

¹⁴C-Cefotetan (¹⁴C-YM09330) のラットにおける体内動態

渡辺 隆・円城寺四方弘・小宮 正行
 菊地 康博・川井龍太郎・河村 成男
 山之内製薬株式会社開発研究所・中央研究所

要 旨

SD系ラットに Cefotetan (CTT, YM09330) の¹⁴C 標識体 (¹⁴C-Cefotetan) 20mg (力価)/kg を、単回静脈内あるいは15回反復筋肉内投与し、体内動態について検討した。

1. 単回投与5分後の組織内放射能濃度は、腎(114.2 μ g/g) > 血漿(62.2 μ g/ml) > 肝(45.5 μ g/g) > 皮膚・肺・小腸(15~30 μ g/g) > 心・睾丸・脾・筋肉(5~15 μ g/g) > 脳(0.8 μ g/g) の順であり、30分値は5分値の1/2~1/3に低下した。24時間後の全身オートラジオグラムでは、腸内容のほかには、腎皮質にわずかな放射能が認められるのみであった。

2. 反復投与時の組織内濃度は、11回までに平衡に達した。15回投与後30分の組織内濃度は、腎を除いて初回投与後と差がなかったが、腎では約3.5倍に上昇した。15回投与後24時間の組織内濃度は、初回投与後の2~7倍に達した。

3. 単回投与後の放射能は、尿中へ3時間までに43.9%、72時間までに47.3%が排泄され、残りは胆汁を介して糞中へ排泄された。尿、糞中排泄の合計は、72時間までに96.6%に達した。反復投与時の尿、糞中排泄の割合も単回投与時と大差なく、最終投与48時間までの合計排泄率は96.5%に達した。

4. 血漿の限外濾液中には、未変化の Cefotetan のみが検出された。尿、胆汁、糞中には Cefotetan のほかに、互変異性体がそれぞれ6%、12%、16%検出されたが、代謝物は認められず、抗菌活性もほとんど失われていなかった。尿の薄層ラジオクロマトグラムには反復投与による変化は認められなかった。

5. 胎仔内放射能濃度は、母体血漿の1/70以下できわめて低かったが、胎盤を含む生殖器官内濃度は、血漿の1/2~1/5であった。乳汁中濃度は血漿中濃度の1/6であったが、哺乳仔の消化管からの吸収は認められなかった。生後1~28日の幼若ラットに投与したさいの組織内濃度は、成長に伴い低下した。

序 文

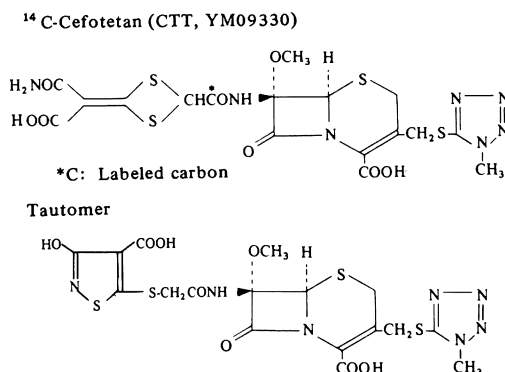
Cefotetan(CTT, YM09330)は、 β -lactamase に対して安定な Cephamycin 系抗生物質であり、グラム陰性菌に対して、従来の Cephalosporin 類よりも強い抗菌力を示すことが明らかにされている。 β -Lactam 系抗生物質の放射性標識体を用いた動物実験については、すでに多数の報告がなされているが、本報では、ラットに CTT の¹⁴C 標識体を静脈内あるいは筋肉内投与したさいの体内動態について報告する。

実験材料および方法

1. 標識化合物および標準物質

CTT(遊離酸)の¹⁴C 標識体 (¹⁴C-CTT)は、当社中央研究所、玉沢および有馬¹⁾により合成された。構造を Fig. 1

Fig. 1 ¹⁴C-Cefotetan (CTT, YM09330) and the tautomer



に示した。比放射能は44.5 μ Ci/mg, 高速液体クロマトグラフィ(HPLC)により測定した放射化学的純度は96.6 \pm 0.3%であった。非標識体は, 当社において合成されたCTT(2Na塩), Lot No. L1Fを用いた。また, CTTの互変異性体(Fig. 1)は, 当社における合成品を用いた。

2. 投与量および投与方法

14 C-CTT 1 mole に対して 2 mole の炭酸水素ナトリウムを加え, 非標識体を加えて希釈し, 生理食塩液に溶解した。投与量は20mg/kgとしたが, 乳汁中移行実験のみ100mg/kgとした。投与経路は, 正常および妊娠ラット単回投与のさいは静脈内, 反復投与および幼若ラットへの投与は筋肉内とした。放射能投与量は, 正常および妊娠ラットでは50 μ Ci/kg, 乳汁中移行実験では20 μ Ci/kg, 反復投与と実験では全身オートラジオグラフィも含めて5 μ Ci/kg, 単回投与後の全身オートラジオグラフィでは100 μ Ci/kgとした。

3. 実験動物

静岡県実験動物農業協同組合から購入したSD/SLCラットを用いた。単回投与には6~7週令, 反復投与には5週令を用いた。妊娠ラットは, 9~11週令の雌を交配させ, 体内分布実験は妊娠14日に, 全身オートラジオグラフィは妊娠20日に行った。また, その一部を出産させ, 2週目に乳汁中移行実験を行った。出生仔の一部は, 幼若ラット体内分布実験に供した。

4. 動物実験

1) 全血中濃度

それぞれ3匹のラットの後肢静脈内および筋肉内に薬物を投与し, 5, 15, 30, 45分および1, 2, 4時間後に尾静脈から血液20 μ lを採取し, 少量の水で溶血させたのち放射能を測定した。

2) 単回静脈内投与

尾静脈内に薬物を投与後, 5, 30分および1, 4, 24時間に各3匹のラットをエーテル麻酔し, ヘパリンを加えた注射筒を用いて下大静脈より採血したのち, 肝, 腎, 心, 肺, 脾, 脳, 辜丸, 胃, 胸腺, 顎下腺, 膵, 脂肪, 筋肉, 皮膚, 小腸, 副腎, 甲状腺を摘出し, その100~200mgを放射能測定に供した。血液は放射能測定のため100 μ lを濾紙に吸収させ, 残りは遠心して血漿を分離し, その100 μ lも濾紙に吸収させた。血漿の一部は, セントリフローCF 50 A (Amicon Far East 製)を用いて限外濾過したのち濾液を薄層クロマトグラフィ(TLC)により展開し, 代謝物を検索した。

尿, 糞中排泄率を測定するために, 代謝ケージに個別収容した4匹のラットに薬物を投与し, 3, 6時間までの尿および24, 48, 72時間までの尿, 糞を採取した。尿はそのまま, または0.1Mリン酸buffer(pH 7.0)で希釈

