

## Cephacetrile に関する研究

真下啓明・深谷一太・国井乙彦・鈴木 誠

東京大学医科学研究所内科

## まえがき

Cephacetrile (CEC) は 7-aminocephalosporanic acid を母核としてつくられた cephalosporin 誘導体の 1 つとして、CIBA-GEIGY 社により開発された抗生物質であり、従来のものに比し、ある種のグラム陰性桿菌に対する抗菌力がすぐれていること、腎毒性が低く Cephalothin (CET) と匹敵する程度であることなどが報ぜられている。また二重盲検試験にて本物質は CET, Cephaloridine (CER) と効果、副作用も同等であることが知られた<sup>1)</sup>。本物質は 3 位にアセチル基がエステル結合しており、CET, Cephapirin (CEP) などと同様に体内にて加水分解をうけてエステル結合が切れ、desacetyl 型を生じ、さらにラク톤の形成がみられる。また本物質を  $\beta$ -lactamase 産生能を有する菌と混合しておく、赤色に着色し<sup>2)</sup>、患者尿の放置にさいしても赤変することが知られている。今回主として代謝にかんする検討成績を報告する。

## 方 法

## 1) 静注時の臓器内濃度

本物質を 0.2ml 中に 200mg/kg となるごとく含む溶液を蒸溜水にて作製し、ddD マウス 4 週雄の尾静脈より注射し、1 群 3 匹宛を 15 分、30 分、1 時間後に屠殺して臓器をとり出し、pH7.0 磷酸緩衝液にて 5 倍希釈ホモジナイズし、遠沈上清をとり検体とした。Bioassay は枯草菌 ATCC 6633, HI 寒天 (栄研) を用いる薄層カップ法にて行い、標準液は pH7.0 磷酸緩衝液希釈にて作製した。

## 2) 臓器ホモジネートによる不活化実験

ラットの各臓器をとり出し、pH7.0 磷酸緩衝液で 5 倍希釈してホモジナイズを行い保存しておき、用時融解して使用した。CEC は 200 $\mu$ g/ml のものを pH7.0 磷酸緩衝液で作製し、両者を 0.2ml 宛混合して 37°C 水浴中に置き、経時的にとり出して沸騰水浴中に 2 分間入れて反応を止め、遠沈上清を Merck No. 5715 薄層平板上にスポットした。展開溶媒系は醋酸エチル-醋酸-水 = 8:1:1 のものを用い、CEP では醋酸エチル-アセトン-醋酸-水 = 8:6:2:3 のものを用い、3 剤について

の比較を、同一動物のホモジネートを用いて行った。

## 3) Cephalosporinase 添加時の CEC 溶液の色調の変化

CEC の 800  $\mu$ g/ml 溶液 1.5ml, pH7.5 Tris-HCl buffer 3.0ml, H<sub>2</sub>O 0.9ml を混和し、武田薬品研究所提供の *Enterobacter cloacae* 由来の cephalosporinase (1ml に 133 U. を含有, 1 U. は 1 時間に 1  $\mu$ mol の CEC を不活化する) 0.6ml を加え、大気中に置いたもの、直ちに嫌気性培養基中に入れ、空気を置換し N<sub>2</sub> ガスを注入したもの、CEC のみの対照の 3 者をつくり、37°C のふらん器に置き、着色の変化を光電比色計 (波長 530 m $\mu$ ) により測定した。

## 4) ヒトに投与時の尿中代謝物について

ヒト 2 例に CEC 1g 筋注後 3 時間までの尿をとり、原尿 1 $\mu$ l ずつをスポットし、また 3 例のヒトに CEC 1g を 20%ブドウ糖 20ml に溶解して静注し、2, 4 時間後に分割採尿し、それぞれ原尿 2~3 $\mu$ l をスポットし、定量的に原物質と desacetyl 体の比率を検討した。

