

## Chloramphenicol-glycinate に関する生物学的研究 第 II 報

代謝, 吸収, 排泄について

星野保夫・辻野正俊

長谷川大郎・早野和夫

東洋醸造株式会社研究部(部長:阿部仁之助博士)

(昭和 43 年 9 月 5 日受付)

## はじめに

1956 年以来 CONCILIO<sup>1,2)</sup>により研究された水溶性の chloramphenicol-glycinate (CP-G と略す)は、彼らが合成した多くの chloramphenicol ester の中、もつとも容易に chloramphenicol (CP) を遊離して抗菌力を表わすものとして注目された。わが国においても星野<sup>3)</sup>により、CP-G の抗菌力は CP に劣らないことが確認されているので、その抗菌力の裏付けとなるエステル分解, 吸収, 排泄について試験したので報告する。

*In vitro* における CP-G 分解試験

種々の条件の水溶液中および生体材料と接触した場合における CP-G の分解について検討した。

対照薬剤として、市販の chloramphenicol succinate (CP-S と略す)を用いた。

## (1) 実験方法

a) 種々の pH の水溶液中における CP-G の分解試験

一定時間後の分解状態を chromatography によつて検討し、さらにエステル定量法による時間的な変化を追求した。

Chromatography による検討に際しては、1/10 N-塩酸、1/15 M リン酸緩衝液、1/10 N カセイソーダを用いて pH 1.0, 2.0, 3.0, 4.5, 6.5, 8.0, 10.0 および 12.0 の各溶液を調製し、これに CP-G を 100 mg/ml の割にとかして室温 (20°C) 10 分間反応させ、反応液について酢酸:水:n-butanol (1:1:3) を展開溶媒として、薄層クロマトグラフィーでは約 20°C, 90 分間、沓紙クロマトグラフィーでは、20°C, 17 時間展開した。展開後それぞれ、ニンヒドリンによる発色、紫外線照射による蛍光検出、および星野<sup>3)</sup>の方法に準じ bioautography を用いた生物検定を併用してスポットの確認を行なった。

エステル定量法による時間的な変化の検討に際しては、hydroxamic acid-Fe<sup>3+</sup> による発色法 (Feigl の反応) によつてエステルの定量を行ない、pH 5 (蒸留水), pH 7.2 (リン酸緩衝液), pH 10.0 (炭酸ソーダ・重炭酸ソー

ダ緩衝液) において 120 分までの変化をしらべた。

b) 生体材料との接触による CP-G の分解試験

ラットの肝臓、肺臓の湿重量の 2 倍の生理食塩水でホモジナイズしたものを用い、血液および血清も倍量の生理食塩水を添加したものに CP-G を最終濃度 150 mcg/ml となるように調整して、pH 6.0 で 180 分まで incubate を行なつた。

ウサギの血清による分解については pH 7.2 で 120 分まで incubation を行なつた。

## (2) 実験成績

a) 種々の pH の水溶液中における CP-G 分解試験

CP-G の各 pH におけるエステル分解の状態を薄層クロマトグラフィーおよび沓紙クロマトグラフィーでしらべた結果を図 1 に示した。すなわち、pH 5.0 以上では、CP-G は CP および glycine に分解し、アルカリ性になるにしたがつて分解の程度が大である。

エステル定量法によつてしらべた経時変化は図 2 のようであつた。これを図 3 の CP-S の分解とくらべると、pH 7.2 においては CP-G のほうが CP-S よりも分解の程度が大である。

