

Cefaclor の動物における吸収・排泄・代謝

吉 田 正・木 村 靖 雄・中清水 弘
土 肥 正 善・羽 野 義 博・大 坪 龍
塩野義製薬株式会社 研究所

新経口セファロsporin 抗生物質 Cefaclor (CCL) をマウス、ラット、イヌに 12.5~100 mg/kg 経口投与して、その吸収・排泄・代謝をしらべ Cephalixin (CEX) と比較した。

CCL は経口投与後、CEX と同様に腸管より速やかに吸収されて投与量に比例した血中濃度を与えた。Peak 値は両剤とも同等であったが、CCL は CEX よりも早く Peak に達し、濃度の減衰も速やかであった。AUC から求めた吸収率はマウスで 89%、ラットで 86%、イヌで 77% となり極めて優れた吸収効率を示した。

腸管から吸収された CCL は主として腎を介して排泄され、マウス 47%、ラット 43%、イヌ 34% の尿中回収率を示した。ラットでは胆汁中に 9.2% が回収されたが、腸管から再吸収後腎より排泄された。イヌでは胆汁中にほとんど排泄されなかった。

尿、血中の活性は未変化の CCL と同定されたが、ラット、イヌの尿中に CCL よりも極性の低い活性代謝物が検出される例があった。この代謝物は活性として尿中濃度の 0.1% を越えることはなかった。

イヌにおける 22 日間連続投与で、CCL の血中濃度、尿中回収率をしらべたが、蓄積傾向を認めなかった。

Cefaclor (CCL) は Eli Lilly 社で開発された新しい経口用合成 Cephalosporin 誘導体で、Cephaexin (CEX) の 3 位のメチル基に代り、クロール原子が直接結合しており、その化学構造は Fig. 1 に示した通りである。CCL は CEX と同様の抗

(glucose 40 g, casamino acid 5 g, ポボン液 (塩野義) 0.2 g, 水 100 ml) のみで飼育したものを使用した。

CCL および CEX の 20 mg/kg を右背部に皮下投与、または経口投与針で胃内に投与した。投与容量は体重 10 g 当り水溶液 0.1 ml とした。投与後 15, 30, 60, 90 分に頸椎脱臼により屠殺、開胸し、心臓より血液をヘパリン処理をした注射針にて採取した。

尿、胆汁試料の採取は WHEELER 等の方法に準じて行なった²⁾。投与マウスを個別に採尿容器に収容し、実験中は給餌、給水をしなかった。投与 2 時間後開腹して、まず、消化管を胃幽門部より直腸部迄取り出し、更に胆嚢と共に 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 中で切開して洗滌、これを胆汁試料とした。尿試料は膀胱を摘出し、採尿容器と共に buffer で洗滌して得た。経口投与群は尿試料のみを採取した。

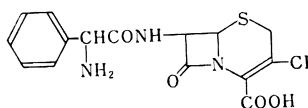
b. ラット

SLC-SD 系ラット、雄、7~8 週令 (静岡県実験動物農業協同組合供給) を使用した。実験前日より給餌、給水を止め、実験中は 5% グルコース液を与えた。

CCL および CEX 12.5 mg/kg、または 50 mg/kg を経口投与針で経口投与した。投与容量は体重 100 g 当り 1 ml とした。投与後 15, 30 分、1, 2, 3, 4 および 6 時間に頸動脈を切断して血液をヘパリン処理をした遠心管に採取した。

尿、胆汁試料は次の様に採取した。ラットを sodium

Fig. 1 Chemical structure of cefaclor



菌スペクトルを示すが、抗菌力は CEX の 2~8 倍強く、特に短時間での殺菌効果に優れた性質を有している³⁾。

今回、マウス・ラット及びイヌを使用して CCL を経口、または非経口投与し、動物におけるその吸収、排泄・代謝を調べて、CEX を対照薬剤として比較したのでその成績を報告する。

I. 材料および方法

1. 使用薬剤

CCL 原末 (lot No. A60 Y-29-055) および CEX 原末 (lot No. OBG-29A) を使用した。

2. 実験動物 投与方法および生体試料採取法

a. マウス

日本クレア K. K. 供給の JCL-ICR 系マウス、雄、6 週令、を実験の前日よりグルコース・アミノ酸溶液

pentobarbital 麻酔して、総胆管および膀胱へ polyethylene tube (Clay Adams 社, PE-10) をさし込み、tube の先端を体外へ導き、それぞれ胆汁、尿を採取した。薬物投与用の tube を口より胃部まで入れておき、個別にボールマンケージ (KN-326 III型) に固定した。麻酔覚醒後 tube より薬剤を投与した。尿は投与後、1, 2, 4 および 6 時間に膀胱を buffer で洗滌し、洗滌液と尿を合せて試料とした。他方、胆管カニューレを施術しないラットで、同様にして、尿試料のみの採取を行なった。

経口投与時の消化管内残留量および糞便中排泄量の測定は次のように行なった。ラットに CCL を 50 mg/kg 経口投与後 1 および 4 時間に頸動脈を切断、放血致死させ、腸管を取り出し、十二指腸部、小腸部 (3 等分して、それぞれ上部、中部、下部とする)、盲腸部、盲腸末端より肛門部迄の 6 部位に切断、それぞれを適量の 0.1 M acetate buffer (pH 5.0) で洗滌する。洗滌液はホモゲナイズした後 10,000×g 10 分間遠心し上清を試料とした。糞便は 0~24 時間排便量全部を集め、同 buffer 中でホモゲナイズした後 10,000×g 10 分間遠心して上清を試料とした。

c. イヌ

イヌは塩野義油日ラボラトリーで繁殖飼育した Beagle 種、雌、生後 9~13 ケ月、体重 7.6~9.4 kg を使用し、温度 20~26°C、湿度 45~70% に調節した犬舎内で個別に代謝ケージに入れ、1 日 1 頭 180 g のオリエンタル DB 型固型飼料を与えた。単回投与の場合は実験当日を除き飲料水は自由摂取させた。連続投与の場合はその期間中薬剤投与後 2~4 時間に給餌したが、採血、採尿を行なう日は投与後 7 時間に給餌した。