## 成 績

## 1) 臓器内濃度

Fig. 1 に示すごとくで、静注 15 分後の濃度値は腎・血清・肺・肝の順序を示し、腸壁では測定不能であった。

## 2) 臓器ホモジネートによる不活化

ラット肝ホモジネートを用いたときの bioautogram の模式図は Fig. 2 のごとくである。CEP では異った溶媒系を用いているが便宜上 Rf 値の相当する個所に図示した。3 物質ともそれぞれ左側の Rf 値の小さいものがそれぞれの desacetyl 体であり、右側の Rf 値の大きいものが原物質の示すスポットである。本図に示されるごとく、CEC は 5 分後に僅かに desacetyl 体のスポットをみとめ、10 分後にも原物質の残存がみられ、30 分後にはじめて原物質のスポットの消失をみとめている。これに対し CET では 5 分後に既に原物質に相当するスポットを証明せず速やかな desacetyl 体への転換をみとめた。CEP ではこの両者の中間の速度で転換がみられ、5 分後には原物質の残存をみとめ、10 分後に消失していることが知られた。

ラット腎ホモジネートを用いたときの bioautogram

Fig.1 Organ levels of Cephacetrile following intravenous injection to mice in dose of 200 mg/kg

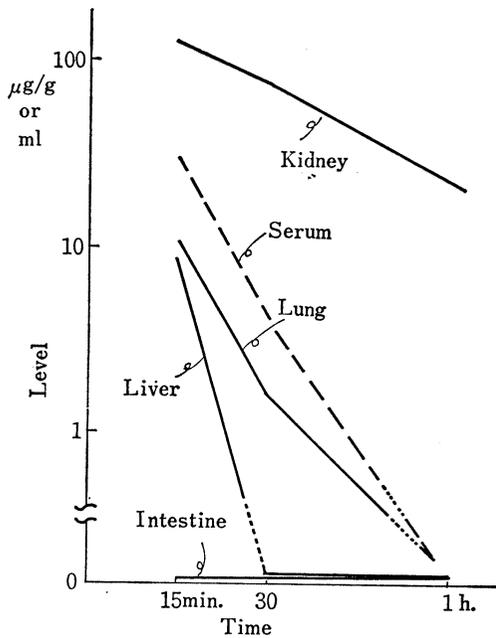
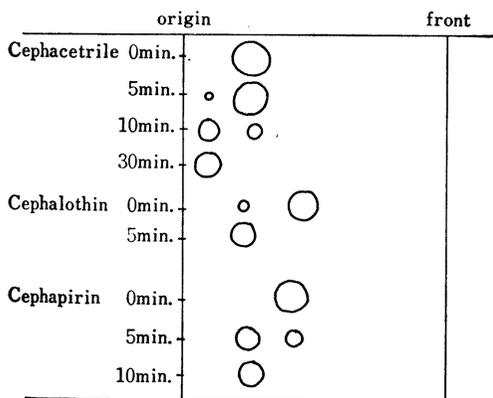


Fig.2 Bioautograms of cephalosporins in incubation with liver homogenate of rats

Solvents { Cephacetrile, Cephalothin :  
EtOAc-AcOH-H<sub>2</sub>O=8 : 1 : 1  
Cephapirin : EtOAc-Acetone-  
AcOH-H<sub>2</sub>O=8 : 6 : 2 : 3



は Fig.3 に示すごとくで、CEC では CET・CEP 両者よりやや転換がおくれ、5分後に原物質の残存をみとめたが、他の2者ではともに5分後に原物質をみとめなかった。

Fig.3 Bioautograms of cephalosporins in incubation with kidney homogenate of rats

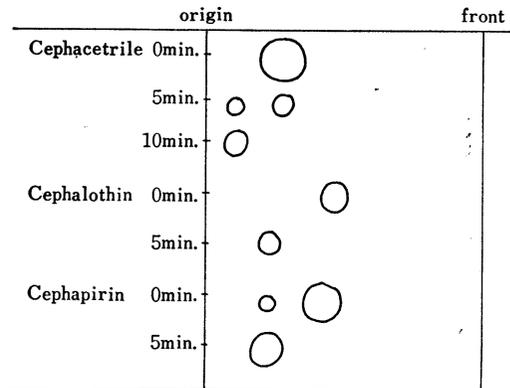
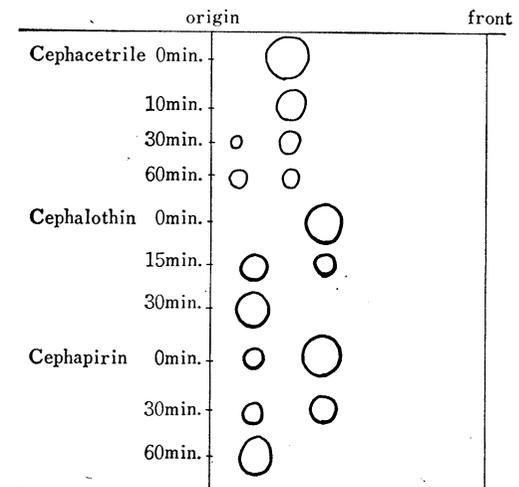