b) 生体材料との接触による CP-G の分解試験

ラットの血液、臓器ホモジネートと CP-G とを接触

図 1 CP-G の分解試験

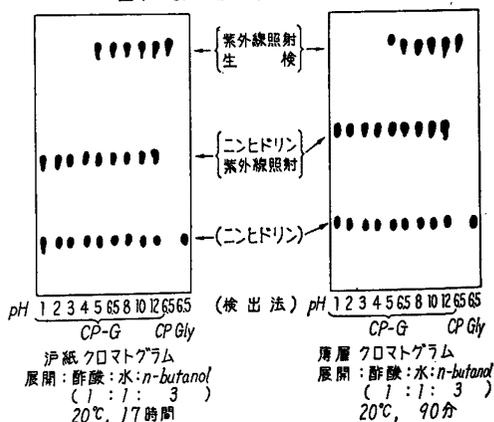
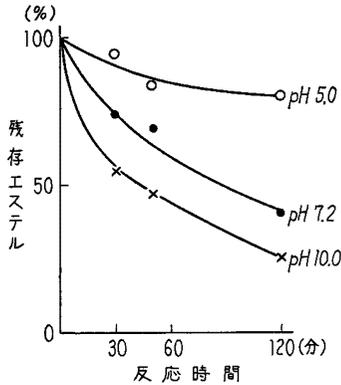
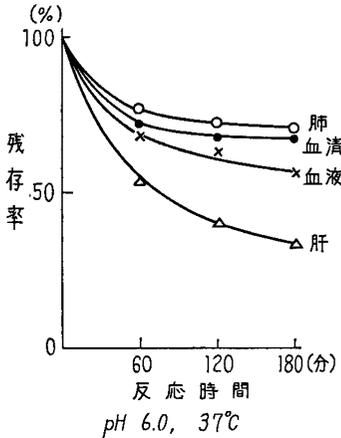


図2 CP-Gの分解



エステル定量法: hydroxamic acid-Fe<sup>III</sup>

図4 生体材料との接触によるCP-Gの分解 (ラット)



pH 6.0, 37°C

させた場合の、CP-Gの分解状態を図4に示す。また、ウサギ血清による分解は図5のようであり、図2、図3と比較するとCP-G、CP-Sともに血清による分解促進はみられなかった。

(3) 小括

pH 5.0以上の水溶液中でCP-Gは遊離CPとglycineに分解し、アルカリ性になるにしたがつて分解の程度が大である。生体材料との接触については、肝臓ホモジネートとの接触により、CP-Gの分解促進が考えられる他は促進がみられなかった。

CP-Gのエステル分解はpH 7.2においてCP-Sのそれよりも大であった。

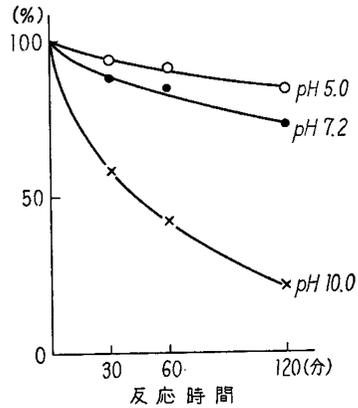
CP-Gの吸収、排泄試験

動物の感染実験によつてCP-Gの効果が認められたので、その裏付けとして、血中濃度、臓器内分布、尿中排泄を試験した。

(1) 実験方法

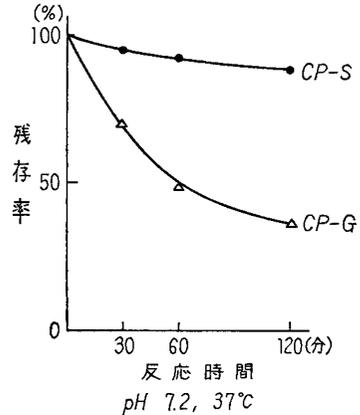
a) 血中濃度

図3 CP-Sの分解



エステル定量法: hydroxamic acid-Fe<sup>III</sup>

図5 ウサギ血清との接触によるCP-GおよびCP-Sの分解



pH 7.2, 37°C

ウサギによる実験: 体重 2~3 kg の雄性家兎を用い、静脈注射および筋肉内注射によりCP-Gの血中濃度をしらべた。CP-Gは生理食塩水に溶解し、CPはdimethylsulfoxide(DMSO)に溶解後、生理食塩水で希釈して終末濃度0.05%にしたものを用いた。投与方法は、静脈注射は耳静脈より行ない、筋肉内注射は背最長筋より行なつた。

