

新セファマイシン系抗生物質 CS-1170 の各種動物における 吸収、分布、代謝ならびに排泄

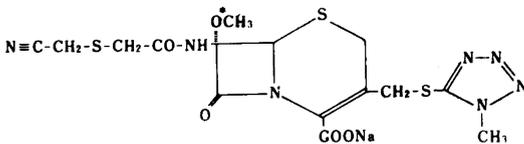
進藤英世・河合賢司・前田敏彦
五十嵐勇・田島政三・菅原眞一
三共株式会社中央研究所

はじめに

CS-1170 (I) は当研究所中尾ら¹⁾によって合成された新しいセファマイシン系抗生物質で、グラム陽性・陰性菌に対してきわめて優れた抗菌力をもつとともに、 β -lactamase に対して強い抵抗性を有し、多くの他剤耐性菌に対しても強い抗菌力を保持することが明らかにされている²⁾。一方、毒性は各種の実験動物においていずれもきわめて低く、とくに腎毒性をほとんど示さないなどの安全性を示す結果が得られている³⁾。

われわれは CS-1170 投与後の体内動態を知る目的で、マウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルに投与後の血中濃度ならびに尿、糞中排泄を比較した。さらに、ヒトの体内動態に最も近いと考えられるサルについて、7 位 Methoxyl 基 ¹⁴C 標識体を用い、Bioassay と Radioassay を併用することにより CS-1170 の吸収、分布、代謝ならびに排泄を詳細に調べた。本報ではこれらの結果を報告し、CS-1170 の体内動態の動物種差を中心に論ずる。

CS-1170 (I)



*は¹⁴C標識部位を示す。

I. 実験方法

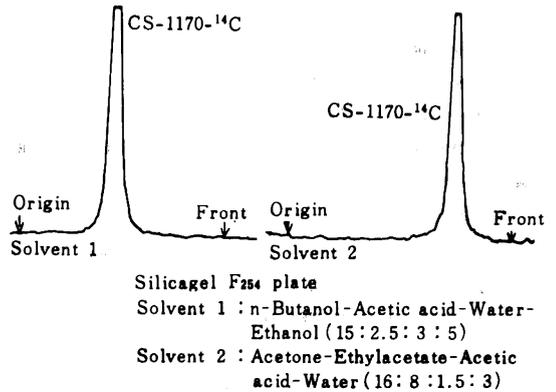
1. 標識化合物

CH₃OH-¹⁴C (Radiochemical Center, Amersham, England) を出発原料とし、当研究所で合成された CS-1170-¹⁴C を用いた。¹⁴C 標識部位は 7 位 Methoxyl 基の炭素 (*) で、比放射能は 5.8 μ Ci/mg (2.86mCi/mmol)、シリカゲル薄層クロマトグラフィにより単一ピークを与え、計数の結果その放射化学的純度は 96.65% であった (Fig. 1)。

2. 使用薬剤

CS-1170 は当社合成標品 (Na 塩、力価 930 μ g/mg) を

Fig. 1 TLC Radioactigram of CS-1170-¹⁴C



用いた。Cefazolin (CEZ, Cefamezin[®]) は藤沢薬品工業の製品 (Na 塩、力価 910 μ g/mg) を、Cephaloridine (CER, Seporan[®]) は英国グラクソ社の製品 (力価 960 μ g/mg) を、また Cefoxitin (CFX, Mefoxin[®]) は米国メルク社研究所よりの提供品 (Na 塩、力価 949 μ g/mg) をそれぞれ使用した。

3. 実験動物

マウスは ddY-SLC 系雄性マウス、体重 20g 前後のもの (約 4 週齢) を使用した。ラットは Wistar-今道系雄性ラット、体重 200~250g のもの (8~9 週齢) を使用した。ウサギは体重約 3kg の白色雄性家兎を、イヌは体重 7~10kg の雄性ビーグル成犬をそれぞれ使用した。

サルは当社安全性試験センター (袋井市) において飼育、管理された雌性カニクイザル (Macaca fascicularis)、体重 2.9~3.1kg のもの (推定年齢 5~9 歳) を使用した。当研究所 RI 実験室に搬入後、温度 23~24 $^{\circ}$ C、湿度 50~60% の条件下であらかじめ 1 週間飼育し、摂餌状態が一定したのち実験に供した。

4. 薬剤の投与

投与量は一部の実験を除き、50mg/kg 体重に統一した。マウスは 1 群 5 匹として 100mg/ml、ラットは 1 群 4 匹とし 15mg/ml になるように CS-1170、その他の薬剤を注射用蒸留水に溶解し、それぞれ約 0.1 および 0.7ml を体

重に依じて50mg/kgとなるように背部皮下に注射した。

ウサギおよびイヌはそれぞれ1群3匹とし、CS-1170を180mg/mlの溶液とし、50mg/kgの割合で左大腿部に筋肉内注射した。

サルは3頭を1群として用い、実験前16時間絶食せしめたのちに投与を行なった。すなわちCS-1170-¹⁴Cを非放射性CS-1170により希釈して約1 μ Ci/mgとし、約200mg/ml水溶液として50mg/kg(約50 μ Ci/kg)の割合で左大腿部に筋肉内投与、あるいは後肢伏在静脈内に静注投与した。なお投与6時間以後は水を自由に与え、食餌としてオリエンタル社製サル用カンパン70gと、レモン1/2個を毎日、さらにリンゴ1/3個を2日ごとに与えた。

5. 尿、糞中回収率の測定

投与後マウスは5匹集団のまま、ラットは1匹ずつを代謝ケージに入れ、尿は0~3, 3~6, 6~12, 12~24および24~48時間に、糞は0~24および24~48時間の間隔で分別採取した。

ウサギおよびイヌは、投与後各動物を代謝ケージに入れ、尿は0~6, 6~24および24~48時間、糞は0~24および24~48時間の間隔で分別採取した。

サルはCS-1170-¹⁴C投与後、各動物をRI用代謝ケージに入れ、尿と糞を0~3, 3~6, 6~24, 24~48, 48~72および72~96時間まで分別採取し、さらにその後も24時間間隔で最高168時間(7日)まで採取した。

尿は容量を測定後、凍結保存してそのまま分析試料とした。糞は重量を測定後3倍量の0.1Mリン酸緩衝液(pH 6.0)を加え、低温下に24時間放置して十分膨潤せしめたのちポリトン(Kinematica社)で磨砕し、3,000rpm \times 10分間遠心分離したのちその上清を分析試料とした。

これらの試料につきBioassayあるいはRadioassayにより濃度を測定した。またサル尿および糞抽出試料については代謝物の分離に供した。

6. 血中濃度の測定

マウスにCS-1170その他を皮下注射後(50mg/kg), 7.5, 15, 30, 60, 90および120分の各時点でエーテル麻酔下に心臓穿刺全採血を行なった。ラットについても同様に皮下注射後7.5, 15, 30, 60, 120, 180および360分後に頸動脈を切断し、あらかじめヘパリン処理したスピッツ管に血液を採取した。血液はただちに3,000rpm \times 10分間遠心分離し、血漿試料を得た。

ウサギおよびイヌについてはCS-1170を大腿部筋肉内投与(50mg/kg), 7.5, 15, 30, 60, 120, 180および360分後に、ウサギの場合は耳静脈より血液1.5mlずつを、ビーグル犬の場合は前肢正中静脈より血液2.0mlずつを注射器により採取した。血液はあらかじめヘパリン処理したスピッツ管に移し、ただちに3,000rpm \times 10分

間の遠心分離を行なって血漿試料を得た。

サルについては尿、糞中排泄実験と同一サル3匹を用い、別に実験を行なった。すなわちCS-1170-¹⁴Cを左大腿部に筋肉内投与あるいは後肢伏在静脈内に静注投与したのち、5, 10, 20, 30, 60, 120, 180および360分後に大腿静脈より血液2.5mlずつを採取した。採血後約30分間氷冷下に放置して凝固せしめたのち、3,000rpm \times 10分間の遠心分離を行ない血清試料を得た。

これらの試料につきBioassayあるいはRadioassayにより濃度を測定した。またサル血清試料についてはCS-1170代謝物の検索に供した。

7. 臓器内濃度の測定

1群5匹のマウスにCS-1170およびCefazolinを皮下注射後(50mg/kg), 7.5, 15, 30, 60, 90および120分の各時点で前記のごとくして採血、致死後ただちに開腹し、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、肺、骨格筋(大腿部)を摘出した。各臓器は秤量後、約5倍量の1/15 Mリン酸緩衝液(pH 6.0)を加えてホモジネートを作成し、3,000rpm \times 10分間遠心分離したのち、その上清を分析試料とした。

ラットについては1群3匹としCS-1170を皮下注射後(50mg/kg), 7.5, 15, 30, 60, 120, 180分および6, 24時間後に前記のごとくして採血、致死後ただちに開腹し、肝臓、腎臓、肺、心臓、脾臓、膵臓、骨格筋(大腿部)および脳を摘出した。また消化管を胃から空腸下部(盲腸を除く)まで内容物を含めて摘出し、胃および小腸上, 中, 下部の4部分けた。各臓器は秤量後氷冷した0.1 Mリン酸緩衝液(pH 6.0)を1g組織当り1mlの割合で加え、ポリトンにより磨砕し50%ホモジネート液とした。これを3,000rpm \times 10分間遠心分離し、上清を分析試料とした。

これらの試料は適宜希釈したのちBioassayによりその濃度を測定した。

8. 胆汁中排泄率の測定

i) 使用動物および薬剤の投与——ラットは体重320~340gのWistar-今道系雄性ラットを1群5匹とし、実験前16時間絶食後に使用した。CS-1170, Cefazolin, Cefoxitin およびCephaloridineをそれぞれ20mg力価/mlの水溶液とし、50mg/kgの割合で皮下注射した。

ウサギは体重3.2~3.7kgの雄性白色家兎を1群3羽とし、16時間絶食後に使用した。CS-1170, Cefazolin, Cefoxitin およびCephaloridineをそれぞれ200mg力価/mlの水溶液として50mg/kgの割合で大腿部に筋注射した。

