

新 Cephamicin 系抗生物質 Cefoxitin の生体内分布に関する研究
 ——実験動物における Cefoxitin の体液内および臓器内濃度の検討——

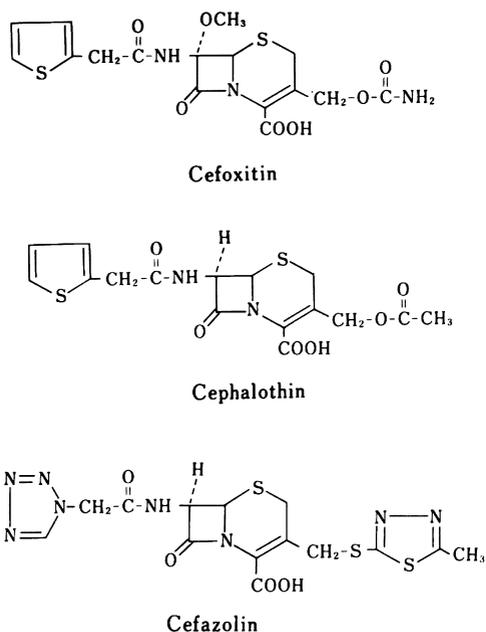
藤元輝男・池内 澄・佐藤謙一・中条正行

采 孟・長田恭明・小河秀正

第一製薬株式会社研究所

Cefoxitin は米国 Merck Sharp & Dohme Research Laboratories(MSDRL)で開発された新しい cephamycin 系抗生物質で、その化学構造は3-carbamoyloxymethyl-7 α -methoxy-7-[2-(2-thienyl) acetamido]-3-cephem-4-carboxylic acid で表わされ (Fig. 1), Cephalothin と類似の構造をもっているが、Cephalothin と異なる点は7位にmethoxy 基が導入されており、そのことによって、 β -lactamase に対する抵抗性が増し¹⁾、さらに3位を carbamate に変えたことによって一層水溶性が増したと考えられている²⁾。

Fig. 1 Chemical structure of cefoxitin, cephalothin, and cefazolin



今回われわれは、Cefoxitin の前臨床評価の一環として、マウス、ラットおよびサルを用いて、静脈内投与後の生体内分布および排泄動態を、Cephalothin および Cefazolin を対照薬として、比較検討を行なった。

I. 実験材料および方法

1. 使用動物

Std-ddY 系雄マウス、体重 20~22 g (静岡実験)、

Wistar 系雄ラット、体重 230~280 g (日本動物) および雌性カニクイザル、体重 2.0~3.5 kg を使用した。

マウスは1群5匹、ラットは1群4匹、サルは1群5匹として用い、それぞれ室温 23 \pm 1 $^{\circ}$ C、湿度 60 \pm 5% の専用飼育室でケージ内飼育した。

2. 使用薬剤

Sodium cefoxitin (以下、CFX, Lot L-620, 338-01B32, MSDRL), Sodium cephalothin (以下、CET, Lot 7KN 73A, 塩野義製薬), Sodium cefazolin (以下、CEZ, Lot ZA-1060, 藤沢薬品) を使用した。各薬剤は用時生理食塩水に溶解した。

3. 濃度測定用試料作製法

1) マウス血中および臓器内濃度用試料：各薬剤は 40 mg/kg の割合に尾静脈内投与した。投与後 5, 10, 15, 30, 60 および 120 分に各マウスをエーテル麻酔し、腋窩静脈切断により放血した。血液は直ちにペーパーディスク (東洋汙紙, "Thin", 直径 8mm) に浸漬し、後述の血中濃度用試料とした。肝、腎、肺、心、脾は、秤量後直ちに pH 6.0 のリン酸緩衝液 (PB) を 5 倍希釈になるように加えて、ガラスホモジナイザーを用いて乳剤とし、その 3,000 r. p. m. 10 分遠心分離上清を臓器内濃度用試料とした。

2) ラット体液内および臓器内濃度用試料：薬剤投与量は 20, 40 および 80 mg/kg とし、尾静脈内投与した。血液は投与後 15, 30, 60 および 120 分に、マウスと同様の方法により採取し、4 $^{\circ}$ C に 1 時間放置した後、3,000 r. p. m. 10 分遠心分離して血清を得、これを血中濃度用試料とした。各臓器試料はマウスと同様の方法で調製した。

