

## 6059-S のイヌにおける腎排泄機序

中村 益久・川畑 友二

塩野義製薬株式会社研究所

安部 陽一

大阪市立大学医学部薬理学教室

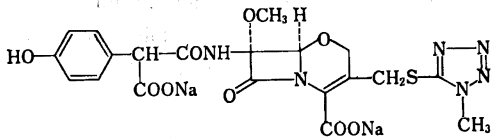
6059-S のイヌにおける腎排泄について、定速注入による腎クリアランス法および Stop-flow 法によって検討した。6059-S の本条件下での血中結合率は 40% で、その時の遊離 6059-S の腎クリアランス：イヌリンクリアランスの比は 1.1 であった。Stop-flow analysis では、近位尿細管部に 6059-S のピークを認めなかった。腎クリアランスおよび Stop-flow pattern のいずれにおいても、Probenecid の影響はほとんど見られなかった。

これらの成績は、6059-S がイヌにおいては、主として糸球体濾過によって排泄されることを示唆している。

## 結 言

6059-S (Fig. 1) は、新しく合成された注射用の Oxacephem 系抗生物質で<sup>1)</sup>、indole 陽性 *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia* および *Pseudomonas* を含むグラム陰性菌に極めて強い抗菌力を示す<sup>2,3)</sup>。また、ヒトおよび実験動物で比較検討された抗

Fig. 1 Chemical structure of 6059-S



生物質中では、血中半減期が長く<sup>4)</sup>、腎毒性は低いことが示されている<sup>5)</sup>。そこで、血中半減期および腎毒性との関連において、腎臓からの排泄機序の解明が求められた。今回は、ビーグル犬を用いての定速注入による腎クリアランス および Stop-flow analysis の成績について報告する。実験時期は 1979 年 3 月～12 月である。

## I. 実験材料および実験方法

## 1. 実験動物

当社油日ラボラトリーズで自家繁殖した 9～10 kg B. W. の雄性ビーグル犬 12 頭を用いた。いずれも寄生虫陰性、生化学検査値正常の健康犬であった。

## 2. 手術処置

ビーグル犬は Pentobarbital-Na (30 mg/kg を前肢静脈内に注射) 麻酔し、気管切開後、左側腹切開により後腹腔に入り左輸尿管を分離し、導尿採取した。また、右大腿動脈にカニューレを挿入し、圧トランスジューサー (日本光電 MP-4T) を介して、血圧を測定した。採血は右腕頭動脈より行なった。検体の投与は右腕頭静脈

より行なった。

## 3. 使用薬物および調整法

1) 6059-S は Lot No. S050N を用いた。使用直前に生理食塩液に溶解し、全容量を 5 ml とした (20w/v%)。

2) Inulin (特級、和光純薬) は、5 w/v% に生理食塩液に溶解した。

3) Mannitol (特級) は、10 または 15 w/v% 濃度に生理食塩液に溶解した。

4) Creatinine (GR, Merck) は 10 w/v% 濃度に生理食塩液に溶解した。

5) Probenecid (GR, SIGMA CHEM. CO.) は 900 mg とり、1N-NaOH 2.5 ml および脱イオン水を加え、加温により大部分を溶解した後、1N-NaOH 数滴を加えて全部を溶かし、全容量を 15 ml とした (6 w/v%, 60 mg/ml, pH 7～8)。

6) *p*-Aminohippuric acid (PAH) は、第一製薬の sodium para-aminohippurate 20 w/v% 注射液を用いた。

7) パン酵母 (500 g 包装) は、オリエンタル酵母工業の新鮮な生イーストを洗滌後、使用した。生酵母約 10 g を 10 倍量の生理食塩液に懸濁し、遠心操作を繰り返すことにより 5 回洗滌した。沈渣のうち、着色上層は除去し、下層の部分を生理食塩液に懸濁して用いた。Glucose 分解能は 50% 酵母懸濁液 0.1 ml を 0.1 % glucose 溶液 1.0 ml に加え、37°C で 30 分放置後、反応液中の glucose の有無をデキストロステックス (マイルス三共) 試験紙で検討することにより行なった。

#### 4. 分析方法

##### 1) 6059-S の Bioassay

試料はすべて 0.1 M phosphate buffer pH 7.0 にて希釈し、*E. coli* 7437 による Band-Culture 法にて検定を行なった。

