

経口セファロスポリン Cefotiam hexetil の
in vitro および *in vivo* 抗菌作用

近藤正熙・岩日朋幸・中尾雅文・飯沢祐史
内藤貴子・林 良吾・今田 哲
武田薬品工業株式会社・中央研究所*

Cefotiam hexetil は生体内で脱エステル化を受け、cefotiam(CTM)として抗菌作用を示すので、*in vitro* 抗菌試験においては cefotiam を、*in vivo* 抗菌試験では cefotiam hexetil(CTM-HE)を用いて、抗菌活性を測定し、対照薬剤の cephalixin, cefaclor および cefroxadine の抗菌活性と比較検討した。

1. Cefotiam はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し、対照薬剤よりも優れた抗菌力を示した。特に他剤が弱い抗菌力しか示さない cephalixin 耐性 *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* および *Haemophilus influenzae* に対する抗菌力が優れていた。

2. Cefotiam は *Staphylococcus aureus* および *E. coli* に対し、殺菌的および溶菌的に作用したが、特に *E. coli* に対する作用が対照薬剤より優れていた。

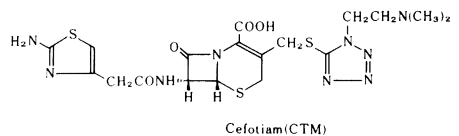
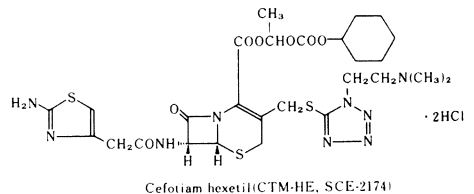
3. CTM-HE は各種細菌による腹腔内感染マウスにおいて、グラム陰性菌感染に対しては対照薬剤より優れた防御効果を示したが、グラム陽性菌感染に対してはやや劣った。

4. *Klebsiella pneumoniae* による実験的マウス呼吸器感染症および *Proteus mirabilis* による実験的マウス尿路感染症において CTM-HE は cephalixin および cefaclor より強い治療効果を示した。

5. CTM-HE の類縁物質および代謝物の抗菌力はいずれも cefotiam のそれより弱かった。

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

Cefotiam hexetil (CTM-HE, SCE-2174), (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 [2, 4, 0] oct-2-ene-carboxylate dihydrochloride (Fig. 1) はエステル型の経口用セファロスポリンであり、腸管で吸収される時、脱エステル化されて、生体内では cefotiam (CTM) として作用する。CTM は優れた *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性を示すことが知られている¹⁾。本報告では *in vitro* 抗菌試験では CTM を、*in vivo* 抗菌試験では CTM-HE を用いて抗菌活性を測定した。なお対照には市販経口セファロスポリン剤の cephalixin, cefaclor^{2,3)}



および cefroxadine⁴⁾ を用いた。

実験材料および方法

1. 薬 剤

Cefotiam hexetil (CTM-HE), cefotiam (CTM) および cephalixin (CEX) は武田薬品で合成した標品を用いた。cefroxadine (CXD) は Ciba Geigy より分与を受け、cefaclor (CCL) は市販錠剤より抽出、精製した標品を用いた。

2. 菌 株

実験室標準株は Mueller-Hinton agar (MHA, BBL), 10%ウシ血液加 MHA (Blood-MHA) あるいは 5% Fildes Enrichment (Difco) 加 Brain Heart infusion agar (Fildes agar) に、継代保存した。各施設より分与された *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* の臨床分離株は Blood-MHA で、*Haemophilus influenzae* の分離株は Fildes agar で、その他の臨床分離株は Dorset 卵培地 (日水製薬) に 37°C, 1 夜培養後、保存した。

なお臨床分離 *Escherichia coli* のうち CEX に対する MIC が 10⁸ CFU/ml の接種菌量において 50 µg/ml 以上の菌株を耐性菌とした。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

寒天平板希釈法による MIC は化学療法学会標準法に準じて測定した⁵⁾。約 10⁸ および 10⁶ CFU/ml の菌液は Mueller-Hinton broth (MHB, BBL), Blood-MHA および Fildes agar で 37°C, 1 夜培養菌液より調製した。直径 2 mm の白金耳を用い、1 白金耳の菌液を約 2 cm の長さに各薬剤の 2 倍希釈濃度系列を含む寒天培地の表面に塗抹した。MIC は 37°C, 1 夜培養後、肉眼的に発育の認められない最小薬剤濃度とした。

4. 殺菌作用

2 倍希釈系列の薬剤を含む Trypticase soy broth (TSB, BBL) に被験菌を約 10⁶ CFU/ml に接種した。37°C で振盪培養し、一定時間後に培養菌液の一部を採り、10 倍段階希釈を行い Trypticase soy agar (TSA, BBL) 平板に接種した。37°C, 1 夜培養後、発育した集落数より各検体 1 ml 中の生菌数を求めた。

5. 溶菌作用

TSB を用いて約 10⁶ CFU/ml に調製した被験菌を Biophotometer (Bio-Log II, Jasco. Jouan-Quentin, S.A.) 内のセルに接種して 37°C で振盪培

養し、一定の増殖率に達した時点で 2 倍希釈系列の薬剤を添加して以後の濁度の変化を自動的に記録した。

6. 感染防御試験

S. pyogenes および *S. pneumoniae* は Blood-TSA に、その他の菌株は Brain Heart Infusion (BHI, Difco) に 37°C, 1 夜培養した。*S. pneumoniae* は TSB に、その他の菌では 5% mucin (Difco) に浮遊し、4 週齢、雄、体重 19~23 g の Slc:ICR マウスの腹腔内に 0.5 ml 接種した。感染菌量は感染対照マウスの 50% を死亡させる量の 30~100 倍 (30~100×LD₅₀) とした。マウス当り 0.2 ml の薬剤溶液を *S. pneumoniae* 感染マウスでは感染直後と 4 時間後の 2 回、その他の菌の感染マウスでは感染直後 1 回経口投与した。実験は各薬剤濃度について 5 匹のマウスを用い、5 回以上繰り返して行い、感染 5 日後の生残動物数より Probit 法で 50% 有効量 (ED₅₀, mg/kg) を求めた⁶⁾。

Staphylococcus aureus による腎感染症は既報の方法⁷⁾に従って作成した。*S. aureus* 308A-1 を静脈内に感染し、感染 1 時間後に 1 回および翌日より 3 日間、1 日 2 回薬剤を経口投与した。防御効果は投薬終了翌日の腎臓からの菌回収率を指標として判定した。

7. 治療試験

Klebsiella pneumoniae による呼吸器感染症は Nishi, Tsuchiya の方法⁸⁾により作成した。4 週齢、雄、体重 20~24 g の Slc:ICR マウスに *K. pneumoniae* DT-S を約 10⁴ CFU/lung になるように噴霧感染した。感染 30 時間後 (肺内菌数は約 10⁸ CFU/lung に増加) より 1 日 3 回、7 日間経口的に投薬した。経口的にマウスの生死を観察すると共に、投薬終了翌日に生残したマウス肺内菌数を測定し、治療効果を判定した。*Proteus mirabilis* による尿路感染症は Iwahi, Tsuchiya の方法⁹⁾により作成した。4 週齢、雌、体重 19~23 g の CF#1/b Ta マウス (武田薬品) に約 10³ CFU の *P. mirabilis* IFO 3849 を含む菌液の 0.05 ml を経尿道的に膀胱内に注入し、尿道口を 5.5 時間閉塞した。閉塞解除直後の腎内菌数は約 10 CFU/kidney であった。感染 3 日後 (腎内菌数は約 10⁴ CFU/kidney に増加) から 1 日 3 回、5 日間経口的に投薬した。投与終了翌日に尿、膀胱壁および腎内菌数を測定し、治療効果を判定した。

Table 1 Antibacterial spectra of cefotiam and reference cephalosporins

Organism	MIC($\mu\text{g/ml}$)			
	Cefotiam	Cephalexin	Cefaclor	Cefroxadine
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	0.39	0.78	0.39	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> 308A-1	0.78	1.56	0.78	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> 1840	1.56	6.25	3.13	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i> E-14	0.05	0.39	0.2	0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-8	0.05	0.78	0.2	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	0.2	3.13	0.78	1.56
<i>Enterococcus faecium</i> IFO 3128	>100	>100	50	>100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.2	6.25	3.13	6.25
<i>Escherichia coli</i> O-111	0.05	3.13	0.78	3.13
<i>Escherichia coli</i> T7	3.13	50	25	100
<i>Citrobacter freundii</i> IFO 12681	0.78	100	50	12.5
<i>Salmonella typhi</i> Boxhil-58	0.1	3.13	0.39	3.13
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.2	6.25	0.78	3.13
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-1	0.025	1.56	0.39	1.56
<i>Shigella flexneri</i> EW-10	0.2	6.25	1.56	6.25
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.05	6.25	0.78	3.13
<i>Klebsilla pneumoniae</i> DT	0.1	3.13	0.39	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> IFO 12937	12.5	>100	50	100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 12648	6.25	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3988	0.78	12.5	1.56	12.5
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	6.25	50	6.25	25
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 13501	0.025	3.13	0.39	3.13
<i>Morganella morganii</i> IFO 3168	3.13	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> U31	>100	>100	>100	>100
<i>Haemophilus influenzae</i> NN-400	0.78	12.5	6.25	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> IID983	0.78	12.5	6.25	12.5

Agar dilution method using a bacterial suspension of 10^6 CFU/ml.

実験成績

1. 抗菌スペクトル

CTM はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に幅広い抗菌力を示した。特に他の経口セファロsporin 剤が弱い抗菌力しか示さない *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* および *Haemophilus influenzae* にも強い抗菌力を示した (Table 1)。しかし *Enterococcus faecium* および *Pseudomonas aeruginosa* に対して CTM は他剤と同様抗菌力を示さなかった。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床分離 *S. aureus* (73 株), *S. pyogenes* (38 株), *S. pneumoniae* (36 株), CEX 感性 *E. coli* (98 株), CEX 耐性 *E. coli* (14 株), *C. freundii* (75 株), *K. pneumoniae* (68 株), *E. cloacae* (71 株), *P. vulgaris* (74 株), *P. mirabilis* (82 株), *Providencia*

rettgeri (54 株), *Providencia stuartii* (34 株), *M. morganii* (77 株), *H. influenzae* (71 株) に対する CTM の MIC を測定し, CEX, CCL および CXD のそれらと比較した (Table 2)。

S. aureus, *S. pyogenes* および *S. pneumoniae* などのグラム陽性球菌に対し CTM の抗菌力は他の経口セファロsporin 剤より 2~8 倍強い抗菌力を示し, それぞれ 0.78, ≤ 0.05 および $0.2 \mu\text{g/ml}$ で大部分の菌株の発育を阻止した (Table 3~5, Fig. 2~4, 16~18)。

腸内細菌群の菌種に対しても CTM の抗菌力が最も優れていた。特に他のセファロsporin 剤が抗菌力を示さない CEX 耐性 *E. coli*, *P. rettgeri* および *P. stuartii* に対しては大部分の菌株の発育を $3.13 \mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で阻止した。一方他剤のそれは 100 ないし $100 \mu\text{g/ml}$ 以上であった。また *C. freundii*, *E. cloacae* および *M. morganii* に対して

Table 2 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against clinical isolates^{a)}

