

Mezlocillin に関する薬理学的研究 (第2報, 生体内動態)

荒谷春恵・山中康光・建石英樹・河野静子

広島大学医学部薬理学教室

まえおき

先に第1報で, Mezlocillin の一般薬理作用について述べた¹⁾。

つづいて, 生体内動態 (体内分布, 尿中, 胆汁内排泄, 胎仔内移行および血清蛋白との結合, 分配係数) を, ラットおよびウサギについて ¹⁴C-Mezlocillin を入手したので生物学的活性ならびに放射活性を併せ検討し, 以下に述べる成績を得た。

実験材料および実験方法

1. 供試薬物

Mezlocillin を用い, 使用する際には, 蒸留水, 生理食塩水, または, M/15 磷酸緩衝液 (pH 6.5) で溶解して用いた。¹⁴C-Mezlocillin (比放射能 10.1 μ Ci/mg) を用いた。

2. 体内分布および胆汁内, 尿中排泄について

体重 200 g 前後 (週令 6~7) の健康雄性 Wistar 系ラットの1群5~7匹について, Mezlocillin の 50~200 mg/kg (原液: 10~40 mg/ml) を, 尾静脈あるいは大腿筋肉内に注射し, 10分, 15分, 20分, 30分, 1時間および2時間後に, 頸動脈を切断して, 採血後, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 肺臓, 心臓, 筋肉 (注射部位および他側大腿筋肉), 脳および十二指腸を摘出し, 出来るだけ速やかに秤量 (1 mg まで) 後, M/15 磷酸緩衝液を加えて, ホモジネート (5~20%) を作り, 3,000 rpm で15分間遠心分離して得られた上清ならびに血清について, 生物学的活性を測定した。

つぎに, 体重 2.5 kg 前後の健康雄性ウサギ (Flemish giant) 1群3羽について, ベントバルビタール・ナトリウム 30 mg/kg で麻酔したものに, Mezlocillin の 50 mg/kg を, 5 mg/ml-30ml/2時間の持続注入および100 mg/ml を one shot 法で静注し, 持続注入の場合は注入開始および終了直後, 5分, 10分, 15分, 30分, 1時間, 2時間, 4時間および6時間後, ならびに, one shot 法の場合は, 注射後5分~6時間後, 頸動脈より採血を行い, その際, ノボヘパリン (20 U/ml) を用いた。

つぎに, 同一ウサギについて, 総胆管にカニューレを挿入し, 流れ出る胆汁を, 0~30分, 30分~1時間, 1

~2時間, 2~3時間, 3~4時間, 4~5時間および5~6時間貯留したものを, M/15 磷酸緩衝液で10倍に希釈し, その生物学的活性を測定した。

尿中排泄についての実験は, ラットにはほぼ15 ml の常水を経口ゾンデを用いて, 強制的に投与し, 20~30分後に, Mezlocillin の 50 mg/kg (原液: 10 mg/ml) を尾静脈あるいは大腿筋肉内に注射し, 0~1時間, 1~2時間, 2~4時間, 4~8時間および8~24時間の蓄尿を採取した。つぎに, 上述のウサギに, 導尿カテーテルを挿入して排尿後, カテーテルを通して流れ出る尿を, 持続注入の場合は, 開始から終了までの尿, ならびに, 終了後0~1時間, 1~2時間, 2~4時間, 4~8時間の貯留尿を採取し, M/15 磷酸緩衝液で20~300倍に希釈し, その生物学的活性を測定した。

糞便中排泄は, 上述のラットを代謝ケージ内で, 尿と糞便を分別して得たものについて, M/15 磷酸緩衝液を用いて, 5~10%のホモジネートとした。3,000 rpm で15分間遠心分離して得られる上清を 95°C で5分間加熱したのについて, その生物学的活性を測定した。

腸内濃度は, 上述のラット (50 mg/kg-i. v. 10分, 15分, 20分, 30分, 1時間および2時間) について, 十二指腸を胃から分離し, 下方にはほぼ5 cm 順次に切断し, それぞれ秤量後, 腸内容をも含めて M/15 磷酸緩衝液でホモジネート (20%) とし, 遠心分離 (3,000 rpm-15分) して得られる上清の生物学的活性を測定した。

3. ¹⁴C-Mezlocillin を用いての実験について

供試された ¹⁴C-Mezlocillin (10.1 μ Ci/mg) を Mezlocillin で50倍に希釈し, 上述のラットおよびウサギに投与し, 同様にして得られた試料の一部について検討した。まず, 同量の 0.8 N 過塩素酸を加えて除蛋白後, 過剰の過塩素酸を, 6 N 炭酸カリウムを加えて pH 5.5 に調整することによって除去し, その上清を一定量に調整し, その 1 ml と triton-fluor 15 ml を加え, Tricarb 型シンチレーションカウンタ (Packard 社製) で測定した。

4. 胎仔内移行

自家妊娠 Wistar 系ラット (第19日) の1群5匹に, Mezlocillin の 50 mg/kg (原液: 10 mg/ml) を大腿筋

肉内に注射し、30分、1時間および2時間後に頸動脈を切断して採血し、速やかに開腹して、胎盤、胎仔、臍帯血（予め滅菌した paper disc に採取し、直ちに密封し、出来るだけ乾燥しないよう留意した）。胎仔血清（同腹の胎仔の頸動脈を切断し、滲み出る血清を集めた）および羊水を分離、採取した。胎仔臓器は同腹のものを一括し、それぞれ秤量し、M/15 磷酸緩衝液でホモジネート（20%）とし、3,000 rpm で15分間遠心分離して得られた上清および血清の生物学的活性を測定した。

5. 代謝物質の検討

上述のラットの尿および糞便について、つぎの方法で抽出液を得た。尿または糞便抽出液 7 ml に、3 N HCl を 0.1 ml および n-ブタノール 15 ml を加え、振盪後、遠心分離された n-ブタノール層を 10 ml とり、磷酸緩衝液 (pH 6.0) 1 ml とオクタン 20 ml を加え、振盪後遠心分離される磷酸緩衝液層を試料とし、5~10 μ l を 105°C、30分間活性化したシリカゲルスポットフィルム（東京化成）に塗布し、酢酸-n-ブチル：n-ブタノール：酢酸：磷酸緩衝液 (pH 6.0)=50：9：25：15の上清を展開溶媒として、15 cm 展開し、70°C、15分間乾燥後、iode 蒸気による発色法、薄層菌寒天 (*B. subtilis* PCI 219 株の孢子浮遊液0.05%加) 上に滅菌東洋沄紙 No. 51 A をしいた上に、スポットフィルム、ガラス板を重ね、4°C で1時間浸透させた後、フィルム、沄紙およびガラス板を除き、37°C で16時間培養して得られた auto-biogram あるいは同様にして得られたスポットフィルムの薄層を 1 cm 間隔でかきとり、精製水 1 ml を加えてよく攪拌し、triton-fluor 15 ml を加え、放射能を測定し、グラフを作成し、代謝物質の検討を行った。

6. 結合率についての実験

Mezlocillin とヒト血漿 (8.5 g/dl)、ウシ血清 (7.2 g/dl) およびウシアルブミン (3 g/dl) との結合状態を、Seamless cellulose tubing (size8/32) (直径 0.6 cm, 1/2 幅 1.0 cm) (Visking Company) を用いた平衡透析法 (4°C) と Amicon membrane cones CF-25 (アマコン・ファー・イースト・リミテッド) を用いた遠心限外沄過法 (1,600 g, 60分, 4°C) で行い、沄液および残液とその希釈液の生物学的活性から、結合率と再生率を求めた。

沄紙電気泳動法により、東洋沄紙 No. 51 A の陰極の 2 cm のところに、Mezlocillin の 150 μ g 塗布、単独例と、ウシ血清あるいはウシアルブミンとの混和例とを塗布し、200 V-5.0 mA/cm で2時間泳動を行い、室温で乾燥後 100°C で5分間加熱して、蛋白固定したものを、1 cm ずつに切断し、M/15 磷酸緩衝液 1 ml 中に、それぞれ浸漬し、4°C の永室の中で2時間抽出したものに