##### 2) Inulin の定量

血漿は、その 0.50 ml に 50% パン酵母懸濁液 0.05 ml を加え、38°C で 30 分 incubate した後、室温で 3,000 rpm, 10 分間遠心した。上清 0.30 ml をとり、10% トリクロロ酢酸溶液 (特級, 関東化学) 2.1 ml を加えて 10 分間放置後、3,000 rpm で 10 分間遠心した。その上清 1.0 ml をとり、ジフェニルアミン試薬 2.0 ml を加えて攪拌し、煮沸浴中に 30 分放置、次いで室温に 10 分放置後、620 nm で吸光度を測定した。Blank には犬の血漿を用いた。ジフェニルアミン試薬は diphenylamine (和光純薬) 18 g を氷酢酸 (GR, 和光純薬) 600 ml に溶解、濃塩酸 (特級, 米山薬品) 360 ml を加えて調整し、冷暗所に保存して 1 カ月以内に使用した。

尿試料は希釈尿 (5~30 倍) 0.5 ml に 10% トリクロロ酢酸溶液 3.5 ml を加えて遠心し、その上清 1.0 ml をとりジフェニルアミン試薬 2.0 ml を加え、以下血漿の場合と同様に発色・比色した。標準には標準溶液 0.5 ml, (100  $\mu$ g inulin/ml), Blank には水 0.5 ml をとり、以下同様にトリクロロ酢酸処理、発色および比色を行なった。

##### 3) Para-aminohippuric acid (PAH) の定量

Bratton-Marshall 法により行なった。血漿 0.20 ml をとり、10% トリクロロ酢酸 3.0 ml を加え、さらに蒸留水 6.8 ml を加えた後、10 分間放置し、室温で 3,000 rpm, 10 分間遠心した。上清 2.0 ml をとり、0.1% 亜硝酸ナトリウム溶液 0.2 ml を加えた。0.1% 亜硝酸ナトリウム溶液は、sodium nitrite (特級, 関東化学) の 50% 保存液 (冷所安定) 0.2 ml に蒸留水を加えて全容量 100 ml にしたものをを用いた (1 週間安定)。亜硝酸ナトリウム溶液を加えた上清は、攪拌して室温で 15 分間放置後、0.5% スルファミン酸アンモニウム溶液 (ammonium sulfamate, 特級, 石津製薬) 0.2 ml を加えて 2~5 分間室温放置後、さらに 0.1% 津田試薬 (関東化学) 0.2 ml を加えて 10 分間室温に放置後、555 nm で吸光度を測定した。

尿は、6 倍希釈尿を 50  $\mu$ l とり、蒸留水 150  $\mu$ l を加え、10% トリクロロ酢酸 0.6 ml, 蒸留水 1.2 ml の順で加えて室温 10 分間放置後、0.1% 亜硝酸ナトリウム溶液 0.2 ml, 0.5% スルファミン酸アンモニウム溶液 0.2 ml, 0.1% 津田試薬 0.2 ml の順で加え、555 nm

で比色定量した。標準には、PAH 標準保存溶液 (1.0 mg/ml) を使用直前に蒸留水で 40 倍希釈 (25  $\mu$ g/ml) し、その 0.2 ml をとり、10% トリクロロ酢酸 0.6 ml, 蒸留水 1.2 ml を加え、それに 0.1% 亜硝酸ナトリウム溶液 0.2 ml, 0.5% スルファミン酸アンモニウム溶液 0.2 ml, 0.1% 津田試薬 0.2 ml の順で加えて発色させた。Blank には、蒸留水 1.4 ml に 10% トリクロロ酢酸 0.6 ml を加え、それに 0.1% 亜硝酸ナトリウム溶液などの試薬を同様に加えた。