胆汁はエーテル麻酔下で、胆管カテーテル法により投与 6 時間後まで連続採取した。尿は同じラットから膀胱カテーテル法により採取した。

3) サル血中濃度用試料：各血液試料は、各薬剤を 20, 40 および 80 mg/kg の割合に伏在静脈内に投与した後、15 分、1, 2, 4 および 6 時間後に股静脈から採取し、ラットと同様の方法で分離した血清を血中濃度用試料とした。

4. 濃度測定法

各体液および臓器内濃度はすべて薄層寒天ディスク拡

散法によって測定した。薄層寒天は *Staphylococcus aureus* MB-2786 株を試験菌とし、そのトリプトソイヨン(栄研) 37°C 1夜培養菌液をハートインフュージョン寒天(栄研)に1%の割合に混釈し、その5mlを基層としてあらかじめ無菌の同培地5mlを分注凝固しておいた内径90mmのプラスチックシャーレに分注して水平凝固したものを用いた。CETおよびCEZの場合は、*Bacillus subtilis* ATCC 6633 株の芽胞懸濁液を試験菌液(10⁸/ml)としてCFXの場合と同様の方法で寒天平板を作製した。

各体液および臓器試料は、前述のペーパーディスクに浸し、それを各寒天平板に静置して、4°C 1時間拡散後37°C 1夜培養し、得られた阻止円径から標準曲線法³⁾により濃度を算出した。標準曲線は、血清および胆汁の場合は同種体液を、尿および臓器の場合はPBをそれぞれ希釈液として作製した。希釈の必要な試料は上記PBで希釈し、PBによる標準曲線から濃度を算出した。

5. 血中半減時間の算定

各薬剤の血中半減時間は、半対数グラフ上の直線部分から、最小2乗法で算出した。

II. 実験成績

1. マウス血中および臓器内濃度

Table 1 および Fig. 2 に示すように、各薬剤の血中濃

度の高さは投与5分後で CET > CEZ > CFX の順であったが、10分以降では、CEZ > CFX > CET の順となった。その際、各薬剤の血中半減時間は CEZ および CFX がそれぞれ12分および10分で大きな差がみられないのに対し、CET は4分と算定され、前2者の2倍以上の速度で血中から消失した。

臓器内濃度は、CFX は肝において最も高濃度を示し、5分後で 224 μg/g の最高値を示したが、以後急速に減少し、60分後には完全に消失した。肝における CET および CEZ は最高値でも CFX の1/2あるいはそれ以下であり、同様に60分後には完全に消失した。一方、腎においては CFX は CET とほぼ同等の濃度であったが(189~202 μg/g)、CEZ (272 μg/g) に比べて低濃度であった。各薬剤とも、120分後までに腎から消失した。脾では CFX および CET は5分後で検出されただけで、以後は検出されなかったが、CEZ は30分後まで検出された。その他の臓器内濃度推移は各薬剤ともほぼ同程度であった。

2. ラット血中および臓器内濃度

Table 2 および Fig. 3 に各薬剤の 20, 40 および 80 mg/kg 静脈内投与後のラットの血中および臓器内濃度を示した。Table 2 から明らかなように、ラットでは各薬剤とも腎内濃度が最も高く、CFX では次いで肝、血

Table 1 Blood and visceral levels of CFX, CEZ and CET in mice given a dose of 40 mg/kg intravenously

Antibiotics	Time ^{a)}	Blood	Kidney	Liver	Lung	Spleen	Heart	Brain
CFX	5	50.2	189.0	224.0	37.2	7.3	20.4	—
	10	38.9	182.0	179.0	22.2	—	14.5	—
	15	27.9	139.0	133.0	14.0	—	10.0	—
	30	6.3	60.0	36.6	—	—	—	—
	60	1.4	23.0	—	—	—	—	—
	120	— ^{b)}	—	—	—	—	—	—
CEZ	5	65.6	272.0	61.0	31.4	11.8	30.6	—
	10	46.5	170.0	75.2	40.8	13.4	25.7	—
	15	40.1	117.0	44.7	30.0	10.0	20.0	—
	30	12.2	108.0	20.4	11.4	4.1	8.9	—
	60	2.5	49.9	—	—	—	—	—
	120	—	—	—	—	—	—	—
CET	5	75.5	202.0	71.5	42.7	7.8	28.0	—
	10	27.1	132.0	37.2	20.2	—	15.0	—
	15	15.7	25.8	3.7	10.0	—	8.0	—
	30	—	20.5	—	—	—	—	—
	60	—	14.5	—	—	—	—	—
	120	—	—	—	—	—	—	—

a) Minutes after administration

b) Not detectable

Fig. 2 Blood levels of CFX, CEZ and CET in mice given a dose of 40mg/kg intravenously