イヌは体重8~10kgの雄性ビーグル犬5匹を使用し、うち1匹についてはCefazolinとの交差実験を行ない、

1群3例とした。いずれも16時間絶食後に実験に使用した。CS-1170およびCefazolinを250mg力価/mlの水溶液とし、50mg/kgの割合で大腸部に筋注射とした。

ii) 胆管カニューレの挿入と胆汁の採取——ラットおよびウサギはエーテル麻酔下に開腹し、ポリエチレン管(前者にはクレイアグムスPE-50, 後者にはPE-100)を総輸胆管に挿入し、縫合糸によりこれを固定したのち開腹部を縫合した。ラットはボールマンケージに、ウサギは手術板に固定した。体外に導いたチューブから胆汁を採取し、手術後約2時間胆汁流量を測定し、流出速度が一定したのち薬剤を投与した。以後固定した状態のまま投与後24時間まで経時的に胆汁を採取した。

イヌはケタラル30mg/kg筋注射による前麻酔下に手術台に固定し、さらにネプター25mg/kgを腹腔内投与したのち開腹し、ポリエチレンチューブ(PE-200)を総輸胆管に挿入した。縫合糸によりこれを固定し、開腹部を縫合した。続いて腹部にイヌ用ジャケット(Alice King Chartham)を着装し、体外に導いたポリエチレン管を脇腹部のポケット内で試験管に接続した。麻酔からさめかけた時点(手術後約3時間)に薬物を投与し、以後イヌ用代謝ケージ内で24時間後まで経時的に胆汁を採取した。

イヌの1例については次のようにして同一動物によるCefazolinとの比較実験を行なった。すなわち、麻酔下に開腹後、総輸胆管のほぼ中央部に胆のう側と十二指腸側に向かって2本のポリエチレンチューブ(長さ約30cm)を挿入し、固定した。開腹部を縫合後ジャケットを着装し、体外に導いた2本のチューブのうち、十二指腸側のチューブ先端を折り曲げることによって閉鎖した。以下上記と同様にしてCS-1170を投与、24時間まで胆汁を採取した。実験終了後、ジャケットのポケット内で胆のう側と十二指腸側のチューブを接続し、胆汁が消化管内に排出される状態として1週間飼育を行なった。健康状態を確認し、上記と同様にCefazolinについて実験を行なった。

得られた胆汁試料は適宜希釈したのちBioassayにより薬剤濃度を測定した。

9. 蛋白結合率の測定

ヒトおよび各種の動物血清3.24mlにCS-1170またはCefazolin水溶液0.36mlを加えて最終濃度を25および100μg/mlとする。37°C1時間加温したのち、透析用セルロースチューブ(Visking, Size 8/32)に3mlを入れ、2,500rpm×1時間の遠心限外濾過を行なった。得られた外液約0.3ml中の薬物濃度をBioassay法により測定した。一方1/15Mリン酸緩衝液(pH7.4)を用いて同様の操作を行ない対照とした。結合率は次式より求めた。

$$\text{Binding ratio} = \frac{Y-X}{Y} \times 100$$

X: 限外濾液中の薬物濃度

Y: 対照液中の薬物濃度

10. 血中および尿、糞中CS-1170ならびに代謝物の分離定量

サルにCS-1170-¹⁴C投与後の血清試料ならびに尿、糞試料中のCS-1170およびその代謝物の検索ならびに分離定量はシリカゲルF₂₅₄プレートによる薄層クロマトグラフィ(TLC)により行なった。

血清試料は、1mlにエタノール4mlを加えて3分間振盪したのち3,000rpm×5分間遠心分離し、エタノール層を分離した。この際の放射能の抽出率は95%以上であった。

血清抽出液の20μlおよび尿試料はそのまま20μlを、糞は前記抽出液20~50μlをTLCプレートにスポットし、溶媒系としてn-Butanol:Acetic acid:Water:Ethanol(15:2.5:3:5)を用いて展開した。風乾後サクラ工業用X線フィルム(Type N)に密着し、1週間の露出後に現像してオートラジオグラムを得た。同時に展開したCS-1170標品と比較同定したのち、その他の放射性スポットに対応する部分を含めてTLC全体を尿の場合には12個、血清および糞の場合には8個のZoneに分け、それぞれをかき取り、バイアルビンに移した。これにメタノール0.5mlを加えて3時間放置したのちToluene-Ethanol液体シンチレーター10mlを加えて放射能を計数した。

尿試料についてはさらに2次元TLCを行なった。一次元溶媒としてAcetone:Ethylacetate:Acetic acid:Water(16:8:1.5:3)、2次元溶媒としてn-Butanol:Acetic acid:Water:Ethanol(15:2.5:3:5)により展開し、オートラジオグラフィにより放射性スポットを検出した。この際数種の予想代謝物の混合物につき同一条件で展開し、微小放射性スポットとR_fを比較した。一方、同様にして得られた一次元および2次元展開プレートにつき、*Staphylococcus aureus* 209-P菌によるBioautogramを作成した。

11. 呼気中¹⁴CO₂の測定

前記実験に使用したカニクイザルの1例につき呼気中への放射能の排泄を測定した。すなわちサルをモンキーチェアに固定し、頭部にアクリル製ヘルメット(頂部に呼気チューブ接続口)をかぶせ、これをビニールチューブにより測定器に接続した状態でCS-1170-¹⁴C 50mg/kgを筋注射した。

測定は超高感度β線エアモニター(Triton 955B, Johnston Lab., U.S.A.)により行なった。内蔵されたポンプにより流速2 l/分で空気を吸引してヘルメット内を陰圧とし、サル呼気を連続的に測定器内の電離箱(容量10ℓ)中に導入した。呼気中¹⁴CO₂は24時間にわたり連続的

に記録し、その面積強度から総排泄量を算出した。

12. Bioassay による CS-1170 の定量

試料中の CS-1170 ならびにその他の抗生物質濃度は *Bacillus subtilis* PCI-219 を検定菌とする Bioassay 法 (disc 法) により定量した。すなわち 10^7 cells/100ml の被検菌を含む普通寒天培地 (栄研) を pH 6.0 に調整し、径 90mm × 20mm のプラスチックシャーレ (仁丹テルモ) に 5ml ずつ分注して薄層平板とした。試料は pH 6.0 の 0.1M リン酸緩衝液 (Sørensen) を用いて適宜希釈し、Paper disc (Toyo, 8mm, thick) にしみこませたのち、上記寒天平板にのせ、37°C 18時間培養を行なったのち平板上の disc 周辺の阻止円の直径から定量を行なった。

別に CS-1170 は $0.8\mu\text{g/ml}$ ~ $50.0\mu\text{g/ml}$ の範囲、Cefazolin は $0.4\mu\text{g/ml}$ ~ $50.0\mu\text{g/ml}$ 、Cefoxitin は $1.5\mu\text{g/ml}$ ~ $50.0\mu\text{g/ml}$ 、Cephaloridine は $0.1\mu\text{g/ml}$ ~ $50.0\mu\text{g/ml}$ の範囲の 2 倍希釈系列 (希釈液は 0.1M リン酸緩衝液, pH 6.0) によりそれぞれの標準曲線を作成し、これを基に定量値を算出した。本法による最低検出限界は CS-1170 は $0.8\mu\text{g/ml}$ 、Cefazolin $0.4\mu\text{g/ml}$ 、Cefoxitin $1.5\mu\text{g/ml}$ および Cephaloridine $0.1\mu\text{g/ml}$ であった。

13. 放射能の計数

試料中の放射能の計数はいずれも Packard Model-3380 液体シンチレーションカウンターにより行なった。

血清試料は 0.2ml に Toluene-Triton X 100 シンチレーター (1:1, 1l 中 PPO 8g, Dimethyl POPOP 200mg を含有) 10ml を加えて計数した。尿試料はその 0.5ml に Toluene-Ethanol シンチレーター (1:1, 1l 中 PPO 8g, Dimethyl POPOP 200mg を含有) 10ml を加えて計数した。計数効率は ^{137}Cs 外部線源標準法により求め dpm 値に変換し、さらに比放射能値から CS-1170 μg 数に変換した。

II. 実験結果

1. 各種動物における CS-1170 の血中濃度

Table 1 Plasma concentrations of CS-1170 in mice, rats, rabbits, dogs and monkeys after intramuscular or subcutaneous administration

Animal species	Route ^{a)}	$\mu\text{g/ml}$ -plasma \pm SE ^{b)}							$t_{1/2}$ (min.)
		7.5min.	15min.	30min.	60min.	120min.	180min.	360min.	
Mouse	sc	43.0	54.3	30.4	5.3	1.0	n.d.	n.d. ^{c)}	16
Rat	sc	17.7 ± 3.3	26.6 ± 2.1	26.8 ± 3.4	20.5 ± 4.4	4.0 ± 2.3	n.d.	n.d.	28
Rabbit	im	43.2 ± 8.5	43.3 ± 7.8	28.3 ± 4.3	11.4 ± 2.9	2.5 ± 1.6	0.4	n.d.	23
Dog	im	69.0 ± 8.4	83.3 ± 7.0	74.7 ± 7.5	62.3 ± 5.2	30.3 ± 4.5	17.7 ± 3.6	1.0 ± 0.6	69
Monkey	im	132.5 ± 9.0	147.5 ± 10.7	113.8 ± 29.3	61.2 ± 9.2	8.4 ± 0.6	2.7 ± 0.2	n.d.	32

a) sc=subcutaneous, im=intramuscular, Dose=50mg/kg

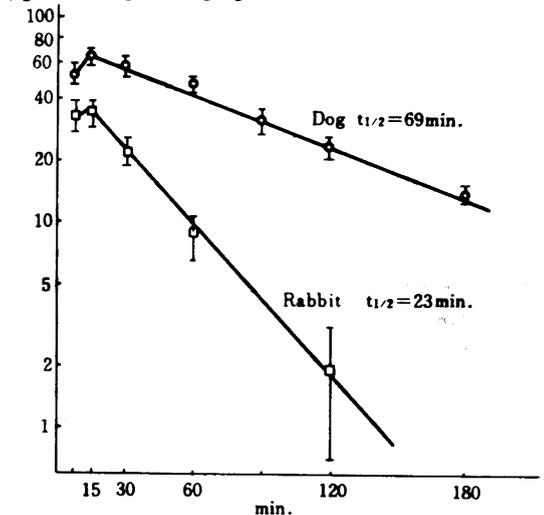
b) average from three to five experiments \pm standard error

c) n.d.=not detected

CS-1170 を 50mg/kg の割合でマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルに皮下注または筋肉内投与後の血漿 (または血清) 中濃度を Bioassay により測定した結果を Table 1 に示す。いずれも投与約 15 分後に最高血中濃度に達し、投与部位からの吸収がすみやかであることを示した。しかしその濃度は動物種によって著しく異なり、50mg/kg 投与の条件でラットで約 $27\mu\text{g/ml}$ と最も低く、次いでウサギで約 $43\mu\text{g/ml}$ 、マウスで $54\mu\text{g/ml}$ 、イヌではさらに $83\mu\text{g/ml}$ と上昇し、サルで最も高い約 $150\mu\text{g/ml}$ を示した。