##### 4) Creatine の定量

ピクリン酸発色による Folin の方法に準じ、Technicon Auto-Analyzer により比色定量した。

##### 5) Na, K の定量

原子吸光法 (Toshiba Beckman NF-IB) により測定した。

##### 5. クリアランス実験

腕頭静脈より priming dose として inulin 40 mg/kg (5% 溶液 0.80 ml/kg) を注射し、引き続き sustaining 溶液を infusion ポンプにより 3 ml/min/dog (約 10 kg B. W.) の速度で注入した。Sustaining 溶液には、10 w/v% mannitol-0.9% NaCl-0.12% inulin (溶液 I) を用いた (mannitol 100 g, NaCl 9 g を脱イオン水に暖めつつ溶解し、5% inulin 溶液 24 ml を加えて全容量を 1.0 L とした)。6059-S は、priming dose として 1 mg/kg を投与するために 20% 6059-S 溶液 0.20 ml (40 mg) に溶液 I の 3.80 ml を加えて 20 倍希釈した溶液 (1% 濃度, 10 mg/kg) を調整し、0.1 ml/kg 静注した。段階的に血中濃度をあげるために、以下のように 6059-S infusion rate を設定した。すなわち、0.5 mg, 1.0 mg, 2.0 mg, 4.0 mg および 8.0 mg/kg/hr とした。そのために、例えば 10 kg B. W. の場合には、注入速度を 3.0 ml/min/10 kg とし、それぞれ 6059-S を 27.7 mg/L, 55.5 mg/L, 111 mg/L, 222 mg/L, 444 mg/L の濃度を含む infusion 溶液 (溶液 I LL に 6059-S 20% 溶液をそれぞれ 0.139 ml, 0.278 ml, 0.555 ml, 1.10 ml および 2.22 ml 含む) を調整して用いた。Probenecid は 30 mg/kg (6% 溶液 0.5 ml/kg) を単回静注した。6059-S を含む注入液を注入開始 30 分後から 5 分間ずつ 3 回採尿し、メスリンダーにより尿量を測定した。また、各採尿期間の中間点で採血も実施した。これらの採尿・採血は、6059-S の各用量について実施した。最後に Probenecid を投与し、30 分後に同様な採尿・採血を行なった。

##### 6. Stop-flow 実験

腕頭静脈より priming dose として sodium para-aminohippurate 20 mg/kg (20% 溶液 0.1 ml/kg) お

よび creatinine 100 mg/kg を投与し, sustaining 溶液には, 15 w/v% mannitol-0.9% NaCl-0.25% creatinine-0.1% PAH を用い, 5 ml/min/10 kg の速度で注入した。6059-S の priming dose は 10 mg/kg (20% 溶液 0.05 ml/kg), sustaining は 5.0 mg/kg/hr (20% 溶液 0.833 ml/L) で行なった。注入開始約 1 時間後, 尿量が 3~5 ml/min になり, ほぼ安定したら 3 分間隔で 2 回採尿し, 同時に血液も採取して free-flow クリアランスを測定した。次いで輸尿管を止血鉗子ではさみ, 尿流を停止させた。止血鉗子は 6 分間で開放し, 噴出する尿サンプルを 0.5 ml ずつポリアクリル樹脂製のサンプラーに連続的に 30 本採取した。開放の 1 分前に inulin 500 mg/10 kg/10 ml を静注した。

#### 7. 蛋白結合率の測定

限外濾過による Bound/Free separation を行なった。各試料は翌日まで 4°C で保存し, 分離した。Visking tubing (Seamless cellulose tubing, 直径 6.4 m/m) を 10 cm の長さに切り, 蒸留水に約 10 分間浸して膨潤させた後, 濾紙にはさみ水をぬぐった。次にチュー

ーブを中程から半分に折り, チューブ内に試料(血漿)を 1~2 ml 注入した後, ポリスピッツ管にセットし, 4°C, 1,000 G で約 20 分間遠沈して濾過した。この遠沈で得られた濾過は試料とせず, この濾過(0.1 ml)を除き, 再び同様に 60 分間遠沈して得られた限外濾液について濃度測定を行なった。蛋白結合率は試料(血漿)および試料濾液の濃度から次のごとく計算した。

$$\text{蛋白結合率} = 100 \times \frac{\text{血漿中濃度} - \text{濾液濃度}}{\text{血漿中濃度}}$$

## II. 実験結果

### 1. 6059-S の血中結合率

血中での遊離 6059-S 濃度は, 腎排泄を糸球体濾過と尿管分泌とに分けて考える場合に最も大きな因子となるので改めて実測した。

15% mannitol-0.9% NaCl-6059-S 溶液の注入時の (0.50 ml/min/kg, 血中 6059-S 平均 28 µg/ml 血漿) 血中結合率は 32~35%, 平均 33% (Table 1) であった。また, 腎クリアランス測定のための 10% mannitol