して, 糞は4~5倍容のリン酸bufferでホモジェナイズして, その一部を放射能測定に供した。尿の希釈液および糞ホモジェネート遠心上清について, 抗菌活性を測定した。3時間までの尿および24時間までの糞ホモジェネート上清は, TLCにより代謝物を検索した。尿については, HPLCによる検索も行った。

胆汁中排泄を測定するために, 総胆管にカニューレを挿入したラット3匹の尾静脈内に薬物を投与し, 3, 6, 24, 48時間までの胆汁を採取し, そのまま, またはリン酸bufferで希釈して, 放射能および抗菌活性を測定した。3時間までの胆汁は, TLCおよびHPLCにより代謝物を検索した。また, 腸肝循環の確認のため, 3時間までの胆汁を他のカニューレ挿入ラット2匹の十二指腸内に投与し, 3, 6, 24, 48時間までの尿, 胆汁中に排泄された放射能を測定した。

3) 胎仔内移行, 乳汁中移行および幼若ラット体内分布

妊娠14日のラットに薬物を投与し, 5, 30分および1, 4, 24時間に各3匹から, 血液, 血漿, 肝, 腎, 心, 肺, 脾, 副腎, 膵, 胎盤, 羊水, 胎仔, 子宮, 卵巣, 乳腺を採取し, 4-2)に準じて放射能を測定した。

出産2週目の授乳中ラットに薬物を投与し, ただちに仔のいるケージに戻した。乳汁は投与後1, 4, 24時間に各3匹の母親から採取したが, その30分前に仔を離し, 乳汁分泌を促すため0.5 I. U./kgのオキシトシン(山之内製薬)を筋肉内投与した。乳汁採取時には軽くエーテル麻酔し, 乳汁50 μ lを直接マイクロピペットに吸引して濾紙に吸収させ, 放射能測定に供した。搾乳後, 親の血液, 血漿を採取し放射能を測定した。仔は, エーテル麻酔後頸動脈から採血し, 肝, 腎, 胃内容を摘出し放射能を測定した。

生後1, 3, 7, 14, 21, 28日のラットの後肢筋肉内に薬物を投与し, 30分, 1, 4時間に各3匹から血液, 肝, 腎, 心, 肺, 脳を採取し放射能を測定した。

4) 15回反復投与

後肢筋肉内に1日2回(9時と15時), 左右交互に11回ないし15回にわたって投与を行った。初回投与は9時に行った。実験に用いたラットのうち3匹ずつを2群に分け, それぞれ9時と15時の投与後30分に尾静脈から20 μ lを採血し, 放射能を測定した。

初回および15回投与後30分, 24時間, 11回投与後24時間に各3匹のラットから, さらに15回投与後1, 2, 3, 4週にも各1匹のラットから, 血液, 血漿, 肝, 腎, 心, 肺, 脾, 脳, 辜丸, 胃, 顎下腺, 膵, 皮膚, 小腸, 副腎, 甲状腺を採取し, 放射能を測定した。

3匹のラットを代謝ケージに収容し, 毎日午前中の投

与の直前および15回投与後24, 48時間に尿, 糞を採取した。尿は一部を放射能測定に供し, 2, 6, 10, 14回投与後の尿については, 抗菌活性の測定およびTLCによる代謝物の検索を行った。4, 8, 12, 15回投与後の糞は, 乾燥後粉碎して放射能を測定した。その他の糞は0.1 Mリン酸 buffer (pH 7.0)を加えてホモジェナイズし, 4.-2)に準じて放射能および抗菌活性を測定した。

5. 全身オートラジオグラフィ

単回投与後5, 30分および4, 24時間の正常, 妊娠ラットおよび15回反復投与後4時間のラットをドライアイス・アセトン中で凍結し, 常法により切片を作成し, ^3H type マクロオートラジオグラフィ用フィルム(小西六)を用いてオートラジオグラムを作成した。

6. 放射能および抗菌活性測定法

組織, 糞, 糞ホモジェネートおよび濾紙に吸収させた試料は, サンプルオキシダイザー (Packard, Model 306)にて処理した。尿, 糞ホモジェネート上清および溶血させた血液は, 直接ジオキサン系シンチレータまたは Aquasol™ (New England Nuclear 製)と混合した。放射能は液体シンチレーションカウンター (Packard, Model 3380)を用いて測定し, 外部標準線源法によりクエンチング補正を行った。

抗菌活性は, *E. coli* を検定菌とする寒天平板 paper disc 法により測定した。検量線は, 0.1M リン酸 buffer (pH 7.0)に CTT を加えて作成した。

7. 薄層クロマトグラフィ (TLC) および高速液体クロマトグラフィ (HPLC)

薄層板として Merck Kieselgel F₂₅₄ を用い, 酢酸エチル: 酢酸: 水 (10: 7: 3) にて展開後, ラジオアクティブスキャナー (Berthold 製) によりラジオクロマトグラムを作成し, 必要に応じてオートラジオグラフィも行った。標準物質の位置は紫外線照射により検出した。

HPLC には Richrosorb RP-18 (Merck 製) 充填カラムを用い, 溶媒として 0.1M リン酸一ナトリウム: メタノール (78: 22) を流速 1 ml/min で流した。280nm の紫外吸収を指標にして, CTT, 互変異性体およびその他の部分に相当する溶出液を分取し, ジオキサン系シンチレータを加えて放射能を測定した。

実験結果

1. 全血中濃度 (Fig. 2)

静脈内投与後の全血中濃度は 2 相性を示した。筋肉内投与後の全血中濃度は, 15分でピークに達したのち静脈内投与時とほぼ等しい推移を示し, 吸収は速やかでかつ完全であると推測された。したがって, ラットへの CTT の静脈内投与が困難な場合, 筋肉内投与がそれに代り得

ると判断し, 反復投与, 幼若動物への投与経路は筋肉内とした。

2. 単回静脈内投与後の体内動態

1) 体内分布 (Table 1), 全身オートラジオグラフィ (Fig. 3)

投与 5 分後, 血漿より高い濃度を示した組織は腎のみであり, 以下, 肝・血液>皮膚・肺・甲状腺・小腸>胃・顎下腺・心・副腎・脾・睾丸・脾・筋肉>胸腺・脂肪>>脳 の順に高かった。全身オートラジオグラムもこの結果をよく反映していたが, 肝内の胆汁および胃粘膜の一部にも高い放射能が認められた。30分後は, いずれの組織の濃度も 5 分後の 1/2~1/3 に低下したが, 小腸では胆汁排泄の影響と思われる上昇がみられた。全身オートラジオグラムでも, 一般的に組織内放射能は低下していたが, 胆汁, 腎には高い放射能が認められ, 新たに腸上部内容に胆汁由来と思われる放射能が出現した。4 時間後では, 血漿中濃度を上回る濃度を示す組織は腎のみであり, 次いで, 血液, 肺, 皮膚が 1 $\mu\text{g/g}$ or ml 以上の濃度を示した。全身オートラジオグラムでは腎皮質に放射能が認められ, また, 投与 30 分後に腸上部内容に出現した放射能の大部分は盲腸内に移行していた。24 時間後には, 腎, 血漿のみ 1 $\mu\text{g/g}$ or ml 以上であった。