ついて、その生物学的活性を測定した。

7. 分配係数について

共控試験管に、Mezlocillin 50 μ g/ml 磷酸緩衝液 (pH 6.5~7.5) 2 ml を入れ、予め M/15 磷酸緩衝液を飽和シクロホルム、または、ラットより得られた lipid²⁾ 1 ml を入れ、振盪機で60回/分—1時間、室温で振盪したものを、3,000 rpm で15分間 (4°C) 遠心分離を行い、水層の生物学的活性を、同一操作で行った M/15 磷酸緩衝液のものとのみのそれと比較し、分配係数を算出した。

8. 生物学的活性測定法

検定菌 *B. subtilis* PCI 219 株を用いた薄層カップ法および薄層 disc 法で上述の試料について生物学的活性を測定した。

9. Solubilizer “NCS” による組織の溶解

血液および臓器の少量 (約 0.1 g) をバイアル瓶にとり、NCS (Amersham 社) 1.0 ml を加えて加温振盪下に溶解した。その際着色の強い血液は過酸化ベンゾイル (20%トルエン溶液) 1.0 ml を加えて脱色した。組織の溶解液は triton-fluor 15 ml を加えてシンチレーションカウンター (Packard 社製) で放射能を測定した。

実験成績

A. 予備実験

¹⁴C-Mezlocillin の体内分布を検討するに先立ち、Wistar 系雄性ラットに ¹⁴C-Mezlocillin の50および100 mg/kg を尾静脈内に注射後、10および15分の血液、血清および1、2臓器内濃度測定法について、生物学的活性 (Ba)、過塩素酸による除蛋白分解分画 (Ra₁) ならびに solubilizer “NCS” 処理分画 (Ra₂) における放射活性を比較検討し、Table 1 にしめす結果を得た。

すなわち、血清および臓器内濃度は、Ba < Ra₁ < Ra₂ であり、Ba/Ra₂ および Ra₁/Ra₂ は肝<肺<腸<腎<血清であり、その値は solubilizer 分画に比べほぼ50%程度であった。なお、全血を用いた実験では、着色に対する脱色条件および血球内への移行の問題がからみ血清内濃度よりも低値であった。

B. ラットの場合

1. 体内分布

(1) Half life

体重 200 g 前後の健常雄性 Wistar 系ラット 1 群 5~7 匹に、Mezlocillin の 50~200 mg/kg (原液：10~40 mg/ml) を、尾静脈または大腿筋肉内に注射し、10分、15分、20分、30分、1時間および2時間後の血清内濃度および筋肉内濃度での生物学的 half life は Table 2, 3 にしめすとおりである。

生物学的活性での half life は、血清内濃度では 5.73~9.28分 (i. v.) および 11.59分 (i. m.)、また、筋肉内

Table 1 Concentration of Mezlocillin in the rat

Tissue	No.	Dose (mg/kg)	Time (min.)	Biological activity (Ba)	Radioactivity (Ra ₁) (deproteinize)	Radioactivity (Ra ₂) (solubilize)	Ba/Ra ₂	Ra ₁ /Ra ₂
blood	1	50	10	—	—	45.96	—	—
	2	50	15	—	—	23.31	—	—
	3	100	10	—	—	47.01	—	—
	4	100	15	—	—	59.05	—	—
serum	1	50	10	53.3*	40.0	74.75	0.713*	0.535
	2	50	15	16.0	10.0	22.50	0.711	0.444
	3	100	10	91.7	83.0	168.50	0.544	0.493
	4	100	15	113.3	99.0	190.75	0.594	0.519
	mean			50.7**			0.641±0.042	0.498±0.019
liver	1	50	10	89.34	97.43	207.44	0.431	0.470
	2	50	15	32.48	38.67	113.25	0.287	0.341
	3	100	10	95.19	116.67	271.12	0.351	0.430
	4	100	15	126.39	157.99	277.53	0.455	0.568
	mean						0.381±0.038	0.452±0.047
kidney	1	50	10	249.17	299.00	600.96	0.415	0.498
	2	50	15	68.33	83.33	134.11	0.510	0.621
	3	100	10	271.43	304.76	480.77	0.565	0.634
	4	100	15	259.97	384.75	421.20	0.617	0.913
	mean						0.527±0.043	0.667±0.087
lung	1	50	10	16.12	21.33	48.42	0.333	0.441
	2	50	15	3.80	4.68	13.95	0.272	0.335
	3	100	10	39.55	42.57	69.33	0.570	0.614
	4	100	15	61.46	73.03	98.00	0.627	0.745
	mean						0.451±0.087	0.534±0.090
intestine	1	50	10	342.67	293.33	833.82	0.411	0.354
	2	50	15	143.90	154.47	331.32	0.434	0.466
	3	100	10	530.83	1,013.40	1,056.20	0.503	0.959
	4	100	15	1,085.61	1,100.72	1,670.52	0.650	0.659
	mean						0.500±0.053	0.610±0.132

* Dilute to one time

** Dilute to five times

Table 2 Half life of Mezlocillin in the rat

Route	Fraction	Dose (mg/kg)	Initial concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Elimination rate (min.^{-1})	Half life (min.)	R
i. v.	serum	50	321.86	0.1210	5.73	0.9905
	serum	100	455.49	0.0990	7.00	0.9988
	serum	200	585.87	0.0747	9.28	0.9842
i. m.	serum	50	185.43	0.0598	11.59	0.9884
	muscle	50	1,160.11	0.0682	10.16	0.9915

Table 3 Half life of Mezlocillin in the rat serum (i. v.)

Dose (mg/kg)	Assay	Initial concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Elimination rate (min.^{-1})	Half life (min.)	R
50	bioassay	321.9	0.1210	5.73	0.9905
	radioassay	265.6	0.1142	6.07	0.9901
100	bioassay	344.2	0.0951	7.29	0.9836
	radioassay	287.4	0.0999	6.94	0.9922

濃度では、10.16分 (i. m.) である。放射活性での half life は血清内濃度で6.07分 (50 mg/kg) および6.94分 (100 mg/kg) であった。生物学的活性と放射活性での half life はほとんど同一であった。

したがって、Mezlocillin は比較的速やかに血中から消失し、筋注でもよく吸収されることがわかった。なお、Fig. 1 にしめすように投与量との間に、dose-response 相関がみられた。

(2) 臓器内分布

上述のラットにおける Mezlocillin の臓器内分布は、Table 4, 5, 6 および Fig. 2, 3, 4 にしめすとおりである。

生物学的活性では 50 mg/kg を静脈内注射群では、筋

肉を除き15分を peak として、時間の経過とともに臓器内濃度は低下し、15分では、十二指腸>血清>腎臓>肝臓>筋肉=肺臓の順となった。

筋肉内注射群では、概して15~20分を peak として、時間の経過とともに漸減した。15分では、筋肉(注射部位)>十二指腸>血清>腎臓>肝臓>筋肉>肺臓>心臓=脾臓>脳の順であった。

放射活性でも生物学的活性のそれと大略同一の消長をしめし、腎臓および十二指腸では放射活性が生物学的活性をはるかに上廻る数値をしめた。

投与量と臓器内分布との関係は、Table 5 および Fig. 4 にしめすとおりである。

すなわち、50~200 mg/kg 静脈内注射群では、血清

Fig. 1 Concentration of Mezlocillin in serum of the rat (i. v.)