最高濃度に達した後の減衰は Fig. 2 にウサギとイヌについて図示することく、半対数プロットで直線的に、すなわち 1 次式に従って減衰し、この時点で血液への吸収がほぼ完全に起こっていることを示した。消失の半減期はイヌで約 69 分に対し、ウサギでは著しく短く約 23

Fig. 2 Plasma concentrations of CS-1170 after intramuscular administration to rabbits and dogs (50mg/kg, n=3)



分であった。その他の動物についても半対数プロットから半減期を求めた結果、Table 1に比較するように動物種によって著しい差を示し、マウスで最も短く約16分、ラットではやや長く約28分を示し、サルにおいてはイヌとラットの間値、約32分を示した (Fig.10)。

サルについてCS-1170の血中濃度推移を他剤と比較した結果はFig. 3に示すごとくである。20mg/kgを筋注射後、CS-1170は20分後にピーク(44.5 μ g/ml)となり、以後半減期約32分で減衰した。Cefazolinは吸収がやや遅く、20~30分後にピーク(58.5~59.5 μ g/ml)となり、以後約53分の半減期で減衰した。Cefoxitin, CefamandoleおよびCephalothinはいずれも吸収がすみやかで投与10分後にピーク(それぞれ107.5, 59.8および70.0 μ g/ml)を示したが、以後すみやかに減衰し、半減期はそれぞれ約23, 18および16分であった。したがってCFX, CMTおよびCETが吸収が早く、減衰もすみやかであるのに対し、CEZとCS-1170は吸収はやや遅いが血中濃度が持続する性質をもつものといえる。

血清蛋白との結合性については、ヒトおよび各種の動物につき、*in vitro*の結合率を限外濾過法により求め、Cefazolinと比較した。その結果はTable 2のごとく動物により著しい種差があり、ヒトで最も高く約85%、次いでサルが高く約80%の結合率を示した。以下ウサギ、ラット、マウスの順に低下し、イヌで最も低い25~35%の結合率を示した。Cefazolinについてはヒトとサル血清に対し90%以上の結合率を示し、いずれの動物種においてもCS-1170はCefazolinよりやや低い結合率であった。

2. 各種動物における尿中排泄率

マウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルにCS-1170 50mg/kgを皮下または筋肉内投与後の尿、糞中排泄率をBioassayにより比較した結果をTable 3に示す。

Fig. 3 Serum concentrations of CS-1170 and some other cephalosporin antibiotics after intramuscular injection to crab-eating monkeys (Dose = 20mg/kg, n = 3)

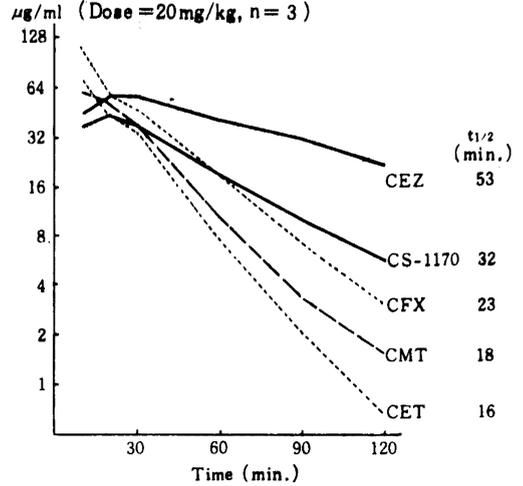


Table 2 Binding of CS-1170 to serum protein in various animal species

Animal species	Binding ratio (%)			
	CS-1170		Cefazolin	
	100 μ g/ml	25 μ g/ml	100 μ g/ml	25 μ g/ml
Human	84.8	83.6	88.6	93.5
Monkey	76.0	79.5	93.4	94.8
Dog	25.0	36.6	40.2	52.2
Rabbit	59.0	52.6	90.8	93.8
Rat	44.0	40.0	86.0	93.8
Mouse	40.8	43.7	61.6	69.8

Binding was determined *in vitro* by ultrafiltration method.

Table 3 Urinary and fecal excretion of CS-1170 after intramuscular or subcutaneous administration to various animal species

Animal species	Route ^{a)}	% to Dose \pm SE ^{b)}					
		Urine			Feces	Total recovery	
		0-6 hr	6-24hr	24-48hr			
Mouse	sc	43.7 \pm 5.3	15.5 \pm 4.4	n.d. ^{c)}	59.2 \pm 2.7	15.1 \pm 0.8	74.3 \pm 3.4
Rat	sc	18.5 \pm 4.9	3.2 \pm 0.3	0.5 \pm 0.1	22.2 \pm 5.0	37.4 \pm 4.4	59.7 \pm 6.1
	iv	19.9 \pm 3.3	1.4 \pm 0.6	n.d.	21.3 \pm 3.2	33.7 \pm 4.7	55.0 \pm 5.4
	im	0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	n.d.	0.3 \pm 0.1	56.1 \pm 8.9	56.4 \pm 8.9
Rabbit	im	63.9 \pm 4.3		1.7 \pm 1.6	65.6 \pm 5.2	0.23 \pm 0.2	65.9 \pm 5.3
Dog	im	59.1 \pm 7.9		0.9 \pm 0.2	60.1 \pm 8.0	13.8 \pm 5.9	73.9 \pm 7.1
Monkey	im	76.2 \pm 8.4	0.3 \pm 0.2	0.1 \pm 0.1	76.5 \pm 8.6	2.2 \pm 1.6	78.7 \pm 14.8

a) sc=subcutaneous, im=intramuscular, iv=intravenous, Dose=50mg/kg

c) n.d.=not detected

b) average from three to five experiments \pm standard error

尿中排泄率についても血中濃度と同様に著しい動物種差が見られ、ラットで尿中排泄率が最も低く、投与後48時間までに投与量の約22%が尿中に回収されるに過ぎなかった。これに対しマウスとイヌでは約60%、ウサギでは約66%が尿中に回収され、サルでは最も高く、投与量の約77%が尿中に排泄された。なおTable 3に示されるように、その大部分は投与後6時間以内に排泄され、CS-1170の尿中排泄が非常にすみやかであることが示された。

一方、糞中排泄率はラットで最も高く皮下注投与後、投与量の約40%がBioassayにより糞中に回収された。次いでマウスとイヌで高く、投与量の14~15%が糞中に回収された。ラットでは静注投与後もほぼ同様に投与量の約20%が尿中に回収されるのみであり、糞中排泄が高かった。なおラットに経口投与後は尿中に約0.3%が回収されるのみで、大部分が糞中に回収された(Table 3)。したがってCS-1170は腸管からはほとんど吸収されないものと考えられる。

以上の結果は、CS-1170の排泄に、とくにラットにおいて胆汁中排泄が大きな寄与をもつことを示唆している。したがって、血中濃度および尿中排泄率に見られる動物種差は主として胆汁中排泄の種差によるものと考えられ、その寄与はラットで著しく高く、ラット>マウス>イヌ>ウサギ<サルの順に減少するものと推察される。

3. マウスおよびラットにおける体内分布

マウスにCS-1170を50mg/kg皮下注投与後の主要臓器内濃度をBioassayにより経時的に測定した結果を血漿中濃度と比較してTable 4に示す。

各臓器とも血漿中濃度と同様に投与約15分後に最高濃度に達し、以後すみやかに減少した。ピーク時の濃度は、肝~腎>血>肺>心>脾~骨格筋の順序であり、肝臓と腎臓に最も高濃度に分布し、血漿中濃度の約3倍の濃度を示した。

対照薬としてCefazolinを選び、同一条件下で比較した結果はFig. 4に示すごとくである。Cefazolinも投与約

Table 4 Plasma and tissue concentrations of CS-1170 after subcutaneous administration to mice

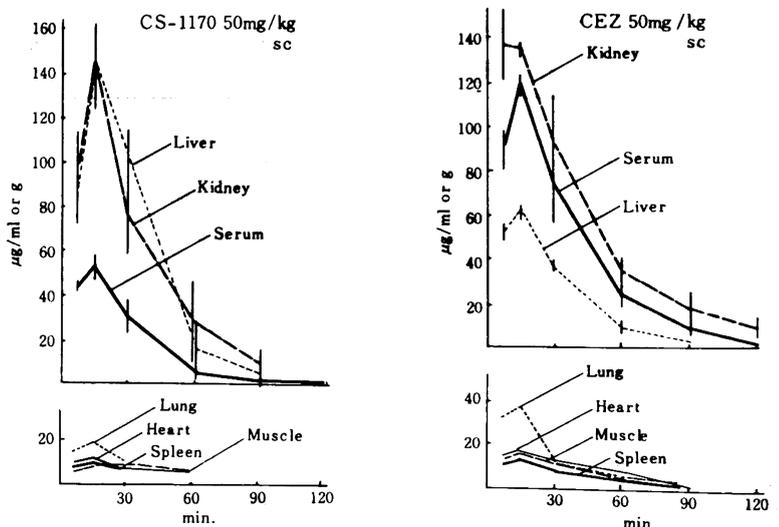
Tissue	$\mu\text{g/ml or g}^{\text{a}}$					
	7.5min.	15min.	30min.	60min.	90min.	120min.
Plasma	43.0	54.3	30.4	5.3	1.6	1.0
Liver	82.9	146.4	101.9	18.2	4.9	n.d. ^{b)}
Kidney	92.5	146.0	77.6	28.1	9.4	trace
Spleen	8.7	10.1	8.0	5.3	trace	n.d.
Lung	16.0	19.0	11.1	trace	trace	n.d.
Heart	10.8	13.0	6.2	trace	n.d.	n.d.
Muscle	7.3	9.1	9.3	6.0	n.d.	n.d.