2) 排泄 (Fig. 4)

Fig. 2 Concentration of radioactivity in whole blood after intravenous or intramuscular administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT to rats (n = 3)

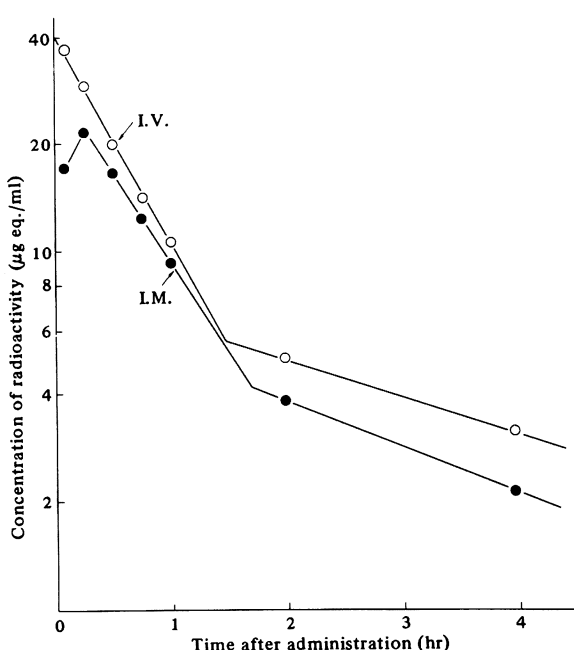


Table 1 Tissue distribution of radioactivity after intravenous administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT to rats ($\mu\text{g eq./g}$ or ml)

Tissue	5 mins	30 mins	1 hr	4 hrs	24 hrs
Blood	34.3 ± 1.1	11.4 ± 0.7	6.6 ± 0.5	2.1 ± 0.0	0.9 ± 0.0
Plasma	62.2 ± 2.8	20.2 ± 1.1	11.0 ± 0.5	3.6 ± 0.1	1.7 ± 0.1
Liver	45.5 ± 1.9	11.4 ± 0.9	4.2 ± 0.2	0.7 ± 0.0	0.6 ± 0.1
Kidney	114.2 ± 9.8	40.1 ± 4.1	26.0 ± 2.9	16.8 ± 1.3	14.8 ± 0.5
Heart	9.7 ± 0.6	3.2 ± 0.2	1.7 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.3 ± 0.0
Lung	18.5 ± 1.5	6.0 ± 0.4	3.5 ± 0.2	1.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1
Spleen	6.1 ± 0.4	1.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.7 ± 0.3	0.4 ± 0.1
Brain	0.8 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Testis	6.5 ± 1.0	3.6 ± 0.3	1.4 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.0
Stomach	12.7 ± 0.8	3.7 ± 0.6	2.0 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.1
Thymus	4.5 ± 0.6	1.5 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0
Salivary glands	11.3 ± 0.9	3.0 ± 0.1	1.7 ± 0.0	0.6 ± 0.1	0.4 ± 0.0
Pancreas	7.8 ± 1.1	2.6 ± 0.2	1.3 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.0
Fat	3.1 ± 0.1	1.5 ± 0.7	0.5 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Muscle	6.0 ± 0.4	1.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
Skin	23.8 ± 1.4	10.9 ± 1.4	5.4 ± 0.6	1.0 ± 0.1	0.8 ± 0.2
Small intestine	16.1 ± 0.9	19.2 ± 0.9	3.5 ± 0.7	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.0
Adrenal	9.2 ± 0.6	3.1 ± 0.4	1.7 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.4 ± 0.0
Thyroid	16.9 ± 1.8	4.2 ± 0.2	2.3 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.1

The data represent the mean ± S.E. of three animals

放射能および抗菌力の尿中排泄率は、3時間までに、それぞれ43.9%、41.6%であり、72時間でそれぞれ47.3%、44.1%に達した。両者の糞中排泄率は、24時間までに、それぞれ42.5%、37.4%であり、72時間でそれぞれ49.3%、41.9%に達した。尿、糞中排泄の合計は、72時間で96.6%となり、ほぼ完全に体外に排泄されると考えられる。放射能および抗菌活性の胆汁中排泄率は、3時間までにそれぞれ55.1%、50.5%であり、48時間でそれぞれ56.8%、51.6%に達した。

以上の結果、投与した ^{14}C -CTTのうち約1/2は尿中に排泄され、残りは胆汁を介して糞中に排泄されることが分った。また、いずれの生体試料中でも抗菌活性と放射能とがほぼ一致することから、CTTは体内で失活しがたいことが示された。

十二指腸内に投与した放射能のうち、48時間までに9%が胆汁中に、7%が尿中に排泄された。胆汁中排泄率は投与量の約60%であるので、投与量の5%程度は、腸肝循環を行う可能性がある。

3) 代謝 (Fig. 5, Fig. 6, Table 2)

尿、胆汁および糞ホモジェネート上清をTLC展開す

ると、いずれにおいても未変化体と互変異性体のみが検出された。HPLCにより測定した尿中および胆汁中の互変異性体の割合は、それぞれ全体の6%および9%であり、ラジオクロマトグラムの面積比から算出した値とほぼ一致した。また、クロマトグラムから算出した糞中の互変異性体の割合は、全体の16%であった。血漿の遠心限外濾液中には、未変化体のみが検出された。

以上のことから、CTTは、ほとんど代謝されることなく体内を循環し、排泄過程で一部が互変異性化すると考えられる。

3. 胎仔内移行 (Fig. 7, Table 3), 乳汁中移行 (Table 4)

妊娠14日目のラットに投与したさいの胎仔内放射能濃度は、5分および30分の $0.2\mu\text{g/g}$ が最高で、24時間には検出されなかった。羊水中濃度は30分から4時間まで $0.1\mu\text{g/ml}$ を保ったが、5分と24時間には検出されなかった。これらの値は母体血漿中濃度の1/70~1/300で、きわめて低かった。胎盤を含めた生殖器官内濃度は、血漿中濃度の1/2~1/5で、肺ないし心の濃度に相当した。妊娠20日目のオートラジオグラムでも、胎仔内に放射能は検

Fig. 3-1. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in a male rat at 5 minutes after intravenous administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT

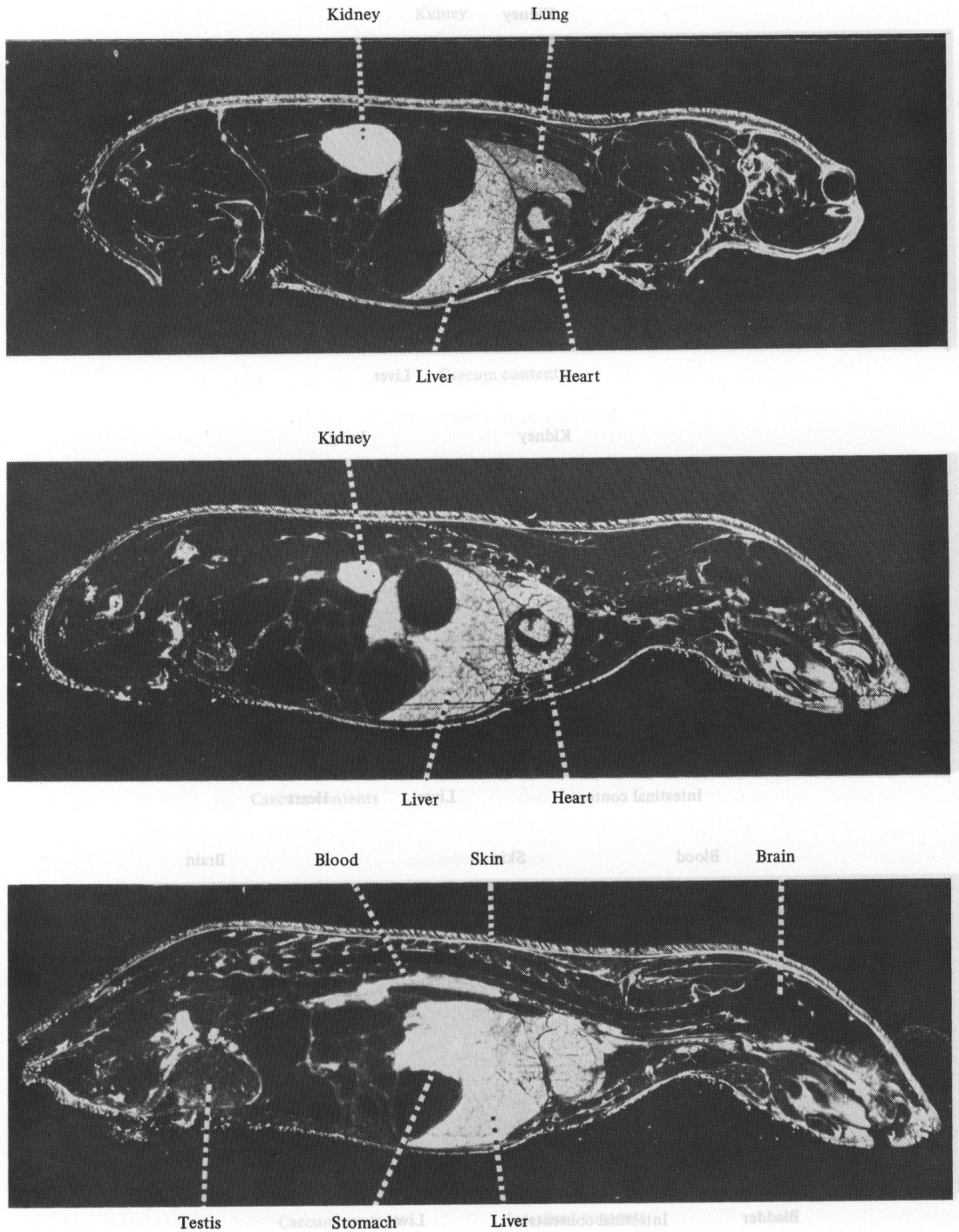
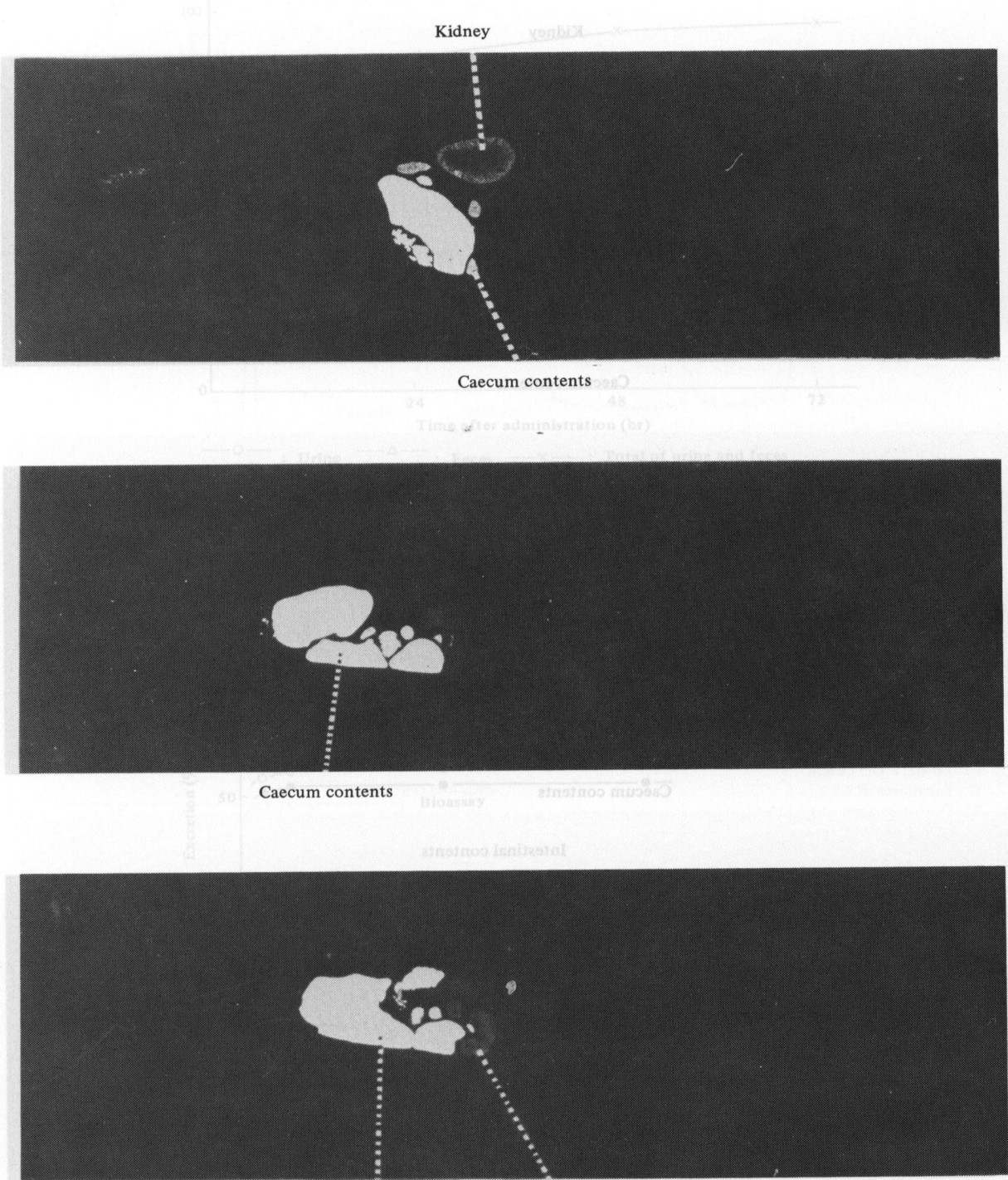