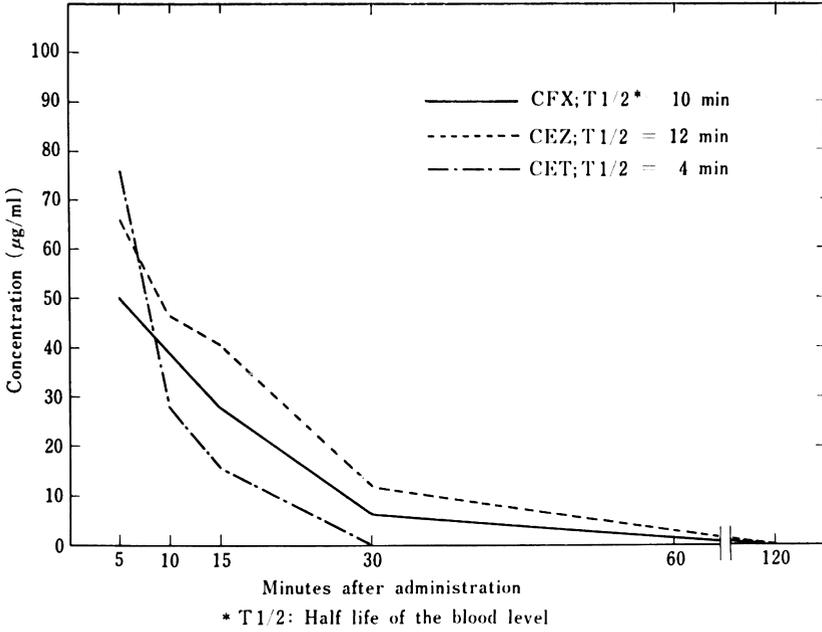


Fig. 3 Serum levels of CFX, CEZ and CET in rats given doses of 20, 40 and 80mg/kg intravenously

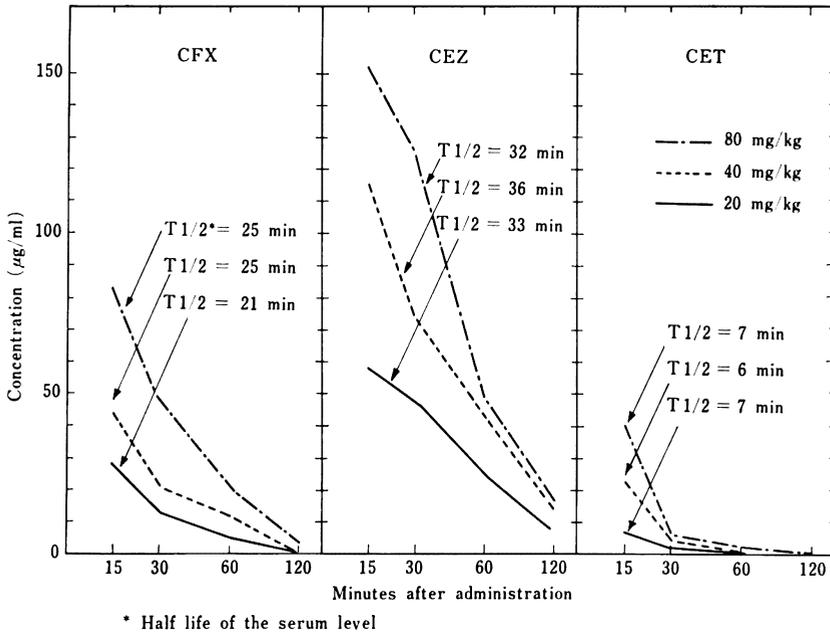


Table 2 Serum and visceral levels of CFX, CEZ and CET in rats after given doses of 20, 40 and 80 mg/kg intravenously

