

Cefotaxime のウサギにおける薬動学的研究

重 栖 幹 夫・富 樫 修・藤 本 和 巳

ヘキストジャパン株式会社 総合開発研究所

ウサギに Cefotaxime を静脈内投与 (20 mg/kg) し、高速液体クロマトグラフィー法または bioassay 法により、Cefotaxime の薬動学的検討を行なった。

Cefotaxime は、半減期 57.4 分で血漿中から消失した。血漿中には母化合物以外に desacetyl 体 (RU 628) も検出されたが、その濃度は、母化合物に比べるとはるかに低濃度であった。この RU 628 を静脈内に投与した時の血漿中半減期は約 11 分で、母化合物に比べるとその消失速度は著しく大きかった。

Cefotaxime は組織へ良好に移行し、腎では最も高い濃度に、肺、心でも他の臓器に比して高濃度に検出された。しかし、脳への移行はきわめて少なかった。

体外への排泄は、主として泌尿器系を介して行なわれ、投与量の約 75% が、投与後 6 時間以内に尿中に Cefotaxime および RU 628 として回収された。胆汁中へは、投与後 6 時間以内に、投与量のわずか 0.24% が、Cefotaxime および RU 628 として回収されたにすぎなかった。尿中へ排泄された Cefotaxime と RU 628 の量的比率は、約 1 : 3.3 と RU 628 の方が大きく、胆汁中には Cefotaxime と RU 628 はほぼ同量排泄された。

Sodium 7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]cephalosporanate (Cefotaxime, HR 756, CTX) は、グラム陽性及び陰性菌に對して広範囲な抗菌活性を示す¹⁻⁴⁾ 半合成 cephalosporin である。この化合物についての薬動学的検索は、¹⁴C-標識化合物を用いてラット、犬、人で既に行なわれている⁵⁾ が、今回我々は、ウサギを用い、高速液体クロマトグラフィー法で母化合物と代謝産物を分離定量、または、bioassay 法により Cefotaxime を測定して、薬動学的検索を行なった。

I. 実験材料および方法

1 使用薬物

Cefotaxime および desacetyl 体である RU 628 は、Fig. 1 に示した化学構造を有し、Hoechst A. G. および Roussel-Uclaf より提供されたものを使用した。

2 実験動物

当研究所で繁殖した 3 カ月齢 (体重 2.2~2.9 kg) の雄性日本白色種ウサギを、実験開始前 16 時間絶食して使用した。

3 薬剤の投与とサンプルの採取

Cefotaxime または RU 628 の 2% 生理食塩液溶液を一方の側の耳介静脈内に投与し、他側から、ヘパリン処理注射筒を用い、1 回に 1 ml を経時的に採血し、直ちに 3,000 rpm, 10 分間遠心分離して得られた血漿を測定試料とした。尿は膀胱を手で圧迫し強制的に、薬物投与後一定時間毎に完全排尿させ採取した。

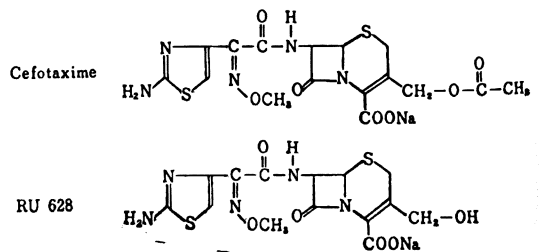
臓器内濃度を測定する為の各臓器は、ウサギを sodium pentobarbital (35 mg/kg, i. v.) 麻酔下、頸動脈から放血致死せしめた後直ちに摘出した。これらの臓器を 2 倍量の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で、ポリトロンホモジナイザーを用いて磨砕し、33% ホモジネートを作製後、直ちに遠心分離 (3,000 rpm, 20 分間) して得た上清を分析試料とした。

胆汁は、総胆管にポリエチレン製チューブを挿入後、薬物を静脈内に投与し、流出する胆汁を経時的に採取した。

4 血漿、尿および胆汁中濃度の測定

血漿、尿および胆汁中 Cefotaxime およびその main metabolite である RU 628 の濃度は、高速液体クロマトグラフィー法によって、以下のようにして測定した。