Fig.4 Bioautograms of cephalosporins in incubation with lung homogenate of rats



ラット肺ホモジネートを用いたときの bioautogram は Fig.4 のごとく、CEC は60分後にもなお原物質の残存をみとめた。CET では30分後に原物質の消失をみ、もっとも速やかであり、CEP では60分後に原物質の消失を示し中間の速さであった。

次に標準物質を同時に平板にスポットして定量的に desacetyl 体への転換を検討した成績を示す。すなわち Fig.2, 3, 4 に示したスポットの大きさの変化から、混和直後に反応を止めたときの原物質の量を100%として計算した。肝ホモジネートを用いたときの成績は Fig.5 に示されるごとくで CEC は3者中原物質の残存がもっとも長く、CEP がこれに次ぎ、CET がもっとも速や

かに消失した。

腎ホモジネートを用いたときの成績は Fig.6 のごとくで、同じく CEC は 3 者中ではもっとも残存時間が長く、CET・CEP は等しく速やかに消失した。

肺ホモジネートを用いたときの成績は Fig.7 のごとくで、反応開始当初では 3 者ともあまり差をみとめなかったが、30 分後には CEC の残存率がもっとも大きく、CEP がこれに次ぎ、CEP では速やかに原物質の消失をみた。

これらの実験において同時に desacetyl 体のスポットの大きさからその生成速度を比較検討した。Fig.2, 3, 4 から原物質の消失した時点の desacetyl 体のスポットの最大のものを 100% として計算した。原物質の減少・消失に相応して desacetyl 体の産生がみられており、以下の Fig.8, 9, 10 はほぼ Fig.5, 6, 7 を裏返した形に表現されている。しかし検定菌の感度など種々の条件によって幾分の相違を示した。肝ホモジネートを用いたときの成績を Fig.8、腎ホモジネートを用いたときの成

Fig.5 Transformation of cephalosporins by liver homogenate of rats estimated from bioautograms

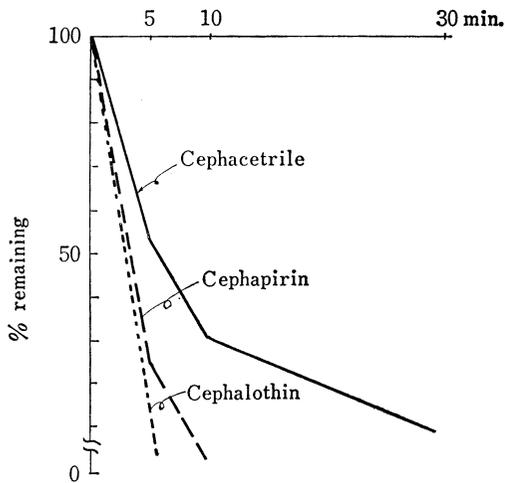


Fig.7 Transformation of cephalosporins by lung homogenate of rats

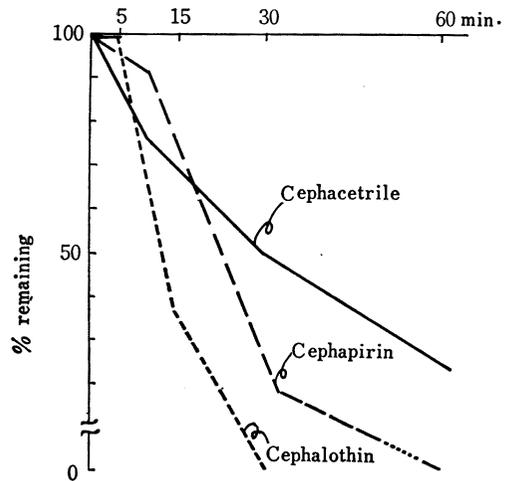


Fig.6 Transformation of cephalosporins by kidney homogenate of rats estimated from bioautograms