ラットによる実験: Wistar-Imamichi系ラット雄の6~8週齢のものを用い、静脈注射は指間静脈より行ない、筋肉内注射は腎筋内に行なつた。他はウサギと同様に行なつた。

マウスによる実験: ウサギと同様に行ない、尾静脈より静脈注射した。

b) 臓器内濃度

ラットによる実験: 血中濃度測定のものと同じ動物を用い、筋肉内注射について臓器内濃度を試験した。試料の調製は血中濃度の場合と同様に行なつた。

マウスによる実験: ddY系マウスを用い、尾静脈よ

図6 ウサギ静脈注射におけるCP-Gの血中濃度

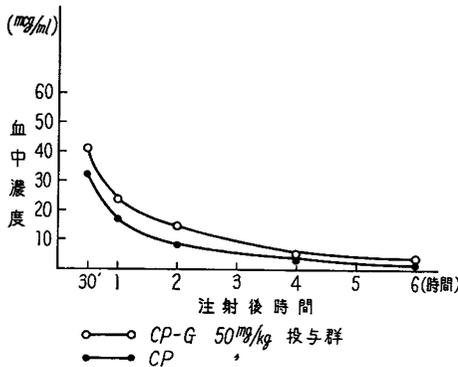


図8 ラット静脈注射におけるCP-Gの血中濃度

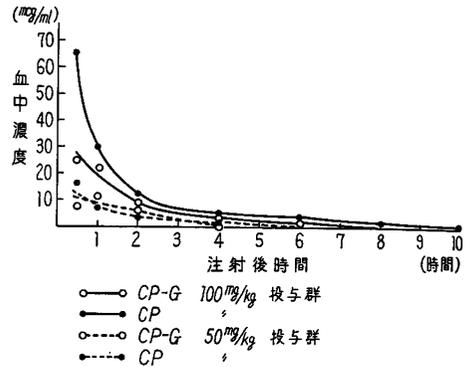


図7 ウサギ筋肉内注射におけるCP-Gの血中濃度

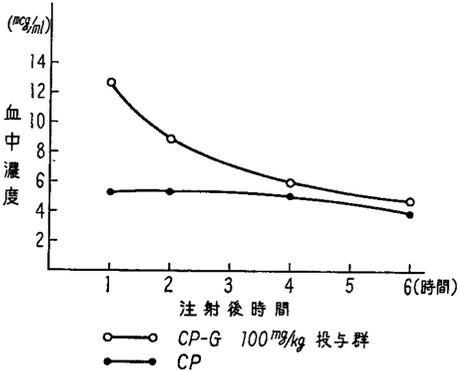
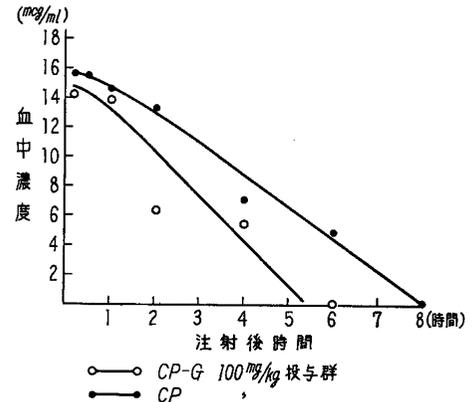


図9 ラット筋肉内注射におけるCP-Gの血中濃度



り CP-G を注射した。

c) 尿中排泄量

尿中排泄試験は、臓器内濃度と同時に同じ動物で行なつた。採尿は膀胱中の宿尿を採取した。

d) 力価検定

力価検定は星野ら<sup>9)</sup>の方法にしたがい、*E. coli* NIHJ を試験菌として行ない、臓器内濃度測定にあつては、各臓器をその湿重量と同量の生理食塩水でホモジナイズし検定に供した。

(2) 実験成績

a) 血中濃度

ウサギによる実験：静脈注射については、図6のように CP-G のほうが CP よりやや高値を示し、筋肉内注射については、図7のように1~2時間では CP-G のほうが高値を示したが、4時間以後ではほぼ同じ値を示した。

