

Ceftizoxime (CZX) の実験動物における体内動態について

村川 武雄・坂本 博・深田志計実・中本 昭治

広瀬 俊治・伊藤 位一・西田 実

藤沢薬品工業株式会社中央研究所

Ceftizoxime (CZX, FK 749) をマウス, ラット, イヌおよびサルに非経口的に投与したときの薬動学的特性について, Cefotiam, Cefmetazole, Cefotaxime, Cefamandole および Cefazolin の場合と比較検討した。CZX の血清中濃度は大動物 (イヌおよびサル) では全般に他剤より高値を示したが, 小動物 (マウスおよびラット) では低値を示した。検討した実験動物において, 投与した CZX の約 80% が未変化体で 24 時間尿中に排泄された。また CZX のラットにおける胆汁中排泄率は低く, 24 時間内で 3.7% であった。またイヌにおける 24 時間胆汁中排泄率は 0.45% と低かったが, 胆汁中濃度は 1 時間で 179 $\mu\text{g/ml}$, 2 時間で 148 $\mu\text{g/ml}$ と比較的高値を示した。1 回静注投与後の血清中濃度のデータを用いて, two compartment open model により薬動学的解析を行なった。各種動物の尿中の抗菌活性物質は CZX だけであったが, ラット胆汁中にだけ CZX とは異なる活性代謝物が検出された。CZX は血清, 尿および組織ホモジネート中で安定であったが, Cefotaxime はラット組織ホモジネート中で不安定であった。CZX の血清タンパク結合率は検討したすべての血清種で他剤より低値を示し, ヒト, イヌおよびラットでそれぞれ 31%, 17% および 32% となった。

はじめに

新しい注射用セファロスポリン誘導体である CZX の薬動学的性質, 実験動物における代謝, 血清タンパク結合率および安定性について検討し, Cefotiam, Cefamandole, Cefotaxime, Cefmetazole および Cefazolin と比較した。

実験材料および方法

1. 使用薬剤

Ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品), Cefotiam (CTM, 武田薬品), Cefamandole (CMD, Eli Lilly), Cefmetazole (CMZ, 三共), Cefotaxime (CTX, Hoechst-Roussel) および Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品) を本実験において使用した。

2. 実験動物

次に示す実験動物を使用した。

マウス: JCL: ICR 系, 雄, 6 週令

ラット: JCL: SD 系, 雄, 6 週令

イヌ: Beagle 種, 雄, 体重 7.5~15.0 kg

サル: アカゲザル, 雄, 体重 5.8~9.1 kg

3. 薬剤濃度の測定

試料中の薬剤濃度は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌として, クエン酸ナトリウム培地 (クエン酸ナトリウム 1.0%, 寒天末 1.0%, ポリペプトン 0.5%, 肉エキス 0.3%) を検定培地としてディスク法により測定

した。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を行なうため, Model ALC 202 Chromatograph, U 6 K injector, μ Bondapak C_{18} カラム (30.5 cm \times 4.0 mm) (Waters Assoc., Milford, Mass., U. S. A.) を使用した。移動相として, メタノール: 4% 酢酸水 (8:92) を用い, 流速は 1.8 ml/min に設定した。このときのカラム内圧は 1400~1500 p. s. i. であった。254 nm における吸光度により溶出物を検出し, 0.1~0.05 A. U. F. S. の範囲でチャート紙に記録した。

4. 薬剤の投与

投与液は 0.9% 食塩水で調製した。a) マウスには 0.25 ml/マウスの投与液量になるように平均体重から薬剤濃度を設定し, 20 mg/kg の投与量で背部皮下または尾静脈に注入した。b) ラットは 4 mg/ml 溶液を 20 mg/kg (5 ml/kg) の投与量で筋肉内または尾静脈内に注入した。c) イヌおよびサルでは 40 mg/ml 溶液を 20 mg/kg (0.5 ml/kg) の投与量で大腿四頭筋に筋注または前腕静脈に静注した。