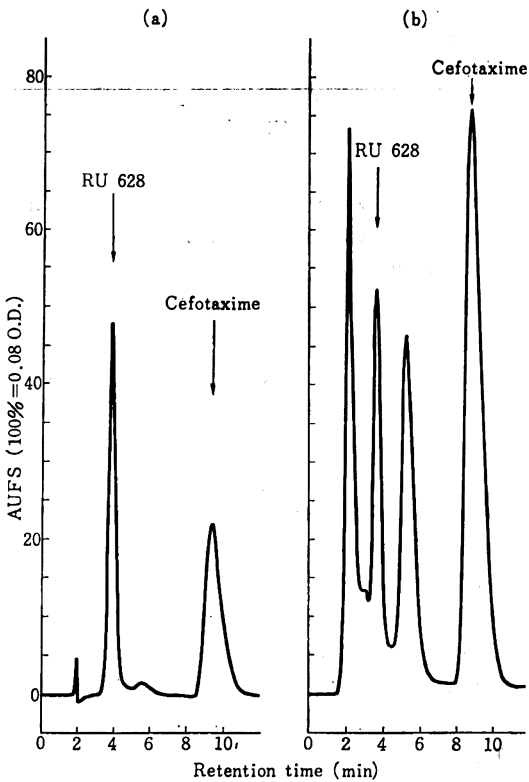
Fig. 1 Chemical structures of cefotaxime and RU 628



血漿、尿および胆汁サンプルは、それぞれ液体クロマトグラフィー用の溶媒または注射用蒸留水で適宜希釈した後、その 10 μ l を直接カラムに注入した。高速液体クロマトグラフィーは、日立 635 型および日本分光 TRI ROT-AR 型を用いて、カラム：4.6 mm (内径) \times 12.5 cm (長さ)、充填剤：SC-02 (JASCO, 10 μ), 移動相：0.2% 酢酸アンモニウム：メタノール = 5:1, 流速：1.0 ml/min, 検出波長：254 nm の条件で行なった。標準物質でのクロマトグラムと共に、ウサギに Cefotaxime を投与した時の尿の典型的なクロマトグラムを Fig. 2 に示した。Cefotaxime, RU 628 の retention time はそれぞれ 9 分, 3.5 分であり、本測定条件下で、両化合物は良好に分離することがわかる。Cefotaxime を投与したウサギの血漿、胆汁のクロマトグラムも、尿でのそれと極めて類似したクロマトグラムを示した。

Cefotaxime を投与しない各サンプルに、Cefotaxime および RU 628 (0~500 μ g/ml) を添加して得たクロマトグラムのそれぞれのピークの高さを、濃度と共にプロ

Fig. 2 High pressure liquid chromatograms



- (a) Standard aqueous solution (0.5 μ g each of cefotaxime and RU 628 per column)
 (b) Urine sample of rabbit to which cefotaxime was administered

ットすると、良好な直線性を示す検量線が得られた。この方法での検出限界濃度は、血漿、尿、胆汁でそれぞれ 0.1, 2 および 0.2 μ g/ml であった。

5 臓器内濃度の測定

臓器内の Cefotaxime 濃度の測定は、臓器ホモジネート上清について、bioassay 法 (カップ法) により行なった。すなわち、*M. luteus* ATCC 9341 を試験菌とし、1% ペプトン水 (Difco bacto peptone) を培地として、37°C で 20 時間培養後、Difco 製 Antibiotic medium No. 11 (Neomycin assay agar) に 1% になるように上記菌液を加え、プラスチックシャーレに分注し薄層平板とした。カップ内には、組織ホモジネートの上清を 0.2 ml 入れ、37°C, 18 時間培養後室温に 24 時間放置し、阻止円の直径から Cefotaxime の濃度を測定した。

ホモジネート上清それ自身による影響を消去する目的で、検量線は、Cefotaxime を投与しないウサギの各臓器毎のホモジネート上清に Cefotaxime を添加した溶液を用いて作製した。

Cefotaxime, RU 628 共に血漿中濃度は、free acid 量として表わした。

II. 結果

1 血漿中濃度

Fig. 3 に、Cefotaxime (20 mg/kg) を静脈内投与後の血漿中濃度推移を示した。Cefotaxime の血漿中濃度は速やかに減衰し、投与 6 時間後以降は検出されなかった。

Fig. 3 Plasma levels of cefotaxime and RU 628 in rabbits after a single administration (20 mg/kg, i. v.)