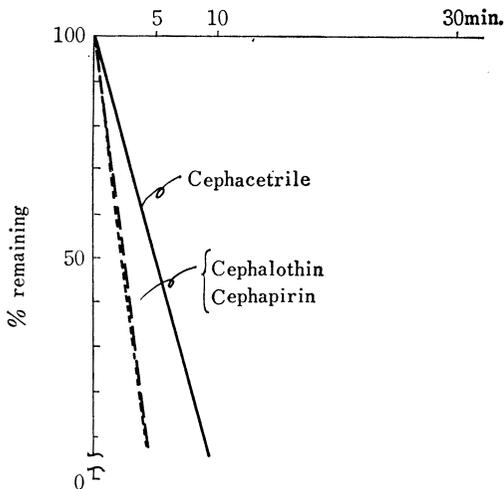


Fig.8 Production of desacetylcephalosporins by liver homogenate of rats estimated from bioautograms

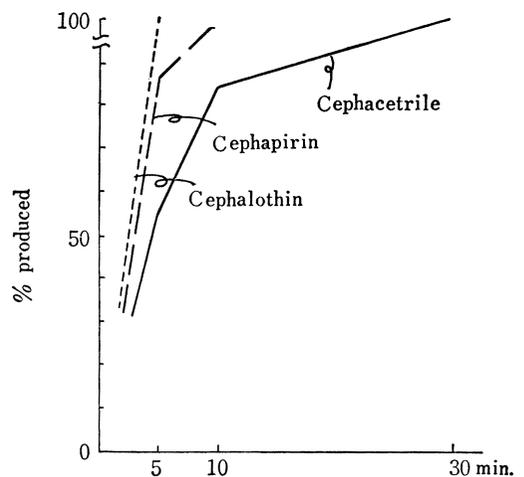


Fig. 9 Production of desacetylcephalosporins by kidney homogenate of rats estimated from bioautogram

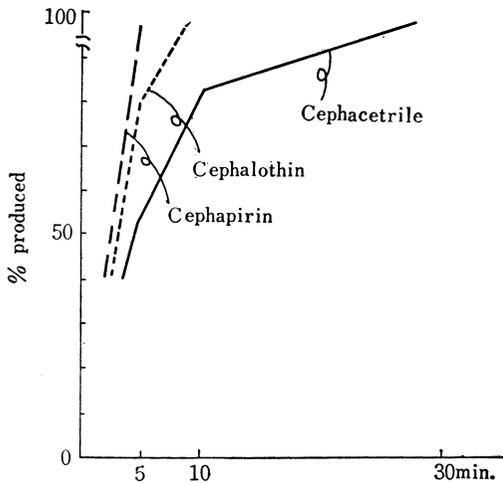
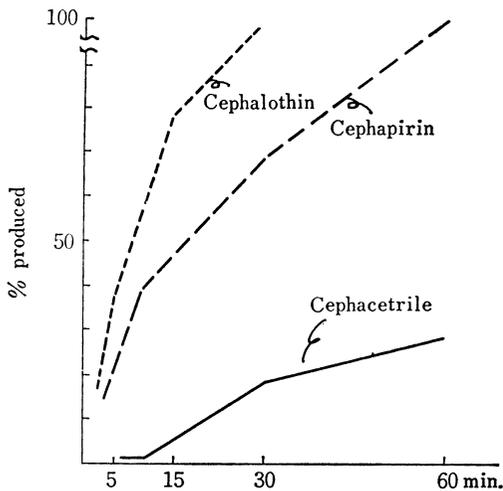


Fig. 10 Production of desacetylcephalosporins by lung homogenate of rats



績を Fig. 9, 肺ホモジネートを用いたときの成績を Fig. 10 に示す。肝と肺ホモジネートを用いたときには、CEC でもっとも desacetyl 体産生の速度がおそく、CEP がこれに次ぎ、CET でもっとも速やかな生成をみとめた。これに対し腎ホモジネートを用いたときには CEC でもっとも遅いことは同様であったが、CET が中間であり、CEP がもっとも速いという結果をえた。

ラット血清の pH7.0 磷酸緩衝液 5 倍希釈液を用いて同様の 37°C 静置実験を行ったところ、2 時間後まで原物質についてはとくにスポットの大きさから変動を計算

