

Nafcillin の 体 液 濃 度 測 定 法 の 検 討

清 水 喜 八 郎 ・ 国 井 乙 彦

東京大学医学部第一内科

合成ペニシリン Nafcillin の 体 液 濃 度 測 定 法 に つ い て、検 討 を お こ 不 い、若 干 の 知 見 を 得 た の で、そ の 成 績 を 報 告 す る。

A) 測 定 条 件 の 検 討

1) 検 定 菌

体 液 濃 度 測 定 に 用 い ら れ る 各 種 検 定 菌 に つ い て の MIC は 表 1 の ご と く で あ り、*Streptococcus hemolyticus*, *Sarcina lutea* が 感 度 で は す ぐ れ て お り、*B. subtilis*, *Staphylococcus aureus* の MIC は や や わ る い の で、低 濃 度 の 測 定 に は 不 適 な こ と も あ る。

表 1 Nafcillin 検 定 菌 の MIC

Test organisms	MIC (mcg/ml)
<i>Strept. hemolyticus</i> S-8	0.05
<i>Strept. hemolyticus</i> Cook	0.05
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.4
<i>B. subtilis</i> PCI 219	0.4
<i>Staph. aureus</i> 209 P	0.2
<i>Sarcina lutea</i> PCI 1001	0.025>

ま た 本 剤 は、生 体 内 で 代 謝 を う け る が、活 性 型 の 代 謝 物 は 認 め ら れ 不 い の で、検 定 菌 の 種 類 に よ る 差 が 測 定 値 上 に で て く る こ と は 考 え ら れ 不 い。

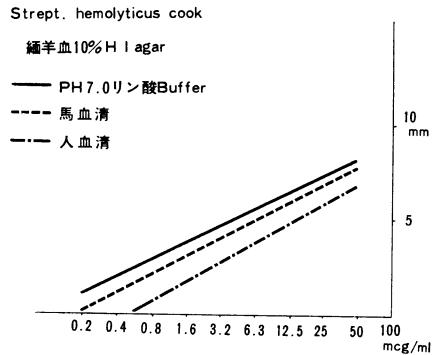
2) 標 準 曲 線 の 作 成 お よ び 培 地

図 1 は *Strept. hemolyticus* Cook 株 を 用 い た 重 層 法 の 標 準 曲 線 で あ る。接 種 菌 量 は 18 時 間 血 液 加 BHI Broth 培 養 菌 液 を 0.05% 培 地 に 添 加、測 定 用 培 地 へ は、綿 羊 血 を 10% に 加 え た。

標 準 溶 液 と し て、pH 7.0 リン 酸 Buffer 稀 釈、馬 血 清 稀 釈、人 血 清 稀 釈 を 作 成 し、そ の 各 々 の 標 準 曲 線 を 作 成 し た。

馬 血 清 を 用 い た 場 合 と 人 血 清 を 用 い た 場 合 で は、阻 止 帯 長 に 差 を 認 め た。こ の こ と は 血 清 の 種 類 に よ り、本 剤 と 蛋 白 結 合 に 差 の あ る こ と が 考 え ら れ る の で、人 の 血 中 濃 度 測 定 の た め に は、人 血 清 を 使 用 し な く て は な ら 不 い。本 剤 は 血 清 蛋 白 と の 結 合 が 強 い の で 人 血 清 希 釈 標 準 曲 線 と、Buffer 稀 釈 標 準 曲 線 と の 間 に か な り の 差 が 認 め ら れ る の で、い づ れ の 標 準 曲 線 を 用 い た か に よ っ て か な り 測

図 1 Nafcillin 標 準 曲 線 (重 層 法)



定 値 に 差 が で て く る こ と が し ら れ た。

図 2 は *Staphylococcus aureus* 209 P を 用 い 18 時 間 BHI Broth 培 養 菌 液 を 1% に 添 加 せ る カ ッ プ 法 の 標 準 曲 線 で、図 3 は *B. subtilis* PCI 219 を 用 い、芽 孢 浮 遊 液 を  $10^5$ /ml

図 2 Nafcillin 標 準 曲 線 (カ ッ プ 法)