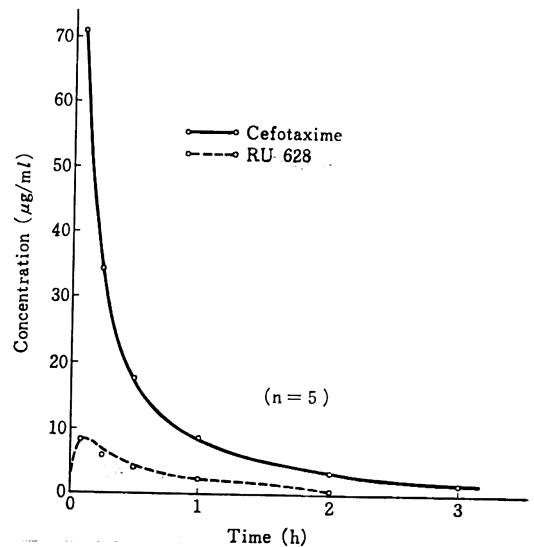


Fig. 4 Plasma level curve of cefotaxime calculated on the basis of the two compartment model from plasma data in rabbits after a single administration (20 mg/kg, i. v.)

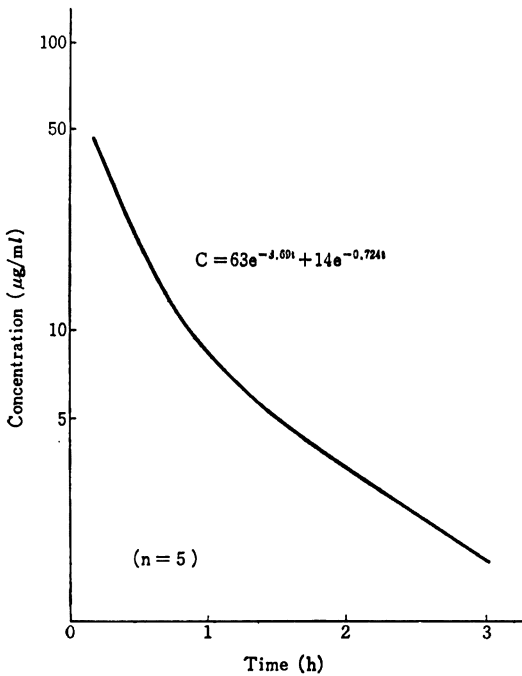


Fig. 5 Plasma level curve of RU 628 in rabbits after a single administration (20 mg/kg, i. v.)

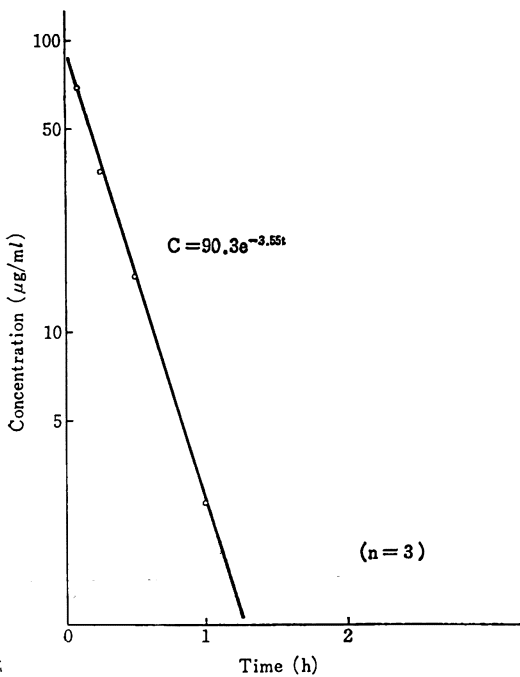
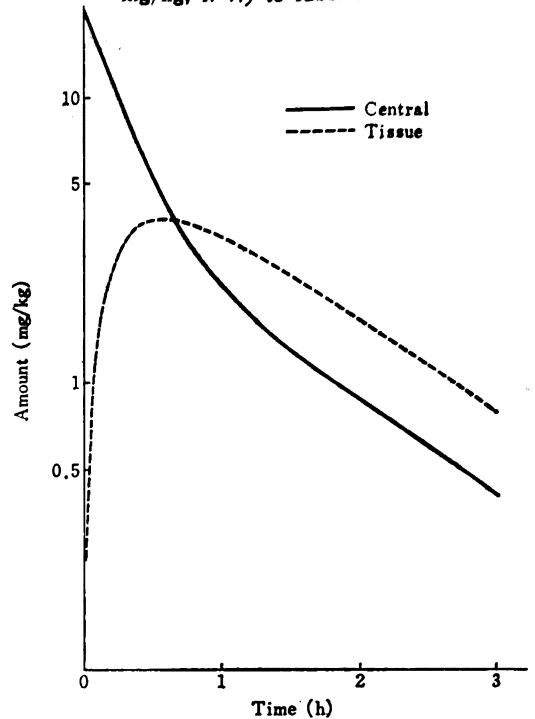