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		50%	80%	90%	Range
<i>S. aureus</i> (73)	Cefotiam	0.39	0.78	0.78	≤ 0.05 -1.56
	Cephalexin	1.56	3.13	3.13	0.2-6.25
	Cefaclor	0.78	1.56	1.56	0.1-3.13
	Cefroxadine	1.56	3.13	6.25	0.39-6.25
<i>S. pyogenes</i> (38)	Cefotiam	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05 -0.39
	Cephalexin	0.39	0.39	0.39	0.2-1.56
	Cefaclor	0.1	0.1	0.1	0.1-0.78
	Cefroxadine	0.2	0.2	0.2	0.2-0.78
<i>S. pneumoniae</i> (36)	Cefotiam	0.1	0.2	0.2	≤ 0.05 -0.2
	Cephalexin	3.13	3.13	3.13	0.78-3.13
	Cefaclor	0.39	0.78	0.78	0.2-1.56
	Cefroxadine	0.78	1.56	1.56	0.39-1.56
<i>E. coli</i> CEX-sensitive (98)	Cefotiam	0.2	0.2	0.39	0.1-1.56
	Cephalexin	6.25	12.5	12.5	6.25-25
	Cefaclor	1.56	3.13	3.13	0.78-25
	Cefroxadine	6.25	6.25	12.5	3.13-50
<i>E. coli</i> CEX-resistant (14)	Cefotiam	0.78	1.56	3.13	0.2-6.25
	Cephalexin	50	>100	>100	12.5->100
	Cefaclor	25	>100	>100	3.13->100
	Cefroxadine	50	>100	>100	6.25->100
<i>C. freundii</i> (75)	Cefotiam	0.78	100	>100	0.1->100
	Cephalexin	>100	>100	>100	6.25->100
	Cefaclor	50	>100	>100	0.78->100
	Cefroxadine	>100	>100	>100	3.13->100
<i>K. pneumoniae</i> (68)	Cefotiam	0.2	0.39	0.78	≤ 0.05 -6.25
	Cephalexin	6.25	6.25	12.5	3.13-50
	Cefaclor	0.78	3.13	6.25	0.39-50
	Cefroxadine	3.13	6.25	12.5	1.56-50
<i>E. cloacae</i> (71)	Cefotiam	0.78	25	>100	≤ 0.05 ->100
	Cephalexin	>100	>100	>100	1.56->100
	Cefaclor	50	>100	>100	1.56->100
	Cefroxadine	50	>100	>100	0.39->100
<i>P. vulgaris</i> (74)	Cefotiam	25	50	100	0.39->100
	Cephalexin	>100	>100	>100	6.25->100
	Cefaclor	>100	>100	>100	0.78->100
	Cefroxadine	>100	>100	>100	12.5->100
<i>P. mirabilis</i> (82)	Cefotiam	0.78	1.56	3.13	0.2->100
	Cephalexin	25	25	50	6.25->100
	Cefaclor	1.56	3.13	3.13	0.39->100
	Cefroxadine	12.5	25	25	3.13->100
<i>P. rettgerii</i> (54)	Cefotiam	0.2	0.78	0.78	≤ 0.05 -25
	Cephalexin	50	>100	>100	6.25->100
	Cefaclor	25	100	>100	0.78->100
	Cefroxadine	25	100	>100	3.13->100
<i>P. stuartii</i> (34)	Cefotiam	0.2	3.13	6.25	≤ 0.05 -100
	Cephalexin	50	100	>100	1.56->100
	Cefaclor	25	100	100	0.39->100
	Cefroxadine	25	100	100	0.78->100
<i>M. morgani</i> (77)	Cefotiam	0.78	12.5	50	0.1->100
	Cephalexin	>100	>100	>100	50->100
	Cefaclor	>100	>100	>100	25->100
	Cefroxadine	>100	>100	>100	25->100
<i>H. influenzae</i> (71)	Cefotiam	0.78	0.78	0.78	0.39-1.56
	Cephalexin	12.5	25	25	6.25-50
	Cefaclor	3.13	6.25	6.25	1.56-12.5
	Cefroxadine	12.5	25	25	6.25-50

a) Agar dilution method using a bacterial suspension of 10^6 CFU/ml.
 MIC₅₀, MIC₈₀ and MIC₉₀ represent the concentrations required to inhibit the growth of 50, 80 and 90% of the number of strains tested, respectively.

Table 3 Susceptibility of 73 clinically isolated strains of *Staphylococcus aureus* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam	1	1	5	37	26	3							
Cephalexin			1	1	10	39	20	2					
Cefaclor		1	1	9	35	21	6						
Cefroxadine				2	5	31	25	10					

Table 4 Susceptibility of 38 clinically isolated strains of *Streptococcus pyogenes* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam	36	1		1									
Cephalexin			13	23	1	1							
Cefaclor		37			1								
Cefroxadine			36	1	1								

Table 5 Susceptibility of 36 clinically isolated strains of *Streptococcus pneumoniae* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam	5	21	10										
Cephalexin					1	3	32						
Cefaclor			2	16	17	1							
Cefroxadine				1	17	18							

Table 6 Susceptibility of 98 clinically isolated strains of cephalixin-sensitive *Escherichia coli* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam		27	54	11	4	2							
Cephalexin								60	34	4			
Cefaclor					20	42	25	10		1			
Cefroxadine							34	47	16		1		

Table 7 Susceptibility of 14 clinically isolated strains of cephalixin-resistant *Escherichia coli* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam			1	4	2	5	1	1					
Cephalexin									2	3	3	3	3
Cefaclor							3		3	4	1		3
Cefroxadine								2	2	2	4	1	3

Table 8 Susceptibility of 75 clinically isolated strains of *Citrobacter freundii* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam		1	4	17	18	3	1				3	17	11
Cephalexin								1	4	5	12	10	43
Cefaclor					1	1	4	8	9	11	5	2	34
Cefroxadine							1	4	11	7	12	2	38

Table 9 Susceptibility of 68 clinically isolated strains of *Klebsiella pneumoniae* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam	1	15	31	12	5	2	1	1					
Cephalexin							24	36	5	2	1		
Cefaclor				14	33	7	6	4	2	1	1		
Cefroxadine						2	39	19	2	5	1		

Table 10 Susceptibility of 71 clinically isolated strains of *Enterobacter cloacae* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam	1		4	20	14	6	5	4	2	2	1	2	10
Cephalexin						1		1	1	12	13	6	37
Cefaclor						2	2	1	18	9	8	8	23
Cefroxadine				1			1	3	15	10	9	14	18

Table 11 Susceptibility of 74 clinically isolated strains of *Proteus vulgaris* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam				3	3	6	3	9	9	13	17	7	4
Cephalexin								1	4	1	5	4	59
Cefaclor					1	4	1	1	1		2	7	57
Cefroxadine									4	4	1	3	62

Table 12 Susceptibility of 82 clinically isolated strains of *Proteus mirabilis* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam			5	26	22	19	2	1			1	1	5
Cephalexin								1	31	37	5	1	7
Cefaclor				1	2	50	20	2					7
Cefroxadine							1	8	57	8	1		7

Table 13 Susceptibility of 54 clinically isolated strains of *Providencia rettgeri* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam	10	11	14	8	6	1		2	1	1			
Cephalexin								4	3	8	14	8	17
Cefaclor					1	4	1	5	12	9	7	7	8
Cefroxadine							3	3	13	9	12	6	8

Table 14 Susceptibility of 34 clinically isolated strains of *Providencia stuartii* to cefotiam and reference cephalosporins

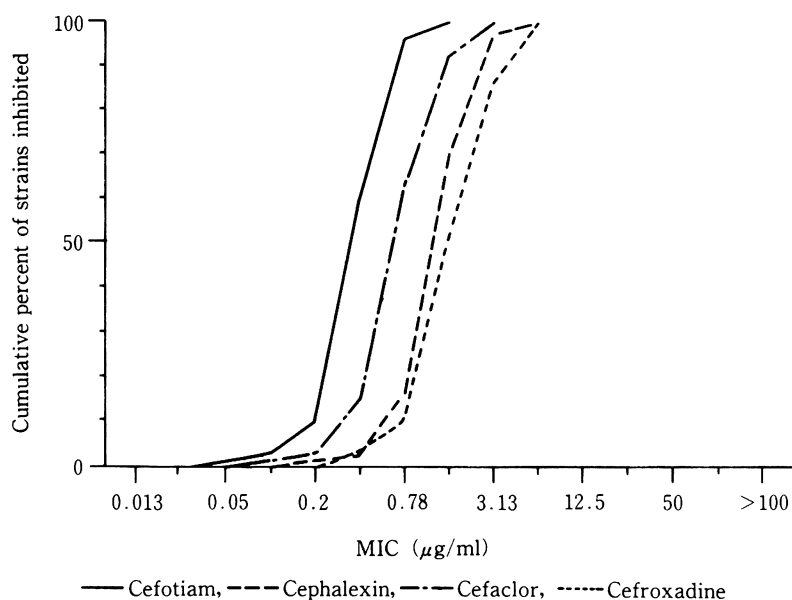
Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam	1	4	12	6	2	1	4	1	1		1		1
Cephalexin						3		1	3	6	9	7	5
Cefaclor				2	2			1	10	6	4	7	2
Cefroxadine					1	1	1	4	6	9	4	5	3

Table 15 Susceptibility of 77 clinically isolated strains of *Morganella morganii* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam		1	4	25	14	7	3	5	4	2	8	2	2
Cephalexin											1	3	73
Cefaclor										1	3	1	72
Cefroxadine										1		2	74

Table 16 Susceptibility of 71 clinically isolated strains of *Haemophilus influenzae* to cefotiam and reference cephalosporins

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)												
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Cefotiam				6	60	5							
Cephalexin								14	42	11	4		
Cefaclor						5	44	21	1				
Cefroxadine								11	45	12	3		

Fig. 2 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 73 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*

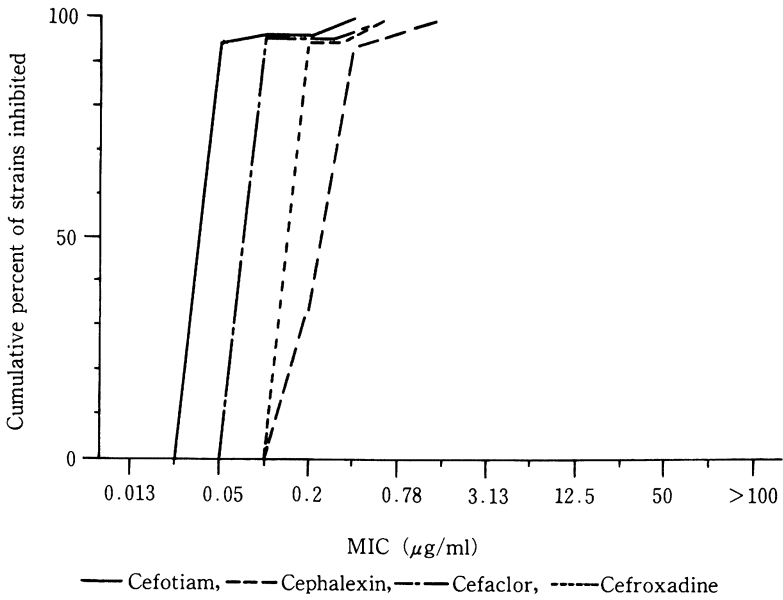


Fig. 3 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 38 clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*

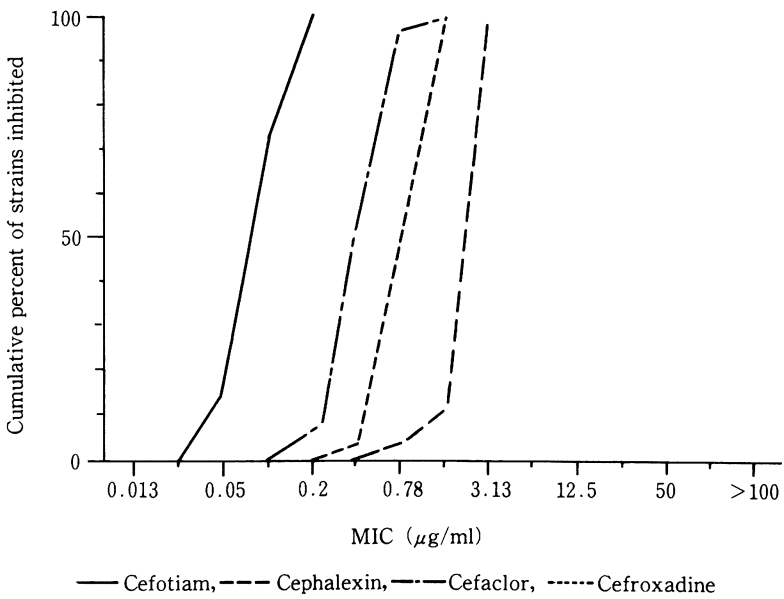


Fig. 4 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 36 clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*

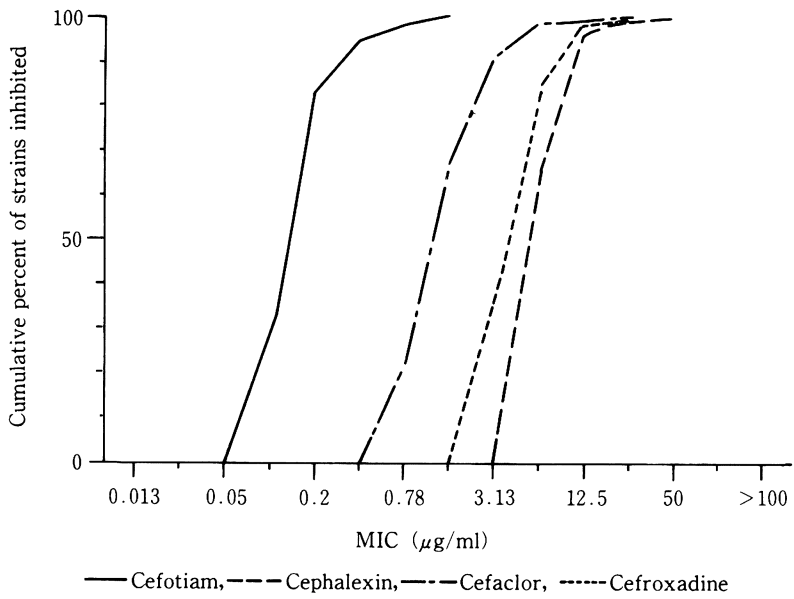


Fig. 5 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 98 clinical isolates of cephalosporin-sensitive *Escherichia coli*