Fig. 3-3 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in a male rat at 4 hours after intravenous administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT



腎内容にも乳汁に溶解する放射性の、肝の
 血液、肝、腎には放射能は検出されず、消化管からは吸
 収されなかった。腎内濃度は、他の組織に比較し低いものの、生後7日ま
 りでは腎機能が著しく不成熟であった。しかし、¹⁴C放射能は成

Fig. 3-4 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in a male rat at 24 hours after intravenous administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT

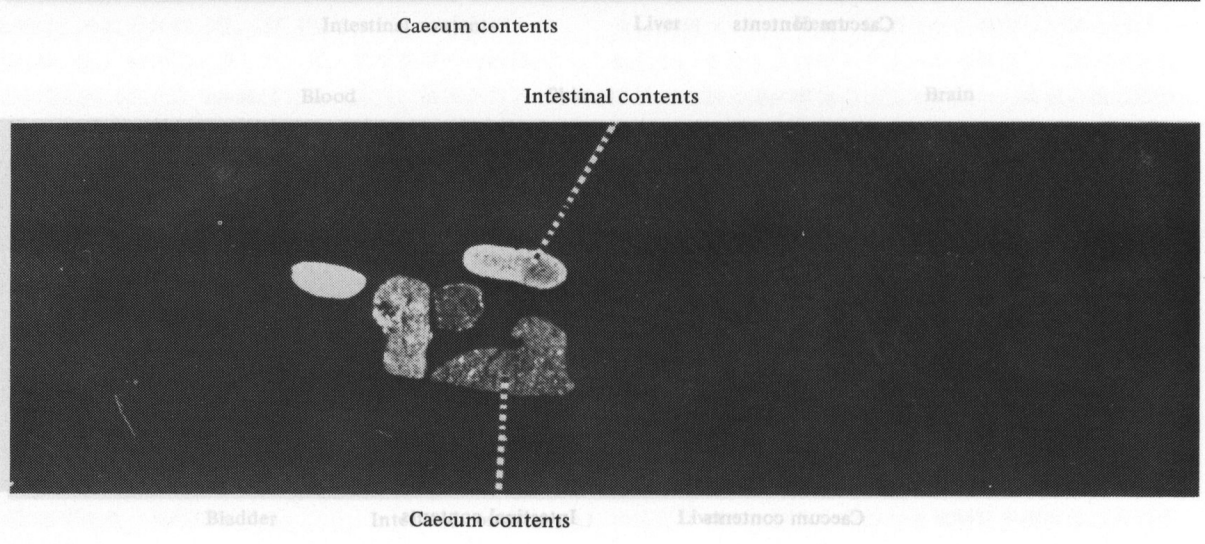
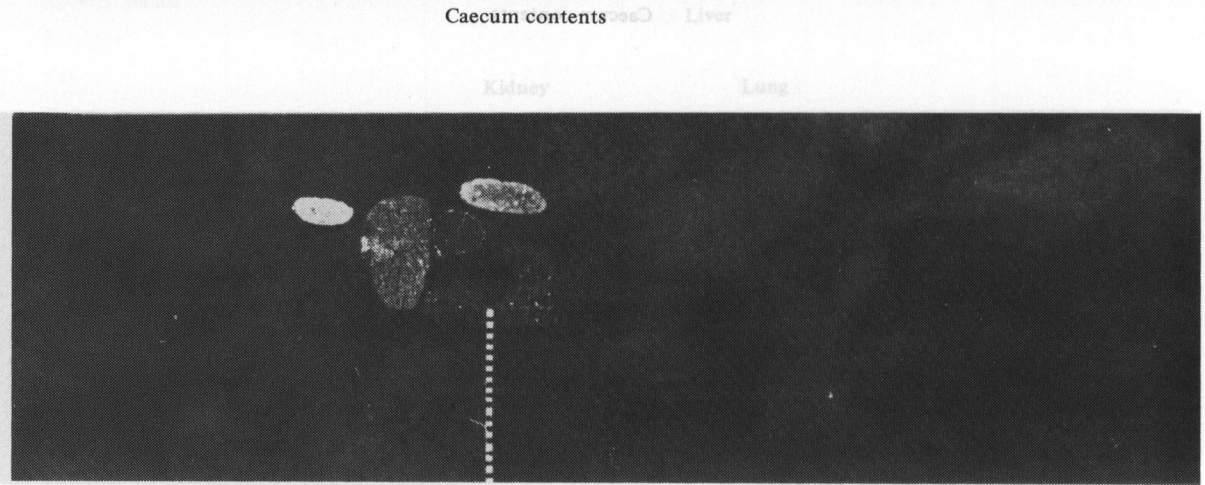
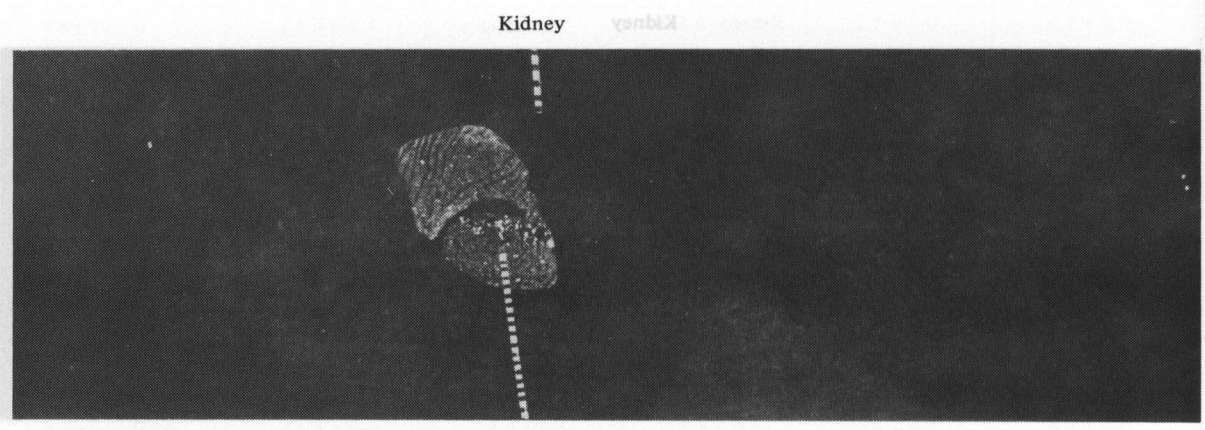


Fig. 4-1 Urinary and fecal excretion of radioactivity and bioactivity after intravenous administration of ^{14}C -CTT to rats (n = 4)