a) average from five experiments, Dose=50mg/kg

b) n.d.=not detected

Fig. 4 Plasma and tissue concentrations of CS-1170 and cefazolin after subcutaneous administration to mice

average from five (CS-1170) and three (CEZ) animals, Dose=50mg/kg



15分後に血漿中ならびに臓器内濃度は最高となったが、その濃度は、腎>血>肝>肺>心>骨格筋>脾の順であり、腎臓で最も高かったが(135.5 μ g/g)、血漿中濃度はこれと同程度に高く(119.3 μ g/ml)、肝臓中濃度はその約1/2と低かった(62.3 μ g/g)。

このようにCS-1170がCefazolinに比較して肝臓に高濃度に分布することは胆汁中排泄の寄与に関連するものと考えられ、事実Cefazolinは皮下注投与後の24時間尿中に投与量の73.2%が回収され(CS-1170は59.2%)、糞中には全く検出されなかった。

ラットではこの傾向はさらに著しかった。CS-1170 50mg/kgを皮下注投与後の臓器内濃度を血漿中濃度と比較してTable 5に示し、Fig. 5に図示した。

各臓器とも、血漿中濃度と同様に投与15~30分後に濃度は最高に達し、以後すみやかに減少した。CS-1170は肝臓と腎臓に最も高濃度に分布し、血漿中濃度はこれらに比較して低く、最高濃度で肝および腎には血漿中濃度のそれぞれ約4.5倍および3.5倍の濃度が分布した。投与30分後の臓器内濃度は次の順に高く、中枢神経系への移行は全く検出されなかった：肝>腎>血>肺>心~脾>

骨格筋>脾。

一方、胃から空腸下端までの全消化管を4つの部分に分け、内容物を含めてCS-1170を定量した結果がTable 6である。結果はCS-1170がラットに皮下注投与後、消

Fig. 5 Plasma and tissue concentrations of CS-1170 after subcutaneous administration to rats (n = 3, 50mg/kg)

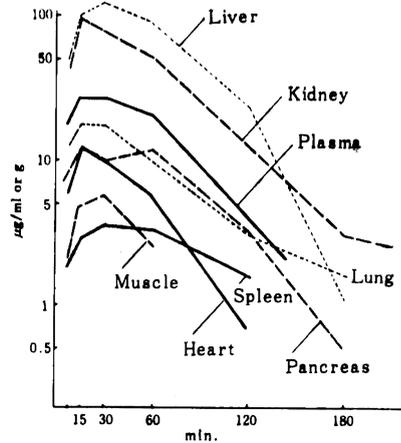


Table 5 Plasma and tissue concentrations of CS-1170 after subcutaneous administration to rats

Tissue	$\mu\text{g/ml or g} \pm \text{SE}^{\text{a)}$							
	7.5min.	15min.	30min.	1 hr	2 hr	3 hr	6 hr	24hr
Plasma	17.7 \pm 3.3	26.6 \pm 2.1	26.8 \pm 3.4	20.5 \pm 4.4	4.0 \pm 2.3	n.d. ^{b)}	n.d.	n.d.
Liver	50.0 \pm 8.1	100.5 \pm 5.9	122.0 \pm 8.6	86.7 \pm 9.3	23.0 \pm 10.9	1.1 \pm 1.0	n.d.	n.d.
Kidney	43.3 \pm 11.3	92.3 \pm 2.8	74.6 \pm 3.6	52.3 \pm 14.3	12.3 \pm 5.4	3.0 \pm 0.3	1.3 \pm 0.7	n.d.
Lung	12.4 \pm 1.3	17.6 \pm 1.3	17.1 \pm 1.6	9.8 \pm 1.7	3.0 \pm 0.8	2.1 \pm 1.3	n.d.	n.d.
Spleen	1.9 \pm 0.3	2.8 \pm 0.1	3.5 \pm 0.7	3.2 \pm 0.3	1.6 \pm 0.1	n.d.	n.d.	n.d.
Heart	6.1 \pm 1.2	12.0 \pm 1.3	10.1 \pm 1.2	5.6 \pm 1.4	0.7 \pm 0.7	n.d.	n.d.	n.d.
Pancreas	7.5 \pm 2.7	11.9 \pm 1.8	9.8 \pm 2.5	11.5 \pm 3.3	3.2 \pm 1.7	0.5 \pm 0.5	0.6 \pm 0.6	n.d.
Skeletal muscle	2.1 \pm 0.4	4.9 \pm 0.4	5.8 \pm 1.1	2.7 \pm 0.4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Brain	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

a) average from three experiments \pm standard error, Dose = 50mg/kg b) n.d. = not detected

Table 6 Distribution of CS-1170 in gastro-intestinal tracts after subcutaneous administration to rats (50 mg/kg, n = 3)

Section	% to Dose							
	7.5min.	15min.	30min.	1 hr	2 hr	3 hr	6 hr	24hr
Stomach	0.2	1.0	2.8	4.0	2.4	1.7	1.9	0.1
Upper intestine	0.5	3.0	8.5	13.8	9.3	8.4	0.7	0.2
Middle intestine	0.3	2.1	7.6	28.0	15.5	5.4	0.8	0.1
Lower intestine	0.2	2.7	12.4	17.3	22.9	9.2	3.8	0.2
Total % \pm SE	1.3 \pm 0.4	8.7 \pm 1.2	31.3 \pm 4.2	63.0 \pm 7.0	50.0 \pm 3.6	24.6 \pm 9.1	7.1 \pm 5.5	0.6

化管内に高濃度に分布することを示しており、投与30分後までは小腸上部に最も高く、1時間後には腸管中部に最高（投与量の28%）となり、この時点の全消化管内には投与量の約63%が分布した。さらに2時間後には腸管下部に最高量（投与量の23%）が存在し、3時間以後消化管から減少した。これらの結果は先述の尿、糞中排泄の結果と一致し、CS-1170のラットにおける排泄に胆汁排泄の寄与が大きいことを示している。

4. ラット、ウサギおよびイヌにおける胆汁中排泄

CS-1170の胆汁排泄率をCefazolinその他を対照とし、ラット、ウサギおよびイヌにつき胆管カニューレ法を用いて比較した。いずれも50mg/kgを皮下注あるいは筋注投与した後の胆汁中濃度をBioassayにより経時的に測定した結果をFig. 6, 7および8に示す。また投与後24時間までの総排泄率ならびに最高胆汁中濃度をTable 7にまとめた。

ラットにCS-1170を皮下注投与後、きわめてすみやか

Fig. 7 Bile concentrations of CS-1170 and cefazolin after intramuscular administration to rabbits

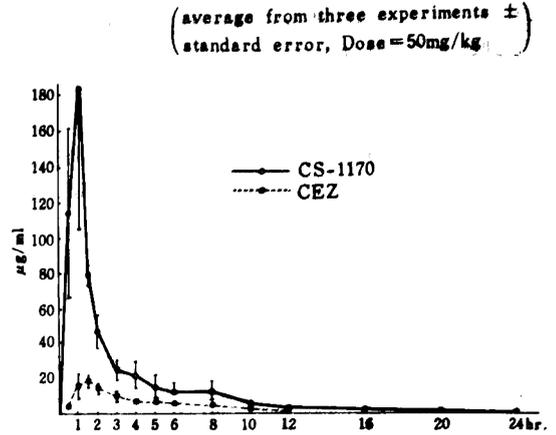


Fig. 6 Biliary excretion of CS-1170, cefazolin, cefoxitin and cephaloridine after subcutaneous administration to rats

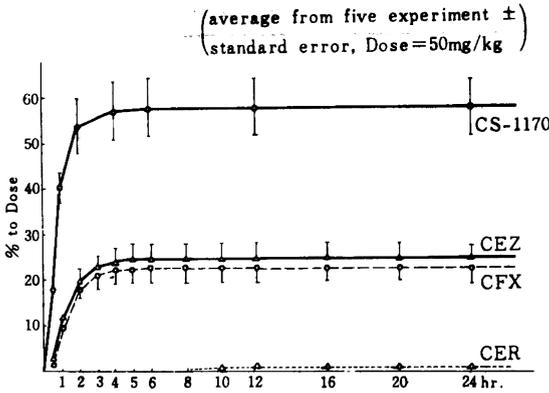


Fig. 8 Biliary excretion of CS-1170 and cefazolin after intramuscular administration to beagle dogs

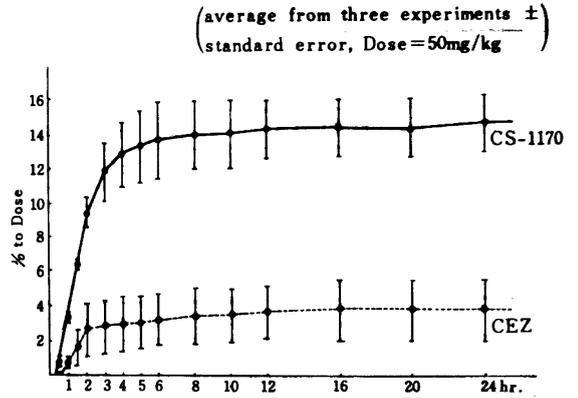


Table 7 Biliary excretion of CS-1170 and some other cephalosporin antibiotics in rats, rabbits and dogs