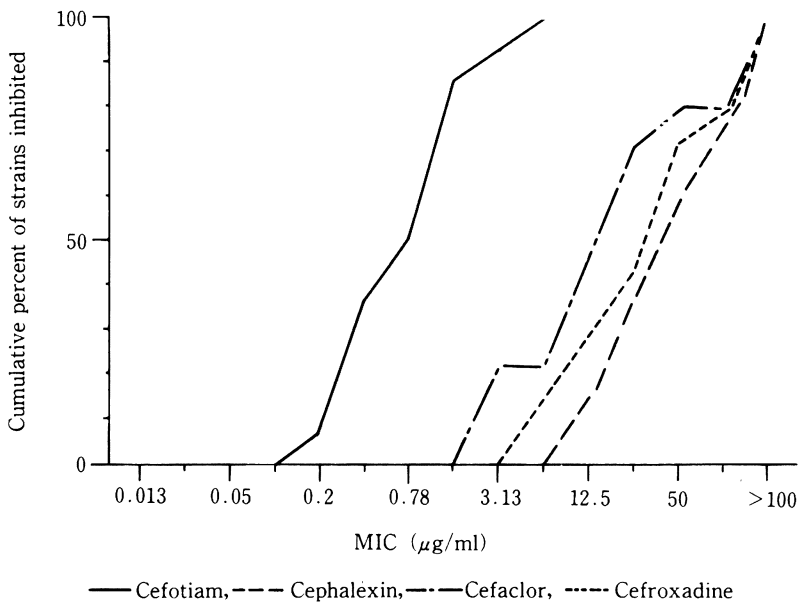


Fig. 6 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 14 clinical isolates of cephalosporin-resistant *Escherichia coli*

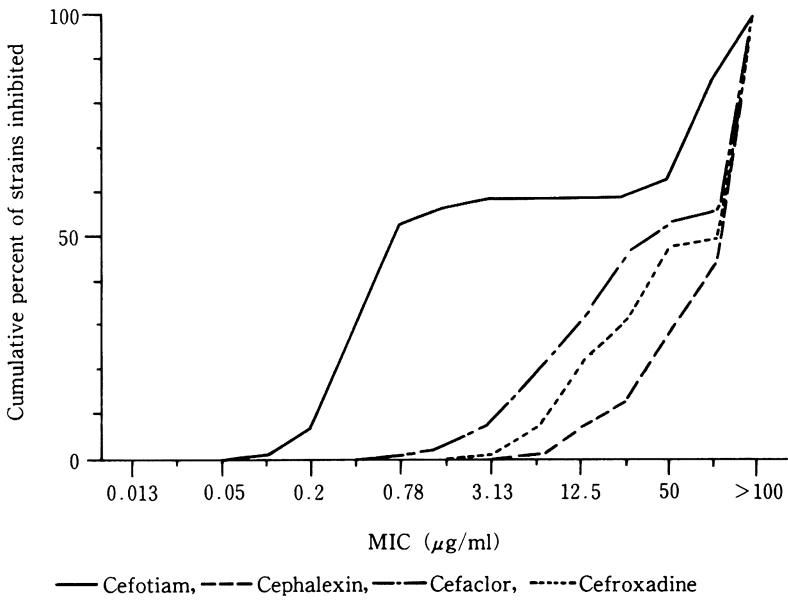


Fig. 7 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 75 clinical isolates of *Citrobacter freundii*

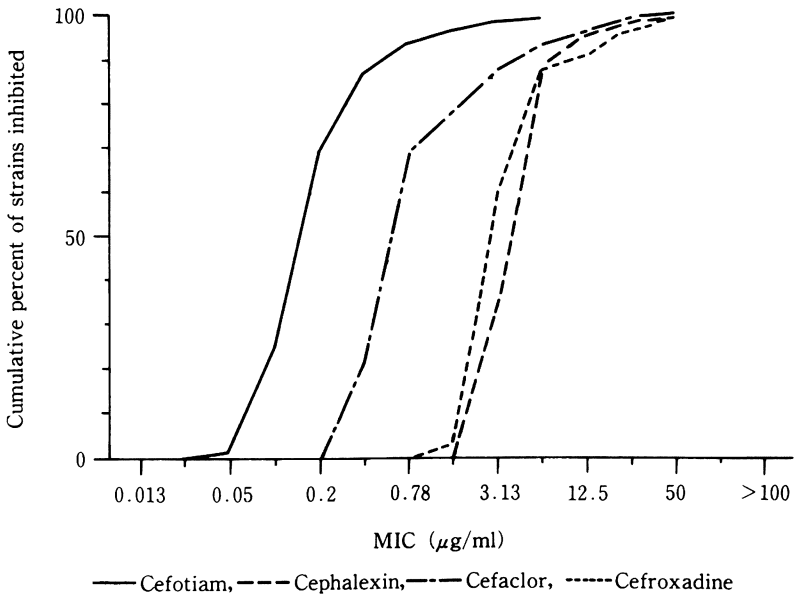


Fig. 8 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 68 clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*

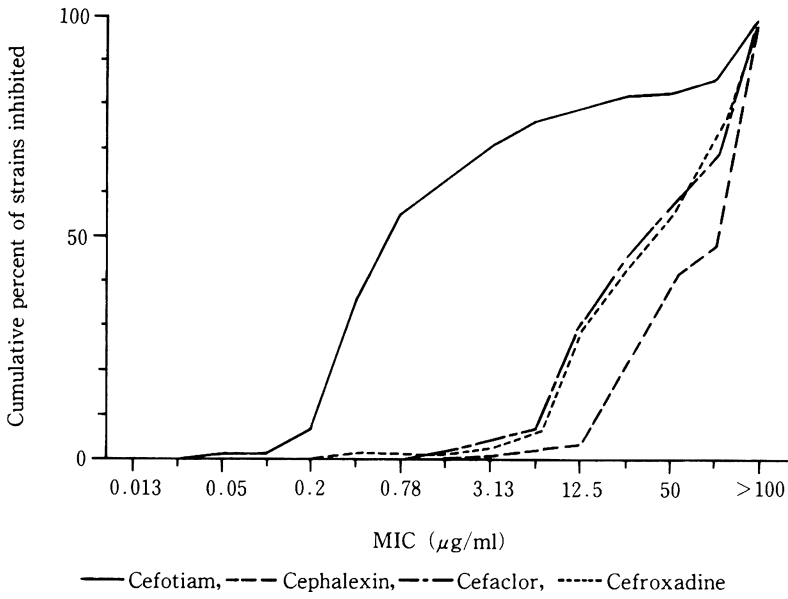


Fig. 9 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 71 clinical isolates of *Enterobacter cloacae*

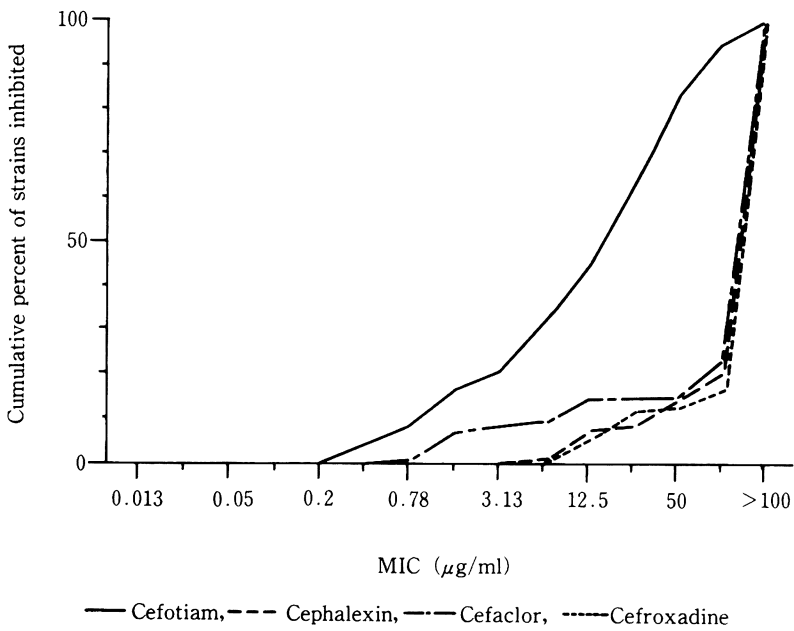


Fig. 10 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 74 clinical isolates of *Proteus vulgaris*

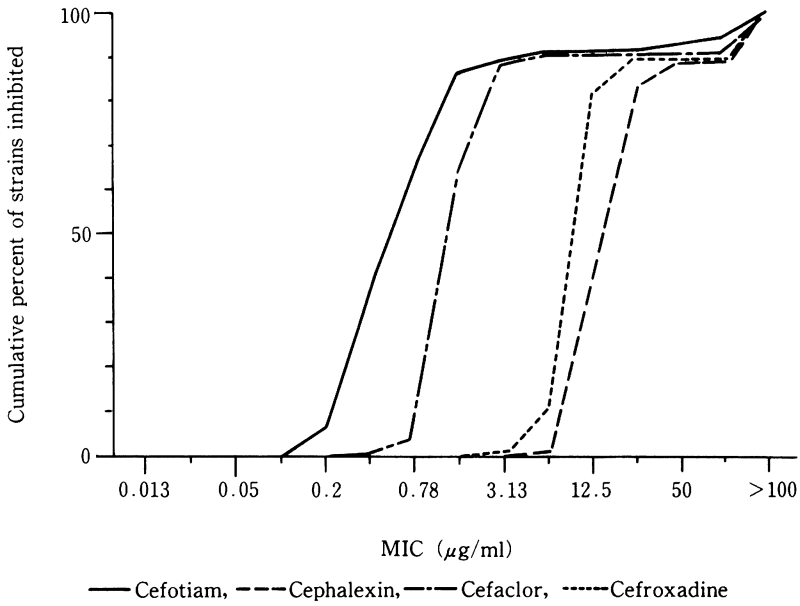


Fig. 11 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 82 clinical isolates of *Proteus mirabilis*

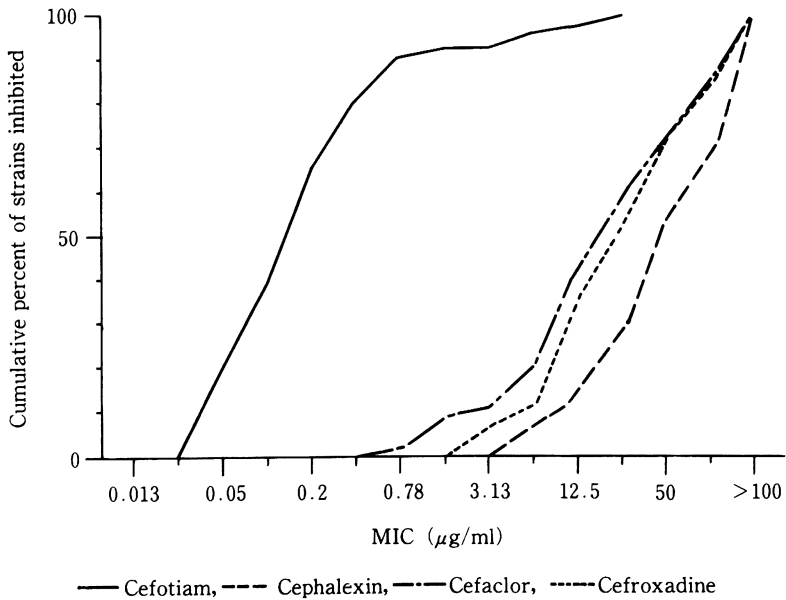


Fig. 12 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 54 clinical isolates of *Providencia rettgeri*

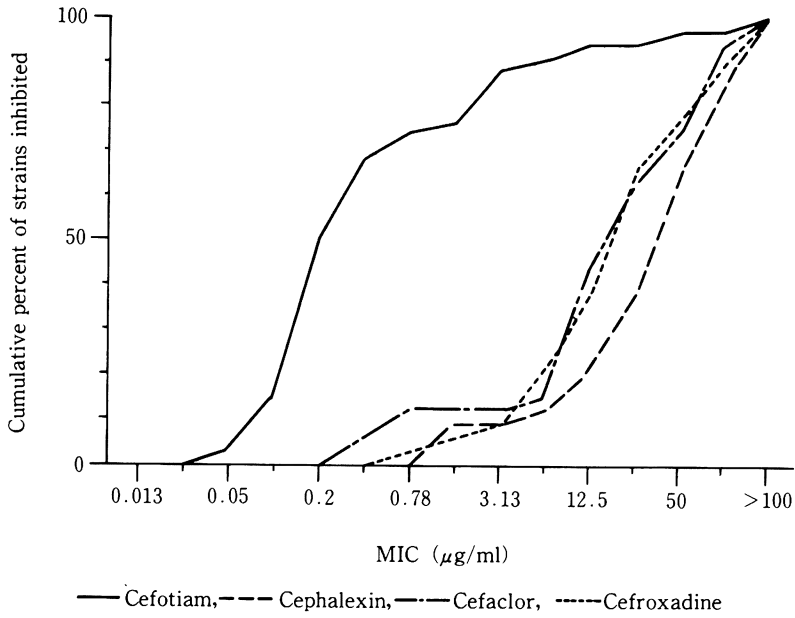


Fig. 13 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 34 clinical isolates of *Providencia stuartii*