Doses	Antibiotics	Time ^(a)	Serum	Kidney	Liver	Lung	Spleen
20 mg/kg	CFX	15	27.9	138.0	51.7	16.2	3.3
		30	13.4	43.3	62.3	6.6	2.1
		60	5.9	13.1	14.4	3.7	—
		120	— ^{b)}	—	—	—	—
	CEZ	15	58.2	89.0	36.2	18.8	6.0
		30	47.0	66.7	17.6	16.8	6.0
		60	24.9	39.3	4.2	12.2	4.2
		120	6.6	8.1	0.9	2.7	1.0
	CET	15	6.3	6.4	1.3		
		30	1.5	1.5	—	NT ^{c)}	NT
		60	—	0.3	—		
		120	—	0.2	—		
40 mg/kg	CFX	15	44.3	192.0	86.2	19.0	4.9
		30	20.8	88.3	88.5	15.6	4.8
		60	11.6	61.5	38.0	5.3	—
		120	—	—	—	—	—
	CEZ	15	116.0	117.0	71.5	36.0	12.6
		30	74.7	98.7	28.8	33.0	10.6
		60	43.8	48.1	11.7	16.2	4.6
		120	14.3	15.5	2.3	3.5	1.3
	CET	15	23.4	22.0	2.7		
		30	4.0	4.4	0.9	NT	NT
		60	0.1	0.4	—		
		120	—	0.2	—		
80 mg/kg	CFX	15	83.7	480.0	289.0	28.0	8.6
		30	48.9	277.0	223.0	21.0	5.8
		60	21.1	61.8	132.0	4.5	—
		120	4.3	12.9	8.3	—	—
	CEZ	15	152.0	199.0	134.0	41.0	15.2
		30	126.0	108.0	81.1	36.8	11.4
		60	48.9	64.7	24.5	21.0	6.0
		120	16.5	20.5	3.2	3.4	1.3
	CET	15	40.0	59.5	9.0		
		30	5.3	30.6	1.2	NT	NT
		60	0.4	1.2	—		
		120	—	0.3	—		

a) Minutes after administration, b) Not detectable, c) Not tested

Fig. 4 Cumulative excretion of CFX, CEZ and CET in urine and bile of rats intravenously dosed with 20, 40 and 80mg/kg of drug