CCL および CEX を左前肢正中静脈内へ注射、またはゼラチンカプセル (1/8 オンスケミファーム) に充填した検体を経口投与した。経口投与の場合は、投与直後、経口ゾンデを用い、水 100 ml を与えた。投与後 30 分、1, 1.5, 2, 3, 4, 5 および 7 時間 (静脈内投与群はこれに加えて投与後 1, 15 および 45 分) に右前肢正中静脈より、ヘパリン処理をした注射針により採血した。

尿試料は採尿時間毎に導尿カテーテルを使用して膀胱から採取し、注射用生理食塩液 10 ml で膀胱洗滌した液を合わせて作成した。

胆汁試料の採取は次の手順で行った。Sodium pentobarbital による全身麻酔を施したイヌを手術台上に保定し、正中線に沿って開腹する。総胆管を十二指腸流入部付近で結紮、また胆嚢頸部も結紮した。総輸胆管に polyethylene tube を挿入し、その他端を体外に誘導し、

氷冷した試験管内に胆汁を集めた。CCL または CEX の懸濁液を十二指腸内に投与した後、縫合、閉腹する。個体は、胆汁採取と共に、採血を行ない、尿を留置カテーテルで前述の手技で採取した。イヌは、麻酔による体温低下を防ぐために保温した。

血液試料は、採取後速やかに氷冷し、遠心分離して血漿を測定用検体とした。

3. 濃度測定法

試料中の CCL または CEX の濃度は *Micrococcus luteus* ATCC 9341 を検定菌とする帯培養法 (Band Culture Assay)³⁾ により測定した。検定用培地には、Antibiotic Medium No.8 (Difco 製) pH 5.9 を 2 倍希釈した処方で使用した。標準溶液は、CCL 0.3~0.02 µg/ml, CEX 2.5~0.16 µg/ml の濃度範囲の 2 倍希釈系列を 0.1 M phosphate buffer (pH 6.0) で調製して検量線を作成した。血漿、尿、胆汁等の検体は 0.1 M phosphate buffer (pH 6.0) で希釈して測定試料とした。10倍以上に希釈すれば、体液は検量線に影響しなかった。とくに低濃度で希釈出来ない場合には、体液による補正を行なった。

4. 活性代謝物の検出法

CCL およびその活性代謝物の分離は、セルロース F (Merck 製) の薄層クロマトグラフィー (TLC) により行なった。各試料を原液のまま、5 µl または 10 µl を TLC プレートに spot し、室温にて展開した。展開溶媒は、酢酸エチル-アセトン-酢酸-水 (5:2:1:2) を用いた。展開終了後、約 1 時間、室温で風乾させてから、*M. luteus* ATCC 9341 を試験菌とする寒天平板上に 30 分間拡散させたのち、一夜培養して bioautogram を作成した。試験培地には 1.5% 寒天添加の Antibiotic Medium No. 3, pH 7.0 (Difco 製) を使用した。

5. 蛋白結合率の測定

Visking tubing (直径 6.4 mm) を用いた遠心限外濾過法によって行なった。CCL と対照薬剤を 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) で溶解し、1 mg/ml 溶液を用意する。この溶液 1 容を 100 倍容の血漿 (炭酸ガスで pH 7.0 に修正した) に添加し、37°C、30 分間反応させる。Visking tubing は、あらかじめ、buffer で十分に浸漬洗滌したのち脱水したものを使用し、これに反応液の 1 ml を入れて 4°C、1,000×g で遠心分離する。Tubing は 10 ml の遠沈管の縁にその両端をのせ、cap で押えて懸垂させた。遠心分離 15 分後に得られる限外濾液を除き、tubing を新しい遠沈管に移し、再び、40 分間遠心分離を行なった。2 回目に得られた濾過液を測定に供した。反応後の血漿中濃度 (C) と濾過液中の濃度 (Cf) とを、前述の band culture 法で測定して、次の

計算式で蛋白結合率・P を求めた。

$$P = \left(1 - \frac{C_f}{C}\right) \times 100$$

II. 実験成績

1. マウスにおける吸収、排泄

CCL と CEX の各 20 mg/kg を皮下投与、または経口投与したときの血中濃度を比較した。両剤とも、投与後 15 分で最高濃度に達し、CCL と CEX に有意の差は認められないが、投与 60 分以降では、CEX の方が高濃度を維持する (Table 1)。投与後 90 分迄の値から血中濃度半減期を求めると、CEX の方が長く、皮下投与時 CCL 21 分、CEX 29 分、また経口投与時 CCL 39分、CEX 69 分であった。

40 および 80 mg/kg 経口投与後 2 時間の尿中排泄は、Table 2 に示したようになり、投与量にかかわらず一定に回収されたので、両群全個体の平均値で比較