ラットによる実験：静脈注射については、図8のように CP-G は 30 分値において CP より低い値を示したが、それ以後は両者ほぼ同じ値を保持した。筋肉内注射では、図9のように CP-G のほうがやや低い、ほと

んど同じと考えられる値を示した。

マウスによる実験：静脈注射では、表1のように CP-G のほうが CP よりやや高い値を示した。

b) 臓器内濃度

ラット筋肉内注射の結果を表2に示す。また、マウス静脈注射の結果を表1に示す。

c) 尿中排泄

マウスに静脈注射、ラットに筋肉内注射して後、各時点における尿中排泄量を表3に示す。

表4は、採尿ケージで飼育したラットに、50 mg/kg の CP-G および CP を投与した場合、投与後 12 時間の宿尿について、投与量に対する排泄量の比率を表わしたものである。

(3) 小 括

CP-G をウサギの静脈内あるいは筋肉内へ注射した場合、およびマウスの静脈内に注射した場合、その血中濃度は、同条件で投与した CP とほぼ同値か、あるいはより高値を示した。しかしラットに投与した場合は、CP-G の血中濃度は CP よりやや低値であつた。

臓器内濃度は、静脈注射、筋肉内注射ともかなりの

表 1 マウス静脈注射における CP-G の血中ならびに臓器内濃度 (mcg/mg)

		30 分		1 時間		3 時間		5 時間	
		CP-G	CP	CP-G	CP	CP-G	CP	CP-G	CP
心	臓	94.0	60.0	58.0	50.0	48.0	40.1	16.6	9.2
肺	臓	80.0	140.0	48.0	49.0	37.0	42.0	15.6	9.2
	胃	66.0	57.0	42.4	50.0	24.0	16.6	—	12.2
胃	内 容	19.4	37.0	15.0	20.0	11.4	12.0	9.0	11.0
小	腸	62.0	78.0	88.0	148.0	59.0	58.0	23.0	13.6
小	腸 内 容	33.0	19.4	46.0	72.0	47.0	14.0	21.0	15.6
大	腸	19.0	40.0	40.2	48.0	22.0	40.0	—	10.0
肝	臓	51.0	128.0	84.0	49.0	13.6	32.0	10.8	—
脾	臓	84.0	90.0	72.0	53.0	32.0	20.1	14.6	—
腎	臓	82.0	90.0	84.0	90.0	50.0	40.0	18.6	—
血	液*	79.0	73.0	53.0	35.0	25.5	18.5	0.5	15.5

CP-G 投与量: 50 mg/kg CP 投与量: 50 mg/kg \* (mcg/ml)

表 2 ラット筋肉内注射における CP-G の臓器内濃度 (mcg/mg)

		30 分		1 時間		3 時間		5 時間	
		CP-G	CP	CP-G	CP	CP-G	CP	CP-G	CP
心	臓	31.0	33.9	28.8	33.7	—	—	—	—
肺	臓	36.4	37.4	33.2	34.6	—	—	—	—
	胃	30.4	37.6	37.7	33.7	—	2.0	—	—
胃	内 容	49.4	45.6	40.0	30.6	36.4	63.8	46.2	32.0
小	腸	45.8	39.0	49.2	48.8	25.2	42.2	60.2	20.0
小	腸 内 容	39.2	58.6	61.2	55.0	36.2	64.1	83.0	11.2
大	腸	28.3	45.2	42.0	40.0	36.2	28.2	66.0	—
大	腸 内 容	—	18.9	45.8	27.2	20.8	27.6	46.0	—
肝	臓	33.6	—	—	—	—	—	—	—
脾	臓	36.0	70.0	37.6	25.6	—	—	—	—
腎	臓	34.4	48.8	44.0	23.8	—	—	—	—
筋	肉	22.2	66.1	31.8	28.5	—	3.2	—	—

CP-G 投与量: 50 mg/kg CP 投与量: 50 mg/kg

表 3 CP-G の尿中排泄量 (mcg/ml)

