

新経口カルバセフェム剤loracarbefに関する細菌学的研究

山下錦也・辻 明良・五島瑳智子

東邦大学医学部微生物学教室*

Loracarbef(LCBF)は新しく開発された経口用のカルバセフェム剤でその側鎖はcefaclor(CCL)に類似している。本報告はLCBFの*in vitro*および*in vivo*抗菌力をCCL, cefprozil(CFPZ), cefixime(CFIX)と比較検討した成績である。その主な結果は下記の通りである。

LCBFはグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し広域の抗菌スペクトルを示し、臨床分離グラム陽性菌に対する抗菌力はCCLと同等、CFIXより優れていた。腸内細菌科の菌種に対してはCFIXより劣るが、CCLと同等であった。*Neisseria gonorrhoeae*に対してはCCL, CFPZより優れた抗菌力を示した。LCBFの*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*に対する殺菌作用はCCL, CFPZに比べ、同等かやや弱かった。また β -lactamaseに対する安定性はCCLより安定で、本剤のひとつの特性と考えられた。

マウス実験感染モデルに対するLCBFの治療効果は、*S. aureus* Smith全身感染モデルではCFIXより優れていたが、CCL, CFPZより劣っていた。*E. coli* C-11, *Klebsiella pneumoniae* 3K-25感染に対してはCFIX, CCLに比べ劣るものの、CFPZと同等かやや優れていた。また、*Streptococcus pneumoniae* TMS 3を感染菌とした呼吸器感染、*E. coli* KU-3での上行性尿路感染ではCCLとほぼ同等の治療効果を示した。LCBFのマウス血中濃度、臓器内濃度分布はCFPZと同等でCCLより良好な体内動態を示した。

Key words : loracarbef, カルバセフェム剤, *in vitro*抗菌力, *in vivo*抗菌力

Loracarbef(LCBF)¹⁾は新しく開発された経口用のカルバセフェム剤で、その側鎖はcefaclor(CCL)²⁾に類似している。われわれはLCBFの*in vitro*および*in vivo*抗菌作用をCCL, cefprozil(CFPZ)³⁾, cefixime(CFIX)⁴⁾と比較したので、その結果を報告する。

I. 実験材料

1. 使用菌株

教室保存の標準株および臨床材料から分離されたグラム陽性菌および陰性菌を使用した。

2. 使用薬剤

LCBF(944 μ g/mg, 協和醗酵), CCL(956 μ g/mg, 塩野義製薬), CFPZ(875 μ g/mg, ブリストル・マイヤーズ研究所), CFIX(867 μ g/mg, 藤沢薬品)を使用した。

3. 感受性測定

日本化学療法学会標準法の微量液体希釈法⁵⁾を用いてMIC(Minimal Inhibitory Concentration 最小発育阻止濃度)を測定した。すなわち、感受性測定用培地には Ca^{2+} 50mg/lと Mg^{2+} 25mg/lを無菌的に添加したMueller-Hinton broth(MHB, Difco)を使用した。*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*および*Stre-*

*ptococcus agalactiae*に対しては3%馬溶血液を、*Haemophilus influenzae*ではFildes enrichment(Difco)を上記培地に5%添加した。嫌気性菌についてはGAMブイオン(日水)を用いた。

接種菌液の調製は純培養した寒天平板上の被検菌を釣菌して、滅菌生理食塩水に懸濁した。これをMcFarland #0.5(約 10^8 CFU/ml)に調製し、さらに滅菌生理食塩水で10倍希釈したものを接種菌液とし、マイクロタイタープレートの各ウェルに1.5 μ lずつ接種した(最終接種菌量 10^4 CFU/well)。

菌を接種したプレートは37 $^{\circ}$ C 16~18時間培養し、well内の菌の発育の有無を判定した。

*Bordetella pertussis*ならびに*Neisseria gonorrhoeae*については寒天平板希釈法(日本化学療法学会標準法)⁶⁾を用いた。*B. pertussis*には、5%脱線維馬血液添加のBordet-Gengou medium(Difco)を、*Neisseria gonorrhoeae*の場合には、GC medium base(Difco)にsupplement(coccarboxylase 0.001g, glucose 20g, glutamine 0.5gを蒸留水に溶解して100mlとする)の2%を加え、ローソク培養にて測定した。

*〒143 東京都大田区大森西5-21-16

4. 殺菌作用の検討

Staphylococcus aureus Smith, *Escherichia coli* C-11, *Klebsiella pneumoniae* 3K-25をMHBにて37°Cで培養し、生菌数が約 10^6 CFU/mlの対数増殖期に、各薬剤の1/2, 1, 2MICを添加し、薬剤添加後1, 2, 4, 6, 24時間目に生菌数を測定した。

5. β -lactamaseに対する安定性

1) 酵素液の調製

Fig. 4に示した菌株をそれぞれHeart Infusion broth (HIB, Difco)150mlに37°C, 18時間培養した菌液を遠心して集菌したあと、少量の0.05Mリン酸緩衝液(pH7.0)に浮遊し、超音波にて菌体を破碎した。この破壊菌液を10,000rpm, 30分遠心し、上清をもとの量になるように新しいHIBにて希釈し、粗酵素液とした。

2) 酵素活性の測定(bioassay法)

上記酵素液に試験薬剤を50 μ g/mlになるように加え、37°Cで2時間反応後100°C1分間熱処理して酵素を不活化し、LCBF, CCL, CFPZ, cephaloridine, ampicillinでは*Bacillus subtilis* ATCC6633を、CFIX, cefuroxime, latamoxefでは*E. coli* TMS7437を検定菌とする薄層ディスク法にて残存活性をもとめた。

6. マウス実験感染に対する治療効果

1) 全身感染モデル

マウスはICR系, 雄, 体重19 \pm 1g, 4週齢(日本チャールズリバー)を用い、*S. aureus* Smith, *S. pneumoniae* TMS3, *E. coli* C-11, *K. pneumoniae* 3K-25を感染菌とし、*S. pneumoniae* TMS3以外は最終濃度が5%となるようにmucin(Difco)を添加して、腹腔内に接種し、1時間後に各薬剤を経口投与した。感染後7日間生死を観察し、生残率からVan der Waerden methodによりED₅₀を算出した。

2) 局所感染モデル

(1) 上行性尿路感染

感染前20時間給水を止めたICR系雌マウス(4週齢, 体重19 \pm 1g, 1群6匹)をpentobarbital(Nembutal)麻醉し、腹部を強く圧迫し排尿させ、下腹部をエタノール消毒後、*E. coli* KU-3の調製菌液0.05ml(9.5 \times 10⁴CFU/mouse)を専用接種針を用いて経尿道的に膀胱内に接種した。外尿道口を小型クリップで直ちに閉塞し、1時間後に解除し、同時に給水した。薬剤は菌接種翌日より1日2回、3日間経口投与した。治療効果は無治療群と治療群の腎内生菌数で判定した。生菌数の測定は、薬剤の最終投与翌日に両腎を摘出し、滅菌生理食塩水を5倍希釈となる量を加え、ホモジナイズし、これを原液として10倍連続希釈し、それぞれの