5. 血清中濃度

血液サンプルは投与後一定時間に, マウスでは頸動脈から採取し, ラットでは心臓採血により得た。イヌおよびサルでは前腕静脈から経時的に採血した。血液は遠心分離を行ない, 血清試料とし, 血清中濃度はそれぞれの実験動物の血清で調製した標準液を用いて bioassay に

より求めた。

6. 薬動力学的解析

静脈内投与後の経時的な血清中濃度のデータから、two compartment open model¹⁾ によって解析した。このときのパラメーターは、FACOM 230/38 digital computer (Fujitsu Co., Ltd.) を使用して、MARQUARDT による非線形最小二乗法²⁾ により求めた。

7. 組織内分布

ラット1群3匹として投与後一定時間に断頭滴血した。各組織を摘出し、0.9%食塩水で軽く洗浄後、濾紙上で水分を吸い取り、同一組織を3匹分まとめ、99%エタノールを組織重量1g当り2ml加え、Polytron homogenizer でホモジナイズした。ホモジネートを10,000×g、10分間冷却遠心し、上清中の薬剤濃度をエタノール：水(2:1)で作製した標準液を用いて bioassay により求めた。同一時点につき、3回の実験を行ない、それぞれの値を平均した。

8. 尿中排泄

ラットは採尿装置に固定し、薬剤投与後24時間まで各時間帯にわけて採尿した。イヌ、サルでは薬剤投与後ケージに入れ、所定時間毎に尿道カテーテルにより採尿した。各尿中の薬剤濃度を M/15 リン酸塩緩衝液 pH 7.0 で作製した標準液から bioassay により求めた。

9. 胆汁中排泄

ペントバルビタールを 20 mg/kg 腹腔内投与して麻酔したラットの胆管にポリエチレンチューブを挿入した。薬剤を 20 mg/kg 筋注後、各時間帯にわけて胆汁を採取した。胆汁中の薬剤濃度を M/15 リン酸塩緩衝液 pH 7.0 で作製した標準液から bioassay により求めた。イヌにおいてはペントバルビタール、25 mg/kg を静注し、総胆管にポリエチレンチューブをカニューレートして、薬剤 20 mg/kg を静注し胆汁中濃度をラットの場合と同様、bioassay により測定した。

10. 尿および胆汁中代謝物の検索

尿および胆汁サンプルについて、薄層クロマトグラフィー(TLC)および bioautography を行ない、抗菌活性をもつ代謝物の検索を行なった。薄層として Eastman chromagram sheet No. 6061 (シカグル) を使用し、n-butanol-acetic acid-water (4:1:2) の溶媒系で展開した。Bioautography のために検定菌として *B. subtilis* ATCC 6633 および *E. coli* NIHJ JC-2 を用いた³⁾。

11. 血清タンパク結合率

各種動物の新鮮血清 4.5 ml に、M/15 リン酸塩緩衝液 pH 7.0 で作製した薬剤液 (300 μg/ml) を 0.5 ml 加え、37℃、1時間 incubate した。この反応液を

Visking tube (9/32) に入れ、1,000×g で30~40分間遠心分離し、限外濾液を得た。この濾液中の薬剤濃度を M/15 リン酸塩緩衝液 pH 7.0 で作製した標準液を用いて bioassay し、結合率を計算した。

12. 体液および緩衝液中の安定性

CZX, Cefotiam および Cefotaxime の各種 pH 溶液、90%ヒト血清、27%ラット肝および腎ホモジネート中での安定性を検討した。薬剤の初濃度は 50 または 100 μg/ml に設定した。37℃で incubate し、経時的にサンプリングを行ない、直ちに 0℃に冷却後、2倍容のエタノールを加えることにより除タンパクを行なった。薬剤濃度は bioassay または HPLC により測定した。

実験結果

1. 血清中濃度

CZX をマウス、ラット、イヌおよびサルに 20 mg/kg の投与量で非経口的に投与した時の血清中濃度を Table 1 に示した。CZX の血清中からの消失速度は動物種によって異なり、マウスで最も速く、ラット、サル、イヌの順に遅くなり、マウスでは投与後 1.5 時間で血中の CZX は検出限界以下となった。しかしイヌにおいては投与 6 時間後でも静注で 1.4 μg/ml、筋注の場合 1.7 μg/ml の薬剤濃度が認められた。CZX を各種動物に静脈内投与し、得られた血清中濃度を two compartment