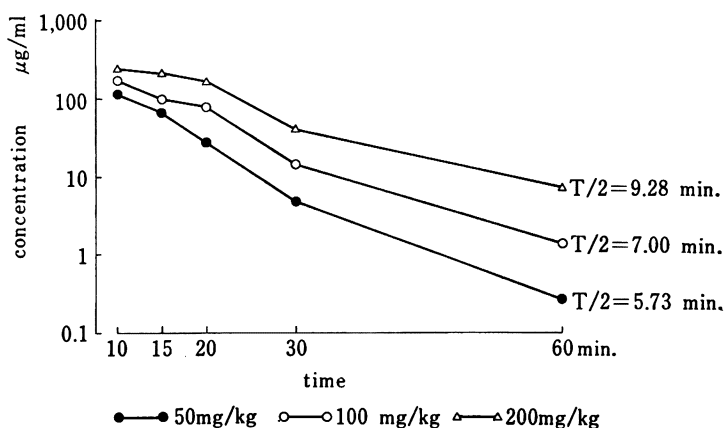


Table 4 Distribution of Mezlocillin in the rat (50 mg/kg)

Route	Tissues		10	15	20	30	60	120 min.
i. v.	serum	$\mu\text{g/ml}$	116.0	65.17	26.81	4.89	0.28	
	liver	$\mu\text{g/g}$	7.43	14.67	11.80	8.88	0.33	
	kidney	$\mu\text{g/g}$	8.93	15.13	8.62	3.07	0.25	
	lung	$\mu\text{g/g}$	2.86	5.19	2.29	0.77	0.21	
	muscle (n)	$\mu\text{g/g}$	0.51	5.54	11.14	3.47	0.29	
	duodenum	$\mu\text{g/g}$	98.20	399.95	222.86	80.13	3.22	
i. m.	serum	$\mu\text{g/ml}$	47.64	67.63	51.54	40.57	4.70	1.20
	liver	$\mu\text{g/g}$	9.83	17.70	23.13	17.10	3.27	0.83
	kidney	$\mu\text{g/g}$	9.71	20.31	16.19	15.29	0.83	0.58
	spleen	$\mu\text{g/g}$	1.25	2.39	1.58	1.61	trace	
	lung	$\mu\text{g/g}$	4.90	3.67	3.67	3.38	0.32	0.13
	heart	$\mu\text{g/g}$	2.04	2.70	1.67	2.82	0.30	
	muscle (n)	$\mu\text{g/g}$	5.55	8.96	7.17	5.02	4.39	
	muscle (i)	$\mu\text{g/g}$	691.90	394.13	227.63	175.75	19.23	
	brain	$\mu\text{g/g}$	0.12	0.20	0.73	0.31	0.09	
duodenum	$\mu\text{g/g}$	238.27	115.82	215.05	143.75	27.14		

n: Normal

i: Site of injection

Table 5 Distribution of Mezlocillin in the rat (i. v.)

Tissues	Dose (mg/kg)		10	15	20	30	60 min.
serum	50	$\mu\text{g/ml}$	116.00	65.17	26.81	4.89	0.28
	100	$\mu\text{g/ml}$	187.50	101.80	81.70	14.15	1.39
	200	$\mu\text{g/ml}$	236.20	222.30	163.00	40.10	7.00
liver	50	$\mu\text{g/g}$	7.48	14.67	11.80	8.88	0.33
	100	$\mu\text{g/g}$	102.20	64.97	64.50	42.05	5.73
	200	$\mu\text{g/g}$	134.80	138.70	119.32	57.30	19.60
kidney	50	$\mu\text{g/g}$	8.93	15.13	8.62	3.02	0.25
	100	$\mu\text{g/g}$	340.70	379.90	351.42	53.70	5.60
	200	$\mu\text{g/g}$	541.50	603.50	570.83	94.20	26.70
duodenum	50	$\mu\text{g/g}$	98.20	399.95	222.86	80.13	3.22
	100	$\mu\text{g/g}$	615.40	599.30	540.80	353.00	98.00
	200	$\mu\text{g/g}$	651.90	817.00	571.80	633.20	199.60

内濃度，肝臓，腎臓および十二指腸内濃度は，投与量の増加にしたがい高値となる。

なかでも Fig. 5 にしめすように，各 peak 値と投与量との間には，dose-response 相関がみられた。血清内濃度および十二指腸内濃度では（胆汁内排泄を主役とする）とくに著明であり，腎臓および肝臓では，投与量の増加による急激な増加がみられ，前者ではその傾向がとくに大であった。

したがって，Mezlocillin は臓器内に速やかに移行す

るが，血清内濃度に比べ概して低い場合が多い。しかしながら，投与量を増すと腎臓内濃度は血清内濃度を上廻った。つぎに，生物学的活性と，放射活性は腎臓および十二指腸を除きほぼ同一程度であった。

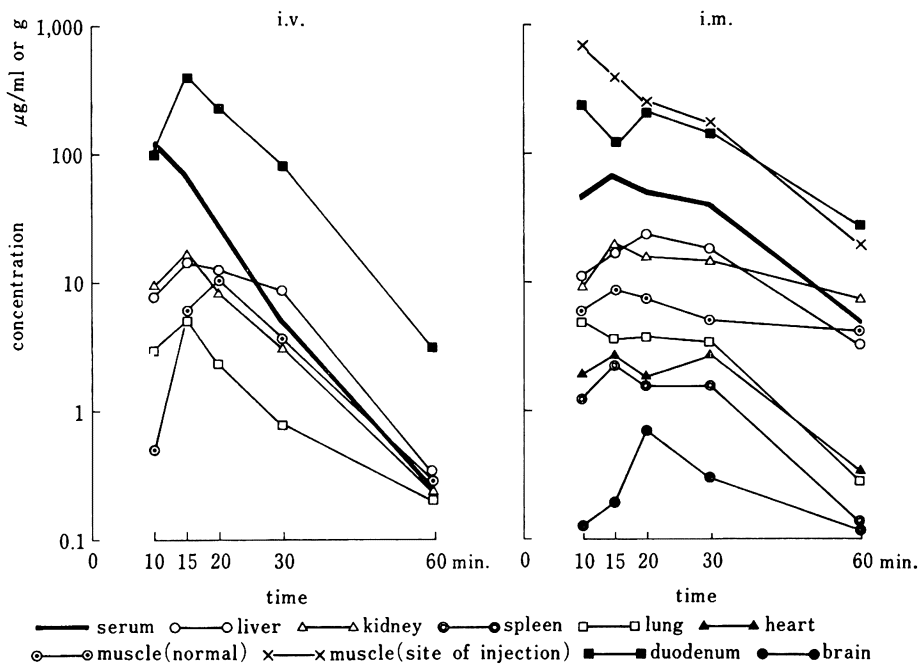
Mezlocillin の 50 mg/kg（原液：10 mg/ml）を静注および筋注したラットの腸内濃度（5 cm ずつの segment）の分布は，Table 7, 8 および Fig. 6, 7 にしめすとおりである。10分後では十二指腸で最高濃度をしめし，生物学的活性は，回腸中部までみられる。その後時

Table 6 Distribution of Mezlocillin in the rat (100 mg/kg, i. v.)

		Time (min.)											
		10		15		20		30		60		120	
		Ba	Ra	Ba	Ra	Ba	Ra	Ba	Ra	Ba	Ra	Ba	Ra
serum	μg/ml	187.5	121.6	101.8	80.9	34.0	32.8	14.2	10.1	1.4	0.8	0	0.8
liver	μg/g	92.0	66.3	142.5	185.1	55.6	42.2	21.5	14.7	3.6	3.9	0	0.8
kidney	μg/g	340.7	629.7	223.2	203.9	81.5	68.8	53.7	27.0	5.6	5.6	0	2.2
spleen	μg/g	16.2	25.3	6.5	12.8	2.5	2.6	2.3	3.4	2.2	3.9	0.4	2.3
lung	μg/g	48.9	46.4	25.24	34.8	8.5	10.2	7.2	6.8	0.6	2.3	0	1.7
heart	μg/g	20.3	21.3	9.4	10.0	5.5	5.3	3.1	6.0	1.0	1.7	0	0.2
muscle	μg/g	22.9	32.9	8.4	9.3	2.1	3.0	1.4	4.4	0.6	1.9	0.7	3.2
duodenum	μg/g	861.7	1493.7	599.3	1002.0	540.8	815.0	353.0	644.3	21.2	29.6	1.9	2.8

Ba : Biological activity
Ra : Radiological activity

Fig. 2 Distribution of Mezlocillin in the rat (50 mg/kg)



間の経過とともに、最高濃度をしめず segment が漸次下部に移行するとともに、生物学的活性をしめす区分がひろがっている。2時間後では、結腸でも僅かながら、生物学的活性がみられた。放射活性も生物学的活性と大略同一傾向であるが時間の経過とともにその差が大とな

り、回腸下部ではその傾向があきらかであった。

その際の腸での回収率は、2時間で約40%であり、胆汁排泄が重要な排泄路であることがうかがわれる。なお、後述のウサギでの胆汁内濃度—排泄率からも確かめた。

Fig 3 Distribution of Mezlocillin in the rat (100 mg/kg, i. v.)