0.1mlをドリガルスキー改良培地(BTB培地, 栄研)にコンラージ棒で塗抹し、37°C, 18時間培養し、生菌数を測定した。

(2) 呼吸器感染

ICR系雄マウス(4週齢, 体重19 \pm 1g, 1群6匹)にcyclophosphamide(Sigma)250mg/kgを感染4日前に腹腔内投与したものを、エーテル麻醉し、調製菌液20 μ l(*S. pneumoniae* TMS3: 4.6 \times 10⁷CFU/mouse)を経鼻感染させた。薬剤は感染6時間後に1回、翌日より1日1回、3日間、計4回経口投与した。菌接種1/4, 1, 2, 3, 5日目に肺を摘出し、滅菌生理食塩水で希釈し、5%馬脱線維血液添加Heart Infusion medium(HIM, Difco)平板で、生菌数を測定した。

7. マウス血中濃度および臓器内分布

感染実験に用いた同条件のマウスを1群5匹とし、0.5%CMC \cdot Na(sodium carboxymethyl cellulose)に懸濁したLCBF, CCL, CFPZ, CFIXを1mg/mouse, 0.5mg/mouse経口投与した。15分, 30分, 1時間, 2時間, 3時間, 4時間後に採血した血液の一定量(0.6ml)をそれぞれプールし、遠心分離した後の血清中の薬剤濃度を、また、同時に取り出した肺および腎については、2倍量の0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)を加えホモジナイズし、遠心分離後の上清中の濃度を測定した。

LCBFは*Micrococcus luteus* PCI 1001を、CCL, CFPZは*B. subtilis* 6633を、CFIXは*E. coli* TMS 7437を検定菌とし、培地にはAntibiotic medium 1(Difco)を用いて、薄層ディスク法にて測定した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

教室保存の各種グラム陽性およびグラム陰性の標準菌株に対するLCBFの抗菌スペクトルをTable 1, 2に示した。

LCBFはグラム陽性菌ならびに陰性菌に対し広範な抗菌スペクトルを示したが、緑膿菌, セラチア, エンテロバクターなどに対しては抗菌力は弱かった。このようなLCBFの抗菌力は対照として用いたCCL, CFPZとほぼ同等であった。また、嫌気性菌については*Clostridium*属には抗菌力を示す株が認められたが、*Bacteroides*属などには抗菌力が弱く、ほぼCCL, CFPZと同等であった。

2. 各種臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離株に対するLCBFならびに対照薬剤の抗菌力をTable 3に示した。

グラム陽性菌に対するLCBFのMIC₅₀およびMIC₉₀はCCLとほぼ同等で、CFPZと比べると*Staphylococcus*

Table 1. Antibacterial spectrum of loracarbef and other agents

| Strain | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|----------------------------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | loracarbef | cefaclor | cefprozil | cefixime |
| <i>S. aureus</i> 209P | 0.5 | 1.0 | 0.25 | 8.0 |
| <i>S. aureus</i> Smith | 0.5 | 0.5 | 0.25 | 8.0 |
| <i>S. aureus</i> ATCC25923 | 0.5 | 1.0 | 0.25 | 4.0 |
| <i>S. epidermidis</i> ATCC 13228 | 0.5 | 0.5 | 0.125 | 2.0 |
| <i>S. pyogenes</i> ATCC10389 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 |
| <i>S. pneumoniae</i> Type-II | 0.5 | 0.5 | 0.125 | 0.25 |
| <i>S. pneumoniae</i> Type-III | 0.5 | 0.5 | ≤ 0.063 | 0.25 |
| <i>E. faecalis</i> ATCC33186 | 64 | 64 | 16 | > 128 |
| <i>M. luteus</i> ATCC9341 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | 1.0 |
| <i>B. subtilis</i> ATCC6633 | 0.25 | 0.25 | 0.125 | 64 |
| <i>E. coli</i> NIHJ JC-2 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 0.25 |
| <i>E. coli</i> ATCC93188 | 8.0 | 16 | 32 | 8.0 |
| <i>E. coli</i> ATCC25922 | 1.0 | 2.0 | 2.0 | 0.5 |
| <i>E. coli</i> ATCC35218 | 1.0 | 2.0 | 2.0 | 0.25 |
| <i>K. pneumoniae</i> IFO3512 | 0.5 | 2.0 | 1.0 | ≤ 0.063 |
| <i>K. pneumoniae</i> ATCC10311 | 1.0 | 1.0 | 2.0 | 0.125 |
| <i>P. mirabilis</i> 1287 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | ≤ 0.063 |
| <i>P. vulgaris</i> IFO3851 | 64 | 8.0 | 8.0 | ≤ 0.063 |
| <i>M. morgani</i> IFO3848 | 32 | 16 | 2.0 | ≤ 0.063 |
| <i>P. rettgeri</i> IFO13501 | 16 | 32 | 32 | ≤ 0.063 |
| <i>P. stuartii</i> IFO12930 | 2.0 | 1.0 | 1.0 | ≤ 0.063 |
| <i>S. marcescens</i> IFO1268 | 64 | > 128 | 64 | ≤ 0.063 |
| <i>E. cloacae</i> ATCC13047 | > 128 | > 128 | > 128 | 128 |
| <i>S. typhi</i> S60 | 0.5 | 1.0 | 1.0 | 0.5 |
| <i>S. typhimurium</i> ATCC13811 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | ≤ 0.063 |
| <i>S. flexneri</i> MZ3a | 0.5 | 0.5 | 1.0 | ≤ 0.063 |
| <i>S. sonnei</i> ATCC11061 | 0.5 | 2.0 | 2.0 | 0.25 |
| <i>V. cholerae</i> 569B | 0.5 | 0.5 | 1.0 | ≤ 0.063 |
| <i>P. aeruginosa</i> IFO3445 | > 128 | > 128 | > 128 | 32 |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 | > 128 | > 128 | > 128 | 32 |

Table 2. Antibacterial spectrum of loracarbef and other agents against anaerobic bacteria