Fig. 1 Regression serum concentration of Ceftizoxime in different species of animals after a single i. v. injection by two compartment model

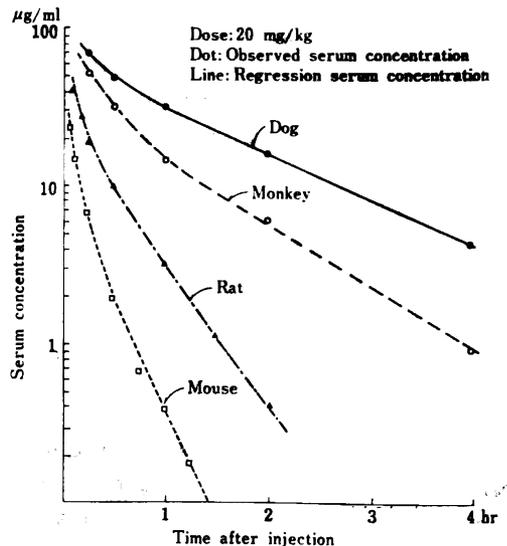


Table 1 Serum concentrations of Cefprozime in animals after parenteral dosing and pharmacokinetic parameters (Dose: 20 mg/kg)

1) Serum concentrations		Mean \pm S. E. (μ g/ml)									
Animal	Route	Time after injection (min)									
		3	5	7	10	15	30	45	60	90	
Mouse	i. v. (n=16)	23.0 \pm 1.1	*	14.8 \pm 1.2	*	6.6 \pm 0.5	2.0 \pm 0.2	0.7 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	—	
	s. c. (n=20)	*	*	*	*	22.3 \pm 0.8	10.6 \pm 0.6	1.8 \pm 0.2	0.2 \pm 0.1	—	
Rat	i. v. (n=10)	*	41.4 \pm 0.8	*	28.0 \pm 1.3	18.2 \pm 0.8	9.9 \pm 1.3	*	3.3 \pm 0.7	1.0 \pm 0.1	
	i. m. (n=10)	*	*	*	*	22.4 \pm 1.5	14.0 \pm 0.7	*	4.4 \pm 0.2	1.0 \pm 0.1	

Animal	Route	Time after injection (hr)						
		0.25	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	6.0
Dog	i. v. (n=5)	69.3 \pm 2.4	47.9 \pm 1.2	31.8 \pm 2.0	15.2 \pm 0.9	*	4.1 \pm 0.6	1.4 \pm 0.4
	i. m. (n=5)	51.2 \pm 6.2	46.5 \pm 2.3	41.5 \pm 1.0	23.6 \pm 1.2	10.7 \pm 1.2	5.8 \pm 1.2	1.7 \pm 0.5
Monkey	i. v. (n=5)	51.8 \pm 2.9	30.9 \pm 1.5	14.7 \pm 1.1	6.2 \pm 0.5	*	0.9 \pm 0.2	—
	i. m. (n=5)	36.9 \pm 2.3	36.6 \pm 0.9	28.8 \pm 1.9	13.2 \pm 1.3	*	2.1 \pm 0.6	—

* ; Not determined, - ; Not detected

2) Pharmacokinetic parameters*

Parameter Animal	A μ g/ml	α/h ($T_{1/2-\alpha h}$)	B μ g/ml	β/h ($T_{1/2-\beta h}$)	$K_{12} h^{-1}$	$K_{21} h^{-1}$	$K_e h^{-1}$	Vc ml/kg	Vt ml/kg	Cl-body ml/h/kg	AUC μ g·h/ml
	Mouse	27.6	7.44 (0.093)	4.52	2.60 (0.267)	0.863	3.28	5.90	624	164	3670
Rat	48.6	11.0 (0.063)	26.8	2.08 (0.333)	3.47	5.25	4.38	265	175	1160	17.3
Dog	61.9	4.57 (0.152)	58.1	0.653 (1.06)	1.50	2.55	1.17	167	98.3	195	100
Monkey	78.0	5.09 (0.136)	38.4	0.939 (0.738)	1.65	2.31	2.07	172	123	356	56.2