Animal species	CS-1170 ^{a)}		Cefazolin ^{a)}		Cefoxitin ^{a)}		Cephaloridine ^{a)}	
	Total excretion ^{a)} (%)	Peak concn. (μg/ml)	Total excretion ^{a)} (%)	Peak concn. (μg/ml)	Total excretion ^{a)} (%)	Peak concn. (μg/ml)	Total excretion ^{a)} (%)	Peak concn. (μg/ml)
Rat (sc) ^{b)}	58.02 ± 6.52	3850.0 ± 278.4	24.82 ± 2.55	2836.0 ± 472.6	22.54 ± 3.12	2269.0 ± 368.8	0.70 ± 0.06	45.5 ± 2.0
Dog (im) ^{b)}	14.63 ± 1.56	3383.3 ± 651.8	3.82 ± 1.78	2248.3 ± 1310.6	—	—	—	—
Rabbit (im) ^{b)}	1.35 ± 0.31	183.8 ± 67.9	0.28 ± 0.03	18.3 ± 3.4	0.28 ± 0.05	21.8 ± 4.5	0.32 ± 0.04	19.8 ± 2.8

a) percent to dose excreted during 24 hr

b) sc=subcutaneous, im=intramuscular

c) average from three to five experiments ± standard error, Dose=50mg/kg

に胆汁中に排泄され、投与後1時間で投与量の約40%が、24時間までに約60%が胆汁中に排泄された。これに対し Cefazolin と Cefoxitin の胆汁中排泄は低く、1時間までに投与量の約10%が、24時間までに22~25%が排泄されるにとどまった。また Cephalaridine はほとんど胆汁中に排泄されず、24時間までの総排泄量は投与量の0.7%に過ぎなかった。

ウサギにおける胆汁中排泄はラットに比較していずれも著しく低く、CS-1170皮下注後24時間までの総排泄量は投与量の約1.3%であり、一方 Cefazolin, Cefoxitin および Cephalaridine はいずれも約0.3%に過ぎなかった。しかし胆汁中濃度を比較すると、Fig. 7 に示すように CS-1170 は投与直後から約12時間におたり他剤より著しく高値を示し、最高濃度は他剤の約10倍の高濃度 (約184 $\mu\text{g/ml}$) を示した。

イヌについては CS-1170 と Cefazolin を比較したが、筋注投与後の胆汁中排泄率はいずれもラットとウサギの中間値を示した。CS-1170 は投与後3時間および24時間までに投与量の約12%および15%が排泄され、これに対し Cefazolin は約3%および4%の排泄にとどまった。胆汁中濃度は CS-1170, Cefazolin とともに投与後1~3時間に最も高く、平均の最高濃度は CS-1170 の3383 $\mu\text{g/ml}$ に対し、Cefazolin は2248 $\mu\text{g/ml}$ であった。なお1例のイヌについて同一動物による比較実験を行なったが、24時間の総排泄量は CS-1170 の排泄率14.3%に対し、Cefazolin は1.1%の排泄を示すに過ぎなかった。

以上の結果から、CS-1170 の胆汁中排泄には著しい動物種差が存在し、その寄与はラットにおいて著しく高く、イヌがこれに次ぎ、ウサギにおいて最も低く、きわめて低率となることが明らかとなった。しかしいずれの動物においても CS-1170 は Cefazolin その他のセファロsporin 系他剤に比較して胆汁中排泄が著明に高いことが示された。

5. サルに CS-1170- ^{14}C を静注ならびに筋注投与後の血中濃度、尿、糞中排泄ならびに血中、尿、糞中代謝物

以上の結果から CS-1170 の動物体内動態には著しい種差が存在し、とくにラットにおいては肝臓への分布と胆汁中排泄の寄与が高く、その結果血中濃度ならびに尿中排泄率が低下することが明らかとなった。これに対しサルにおいては血中濃度、尿中排泄率、ともに高く、ヒトのモデルとして最も適すると予想され、以下 ^{14}C 標識 CS-1170 を用いてサル体内動態を詳細に検討した。

i) 血中濃度

3例のカニクイザルに CS-1170- ^{14}C 50mg/kg を静注ならびに筋注投与後の血清中濃度を放射能の計数と Bioassay の両法により、経時的に定量した結果を Table 8 および Fig. 9 および 10 に示す。

静注投与後、血清中濃度は5分後に最高濃度436 $\mu\text{g/ml}$ (Radioassay) および352 $\mu\text{g/ml}$ (Bioassay) を示し、投与30分後には Radioassay, Bioassay それぞれ187および101 $\mu\text{g/ml}$ 、180分後にはそれぞれ27および4.2 $\mu\text{g/ml}$ となった。血清からの減衰曲線 (Fig. 9) は投与後20分前後を境に2相性を示し、消失の半減期 ($t_{1/2}$) は3例平均で約48分 (Radioassay) および32分 (Bioassay) であった。

筋注投与後の血清中濃度は投与10分後に最高となり、Radioassay および Bioassay によりそれぞれ約185および148 $\mu\text{g/ml}$ に達し、投与部位からの吸収がきわめてすみやかであることを示した。以後徐々に減少するが30分後においても100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度が保持され、投与180分後に Radioassay, Bioassay それぞれ約11および3 $\mu\text{g/ml}$ に低下した。血清中からの消失半減期は3例平均で約37分 (Radioassay) および32分 (Bioassay) であり、静注投与後とほぼ一致する値を示した。

静注ならびに筋注投与後いずれも全時点において、

Table 8 Serum concentrations of CS-1170 after intravenous and intramuscular administration of CS-1170- ^{14}C to crab-eating monkeys

Route of administration		$\mu\text{g/ml} \pm \text{SE}^a)$							
		5 min.	10min.	20min.	30min.	60min.	120 min.	180min	360min.
Intravenous	Radioassay	436.2 ± 37.3	292.6 ± 23.9	224.0 ± 19.3	186.7 ± 25.1	123.7 ± 25.4	55.3 ± 15.9	26.8 ± 6.4	13.0 ± 0.8
	Bioassay	352.0 ± 50.8	197.3 ± 17.5	142.9 ± 17.2	100.8 ± 16.0	68.0 ± 17.9	17.3 ± 10.2	4.2 ± 1.8	n.d.
Intramuscular	Radioassay	168.5 ± 4.2	184.5 ± 5.6	178.2	139.9 ± 1.3	88.8 ± 13.7	24.2 ± 2.6	11.2 ± 1.4	4.4 ± 0.4
	Bioassay	132.5 ± 9.0	147.5 ± 10.7	122.0	113.8 ± 29.3	61.2 ± 9.2	8.4 ± 0.6	2.7 ± 0.2	n.d.

a) average from three experiments \pm standard error, Dose=50mg/kg

b) n.d.=not detected

Radioassay 値に比較して Bioassay 値がやや低値を示し、筋注投与60分後までを見ると後者は前者の平均75.5%の値であった。これは、Radioassay 値が血清中に存在する CS-1170-¹⁴C の総量を表わすのに対し、Bioassay 値は Buffer standard を基に算出するため、血清蛋白との結合(約80%)の影響が現われ、見掛け上低値になるものと解釈される。

ii) 尿、糞中排泄

同様に CS-1170-¹⁴C 50mg/kg をサルに静注および筋

注投与した後の Radioactivity ならびに Bioactivity の尿糞中排泄率を経時的に求めた結果を Table 9 および Table 10 に示す。

静注投与後の尿中には、3 および 6 時間までに投与量のそれぞれ約60および70% (Radioassay 値)、約56および63% (Bioassay 値) が排泄され、24時間までには約72% (Radioassay) および63% (Bioassay) が排泄された。さらに96時間(4日)までの総排泄率は投与放射能の約76%であった。一方、筋注投与後もほぼ同様な排泄率を

Fig. 9 Serum concentrations of CS-1170 after intravenous administration to crab-eating monkeys

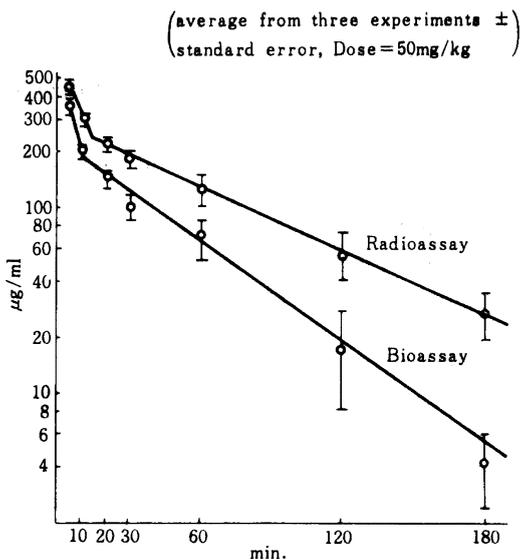


Table 9 Urinary and fecal excretion of CS-1170-¹⁴C after intravenous administration to crab-eating monkeys

Collection (hr)	Excretion (% to Dose) ^{a)}			
	Radioassay		Bioassay	
	Urine	Feces	Urine	Feces
0-6	69.37	—	62.92	—
6-24	2.86	0.68	0.27	0.14
24-48	1.57	0.31	n.d. ^{b)}	0.05
48-72	1.08	14.21	n.d.	2.64
72-96	0.94	2.96	n.d.	0.43
Total excretion	75.82 ± 3.69	18.16 ± 2.53	63.19 ± 2.66	3.26 ± 1.44
Total recovery	93.99 ± 1.23		66.44 ± 2.06	

a) average from three experiments ± standard error, Dose=50mg/kg

b) n.d.=not detected

Fig. 10 Serum concentrations of CS-1170 after intramuscular administration to crab-eating monkeys

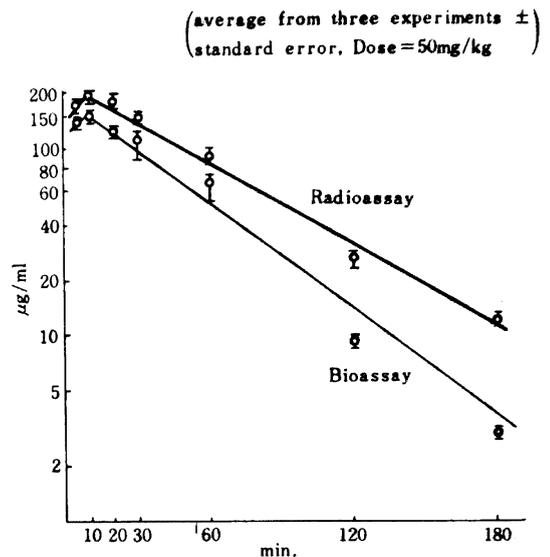


Table 10 Urinary and fecal excretion of CS-1170-¹⁴C after intramuscular administration to crab-eating monkeys