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|------------------------------------|--------------------------|----------|-----------|----------|
| | loracarbef | cefaclor | cefprozil | cefixime |
| <i>Peptostreptococcus</i> | | | | |
| <i>P. asaccharolyticus</i> GM1003 | > 128 | > 128 | 128 | 128 |
| <i>P. asaccharolyticus</i> TMS83 | > 128 | > 128 | 128 | 32 |
| <i>P. magnus</i> ATCC14956 | 2.0 | 4.0 | 0.5 | 2.0 |
| <i>Clostridium</i> | | | | |
| <i>C. difficile</i> TMS29 | 32 | 64 | 8 | > 128 |
| <i>C. perfringens</i> ATCC13123 | 2.0 | 2.0 | 1.0 | 4.0 |
| <i>C. perfringens</i> GM1006 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 4.0 |
| <i>C. tetani</i> TMS89 | 0.25 | 1.0 | 0.25 | 4.0 |
| <i>C. botulinum</i> type A | 0.5 | 1.0 | 0.5 | 8.0 |
| <i>C. botulinum</i> type B | 16 | 8.0 | 32 | 2.0 |
| <i>C. botulinum</i> type D | 0.25 | 1.0 | 0.5 | 4.0 |
| <i>C. botulinum</i> type F | 0.25 | 1.0 | 0.5 | 2.0 |
| <i>Bacteroides</i> | | | | |
| <i>B. fragilis</i> GM7004 | > 128 | > 128 | > 128 | > 128 |
| <i>B. fragilis</i> TMS26 | 32 | 64 | 16 | 16 |
| <i>B. thetaiotaomicron</i> WAL3304 | 64 | 64 | 16 | 16 |
| <i>B. thetaiotaomicron</i> TMS126 | 32 | 64 | 32 | 16 |
| <i>B. distasonis</i> TMS58 | 32 | 64 | 32 | 16 |
| <i>B. distasonis</i> TMS128 | 32 | 64 | 16 | 32 |
| <i>B. vulgatus</i> ATCC29327 | 16 | 8.0 | 64 | 2.0 |
| <i>B. vulgatus</i> TMS129 | 32 | 8.0 | 64 | 2.0 |
| <i>Fusobacterium</i> | | | | |
| <i>F. nucleatum</i> TMS110 | 32 | 8.0 | 64 | 2.0 |

Table 3-1. Antibacterial activity of loracarbef and other agents against clinical isolates

| Organism (no. of strains) | Antibiotic | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | |
|------------------------------|------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | | range | 50% | 90% |
| <i>S. aureus</i> (MSSA) (44) | loracarbef | 1.0 ~ 64 | 2.0 | 32 |
| | cefaclor | 1.0 ~ 128 | 4.0 | 32 |
| | cefprozil | 0.25 ~ 32 | 1.0 | 16 |
| | cefixime | 8.0 ~ 128 | 16 | 64 |
| <i>S. aureus</i> (MRSA) (48) | loracarbef | 64 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefaclor | 32 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefprozil | 16 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefixime | 64 ~ >128 | >128 | >128 |
| <i>S. epidermidis</i> (38) | loracarbef | 0.5 ~ 4.0 | 1.0 | 2.0 |
| | cefaclor | 0.25 ~ 4.0 | 1.0 | 2.0 |
| | cefprozil | 0.125 ~ 1.0 | 0.25 | 0.25 |
| | cefixime | 2.0 ~ 32 | 4.0 | 16 |
| <i>S. pyogenes</i> (28) | loracarbef | ≤ 0.063 ~ 0.25 | 0.125 | 0.125 |
| | cefaclor | ≤ 0.063 ~ 0.25 | 0.125 | 0.125 |
| | cefprozil | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 0.25 | ≤ 0.063 | 0.125 |
| <i>S. pneumoniae</i> (25) | loracarbef | 0.125 ~ 1.0 | 0.5 | 1.0 |
| | cefaclor | ≤ 0.063 ~ 1.0 | 0.5 | 0.5 |
| | cefprozil | ≤ 0.063 ~ 0.125 | ≤ 0.063 | 0.125 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 1.0 | 0.125 | 0.25 |
| <i>S. agalactiae</i> (33) | loracarbef | 1.0 ~ 4.0 | 2.0 | 2.0 |
| | cefaclor | 0.5 ~ 4.0 | 1.0 | 2.0 |
| | cefprozil | ≤ 0.063 ~ 0.125 | 0.125 | 0.125 |
| | cefixime | 0.25 ~ 0.5 | 0.25 | 0.5 |
| <i>E. faecalis</i> (27) | loracarbef | 32 ~ >128 | 64 | >128 |
| | cefaclor | 32 ~ >128 | 64 | >128 |
| | cefprozil | 4.0 ~ >128 | 16 | 64 |
| | cefixime | >128 | >128 | >128 |
| <i>E. faecium</i> (22) | loracarbef | 16 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefaclor | 8.0 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefprozil | 4.0 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefixime | >128 | >128 | >128 |
| <i>E. coli</i> (40) | loracarbef | 0.25 ~ 64 | 1.0 | 2.0 |
| | cefaclor | 0.5 ~ 128 | 2.0 | 4.0 |
| | cefprozil | 1.0 ~ 64 | 2.0 | 8.0 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 16 | 0.25 | 0.5 |
| <i>K. pneumoniae</i> (25) | loracarbef | 0.25 ~ 8.0 | 0.5 | 2.0 |
| | cefaclor | 0.25 ~ 32 | 1.0 | 4.0 |
| | cefprozil | 0.5 ~ 64 | 1.0 | 8.0 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 1.0 | ≤ 0.063 | 0.25 |
| <i>K. oxytoca</i> (30) | loracarbef | 0.25 ~ >128 | 0.5 | 2.0 |
| | cefaclor | 0.5 ~ 128 | 0.5 | 1.0 |
| | cefprozil | 0.5 ~ >128 | 1.0 | 2.0 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 0.5 | ≤ 0.063 | 0.125 |
| <i>P. mirabilis</i> (26) | loracarbef | 0.5 ~ 4.0 | 1.0 | 2.0 |
| | cefaclor | 0.5 ~ 16 | 1.0 | 16 |
| | cefprozil | 0.5 ~ 32 | 1.0 | 32 |
| | cefixime | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 |
| <i>P. vulgaris</i> (27) | loracarbef | 128 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefaclor | 32 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefprozil | 16 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 1.0 | ≤ 0.063 | 0.25 |
| <i>M. morgani</i> (28) | loracarbef | 64 ~ >128 | 128 | 128 |
| | cefaclor | 32 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefprozil | 16 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 8.0 | 0.125 | 1.0 |
| <i>P. rettgeri</i> (26) | loracarbef | 2.0 ~ 128 | 64 | 128 |
| | cefaclor | 1.0 ~ >128 | 64 | >128 |
| | cefprozil | 0.5 ~ >128 | 16 | 128 |
| | cefixime | ≤ 0.063 ~ 0.25 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 |