* The parameters were obtained by analysis of serum data in animals after a single i. v. injection.

model によって薬動学的解析を行なった。Fig. 1 に示したように血清中濃度の実測値はこのモデルに基づく回帰曲線によく適合した。このときの薬動学的パラメーターを Table 1 に示した。CZX の生物学的半減期 ($T_{1/2-\beta}$) は動物種で著しい差を示し、マウスで 0.267 時間、ラットで 0.333 時間、サルで 0.738 時間、イヌで 1.06 時間となった。各種動物について CZX の血清中濃度推移を他剤と比較した結果を Fig. 2 および 3 に示した。CZX の血清中濃度は小動物 (マウス、ラット) では他剤と同程度または低いが、大動物 (サル、イヌ) では他剤より高値となった。すなわちイヌにおける CZX の血清中濃度は検討した薬剤のうちで最も高く、

サルにおいても Cefazolin および Cefmetazole に次いで高値となった。

2. 組織内分布

ラットに CZX を 20 mg/kg 筋肉内投与した際の主要臓器内濃度 (15 分および 30 分値) を Table 2 に示した。CZX の血清中および臓器内濃度は投与 15 分後に最高値に達し、腎 (68.6 μ g/g)、肝 (12.6 μ g/g)、肺 (7.0 μ g/g)、心 (3.2 μ g/g) の順となった。CZX の臓器内濃度を Cefotiam と比較すると、肝を除く他の臓器で CZX が高い濃度を示した。また Cefotaxime のラットにおける血清中濃度は比較薬剤中で、高い値となったが (Fig. 2-b)、肝および腎内濃度は逆に最も低値と

Fig. 2 Serum concentration of Cefprozime and related antibiotics in mice and rats

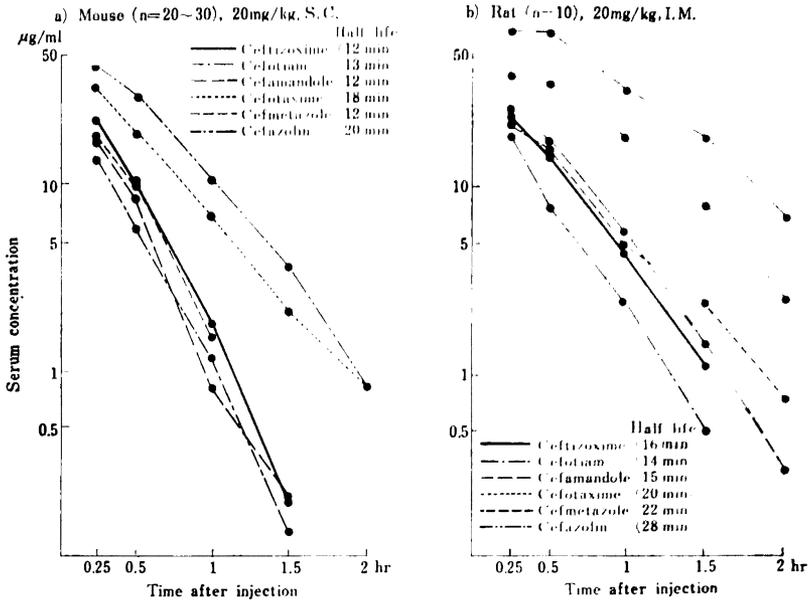
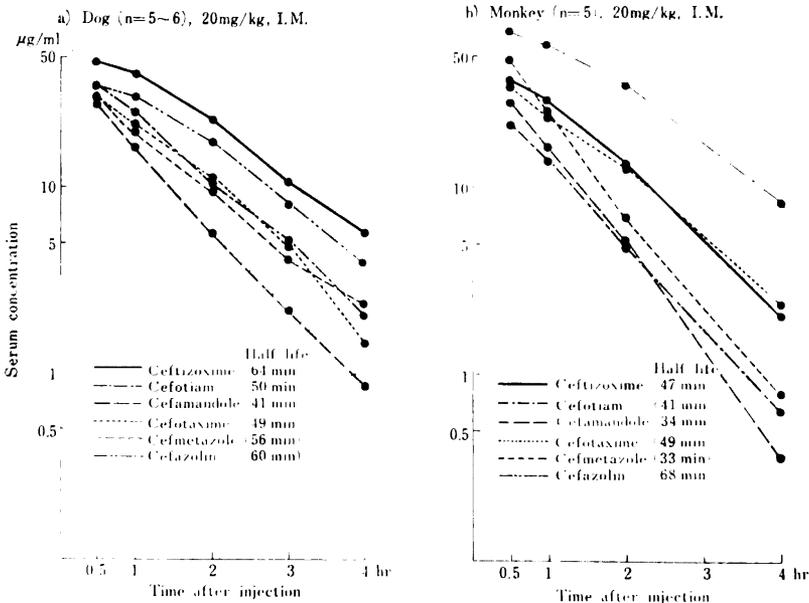