Fig. 6 Distribution amount of cefotaxime in central and tissue compartments in course of time after a single administration (20 mg/kg, i. v.) to rabbits



Cefotaxime 投与5分後から、濃度は母化合物に比べはるかに低値ではあるが、Cefotaxime の desacetyl 体である RU 628 が検出され、以後時間と共に減衰し、3時間後には検出されなくなった。

2 薬動学的解析

Fig. 3 に示した Cefotaxime の血漿中濃度データに基づいて、薬動学的解析を行なった。Cefotaxime 静注後の血漿中濃度は、two compartment model に従い、Fig. 4 に示したような理論曲線が得られた。pharmacokinetic parameter は、Table 1 に示したごとくである。その結果、Cefotaxime の血漿中からの半減期は、57.4分であった。

さらに、Cefotaxime 投与時に血漿中にみられる RU 628 の pharmacokinetic profile を知る為に、RU 628 の 20 mg/kg を静脈内に投与し、その薬動学的解析を行なった。

Fig. 5 に示すように、RU 628 の血漿中濃度推移は single compartment model に従った。Table 2 には、その kinetic parameter を示した。Cefotaxime に比べ RU 628 は半減期が 11.7 分と極めて短かく、血漿中からの消失が速やかに行なわれることを示している。

Table 1 Pharmacokinetic parameters calculated on the basis of the two compartment model from plasma data in rabbits after a single administration of cefotaxime

Parameter	Cefotaxime (20 mg/kg, i. v.)
T1/2(α) (h)	0.188
T1/2(β) (h)	0.957
K (h ⁻¹)	2.11
k ₁₂ (h ⁻¹)	1.04
k ₂₁ (h ⁻¹)	1.26
V ₁ (ml·kg ⁻¹)	260
(Vd) _{β} (l)	1.83
TC (ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)	9.16
AUC (μ g·ml ⁻¹ ·h)	36.4

T1/2(α) : Half life in α phase
 T1/2(β) : Half life in β phase
 K : Elimination rate constant
 k₁₂ : Rate constant for entering peripheral compartment
 k₂₁ : Rate constant for re-entering peripheral compartment
 V₁ : Apparent volume of central compartment
 (Vd) _{β} : Distribution volume of cefotaxime
 TC : Total clearance
 AUC : The area under the plasma level versus time curve from time zero to time infinity

Table 1 に示した parameter および Fig. 4 を用い、中央分画 (血液分画, A_C) と組織分画 (A_T) 中での Cefotaxime 量を、下記の(1), (2)式より求め、

$$A_C = V_1(A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}) \dots \dots \dots (1)$$

$$A_T = \frac{k_{12} \cdot A_0}{\alpha - \beta} (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \dots \dots \dots (2)$$

A : α 相における理論血中濃度 (t=0)
 B : β 相における理論血中濃度 (t=0)
 A₀ : 投与量 (mg/kg)

その時間推移を Fig. 6 に図示した。静脈内投与後、Cefotaxime は速やかに組織分画に移行し、約 30 分後にはピークに達し、以後血液分画内推移と平行して下降した。

3 臓器内濃度

Cefotaxime を 20 mg/kg 静脈内投与後の15分と1時間後の主要臓器内濃度は、Fig. 7 に示したごとく両測定時間のいずれでも、腎で他臓器に比べ最も高く、次に心、肺が高く、肝、脾、骨格筋(後肢大腿筋)、小腸はそれらに次ぎ、更に、胃、眼球、脳についても測定したが、両測定時間を通じて、これらの臓器ではいずれも 2 μ g/g 以下であった。

4 尿中排泄

Table 2 Pharmacokinetic parameters calculated on the basis of the single compartment model from plasma data in rabbits after a single administration of RU 628

Parameter	RU 628 (20 mg/kg, i. v.)
T1/2 (h)	0.195
K (h ⁻¹)	3.55
V ₁ (ml·kg ⁻¹)	221
TC (ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)	13.1
AUC (μ g·ml ⁻¹ ·h)	25.4