Collection (hr)	Excretion (% to Dose) ^{a)}			
	Radioassay		Bioassay	
	Urine	Feces	Urine	Feces
0-6	72.91	—	76.16	—
6-24	2.32	0.02	0.35	n.d. ^{b)}
24-48	0.99	2.67	n.d.	2.21
48-72	1.20	11.62	n.d.	3.19
72-96	0.65	1.36	n.d.	0.09
Total excretion	78.06 ± 7.73	15.66 ± 5.81	76.51 ± 8.58	5.48 ± 1.86
Total recovery	93.72 ± 6.26		81.99 ± 12.53	

a) average from three experiments ± standard error, Dose=50mg/kg

b) n.d.=not detected

示し、投与3および6時間までに投与放射能の約68および73%が尿中に排泄され、Bioassay値も約72および76%を示し、二法による値がよく一致した。96時間までの尿中総排泄率はRadioassay, Bioassayともに77~78%を示した。これらの結果はCS-1170のサルにおける吸収、排泄がともにすみやかで、投与後3時間以内にその大部分、80~90%が排泄されることを示し、またこのようにRadioassay値とBioassay値がよく対応することは、CS-1170が尿中にほとんどが活性型として排泄されることを示唆している。

一方、糞中には静注ならびに筋注投与96時間後までに投与放射能のそれぞれ約18および16%が排泄され、Bioassayによりそれぞれ投与量の3.3および5.5%が活性型として検出された。これはCS-1170の胆汁中排泄に由来するものと考えられ、サルについてもイヌと同程度、15%以上の胆汁中排泄が起こることを示唆する。以上の結果、尿糞中の放射能の総回収率は静注、筋注後ともに4日間で投与量の約94%に達した。

なお、3例のうち1例につきCS-1170-¹⁴C 50mg/kgを筋注後の呼気中への¹⁴CO₂の排泄を測定した結果、きわめて微量の放射能が検出されたのみで、24時間までの累積排泄率は投与量の1.3%に過ぎなかった。

iii) 血清中代謝物

サルにCS-1170-¹⁴C 50mg/kgを筋注投与後の血清につき、除蛋白後の放射能をTLC分離した結果、Fig. 11に示すごとく、投与5~60分後の血清についていずれもオートラジオグラム上CS-1170に一致してただ1個の放射性スポットを示すのみで、ほかに有意な放射性スポットは全く検出されなかった。

これらのTLCプレートを原点部分およびCS-1170相当部分を含め、全体を8個のZoneに分けて計数した結

果、Table 11に示すようにCS-1170対応部分以外には有意な放射能はほとんど検出されず、CS-1170の占める比率は投与1時間後までの血清中放射能のいずれも94~99%であった。

以上の結果から、CS-1170投与後のサル血液中にはほぼ完全に無変化CS-1170の形で循環することが示された。

iv) 尿中ならびに糞中代謝物

サルにCS-1170-¹⁴C 50mg/kgを筋注投与後の0~3および3~6時間尿についてTLC Bioautogramを作成した結果はFig. 12に示すごとく、いずれもCS-1170に一致してただ1個の阻止円を示すのみで、活性代謝物

Table 11 Serum metabolites of CS-1170 after intramuscular administration of CS-1170-¹⁴C to crab-eating monkeys

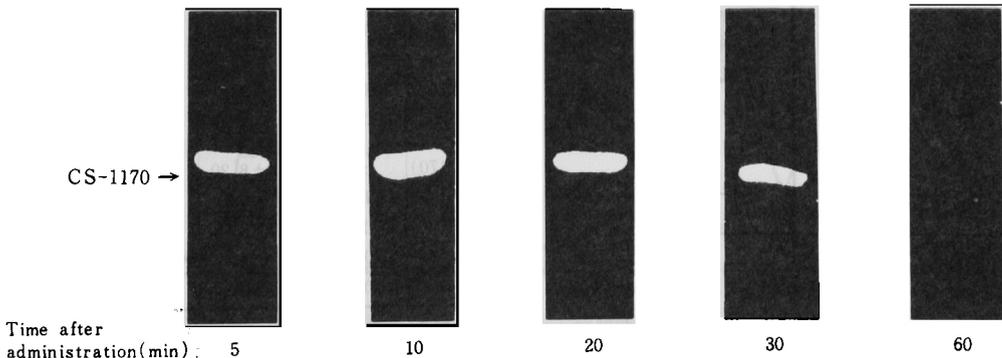
TLC zone ^{b)}	% to Total radioactivity ^{a)}				
	5min.	10min.	20min ^{c)}	30min.	60min.
1 (origin)	0.05	0.40	0.51	0.29	0.39
2	0.02	0.47	0.53	0.78	1.17
3	0.53	0.67	0.32	0.70	1.22
4	—	0.12	0.55	0.08	0.20
5	98.73	96.88	95.86	94.64	93.95
(CS-1170)	±1.17	±1.50		±0.95	±2.08
6	0.43	0.50	0.34	0.88	0.18
7	0.17	0.93	0.83	0.87	1.21
8	0.08	0.03	0.88	1.75	1.66

a) average from three experiments ± standard error, Dose=50mg/kg

b) TLC condition: silica-gel F₂₅₄ plate with solvent system of n-Butanol-Acetic acid-Water-Ethanol(150:25:30:50)

c) n=2

Fig. 11 TLC autoradiograms of serum radioactivity after intramuscular administration of CS-1170-¹⁴C to crab-eating monkeys (Dose=50mg/kg)

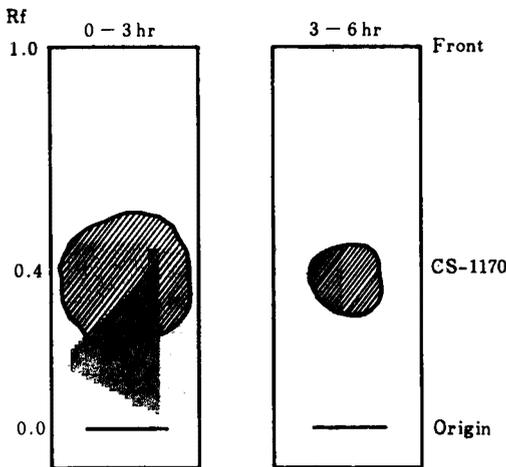


は存在しなかった。¹⁴C-Autoradiogram 上においても、主スポットとしてはCS-1170に対応して1個の放射性スポットを与え、スキュノグラムは大部分が未変化CS-1170であることを示した (Fig.14-A)。しかしその他に微量ながら2-3個の放射性スポットが検出された。

静注投与後の尿についても全く同様な結果が得られた。そこで0-3時間および3-6時間尿につき、TLCプレートを原点からCS-1170とこれらの微小放射能を含む8個(静注)および12個(筋注)のZoneに分割し、各Zoneの放射能を計数した。その結果はそれぞれTable 12および13に示すごとくであり、0-3時間尿については少なくとも92%以上は無変化CS-1170として排泄されることが示された。3-6時間尿においては無変化体としての比率が低下するが、総排泄量が低いため0-6時間尿についても大部分、その90%以上がCS-1170として排泄されることが明らかである。

CS-1170以外のスポットについては、放射能の占める比率が0-3時間尿に比較して3-6時間尿において増加することから、CS-1170の代謝物あるいは分解物に由来するものと考えられる。しかしその量はきわめて少なく、0-6時間尿中にCS-1170が投与量の約67%排泄されるに対し、いずれも投与量の最大1.3%以下であるに過ぎず、CS-1170はサル体内においてほとんど代謝を受けず、活性型のまま尿中に排泄されるものと見なすことができる。

Fig. 12 Bioautograms of urine after intramuscular administration of CS-1170-¹⁴C to crab-eating monkeys



Silicagel F254 thin-layer plate;
Solvent system: n-Butanol-Acetic acid-Water-Ethanol(15:2.5:3:5); Test organism: *Staphylococcus aureus* 209-P

この点をさらに明確にする目的で尿を二次元TLC分離し、Autoradiogram および Bioautogram を作成した。その結果、Fig. 13に示すごとく、CS-1170に対応する主スポットの周辺に3個のきわめて微弱な放射性スポットが検出されたが、Bioautogramの結果ではCS-1170部分に阻止円を示すのみであった。これら3つのスポットについて、予想代謝物として下記4化合物 (II~V) の標品とRf値を比較したが、いずれも一致しなかった。

糞中代謝物については静注投与48-72時間に採取した

Table 12 Urinary metabolites of CS-1170 after intravenous administration of CS-1170-¹⁴C to crab-eating monkeys

TLC zone	% to Total radioactivity ^{a)}			
	0-3 hr Urine		3-6 hr Urine	
	% on TLC	% to Dose	% on TLC	% to Dose
1 (origin)	0.05	0.03	0.97	0.06
2	0.37	0.22	2.18	0.20
3	0.34	0.20	2.26	0.16
4	0.50	0.31	2.65	0.20
5 (CS-1170)	97.29 ±0.36	58.82 ±2.83	87.18 ±2.59	7.98 ±3.64
6	1.12	0.67	2.78	0.24
7	0.20	0.12	1.15	0.08
8 (top)	0.12	0.07	0.30	0.02

a) average from three experiments ± standard error, Dose=50mg/kg

Table 13 Urinary metabolites of CS-1170 after intramuscular administration of CS-1170-¹⁴C to crab-eating monkeys