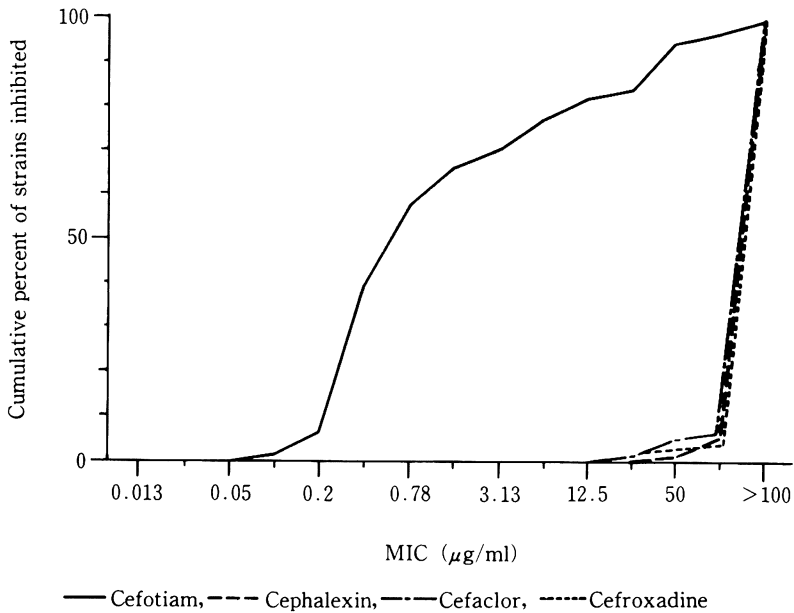


Fig. 14 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 77 clinical isolates of *Morganella morganii*

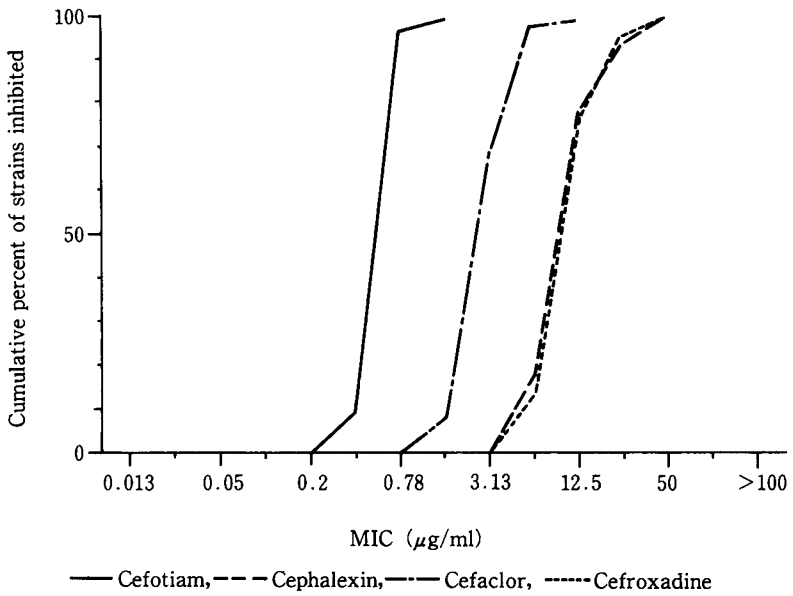


Fig. 15 Comparative activities of cefotiam and reference cephalosporins against 71 clinical isolates of *Haemophilus influenzae*

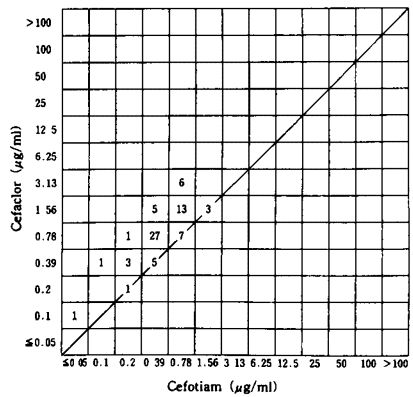
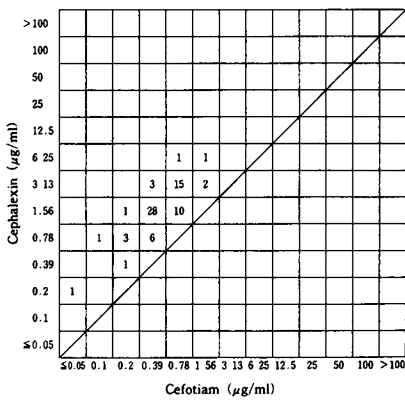


Fig. 16 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Staphylococcus aureus*

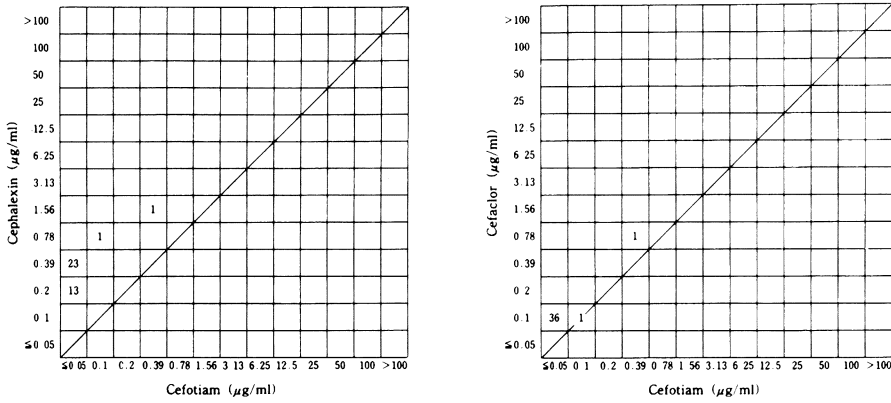


Fig. 17 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Streptococcus pyogenes*

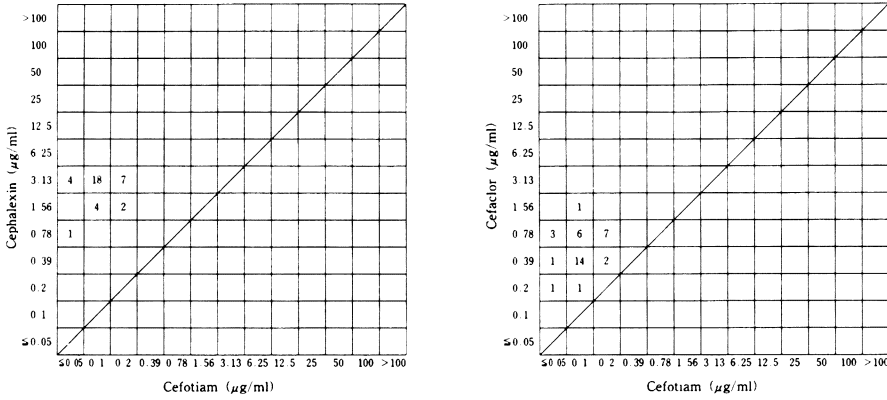


Fig. 18 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Streptococcus pneumoniae*

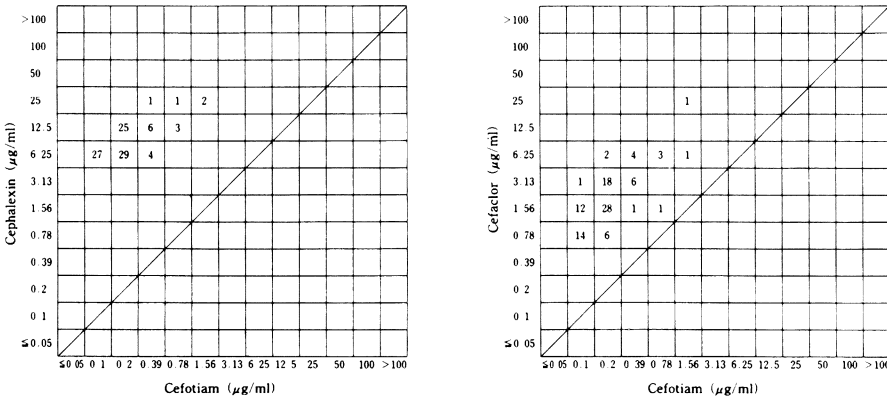


Fig. 19 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against cephalixin-sensitive *Escherichia coli*

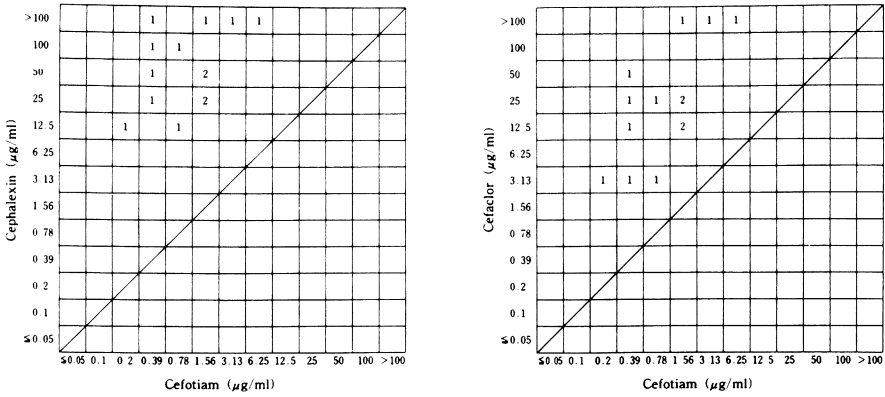


Fig. 20 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against cephalixin-resistant *Escherichia coli*

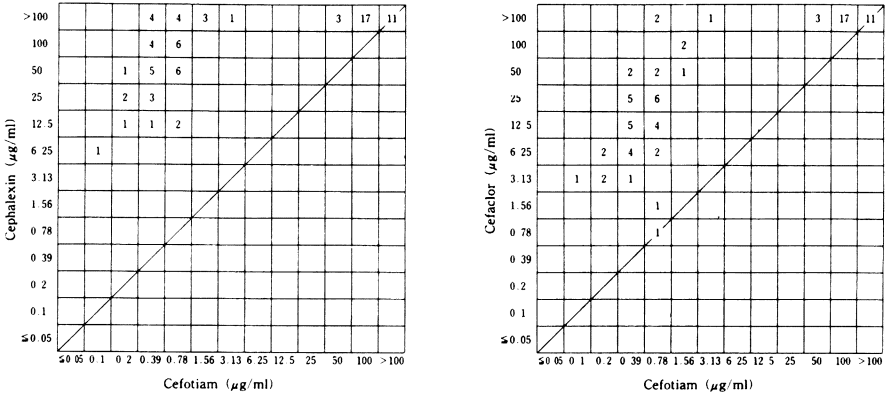


Fig. 21 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Citrobacter freundii*

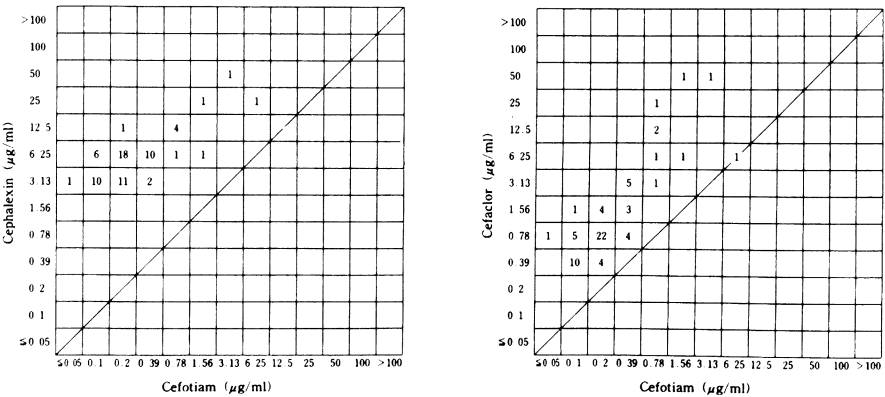


Fig. 22 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Klebsiella pneumoniae*

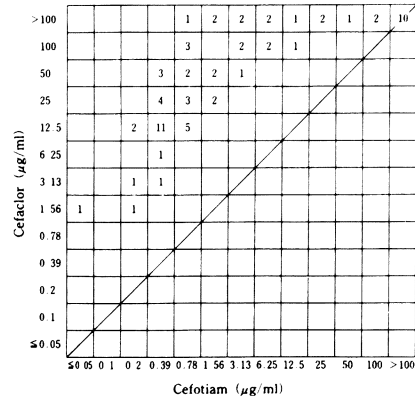
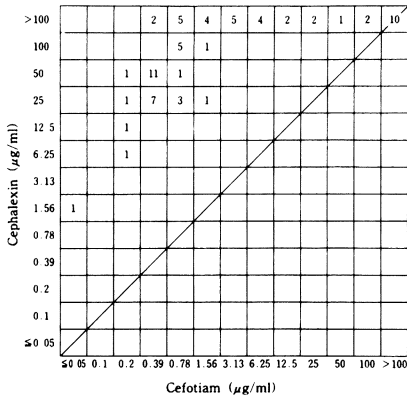