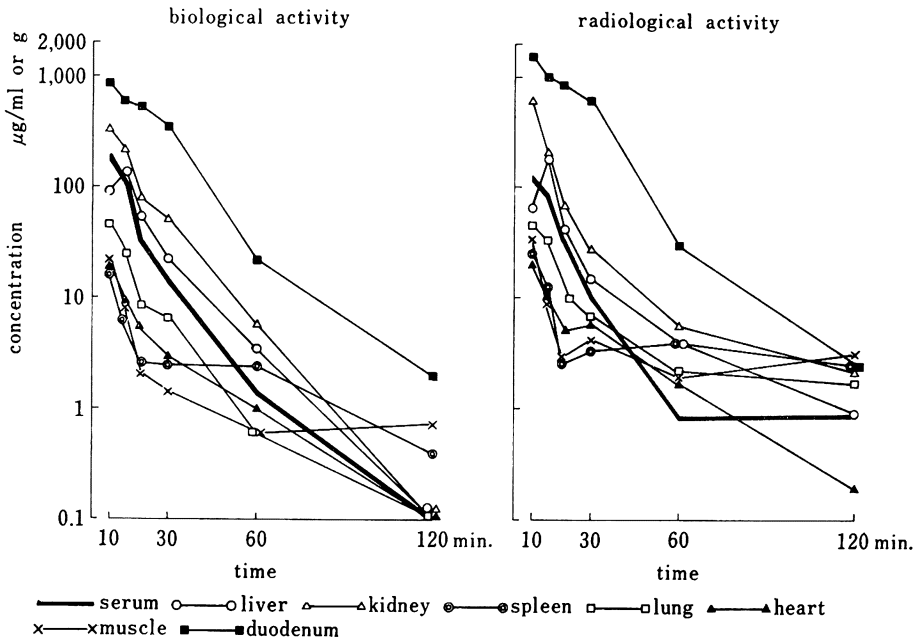
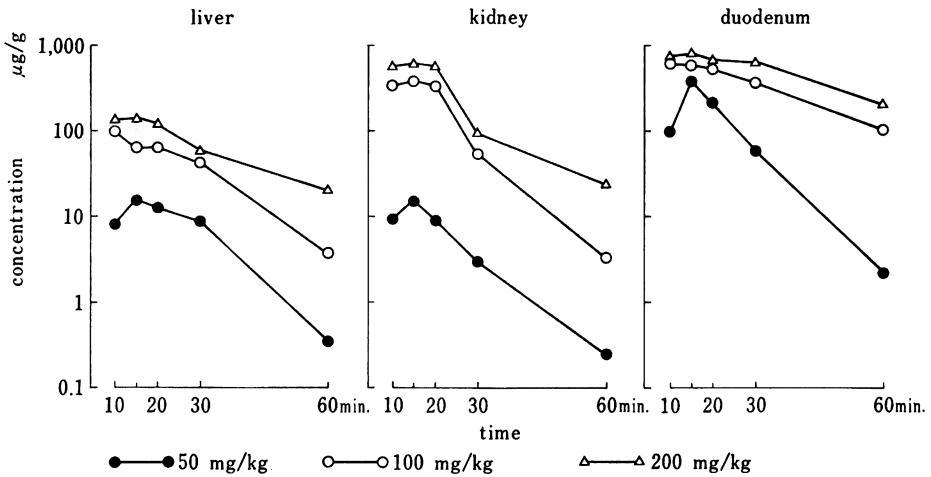


Fig. 4 Distribution of Mezlocillin in the rat (i. v.)



2. 尿中排泄

体重 200 g 前後の健常雄性 Wistar 系ラットの 1 群 7 匹に Mezlocillin の 50 mg/kg および 100 mg/kg を尾静脈内または大腿筋肉内注射後、0～1 時間、1～2 時間、2～4 時間、4～8 時間および 8～24 時間の尿中排泄率は、Table 9, 10 にしめすとおりである。なお、

投与後短時間での採尿を必要とし、経口的に水を負荷したので、尿中濃度の表示はしなかった。

24 時間での総排泄率は生物学的活性では 28.79% および 34.08% (i. v.) および 19.71% (i. m.) であり、静注群では排泄率が高く、また時間的経過からみると、それぞれの 90% および 70% が 1 時間以内に排泄されている。

Fig. 5 Distribution of Mezlocillin in the rat (i. v., 15 min.)

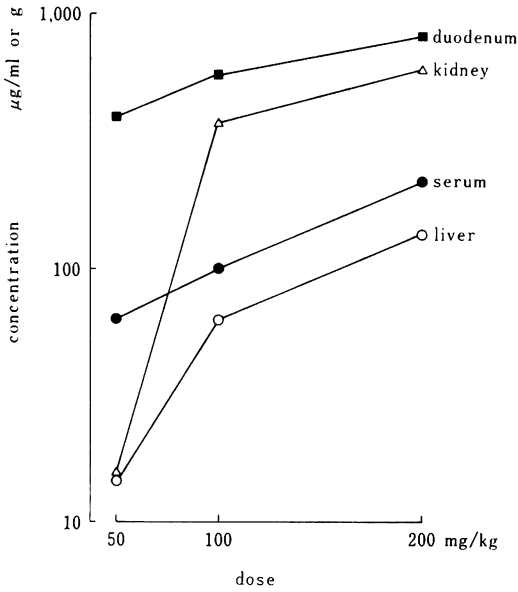


Fig. 6 Distribution of Mezlocillin in the intestine of the rat (50 mg/kg, i. m.)

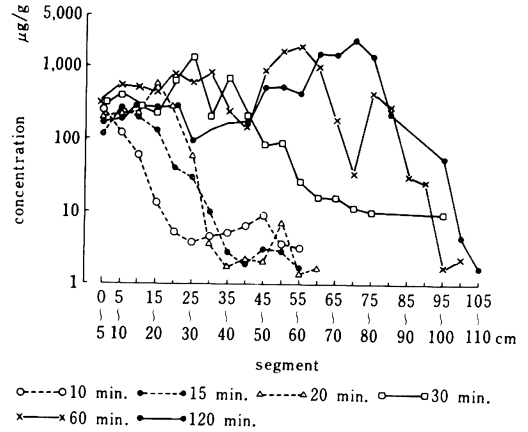


Table 7 Distribution of Mezlocillin in the intestine of the rat (50 mg/kg, i. m.) (µg/g)

Segments (5 cm)	10	15	20	30	60	120 min.	
1	245.42*	115.8	215.1	319.6	302.6	173.0	duodenum
2	118.77	254.6*	236.6	390.8	547.2	201.2	jejunum
3	62.40	221.8	234.0	276.2	520.3	293.3	jejunum
4	13.03	130.5	574.0*	241.5	452.4	232.3	jejunum
5	5.41	38.76	271.8	658.4	796.6	268.2	jejunum
6	3.83	30.52	56.4	1,322.8*	615.0	91.0	jejunum
7	4.33	10.26	4.08	203.4	859.0	139.4	jejunum
8	5.09	2.8	1.8	689.2	248.0	158.0	ileum
9	6.63	1.92	2.2	214.1	147.6	161.0	ileum
10	9.15	3.32	2.2	82.5	900.7	530.8	ileum
11	3.68	2.88	7.7	85.3	1,645.3	532.8	ileum
12	3.49	1.72	1.4	26.3	1,950.0*	415.5	ileum
13			1.7	15.6	990.0	1,241.7	ileum
14				15.8	186.5	1,228.0	ileum
15				11.0	35.8	2,425.2*	ileum
16				10.2	439.4	1,492.5	ileum
17					288.7	215.8	ileum
18					31.1		ileum
19					25.2		ileum
20				9.22	1.67	53.1	caecum
21					2.25	4.41	colon
22						1.57	
Total (µg)	178.8	400.1	770.5	1,270.1	3,144.0	3,533.7	
%	2.1	4.68	8.61	13.18	33.1	39.26	

* Peak level in the segments

Table 8 Distribution of Mezlocillin in the intestine of the rat (50 mg/kg, i. v.)