TLC zone	% to Total radioactivity ^{a)}			
	0-3 hr Urine		3-6 hr Urine	
	% on TLC	% to Dose	% on TLC	% to Dose
1 (origin)	0.43	0.27	2.22	0.08
2	0.50	0.32	1.98	0.09
3	0.66	0.41	2.94	0.15
4	1.68	0.99	6.75	0.34
5	0.26	0.17	1.83	0.09
6	1.52	0.94	7.01	0.27
7	0.80	0.48	3.26	0.14
8 (CS-1170)	92.18 ±4.40	63.10 ±8.20	68.23 ±5.16	3.54 ±1.56
9	1.42	0.89	3.53	0.18
10	0.33	0.21	1.44	0.06
11	0.17	0.11	0.70	0.03
12 (top)	0.06	0.05	0.12	0.01

a) average from three experiments ± standard error, Dose=50mg/kg

糞につき放射能を抽出し、TLC分離を行なった。Fig. 14は尿(0~3時間)と糞中放射能のTLCアクチグラムを示すもので、尿についてはCS-1170に対応して強い1本のピークを示すのみであるが、糞についてはTLC上CS-1170より高Rf値域に代謝物と思われる強いピークを示した。しかしBioautogramによつては、糞についてもCS-1170相当部分にただ1個の阻止円を示すのみであった。Autoradiogram上にはその他に3~4個の放射性スポットが検出され、尿におけると同様にTLCプレートを8個のZoneに分けて計数した結果、Table 14に示す

Fig. 13 Two-dimensional TLC bioautogram and autoradiogram of monkey urine after intramuscular administration of CS-1170-¹⁴C

Solvent system : 1st : Acetone-Ethylacetate-Acetic acid-Water (150:80:15:30)
2nd : n-Butanol-Acetic acid-Water-Ethanol (150:25:30:50)

Dose=50mg/kg, 0-3 hr urine

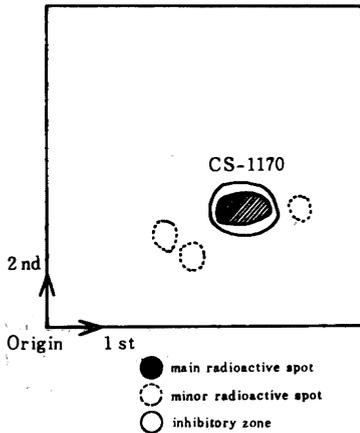
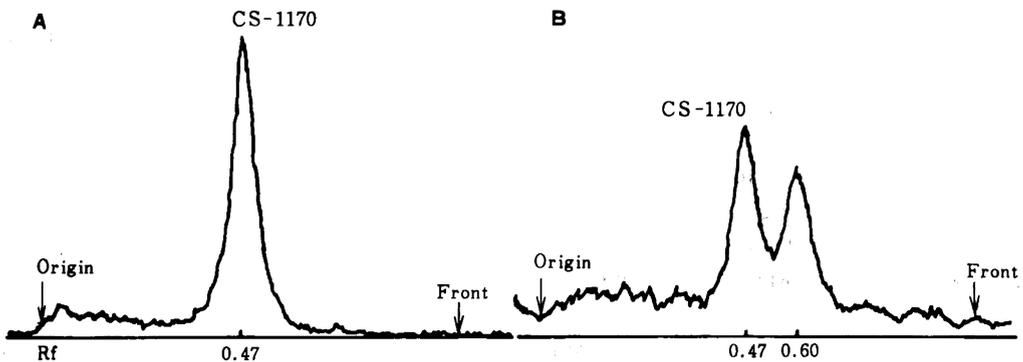


Fig. 14 Radioactigrams of urinary(A) and fecal(B) radioactivity after intravenous administration of CS-1170-¹⁴C to crab-eating monkeys



Urine : 0-3 hr, Feces : 48-72hr, Dose=50mg/kg, silica gel thin-layer plate F₂₅₄,
Solvent system : n-Butanol-Acetic acid-Water-Ethanol (15 : 2.5 : 3 : 5)

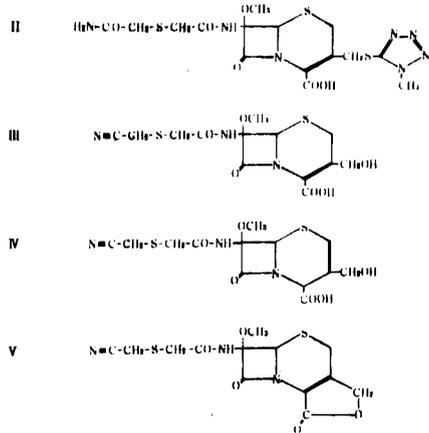


Table 14 Fecal metabolites of CS-1170 after intravenous administration of CS-1170-¹⁴C to crab-eating monkeys

TLC zone	% to Total radioactivity ^{a)}	
	% on TLC	% to Dose
1 (origin)	2.32	0.27
2	4.97	0.61
3	7.68	0.99
4	9.77	1.38
5 (CS-1170)	36.76 ± 4.50	5.39 ± 1.40
6	32.48 ± 4.16	4.70 ± 1.06
7	4.97	0.72
8 (top)	1.05	0.15
Total		14.21 ± 2.68

a) average from three experiments ± standard error, 48-72hr fecal sample, Dose=50mg/kg

ごとく、無変化 CS-1170が糞中放射能の約37%を占め、次いで上記の代謝物ないし分解物が約33%を占めた。

III. 考 按

CS-1170は新しいセファマイシン系抗生物質として7位に Methoxyl 基をもち、抗菌力がとくにグラム陰性菌に対してすぐれると同時に、 β -lactamase に対する抵抗性が強いという特長を有している。しかし一方、治療場における抗菌剤としての価値は、安全性とともにその体内動態の性質に依存するところが大きい⁹⁾。

本報では実験動物としてマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルについて CS-1170を投与後の体内動態を比較した結果、動物の間に著しい種差が見出され、これらの動物のうちサルがヒトの最もよいモデルとなることを明らかにした。

いま50mg/kgを皮下注または筋注投与後の血漿中最高濃度はラットで最も低く約27 μ g/mlであり、マウスとウサギで約43 μ g/ml、イヌで71 μ g/mlに増加し、サルで最も高値の約150 μ g/mlを示した。一方、尿中排泄率についてもラットで最も低く約22%、マウスとイヌで約60%、ウサギで約65%に増加し、サルで最も高い約77%が尿中に回収された。このような種差は主として胆汁中排泄の寄与の差に由来するものと考えられ、事実ラット、ウサギ、イヌを用いて胆汁中排泄率を比較した結果、ウサギ(約1.4%)<イヌ(約15%)<ラット(約60%)の順に著明に増加し、尿中排泄率の差をよく説明することができた。

胆汁中排泄率はとくにラットにおいて高く、体内分布を調べた結果もこれを支持した。すなわち、ラットに投与後 CS-1170は肝と腎に最も高濃度に分布し、血漿中濃度は肝臓中濃度の数分の1に過ぎなかった。これは CS-1170が肝への濃縮を経て胆汁中に高率に排泄される過程を反映するものと解釈され、他剤たとえば Cefazolin⁵⁰⁾においては肝臓中濃度が血漿中濃度の数分の1である点で顕著な分布像の差を示した。マウスにおいても同様な傾向が認められ、これらの点は齧歯類を用いる抗菌力の評価に当て注意を要する点と考えられる。

一方血中半減期についても動物による差が大きく、この場合はイヌが最も長く約70分、続いてサル約40分、ラット約30分、ウサギ28分、マウス16分の順序となった。したがってウサギの最高血中濃度がイヌより低値であることは、イヌに比較して血中からの消失が著しく早いことによって説明される。血清蛋白との結合率を比較した結果は、サル(76%)>ウサギ>ラット~マウス>イヌ(25%)の順であり、上記の血中半減期の順序と全く無関係であった。したがって CS-1170の血中濃度の高低および持続性を決める上に、蛋白結合率は大きな因子とはなら

ないことを示すものと考えられる。

一般に薬物の胆汁中排泄率には分子の極性などの性質のほかに分子量が関係し、分子が大きいほど排泄されやすくなるが、この閾値に動物種差があり、一般にラットでは約325 \pm 50、イヌでは約350 \pm 50、ウサギでは475 \pm 50、サルでは約500とされている⁷⁾。CS-1170の分子量は free 体として470であり、分子のその他の性質も含めてちょうど胆汁中排泄にこのような種差が著明に現われる大きさに当る結果と解釈される。これが7位 Methoxyl 基の存在によるものでないことは Cefoxitin との比較実験から明らかで、ラット、ウサギのいずれにおいても CS-1170より排泄率は低く、Cefazolin と同程度であった。

Cefazolin についてはラット、ウサギ、イヌについて胆汁中排泄率がそれぞれ23.5% (sc)、0.6% (im) および3.3% (im) と報告されており⁹⁾、今回の結果はこれらの値とよく一致した。一方、Cefazolin の胆汁中濃度をウサギとヒトについて他剤と比較した結果からは、胆汁中濃度は Cefazolin が最も高く、胆道疾患への適用が指摘されている⁹⁾。今回の比較実験の結果、ラット、イヌ、ウサギのいずれにおいても CS-1170の胆汁中排泄率(濃度)が Cefazolin より著明に高く、同様な関係はサルおよびヒトにおいても成立つことが予想され、CS-1170が胆道感染症に対しても臨床的に有効な薬剤たりうることが示唆された。

以上の結果から CS-1170の体内動態はサルがヒトに最も近いことが予想され、¹⁴C 標識体を用いて Radioassay と Bioassay を併用することによりサル体内動態を詳細に検討した。事実、ヒトについては第 I 相試験の結果⁹⁾、筋または静注後、高い血中濃度を与え、また投与量の85~93%が尿中に回収され、サルよりもさらに高い尿中排泄率が示されている。