すると、CCL 42.3±8.0%、CEX 67.0±11.4% であった。20 および 40 mg/kg の皮下投与時の尿中排泄率を同様にして求めると、CCL 47.4±7.1%、CEX 79.4±7.9 %の平均値に達した。これと平行して、皮下投与時の腸管内洗滌法による回収率は、いずれも極めて低く、投与後 2 時間で CCL 0.2%、CEX 0.5 %を示したにすぎなかった。そこで吸収率は、皮下投与時と経口投与時との尿中回収率の比から求められると考えられ、これを計算すると、CCL 89%、CEX 84% となり、両剤とも経口投与で、効率良く腸管より吸収される事を示した。

さらに、経口投与時の血中濃度曲線から、AUC (Area under curve) を求めて、皮下投与時の値に対する比率を計算したときも、CCL 89%、CEX 99% の吸収率を示し、尿中排泄から求めた吸収率と良く一致した。

2. ラットにおける吸収、排泄

ラットに 12.5 mg/kg および 50 mg/kg を経口投与

Table 1 Plasma levels of cefaclor and cephalixin after subcutaneous or oral administration in mice

Antibiotic ¹⁾	Route	Plasma concentration ²⁾ (μg/ml)			
		15	30	60	90 min.
Cefaclor	p.o.	17.4 ± 3.2	14.5 ± 2.6	7.8 ± 1.6	4.8 ± 0.6
	s.c.	29.4 ± 5.4	15.3 ± 2.3	5.9 ± 1.6	2.4 ± 0.5
Cephalixin	p.o.	22.9 ± 4.6	19.3 ± 2.1	15.7 ± 3.6	10.6 ± 2.3
	s.c.	31.6 ± 2.0	24.7 ± 0.2	10.2 ± 3.8	5.7 ± 1.7

- 1) Dose = 20 mg/kg
- 2) Average from four mice in each interval ± standard deviation

Table 2 Urinary excretion of cefaclor and cephalixin in mice

Route	Dose (mg/kg)	Urinary Recovery in 2 hours (%) ¹⁾	
		Cefaclor	Cephalixin
Oral	80	48.8 ± 1.1	66.3 ± 15.9
	40	35.8 ± 6.0	68.0 ± 3.0
Subcutaneous	40	51.3 ± 4.1	75.7 ± 4.6
	20	43.4 ± 7.6	83.2 ± 9.2

- 1) Percent of doses were average from five mice in each experiment ± standard deviation,

すると、CCL は投与後 30 分で、CEX は投与後 30～60 分で最高血中濃度に達し、両剤とも、いずれの投与量でも、その値に大きな差は無かった (Table 3)。時間経過とともに、CEX の血中濃度は CCL よりも高く維持されており、血中濃度半減期を求めると、CCL 12.5 mg/kg 投与群 57 分、50 mg/kg 投与群 65 分、一方、CEX は、それぞれ 95 分、103 分となり、CCL は CEX よりも血中濃度が速く低下した。

CCL の尿中排泄は、投与後 6 時間で終る傾向にあ

り、投与量の 43.5% が回収された。CEX は 6 時間で 75.9% を示し、排泄はそれ以後も持続の傾向を示した。CCL に比較して CEX の尿への遅い排泄は、血中濃度の減衰が遅いことと平行した (Table 4)。

経口投与時の胆汁中排泄は、投与 6 時間後で、CCL では投与量の 9.2% を胆汁中に回収し、CEX の 11.8% に比して、やや、低い値であったが有意の差はなかった (Table 4)。尿中排泄量と合わせると、CCL 42.1% CEX 71.6% となり、この値は胆管カテーテルを施さな

Table 3 Plasma levels of cefaclor and cephalixin after oral administration in rats

Antibiotic	Dose (mg/kg)	Plasma concentration ($\mu\text{g/ml}$) ¹⁾					
		0.25	0.5	1	2	3	4 hrs.
Cefaclor	12.5	2.6 $\pm$ 0.3	3.1 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.1
	50	6.7 $\pm$ 2.4	12.3 $\pm$ 2.6	7.2 $\pm$ 1.3	3.4 $\pm$ 0.7	2.3 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.2
Cephalexin	12.5	2.4 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 0.8	4.5 $\pm$ 0.4	2.8 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.5
	50	11.7 $\pm$ 6.4	11.4 $\pm$ 2.1	11.1 $\pm$ 2.3	8.8 $\pm$ 0.5	4.6 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 0.6

1) Average from three mice in each interval $\pm$ standard deviation

Table 4 Urinary and biliary excretion of cefaclor and cephalixin after oral administration in rats

Antibiotic (Dose)	Group ¹⁾	Fraction	Cumulative recovery ²⁾ % for			
			0 ~ 1	0 ~ 2	0 ~ 4	0 ~ 6 hrs.
Cefaclor (50 mg/kg)	a	Urine	13.0 $\pm$ 4.4	27.6 $\pm$ 5.1	40.9 $\pm$ 5.8	43.5 $\pm$ 5.9
	b	Urine	5.7 $\pm$ 4.7	16.0 $\pm$ 11.1	26.5 $\pm$ 12.3	32.9 $\pm$ 13.3
		Bile	1.8 $\pm$ 1.4	4.9 $\pm$ 3.3	7.3 $\pm$ 3.8	9.2 $\pm$ 3.2
Cephalexin (50 mg/kg)	a	Urine	17.3 $\pm$ 5.1	42.7 $\pm$ 8.3	66.9 $\pm$ 9.2	75.9 $\pm$ 6.4
	b	Urine	5.6 $\pm$ 4.4	25.0 $\pm$ 7.6	47.7 $\pm$ 7.8	59.8 $\pm$ 6.3
		Bile	1.1 $\pm$ 0.6	4.4 $\pm$ 2.0	9.3 $\pm$ 2.5	11.8 $\pm$ 2.7

1) Urinary catheterized rats were furnished with or without a bile fistula for group (b) and group (a), respectively.