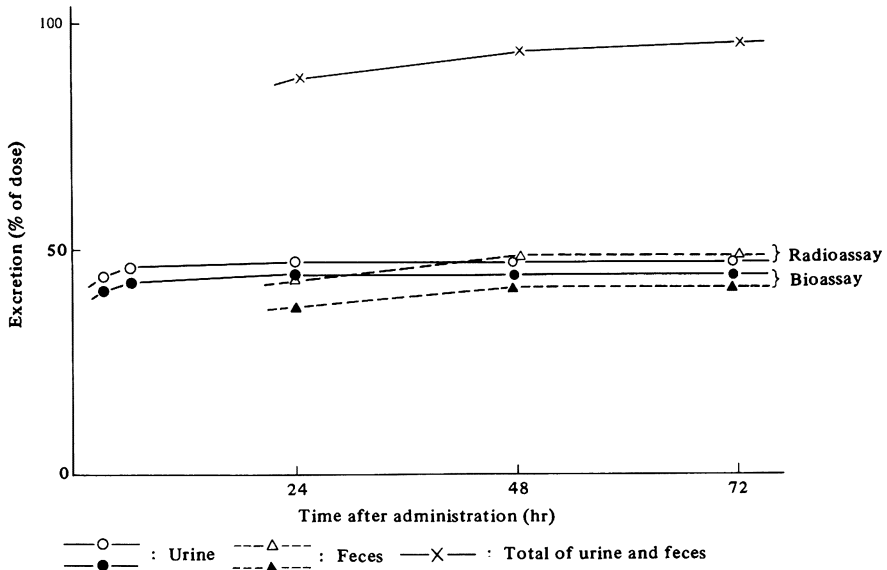
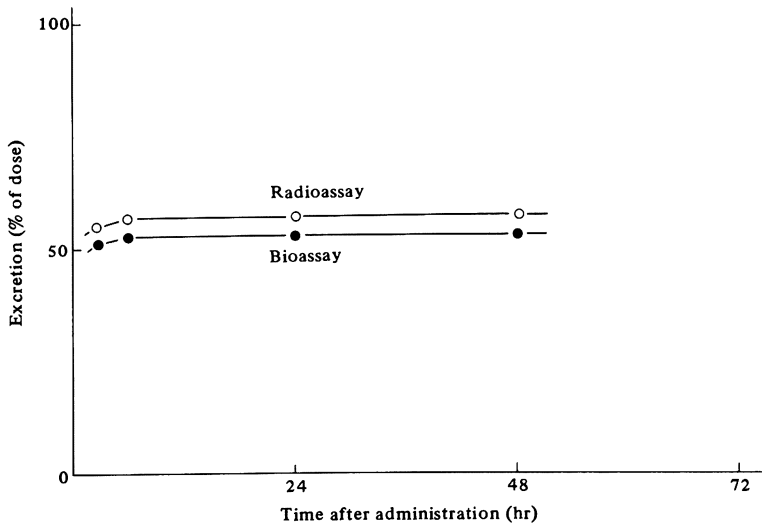


Fig. 4-2 Biliary excretion of radioactivity and bioactivity after intravenous administration of ^{14}C -CTT to rats (n = 3)



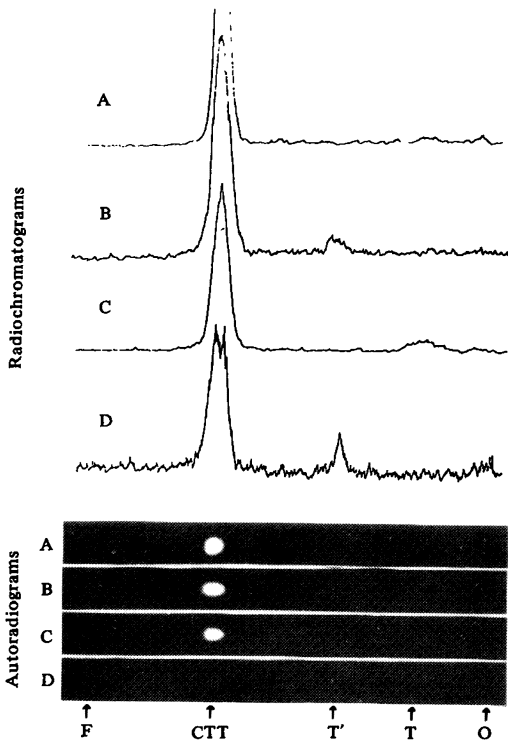
出されなかったが, yolk sacには明瞭な放射能が認められた。

乳汁中濃度は, 投与後1時間が最も高く, 血漿中濃度の1/6であり, 以後血漿中濃度に平行して減少した。仔の胃内容にも乳汁に匹敵する放射能が認められたが, 仔の血液, 肝, 腎には放射能は検出されず, 消化管からは吸収されないことが示唆された。

4. 幼若ラット体内分布 (Fig. 8)

組織内濃度は, いずれの日令においても, 腎>血液>肝>肺>心>脳 の順であった。肝, 肺, 心内濃度の推移は血液と平行しており, 成長に伴い濃度が低下した。腎内濃度の推移には成長に伴う変動は認められなかった。脳内濃度は, 他の組織に比較し低いものの, 生後7日までは消失が遅く持続性であった。しかし, 14日以降は成

Fig. 5 TLC-radiochromatograms and autoradiograms of urine, bile and feces of rats after intravenous administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT



A : ¹⁴C-CTT standard
 B : Urine excreted during 0~3 hours after administration
 C : Bile excreted during 0~3 hours after administration
 D : Feces excreted during 0~24 hours after administration
 F : Front O : Origin
 T : Tautomer of CTT
 T' : Tautomer shifted by the interaction with ingredients of urine (B) or feces (D)

長に伴い急激に低下した。

5. 反復筋肉内投与後の体内動態

1) 全血中濃度 (Fig. 9), 体内分布 (Table 5), 全身オートラジオグラフィ (Fig. 10)

反復筋肉内投与時の全血中放射能濃度は、投与7~8回で初回の約1.3倍となりプラトーに達した。

15回投与後30分の組織内放射能濃度は、腎>血漿>血液・肝>皮膚・小腸・肺・甲状腺>副腎・胃・睾丸・顎下腺・心・脾>脾>脳の順となり、初回と比較すると、

Fig. 6 TLC-radiochromatograms of ultrafiltrates of rat plasma after intravenous administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT

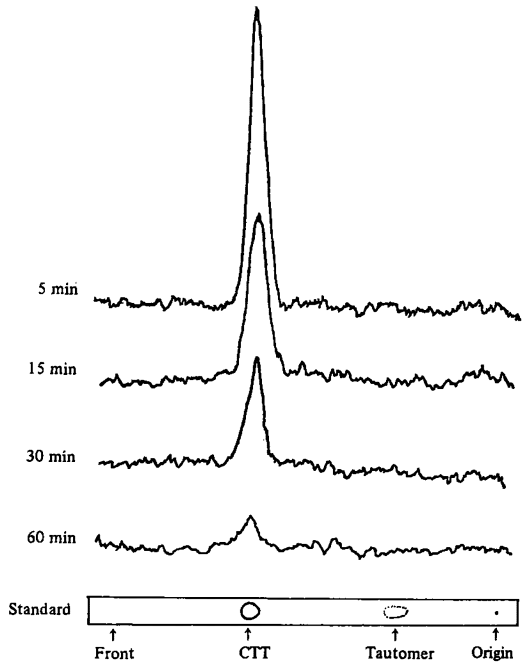


Table 2 Ratios of CTT to its tautomer in urine, bile and feces after intravenous administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT to rats