Fig. 3 Serum concentration of Cefprozime and related antibiotics in dogs and monkeys



なった。

3. ラットにおける尿中および胆汁中排泄

ラットに 20 mg/kg 筋肉内投与後 24 時間までの尿中および胆汁中排泄率を測定した結果を Fig. 4 に示した。各薬剤の 24 時間までの尿中回収率は CZX および Cefazolin で約 80 %, Cefotiam, Cefamandole, Cefo-

taxime で 50~60 %, Cefmetazole で 9.3%であった。胆汁中回収率は Cefmetazole で最も高く, 79.1 %, 次いで Cefotiam 35.7 %, Cefamandole 24.6%であった。Cefazolin, CZX および Cefotaxime の胆汁中排泄率は低く, それぞれ 9.6 %, 3.7% および 1.0%となった。尿中および胆汁中回収率を合計した総排泄率は

Table 2 Tissue distribution of Ceftizoxime and related antibiotics in rats after a single i. m. injection

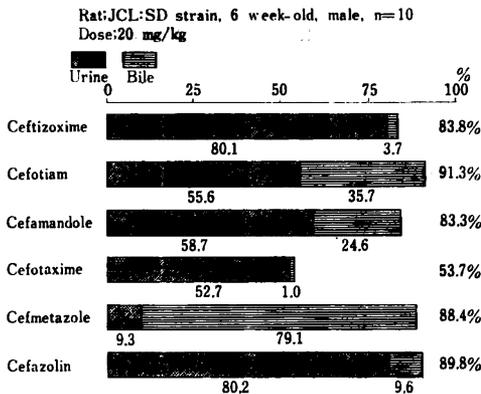
Rat; JCL: SD strain, 6 week-old, male, n=3×3

Dose; 20 mg/kg

Mean±SE (μg/g)

Tissue	Time (min)	Antibiotic					
		Ceftizoxime	Cefotiam	Cefamandole	Cefotaxime	Cefmetazole	Cefazolin
Liver	15	12.6±0.8	19.2±5.6	20.4±2.1	4.4±0.9	73.2±9.1	16.4±1.8
	30	7.7±1.2	15.3±4.2	13.4±1.2	4.9±0.6	53.5±3.0	16.3±1.7
Kidney	15	68.6±1.2	55.1±5.4	85.5±9.9	18.9±0.9	45.7±3.3	76.3±15.4
	30	43.6±6.5	36.6±5.1	47.6±2.9	15.5±1.0	35.5±1.7	45.4±0.4
Lung	15	7.0±0.3	2.8±0.3	5.0±0.2	7.7±1.7	5.0±0.2	13.3±1.6
	30	6.4±1.4	1.8±0.1	4.1±0.6	5.5±0.4	3.7±0.4	10.9±1.5
Heart	15	3.2±0.3	1.4±0.2	3.0±0.4	3.7±0.2	3.0±0.3	7.2±1.3
	30	2.7±0.4	0.6±0.3	2.4±0.2	4.0±0.3	2.1±1.1	5.8±0.5