Table 1 Plasma concentrations of total and unbound 6059-S\* in beagle dogs under constant intravenous infusion\*\*

Dog No.	Infusion rate of 6059-S (mg/kg B.W./hr)	Plasma concentration of 6059-S (µg/ml)		
		Total	Unbound	% Binding
# 7	5.0	28.1	18.8	33.1
# 8	5.0	22.8	15.6	31.6
# 9	5.0	27.5	18.3	33.5
# 10	5.0	33.8	22.1	34.6

\* By ultra-filtration method

\*\* A 15% mannitol-0.9% NaCl-6059-S solution was infused i.v. at 0.50 ml/min/kg B.W.

Table 2 Plasma concentrations of total and unbound 6059-S\* in beagle dogs under constant intravenous infusion\*\*

Dog No.	Infusion rate of 6059-S (mg/kg B.W./hr)	Plasma concentration of 6059-S (µg/ml)		
		Total	Unbound	% Binding
# 11	8.0	20.3	12.3	39.4
# 12	8.0	42.4	25.2	40.6

\* By ultra-filtration method

\*\* A 10% mannitol-0.12% inulin-0.9% NaCl-6059-S solution was infused i.v. at 0.30 ml/min/kg B.W.

-0.12% inulin-0.9% NaCl-6059-S 注入時では 40% の結合率であった (Table 2)。このため、6059-S のクリアランスは血中結合率 40% で計算した。

## 2. 6059-S のイヌにおける腎クリアランス

- 1) 6059-S の血中全濃度で尿中への排泄量を割って求めた腎クリアランス  $C_{\text{total}}^{6059-S}$  とその時のイヌリンクリアランス  $C_{\text{IN}}$  との比、 $C_{\text{total}}^{6059-S} / C_{\text{IN}}$  は  $0.650 \pm 0.025$  (Table 3 の 4 頭 5 用量の mean  $\pm$  S. E.) であった。
- 2) 6059-S の血中結合率を 40% として求めた血中遊離 6059-S 濃度に、糸球体濾過値 (GFR, イヌリンクリアランス) を掛けて算出した 6059-S の糸球体濾過量 ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ) と、実測した 6059-S の尿排泄 ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ) との比較を 4 頭の平均として Fig. 2 に示した。6059-S の尿排泄は、ほぼその糸球体濾過量に等しいことがわかる。Table 3 で、6059-S の血中遊離 6059-S 濃度で尿中への排泄量を割って求めた腎クリアランス  $C_{\text{free}}^{6059-S}$  とその時のイヌリンクリアランス  $C_{\text{IN}}$  との比  $C_{\text{free}}^{6059-S} / C_{\text{IN}}$  は  $1.084 \pm 0.041$  (3 頭 5 用量の mean  $\pm$  S. E.) であった。
- 3) Probenecid (30 mg/kg) は、6059-S の腎排泄にほとんど影響を与えなかった (Table 4)。6059-S 8.0 mg/kg/hr の用量の時、 $C_{\text{free}}^{6059-S} / C_{\text{IN}}$  は  $0.98 \pm 0.09$  (4 頭の mean  $\pm$  S. E.) であったが、Probenecid 併用時では  $1.14 \pm 0.10$  で有意の差はなかった。

## 3. 6059-S のイヌにおける Stop-flow pattern

これまでの成績で、Probenecid の影響がないこと、その血中遊離 6059-S の腎クリアランスが GFR (イヌリンクリアランス) に匹敵することなどから、6059-S の

腎からの排泄は主として糸球体濾過によるものであろうことが推察されるが、なお、尿管の関与の有無をはっきりさせる目的で Stop-flow analysis を行なった。尿管各部位のマーカーとしては、近位尿管分泌には para-aminohippuric acid (PAH)、遠位尿管再吸収には Na, K を測定した。Inulin は尿管解放直前に投与し、糸球体原尿のマーカーに用いた。Creatinine を測定し、 $U/P_{\text{cr}}$  (creatinine の尿中: 血漿中濃度比) を求め、尿管の指標とした。Stop-flow pattern の縦軸は濃度の  $U/P$  (尿中: 血漿中濃度比) を  $U/P_{\text{cr}}$  で割った値 ( $U/P + U/P_{\text{cr}}$ ) で表示してある (Fig. 3)。典型的な Stop-flow pattern を挙げたが、これらの成績からみる限り、6059-S には特定の極大ピークまたは極小ピークは認められなかった。すなわち、近位尿管部位を示す PAH のピーク部位にも 6059-S の特定のピークはなく、また遠位を示す Na の極小域にも 6059-S の特定のピークはなかった。また、Probenecid 存在下、PAH のピークは消失したが、6059-S のパターンには特定の変化はなかった。なお、この間、尿 pH は 7.1~7.5 の間にあった。