Sample	n	HPLC method		TLC method	
		CTT	Tautomer	CTT	Tautomer
Urine (0 ~ 3 hrs)	4	94.5 ± 0.8	5.6 ± 0.8	94.0 ± 2.5	6.1 ± 2.5
Bile (0 ~ 3 hrs)	3	91.1 ± 0.8	9.0 ± 0.8	88.2 ± 2.4	11.8 ± 2.4
Feces (0 ~ 24 hrs)	4	— —	— —	84.2 ± 2.3	15.8 ± 2.3
¹⁴ C-CTT	1	96.7	3.3	— —	— —

High performance liquid chromatography (HPLC) or thin layer chromatography (TLC) was applied to the separation of radioactive compounds

Fractionation and liquid scintillation counting were carried out in HPLC method

Radiochromato-scanning and planimetry were achieved in TLC method

Fig. 7 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat of the 20th day of gestation at 5 minutes after intravenous administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT

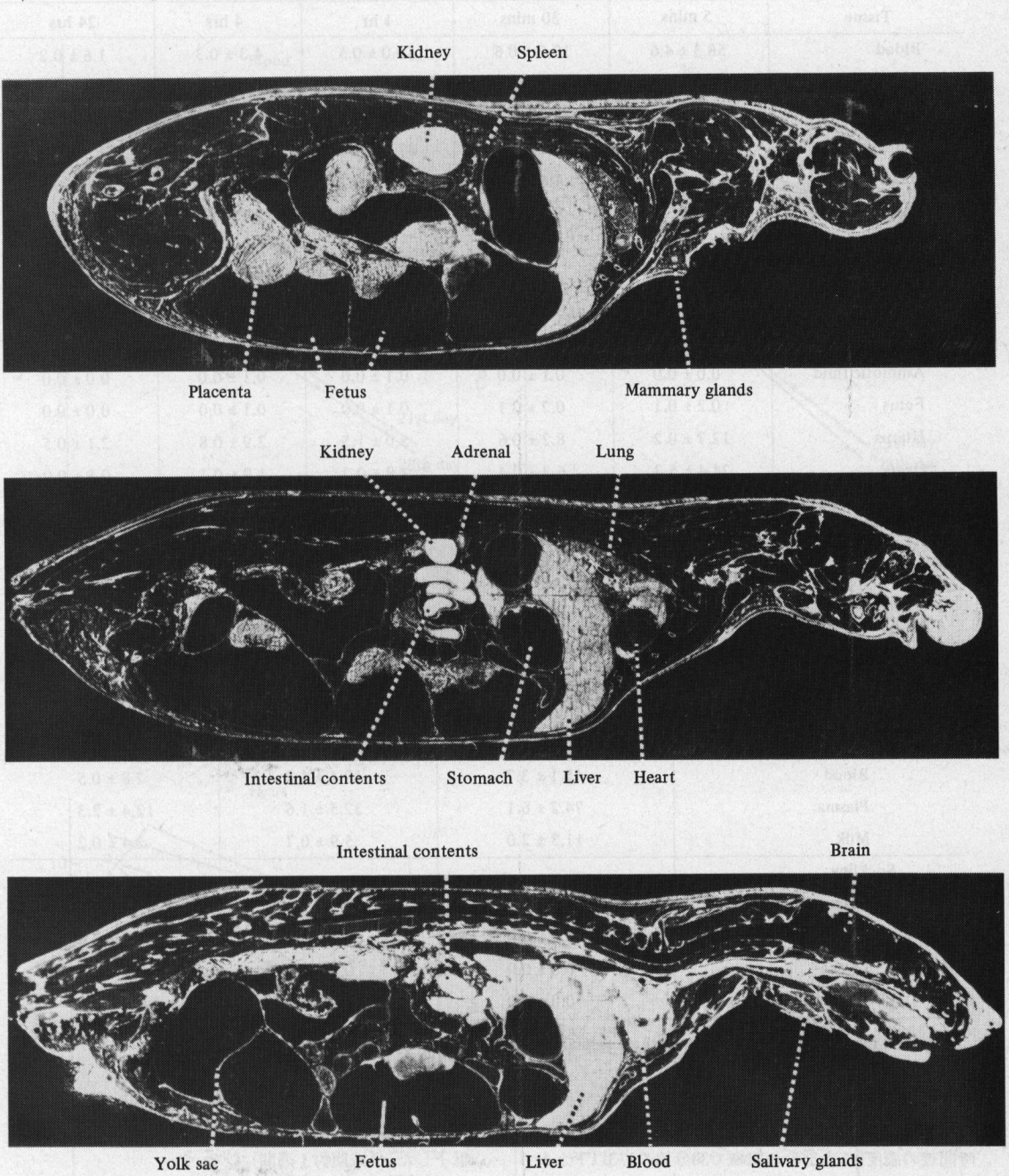


Table 3 Tissue distribution of radioactivity after intravenous administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT to pregnant rats at the 14th day of gestation ($\mu\text{g eq./g}$ or ml)

Tissue	5 mins	30 mins	1 hr	4 hrs	24 hrs
Blood	58.3 ± 4.6	17.7 ± 0.6	10.0 ± 0.5	4.3 ± 0.3	1.6 ± 0.2
Plasma	94.3 ± 8.6	29.6 ± 0.8	15.5 ± 0.4	7.2 ± 0.4	2.6 ± 0.2
Liver	49.7 ± 3.2	13.9 ± 0.4	5.7 ± 0.2	1.9 ± 0.2	1.1 ± 0.1
Kidney	108.4 ± 8.6	45.7 ± 2.0	47.0 ± 4.1	43.4 ± 3.3	34.8 ± 0.8
Heart	13.3 ± 1.1	4.6 ± 0.3	2.1 ± 0.2	1.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1
Lung	27.3 ± 3.3	9.4 ± 0.9	5.4 ± 0.7	2.7 ± 0.3	1.0 ± 0.1
Spleen	9.0 ± 0.3	2.5 ± 0.2	1.5 ± 0.1	0.9 ± 0.0	0.8 ± 0.1
Adrenal	14.2 ± 1.1	4.6 ± 0.2	2.6 ± 0.1	1.3 ± 0.6	0.7 ± 0.1
Pancreas	8.8 ± 1.0	3.1 ± 0.3	1.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.5 ± 0.0
Placenta	15.2 ± 1.7	5.9 ± 0.3	3.3 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.2 ± 0.2
Amniotic fluid	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Fetus	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Uterus	12.7 ± 0.2	8.2 ± 0.6	5.0 ± 1.5	2.9 ± 0.8	2.1 ± 0.5
Ovary	24.4 ± 5.2	6.3 ± 0.4	3.8 ± 0.2	1.9 ± 0.1	0.8 ± 0.0
Mammary glands	14.0 ± 1.9	5.9 ± 0.2	2.9 ± 0.4	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.2