2) Average from six rats for CCL or five rats for CEX in each interval $\pm$ standard deviation

Table 5 Distribution of cefaclor in gastro-intestinal tract after oral administration in rat¹⁾

Part of GI tract	Recovery ²⁾ % for		
	0 ~ 1	0 ~ 4	0 ~ 24 hrs.
Duodenum	1.5 ± 0.1 ³⁾	0.1 ± 0.1	—
Intestine (Upper)	3.8 ± 0.8	0.2 ± 0.07	—
Intestine (Middle)	3.2 ± 0.3	0.22 ± 0.03	—
Intestine (Lower)	0.32 ± 0.1	0.19 ± 0.08	—
Cecum	0.01	0.09 ± 0.03	—
Rectum	0.03 ± 0.02	0.05 ± 0.04	—
Feces	—	—	< 0.01
Urine	—	31.0 ± 10.7	44.7 ± 3.7

1) Dose = 50 mg/kg

2) The contents of digestive tract were suspended in M/10 acetate buffer (pH 5) and used for determination of the activity.

3) Average of three rats in each interval ± standard deviation

いラットで得た尿中回収率 CCL 43.5%, CEX 75.9% と良く一致した。このことは、胆管より腸管内に分泌された CCL および CEX が、再び、腸管より再吸収されていることを示唆した。

CCL を経口投与した時の腸管内の残留活性体分布の推移を、投与 1 時間後と投与 4 時間後で調べてみると、投与 1 時間後で腸管内には投与量の約 9% が分布したが、その大部分は小腸中部までに存在し、小腸下部以降には極めて微量 (0.4% 以下) が検出されたにすぎなかった (Table 5)。さらに、投与 4 時間後では、腸管内には投与量の 1% 弱が存在したが、盲腸部以降にはほとんど検出されず、また、糞便中の回収量は投与 24 時間で 0.01% 以下で、CCL の吸収は小腸上部でほとんど完全に行なわれていることを示した。また、CCL の体外排泄率が CEX に比べて低いのは、分解による失活が主原因と考えられる。

3. イヌにおける吸収、排泄

CCL と CEX の cross over によるカプセルの経口投与とあわせて、胆汁中排泄を測定するために、麻酔イヌを使用して、十二指腸に懸濁液の投与を行なった。CCL、CEX を 25, 100 mg/kg 投与したときの血中濃度の平均値を Table 6 に示した。25 mg/kg 経口投与においては、CCL、CEX 共に、投与後 2 時間で血中濃度は

それぞれ最高値 22.0 と 25.4 $\mu\text{g/ml}$ に達した。3 時間以降になると、CCL は CEX に比して血中濃度が低くなり、その減衰が速いことが認められた。100 mg/kg の経口投与は 25 mg/kg 投与に比べると、投与後 1~3 時間に血中濃度平均値は、約 2 倍に達し、4 時間以降 3~4 倍になり、両剤とも用量相関が認められた。各個体について、2 剤の cross over の成績を Fig. 2 に示した。個体によっては明確な peak がなかったり、投与 3 時間以降に第 2 の peak を示す場合があった。このように、両剤とも、かなり個体差が大きいが、用量が変わっても、やはり 3 時間以降で、CCL の方が CEX より血中濃度が低い傾向は変らなかった。

十二指腸投与では、peak は 1~2 時間にあり、経口投与例よりも個体差は少なく、早く、しかも高い血中濃度に達し、両剤とも吸収の良いことを示した。(Fig. 3, Table 6) 3 時間以降になると、投与方法による差はみられなくなり、同等の血中濃度を示した。経口投与にカプセルを使用したために、個体によって胃内での崩壊分散に差が生じ、とくに 100 mg/kg 投与例の場合、腸管への移行が均一に行われなかったと考えられる。

静注後の血中濃度は、1 分で $169 \pm 29 \mu\text{g/ml}$ に達するが、以後、速やかに低下した。

25 mg/kg 投与の場合について、経口投与例または十

Table 6 Plasma levels of cefaclor and cephalixin in dogs

Anti-biotic	Dose (mg/kg)	Route ¹⁾	Plasma concentration ²⁾ ($\mu\text{g/ml}$)						
			0.5	1	2	3	4	5.5	7 hrs.
Cefaclor	25	p.o.	3.9 $\pm$ 5.2	13.2 $\pm$ 4.1	22.0 $\pm$ 7.3	18.6 $\pm$ 8.7	10.6 $\pm$ 4.4	5.0 $\pm$ 1.3	3.5 $\pm$ 1.3
		i.d.	17.5 $\pm$ 6.0	22.2 $\pm$ 8.2	19.0 $\pm$ 2.5	15.1 $\pm$ 1.4	10.0 $\pm$ 1.6	6.9 $\pm$ 1.7	4.5 $\pm$ 1.4
	100	p.o.	14.9 $\pm$ 14.9	35.2 $\pm$ 26.1	38.0 $\pm$ 24.0	32.0 $\pm$ 10.5	30.4 $\pm$ 4.9	20.8 $\pm$ 9.8	14.8 $\pm$ 12.3
		i.d.	42.8 $\pm$ 11.9	48.6 $\pm$ 10.0	53.7 $\pm$ 6.9	41.8 $\pm$ 1.1	31.5 $\pm$ 1.0	23.5 $\pm$ 3.8	15.9 $\pm$ 2.4
Cephalexin	25	p.o.	4.0 $\pm$ 2.4	11.9 $\pm$ 4.9	25.4 $\pm$ 7.3	22.4 $\pm$ 1.7	20.4 $\pm$ 4.4	13.7 $\pm$ 4.7	9.3 $\pm$ 0.2
		i.d.	24.8 $\pm$ 7.3	36.1 $\pm$ 4.9	31.8 $\pm$ 1.1	21.5 $\pm$ 2.0	16.0 $\pm$ 4.2	11.3 $\pm$ 5.1	8.4 $\pm$ 3.4
	100	p.o.	13.0 $\pm$ 9.8	36.4 $\pm$ 17.3	46.5 $\pm$ 26.5	50.1 $\pm$ 14.2	54.1 $\pm$ 8.5	36.0 $\pm$ 15.0	27.1 $\pm$ 20.5
		i.d.	57.2 $\pm$ 14.8	73.1 $\pm$ 14.1	73.0 $\pm$ 6.5	55.5 $\pm$ 7.5	43.7 $\pm$ 8.1	31.3 $\pm$ 7.3	19.2 $\pm$ 3.2