Method: broth microdilution method

Table 3-2. Antibacterial activity of loracarbef and other agents against clinical isolates

| Organism (no. of strains) | Antibiotic | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | |
|----------------------------------|------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | | range | 50% | 90% |
| <i>P. stuartii</i> (23) | loracarbef | 0.5 ~ >128 | 16 | 128 |
| | cefaclor | 1.0 ~ >128 | 32 | 128 |
| | cefprozil | 0.5 ~ >128 | 16 | >128 |
| | cefixime | $\leq 0.063 \sim 2.0$ | ≤ 0.063 | 0.5 |
| <i>C. freundii</i> (28) | loracarbef | 4.0 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefaclor | 8.0 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefprozil | 4.0 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefixime | 0.25 ~ >128 | 128 | >128 |
| <i>E. cloacae</i> (27) | loracarbef | 4.0 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefaclor | 16 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefprozil | 16 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefixime | 0.25 ~ >128 | 2.0 | >128 |
| <i>S. marcescens</i> (30) | loracarbef | 16 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefaclor | 32 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefprozil | 16 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefixime | 0.125 ~ >128 | 1.0 | >128 |
| <i>Salmonella</i> spp. (30) | loracarbef | 0.25 ~ 8.0 | 0.5 | 0.5 |
| | cefaclor | 0.25 ~ 16 | 0.5 | 1.0 |
| | cefprozil | 0.5 ~ 32 | 1.0 | 1.0 |
| | cefixime | $\leq 0.063 \sim 0.5$ | ≤ 0.063 | 0.25 |
| <i>Shigella</i> spp. (27) | loracarbef | 0.125 ~ 4.0 | 0.5 | 2.0 |
| | cefaclor | 0.25 ~ 32 | 1.0 | 2.0 |
| | cefprozil | 0.5 ~ 8.0 | 2.0 | 2.0 |
| | cefixime | $\leq 0.063 \sim 1.0$ | 0.25 | 1.0 |
| <i>P. aeruginosa</i> (29) | loracarbef | >128 | >128 | >128 |
| | cefaclor | >128 | >128 | >128 |
| | cefprozil | >128 | >128 | >128 |
| | cefixime | 32 ~ >128 | 64 | >128 |
| <i>X. maltophilia</i> (21) | loracarbef | >128 | >128 | >128 |
| | cefaclor | 128 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefprozil | >128 | >128 | >128 |
| | cefixime | 1.0 ~ >128 | 128 | >128 |
| <i>A. calcoaceticus</i> (34) | loracarbef | 8.0 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefaclor | 16 ~ >128 | 128 | >128 |
| | cefprozil | 32 ~ >128 | >128 | >128 |
| | cefixime | 1.0 ~ >128 | 16 | >128 |
| <i>A. xylosoxidans</i> (17) | loracarbef | 8.0 ~ >128 | 32 | 128 |
| | cefaclor | 8.0 ~ >128 | 64 | 128 |
| | cefprozil | 16 ~ >128 | 64 | >128 |
| | cefixime | 8.0 ~ >128 | 64 | >128 |
| <i>H. influenzae</i> (40) | loracarbef | 0.5 ~ 32 | 1.0 | 4.0 |
| | cefaclor | 1.0 ~ 64 | 2.0 | 8.0 |
| | cefprozil | 1.0 ~ 64 | 4.0 | 8.0 |
| | cefixime | $\leq 0.063 \sim 0.125$ | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 |
| <i>N. gonorrhoeae</i> NPPNG (22) | loracarbef | $\leq 0.063 \sim 1.0$ | 0.125 | 0.25 |
| | cefaclor | 0.125 ~ 4.0 | 1.0 | 4.0 |
| | cefprozil | 0.25 ~ 8.0 | 1.0 | 2.0 |
| | cefixime | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 |
| PPNG (25) | loracarbef | $\leq 0.063 \sim 0.25$ | 0.125 | 0.25 |
| | cefaclor | $\leq 0.063 \sim 32$ | 2.0 | 16 |
| | cefprozil | 0.5 ~ 8.0 | 4.0 | 8.0 |
| | cefixime | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 | ≤ 0.063 |
| <i>B. pertussis</i> (21) | loracarbef | 0.5 ~ 16 | 16 | 16 |
| | cefaclor | 2.0 ~ 32 | 16 | 32 |
| | cefprozil | 4.0 ~ 16 | 16 | 16 |
| | cefixime | 1.0 ~ 4.0 | 2.0 | 4.0 |

Method: broth microdilution method

NPPNG: non penicillinase-producing *N. gonorrhoeae*PPNG: penicillinase-producing *N. gonorrhoeae*

epidermidis, *S. pneumoniae*で劣る傾向がみられた。また、メチシリン耐性ブドウ球菌(MRSA)や*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*に対しては他剤と同様抗菌力は弱かった。

グラム陰性菌に対する効果は*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp.に対して強い抗菌力を示し、そのMIC₅₀およびMIC₉₀は0.5~1μg/mlおよび0.5~2μg/mlで、CCLよりわずかに優れていた。

ブドウ糖非発酵菌に対するLCBFの抗菌力は他剤同様、弱かった。また*N. gonorrhoeae*に対してはペニシリンーゼ産生株、非産生株を問わず優れた抗菌力を示し、CCL, CFPZと同程度であった。

3. 殺菌作用

S. aureus Smith, *E. coli* C-11, *K. pneumoniae* 3K-25に対するLCBFの殺菌作用を検討した成績をFig. 1~3に示した。

S. aureus Smithに対していずれの薬剤もMIC濃度添加で殺菌的な作用を示した。LCBFはCFPZと同様の殺菌作用を示し、CCLと比較すると6時間値では劣るものの、24時間値では逆に優れていた。

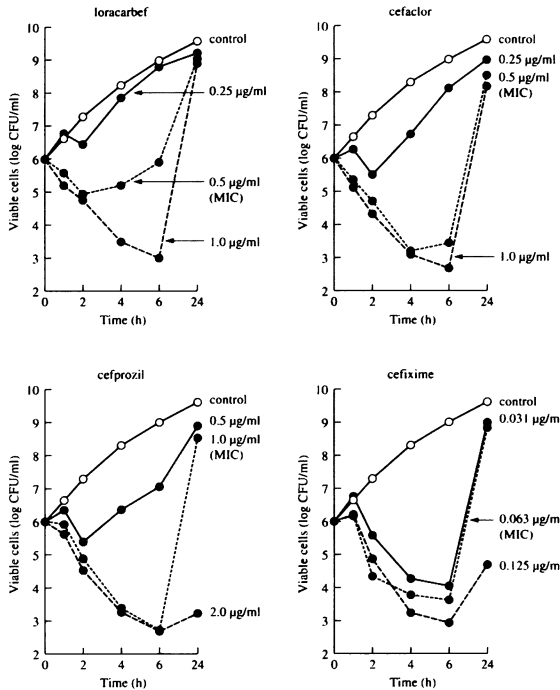


Fig. 2. Bactericidal activity of loracarbef and other agents against *Escherichia coli* C-11.