サルに CS-1170-¹⁴C を筋注、静注後ともに尿中への排泄はすみやかで、6時間後までに投与放射能の70~80%が排泄され、その大部分は初期3時間までに排泄された。Bioassay 値もこれとよく一致し、CS-1170が尿中に活性型として排泄されることが示された。放射能による尿、糞中総回収率は静注、筋注後ともに95%に達し、体内への残留性はないものと見なされる。一方、呼気中へ¹⁴CO₂の排泄はきわめてわずかで、CS-1170の7位 Methoxyl 基が生体内できわめて安定であることを示している。なお、糞中排泄の時間経過はやや遅く、投与48~72時間後に排泄のピークを示したが、これは実験条件として絶食後に投与していることが主因と考えられ、事実モデル実験として同一条件下に BSP-³⁵S を静注後の糞中排泄(胆汁中排泄経由)の時間経過を調べたところ、投与96~120時間後に排泄のピークが見られた。

血清中濃度については、筋注10分後に最高濃度に達したが、Radioassay 値185 $\mu\text{g/ml}$ に対しBioassay 値は148 $\mu\text{g/ml}$ とやや低く、以後もBioassay 値が25%前後低値を示した。これはRadioassay 値が血中の総量を表わすのに対し、Bioassay 値は血清をリン酸緩衝液にて3倍希釈した試料につき、CS-1170標品の緩衝液標準溶液の検量線を基にして算出しているため、血清蛋白との結合が希釈により完全に遊離せず、一部が不活性型の状態で測定されるためと解釈される。血清中にCS-1170として存在することは ^{14}C によるTLC Autoradiogramにより確かめられ、その計数からほぼ完全に無変化体として血中を循環することが明確にされた。

血清中からの消失の半減期はBioassay 値約32分、Cefazolin(53分)より短く、Cefoxitin(23分)、Cephalthin(16分)より長い値であった。健康成人による第I相試験の結果⁹⁾、ヒトにおける血中半減期は約60分であり、サルより長く、この点ではイヌ(69分)により近いものと見なすことができる。

尿についてはTLC Bioautogram上、CS-1170に相当するただ1個の阻止円を示すのみで、活性代謝物は全く検出されなかった。しかし2次元TLC Autoradiogramからは、CS-1170に相当する主スポットのほか、きわめて微弱ながら3個の放射性スポットの存在が見出された。しかしいずれも量的にはきわめて少なく、計数結果から静注投与3時間尿中の1%以下を占めるに過ぎず、97%以上が無変化CS-1170であることが確認された。これらの微小スポットは、使用した ^{14}C 標識体の放射化学的純度が96~97%であることから無視できる量と見なされ、したがってCS-1170は体内でほとんど代謝を受けずに尿中に排泄されるものと考えられる。なお、別に7位側鎖Cyanomethylthio- ^{35}S 標識体を用いてサルの尿を調べた結果、予想されたシアノメチルチオ酢酸など7位側鎖代謝物の生成は全く検出されず、3時間尿中の98%以上が無変化CS-1170として検出されている。

一般にcephalosporin系の他剤は腸内細菌によって容易にラクタム環が開裂され、糞中には活性型は全く検出されないのが普通である¹⁰⁾。これに対しCS-1170は β -lactamase抵抗性のため、腸内細菌によっては分解されにくいものと予想される。事実、今回の結果からサル糞中放射能の約40%が無変化型として回収されることが示され、したがって胆汁中に排泄されたCS-1170は腸腔内を少なくとも一部は活性型で通過することが示唆される。腸内細菌のモデルとしてCS-1170- ^{14}C をサル新鮮糞ホモジネート(50%, pH 7.0)中、37 $^{\circ}\text{C}$ 1時間インキュベートした結果、TLC上CS-1170以外の分解物はほとんど認められなかった。一方、アルカリ性pHにおいては

CS-1170は容易に化学的分解を受ける。したがってサル糞中の約34%を占める非活性代謝物については、腸腔内を通過中にCS-1170の一部が化学的にアルカリ分解を受けたものと推察され、ラクタム環の開裂した構造をもつ不活性体と推定される。

IV. 総括

(1) CS-1170の体内動態をマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルについて調べた結果、動物により著しい種差が存在し、サルがヒトの最もよいモデルとなることがわかった。

(2) 皮下注あるいは筋注投与後(50mg/kg)の尿中排泄率は、ラット(22%) < マウス~イヌ(60%) < ウサギ(64%) < サル(77%)の順に増加し、最高血中濃度もラットで最も低く(約27 $\mu\text{g/ml}$)、サルで最も高値(約150 $\mu\text{g/ml}$)を示した。

(3) これらの種差の主因は胆汁中排泄の寄与にあり、事実胆管カニューレからの排泄はウサギ(1.3%)、イヌ(15%)、ラット(60%)の順に増加した。排泄率(濃度)はいずれの動物においてもCefazolinより著明に高かった。

(4) サルにCS-1170- ^{14}C を筋注投与後の血中には95~99%が無変化CS-1170として検出され、血中からの消失半減期は48分(Radioassay)および32分(Bioassay)であった。

(5) サルに静注ならびに筋注投与後の尿中排泄はすみやかで、投与放射能の約77%が尿中に回収され、Bioassay 値もこれと一致した。一方糞中には16~18%が排泄され、3~6%が活性型として検出された。

(6) サルに静注投与後、尿中放射能の97%以上が無変化CS-1170として検出され、活性代謝物は存在しなかった。したがってCS-1170はサル体内で代謝されずに尿中に排泄されるものと考えられる。一方糞中放射能の約37%がCS-1170として存在し、ほかに約34%を占める不活性の分解物が存在した。

文 献

- 1) NAKAO, H.; H. YANAGISAWA, B. SHIMIZU, M. KANEKO, M. NAGANO & S. SUGAWARA: A new semisynthetic 7 α -methoxycephalosporin, CS-1170: 7 α -[(cyanomethyl)thio]acetamido]-7 α -methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio]methyl]-3-cephem-4-carboxylic acid. J. Antibiotics 29: 554~558, 1976
- 2) 菅原眞一, 田島政三, 五十嵐勇, 宇津井幸男, 大屋哲, 中原正城: 新セファマイシン系抗生物質CS-1170の抗菌活性. Chemotherapy 26 (S-5): 81~98, 1978
- 3) 第25回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウムII CS-1170. 1977, 岡山

- 4) NIGHTINGALE, C. H. ; D. S. GREENE & R. QUINTILIANI : Pharmacokinetics and clinical use of cephalosporin antibiotics. *J. Pharm. Sci.* 64 : 1899 ~1927, 1975
- 5) NISHIDA, M. ; T. MATSUBARA, T. MURA KAWA, Y. MINE, Y. YOKOTA, S. GOTO, S. KUWABARA : Cephazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. III. Absorption, excretion and tissue distribution in parenteral administration. *J. Antibiotics* 23 : 184~194, 1970
- 6) KOZATANI, J. ; M. OKUI, K. NODA, T. OGINO & H. NOGUCHI : Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. V. Distribution of cefazolin-¹⁴C in mice and rats after parenteral administration. *Chem. Pharm. Bull.* 20 : 1105 ~1113, 1972
- 7) HIROM, P. C. ; P. MILLBURN, R. L. SMITH & R. T. and R. T. WILLIAMS : Species variations in WILLIAMS : Species variations in the threshold molecular-weight factor for the biliary excretion of organic anions. *Biochem. J.* 129 : 1071 ~1077, 1972
- 8) BROGARD, J. M. ; M. DORNER, M. PINGET, M. ADLOFF & J. LAVILLAUREIX : The biliary excretion of cefazolin. *J. Infect. Diseases* 131 : 625 ~633, 1975
- 9) 真下啓明, 国井乙彦, 深谷一太, 谷 莊吉, 原中勝征, 渡部迪男, 小松 喬, 里見信子 : CS-1170に関する基礎的臨床的研究。 *Chemotherapy* 26 (S-5) : 193~202, 1978
- 10) KOZATANI, J. ; M. OKUI, T. MATSUBARA & M. NISHIDA : Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. VI. Excretion and metabolism of cefazolin-¹⁴C in rats after intramuscular administration. *J. Antibiotics* 25 : 86 ~93, 1972

ABSORPTION, DISTRIBUTION, EXCRETION AND METABOLISM OF A NEW CEPHAMYCIN ANTIBIOTIC, CS-1170, IN VARIOUS ANIMAL SPECIES

HIDEYO SHINDO, KENJI KAWAI, TOSHIHIKO MAEDA, ISAMU IGARASHI,
MASAZO TAJIMA and SHINICHI SUGAWARA
Central Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

Pharmacokinetics and metabolic fate of CS-1170 were studied in mice, rats, rabbits, dogs and monkeys. It was found that there is a large species variation in the blood levels and urinary excretion and that monkey is the most suitable model for human pharmacokinetics.

After subcutaneous or intramuscular administration (50mg/kg), the urinary recovery was lowest in rats (22 %) followed by mice and dogs (60 %) and rabbits (64 %), while highest in monkeys (77 %). The peak plasma concentration was also lowest in rats (27 μ g/ml) and highest in monkeys (150 μ g/ml).

The species difference was found to be mainly due to that in the participation of biliary excretion and the excretion in cannulated animals was in the order: rabbits (1.3 %) < dogs (15 %) < rats (60 %).

The concentration in the bile was significantly higher in CS-1170 as compared to cefazolin in all animals tested.

The distribution studies in rats and mice showed that the concentration of CS-1170 was high in the liver and kidney, followed by the plasma and lung, while low in the muscles, pancreas and spleen and none in the brain.

The fate of CS-1170 in monkeys was studied in detail by bio- and radioassay with 7 α -methoxyl-¹⁴C-labeled drug. The plasma level of radioactivity after intramuscular injection reached the maximum after 10 min and declined afterward with half-life of 48 min. In the plasma extracts, a single radioactive spot corresponding to CS-1170 was detected on TLC. Over 75 % of the intravenous or intramuscular dose was recovered in the urine by both radio- and bioassay, the most part being excreted during the first 3 hr. In the TLC autoradiogram of urine, the main radioactive spot was observed corresponding to CS-1170. The counting experiment revealed that over 97 % of the urinary radioactivity in the 3 hr urine is intact CS-1170. In the feces, about 15 % of the radioactive dose was recovered in which 30~40 % was detected as intact CS-1170. In the respiratory air, only about 1 % of the dose was excreted as ¹⁴CO₂, indicating that 7-methoxyl moiety is stable in the body.