Fig. 11 Production of desacetylcephalosporins by serum of rats

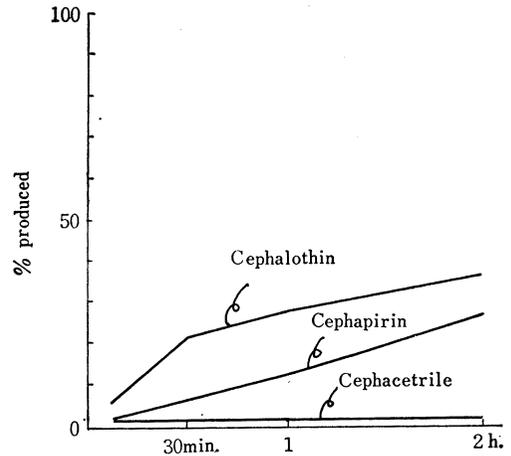
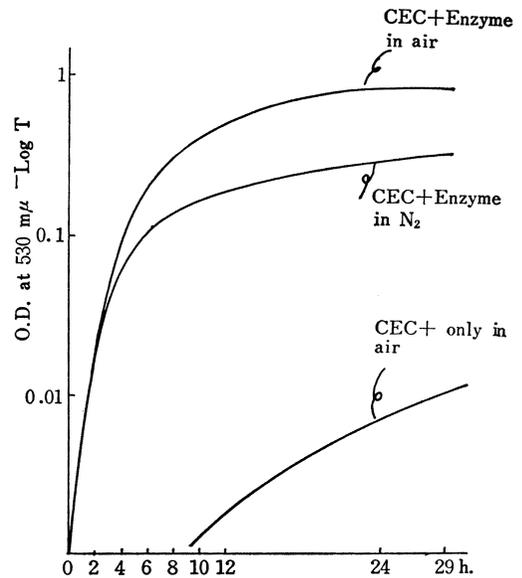


Fig. 12 Change of color in Cephacetrile solution added with cephalosporinase 37°C



することはできなかったが、desacetyl 体産生の側からみると、Fig. 11 のごとくであった。すなわち CEC では全く desacetyl 体の生成を証明しえなかったが、CEP CET では少量の生成を観察しえた。このさいは用いた原物質が全部 desacetyl 体となったとしたときの量を 100%として計算した。

3) Cephalosporinase 添加時の Cephacetrile 溶液の色調の変化

Fig. 12 に示されるごとく、CEC 溶液に  $\beta$ -lactamase

Fig. 13 Bioautogram of human urine after Cephacetrile i. m. injection

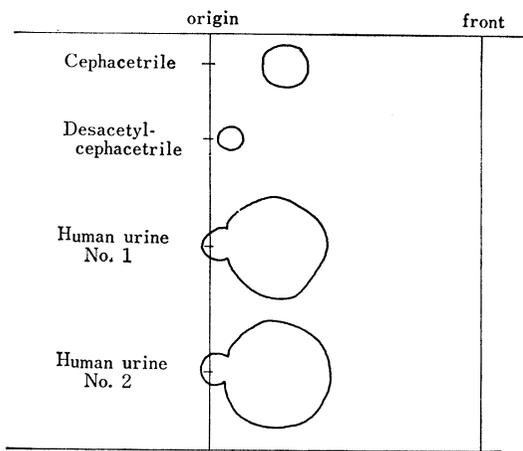
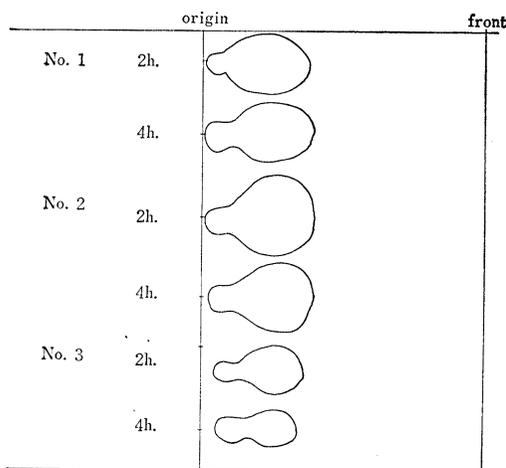


Fig. 14 Bioautogram of human urine after Cephacetrile one shot i. v. injection



を作用させ大気中においたものでもっとも速やかにかつ濃い着色の進行をみとめた。N<sub>2</sub>ガス下においたものでは幾分進行がおくれたが、なおかなりの着色をみとめた。CEC 溶液単独のものでは9時間まで着色をみず、翌朝21時間目に漸く薄く着色をみとめた。