## 重 考 察

6059-S のイヌにおけるイヌリンクリアランス ( $C_{\text{IN}}$ ) に対する腎クリアランス比は 0.65 で、これは Cefazolin (CEZ) 静注時のイヌによる腎クリアランス<sup>9)</sup> にはほぼ匹敵するものであり、Cephalothin (CET)<sup>7-9)</sup>、Cephaloridine (CER)<sup>10)</sup>、Cefamandole (CMD)<sup>11)</sup> および Cefalexin<sup>12)</sup> のいずれよりも低い。6059-S の血中結合率を 40% として求めた遊離 6059-S の腎クリアランス: イヌリンクリアランス比は 1.1 で、また Probenecid の影響もほとんどなかった。CET ではこの比が probenecid で半減<sup>9)</sup> する。CER ではイヌでの Stop-flow analysis で近位尿管部にピークもなく<sup>9)</sup>、Probenecid の影響もでていない<sup>10)</sup>。CEZ はイヌでの Stop-flow pattern で僅かな尿管関与が認められているが<sup>13)</sup>、抗菌剤である Pipemidic acid<sup>14)</sup> で認められたような PAH 様のピークはない。なお、アルカローシスの条件下で有機酸の近位尿管部での分泌が亢進することが知られているが<sup>15)</sup>、事実、Ampicillin (ABPC) ではイヌでの Stop-flow analysis で  $\text{NaHCO}_3$  負荷で出現した ABPC の近位部でのピークが、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  負荷による尿酸性で消失することが示されている<sup>16)</sup>。

いずれにしても、6059-S についてイヌで行なった今回の実験条件下の成績は、近位尿管部での分泌はないことを示唆しているが、アルカローシス条件下での分泌については、今後検討を加えるべき問題と思われる。

Fig. 2 Urinary excretion of 6059-S in beagle dogs (n=4) average of 4 experiments (dog1~dog 4)

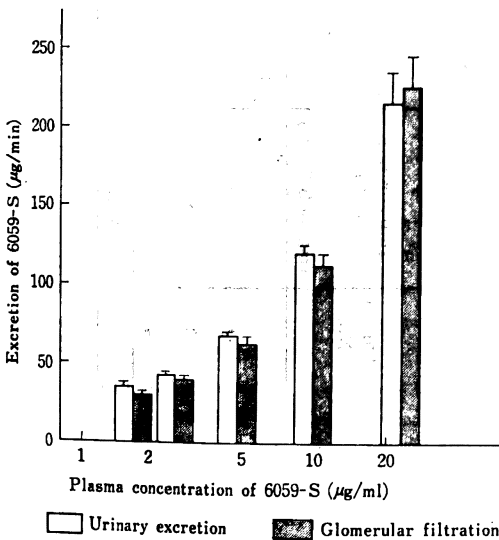


Table 3 Urinary excretion of 6059-S in beagle dogs Average of 4 experiments (dog 1 ~ dog 4)