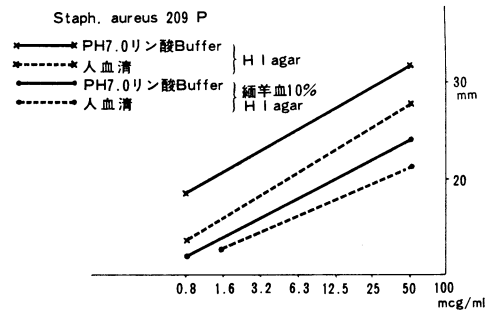
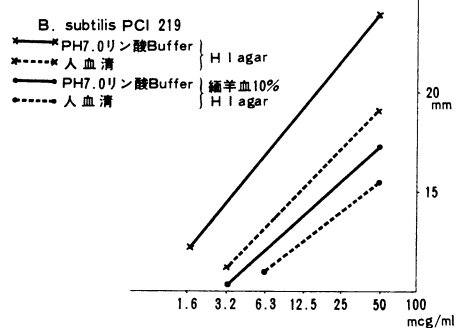


図 3 Nafcillin 標 準 曲 線 (カ ッ プ 法)



に接種せるカップ法の標準曲線で、培地が HI 寒天の場合と、綿羊血を10%に同じ培地に加えた場合について、各々人血清および pH 7.0リン酸 Buffer 稀釈の標準溶液による本剤の標準曲線を示している。

この図からわかることは、綿羊血10%加培地における血清稀釈の標準曲線と Buffer 稀釈の標準曲線の差が、血液不加培地における両者の差より小さいことである。

つまり、測定材料としての血清の阻止円と、Buffer 稀釈の標準曲線の差によって、培地内の血液の存在有無が、測定値上に影響のでてくることが考えられ、本剤のごとく、蛋白結合の強いものでは培地内の血液が、測定値に影響を及ぼすことがわかった。特に低濃度でその影響が大きいことが考えられる。その成績は、表2のごとくであり、血液の加わらない培地を用いた場合には低い値がでる傾向がみられた。血液の種類によつて差があるかもしれないが、今回は綿羊血についてのみしか検討していない。

表2 測定法による測定値の変動

測定法	測定値 (mcg/ml)
重層法 ( <i>Strept. hemolyticus</i> Cook)	3.7
カップ法 ( <i>Strept. hemolyticus</i> Cook)	2.3
カップ法 ( <i>Staph. aureus</i> 209P)	0.8
カップ法 血液加 ( <i>Staph. aureus</i> 209P)	3.4
カップ法 ( <i>Sarcina lutea</i> )	1.3

### B) 吸収, 排泄, 体内分布

同一人に NF-PC 500 mg, 1000 mg 経口投与しその

表3 500 mg, 1000 mg 経口投与 (cross over)

対象	投与量 (p.o.)	血中濃度 (mcg/ml)		
		1	2	4 hrs
K.	500 mg (食後)	—	0.8	0.4
	1000 mg ( / )	2.6	3.2	0.94
S.	500 mg (食後)	0.19	0.23	—
	1000 mg (食前)	6.0	2.6	0.66

表4 尿中回収率

症例	尿中回収率 (0~6 hrs)	
	投与量 500 mg	1000 mg
No. 1	7.7%	19.5%
No. 2	15.6%	20.3%

血中濃度, 尿中排泄について, *Strept. hemolyticus* Cook を用い, 前述せる重層法で測定し, pH 7.0リン酸 Buffer 稀釈標準曲線を用いた測定値を表3, 表4に示す。

500 mg 投与の成績から予測される以上の高い血中濃度が1000 mg 投与時にみられ, また尿中よりの回収率 (6時間まで) も1000 mg 投与時で高かった。

また食後投与と食前投与でもかなりの差がみられ食事の影響をうけやすいことも考えられた。

表5 Nafcillin 臓器内濃度 (経口投与時) (mcg/g)

正常

20 mg/kg	1 hr.	2 hr.	4 hr.
Liver	17.0	16.5	16.0
Kidney	1.5	—	—
Lung	—	—	—
Spleen	—	—	—
Plasma	—	—	—

正常

100 mg/kg	1 hr.	2 hr.	4 hr.
Liver	95	85	85
Kidney	25	1.5	1.3
Lung	tr.	tr.	—
Spleen	—	—	—
Plasma	0.4	0.1	tr.