- 1) p.o. $\approx$ oral i.d. $\approx$ intraduodenal
- 2) Average of three dogs $\pm$ standard deviation

Fig. 2 Plasma levels of cefaclor and cephalixin after oral cross-over administration in dogs

Dose = 25mg/kg (Dog A, B and C) CCL (●)

100mg/kg (Dog D, E and F) CEX (○)

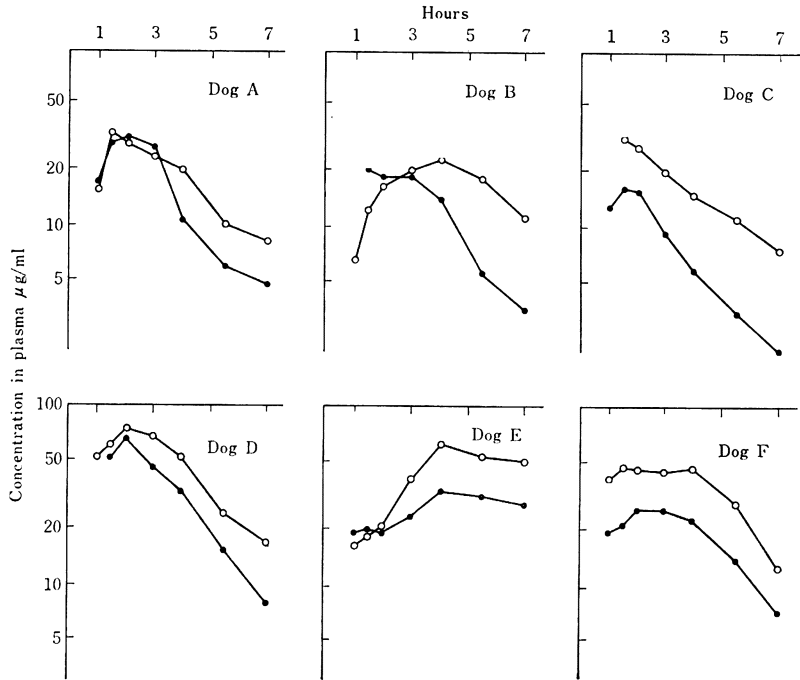
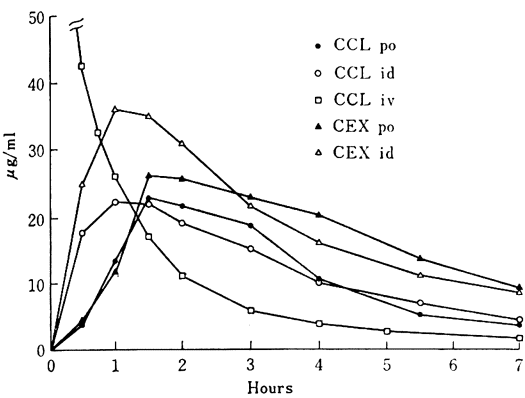


Fig. 3 Plasma levels of cefaclor and cephalixin after oral, intraduodenal and intravenous administration in dogs
(Dose = 25mg/kg, n = 3)



十二指腸投与例の静注例に対する比較から、CCL の吸収効率を求めた。AUC の比で求めた吸収率は、経口投与で 77%，十二指腸投与で 85% となり、腸管吸収が極めて優れていることを示した。

CCL の尿中への排泄は、静注例では、7 時間に投与量の 64.8% を示し、その大部分は 1~2 時間までに回収された (Table 7)。

CCL は経口投与でも尿中排泄は速く、血中濃度の

peak がすぎたから 1~2 時間で、尿中への回収はほとんど完了した。しかし、尿中回収率は静注例よりも極めて低く、24 時間でも 33.5% に達したにすぎなかった (Table 7)。

十二指腸投与により腸管から吸収された CCL は、CEX と同様に、胆汁中にはほとんど排泄されず、投与量の 0.5% 以下しか回収されなかった。

一方、CEX の血中濃度曲線が CCL とほとんど同じ経過をとるのに、CEX の尿中への排泄は peak を 2 時

Fig. 4 Urinary excretion of cefaclor and cephalixin after oral and intraduodenal administration in dogs

