示した。*S. aureus* Smithの場合、CTM-HEのED₅₀は0.042 mg/mouse、CFIXは2.70 mg/mouse、CCLは0.0016 mg/mouse、AMPCは0.025 mg/mouseでCCLの治療効果が最も優れていた。CTM-HEはAMPCとほぼ同等で、CFIXより優れた効果を示した。*S. pyogenes* C-203に対するCTM-HEの治療効果は0.073 mg/mouse、CFIX 0.053 mg/mouse、CCL 0.035 mg/mouse、AMPC

Table 11 Protecting effect of cefotiam hexetil, cefixime and cefaclor on experimental infection in mice^{a)} —Gram-negative bacteria—

Organisms	Challenge ^{b)} dose (cells/mouse)	Antibiotics	ED ₅₀ (mg/mouse) ^{c)}	MIC(μg/ml)	
				10 ⁸	10 ⁶
<i>E. coli</i> KC-14	1.7×10 ⁴ (77LD ₅₀)	CTM-HE	0.052 (0.042 ~0.065)	0.1	0.1
		CFIX	0.026 (0.022 ~0.030)	0.78	0.39
		CCL	0.040 (0.033 ~0.047)	25	0.78
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	4.4×10 ³ (126LD ₅₀)	CTM-HE	0.10 (0.079 ~0.13)	0.1	0.1
		CFIX	0.015 (0.011 ~0.020)	0.05	0.025
		CCL	0.098 (0.071 ~0.14)	1.56	0.39
<i>S. marcescens</i> T-55	6.1×10 ⁴ (15LD ₅₀)	CTM-HE	0.31 (0.12 ~0.81)	>100	6.25
		CFIX	0.0081(0.0034~0.019)	0.39	0.2
		CCL	>3.0	>100	50
<i>E. cloacae</i> KC-113	2.9×10 ³ (37LD ₅₀)	CTM-HE	0.053 (0.039 ~0.073)	12.5	0.2
		CFIX	0.015 (0.011 ~0.021)	0.2	0.1
		CCL	0.13 (0.10 ~0.17)	>100	6.25
<i>P. mirabilis</i> 434	5.8×10 ⁴ (13LD ₅₀)	CTM-HE	0.13 (0.099 ~0.17)	1.56	0.39
		CFIX	0.0083(0.0055~0.013)	0.025	0.012
		CCL	0.052 (0.040 ~0.066)	3.13	1.56

CTM-HE, cefotiam hexetil ; CFIX, cefixime ; CCL, cefaclor

(): 95% confidence limits

a), std: ddY ♂ (18~20 g) n=10

b), i.p. c), p.o. 2hr. after infection

0.0021 mg/mouse で AMPC の効果が優れていた。CTM-HE, CFIX, CCL 間には有意の差はみられなかった。*S. pneumoniae* III に対する CTM-HE の効果は 0.13 mg/mouse, CFIX 0.28 mg/mouse, CCL 0.30 mg/mouse, AMPC 0.0068 mg/mouse で、CTM-HE は AMPC に次いで治療効果が良好であった。一方、グラム陰性菌に対しては *E. coli* KC-14 で、CTM-HE の治療効果は 0.052 mg/mouse, CFIX で 0.026 mg/mouse, CCL で 0.040 mg/mouse で CFIX の効果が若干良好であった。CTM-HE は CCL に近い治療効果を示した。*K. pneumoniae* KC-1 では CTM-HE は 0.10 mg/mouse, CFIX 0.015 mg/mouse, CCL 0.098 mg/mouse という ED₅₀ を示し、CFIX の効果が優れ、CTM-HE は CCL と同等の治療効果を示した。*S. marcescens* T-55 では CCL の ED₅₀ は >3 mg/mouse であり、CTM-HE は 0.31 mg/mouse, CFIX は 0.0081 mg/mouse という ED₅₀ を示し、CFIX が優れた治療効果を示した。*E. cloacae* KC-113 に対しては CTM-HE の ED₅₀ は 0.053 mg/mouse, CFIX 0.015 mg/mouse, CCL 0.13 mg/mouse で CFIX, CTM-HE, CCL の順に良好な治療効果を示した。*P. mirabilis* 434 に対する CTM-HE の治療効果は 0.13 mg/mouse, CFIX 0.0083 mg/mouse,