#### 4) ヒトに投与時の尿中代謝物について

2例のヒトに CEC 1g 筋注後3時間までの尿をスポットした成績は Fig. 13 のごとくで、2例ともほとんど類似した大きさと形を呈し、原物質と desacetyl 体の比率はだいたい 2:1 であった。

また3例のヒトに CEC 1g を静注し、尿を分割採取したときの bioautogram は Fig. 14 のごとくである。

CEC と desacetyl 体との阻止円の分離能がやや不良のため、不正確をまぬがれないが、3例について両者の濃度を定量的に検討すると、No. 1 では CEC と desacetyl 体の比が2時間尿 1.8, 4時間尿 1.5, No. 2 では2時間尿 4.1, 4時間尿 1.8, No. 3 では2時間尿 1.8, 4時間尿 1.4 となった。

## 考 察

CEC について主としてその desacetyl 体への代謝にかんする検討を、動物の臓器ホモジネートを用いて行ったが、同じく共通したエステル結合を有する CET・CEP との比較において、代謝速度が3剤中ではもっとも遅いことが知られた。desacetyl 体は3剤とも原物質に比して抗菌力とくにグラム陰性桿菌に対する抗菌力が著しく低いため、体内での desacetyl 体への転換は薬効を期待するという見地からは不利であり、転換速度のもっとも遅い CEC が有利であることが考えられる。

ヒトに投与したあとの尿中代謝物の検討において、CEC では原物質の desacetyl 体に対する濃度比が2時間尿において 1.8~4.1 の範囲にあったのに対し、CET を同じ条件の下に投与し、採取した尿について検討したときの比率は 1.6~2.7 であり、CEC の方が尿中原物質の占める割合が大きい傾向をみとめた。すなわちヒトにおいてもラットと同じ傾向を有することが示唆される成績であった。

CEC 溶液と  $\beta$ -lactamase 産生菌との混合放置のさいとか CEC 投与患者尿において着色が報告されているが、これは酵素により  $\beta$ -lactam 環の開いた代謝物を生じ、これが再び重合したとき形成される物質のためであることが知られ、CGP 695 と名づけられた。私どもの実験で O<sub>2</sub> 存在下で産生速度が早まったが、N<sub>2</sub> ガス下でもかなりの産生をみとめており、生体内でも不活化酵素産生菌による尿路感染症患者において膀胱内などで生成されることを否定しえない。この物質は抗菌力を有しないとされるが、毒性の面でなお未解決の点があると考えられ検討中である。

## 結 論

新しい cephalosporin 誘導体 Cephacetrile について基礎的検討を行い、次の成績をえた。

1. マウスに静注後の臓器内濃度は15分後に腎・血清・肺・肝の順であった。
2. ラット臓器ホモジネートとの接触により CEC の desacetyl 体への転換を CET・CEP と比較したところ、CEC ではもっとも転換速度がおそかった。
3. CEC 溶液に cephalosporinase を添加すると速や

かに赤紫色に着色し、O<sub>2</sub> 遮断下ではその速度がおそく  
なった。

### 文 献

- 1) JACKSON, G. G.; L. J. RIFF, V. M. ZIMELIS,  
M. DAOOD & M. YOUSSEF: Double-blind  
comparison of Cephacetrile with Cephalothin/

Cephaloridine. *Antimicrob. Agents & Chemoth.*  
5(3): 247~254, 1974

- 2) RUSSELL, A. D.: Interaction of a new cepha-  
losporin, 7-cyanacetamidocephalosporanic acid,  
with some gram-negative and gram-positive  
 $\beta$ -lactamase-producing bacteria. *ibid.* 2(4):  
255~260, 1972

## STUDIES ON CEPHACETRILE

KEIMEI MASHIMO, KAZUFUTO FUKAYA, OTOHIKO KUNII and MAKOTO SUZUKI

Department of Internal Medicine, Institute of Medical Science, University of Tokyo

On a new cephalosporin derivative, Cephacetrile, basic studies were carried out and the following results were obtained.

1. Organ levels 15 minutes after intravenous injection of Cephacetrile to mice ranked in order of the kidneys, serum, lung and liver.
2. The conversion of Cephacetrile to desacetyl-type metabolite was compared with Cephalothin and Cephapirin under the contact with organ homogenates of rat. The speed of conversion of Cephacetrile was the slowest among them.
3. The addition of cephalosporinase to the solution of Cephacetrile accelerated the coloring of wine-red. The coloring was delayed by the prevention of oxygen supply.