Infusion rate of 6059-S (mg/kg B.W./hr)	Plasma concentration of 6059-S. ( $\mu\text{g/ml}$ )		Urine volume (ml/min)	Inulin clearance (ml/min)	6059-S glomerular filtration ( $\mu\text{g/min}$ )	6059-S urinary excretion ( $\mu\text{g/min}$ )	6059-S clearance (ml/min)		Clearance ratio	
	Total	Free*					$C_{59}^{\text{Total}}$	$C_{59}^{\text{Free}}$ *	$C_{59}^{\text{Total}}/C_{\text{IN}}$	$C_{59}^{\text{Free}}/C_{\text{IN}}$
0.5	$2.85 \pm 0.23^{**}$	$1.71 \pm 0.14$	$3.68 \pm 0.16$	$17.9 \pm 1.1$	$29.3 \pm 1.4$	$36.2 \pm 2.4$	$12.9 \pm 0.5$	$21.6 \pm 0.9$	0.724	1.207
1.0	$4.33 \pm 0.37$	$2.60 \pm 0.22$	$3.37 \pm 0.13$	$16.4 \pm 1.2$	$40.9 \pm 3.0$	$43.1 \pm 2.1$	$10.5 \pm 0.6$	$17.5 \pm 1.0$	0.639	1.067
2.0	$8.03 \pm 0.62$	$4.82 \pm 0.37$	$3.12 \pm 0.12$	$13.5 \pm 0.8$	$62.4 \pm 3.9$	$66.8 \pm 1.6$	$8.9 \pm 0.7$	$14.8 \pm 1.1$	0.660	1.084
4.0	$16.69 \pm 1.45$	$10.02 \pm 0.87$	$2.94 \pm 0.13$	$11.7 \pm 0.3$	$111.6 \pm 7.2$	$120.1 \pm 4.7$	$7.7 \pm 0.6$	$12.9 \pm 1.1$	0.661	$1.096 \pm 0.041$
8.0	$38.93 \pm 2.64$	$23.36 \pm 1.59$	$2.20 \pm 0.18$	$9.8 \pm 0.8$	$223.6 \pm 21.0$	$215.1 \pm 18.5$	$5.6 \pm 0.3$	$9.3 \pm 0.5$	0.567	0.949

\* The binding rate of 6059-S was 40% in dog plasma.

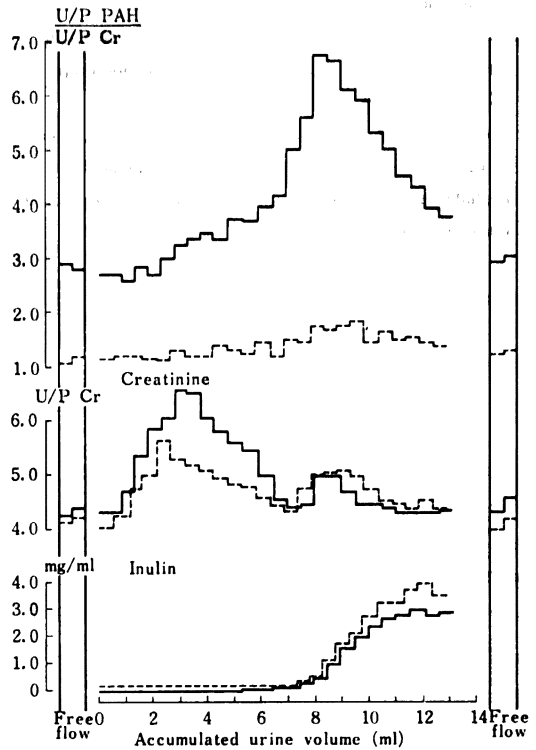
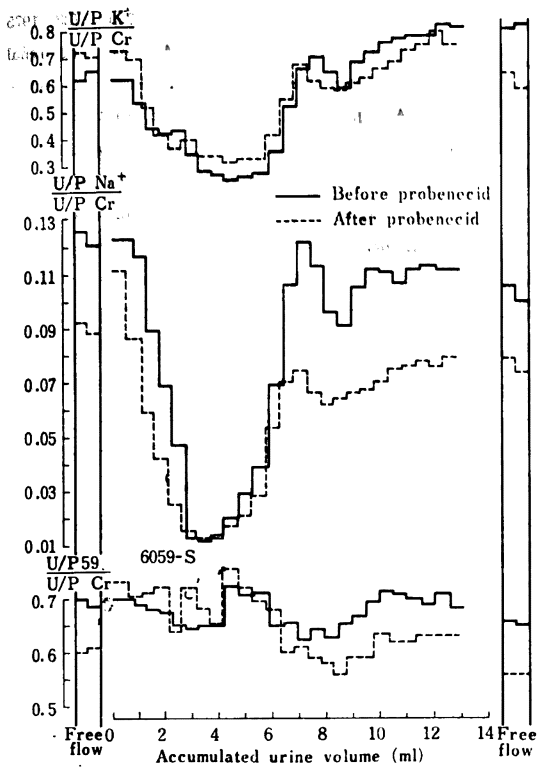
\*\* Mean  $\pm$  S.E.