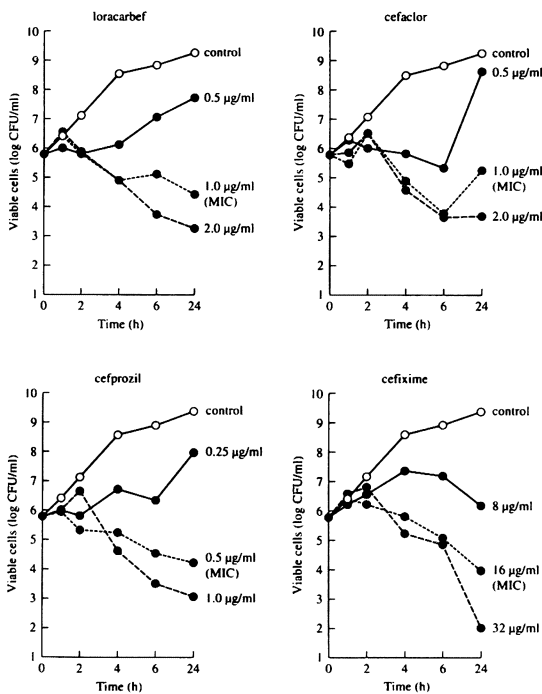


Fig. 1. Bactericidal activity of loracarbef and other agents against *Staphylococcus aureus* Smith.

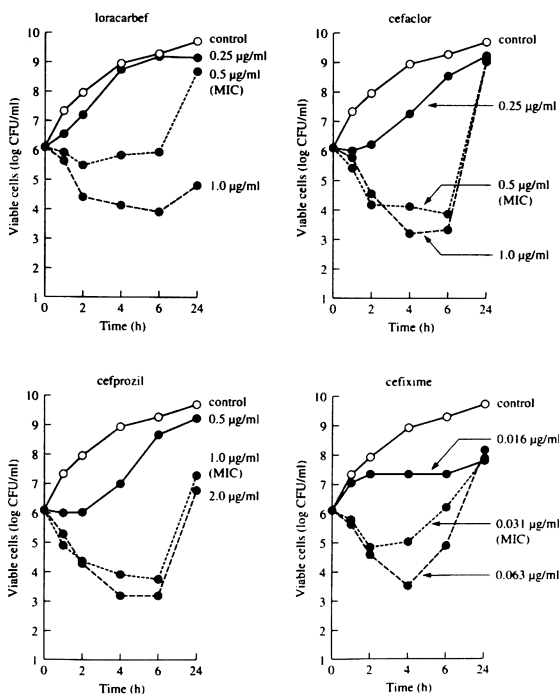


Fig. 3. Bactericidal activity of loracarbef and other agents against *Klebsiella pneumoniae* 3K-25.

E. coli C-11ではいずれの薬剤も2MIC添加で著明な殺菌作用がみられるものの、24時間後で再増殖が認められた。

K. pneumoniae 3K-25に対するLCBFの殺菌力は他剤と比べ弱いが、2MIC添加で他剤は再増殖が認められるものの、LCBFは認められなかった。

4. β -lactamaseに対する安定性

結果をFig. 4に示した。Richmond type I型に分類されるcephalosporinase (CEPase) に対してはLCBFは

CCL, CFPZと同様に分解を受けるが、一部の酵素については比較的安定であった。Richmond type II~V型に分類されるpenicillinase(PCase) に対して、LCBFはCFPZと同様比較的安定で、CCLと比べると優れていた。

5. マウス実験感染症に対する治療効果

1) 全身感染モデル

全身感染モデルにおけるLCBFの治療効果をTable 4に示した。

| Source of enzymes | <i>P. rettigeri</i> GN-624 | <i>P. stuartii</i> GN-627 | <i>M. morgonii</i> GN-125 | <i>C. freundii</i> GN-356 | <i>E. cloacae</i> No91 | <i>S. marcescens</i> No78 | <i>E. coli</i> 35 | <i>P. vulgaris</i> GN-76 | <i>E. coli</i> 121 | <i>P. mirabilis</i> GN-79 | <i>E. coli</i> ML1410 RGN-823 | <i>K. pneumoniae</i> GN-69 | <i>E. coli</i> ML1410 RGN-238 |
|-------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Richmond type | Ia | | | | | Ib | Ic | II | IIb | III | IV | Va | |
| Loracarbef | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Cefaclor | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Cefprozil | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Cefixime | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Cephaloridine | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Cefuroxime | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Latamoxef | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Ampicillin | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |

Drug concentration: 50 μ g/ml

Incubation: 37°C 2 h

Residual activities (%)

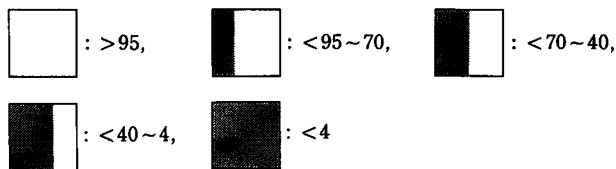


Fig. 4. Stability of loracarbef against β -lactamase.

S. aureus Smithおよび*S. pneumoniae* TMS3に対するLCBFの治療効果は同等のMIC値を示すCCLおよびCFPZと比べED₅₀値は大きかった。

E. coli C-11に対する効果は、CCLと比べると弱いものの、CFPZとほぼ同等の効果を示した。

K. pneumoniae 3K-25に対するLCBFの治療効果はCFIXと比べ劣るものの、CCL、CFPZとも同等の効果

を示した。

2) 局所感染モデル

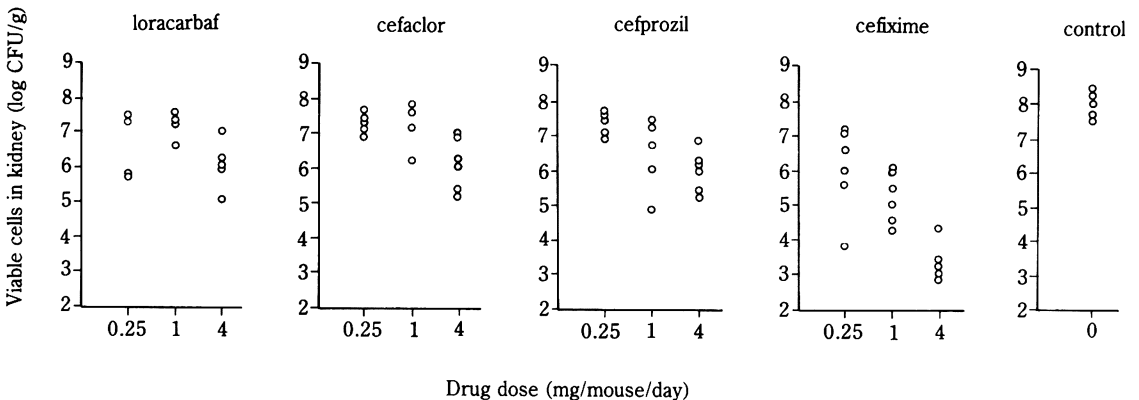
(1) マウス実験的上行性尿路感染症に対する治療効果

E. coli KU-3を用いた尿路感染モデルでのLCBFの治療効果を対照薬剤と比較検討した結果をFig. 5に示した。縦軸は各マウスの腎内の菌数の対数を、横軸は投

Table 4. Therapeutic effect of loracarbef and other agents against systemic infection in mice