($\mu\text{g/g}$)

Time (min.)	Dose (mg/kg)		50						100		Segment of intestine
			10		30		120		120		
	Ba	Ra	Ba	Ra	Ba	Ra	Ba	Ra	Ba	Ra	
1	1,025.0	1,002.2	309.5	281.9	10.8	12.5	—	2.8	duodenum		
2	327.0	392.7	51.5	286.9	4.6	13.6	—	17.7	jejunum		
3	34.1	67.4	25.6	53.9	3.4	8.8	—	10.1	jejunum		
4	16.2	33.6	10.1	32.0	4.5	16.5	0.6	4.9	jejunum		
5	5.4	11.4	212.8	596.4	5.7	26.7	4.7	22.0	jejunum		
6	9.4	22.9	901.2	2,360.6	17.9	74.1	6.8	24.6	ileum		
7	7.0	19.5	243.8	871.6	24.1	92.0	14.1	33.1	ileum		
8	3.0	7.7	108.4	796.7	68.9	177.2	231.1	112.7	ileum		
9	3.8	6.7	79.0	202.6	110.7	542.0	859.7	845.1	ileum		
10	1.6	6.9	2.5	16.1	192.6	102.5	48.7	442.0	ileum		
11	4.4	12.3	0.7	12.3	439.2	284.6	58.6	281.9	ileum		
12	5.0	90.7	0.6	4.7	82.9	334.8			ileum		
13	1.9	10.5	0.7	4.6					ileum		
14	0.7	2.6	1.8	64.4	0.8	7.1	3.6	32.1	caecum		
15	4.9	17.6	0.2	0.7	0.8	3.7	2.7	16.6	colon		
16	4.6	12.8	—	1.5	—	7.9	—	74.3	colon		
Total (μg)	1,008.0	1,170.9	1,460.0	4,247.0	802.9	4,187.4	1,900.0	8,931.6			
%	9.98	11.59	12.86	37.42	7.47	38.94	10.86	51.03			

Ba : Biological activity

Ra : Radiological activity

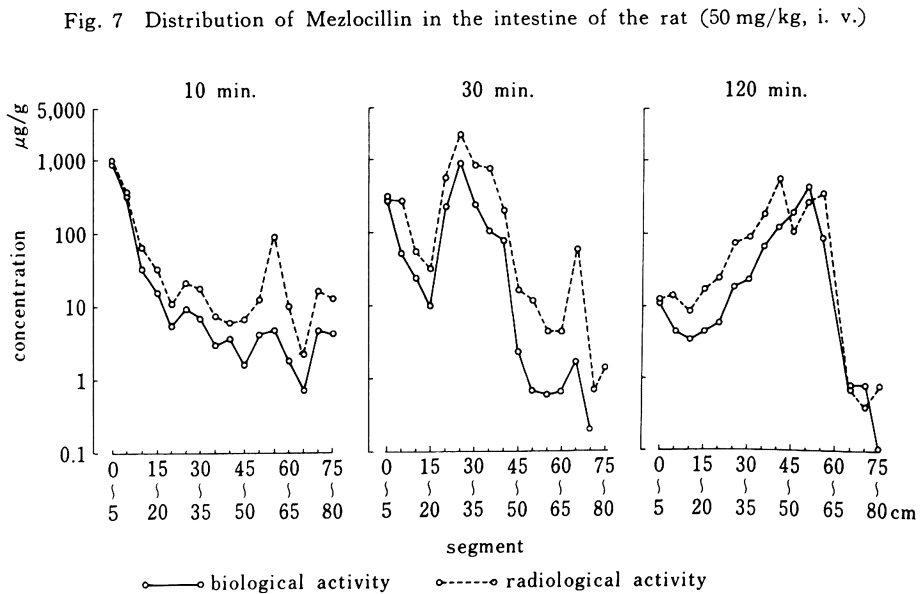


Table 9 Excretion of Mezlocillin in the urine of the rat (50 mg/kg)

Route	Excretion (%)					
	0-1	1-2	2-4	4-8	8-24 hr.	Total
i. v.	25.86	2.61	0.24	0.05	0.03	28.79
i. m.	13.44	3.50	1.0	1.74	0.03	19.71

Table 10 Excretion of Mezlocillin in the urine and feces of the rat (i. v.)

Dose (mg/kg)	Assay	Urine							Feces			Total
		0-1	1-2	2-4	4-8	8-24	24-48 hr.	Total	0-24	24-48 hr.	Total	
50	bioassay	25.86	2.61	0.24	0.05	0.03	0	28.79	5.93	0.52	6.45	35.24
	radioassay	24.69	1.97	1.18	0.22	0.55	0.29	28.90	28.87	15.55	44.42	73.32
100	bioassay	27.47	5.06	1.17	0.23	0.14	0.01	34.08	9.13	0	9.13	43.21
	radioassay	30.33	1.97	0.77	0.35	0.77	0.25	34.44	28.49	9.19	37.68	72.12

放射活性では 50 mg/kg で 28.90% および 100 mg/kg で 34.44% であり、生物学的活性と放射活性との間に著明な差はみられない。

その際の糞便中排泄率 (0~48時間) は、生物学的活性で 50 mg/kg で 6.45% および 100 mg/kg で 9.13% であり、一方、放射活性は 50 mg/kg で 44.42% および 100 mg/kg で 37.68% である。したがって、尿中および糞便中への総排泄率はほぼ 72% であった。

したがって、Mezlocillin の排泄路としては、尿中排泄は重要なものであるが、上述の腸内濃度より、ラットでは胆汁内排泄は、さらに重要なものと考えられる。また、尿中排泄が 1 時間以後では、急激に低下する事実より、腸内からの再吸収は行われ難く、小腸内では生物学的活性の消失は少ないが、大腸内では失活するものが多いことを知った。

3. 胎仔内移行

自家妊娠 (第 19 日) Wistar 系ラットの 1 群 5 匹に、Mezlocillin の 50 mg/kg (原液: 10 mg/ml) を大腿筋肉内に注射後、30 分、1 時間および 2 時間での母体血清内濃度、胎盤、臍帯血、胎仔血清、胎仔臓器および羊水内濃度は、Table 11 にしめすとおりである。

臍帯血濃度は 0.514~1.093 $\mu\text{g/ml}$ で、1 時間で peak をしめし、母体血清内濃度が 15 分であるのに比べ、あきらかに遅れている。母体血清内濃度との比は、peak (胎仔) で 11.89% である。胎仔血清内濃度は 0.216~0.661 $\mu\text{g/ml}$ で、臍帯血濃度より低いが、peak は 1 時間でみられ、同一であった。母体血清内濃度との比は peak で 7.19% であった。

Table 11 Migration of Mezlocillin to the fetus of the rat (50 mg/kg, i. m.)