Table 4 Effect of probenecid on urinary excretion of 6059-S in beagle dogs

Animal No.	Infusion rate of 6059-S (mg/kg B.W./hr)	Control phase			Probenecid phase		
		6059-S clearance (ml/min)	Inulin clearance (ml/min)	Clearance ratio $C_{59}/C_{\text{IN}}$	6059-S clearance (ml/min)	Inulin clearance (ml/min)	Clearance ratio $C_{59}/C_{\text{IN}}$
1	8.0	$11.16 \pm 0.28$ (3)	$10.91 \pm 1.10$ (3)	1.023	$9.22 \pm 0.07$ (3)	$8.33 \pm 0.64$ (3)	1.107
2	8.0	$7.05 \pm 0.50$ (3)	$5.89 \pm 0.30$ (3)	1.197	$5.84 \pm 0.70$ (3)	$4.07 \pm 0.07$ (3)	1.435
3	8.0	$10.02 \pm 0.50$ (3)	$10.44 \pm 0.13$ (3)	0.960	$7.05 \pm 0.37$ (3)	$6.87 \pm 0.36$ (3)	1.026
4	8.0	$8.83 \pm 0.88$ (3)	$11.94 \pm 1.19$ (3)	0.740	$9.64 \pm 0.63$ (3)	$9.84 \pm 0.70$ (3)	0.980
Average		$0.980 \pm 0.094$			$1.137 \pm 0.103$		

Fig. 3 Stop-flow pattern in dogs

6059-S was given at a priming dose of 10 mg/kg of body weight followed by a sustaining dose of 5.0 mg/kg of body weight per hr.



### 謝 辞

本実験に御協力いただいた弊社研究所の田村孝子、堂崎 猛、松井幸子の諸氏に深謝いたします。

### 文 献

- 1) NARISADA, M.; *et al.*: Synthetic studies on  $\beta$ -lactam antibiotics. Part 10. Synthesis of 7 $\beta$ -[2-carboxyl-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-7 $\alpha$ -methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio]-methyl]-1-oxa-1-dethia-3-cephem-4-carboxylic acid disodium salt (6059-S) and its related 1-oxacephems. *J. Med. Chem.* 22: 757~759, 1979
- 2) WISE, R.; J. M. ANDREWS & K. A. BEDFORD: LY 127935, a novel oxa- $\beta$ -lactam: an *in vitro* comparison with other  $\beta$ -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 16: 341~345, 1979
- 3) NEU, H. C.; N. ASWAPOKKEE, K. P. FU & P. ASWAPOKKEE: Antibacterial activity of a new 1-oxa-cephalosporin

compared with that of other  $\beta$ -lactam compounds. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 16: 141~149, 1979

- 4) BARZA, M.; F. P. TALLY, N. V. JACOBUS & S. L. GORBACH: *In vitro* activity of LY 127935. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 16: 287~292, 1979
- 5) 吉田 正, 木村増雄, 羽野義博: Oxacephem 系抗生物質 6059-S の各種動物における体内動態. *Chemotherapy* 28 (S-7): 194~206, 1980
- 6) 原田喜男, 豊島久美子: 腎毒性を指標にした 6059-S の家兎における毒性試験. *Chemotherapy* 28(S-7): 1202~1225, 1980
- 7) LEE, C. C. & R. C. ANDERSON: Blood and tissue distribution of cephalothin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1962: 695~701 1963
- 8) LEE, C. C.; E. B. HERR Jr. & R. C. ANDERSON: Pharmacological and toxicological studies on cephalothin. *Clin. Med.* 70: 1123~1138, 1963
- 9) CHILD, K. J. & M. G. DODDS: Nephron transport and renal tubular effects of cephaloridine in animals. *Br. J.*