T1/2 : Half life in single compartment model
 K : Elimination rate constant
 V₁ : Apparent volume of central compartment
 TC : Total clearance
 AUC : The area under the plasma level versus time curve from time zero to time infinity

Cefotaxime を 20 mg/kg 静脈内投与後の尿中排泄量の時間経過は、Fig. 8 に示したごとく、Cefotaxime としたの尿中への排泄は、最も排泄量の多い 0~1 時間後でも投与量の 9.5% で、投与後 6 時間までの総排泄量は 17.0% であった。これと対照的に、desacetyl 体 (RU 628) は多く排泄され投与後 0~1 時間で投与量の 34.0% が排泄され 6 時間後までの総排泄量は 57.1% に達し、ウサギでは、投与された Cefotaxime は主として脱アセチル化を受けることを示している。尿中への母化合物と RU 628 を合わせた 6 時間後までの総排泄量は、投与量の 74.1% であった。

5 胆汁中排泄

Cefotaxime 20 mg/kg 静脈内投与後の Cefotaxime と RU 628 の胆汁中への経時的排泄量は、Fig. 9 に示したごとくであり、Cefotaxime, RU 628 共に 6 時間以降は検出されなかった。また投与後 6 時間までの Cefotaxime の胆汁中への総排泄量は、投与量の 0.12% であり、desacetyl 体の総排泄量も投与量の 0.12% にすぎなかった。

III. 考 察

ウサギに Cefotaxime を静脈内投与し、その pharmacokinetic profile について検討した。今回の実験で、Cefotaxime は約 1 時間の半減期で血漿中より消失し、尿中には Cefotaxime としてよりも desacetyl 体の RU 628 として多量に排泄されることが明らかとなった。一方、血漿中には desacetyl 体が検出されるが、Cefotaxime に比べるとその濃度ははるかに低かった。これは、RU 628 の半減期が著明に短い為に、血中からの消失が、[Cefotaxime に比べて迅速に行なわれた結果と考えられる。

Fig. 7 Organ levels of cefotaxime in rabbits after a single administration (20 mg/kg, i. v.)

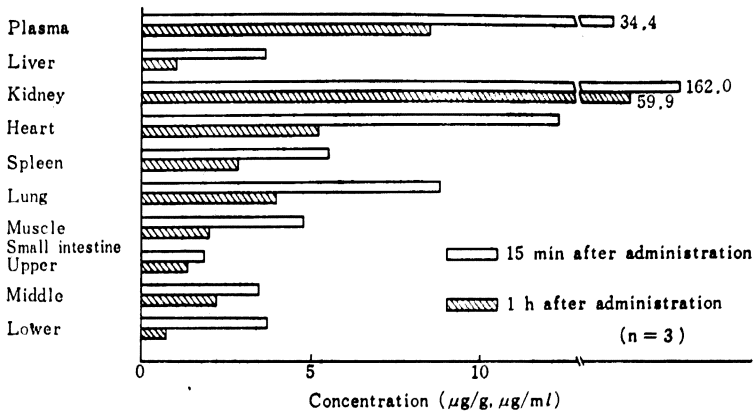


Fig. 8 Urinary cumulative recoveries of cefotaxime and RU 628 in rabbits after a single administration (20 mg/kg, i. v.)

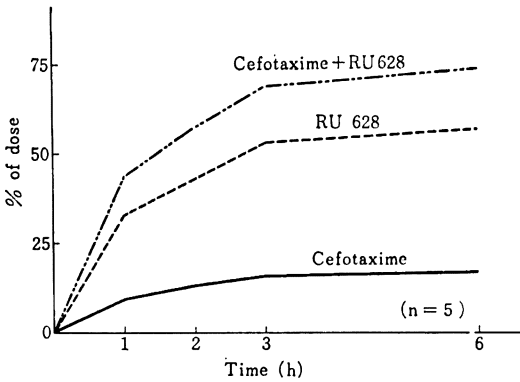


Fig. 9 Biliary cumulative recoveries of cefotaxime and RU 628 in rabbits after a single administration (20 mg/kg, i. v.)