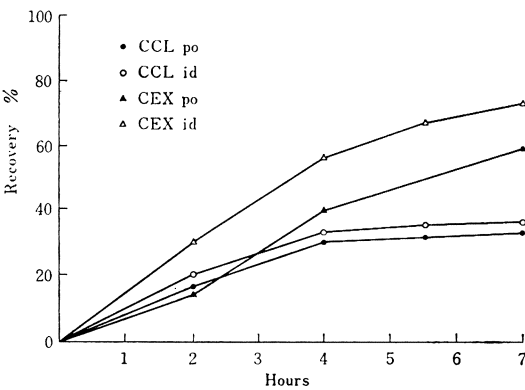


Table 7 Urinary and biliary excretion of cefaclor and cephalixin in dogs

Fraction ¹⁾	Route ²⁾ administered	Percent of dose recovered during 7 hrs. ³⁾			
		Cefaclor		Cephalexin	
		25 mg/kg	100 mg/kg	25 mg/kg	100 mg/kg
Urine	i.v.	64.8 ± 11.5	NT ⁴⁾	NT	NT
	p.o.	33.5 ± 11.8*	24.8 ± 8.2*	68.8 ± 5.5*	56.1 ± 3.7
	i.d.	37.2 ± 11.9	40.9 ± 8.9	74.7 ± 7.9	63.0 ± 9.7
Bile	i.d.	0.25 ± 0.05	0.42 ± 0.20	0.28 ± 0.17	0.31 ± 0.13

1) Urine was collected for 7 hrs, after administration except the cases indicated by asterisk in which collection was terminated at 24 hrs.

2) p.o. = oral, i.d. = intraduodenal, i.v. = intravenous

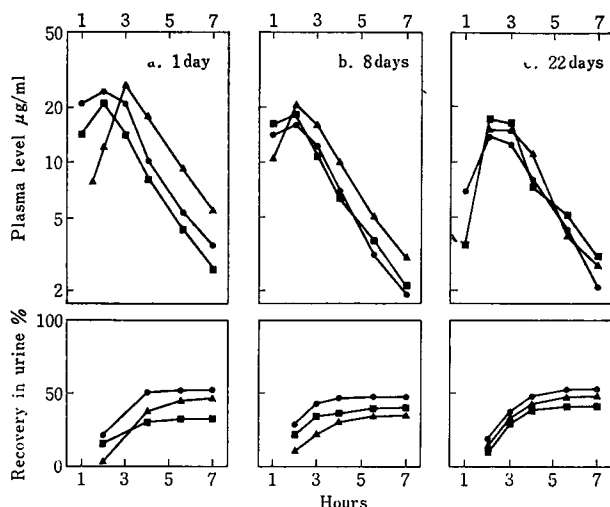
3) Average of three dogs ± standard deviation

4) NT = Not tested

Fig. 5 Plasma levels and urinary excretion of cefaclor after orally consecutive administration in dogs

Dose = 25mg/kg, once daily during 22 days

Dog 1 (●), Dog 2 (▲), Dog 3 (■)



間過ぎても、なお続き、十二指腸投与例で、投与後 7 時間で約 75% に達し、さらに増加する傾向がみられた (Fig. 4)。回収率における両剤の差は、安定性の差に起因することを示唆した。

4. 連続投与

イヌに CCL の 25 mg/kg を 1 日 1 回、22 日間、反復して経口投与した。1 群 3 頭を使用し、各個体の成績を Fig. 5 に示した。

100 および 250 mg/kg の反復投与も行なったが、前述したように、カプセル崩壊の不均一性を反映して、再現性のある成績が得られなかった。そこで 25 mg/kg 投与例についてみると、単回投与と、7 回、および 22 回反復投与後の血中濃度、および尿中排泄には、著しい違いが認められず、とくに蓄積傾向を認めなかった。

5. 活性代謝物の検索

CCL を経口投与した動物の尿について TLC-Bioautography を行ない、活性代謝物の有無を調べた。

Fig. 6 は、ラットに 100 mg/kg を投与したときの 2 ~ 4 時間の尿分画の成績である。未変化の CCL のほかに Rf 値の高い新しい spot (A-1 と仮称する) が認められた。対照として、投与に用いた CCL 標準品の 10 μg 展開像には、A-1 は認められないことから、体内で変化した CCL の代謝物と考えられる。

A-1 spot は、ラット以外の動物では、イヌ、ウサギにも認められたが、マウスでは確認できなかった。

この代謝物 A-1 は、原尿中の CCL の濃度が 1,000

Fig. 6 Bioautogram of rat urine collected during 2 to 4 hrs after oral administration of cefaclor at 100mg/kg

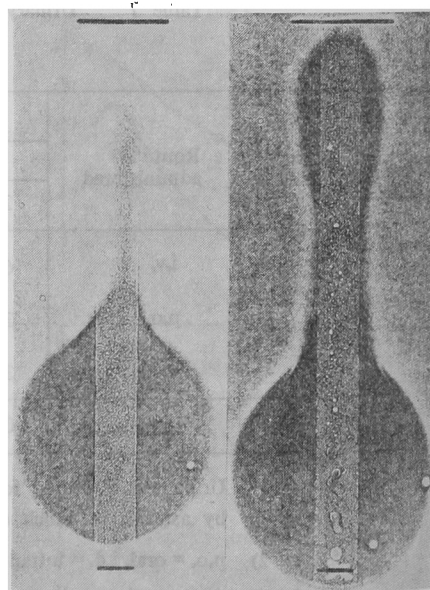
Solvent : Ethylacetate-Acetone-Acetic acid-Water (5:2:1:2)

Plate : Cellulose F (Merck)

Organism : *M. luteus* ATCC 9341

Front

Origin



Control
CCL 10 μg

Rat Urine
2~4 hours

Table 8 Protein binding in plasma of different species

Serum source	Bound % ¹⁾		
	Cefaclor	Cephalexin	Cefazolin
Mouse	14.6	7.2	NT ²⁾
Rat	9.3	16.2	74.8
Dog	20.8	9.3	56.1
Horse	13.6	10.5	59.6
Human	23.1	19.0	> 95