			30	60	120 min.
cord blood		$\mu\text{g/ml}$	0.968	1.093	0.514
fetal	serum	$\mu\text{g/ml}$	0.389	0.661	0.216
	kidney	$\mu\text{g/g}$	trace	1.153	trace
	lung	$\mu\text{g/g}$	0.783	0.377	trace
	liver	$\mu\text{g/g}$	0.135	0.378	0.160
amniotic fluid		$\mu\text{g/ml}$	0.088	0.117	0.052
placenta		$\mu\text{g/g}$	1.482	0.656	0.103
maternal serum		$\mu\text{g/ml}$	43.0	9.19	1.2
c. b./m. s.		%	2.25	11.89	42.83
f. s./m. s.		%	0.90	7.19	18.0

c. b.: cord blood

f. s.: fetal serum

m. s.: maternal serum

つぎに、胎仔臓器内濃度は peak で、腎臓>血清>肝臓=肺臓の順であった。

羊水内濃度はきわめて低かった。

したがって、Mezlocillin はラット胎仔内へ移行するが、その度は母体血中濃度のほぼ 10% であり、臓器内への移行あるいは貯留も少ないものと考えられる。

C. ウサギの場合

健常雄性 (Flemish giant) ウサギ 1 群 3 羽に、Mezlocillin の 50 mg/kg を、50 mg/ml-30ml/2 時間の持続注入および 100 mg/ml を one shot 法で投与した際の、

Table 12 Concentration of Mezlocillin in the plasma of the rabbit (50 mg/kg)

		(μg/ml)										
Route	Assay	-1 hr.	0	5 min.	10 min.	15 min.	30 min.	1 hr.	2 hr.	4 hr.	6 hr.	T/2 (min.)
infusion*	bioassay	29.75	43.70	24.17	22.03	19.27	14.80	12.60	7.50	5.90	4.80	59.23
	radioassay	28.0	36.0	22.0	20.0	15.0	13.0	11.0	7.0	5.0	4.0	58.73
one shot**	bioassay			90.95	59.20	49.70	28.80	11.90	5.10	2.60	0.70	19.91
	radioassay			92.50	66.50	56.50	38.0	20.0	13.50	12.50	12.0	26.65

*: 5 mg/ml-30 ml/2 hr.

**: 100 mg/ml

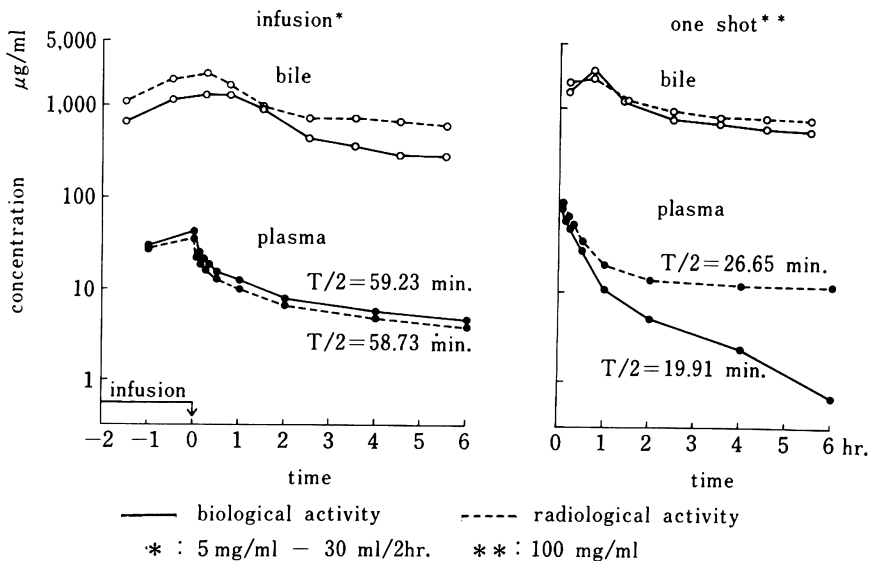
Table 13 Excretion of Mezlocillin in the bile of the rabbit (50 mg/kg)

Route	Assay		-2~-1	-1~0	0~0.5	0.5~1	1~2	2~3	3~4	4~5	5~6 hr.	Total
infusion*	bioassay	μg/ml	652	1,200	1,366	1,353	946	433	380	306	306	20.74
		%	4.46	5.73	2.98	2.33	2.38	0.98	0.80	0.58	0.50	
infusion*	radioassay	μg/ml	1,059	1,902	2,153	1,690	983	770	750	627	627	29.69
		%	7.69	9.58	3.51	3.25	2.18	1.14	0.67	1.17	0.50	
one shot**	bioassay	μg/ml			1,473	2,367	1,217	743	733	670	546	18.74
		%			4.03	5.66	3.50	1.27	1.56	1.82	0.90	
one shot**	radioassay	μg/ml			1,919	2,129	1,200	965	868	829	712	18.80
		%			5.19	4.87	2.61	1.37	1.85	1.88	1.03	

*: 5 mg/ml-30 ml/2 hr.

**: 100 mg/ml

Fig. 8 Concentrations of Mezlocillin in the bile and plasma of the rabbit applied in a dose of 50 mg/kg



血漿内濃度とその half life, 胆汁内排泄および尿中排泄は, Table 12, 13, 14 および Fig. 8, 9 にしめすとおりである。

1. Half life

ウサギ血漿内濃度での生物学的 half life は, 生物学的活性では持続注入群では59.23分および, one shot 群

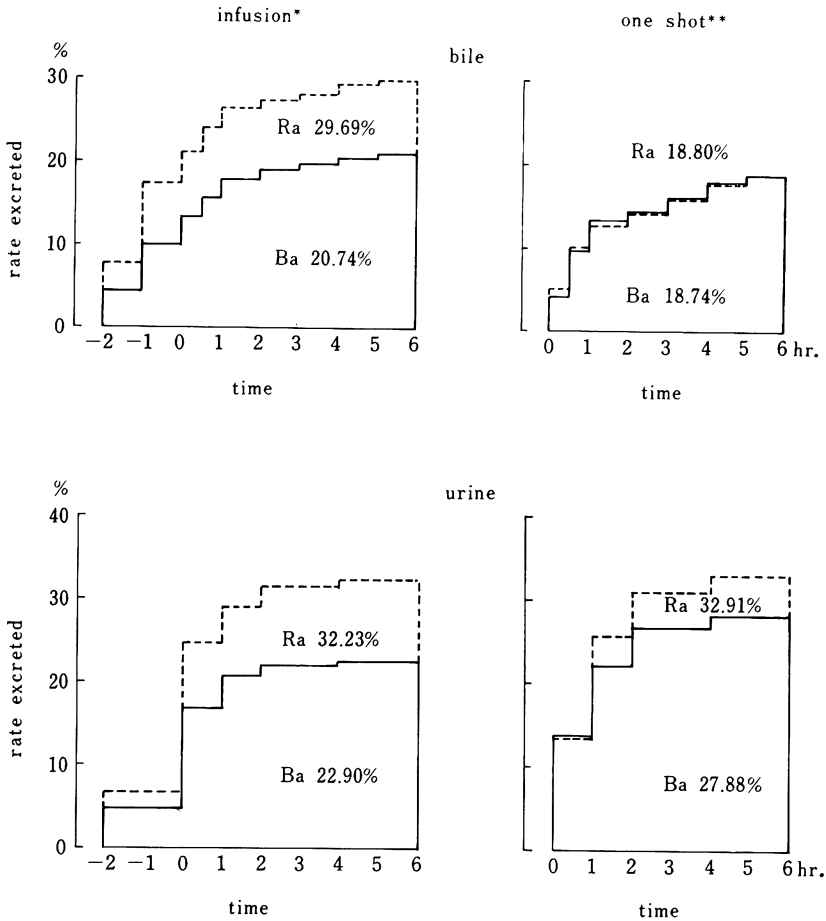
Table 14 Excretion of Mezlocillin in the urine of the rabbit (50 mg/kg)

							(%)
Route	Assay	-2-0	0-1	1-2	2-4	4-6 hr.	Total
infusion*	bioassay	4.68	11.89	4.13	1.48	0.72	22.90
	radioassay	6.69	18.11	4.23	2.19	1.01	32.23
one shot**	bioassay		13.64	8.35	4.71	1.18	27.88
	radioassay		13.14	12.53	5.52	1.72	32.91

*: 5 mg/ml-30 ml/2 hr.