Fig. 4 Urinary and biliary recovery of Ceftizoxime and related antibiotics in rats after a single i. m. injection



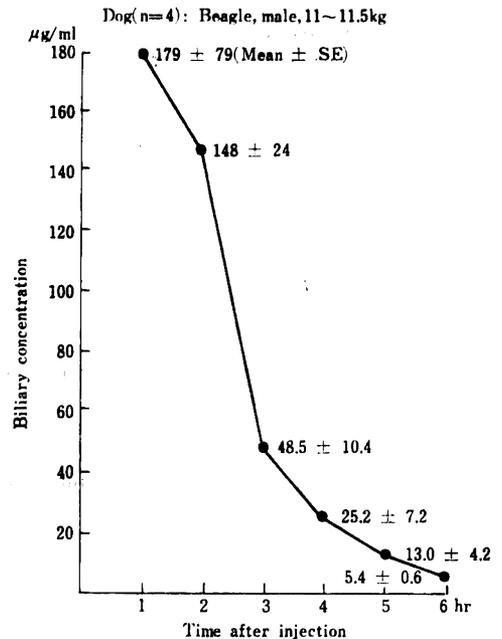
Cefotiam の 54% を除き、いずれの薬剤でも 80% 以上となった。

4. イヌ、サルにおける尿中排泄率

イヌおよびサルに 20 mg/kg 筋肉内投与後 24 時間までの尿中排泄率を Fig. 5 に示した。イヌにおける CZX の尿中排泄率は投与後 24 時間で約 94% に達し、他剤との比較において最も高率で、その大部分が投与後 6 時間以内に排泄された。サルにおける CZX の尿中排泄率は 80.3% で、Cefmetazole (80.2%)、Cefamandole (78.0%)、Cefazolin (78.0%) と同程度であった。これに対し、Cefotiam および Cefotaxime はそれぞれ 51.3% および 68.9% と低率であった。

5. イヌにおける胆汁中排泄

Fig. 6 Biliary concentration of Ceftizoxime in dogs after a single i. v. dose of 20 mg/kg



CZX をイヌに 20 mg/kg 静注した時の胆汁中排泄率は 0.45% となり、胆汁中濃度は Fig. 6 に示したとおり、投与後 1 時間で 179 μg/ml、2 時間で 148 μg/ml、6 時間後においても 5.4 μg/ml であった。

6. 尿および胆汁中代謝物の検索

ラット、イヌおよびサルに CZX を筋注後の尿サンプルについて、TLC-bioautography を行なった結果、い

Fig. 5 Urinary recovery of Ceftizoxime and related antibiotics in dogs and monkeys after a single i. m. injection of 20 mg/kg