1) Ultrafiltration method, test concentration = 10 $\mu\text{g/ml}$

2) NT = Not tested

$\mu\text{g/ml}$ (5 $\mu\text{g/spot}$) 以下のときには認められず, 2,000 $\mu\text{g/ml}$ (10 $\mu\text{g/spot}$) 以上になると確認されることが多かったが, どの個体でも認められるとは限らなかった。この系において, CCL の検出限界は 0.01 $\mu\text{g/spot}$ であるから, 尿に含まれる A-1 の活性は, CCL の活性当量として 1/1,000 に匹敵し, それ以上になることはない。尿中の抗菌活性濃度には, ほとんど寄与していないと考えられた。

6. 血漿蛋白結合率

遠心限外濾過法によって測定した CCL の蛋白結合率は, ラットを除き, CEX よりもやや高値を示した。これを, 対照の Cefazolin と比較すると, CCL と CEX の両者の差は小さく, いずれの動物種由来の血漿に対しても, 似た挙動を示した (Table 8)。

Ⅲ. 考 察

CCL の経口剤としての特徴を明らかにする目的で, マウス, ラット, イヌを使用し, 腸管からの吸収効率に注目して, CEX と比較しながら実験を行なった。まず経口投与による血中濃度は, どの動物種でも両剤は同等の peak 値に達した。CCL は CEX よりも速やかに peak に達し, 消失も速い傾向がみられた。すなわちマウス, ラット, イヌにそれぞれ 20, 12.5, 25 mg/kg を経口投与したとき CCL の血中濃度半減期はそれぞれ, 約 39 分, 57 分, 108 分であったが, CEX の 69 分, 95 分, 158 分に比べると, 約 2/3 となりいずれも短かった。

経口および非経口投与の血中濃度曲線から求めた AUC の比率から, マウスにおける Bioavailability を評価すると, CCL 89%, CEX 99% を示し, 両剤とも極めて優れている。CCL は, ラットでも 86%, イヌではやや低いが 77% を示し, 吸収効率のよいことは

SULLIVAN 等⁴⁾ の指摘するところと一致している。

投与量に 4 倍の差をつけたときの血中濃度は, ラットでは用量によく相関し, 約 4 倍濃度を上昇させた (Table 3) が, イヌでは 2~3 倍の上昇をさせるにとどまった (Table 6)。イヌの経口投与はカプセルで行なったために, 投与量が高くなると, 胃内での分散が遅れることがあると考えられる。ヒトにおける CEX の経口投与でも, カプセルで投与すると, 懸濁液投与に比べて, peak 値に達する時間が, 約 30 分遅れるとされている^{5,6)} また, 十二指腸内に懸濁液で投与した場合, 経口カプセル投与よりも peak の発現が速く, peak 値も高くなることが認められた (Table 6)。

100 mg/kg 以上の用量で経口投与を行なったとき, 用量相関性が低下したのも, カプセル投与を行なったことに起因すると考えられ, ここではイヌの成績は, 25 mg/kg の用量についてのみ採用することにした (Fig. 5)。

CCL の尿中排泄は, 血中濃度の消失が早いことと相関して CEX のそれより早く終り, 回収率も低かった。CCL の回収率は, マウスでは 47.4 $\pm$ 7.1%, ラットでは 43.5 $\pm$ 5.9%, イヌでは 33.5 $\pm$ 11.8% と低くなった。この数値は血中濃度半減期と反比例する関係にあることから, CCL の安定性が関与していると考えられた。すなわち, CCL は体液中で不安定なことが報告されており⁷⁾, 体外への排泄が遅くなるほど体内に残っている部分の CCL の失活が進行するために, 体外への総回収率は減少することになる。¹⁴C-CCL を経口投与したとき, 放射活性の尿中回収率のうち抗菌活性を持つ分画は, ラット, マウスに比べてイヌにおいて最も小さくなることが認められており⁴⁾, 失活した分解物の多いことが明らかである。これに対して CEX は, 種差による変動は少なく⁸⁾, ここに得られた成績でも, CEX の回収率は,

マウス 66%, ラット 76%, イヌ 69% で種によって大きく変動しなかった。すなわち, CEX は, CCL より安定なことを示している。

CCL の胆汁排泄は, 胆管カニューレ施術のラットで投与量の 9.2% に達した。しかしながら, 胆管カニューレを施術しない群では小腸下部以下にも糞便中にも CCL 活性が検出できないこと (Table 5), また, 胆汁回収量の分画が加算されて尿中に排泄されたこと (Table 4) から, CCL は CEX と同様に enterohepatic recirculation により再吸収されて, 腎より排泄されることを示している。一方イヌでは, 両剤ともに胆汁中にはほとんど排泄されず, わずかに 0.5% 以下を回収したにすぎない。

尿中に排泄される抗菌活性が未変化の CCL であることを確認するために, TLC-Bioautogram を行なったところ, ラット, ウサギ, イヌの尿で, CCL 以外の抗菌活性をもつ spot を一つ確認した。この抗菌活性をもつ代謝物 A-1 は, 尿中濃度のたかい場合に検出されるが, 抗菌活性として, CCL の 0.1% を越えることはなかった。