| Organism (challenge dose) | Drug | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence) |
|---|------------|-----------------------------|---|
| <i>S. aureus</i> Smith 2.7 × 10 ⁷ * (16MLD) | loracarbef | 1.0 | 0.050 (0.039~0.063) |
| | cefaclor | 1.0 | 0.016 (0.011~0.022) |
| | cefprozil | 0.5 | 0.012 (0.009~0.018) |
| | cefixime | 16 | >2 |
| <i>S. pneumoniae</i> III 7.5 × 10 ³ (44MLD) | loracarbef | 1.0 | 1.60 (1.06~2.42) |
| | cefaclor | 1.0 | 0.16 (0.13~0.20) |
| | cefprozil | 0.125 | 0.040 (0.031~0.050) |
| | cefixime | 0.125 | 0.63 (0.50~0.80) |
| <i>E. coli</i> C-11 6.9 × 10 ⁶ * (15MLD) | loracarbef | 0.5 | 0.064 (0.041~0.098) |
| | cefaclor | 0.5 | 0.025 (0.017~0.037) |
| | cefprozil | 1.0 | 0.050 (0.031~0.083) |
| | cefixime | 0.063 | 0.006 (0.005~0.009) |
| <i>K. pneumoniae</i> 3K-25 1.3 × 10 ⁴ * (100MLD) | loracarbef | 0.5 | 0.50 (0.31~0.82) |
| | cefaclor | 0.5 | 0.40 (0.24~0.67) |
| | cefprozil | 1.0 | 0.80 (0.49~1.30) |
| | cefixime | 0.031 | 0.020 (0.016~0.025) |

Mouse: ICR 4 W, male, 19 ± 1 g, 6 animals/group Therapy: p.o. 1 h after infection *: with 5% mucin



Mice: ICR, 4 W, male, 19 ± 1 g, N=6

Challenge dose: 9.5 × 10⁴ CFU/0.05 ml/mouse

Therapy: p.o. twice a day for 3 days, each at 4.0, 1.0 and 0.25 mg/mouse

Fig. 5. Therapeutic effect of loracarbef and other agents against experimental urinary tract infection with *Escherichia coli* KU-3 in mice.

与した薬剤の1日当りの投与量を示した。

LCBFの治療効果は、CCL、CFPZとほぼ同等の効果を示したが、CFIXと比べ劣っていた。

(2) マウス実験の呼吸器感染症に対する治療効果

S. pneumoniae TMS3を感染菌としたLCBFの治療効果をCCL、CFIXと比較した成績をFig. 6に示した。LCBFは薬剤無投与群と比較して明らかに肺内菌数を減少させ、CCLと同等の治療効果を示した。しかし、CFIXと比べ、その効果は劣っていた。

6. マウス血中および臓器内濃度

1) 血中濃度

LCBFの1mg/mouseおよび0.5mg/mouse経口投与後の血清中濃度はピークは15分で36.9 μ g/mlおよび19.2 μ g/mlであった(Fig. 7)。試験各薬剤の血中濃度パラメータをTable 5に示したが、LCBFはCFPZと同等の数値を示し、CCLと比較すると、最高血中濃度、AUC

共に高い値を示した。

2) 肺内濃度

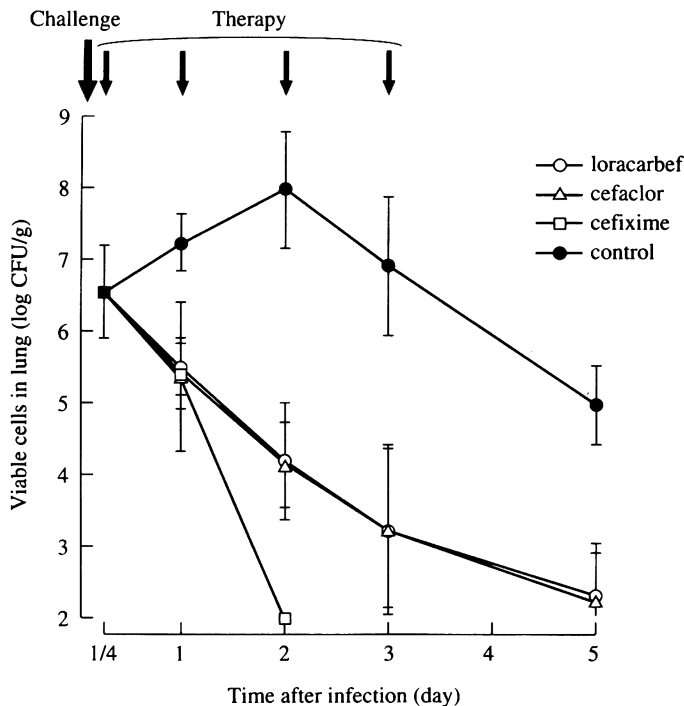
LCBFの肺内濃度のピークは1mg/mouse投与で7.3 μ g/ml (15min), 0.5mg/mouse投与で3.1 μ g/ml (30min)で、CFPZとほぼ同等か若干低いものの、CCL、CFIXよりも高い数値を示した(Fig. 8)。

3) 腎内濃度

LCBFの腎内濃度のピークは1mg/mouse投与で55.5 μ g/ml (15min), 0.5mg/mouse投与で32.7 μ g/ml (15min)を示し、CFIXと比べると高いが、CCL、CFPZとの比較では、ほとんど同等の数値を示した(Fig. 9)。

Ⅲ. 考 察

新経口カルバセフェム系であるLCBFに*in vitro*抗菌活性はほぼCCLと同等であるが、臨床分離*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Shigella* spp., および*N. gonorrhoeae*で優



Mice: ICR, 4W, male, 19 \pm 1 g, N=6

Neutropenic mice: cyclophosphamide 250 mg/kg i.p., 4 days before challenge

Challenge: transnasal inoculation (4.6×10^7 CFU/20 μ l/mouse)

Therapy: p.o., once a day for 4 days, each 1.0 mg/mouse

Fig. 6. Therapeutic effect of loracarbef and other agents against experimental respiratory tract infection with *Streptococcus pneumoniae* TMS3 in neutropenic mice.