CCl<sub>4</sub> 投与

100 mg/kg	1 hr.	2 hr.	4 hr.
Liver	67	41.5	43.5
Kidney	5.4	10.2	2.5
Lung	9.7	0.3	0.8
Spleen	—	—	—
Plasma	1.1	1.2	tr.

以上投与量により、血中濃度、尿中濃度にかなりの差のあることは、本剤の体内分布との関係が考えられる。

表5は、正常ラットに20 mg/kg, 100 mg/kg 本剤を経口投与し、1群3匹づつとし、投与後1時間、2時間、4時間後に致死せしめ、肝、腎、肺、脾、血清をとりだし、pH 7.0 リン酸 Buffer で5倍量にした各々のエマルジョンを4時間氷室放置後、遠心、その上清を前述と同じ重層法にて測定した成績である。

表5の一番下はNF-PC投与24時間前にCCl<sub>4</sub> 0.1ml/100 g 投与しておき、100 mg/kg を以後同様に投与、同様の操作を行ない、病理学的に肝障害を認めたものの成績である。この成績をみても、NF-PCを20 mg/kg 経口投与時は、肝のみに測定可能、腎にわずかに認められる程度であった。

100 mg/kg 投与すると、腎および血清で本剤が測定可能となってくる。

CCl<sub>4</sub> 障害の場合は、肝の濃度は、正常肝の濃度にしてやや低い傾向がみられるが、腎の1時間値、2時間値、肺の1時間値、2時間値、4時間値、血清の1時間値、2時間値においては、明らかに上昇していた。

このことは、肝への取込量との関係を示していることも考えられる。したがって人の場合に1000 mg 投与は肝への取込量以上の量であり、したがって、肝の処理能との関係において、血中、尿中への移行が増えたと考えるべきであろう。

## 総 括

1) Nafcillin の体液濃度測定条件を検討した結果、本剤の生体内代謝の面から考えて、検定菌による差は認められない。

2) 本剤の測定上、問題となってくることは、蛋白結合が強いことであり、標準曲線作成上リン酸 Buffer か、血清かを用いることにより、測定値に大きな差がでる。

3) 血清は種差により、本剤の蛋白結合率が異なるため、必ず人血清を用いなければならない。

4) 測定に用いる培地内の血液の有無が測定値に影響を及ぼす。特に血中濃度のごとき低濃度でその影響が大きい。

5) 本剤は500 mg 経口投与の場合と1000 mg 経口投与の場合で、血中濃度、尿中濃度にかかなりの差が認められ、これは本剤の肝親和性および、肝処理能との相関性が考えられる。

6) 四塩化炭素障害肝ラットと正常肝ラットの場合では、本剤の体内分布は若干異なり、臓器内濃度は、前者では後者に比べ、肝で低く、肺、腎および血中濃度が高くなることが認められた。

## 文 献

- 1) WALKENSTEIN, S; R. WISER, E. LEBOUTILLIER, C. GUDMUNDSEN & H. KIMMEL: Absorption, metabolism, and excretion of the semisynthetic penicillin, 6-(2-ethoxy-1-naphthamido) penicillanic acid (Nafcillin). J. Pharm. Sci. 52: 763~767, 1963

## STUDIES ON DETERMINING HUMORAL LEVELS OF NAFICILLIN

KIHACHIRO SHIMIZU and OTOHIKO KUNII

The First Department of Internal Medicine, School of Medicine, University of Tokyo

Studies to determine optimum techniques for assaying humoral levels of Nafcillin has undertaken and the following points are elucidated.

1. Indicator organisms are not influential factor for assay.
2. Strong protein binding properties of Nafcillin should be taken into account in biological assay. The assay value differs to a great extent, depending upon diluents (*e.g.* phosphate buffer or serum) used for the standard curve.
3. It is advisable to use human serum for determination of human humoral level, since protein binding rate of Nafcillin varies among serum of animals.
4. Presence of blood in the medium affects the assay, particularly in the case of determination of blood level being low concentration.
5. Considerable difference in blood and urine level is found between oral administration of 500 mg and 1000 mg. The finding may be explained by the correlation of hepatic affinity of Nafcillin and capacity of liver to metabolize.
6. Distribution pattern of Nafcillin in organs of rats, being pretreated with CCl<sub>4</sub> somewhat differs from normal rats. Hepatic level of the former is lower than that of the latter, while levels in lung, kidney and blood being higher in the former.