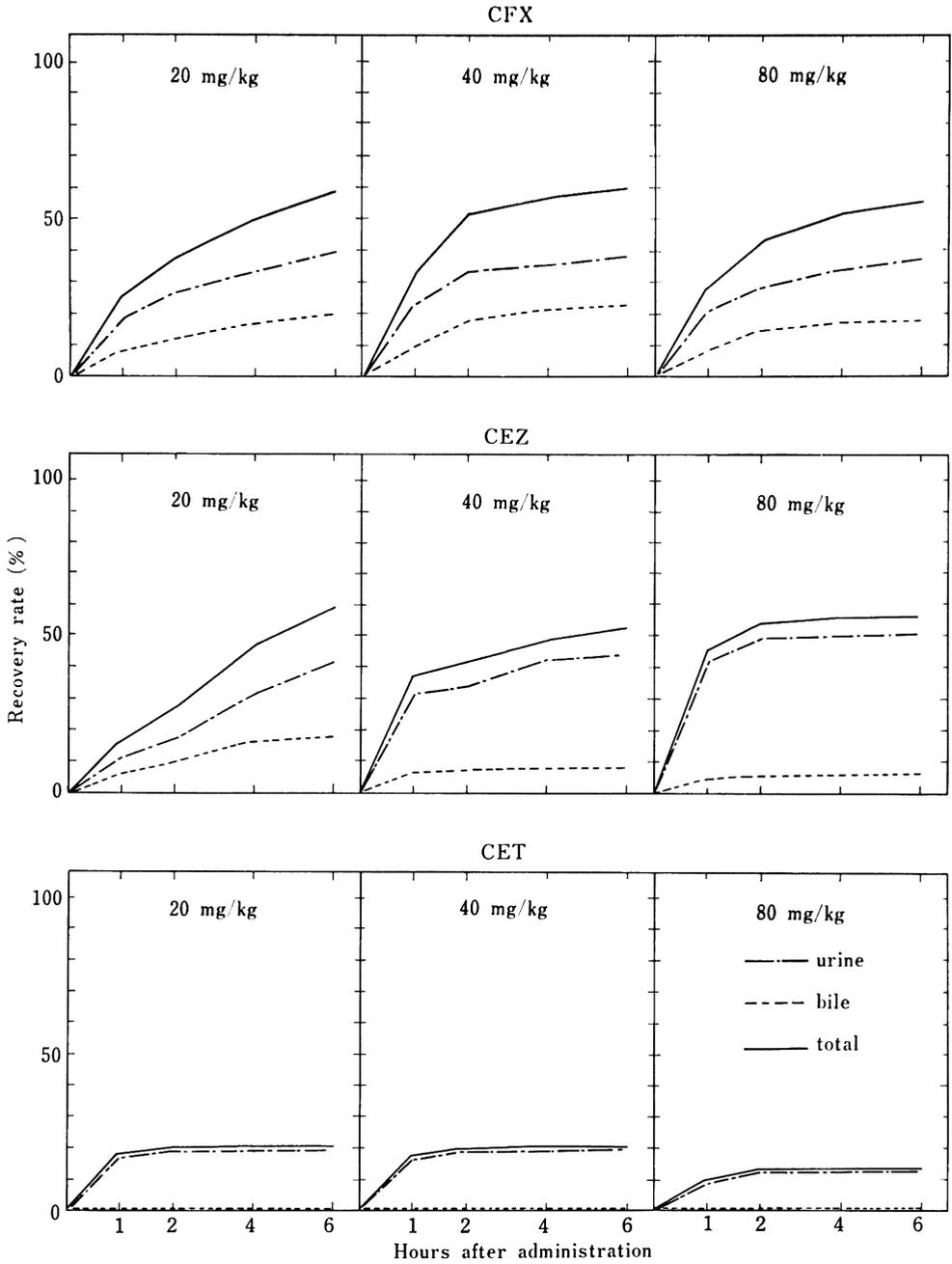
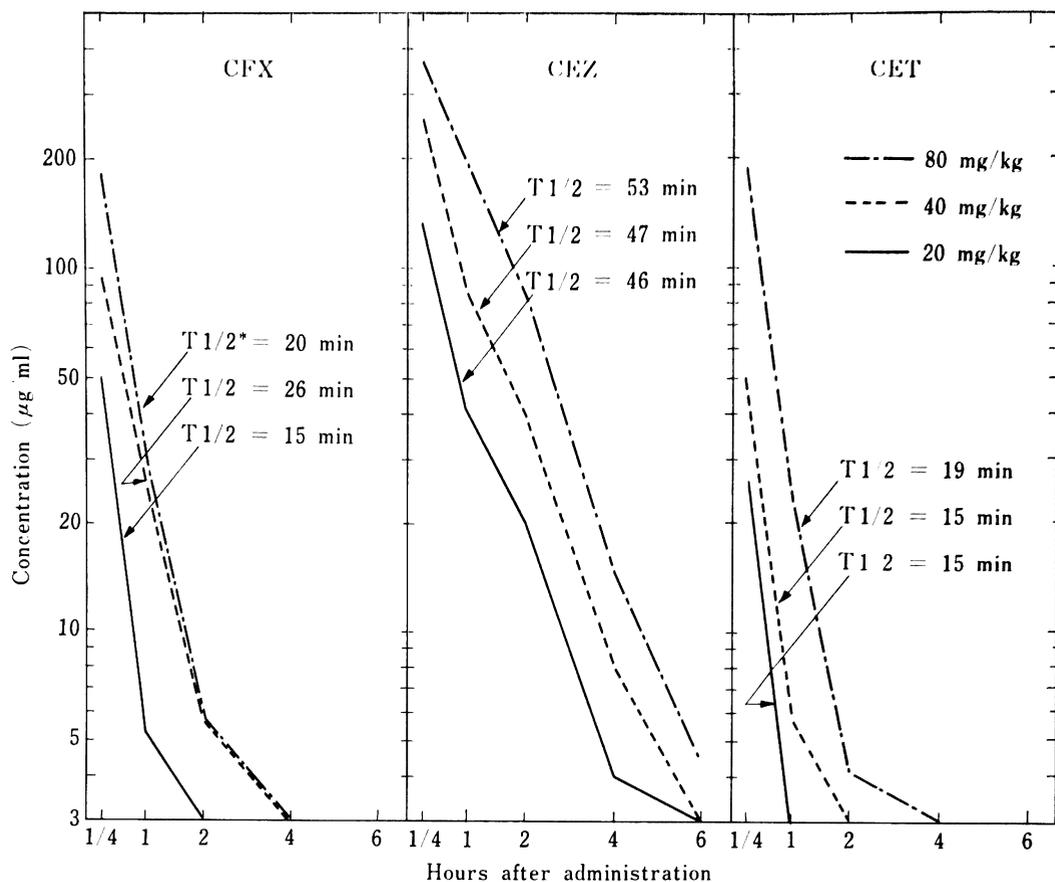