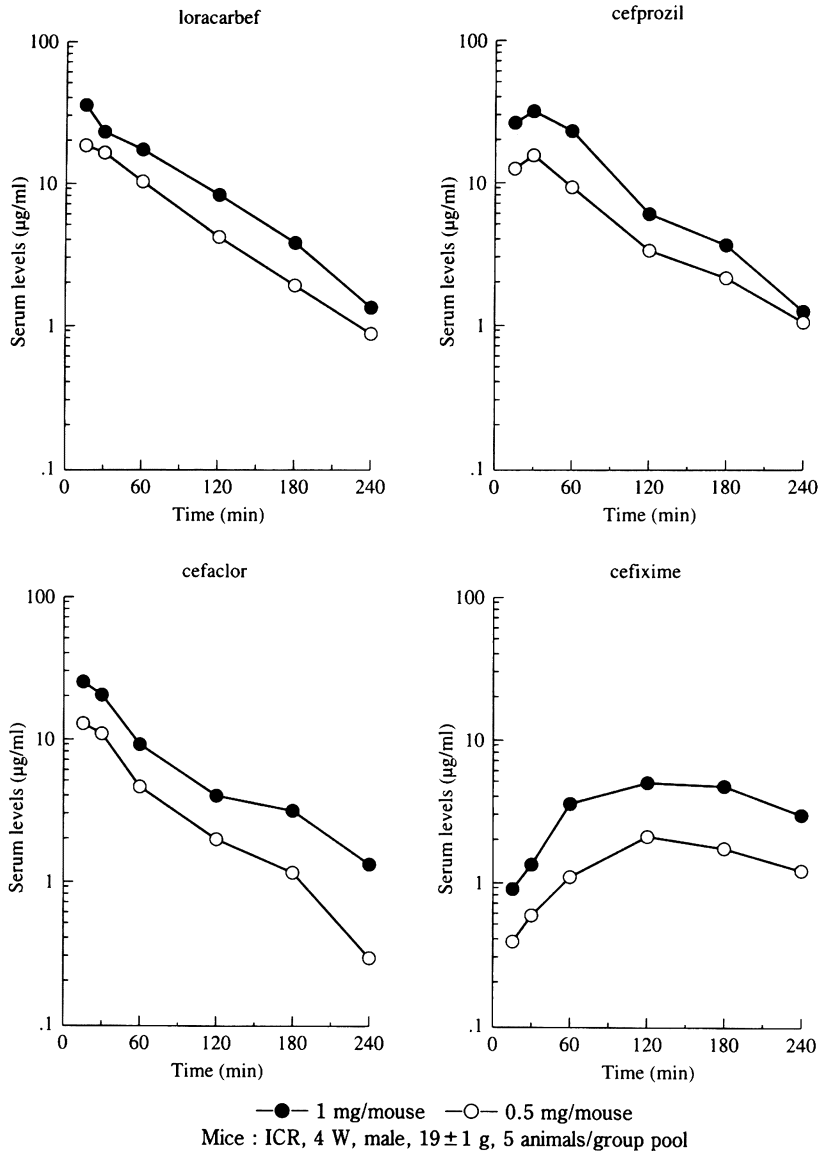


Fig. 7. Serum levels of loracarbef and other agents in mice.

Table 5. Serum levels of loracarbef and other agents in mice

| Antibiotic | Dose (mg/mouse) | Parameter | | |
|------------|-----------------|--------------------------|----------------------|---------------|
| | | C _{max} (µg/ml) | T _{1/2} (h) | AUC (µg·h/ml) |
| loracarbef | 1.0 | 36.9 | 0.84 | 47.1 |
| | 0.5 | 19.2 | 0.84 | 27.0 |
| cefaclor | 1.0 | 24.8 | 0.92 | 29.8 |
| | 0.5 | 12.7 | 0.73 | 14.2 |
| cefprozil | 1.0 | 31.8 | 0.81 | 48.2 |
| | 0.5 | 15.8 | 0.97 | 24.1 |
| cefixime | 1.0 | 4.8 | NC* | 14.0** |
| | 0.5 | 2.0 | NC | 5.5** |

* NC: not calculated: ** 0-4 h

れており、とくに*N. gonorrhoeae*において著明であった。また、メチシリン耐性の*S. aureus* (MRSA) に対しては、対照薬剤と同様、抗菌活性は弱かった。

S. aureus, *E. coli*, *K. pneumoniae*に対するLCBFの殺菌効果はMIC濃度以上の添加で殺菌的に作用したが、その作用は他剤よりも若干劣ると考えられた。

β -lactamaseに対するLCBFの安定性はPCaseに安定

で、一部のCEPaseにも安定であり、CCLより安定である傾向が認められた。これはLCBFの特徴の一つと考えられる。

マウス全身感染モデルにおけるLCBFの治療効果は、他剤に比べて同等か弱い効果を示し、特に*S. pneumoniae* TMS3における効果ではCCLより10倍低い値となった。しかし、呼吸器感染および、尿路感染等の局所

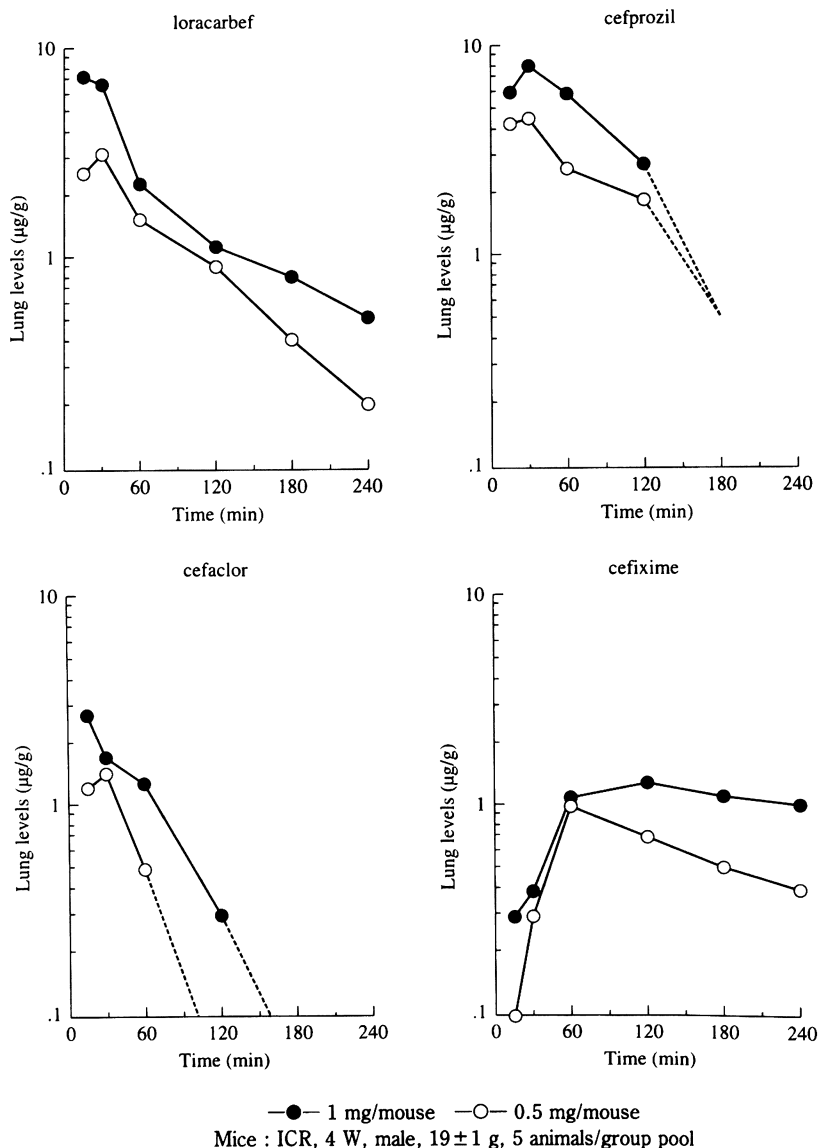


Fig. 8. Lung levels of loracarbef and other agents in mice.