- Pharmac. Chemoth. 30: 354~370, 1977
- 10) WELLS, J. S.; W. R. GIBSON, P. N. HARRIS, R. M. SMALL & R. C. ANDERSON: Toxicity, distribution and excretion of cephaloridine in laboratory animals. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1965: 863~869, 1966
  - 11) 吉田 正, 木村増雄, 土肥正善, 中清水 弘, 羽野義博: Cefamandole の動物における体内動態。 *Chemotherapy* 27 (S-5): 112~119, 1979
  - 12) WELLS, J. S.; R. O. FROMAN, W. R. GIBSON, N. Y. OWEN & R. C. ANDERSON: Toxicology and pharmacology of cephalexin in laboratory animals. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1968: 489~496, 1969
  - 13) 上田 泰, 松本文夫, 中村 昇, 斎藤 篤, 野田一雄, 小林千鶴子, 大森雅久: Cefazolin にかんする研究。 *Chemotherapy* 18: 564~570, 1970
  - 14) 門河敏明, 中村信一, 清水当尚, 山本研二郎: Pipemidic acid の腎排泄機序。 *Chemotherapy* 23: 2730~2733, 1975
  - 15) COHEN, J. J. & E. W. RANDALL: Alkalosis and renal p-aminohippurate transport in dog: relation to lactate uptake. *Am. J. Physiol.* 206: 383~390, 1964
  - 16) WHELTON, A.: Intrarenal antimicrobial distribution modulating factors, therapeutic and toxicologic implications. In "Nephrotoxicity" J. P. FILLASTRE Ed. Masson Pub. U. S. A. Inc. p. 96~126, 1978

## RENAL EXCRETION OF 6059-S, A NEW SEMISYNTHETIC OXACEPHEM ANTIBIOTIC IN DOGS

MASUHISA NAKAMURA and TOMOJI KAWABATA

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

YOICHI ABE

Department of Pharmacology, Osaka City University Medical School

Mechanism of renal excretion of 6059-S, a new semisynthetic beta-lactam antibiotic, was investigated in beagle dogs using stop-flow and renal clearance methods.

In the stop-flow studies, 20 mg/kg BW of sodium p-aminohippurate and 100 mg/kg BW of creatinine were injected as the priming dose into the brachiocephalic vein. As the sustaining dose, a solution containing 15% mannitol, 0.9% NaCl, 0.25% creatinine, and 0.1% PAH (p-aminohippuric acid) was injected at the rate of 5 ml/min/10 kg BW. 6059-S was injected at a priming dose of 10 mg/kg BW followed by a sustaining dose of 5.0 mg/kg BW/hr.

When the urinary output had stabilized at 3~5 ml/min about one hour after the start of infusion, urine and blood samples were collected and free flow clearance was determined. After the left ureter was subsequently clamped for six minutes, 0.5 ml of urine sample was collected into small wells on a polyacryl block, consecutively for 30 tubes. Inulin (500 mg/10 kg BW/10 ml) was injected intravenously one minute before releasing the clamp. After an interval of about 30 minutes, probenecid (30 mg/kg BW) was administered intravenously and an experiment similar to the one described above was repeated in order to examine the effect of probenecid on the stop-flow pattern.

In the renal clearance studies, a primary dose of 40 mg/kg of inulin was injected into the brachiocephalic vein, followed by the infusion with an infusion pump of a solution containing 10 w/v % mannitol, 0.9% NaCl and 0.12% inulin at the rate of 3 ml/min/dog (ca. 10 kg BW). 6059-S was infused at the rate of 0.5 mg/kg BW/hr. Urine samples were collected three times at a five minute interval after the start of the infusion of 6059-S and the urine volume was determined. Blood samples were collected at the middle point of each interval between urine sample collections. The same procedure was repeated for the 6059-S infusion rates of 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mg/kg BW/hr. Finally 30 mg/kg BW of probenecid was injected intravenously, followed by urine and blood sample collections similar to those described above. Concentrations of 6059-S were determined by bioassay using *E. coli* 7437 as the test organisms.

In the stop-flow studies, no specific peak or trough was observed for 6059-S.

With the administration of probenecid, the peak of PAH disappeared whereas there was no significant change in the pattern of 6059-S levels.

Glomerular filtration of 6059-S was calculated by multiplying the plasma concentration of free 6059-S (which was obtained by assuming that the protein binding ratio of 6059-S in the beagle plasma was 40%) with inulin clearance. The glomerular filtration of 6059-S thus calculated was nearly equal to the urinary excretion of 6059-S actually determined at various plasma concentrations.

When 6059-S was infused at the rate of 8.0 mg/kg BW/hr, the ratio  $C_{free\ 6059-S}/C_{inulin}$  was  $0.98 \pm 0.09$ . This ratio was  $1.14 \pm 0.10$  when probenecid was used and not significantly different from the value without probenecid.

These findings suggested that the renal excretion of 6059-S took place mainly through glomerular filtration and there was only little tubular excretion.