Fig. 5 Serum levels of CFX, CEZ and CET in cynomolgus monkeys (*Macaca irus*) intravenously dosed with 20, 40 and 80 mg/kg of antibiotic



* Half life of the serum level

清, 肺, 脾の順で, CEZ および CET では血清, 肝, 肺, 脾の順であった。とくに CFX と CEZ の比較では, CFX の腎および肝内濃度は, CEZ の1~2倍の高値を示した。

一方, CET の肝, 腎内濃度は前2者に比べると著しく低い値を示した。そのほか, 血清, 肺, 脾においては, CFX は CEZ より低濃度の分布を示した。また血中半減時間は CFX は21~25分, CEZ は32~36分, および CET は6~7分と算定された。

エーテル麻酔下での各薬剤の排泄パターンは, Fig. 4 に示すように, 総排泄率は, CFX, CEZ とほぼ同様のパターンを示し, 両者とも投与6時間後までの累積排泄率は, ほぼ50~60%を示したが, CET は10~20%と著しく低いことが注目された。各薬剤とも用量に呼応した変化はみられなかった。

さらに, 尿, 胆汁別の排泄率を比較すると, CFX は

尿中排泄率が約40%, 胆汁内排泄率が約20%を示し, CEZ はそれぞれ40~50%, 10~20%を示した。CET はほとんどが尿中排泄で, 胆汁内排泄はほとんど認められなかった。

3. サル血中濃度

CFX, CEZ および CET を20, 40 および80 mg/kg 静脈内投与したカニクイザルの血中濃度を Fig. 5 に示した。

図でも明らかのように, いずれの用量においても CFX の血中濃度は CET より高く, いずれも CEZ より低濃度であった。また CEZ は最も長く血中に維持され, 6時間後まで検出できたのに対し, CFX は2~4時間, CET は1~4時間以後は検出できなかった。血中半減時間は, CFX は15~26分, CET は15~19分, CEZ は46~53分と算定された。

III. 考 察

マウス、ラットおよびサルでは、CFXは静脈内投与後すみやかに主要臓器に分布し、ほぼ4時間のうちにすみやかに消失することが明らかにされた。他剤との比較では、血中濃度はCEZより低く、CETより高い傾向にあった。マウスでは、投与5分後にCETの血中濃度はCEZおよびCFXの濃度を上回り、それ以後急速に減少して、10分後以降の濃度順位は、CEZ>CFX>CETとなった。このことは、各薬剤の血中から各臓器への分布のしかたの相違によると考えられた。しかし、CETは他の2剤に比べて約2倍の速さで血中濃度が低下したが、臓器内濃度は、いずれの臓器も他の2剤より低く、血中濃度の低下がすみやかに起こる原因は他にあると思われる。一般にCETは生体内で脱アセチル化をうけることにより、血中濃度の低下をもたらすと報告されており⁴⁾⁵⁾、とくにラットでは、低活性の脱アセチル体が未変化体の数倍の高率で尿および胆汁内に排泄されるとされている⁵⁾。このことは、他の動物においても、血中濃度推移および排泄率推移を微生物学的検定法で定量する場合に充分考慮する必要がある。また、マウスではCFXは他剤に比べて肝内移行の程度が高いのが注目されたが、その傾向は一過性で、他の2剤とはほぼ同様の時間帯に肝から消失した。