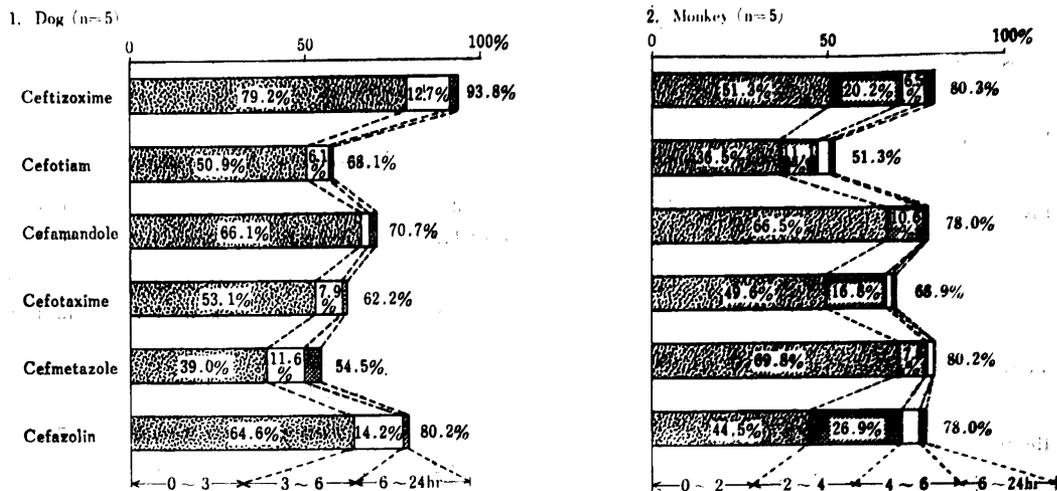


Table 3 Protein binding of Ceftizoxime and related antibiotics

Antibiotic	Protein binding (%)*				
	Human	Dog	Rabbit	Rat	Mouse
Ceftizoxime	31	17	25	32	13
Cefotiam	53	17	57	42	23
Cefamandole	75	28	80	83	23
Cefotaxime	37	31	71	84	27
Cefmetazole	66	26	53	36	28
Cefazolin	92	54	92	94	49

* At 90% serum and 30 $\mu\text{g/ml}$ of antibiotics

ずれの尿サンプルにも CZX 本体を除いては活性代謝物は認めなかった。しかしラット胆汁の bioautography において *E. coli* NIHJ JC-2 を検定菌とした場合、CZX と異なる活性代謝物が認められた。この代謝物の阻止帯の大きさは CZX と比較してかなり小さく、Rf 値は小さかった。これらの結果は HPLC によっても確認された。

7. 血清タンパク結合

Table 3 に各種動物の血清タンパクとの結合率を限外ろ過法で求めた結果を示した。CZX のヒト血清タンパクとの結合率は 31% で Cefotaxime (37%) と同程度であり、Cefotiam (53%), Cefamandole (75%) および Cefmetazole (66%) より低率であった。またその他の動物の血清タンパクと CZX との結合率も低率であっ

た。

8. 体液内安定性

37°C における体液中および各種 pH 溶液中における安定性を Table 4 に示した。CZX はヒト血清、尿中で安定であり、その半減期は 93~130 時間であった。このとき Cefotiam および Cefotaxime ではそれぞれ 14~30 時間および 55~59 時間であった。CZX はラット組織ホモジネート中でも安定であったが、Cefotaxime は極めて不安定で 0.1 時間で 50% が失活した。各緩衝液中においても CZX は Cefotiam および Cefotaxime より安定であった。すなわち pH 7.0 における半減期は CZX 148 時間、Cefotiam 17 時間、Cefotaxime 44 時間であった。

Table 4 Stability of Ceftizoxime and related cephalosporins in biological fluids and buffer solutions at 37°C

Material	Half life (hr)			
	Ceftizoxime	Cefotiam	Cefotaxime	
Human	Serum	93	30	55
	Urine	130	14	59
Rat	Liver homogenate	120	16	0.1
	Kidney homogenate	170	16	0.1
Buffer solution*	pH 5.0	170	13	45
	7.0	148	17	44
	9.2	37	18	7

Antibiotic concentration:

50 µg/ml (Biological fluids)
100 µg/ml (Buffer solutions)

* pH 5.0 Walpole's acetate buffer
pH 7.0 M/15 phosphate buffer
pH 9.2 M/5 Na₂CO₃ - NaHCO₃ buffer

考 察

CZX のマウスにおける血清中濃度は他剤と比較して低いが、前報^{4,5)}のとおり、そのマウスの全身感染に対する治療効果は血清中濃度と対応しない。とくに Cefotaxime と比較して CZX の血清中濃度は約 $\frac{1}{2}$ であるが、より優れた治療効果を与える。この原因として、CZX の主要組織における濃度は Cefotaxime より高く、生体成分中でより安定であるという事実があげられる。CZX のラットにおける胆汁中排泄率は Cefmetazole, Cefotiam および Cefamandole と比較して明らかに低率であった。またイヌにおいても胆汁中排泄率は24時間で1%以下であったが、その濃度は投与2時間後で148 µg/ml, 5時間後では13.0 µg/ml となり、本剤に感受性の細菌に対する MIC の水準を越えた濃度で排泄される。実験動物における抗生物質の胆汁中排泄は必ずしもヒトの結果と対応しないので、ヒトにおける本剤の胆汁中濃度とその有効濃度との関係を経時的に比較することが必要であろう。