	30 分		1 時間		3 時間		5 時間	
	CP-G	CP	CP-G	CP	CP-G	CP	CP-G	CP
マウス静脈注射	550	160	380	125	190	176	250	150
ラット筋肉内注射	30	29	32	27	16	40	—	—

CP-G 投与量: 50 mg/kg CP 投与量: 50 mg/kg

値を示し、とくに消化管に比較的多くのクロラムフェニコールが認められた。

CP-G の尿中排泄は静脈注射においても、筋肉内注射においても CP の場合より大きい傾向にある。しかし 12 時間後においては、両者の差はほとんどなく、投与量の 75% 前後排泄されている。残り 25% は acetylation 等

の代謝をうけるか、あるいは胆汁を経て消化管に放出されている可能性が考えられる。

#### 考 察

*In vitro* における CP-G の分解状態については、chromatography およびエステル定量法によつて検索し、そのエステル分解が、CONCILIO からのべているよ

表 4 CP-G の尿中排泄率

	CP-G	CP
ラット静脈注射	76.4%	74.0%

$$\text{排泄率} = \frac{\text{排泄量}}{\text{投与量}} \times 100$$

排泄量：投与後 12 時間の宿尿中の総量  
薬物投与量：50 mg/kg

うに CP-S よりもよいことを認めたが、エステル分解後 CP そのものの代謝、例えば acetylation などについては今後の検索にまたねばならない。

次に CONCILIO ら<sup>2)</sup>は、生体内でおそらくエステラーゼが働いて CP-G の分解を促進すると推定しているが、水溶液における分解がかなりあるので、われわれの成績からは、とくに生体内で分解が促進されるのではなくて、大部分が生体の pH の影響によつて分解したと考えられる。ただしラット肝臓ホモジネートの実験においては、なにかの原因により分解が促進されると推察されるが、これが肝エステラーゼによるかどうかは今後の検討にまたねばならない。

CP-G の血中濃度については、ウサギ筋肉内注射の場合 CP よりもすぐれているが、これは水溶性の差か、あ

るいはそれにもとづく組織内透過性の差異によるものと推測される。

ラット静脈注射において、100 mg/kg 投与の場合、CP のほうが血中濃度が高くでているのは、CP-G のラット体内における分解速度の問題であると推測される。

#### 総 括

(1) Chloramphenicol-glycinate のエステル分解は、アルカリ性になるにしたがつて速やかに行なわれ、生体内では肝臓において分解の促進が考えられる他は、特に分解の促進はみられない。

(2) 吸収、排泄はかなり良好であり、chloramphenicol に匹敵する。

#### 文 献

- 1) CONCILIO, C. *et al.*: Su un nuovo idrosolubile del cloramfenicolo. *II Farmaco.*, Ed. sci. 11: 10, 1956
- 2) CONCILIO, C. *et al.*: Prime ricerche chimiche e farmacologiche sul glicinato di cloramfenicolo, nuovo estere idrosolubile dell'antibiotico. *Giorn. Malat. Infett. e Parassit.* 10(9): 845, 1958
- 3) 星野保夫, 他: *Chemotherapy* 17(8): 1583~1587, 1969

## BIOLOGICAL STUDIES ON CHLORAMPHENICOL-GLYCINATE. II ON THE HYDROLYSIS *IN VITRO*, ORGAN DISTRIBUTION AND URINE EXCRETION

YASUO HOSHINO, MASATOSHI TSUJINO,  
DAISHIRO HASEGAWA and KAZUO HAYANO

Research Laboratories, Toyo Jozo Co., Ltd. (Director: Dr. JINNO SUKE ABE)

Antibacterial activity of chloramphenicol-glycinate (CP-G) is due to that of chloramphenicol (CP) liberated from CP-G by hydrolysis of ester-bond.

The rate of this hydrolysis corresponds to pH value of solution. Contacted with whole blood, serum, or kidney homogenate, the hydrolysis was not accelerated, on the other hand, liver seems to have a little effect.

Blood level, organ distribution, urine excretion of CP-G are reasonable value as well as those of CP.