感染においてはCFIXには及ばないものの、CCL、CFPZに匹敵する治療効果を示した。感染モデルとしては全身感染系よりも局所感染系の方が、より臨床に近いと考えられるので、LCBFの感染治療効果はCCL、CFPZと同程度と考えられた。

LCBFはカルバセフェムという新しい基本骨格を有しており、 β -lactamaseに安定という特徴は、この構

造のユニーク性に起因すると考えられる。また、臨床分離株に対する*in vitro*効果にもその特徴が認められ、臨床上の有用性が考えられた。

文 献

- 1) Sato K, Okachi R, Matsukuma I, Mochida K and Hirata T : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of KT3777, a new orally active car-

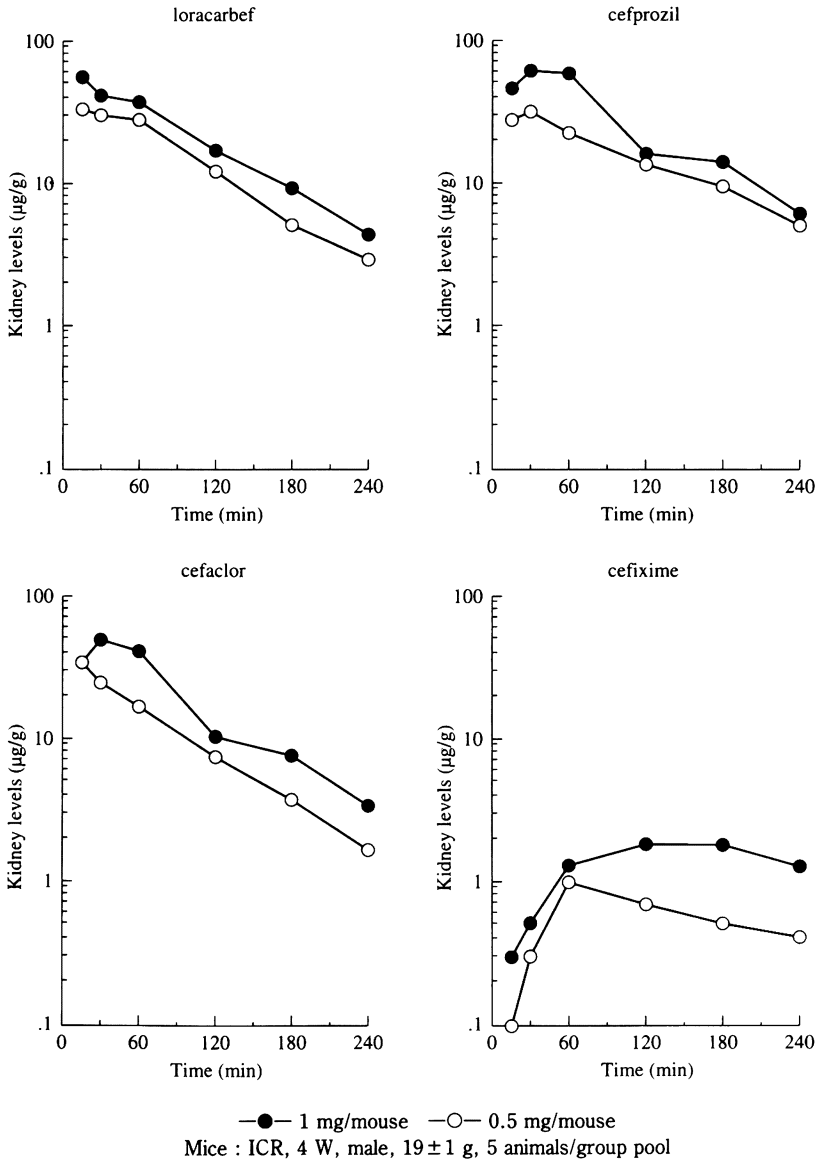


Fig. 9. Kidney levels of loracarbef and other agents in mice.

- bacephem. J Antibiotics 42 : 1844 ~ 1853, 1989
- 2) 五島瑳智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 吉田 勇, 桑原章吾: 新経口Cephalosporin剤 Cefaclor(CCL)とCephalexinの抗菌作用の比較。Chemotherapy 27 : 1~13, 1979
 - 3) 神智恵子, 小川正俊, 宮崎修一, 金子康子, 辻 明良, 五島瑳智子: 新経口セファロsporリンBMY-28100の細菌学的評価。Chemotherapy 37(S-3) : 49~91, 1989
 - 4) 五島瑳智子, 池田文昭, 小川正俊, 宮崎修一, 金子康子, 桑原章吾: 新経口cephalosporin剤, Cefixime(CFIX)の*in vitro*, *in vivo*抗菌作用。Chemotherapy 33(S-6) : 29~45, 1985
 - 5) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定検討委員会報告, 微量液体希釈法の検討: 第37回日本化学療法学会総会, 1989
 - 6) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)の測定法改訂について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of loracarbef, a new oral carbacephem

Kinya Yamashita, Akiyoshi Tsuji and Sachiko Goto

Department of Microbiology,

Toho University School of Medicine

5-21-16, Omori-Nishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

The antibacterial activity of loracarbef(LCBF), a new oral carbacephem, was compared with that of cefaclor(CCL), cefixim(CFIX) and cefprozil(CFPZ) *in vitro* and *in vivo*.

LCBF had a broad antibacterial spectrum similar to that of CCL against gram-positive and gram-negative bacteria. It was comparable to that of CCL and more active than that of CFIX against gram-positive cocci of clinical isolates. LCBF was comparable to CCL against *Enterobacteriaceae*, and was more active than CCL and CFPZ against *Neisseria gonorrhoeae*. Time-kill curve study demonstrated bactericidal activity of LCBF against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. LCBF was more stable to β -lactamase than CCL by penicillinase-type enzyme. However, LCBF was inactivated by cephalosporinase-type enzyme, similarly to CCL. The protective effect of LCBF against systemic infection in mice was similar to that of CFPZ against *E. coli* and *K. pneumoniae*, but was less than that of CCL and CFPZ against *S. aureus* and *S. pneumoniae*. In respiratory tract infection with *S. pneumoniae* and urinary tract infection with *E. coli*, LCBF and CCL showed almost equal therapeutic efficacy. The pharmacokinetics of LCBF after an oral administration of 1 mg/mouse and 0.5 mg/mouse were superior to CCL.