一方、ラットでは、CFXは腎内濃度が最も高く、次いで肝、血清の順であったが、他の2剤は腎>血清>肝の順であり、マウス同様、CFXが他の2剤に比べて肝内移行の程度の高いことが知られたが、この傾向は尿、胆汁内排泄パターンに明瞭にあらわれており、CFXの胆汁内排泄率は高用量投与群ではCEZの約2倍を示した。このようにCFXが他の2剤にくらべて高率に肝内移行することは、このものの1つの特徴であるように思われ、この点は臨床使用に際しても考慮すべき点であろう。一方、総排泄率では用量増加による変化はなく、いずれも用量増加に伴う排泄遅延傾向は認められなかった。このように、ラットにおいてもCFXは他の2剤より肝内濃度は高いが、消失はすみやかに行なわれると思われる。

CETについては、尿、胆汁内排泄とも前2者に比べて著しく低く、このことは前述の代謝過程を考慮すると、今回行った微生物学的検定では当然のことのように思われる。

一方、CFXの胆汁内排泄率は高用量投与群でCEZの約2倍となり、尿中回収率はそのぶんだけCFXのほうで低い値を示した。

一般に血中にはいった薬剤の一部は血中タンパクと結合し、さらに一部は組織内タンパクと結合して、結合型

と遊離型は平衡状態になる。しかしその終合は可逆的であって、比較的容易に遊離型となる⁶⁾。したがって、時間の経過とともに遊離型が排泄されてもその平衡状態は維持される。一方、薬物によってタンパクと結合する割合は千差万別で、一般に脂溶性の高いものほど血清タンパクとの結合率は高い傾向にあるといわれており⁷⁾、またタンパク結合体は腎から排泄されにくいとされている⁸⁾。

CFXおよびCEZのラット血清タンパク結合率はそれぞれ35%および70%と報告されており⁹⁾、明らかにCFXのほうが血清タンパク結合率は低い。したがってラットにおけるCFXとCEZの尿中排泄率の差(CEZ>CFX)はこれでは説明できない。この点については、両者のタンパク結合強度、いいかえれば結合型から遊離型への解離の程度を考慮する必要がある。事実、CFXには緩結合型と強結合型の2型が存在することがたしかめられている¹⁰⁾。さらに麻酔の影響も考慮する必要があるかもしれない。いずれにしてもこれらを考慮して今後さらに詳細な薬力学的検討が必要と思われる。

また、サルでは、血中濃度は一般にCEZが最も高く、次いでCFX、CETの順であったが、その際、各薬剤とも用量と濃度の間に相関性がみられた。また、血中半減時間については、CEZが46~53分と最も長く、次いでCFXが15~26分であり、CETは15~19分と最も短いことがわかったが、各薬剤とも用量にかかわらずほぼ一定の値を示すことから、血中からの消失はこの範囲の用量に関しては、ほぼ同様のパターンで進行すると考えられた。

総括および結語

新規半合成cephamycin系抗生物質CFXについて、CETおよびCEZを対照薬として、マウス、ラットおよびサルでの静脈内投与後の体液内および臓器内濃度を測定し、以下の結果を得た。

1) 血中濃度は、一般にCEZが最も高く、次いでCFX、CETの順であった。マウス、ラットではいずれの薬剤も投与後2時間で検出可能濃度以下に低下し、各薬剤の血中半減期はマウスで12、10および4分であり、ラットでは32~36分、21~25分および6~7分であった。サルでの血中持続性はCEZが最も長く、半減期は46~53分、次いでCFXが15~26分、CETが15~19分であった。

2) 麻酔ラットにおけるCFXの尿中排泄率は約40%、胆汁中排泄率は約20%と他剤にくらべて胆汁排泄の割合が高かった。

3) 臓器内濃度については、マウス、ラットとも投与後30~120分で全薬剤とも検出可能濃度以下に減少した。

とくに CFX の肝内濃度は他の 2 剤の 2～3 倍の高濃度であることが注目された。腎内濃度は CEZ より低く、CET より高かった。他臓器はいずれも腎内濃度より低かった。ラットでは CFX は肝よりも腎内濃度のほうが高く、いずれも血中濃度を凌駕した。