Fig. 23 Correlation of MICs of cefotiam and cephalaxin or cefaclor against *Enterobacter cloacae*

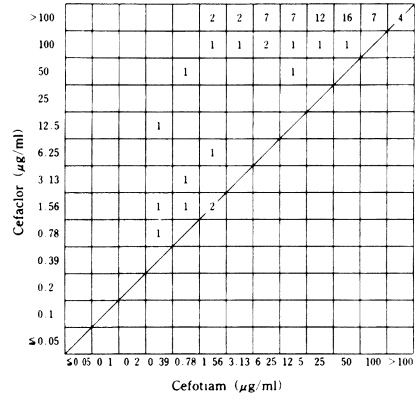
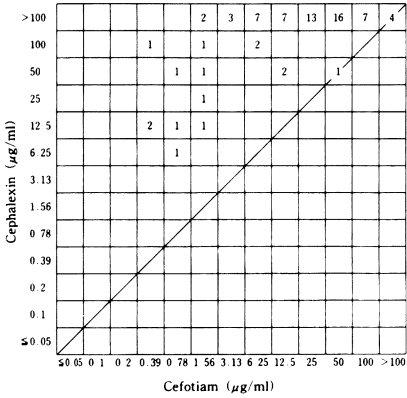


Fig. 24 Correlation of MICs of cefotiam and cephalaxin or cefaclor against *Proteus vulgaris*

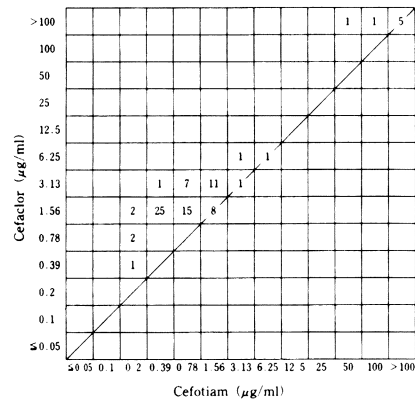
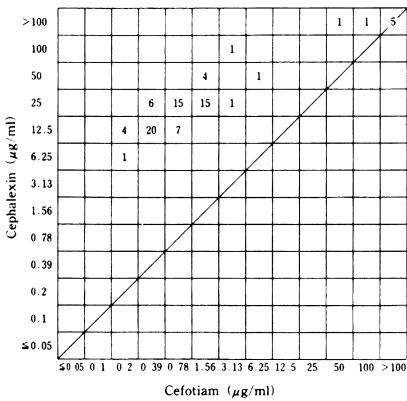


Fig. 25 Correlation of MICs of cefotiam and cephalaxin or cefaclor against *Proteus mirabilis*

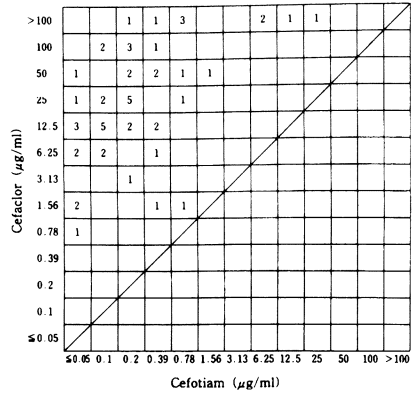
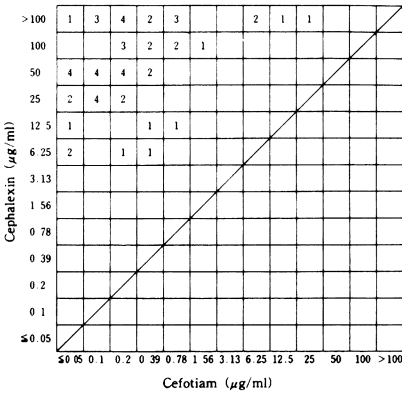


Fig. 26 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Providencia rettgeri*

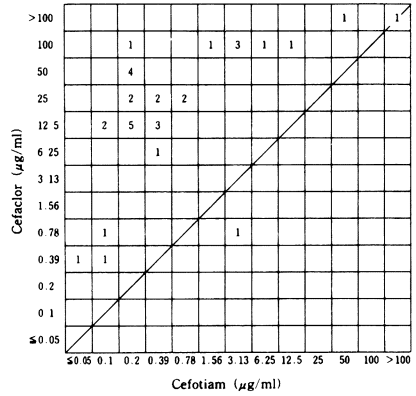
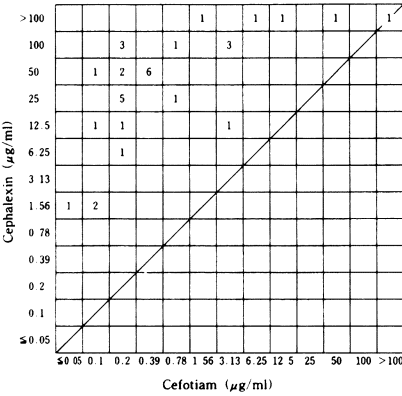


Fig. 27 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Providencia stuartii*

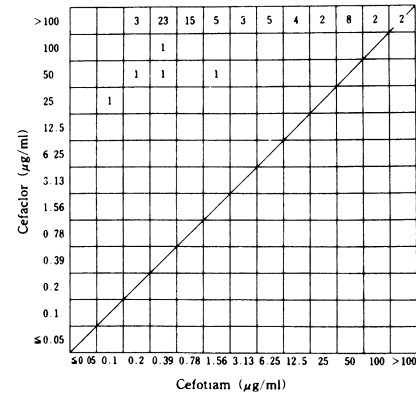
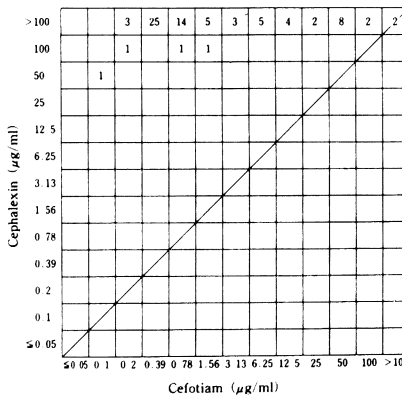


Fig. 28 Correlation of MICs of cefotiam and cephalixin or cefaclor against *Morganella morgani*

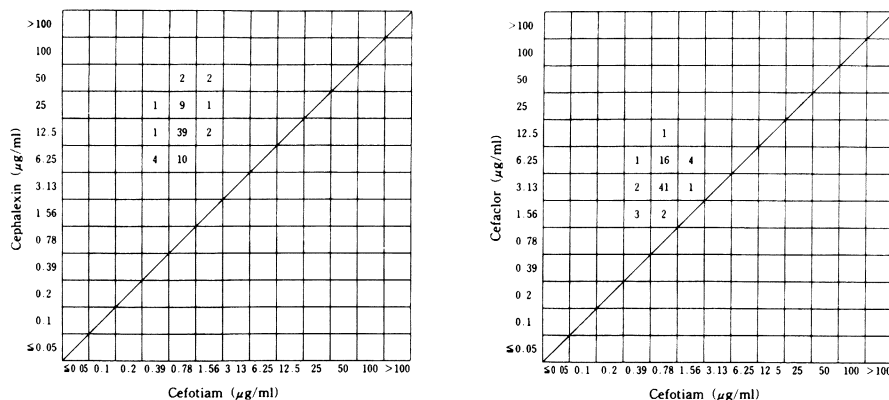


Fig. 29 Correlation of MICs of cefotiam and cephalalexin or cefaclor against *Haemophilus influenzae*

は約半数の菌株に対して CTM は他剤より強い抗菌力を示したが、低感受性菌に対しては他剤と同様弱かった (Table 6~15, Fig. 5~14, 19~28)。*H. influenzae* に対し CTM は CCL より 4 倍以上、CEX, CXD より 16 倍以上強い抗菌力を示し、1.56 µg/ml で全ての菌株の発育を阻止した (Table 16, Fig. 15, 29)。

3. 殺菌作用

CTM は *S. aureus* に対し 0.39 µg/ml (MIC) 以上で明らかな殺菌作用を示し、8 時間後まで菌数が減少した (Fig. 30)。この濃度では CCL は CTM と同程度の殺菌作用を示したが、CEX, CXD は静菌的であった。CTM は 0.78 µg/ml でも 0.39 µg/ml と同程度の殺菌作用を示したが、1.56 µg/ml では逆転し、殺菌作用はやや減弱した。同様の逆転現象は他の薬剤ではみられなかった。一方 *E. coli* に対しては 0.1 µg/ml (1/2 MIC) 以上で明らかな殺菌作用を示したが、培養 6 ないし 8 時間後より菌数の再増加が認められた (Fig. 31)。他剤では殺菌効果が明らかにみられる濃度は CTM より高く、CEX 6.25 µg/ml 以上、CCL 1.56 µg/ml 以上、CXD 3.13 µg/ml 以上であった。培養後期の再増殖は他剤でも同様に認められた。

4. 溶菌作用

CTM は *S. aureus* に対し 0.39 µg/ml (MIC) において明らかに濁度が減少し、溶菌を認めたが、それ以上の濃度でも溶菌は増強されなかった。他剤で

は CEX では 1.56 µg/ml 以上、CCL では 0.39 µg/ml 以上、CXD では 0.78 µg/ml 以上で濃度に比例した溶菌がみられた (Fig. 32)。一方 *E. coli* では 0.39 µg/ml (2MIC) 以上で CTM 濃度に応じて濁度の減少が認められた。他剤では濁度の減少に必要な濃度は CTM より高く、CEX では試験最高濃度の 50 µg/ml のみで、CCL では 6.25 µg/ml 以上、CXD では 12.5 µg/ml 以上で濁度の減少をひきおこした (Fig. 33)。

5. 腹腔内感染マウスにおける感染防御効果

CTM-HE はいずれの菌株の腹腔内感染マウスにおいても CTM の *in vitro* 抗菌力をよく反映する強い防御効果を示した。総体的にグラム陽性菌感染マウスにおいては他剤と同等か、やや劣る効果であったが、グラム陰性菌感染マウスにおいては他剤より著しく強い効果がみられた (Table 17)。*S. aureus* 308A-1 および *S. pyogenes* E-14 感染マウスにおいて CTM-HE の防御効果は他剤より弱かったが、*S. pneumoniae* type I 感染に対しては他剤より強い効果を示した。*K. pneumoniae* DT-S および *P. mirabilis* IFO 3849 感染に対し CTM-HE と CCL とがほぼ同等の防御効果を示したが、他の菌株感染マウスにおける CTM-HE の効果は他剤より著しく強かった。特に CEX の MIC が 100 µg/ml 以上であった *E. coli* TN1459, *S. marcescens* TN66, *M. morgani* GN5278 感染に対する CTM-HE の効果はより著しく優れていた。