** : 100 mg/ml

Fig. 9 Excretion of Mezlocillin in the bile and urine of the rabbit applied in a dose of 50 mg/kg



Ba : biological activity
 Ra : radiological activity
 * : 5 mg/ml - 30ml/2hr.
 ** : 100 mg/ml

では19.91分, ならびに放射活性では持続注入群では58.73分および one shot 群では26.65分であった。ラットの場合に比べ, やや大きな値であるが, 原液濃度, 麻

酔, 手術によるストレスに加えて, 動物の種差も関係しているであろう。

なお, 持続注入群では, 注入持続の間では血漿内濃度

は増加し、終了時を peak として漸次ゆるやかに低下した。

2. 胆汁内排泄

Mezlocillin のウサギ胆汁内排泄は、Table 13 にしめすとおりである。持続注入群および one shot 群のいずれも、注入終了から30分の間に最高濃度をしめし、血中濃度との比は23~60であった。その後時間の経過とともに漸減するが、5~6時間後も血漿内濃度のほぼ50~700倍の高濃度が排泄されている。6時間までの総排泄率は、生物学的活性で20.74%および18.74%ならびに放射活性では29.69%および18.80%であり、持続注入群では高値であった。上述のラットの腸内濃度が2時間でも高値であった事とよく一致する。

3. 尿中排泄

Mezlocillin のウサギ尿中排泄は、Table 14 にしめすとおりである。6時間までの排泄率では、生物学的活性で持続注入群で22.90%および one shot 群で27.88%、ならびに放射活性では32.23%および32.91%であり、持続注入群では注入中も尿中に排泄されるが、peak は1~2時間および one shot 群では0~1時間でそれぞれみられた。なお、ラットのそれに比較すると、one shot 群ではほぼ同じ値であった。

したがって、Mezlocillin は胆汁内排泄が重要な排泄路であり、投与方法により幾分の差はあるが、ほぼ20%が6時間で排泄され、血中濃度に比べ、その蛋白結合を考慮しても、はるかに高濃度であった。

持続注入の場合は、one shot のそれに比べ、half life は長く、胆汁内排泄は多く、一方、尿中排泄は少なかつ

Fig. 10 Autobiogram of Mezlocillin and its metabolite in the urine and feces of the rat (100 mg/kg, i. v., 16 hr.)



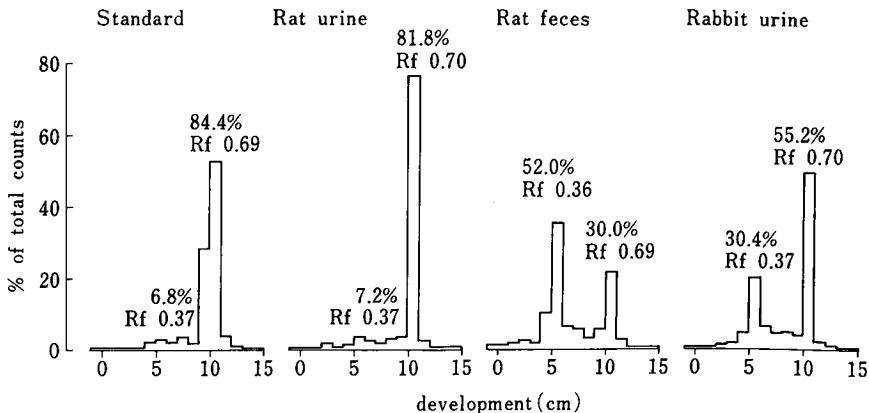
Standard; Mezlocillin 25 μ g, BAY i 6296 25 μ g
Solvent; n-butylacetate: n-butanol: acetic acid:
phosphate buffer pH 6 = 50:9:25:15
(supernatant)

Absorbent; Spot film (Tokyo kasei)

Development; 15 cm

Test org.; *B. subtilis* PCI 219

Fig. 11 Autoradiogram of Mezlocillin and its metabolites in rat urine or feces, and rabbit urine



Spot film; silica gel (Tokyo Kasei)

Solvent system; n-butylacetate: n-butanol: acetic acid: phosphate buffer pH
6=50:9:25:15 (supernatant)

Development; 15 cm

Table 15 Binding of Mezlocillin to bovine serum and human plasma

Protein	Conc. (g/dl)	Ultrafiltration		Equilibrated dialysis	
		Binding (%)	Recovery (%)	Binding (%)	Recovery (%)
human plasma	8.5	61.54±2.668	26.94±1.579		
bovine serum	7.2	55.02±2.031	37.78±1.986	46.83±2.434	36.21±1.321
bovine albumin	3.0	49.64±2.086	16.44±1.175	47.59±1.262	26.55±1.082

Table 16 Electrophorogram of Mezlocillin

Protein	Segment (1cm)	1	2	3	4	5*	6	Recovery
control**	%	—	—	—	2.19	81.67	16.17	85.3
bovine serum	%	—	—	2.71	80.08	15.94	2.03	78.7
	%***			+2.71	+77.89	-65.74	-14.14	
bovine albumin	%	—	—	—	47.1	50.86	2.7	69.8
	%***				+44.91	-30.81	-13.47	

* BPB ** Mezlocillin 150 µg *** Difference of control
Segment 1: origin (-) Segment 6: front (+)

た。

D. 代謝物質について

Mezlocillin の 100 mg/kg をラットの尾静脈より注射後、16時間の尿および糞を集め、n-ブタノールで抽出後、磷酸緩衝液に転溶する区分について、および ¹⁴C-Mezlocillin を用いた実験では前述のラットおよびウサギ尿中排泄 (0-1 時間) およびラット糞中排泄に用いたものを試料とし、薄層クロマトグラフィーを行った。標準物質 (Mezlocillin および BAY i 6296: lactam 環開裂物質) などの確認は、生物学的測定法、iode 発色および放射活性により行った。Fig. 10, 11 はその auto-biogram および autoradiogram である。

Mezlocillin は 0.7 および BAY i 6296 は 0.33 の Rf であった。

ラットでは生物学的活性では尿および糞で Rf 0.7, また, iode 発色法および放射活性では, 尿で Rf 0.7 および糞で Rf 0.69~0.7, 0.33~0.36 にそれぞれ spot をみとめた。ウサギ尿では放射活性で Rf 0.7, 0.37 に spot をみとめた。したがって、糞中に排泄される主たる物質は BAY i 6296 である事を ¹⁴C-Mezlocillin で知った。

E. 体内分布に関与する 1, 2 因子について

Mezlocillin の体内分布にもっとも深い関連性をもつと考えられる血清蛋白との結合および分配係数について検討した。

1. 血清蛋白との結合

遠心限外濾過法 (4°C) および平衡透析法 (4°C) で行

った Mezlocillin とヒト血漿, ウシ血清およびウシアルブミンとの結合は, Table 15 にしめすとおりである。

結合率はヒト血漿で 61.54%, ウシ血清で 55.02%, 46.83% およびウシアルブミンで 49.64%, 47.59% であった。したがって、ヒト血漿との結合率がやや高い傾向がみられるが、実験方法による相異は僅少であった。なお、蛋白部分を M/15 磷酸緩衝液で 10 倍に希釈した際の生物学的活性から求めた蛋白結合の解離によると考えられる再生率は、ヒト血漿ではほぼ半量であり、ウシ血清では過半量であった。

ろ紙電気泳動法による血清蛋白との結合を、その泳動図 (bromphenol blue との relative mobility) からみたものは、Table 16 にしめすとおりである。