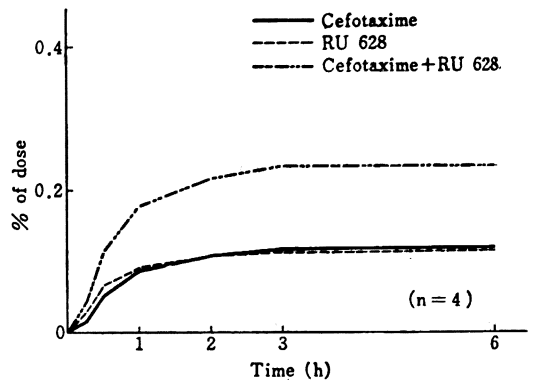


Fig. 7 に示すごとく、Cefotaxime は主要臓器のうち主要排泄器官である腎によく移行し、その濃度は最も高く、肺、心でも比較的高濃度に検出されたが、肝ではそれらに比べると低濃度であった。この肝での Cefotaxime の低濃度は、尿中に desacetyl 体が母化合物よりも多く排泄されることから判断すると、Cefotaxime は肝への移行度が低いことを意味するのではなく、むしろ肝で速やかに代謝を受ける結果、Cefotaxime として存在する量が少ないことが原因しているとも考えられる。

尿中排泄に比べ胆汁中排泄がきわめて少ない事実は、肝からの排泄過程で、Cefotaxime, RU 628 共に、胆汁中へよりも血中への移行性が大きいことを示している。

Fig. 6 に示すように、Cefotaxime は組織分画へ速やかに移行し、組織分画量は、投与約 30 分後でピークに達し、以後血中分布量と平行して低下することは、血液組織間の移行が容易であることを示している。

JOHNSON⁵⁾らは、人での Cefotaxime の pharmacokinetic study

を行ない、投与量の約 70% が Cefotaxime として尿中に排泄され、desacetyl 体は投与量の約 15% を占めることを報告している。今回のウサギの結果では、主たる排泄臓器が腎であることは人と類似しているが、尿中に排泄される RU 628 量はウサギで多く、これは Cefotaxime の脱アセチル化活性が、ウサギの方が高いことを示唆している。

謝 辞

本研究を実施するにあたり御協力を頂いた高橋節子、岸田さとみの両氏に深謝いたします。

文 献

- 1) SOSNA, J. P. ; P. R. MURRAY & G. MEDOFF : Comparison of the *in vitro* activities of H R 756 with cephalothin, cefoxitin and cefamandole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14(6) : 876~879, 1978
- 2) CHABBERT, Y.A. & A. J. LUTZ : HR 756, the *syn* isomer of a new methoxyimino cephalosp

- orin with unusual antibacterial activity. Antimicrob. Agents Chemother. 14(5) : 749~754, 1978
- 3) STARTFORD, B. C. : *In vitro* activity of new cephalosporin (HR 756) and cefazolin. Lancet 2 (8088) : 528~529, 1978
- 4) SOSNA, J. P. ; P. R. MURRAY & G. MEDOFF : Comparison of the *in vitro* activity of HR 756 with other cephalosporins. Interscience Conference on Antimicrobial Agents on Chemotherapy, September, 1978
- 5) JOHNSON, P. ; R. GLOMOI, M. KRAMER : HR 756-kinetics, metabolism and toxicology. Interscience Conference on Antimicrobial Agents on Chemotherapy, September, 1978

PHARMACOKINETIC STUDY OF CEFOTAXIME IN RABBITS

MIKIO OMOU, OSAMU TOGASHI and KAZUMI FUJIMOTO

Development Laboratories, Hoechst Japan Limited

The kinetics of cefotaxime (HR 756, CTX) after intravenous administration (20 mg/kg) was studied in rabbits by high pressure liquid chromatography and bioassay.

The half-life for clearance of cefotaxime from plasma was 57.4 min. In plasma, its desacetyl metabolite (RU 628) was also detected, but the level was far lower than that of cefotaxime. When given to rabbits in an identical dose, this metabolite was cleared from plasma more rapidly than its parent compound, having a half-life of about 11 min.

Cefotaxime was distributed rapidly into organs. It was detected at the highest level in the kidney and subsequently high levels were seen in the lung and heart. Its brain level was quite low.

The compound was found to be eliminated from the body mainly through the urinary organs. About 75% of the given dose was recovered from urine in unchanged and desacetyl forms of cefotaxime during a 6-hr period postdosing. The ratio of cefotaxime to RU 628 in amount was approximately 1 : 3.3. The total recovery rate for cefotaxime and RU 628 from the bile during the same period was merely 0.24% of the dose and the two appeared in almost equal amounts.