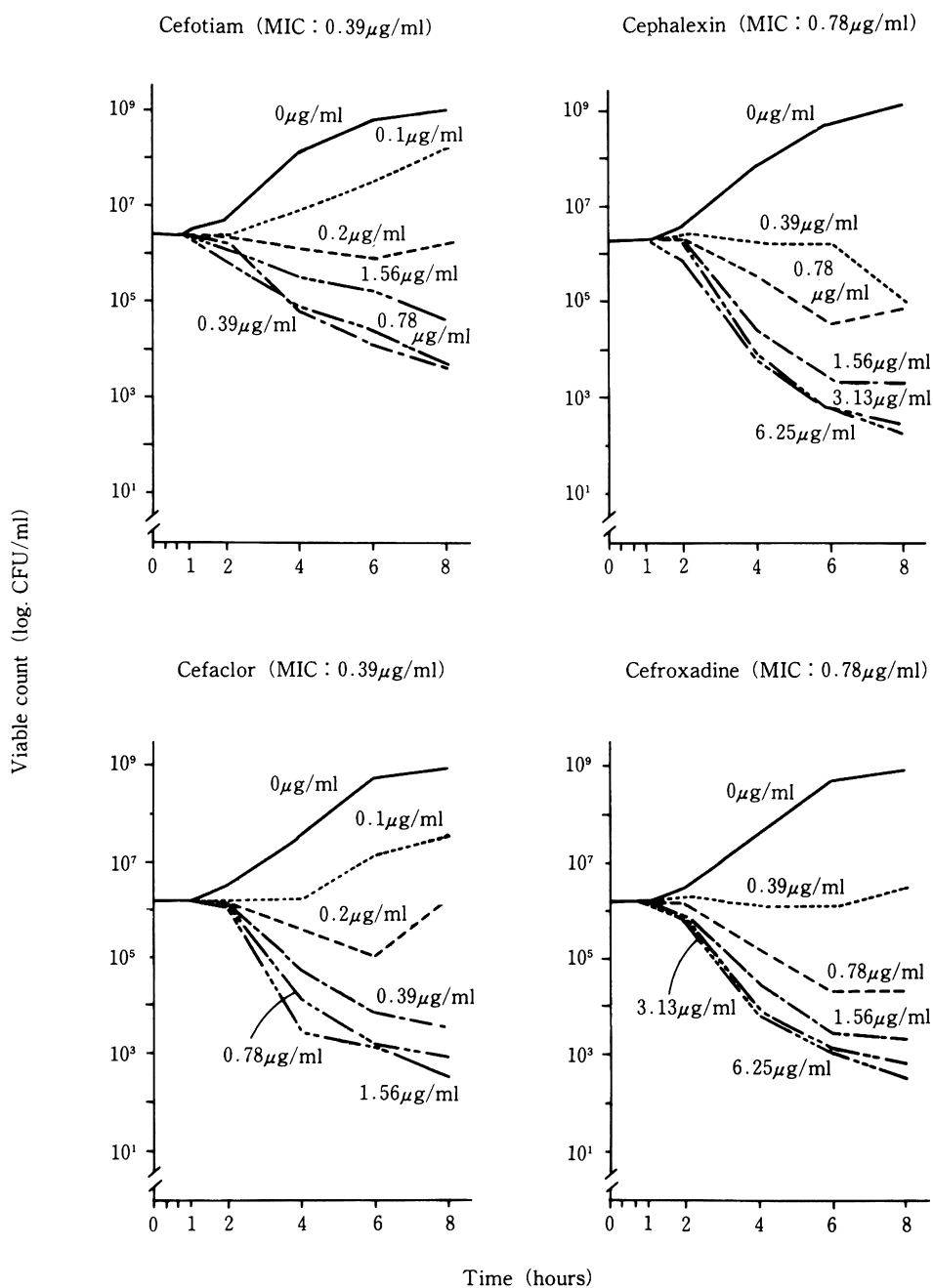


Fig. 30 Bactericidal effect of cefotiam and reference cephalosporins on *Staphylococcus aureus* FDA 209P

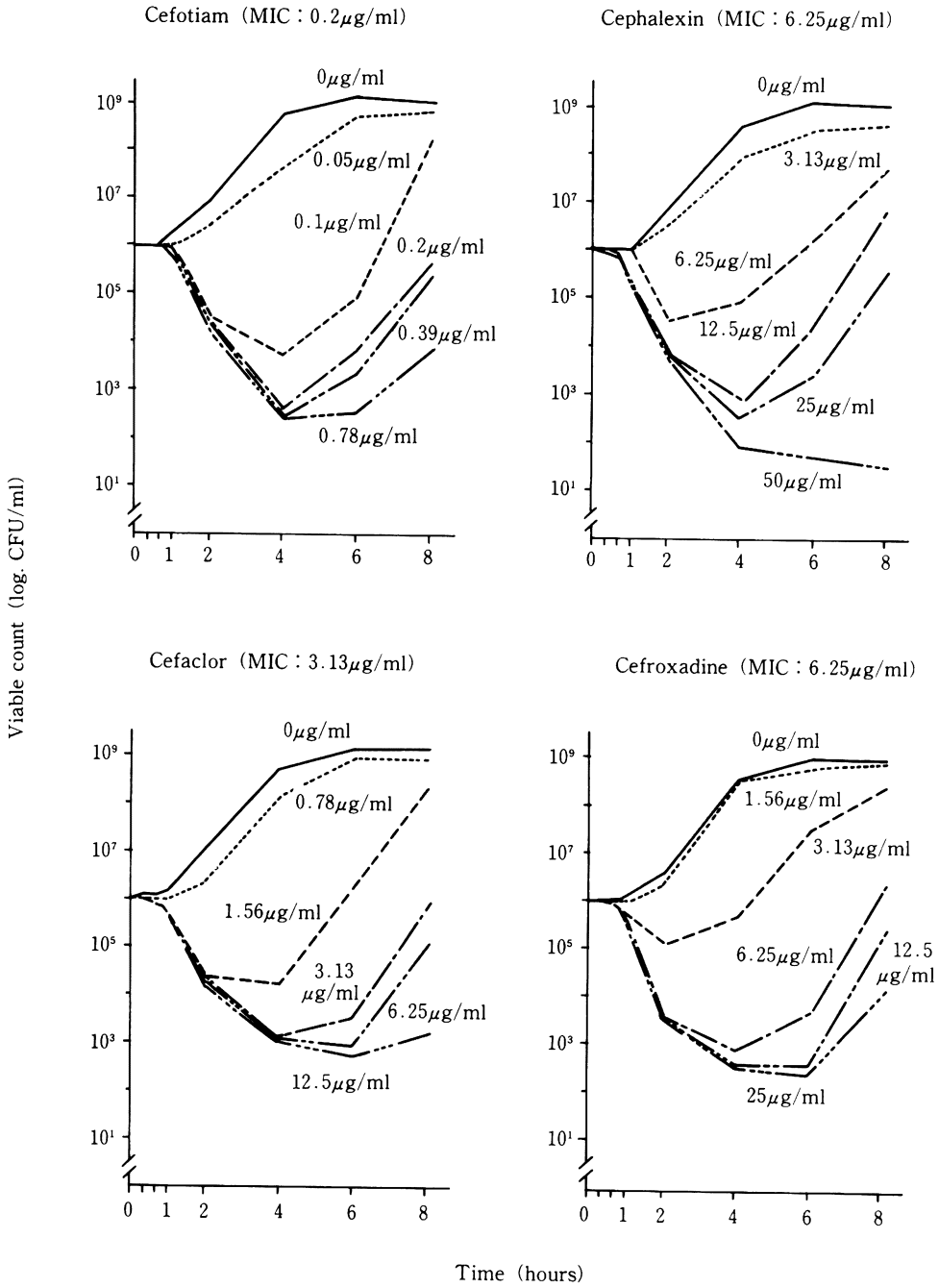


Fig. 31 Bactericidal effect of cefotiam and reference cephalosporins on *Escherichia coli* NIHJ JC-2

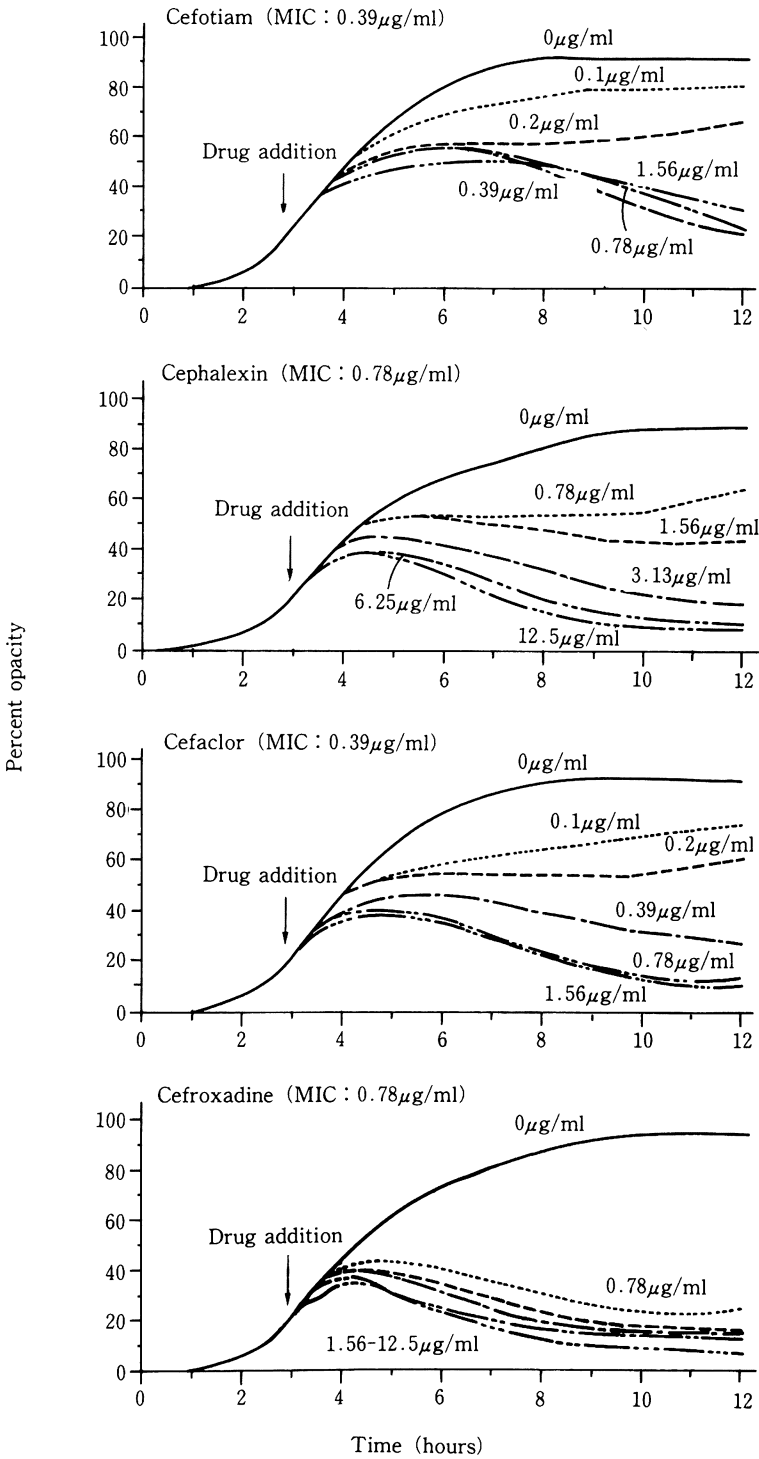


Fig. 32 Bacteriolytic effect of cefotiam and reference cephalosporins on *Staphylococcus aureus* FDA 209P

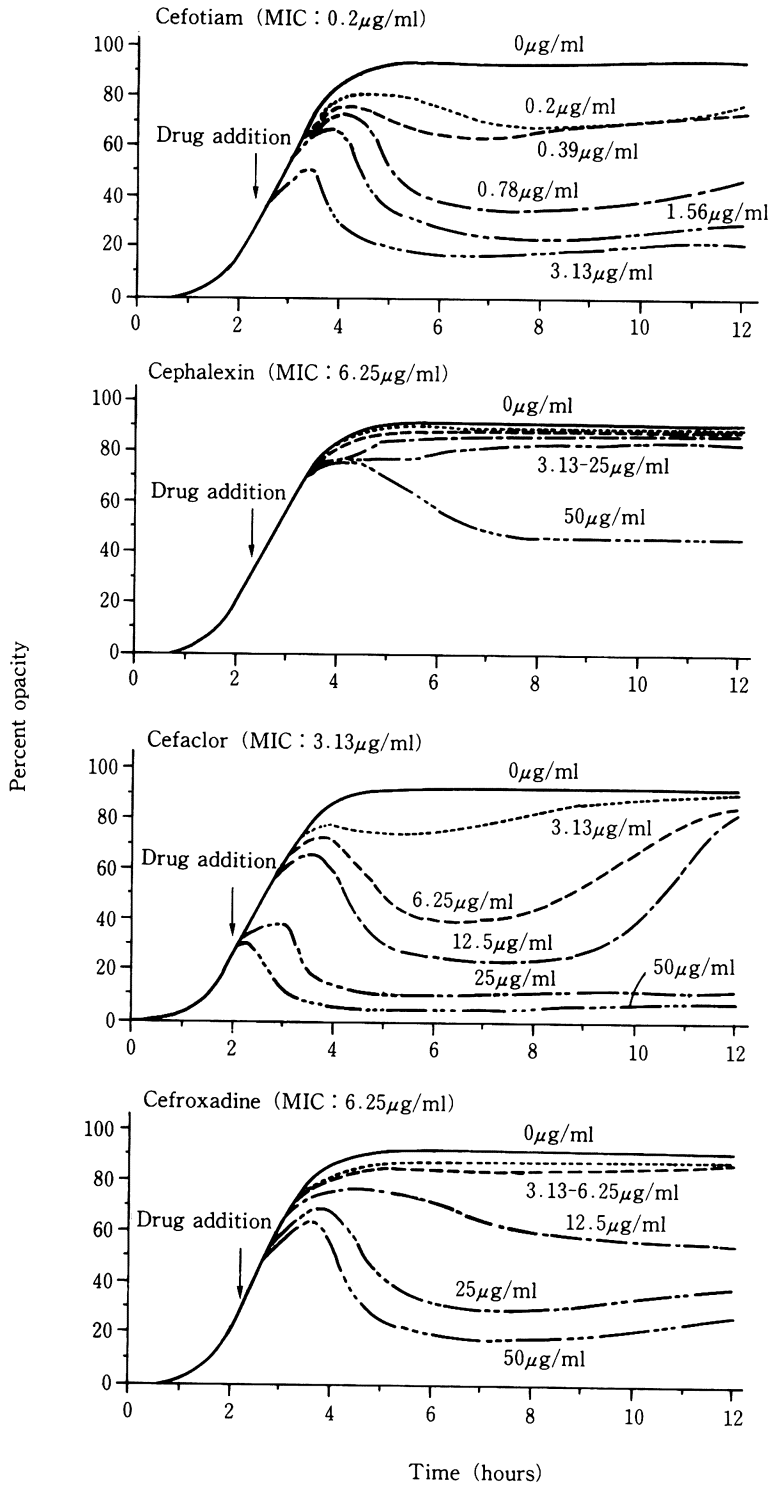


Fig. 33 Bacteriolytic effect of cefotiam and reference cephalosporins on *Escherichia coli* NIHJ JC-2