CCL 0.052 mg/mouse で CFIX, CCL, CTM-HE の順に良好な治療効果を示した。

考 察

Penicillin は 3 位あるいは 6 位置換基の 2 位のカルボキシル基をエステル化することにより、消化管吸収性が向上することが知られている。しかし、cephem では同様なエステル化によって消化管吸収性が向上する例はほとんど知られていない。新しく経口用 cephem として開発された CTM-HE は CTM を 1-cyclohexyloxycarbonyloxyethyl 基でエステル化した物質で、多くの cephem のエステル体の中から良好な消化管吸収性を示すものとして選択された化合物である。本物質は消化管からの吸収時に腸管壁内の非特異的エステラーゼにより速かに加水分解され、CTM として抗菌活性を示すことが確認されている。CTM は、数年前より第 2 世代の cephem 系抗生物質として臨床的に使用されており、その有用性についても明らかにされている。

私どもは以前に CTM の細菌学的評価について検討を行っているが¹⁾、その時に得られた *in vitro* 抗菌力を、今回得られた結果と比較すると、臨床分離株に対するピーク値は大部分の株でほぼ同じであったが、MIC の大きなところで少しだらだらとした分

布を示しており、少し耐性菌が増加する傾向にあるように思われた。また、私どもが行ったマウス実験的感染症に対する治療効果でも、CTM-HE は *S. marcescens* や *E. cloacae* に対しても良好な効果を示し、第2世代 cephem 系抗生物質の抗菌力の特徴がよく反映されていた。すなわち、CTM-HE の活性本体である CTM の抗菌力の特徴が *in vivo* の治療効果の成績でも裏付けられたと考えられる。*S. aureus* Smith, *S. pyogenes* C-203, *P. mirabilis* 434 などを用いたマウス実験的感染症に対して、CTM に比べて MIC の劣る CCL が優れた治療効果を示した理由としては1)これらの薬剤の吸収性、2)これらの菌種に対する殺菌力の差、3)感染菌のマウスでの増殖様式の差、4) 薬剤と生体細胞との相互作用などが考えられる。今後局所感染症などのモデルではどのような治療効果が得られるのか検討する必要があるように思われる。

文 献

- 1) 西野武志, 岩日朋幸: 新合成セファロsporin cefotiam (SCE-963) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 27 (S-3): 45~66, 1979
- 2) 横田 健, 斎藤 篤: SCE-2174 の抗菌作用及び体内動態について。第35回日本化学療法学会総会講演抄録, 演題 230, 盛岡, 1987
- 3) 中沢昭三, 北中英良, 大槻雅子, 福井正憲: 合成ペニシリン Amoxycillin に関する細菌学的研究。Chemotherapy 21: 1375~1382, 1973
- 4) 西野武志, 久保田満寿代: 新しい経口用セファロsporin系抗生物質 Cefaclor に関する細菌学的評価。Chemotherapy 27 (S-7): 38~58, 1979
- 5) 西野武志, 尾花芳樹, 後藤季美, 国安朋子, 谷野輝雄: Cefixim (CFIX) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 33 (S-6): 75~96, 1985
- 6) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 7) 日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 27: 559~560, 1979
- 8) LITCHFIELD JT, WILCOXON F: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96: 99~113, 1949

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF CEFOTIAM HEXETIL, A NEW ORAL CEPHEM ANTIBIOTIC

TAKESHI NISHINO, MASAKO OTSUKI,
HAYATO MATSUDA and TERUO TANINO
Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University,
5 Nakauchi-cho Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

In this study we tested the *in vitro* antibacterial activity of cefotiam (CTM), the parent compound of cefotiam hexetil (CTM-HE) and the *in vivo* therapeutic efficacy of CTM-HE, a new orally active ester derivative of CTM, against experimental mouse infections in comparison with cefixime (CFIX), cefaclor (CCL) and amoxicillin (AMPC).

CTM had a broad antibacterial spectrum against Gram-positive and -negative organisms. Its antibacterial activity against Gram-positive organisms was between that of AMPC and CCL.

In a sensitivity test on clinically isolated Gram-negative organisms, however, the antibacterial activity of CTM was superior to those of CCL and AMPC and inferior to that of CFIX.

CTM showed dose-related bactericidal activity against all the bacteria tested.

Against intraperitoneal infections with Gram-positive organisms in mice, the therapeutic efficacy of CTM-HE was superior to that of CFIX and inferior to that of AMPC. On the other hand, the therapeutic efficacy of CTM-HE against Gram-negative organisms was slightly inferior to that of CFIX and almost equal to that of CCL.