SULLIVAN ら⁹⁾も, マウス尿中, ラット胆汁中に CCL 以外の活性代謝物があることを報告しているが, クロマト挙動や, 生成量については不明であり, 本報告で検出された A-1 との異同は論じられない。一方, 鄭ら⁹⁾, 中山ら¹⁰⁾は, CCL を経口投与したヒトの尿中から, 活性代謝物と考えられる微量の spot を TLC-Bioautogram 上に検出した。この spot は, 原尿の CCL 濃度がたかいときにのみ認められた⁹⁾。A-1 はクロマト挙動からこれと同じものと考えられる。村川ら¹¹⁾は, ABPC 投与尿に同様の挙動を示す活性代謝物を検出して, これが体内の acetaldehyde との反応で生成されること, また, これが ABPC に可逆変化する性質のあることを報告している。私どもの検討でも, CEX や CCL を含む血漿試料に, 除蛋白の目的で Acetone 処理を行なったときに, A-1 類似の易動度を示す spot が生成されるし, CCL を acetaldehyde と反応させても A-1 と同じ Rf をもつ spot が認められた。

CCL も CEX も ABPC と同じ側鎖構造の phenylglycyl 基をもつことから, penicillin の場合と同様の生成機作が示唆され, 体内の ketone body が活性代謝物 A-1 の生成要因と考えられる。A-1 の生成量は, ヒト, 動物いずれの場合も, 抗菌活性としては極めて微量であるが, その生物, 化学的性状, 生成機作については, 別途に報告する。

文 献

- 1) 吉田 正, 亀田康雄, 元川清司, 村上和久, 中本省三: Cefaclor の *in vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 27(S-7): 71~97, 1979
- 2) WHEELER, W. J.; W. E. WRIGHT, V. D. LINE & J. A. FROGGE: Orally active esters of cephalosporin antibiotics. Synthesis and biological properties of acyloxymethyl esters of 7-(D-2-amino-2-phenylacetamido)-3-[5-methyl-(1,3,4-thiadiazol-2-yl) thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid. *J. Med. Chem.* 20: 1159~1164, 1977
- 3) 木村靖雄, 土肥正善, 吉田 正: 抗生剤の微量定量一帯培養法の応用. *Chemotherapy* 25: 449~450, 1977
- 4) SULLIVAN, H. R.; S. L. DUE, D. L. K. KAU, J. F. QUAY & W. M. MILLER: Metabolism of [¹⁴C] cefaclor, a cephalosporin antibiotic, in three species of laboratory animals. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 10 (4):630-638, 1976
- 5) O' CALLAGHAN, C. H.; J. P. R. TOOTILL & W. D. ROBINSON: A new approach to the study of serum concentrations of orally administered cephalixin. *J. Pharm. Pharmacol.* 23:50~57, 1971
- 6) NIGHTINGALE, C. H.; D. S. GREENE & R. QUINTILIANI: Pharmacokinetics and clinical use of cephalosporin antibiotics. *J. Pharm. Sci.* 64:1899~1927, 1975
- 7) FOGLESONG, M. A.; J. W. LAMB & J. V. DIETZ: Stability and blood level determinations of cefaclor, a new oral cephalosporin antibiotic. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 13:49~52, 1978
- 8) SULLIVAN, H. R.; R. E. BILLINGS & R. E. Mc MAHON: Metabolism of cephalixin-¹⁴C in mice and in rats. *J. Antibiot.* 22:195~200, 1969
- 9) 鄭 漢彬, 説田 修, 加藤直樹, 河田幸道, 西浦常雄: 尿路感染症に対する Cefaclor の基礎的・臨床的検討. *Chemotherapy* 27(S-7): 571~585, 1979
- 10) 中山一誠, 岩井重富, 村田郁夫, 坂部孝, 石山俊次: 新経口セファロsporin系抗生物質 Cefaclor の抗菌力, Pharmacokinetics, 代謝, 臓器移行性および外科臨床応用について. *Chemotherapy* 27(S-7): 453~460, 1979
- 11) MURAKAWA, T; Y. KONO & M. NISHIDA: Studies on the formation and activity of the transformation product of ampicillin. II. *J. Antibiot.* 25:421~426, 1972
- 12) KORZENIOWSKI, O. M.; W. M. SCHELD & M. A. SANDE: Comparative pharmacology of cefaclor and cephalixin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 12(2):157~162, 1977

ABSORPTION, EXCRETION AND METABOLISM OF CEFACLOR IN ANIMALS

TADASHI YOSHIDA, YASUO KIMURA, HIROMU NAKASHIMIZU

MASAYOSHI DOI, YOSHIHIRO TOCHINO and RYU OTSUBO

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Cefaclor (CCL), a new oral cephalosporin antibiotic, was administered to mice, rats and dogs in either single or multiple doses ranging from 12.5 to 100 mg/kg, for comparison of its pharmacodynamics with that of cephalexin (CEX).

After oral doses, both antibiotics produced similar peak concentrations in plasma, which were proportional to dosings, but CCL disappeared more rapidly in plasma than CEX. The comparative studies between oral and parenteral administration revealed that CCL was quite efficiently absorbed from the gastrointestinal tract and its bioavailability was estimated from the area under curves to be 89, 86 and 77% in mice, rats and dogs, respectively.

In rats, 9.2% of the doses was excreted into bile fluid but eliminated through kidney via enterohepatic recirculation. Biliary elimination in dogs was only marginal. Thus, CCL, like CEX, was primarily eliminated by renal excretion. The urinary recovery of CCL in mice, rats and dogs after oral doses was 47, 43 and 34% of the doses, respectively. The unstable properties might be involved in the low recoveries of CCL in comparison to those of CEX ranged 66 to 76%.

Antibiotic activity found in plasma and urine was identified to unaltered CCL. In some cases, a single active metabolite was detected in urine after oral administration but its amount was only minute as representing less than 0.1% of the total antibiotic activity recovered into urine.

There was no accumulation of antibiotic in plasma and urine during multiple dosings of CCL in dogs.