6. *S. aureus* 腎感染マウスにおける防御効果

S. aureus 308A-1 を静脈内に感染し、感染1時間後および以後3日間1日2回、計7回薬剤を経口投与した。投与終了翌日の腎病変および腎内菌数を測定した。薬剤無投与とコントロールでは5匹全例のマウスに病変が観察され、平均約 10^6 CFU/kidneyの菌が回収された。CTM-HE投与群では39.1および156 mg/kg投与マウスにおいて腎病変の出現は軽度であったが、39.1 mg/kg投与マウスでは10例中全例から、156 mg/kg投与マウスにおいて3/10に菌が回収された。CEXおよびCCL投与マウスにおいても同様の傾向を示し、腎病変陰性率と菌回収率との間には約4~8倍の差があった。腎よりの菌回収率を指標とした CD_{50} はCTM-HE 96.3 mg/kg、CEX 63.3 mg/kg、CCL 74.3 mg/kgであり、3薬

剤間に差を認めなかった (Table 18)。

7. *K. pneumoniae* による呼吸器感染マウスにおける治療効果

感染30時間後よりCTM-HE、CEXおよびCCLを1日3回、7日間経口投与した。無投薬群では感染3日後までに全例が死亡した。CTM-HE治療群では50 mg/kg以上の投与量で半数以上のマウスが生残り、200 mg/kg以上の投与量では生残した9例のマウス全例で肺内生菌の陰性化が認められた (Table 19)。一方CEXおよびCCL治療群ではそれぞれ400 mg/kgあるいは200 mg/kg以上で約半数のマウスが生残したが、投与量を増加させても肺内生菌の陰性化はみられなかった。生残率を指標に求めた SD_{50} はCTM-HE 37.5 mg/kg、CEX 467 mg/kg、CCL 151 mg/kgであり、肺内生菌の陰性

Table 17 Protective effect of cefotiam hexetil and reference cephalosporins against experimental intraperitoneal infection in mice^{a)}

Organism (Challenge dose)	Cephalosporin	ED ₅₀ (mg/kg) ^{b)}	MIC ^{c)} (μg/ml)
<i>S. aureus</i> 308 A-1 (10 ⁸ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	14.8 (11.8-18.5)	0.78
	Cephalexin	5.91 (4.65-7.36)	1.56
	Cefaclor	1.79 (1.42-2.24)	0.78
	Cefroxadine	3.42 (2.71-4.26)	1.56
<i>S. pyogenes</i> E-14 (10 ⁵ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	1.04 (0.845-1.27)	0.05
	Cephalexin	1.91 (1.58-2.29)	0.39
	Cefaclor	0.489(0.398-0.603)	0.2
	Cefroxadine	0.671(0.567-0.796)	0.2
<i>S. pneumoniae</i> Type I (10 ² CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	3.17 (2.39-4.06)	0.2
	Cephalexin	57.4 (44.0-75.9)	3.13
	Cefaclor	11.8 (9.29-15.3)	0.78
	Cefroxadine	8.13 (6.28-10.4)	1.56
<i>E. coli</i> O-111 (10 ⁵ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	0.492(0.392-0.604)	0.05
	Cephalexin	7.07 (5.90-8.48)	3.13
	Cefaclor	1.13 (0.914-1.37)	0.78
	Cefroxadine	3.80 (3.10-4.67)	3.13
<i>E. coli</i> TN1459 (10 ⁹ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	2.66 (2.16-3.27)	0.78
	Cephalexin	288 (224-421)	>100
	Cefaclor	56.6 (46.8-68.2)	50
	Cefroxadine	56.7 (46.4-68.7)	50
<i>C. freundii</i> TN518 (10 ⁶ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	3.94 (3.26-4.76)	0.39
	Cephalexin	86.2 (72.1-103)	50
	Cefaclor	23.2 (19.0-28.3)	12.5
	Cefroxadine	20.4 (16.8-24.6)	50
<i>K. pneumoniae</i> DT-S (10 ⁵ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	2.12 (1.76-2.58)	0.1
	Cephalexin	13.6 (11.2-16.7)	6.25
	Cefaclor	1.54 (1.31-1.81)	0.39
	Cefroxadine	8.60 (7.29-10.2)	3.13
<i>E. cloacae</i> TN618 (10 ⁵ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	1.96 (1.64-2.35)	0.39
	Cephalexin	12.3 (10.3-14.5)	12.5
	Cefaclor	3.53 (2.93-4.29)	12.5
	Cefroxadine	4.94 (4.20-5.81)	3.13

Table 17-continued

Organism (Challenge dose)	Cephalosporin	ED ₅₀ (mg/kg) ^{b)}	MIC ^{c)} (μg/ml)
<i>S. marcescens</i> TN66 (10 ⁸ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	5.82 (4.76-7.10)	3.13
	Cephalexin	76.7 (65.1-90.5)	>100
	Cefaclor	26.2 (21.5-31.8)	>100
	Cefroxadine	30.9 (25.8-37.1)	>100
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849 (10 ⁶ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	3.14 (2.52-3.94)	6.25
	Cephalexin	37.0 (30.6-44.8)	50
	Cefaclor	3.21 (1.18-15.6)	6.25
	Cefroxadine	47.2 (38.2-58.5)	25
<i>M. morgani</i> GN5278 (10 ⁶ CFU/mouse)	Cefotiam hexetil	13.7 (11.1-16.7)	0.39
	Cephalexin	>800	>100
	Cefaclor	752 (592-1198)	>100
	Cefroxadine	>800	>100

- a) Mice were infected intraperitoneally with *S. pneumoniae* suspended in Trypticase Soy broth and with other organisms suspended in 5% mucin. Cephalosporins were administered orally at 0 and 4 h after infection for *S. pneumoniae* and immediately after infection for other organisms.
- b) ED₅₀ values were calculated by the probit method from the survival rate on day 5 after infection. Figures in parentheses indicate 95% confidence limits.
- c) MIC values were determined with a bacterial suspension of 10⁶ CFU/ml. The value for cefotiam hexetil is the MIC of cefotiam.

化率から求めた CD₅₀ は CTM-HE 161 mg/kg, CEX および CCL はともに 800 mg/kg 以上であり, CTM-HE は他剤より著しく強い治療効果を示した。8. *P. mirabilis* による尿路感染マウスにおける治療効果

感染3日後から CTM-HE, CEX, CCL を1日3回, 5日間経口投与した。無投薬群では感染3日後には全例の尿中から >10⁵ CFU/ml の, 感染8日後には全例の膀胱壁および腎から各々約 10⁴ および 10⁵ の感染菌が回収された。CTM-HE 治療群では 12.5 mg/kg 以上の投与量で半数以上のマウスの尿中および膀胱壁内菌数が陰性化した。しかし腎内の感染菌は消失しがたく, 50 mg/kg 以上の投与量で半数以上のマウスで菌の陰性化が認められた (Table 20)。一方 CEX および CCL では尿中菌数は比較的少量で陰性化した, 膀胱壁および腎内菌数は用量-効果関係が明らかではなく, また治療効果も CTM-HE より著しく劣った。臓器内菌数の陰性化率を指標に求めた CTM-HE, CEX および CCL それぞれの CD₅₀ は尿では 0.73, 12.5, 12.5 mg/kg, 膀胱壁では 4.42, 166, 148 mg/kg, 腎では 13.7, 151, 282 mg/kg であった。

9. 類縁物質および代謝物の抗菌力

CTM-HE 投与時の血中あるいは尿中代謝物および類縁物質の抗菌力を測定した (Table 21)。使用した薬剤は CTM, 類縁物質 I (Δ³-SCE-2174), 類縁物質 III (Δ³-CTM), 類縁物質 IV (tetrazole 体), 類縁物質 VII (lactone 体, SCE-1685), 代謝物 M-II (SCE-1006) および代謝物 M-III (SCE-1136) である。

ヒトに CTM-HE を投与後の尿中にごく微量に検出される代謝物である M-II および M-III は CTM よりやや弱い抗菌力を示した。類縁物質 I, III IV および VII は 100 μg/ml でも抗菌力を示さなかった。

考 察

広域性注射用セファロスポリンである cefotiam (CTM) は臨床で広く使用されている有用性の高い薬剤である。本剤の経口剤の開発を目指して種々検討した結果, CTM の 2 位カルボン酸を 1-シクロヘキシルオキシカルボニルオキシエチル基でエステル化することにより消化管吸収性が改善されることを見出した^{10,11)}。このエステル化合物, CTM-HE は経口投与により小腸壁においてエステル部分が加水分解を受け, 活性体である CTM となり血中へ移行し,

Table 18 Protective effect of cefotiam hexetil, cephalixin and cefaclor on experimental infection with *Staphylococcus aureus* 308 A-1 in mice^{a)}

Cephalosporin	Dose (mg/kg)	Gross lesion in Kidney (positive /total)	Bacterial recovery from kidney (positive /total)	No. of bacteria ^{b)} in Kidneys (log CFU/tissue; mean±S.D.)	CD ₅₀ ^{c)} (mg/kg)	MIC ^{d)} (μg/ml)
Infected control		5/5	5/5	6.58±0.37		
Cefotiam hexetil	0.61	3/5	5/5	5.89±0.55	96.3	0.78
	2.44	9/10	10/10	6.25±0.37		
	9.77	5/10	9/10	4.78±1.40		
	39.1	1/10	10/10	3.67±1.29		
	156	0/10	3/10	2.68±0.86		
Cephalexin	3.13	5/5	5/5	5.98±0.92	63.3	1.56
	12.5	2/5	5/5	4.75±1.34		
	50	0/5	3/5	3.56±0.63		
	200	0/5	0/5			
Cefaclor	0.78	5/5	5/5	6.45±0.39	74.3	0.78
	3.13	10/10	10/10	6.16±0.38		
	12.5	2/10	10/10	4.82±1.03		
	50	0/10	7/10	3.06±0.76		
	200	0/10	0/10			

a) Five-week-old CF# 1/Jbc female mice were infected intravenously with 2×10^6 CFU of the organisms per mouse. Cefotiam-hexetil, cephalixin and cefaclor were administered orally at 1 h after infection and twice a day (9 a.m. and 5 p.m.) for 3 days beginning the day after infection.

The kidneys were examined bacteriologically on the next day of completion of medication.

b) Numbers of bacteria in kidneys were calculated for positive kidneys only.

c) CD₅₀ (50% clearance dose) values were calculated by the method of Reed and Muench.

d) MIC values were determined with a bacterial suspension of 10^6 CFU/ml. The value for cefotiam hexetil is the MIC of cefotiam.