Mezlocillin 単独例では、陰極側から陽極側へ移動し、bromphenol blue と同一区分に peak をしめすが、これにウシ血清あるいはウシアルブミン混和例では、移動度がやや遅れてみられた。その際の生物学的活性での回収率は、単独例に比べ蛋白混和例ではやや低値であった。

したがって、Mezlocillin は血中で蛋白と結合するが、その度は Penicillin G³⁾ と同一程度であり、主として結合する分画はアルブミンと推測される。

2. 分配係数

Mezlocillin の lipid (ラット) /磷酸緩衝液 (pH 6.5~7.5) およびクロロホルム/磷酸緩衝液 (pH 6.5~7.5) に対する分配係数は、Table 17 にしめすとおりである。分配係数は、lipid/磷酸緩衝液では 0.2573~0.7520 お

Table 17 Partition coefficients of Mezlocillin

pH	CHCl ₃ /buffer	lipid (rat)/buffer
6.5	0.2560	0.2573
7.0	0.5872	0.6156
7.5	0.5872	0.7520

およびクロロホルム/磷酸緩衝液では0.2560~0.5872であり、脂溶性の少ないことがうかがわれる。なお、アルカリ側ではやや高い値をしめている。

ま と め

現代の難治性感染症の一つとされている *Serratia*, *Klebsiella* あるいは *Pseudomonas* などに対し、Ampicillin や Carbenicillin よりも強い抗菌作用をしめすと報告⁴⁾されている新しい合成 penicillin: ureido-penicillin である Mezlocillin の体内動態を ¹⁴C-Mezlocillin を用い、ラットおよびウサギを対象として、half life, 臓器内分布, 尿中, 胆汁内排泄, 代謝物質, 胎仔内移行および蛋白結合, 分配係数について検討した。

50 mg/kg 適用の際の血中濃度での生物学的 half life は、ラットで、5.73分 (i. v.) および11.59分 (i. m.) ならびにウサギでは59.23分 (持続注入) および19.91分 (one shot) であった。投与量を増すと half life も延長した。筋肉内濃度での half life は、10.16分であった。臓器内濃度はほぼ15分で peak に達し、十二指腸や腎臓では血中濃度より高値であり、肝臓はその他の臓器よりも高濃度がみられた。放射活性と生物学的活性では著明な差はみられないが、十二指腸および腎では前者が高値をしめた。

したがって、Mezlocillin は血中から速やかに臓器内に移行し、しかも筋注でもよく吸収されるが、持続注入群では血中濃度の減衰もゆるやかで、half life が長く、したがって、生体内での有効血中濃度を長時間保持出来る適用方法である。

腸内濃度 (ラット) は、血中濃度および肝臓内濃度よりもはるかに高濃度であり、時間の経過とともに、下部へと移行するが、大腸での生物学的活性は僅少であった。放射活性は回腸下部では生物学的活性よりあきらかに大である。

つぎに、尿中排泄率は、ラット (24時間) で28.79% (i. v.) および19.71% (i. m.) ならびにウサギ (6時間) で22.90% (持続注入) および27.88% (one shot) であり、その大部分がほぼ1時間前後に排泄された。胆汁内排泄はウサギ (6時間) で20.74% (持続注入) および18.74% (one shot) で、peak は0~30分であった。放

射活性でも同一程度であった。

したがって、Mezlocillin の主たる排泄路は尿中および胆汁内排泄であり、投与量および適用方法により、その程度に差があり、また、胆汁内に排泄されるものは、腸管から再吸収され難いものと考えられる。

薄層クロマトグラフィーで検討した Mezlocillin の代謝物質は、糞便中で lactam 環開裂物質 BAY i 6296 がみられたが、尿中ではウサギで BAY i 6296 がみられたが、ラットでは Mezlocillin のみであった。

胎仔内移行 (ラット) は、臍帯血で母体血清内濃度の約10%であり、胎仔臓器および羊水内濃度は低かった。

血清蛋白との結合率は、ヒト血漿で61.54%で、そのうち半量は蛋白結合の解離により、生物学的活性をしめし、主たる結合分画はアルブミンであった。ウシ血清およびウシアルブミンとの結合率は、ヒト血漿のそれよりも低値であった。

ラット lipid に対する分配係数は0.2573~0.7520であり、クロロホルムに対する分配係数もほぼ同一程度であった。

以上の諸事実より、Mezlocillin は筋注により速やかに吸収され、血中より速やかに臓器内に移行し、また、尿中および胆汁内に排泄される。尿中には代謝物質をみとめないが、糞便中では lactam 環開裂物質: BAY i 6296 がその主たる物質であった。

投与量と血清中および臓器内濃度との間には、dose-response がみられ、腎臓および肝臓内濃度があきらかに増加する。

胎仔内には臍帯血濃度でほぼ10%が移行したが、胎仔臓器内および羊水内濃度は低かった。

血清蛋白との結合率は、ほぼ60%であった。なお、solubilizer による組織溶解実験の結果より、¹⁴C-Mezlocillin はほとんどのものが、研究対象となった組織、体液あるいは排泄物中に回収されたものとする。

文 献

- 1) 山中康光, 河野静子, 建石英樹, 荒谷春恵: Mezlocillin に関する薬理学的研究, 第1報, 一般薬理作用。Chemotherapy 27 S-1: 55~63, 1979
- 2) 山中康光, 河野静子, 建石英樹, 荒谷春恵: Cephaetrile の体内消長に関する基礎的研究。Chemotherapy 24: 62~77, 1976
- 3) 檜井秀夫: 抗生物質と血清蛋白との結合に関する薬理学的研究。広大医誌13: 601~604, 1965
- 4) BODEY G. P & T. PAN: Mezlocillin; *In vitro* studies of a new broad spectrum penicillin, Antimicrob. Agents Chemother. 11. (1) 74~79, 1977

PHARMACOLOGICAL STUDIES ON MEZLOCILLIN, SECOND REPORT : DISTRIBUTION, FATE AND EXCRETION

HARUE ARATANI, YASUMITSU YAMANAKA, HIDEKI TATEISHI and SHIZUKO KONO
Department of Pharmacology, Hiroshima University, School of Medicine, Hiroshima

Fates of Mezlocillin, an ureido penicillin and ^{14}C -Mezlocillin (half life, distribution, urinary and biliary excretion, metabolism, transfer to the fetus, binding to protein and partition coefficient) were investigated in rats and rabbits.

Biological half lives of 50 mg/kg of Mezlocillin injected intravenously or intramuscularly in rats were 5.73 and 11.59 min, respectively.

Biological half lives of 50 mg/kg of Mezlocillin administered by infusion and one shot injection in rabbits were 59.23 min and 19.91 min, respectively. The half life prolonged with the increase in the doses applied.

The biological half life of Mezlocillin in the injected site of muscle was 10.16 min. The organ levels peaked 15 min after administration, and the duodenum and kidney levels were higher than the serum level. After intravenous or intramuscular injection of Mezlocillin in rats, 28.79% or 19.71% were excreted in 24 hr-urine, respectively. In rabbits, 22.90% and 27.88% excreted within 6 hr in urine, respectively. Most of it was excreted within 1 hr after administration. The total amounts excreted in 6 hr-bile of the rabbit administered Mezlocillin by infusion and one shot injection were 20.74% and 18.74%, respectively. The biliary level peaked within the first 30 min after administration. Findings show that Mezlocillin is rapidly transferred to the organs from blood, and excreted in the urine and bile. The main route of excretion of Mezlocillin is through the urine and bile, and reabsorption from the intestine is negligible. Only Mezlocillin existed in the urine, and BAY i 6296 (the cleaved substance of lactam ring of Mezlocillin) existed in the feces. The cord blood level of Mezlocillin was approximately 10% of the maternal serum level in the pregnant rat. Approximately 60% of Mezlocillin was bound to proteins. These findings were confirmed by the experiments using ^{14}C -Mezlocillin.