CEZ では腎、血清、肝の順に高濃度を示した。肺、脾内濃度は、両薬剤とも血中濃度より低く、いずれも投与後 60～120 分で検出可能濃度以下になった。

本実験は、昭和 50 年 5 月から 52 年 8 月までの間に実施した。

文 献

- 1) ONISHI, H. R.; D. R. DAoust, S. B. ZIMMERMAN, D. HENDRIN & E. O. STAPLEY: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: resistance to beta-lactamase inactivation. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 5: 38～48, 1974
- 2) BIRD, A. E. & A. C. MARSHALL: Correlation of serum binding of penicillins with partition coefficients. *Biochem. Pharmacol.* 16: 2275～2290, 1967
- 3) “日本抗生物質医薬品基準解説”, 一般試験法, 力価試験法 II. p. 517～519, 薬業時報社, 1974

- 4) LEE, C. C.; E. B. HERR, Jr. & R. C. ANDERSON: Pharmacological and toxicological studies on cephalothin. *Clin. Med.* 70: 1123～1138, 1963
- 5) 小松 喬: 抗生物質の代謝についての研究, 第 1 編, 肝障害時における Cephalothin (CET) の代謝. *Chemotherapy* 25: 555～564, 1977
- 6) 中井健五: 結合と薬理効果. 北川晴雄, 野口照久 伊藤隆太編: “くすりの代謝” 第 4 章, p. 81～108, 南江堂, 1971
- 7) LUCEK, R. W. & C. B. COUTINHO: The role of substituents in the hydrophobic binding of the 1, 4-benzodiazepines by human plasma proteins. *Molecul. Pharmacol.* 12: 612～619, 1976
- 8) 藤本 守, 檜垣 鴻: 薬物の排泄. 中江正幸編: “薬物の生体内移行” 第 7 章, p. 287～332, 南江堂, 1969
- 9) 采 孟, 中條正行, 長田恭明, 小河秀正: 新セファマイシン系抗生物質 Cefoxitin の細菌学的評価. *Chemotherapy* 26: (S-1)12～25, 1978
- 10) 佐々野博, 立沢晴男, 斎藤 董, 佐野光司: Cefoxitin のラットにおける生体内動態. *Chemotherapy* 26: (S-1)120～134, 1978

A STUDY ON THE PHYSIOLOGICAL DISPOSITION OF CEFOXITIN: HUMORAL AND VISCERAL LEVEL OF CEFOXITIN IN ANIMALS

TERUO FUJIMOTO, TORU IKEUCHI, KENICHI SATO, MASAYUKI NAKAJO,
TSUTOMU UNE, YASUAKI OSADA and HIDEMASA OGAWA
Research Institute, Daiichi Seiyaku Co., Ltd.

As a preclinical evaluation of cefoxitin (CFX), a semisynthetic cephamycin antibiotic, an examination was made of its humoral and visceral levels in mice, rats, and monkeys in comparison with that of cephalothin (CET), and cefazolin (CEZ). Each of the antibiotics was intravenously administered.

In general, the blood level of CFX was higher than CET, while it was lower than CEZ. In mice or rats, these antibiotics rapidly disappeared from the blood within 2 hours after administration. In monkeys, they were retained longer than in rodents, although the order of level was the same as that in rodents; the half lives of serum levels of CEZ, CFX, and CET being 46 to 53 minutes, 15 to 26 minutes, and 15 to 19 minutes, respectively.

The total recovery rate of the antibiotics in anesthetized rats was independent of the dose, and CFX was the same as CEZ, while it was higher than that of CET. The biliary excretion rate of CFX was higher than CEZ and CET. CET was hardly excreted in the bile. The visceral levels of CFX were compared with those of CEZ and CET in mice and rats. In mice, the hepatic level of CFX was the highest of all drugs. As for the renal level of the antibiotics, CEZ was the highest followed by CFX and CET. The concentrations of the antibiotics in other organs such as lungs, spleen, and heart were significantly lower than renal levels. The visceral levels of the antibiotics disappeared equally within 30 to 120 minutes after administration. In rats, the renal and hepatic levels of CFX were significantly higher than serum, though the hepatic levels of CEZ and CET were noticeably lower than serum. The antibiotics also disappeared from these organs within 1 to 2 hours after administration.