体内各組織へ分布する^{12,14)}。

CTM はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し、既存の経口セファロスポリン剤である CEX, CCL, CXD より優れた抗菌力を示した。特にグラム陰性菌では他剤が弱い抗菌力しか示さない CEX 耐性 *E. coli*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *P. vulgaris*, *M. organii* および *H. influenzae* 等に対する CTM の抗菌力は優れていた。しかし CTM は他剤と同様 *E. faecium* および *P. aeruginosa* には無効であった。

CTM のこの強い抗菌力は殺菌作用および溶菌作用においても示され、他剤よりも低い濃度で殺菌、溶菌がみられた。CTM の強い抗菌力は β -lactamase に対する安定性¹⁵⁾ および β -lactam 剤の作用標的である Penicillin-binding Proteins との親和性の強さ¹⁶⁾ によることが明らかにされている。

マウスを用いた実験的感染症に対する防御効果お

よび治療効果においても CTM-HE は CTM の抗菌活性を反映して優れた効果を示した。腹腔内感染症ではグラム陽性菌感染マウスにおいて CTM-HE は他剤と同等ないしやや劣る効果であったが、一方グラム陰性菌感染においては *K. pneumoniae* および *P. mirabilis* 感染に対して CTM-HE および CCL とがほぼ同等の防御効果を示した以外は CTM-HE の効果他剤よりも明らかに優れていた。特に CTM-HE の防御効果は CEX の MIC が 100 μg/ml 以上の *E. coli* TN1459, *S. marcescens* TN 66, *M. organii* GN5278 に対し他剤より著しく優れていた。

CTM-HE の *in vivo* 効果の優れていることはマウスモデル感染症においても示された。*S. aureus* による腎感染に対し CTM-HE は CEX, CCL とほぼ同等の効果を示した。一方 *K. pneumoniae* による

Table 19 Therapeutic effect of cefotiam hexetil, cephalixin and cefaclor in mice infected with *Klebsiella pneumoniae* DT-S by aerosol method^{a)}

Treatment ^{b)}		Survival ^{c)} rate (survival /total)	Time to ^{d)} death (days; mean±S.D.)	Rate of positive mice for ^{e)}		No. of bacteria ^{f)} in lung (log CFU/tissue; mean±S.D.)	50% effective dose calculated by ^{g)}		MIC ^{h)} (μ g/ml)
Cephalo- sporin	Dose (mg/kg)			Gross lesion (positive /survival)	Bacterial recovery (positive /survival)		Survival rate (SD ₅₀ , mg/kg)	Eradication rate (CD ₅₀ , mg/kg)	
Infected control		0/10	2.2±0.4						
Cefotiam	25	2/10	5.9±1.3	2/2	2/2	7.71			
hexetil	50	8/10	4.0±2.8	8/8	8/8	4.30±1.41	37.5	161	0.1
	100	8/10	3.0	8/8	8/8	3.29±1.05	(9.0-65.5)	(118-220)	
	200	9/10	3.0	9/9	0/9				
	400	9/10	2.0	9/9	0/9		467	>800	6.25
Cephalixin	200	0/10	4.1±1.3			5.17±1.42			
	400	6/10	2.3±0.5	6/6	6/6	3.36±1.27			
	800	7/10	4.3±1.5	7/7	6/7				
Cefaclor	50	0/10	4.0±1.2			6.69±0.69			
	100	3/10	4.6±2.1	3/3	3/3	6.47±1.51	151	>800	0.39
	200	6/10	4.5±3.0	6/6	6/6	5.09±1.03			
	400	10/10		10/10	10/10	2.88±0.74			
	800	10/10		10/10	5/10				

a) Four-week-old Slc : ICR male mice weighing 19 to 22 g were used. Bacterial suspension (6.8×10^8 to 8.1×10^8 CFU/ml) was nebulized at a pressure of 1.2 kg/cm² for 40 min. Bacterial recovery from the lungs of mice immediately after infection was (5.1 ± 2.5) $\times 10^3$ CFU per lung (mean \pm standard deviation, n=10).

b) Cephalosporins were administered orally three times a day (8 a.m., 2 p.m. and 8 p.m.) for 7 days beginning 30 h after infection. Dose is expressed as amount of cephalosporin per treatment.

c) Survival rate on day 8 after infection.

d) Time to death was calculated for fatal cases only.

e) Surviving animals were sacrificed on day 8 after infection and examined for gross pulmonary lesions and bacterial recovery from the lung. f) Number of bacteria in lung was calculated for positive lungs only.

g) 50% effective dose was calculated by probit method. SD₅₀, 50% survival dose : CD₅₀, 50% clearance dose.

h) MIC values were determined with a bacterial suspension of 10^6 CFU/ml. The value for cefotiam hexetil is the MIC of cefotiam.

Table 20 Therapeutic effect of cefotiam hexetil, cephalixin and cefaclor against urinary tract infection with *Proteus mirabilis* IFO 3849 in mice^{a)}

Cephalosporin ^{b)} Dose (mg/kg)	Urine ^{c)}			Bladder ^{c)}			Kidney ^{c)}			MIC ^{e)} (μ g/ml)
	Eradication rate (negative/total)	CD ₅₀ ^{d)} (mg/kg)	Eradication rate (negative/total)	No. of bacteria for positive tissue (log CFU/tissue; mean \pm S.D.)	CD ₅₀ ^{d)} (mg/kg)	Eradication rate (negative/total)	No. of bacteria for positive tissue (log CFU/tissue; mean \pm S.D.)	CD ₅₀ ^{d)} (mg/kg)		
Control	0/8		0/8	3.60 \pm 1.43		0/8	4.93 \pm 1.88			
Cefotiam hexetil	3/10		7/10	3.97 \pm 1.08		3/10	3.40 \pm 1.85			
	3/10		4/10	2.01 \pm 1.04		2/10	2.88 \pm 1.30			
	9/10	0.73	8/10	1.45 \pm 0.09	4.42	4/10	3.96 \pm 1.36	13.7	6.25	
	7/10		8/10	1.47 \pm 0.45		7/10	2.32 \pm 1.24			
	7/7		4/7	1.36 \pm 0.32		6/7	1.41			
Cephalixin	5/10		3/10	2.76 \pm 1.26		4/10	3.66 \pm 0.67			
	8/10	12.5	3/10	1.90 \pm 1.29	166	3/10	2.77 \pm 1.67	151	50	
	9/10		5/10	1.71 \pm 0.49		4/10	2.71 \pm 1.60			
	9/10		7/10	1.79 \pm 0.09		7/10	1.97 \pm 0.45			
	5/9		2/9	2.79 \pm 1.45		2/9	4.37 \pm 0.66			
Cefaclor	9/10	12.5	5/10	1.54 \pm 0.32	148	2/10	2.33 \pm 1.38	282	6.25	
	7/10		7/10	1.86 \pm 1.02		4/10	2.69 \pm 1.34			
	8/10		5/10	1.31 \pm 0.18		7/10	2.05 \pm 1.02			

a) Urinary tract infection was induced in female 5 to 6-week-old CF# 1/b Ta mice by transurethral inoculation of about 10^3 CFU of *P. mirabilis* IFO 3849 into the bladder, followed by urethral obstruction for 5.5 h.

b) Therapy was started 3 days after infection and continued for 5 days. Cephalosporins were administered orally three times a day (8 a.m., 2 p.m. and 8 p.m.). The dose is expressed as amount administered per injection.

c) The urine, bladder wall and kidney were examined bacteriologically the day after completion of medication. Urine cultures were considered as negative when the number of bacteria was less than 10^3 CFU/ml of urine, and bladder or kidney culture as negative when the number of bacteria was less than 10^5 CFU/tissue.

d) The 50% curative dose (CD₅₀) was calculated by the method of Reed and Muench.

e) Determined by the agar dilution method using a bacterial suspension of 10^6 CFU/ml. The value for cefotiam hexetil is the MIC of cefotiam.

Table 21 Antibacterial activities of related compounds of cefotiam hexetil

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	Cefotiam	Compound-I	Compound-III	Compound-IV	Compound-VII	M-II	M-III
<i>S. aureus</i> FDA 209P	0.39	>100	>100	>100	>100	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> 308A-1	0.39	>100	>100	>100	>100	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> 1840	0.78	>100	>100	>100	>100	1.56	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	>100	>100	>100	>100	0.2	1.56
<i>E. coli</i> O-111	0.05	>100	>100	>100	>100	0.05	0.2
<i>E. coli</i> T7	1.56	>100	>100	>100	>100	3.13	12.5
<i>C. freundii</i> IFO 12681	0.78	>100	>100	>100	>100	1.56	12.5
<i>K. pneumoniae</i> DT	0.1	>100	>100	>100	>100	0.1	0.05
<i>E. cloacae</i> IFO 12937	0.78	>100	>100	>100	>100	3.13	12.5
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	3.13	>100	>100	>100	>100	12.5	50
<i>P. vulgaris</i> IFO 3988	0.39	>100	>100	>100	>100	0.2	0.05
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.78	>100	>100	>100	>100	0.2	0.05
<i>M. morgani</i> IFO 3168	0.39	>100	>100	>100	>100	0.39	0.78
<i>P. aeruginosa</i> U31	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Agar dilution method using a bacterial suspension of 10^8 CFU/ml

呼吸器感染症および *P. mirabilis* による尿路感染症において、CTM-HE は CEX, CCL より優れた効果を示した。この効果は CTM の *in vitro* 抗菌力が他剤より優れていること、および経口投与後の吸収性、血中濃度の持続性に優れていることによると考えられる。CTM-HE をヒトに経口投与した場合の絶対生物学的利用性は約 60% で¹⁴⁾、優れた経口吸収性を示す CTM のエステル型プロドラッグであることが明らかにされており、本報告で示した優れた抗菌力が臨床にも反映されることが期待される。

(研究期間 S. 59.5~S. 61.1)

文 献

- 1) TSUCHIYA K, KIDA M, KONDO M, ONO H, TAKEUCHI M, NISHI T: SCE-963, a new broad-spectrum cephalosporin: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14: 551~568, 1978
- 2) BILL NJ, WASHINGTON JA. II: Comparison of *in vitro* activity of cephalixin, cephradine, and cefaclor. *Antimicrob. Agents Chemother.* 11: 470~474, 1977
- 3) SILVER MS, COUNTS GW, ZELEZNIK D, TURCK M: Comparison of *in vitro* antibacterial activity of three oral cephalosporins; Cefaclor, cephalixin, and cephradine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 12: 591~596, 1977
- 4) ZAK O, VISCHER WA, SCHENK C, TOSCH W, ZIMMERMANN W, REGOS J, SUTER ER, KRADOLFER F, GELZER J: CGP9000; A new orally active, broad-spectrum cephalosporin. *J. Antibiotics* 29: 653~655, 1976
- 5) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 6) LITCHFIELD JT, WILCOXON F: A simple method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99~113, 1949
- 7) 土屋皖司, 近藤正熙, 大石登喜子: Enduracidin の治療効果—*Staphylococcus aureus* 静脈内感染マウスの腎内菌数を指標として—。 *Chemotherapy* 16: 470~473, 1968
- 8) NISHI T, TSUCHIYA K: Therapeutic effects of cefotiam and cefazolin on experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18: 549~556, 1980
- 9) IWAHI T, TSUCHIYA K: Comparative activities of cefotiam and cefazolin against urinary tract infections with *Proteus mirabilis* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18: 257~263,

- 1980
- 10) YOSHIMURA Y, HAMAGUCHI N, YASHIKI T: Preparation of 1-acyloxyethyl esters of 7-(2-(2-aminothiazol-4-yl) acetamido)-3-[(1-(2-dimethylaminoethyl)-1H-tetrazol-5-yl) thio]-methyl] ceph-3-em-4-carboxylic acid (Cefotiam) and their oral absorption in mice. *J. Antibiotics* 39: 1329~1342, 1986
- 11) NISHIMURA T, YOSHIMURA Y, MIYAKE A, YAMAOKA M, TAKANOHASHI K, HAMAGUCHI N, HIRAI S, YASHIKI T, NUMATA M: Orally active 1-(cyclohexyloxycarbonyloxy) alkyl ester prodrugs of cefotiam. *J. Antibiotics* 40: 81~90, 1987
- 12) 喜多八洲男, 浜口 直, 平井真一郎, 今田 哲: Cefotiam hexetil のマウス, ラットおよびイヌにおける体内動態—セフェム骨格成分を中心とした検討一。Chemotherapy 投稿中
- 13) 棚山薫晴, 吉田清志, 三谷正義, 塚本剛司, 鳥井 洋: 新規経口セファロsporin Cefotiam hexetil のラット, マウス, イヌにおける生体内運命—エステル側鎖由来成分を中心とした検討一。Chemotherapy 投稿中
- 14) 立野政雄, 杉山一郎, 衣非 脩: Cefotiam hexetil の臨床第 I 相試験。Chemotherapy 投稿中
- 15) 小此木研二, 木田 誠, 米田雅彦, 三橋 進: Cefotiam (SCE-963) の β -lactamase に対する態度および細菌細胞外膜透過性。Chemotherapy 27 (S-3): 94~105, 1979
- 16) NOZAKI T, IMADA A, YONEDA M: SCE-963, a new potent cephalosporin with high affinity for penicillin-binding proteins 1 and 3 of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 15: 20~27, 1979

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF CEFOTIAM HEXETIL A NEW ORALLY ACTIVE CEPHALOSPORIN

MASAHIRO KONDO, TOMOYUKI IWAHI, MASAFUMI NAKAO, YUJI IIZAWA,
TAKAKO NAITO, RYOGO HAYASHI and AKIRA IMADA
Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.,
2-17-85 Juso-honmachi, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

Cefotiam hexetil (CTM-HE) is the 1-cyclohexyloxycarbonyloxyethyl-ester of cefotiam (CTM), a widely used parenteral cephalosporin. The *in vitro* antibacterial activity of cefotiam and the *in vivo* activity of CTM-HE were evaluated and compared with those of cephalexin (CEX), cefaclor (CCL) and cefroxadine (CXD).

1. CTM (the active form of cefotiam hexetil) had a broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative organisms and the antibacterial activity of CTM was superior to those of other orally active cephalosporins. Especially, CTM showed high activity against CEX-resistant *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, and *Haemophilus influenzae*, against which other cephalosporins were weakly active.
2. CTM was strongly bactericidal and bacteriolytic against *Staphylococcus aureus* and *E. coli* at the MIC levels. CTM was especially more active against *E. coli* than CEX, CCL and CXD.
3. CTM-HE protected well against lethal intraperitoneal infections in mice caused by a variety of gram-positive and negative bacteria; the activity against gram-negative bacteria was noteworthy.
4. CTM-HE was more effective than CEX and CCL against respiratory tract infection caused by *Klebsiella pneumoniae* DT-S and urinary tract infection caused by *Proteus mirabilis* IFO 3849 in mice.