TLC-bioautography および HPLCによる検討において、ラット胆汁中に CZX の活性代謝物の存在がみられたが、ヒトを含む他の動物からのサンプル中にはまった

く代謝物は認められなかった。この物質については今後さらに検討を加える予定である。

CZX の血清タンパク結合率は Cefazolin⁶⁾ より低く、Cefuroxime⁷⁾ と同程度であった。CZX のこの低い血清タンパク結合性は、血中から組織への移行に対してある効果を及ぼすものと考えられる。

本報の実験において、マウス、ラット、イヌおよびサルを実験動物として用い、CZX の薬動学的特性を検討したが、それらの成績のうちサルにおける本剤の血清中濃度の推移がヒトの成績(未発表データ、CZX 第1相試験)とよく一致することが明らかにされた。CZX の薬動学的性状はその抗菌活性とともに本剤の臨床的有用性を示唆するものと考えられる。

文 献

- 1) GIBALDI, M. & D. PERRIER: Two compartment model. 48~86. In J. SWARBRICK (ed.), Drugs and Pharmaceutical Sciences. Vol. 1. Pharmacokinetics. Marcel Dekker, Inc., New York, 1975
- 2) MARQUARDT, D. W.: An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. J. Soc. Indust. Appl. Math. 11: 431~441, 1963
- 3) MURAKAWA, T.; Y. WAKAI, M. NISHIDA, R. FUJII, M. KONNO, K. OKADA, S. GOTO & S. KUWAHARA: Chromatographic assay of mixed penicillins, ampicillin and cloxacillin, in body fluids. J. Antibiotics 23: 250~251, 1970
- 4) KAMIMURA, T.; Y. MATSUMOTO, N. OKADA, Y. MINE, T. MURAKAWA & M. NISHIDA: Ceftizoxime (FK 749), a new parenteral cephalosporin: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities. Antimicrob. Agents & Chemoth. 16: 540~548, 1979
- 5) KAMIMURA, T.; N. OKADA, Y. MATSUMOTO, Y. MINE, T. MURAKAWA & M. NISHIDA: Comparison of antibacterial activity of a new cephalosporin, ceftizoxime (FK 749) with other cephalosporin antibiotics. J. Antibiotics 32: 1319~1327, 1979
- 6) NISHIDA, M.; T. MATSUBARA, T. MURAKAWA, Y. MINE & Y. YOKOTA: Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. II. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities. J. Antibiotics 23:137~148, 1970
- 7) FOORD, R. D.: Cefuroxime: Human pharmacokinetics. Antimicrob. Agents & Chemoth. 9: 741~747, 1976

PHARMACOKINETICS OF CEFTIZOXIME (FK 749) IN ANIMALS AFTER PARENTERAL DOSING

TAKEO MURAKAWA, HIROSHI SAKAMOTO, SHIGEMI FUKADA, SHOGI NAKAMOTO,
TOSHIHARU HIROSE, NORIKAZU ITO and MINORU NISHIDA
Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

The pharmacokinetic profile of ceftizoxime (CZX) was studied and compared with that of cefotiam, cefmetazole, cefotaxime, cefazolin and cefamandole in mice, rats, dogs and monkeys after a single parenteral dosing.

CZX achieved high concentrations in the serum and tissues after parenteral dosing. The serum concentrations of CZX were higher than those of the other antibiotics in large animals (dogs and monkeys), but were lower in small animals (mice and rats). About 80% of CZX was excreted unchanged in a 24-hr period urine of all species tested. The biliary excretion of CZX was low, 3.7% in rats.

Pharmacokinetics were analyzed by the two compartment open model using data on serum concentrations in animals after a single intravenous (i. v.) injection. The active substance in urine samples was CZX itself, but small amounts of an active metabolite were detected only in rat bile samples.

CZX was stable in biological fluids such as serum, urine and tissue homogenates, but cefotaxime was unstable in rat tissue homogenates. The serum protein binding of CZX in all species was the lowest of all the antibiotics, *i. e.* 31% for humans, 17% for dogs and 32% for rats.