The data represent the mean ± S.E. of three animals

Table 4 Concentration of radioactivity in milk, maternal blood and suckling tissues after intravenous administration of ^{14}C -CTT to mother rats at 2 weeks after delivery ($\mu\text{g eq./g}$ or ml)

Tissue	1 hr	4 hrs	24 hrs
Maternal			
Blood	45.1 ± 3.7	19.4 ± 1.1	7.8 ± 0.5
Plasma	74.2 ± 6.1	32.5 ± 1.6	12.4 ± 2.3
Milk	11.3 ± 2.0	5.9 ± 0.7	2.4 ± 0.2
Suckling			
Stomach contents	4.0 ± 1.9	8.7 ± 1.0	2.4 ± 0.5
Blood	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Liver	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Kidney	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

The data represent the mean ± S.E. of three animals

腎では3.4倍と有意($P < 0.01$)に増加していたが、他の組織においては、初回との間に差がなかった($P > 0.05$)。24時間後の濃度は、大部分の組織で30分値の1/3以下となったが、腎、脾では低下が遅くそれぞれ2/3、2/5であった。15回投与後24時間の濃度は、11回投与の場合と等しいかやや低かったが、初回に比べ2~7倍高かった。15回投与後4時間の全身オートラジオグラフィでは、腎皮質に放射能が認められた。15回投与後4週までの組織内濃度の低下は血漿が最も早く(半減期約2日)、最も高濃度を

示した腎も4週後の濃度は1週後の約1/7に低下していた。肺、肝、脾、心等の濃度もほぼ腎内濃度に平行して低下した(半減期約1週間)。

2) 排泄 (Fig. 11), 代謝 (Fig. 12, Table 6)

尿中排泄率は、投与期間を通じて43.6~52.6%であった。糞中排泄率は、1日目の32.2%を除き投与期間を通じて40.2~43.9%であった。最終投与後48時間までの尿、糞中排泄率の合計は96.5%に達した。2、6、10、14回投与後の尿、糞中〔抗菌力〕/〔放射能〕比は、尿では

Fig. 8-1 Tissue distribution of radioactivity after intramuscular administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT to young rats (n = 3)

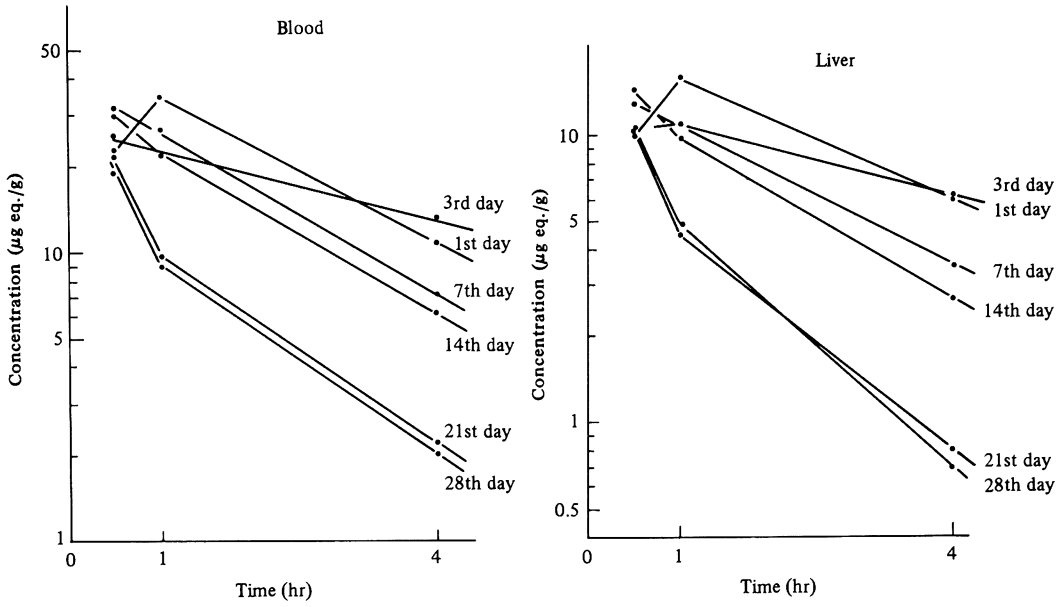


Fig. 8-2 Tissue distribution of radioactivity after intramuscular administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT to young rats (n = 3)

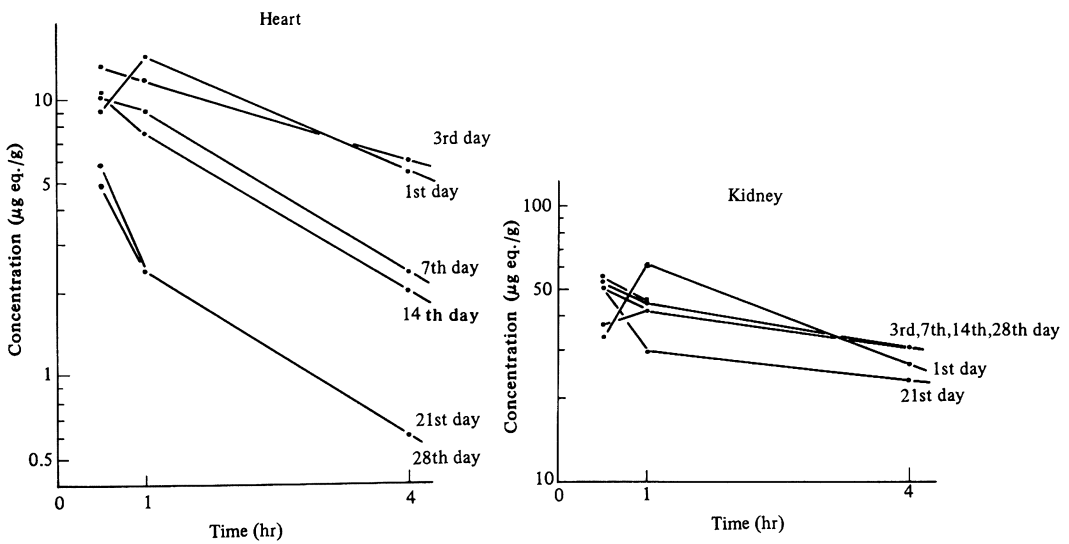


Fig. 8-3 Tissue distribution of radioactivity after intramuscular administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT to young rats (n = 3)

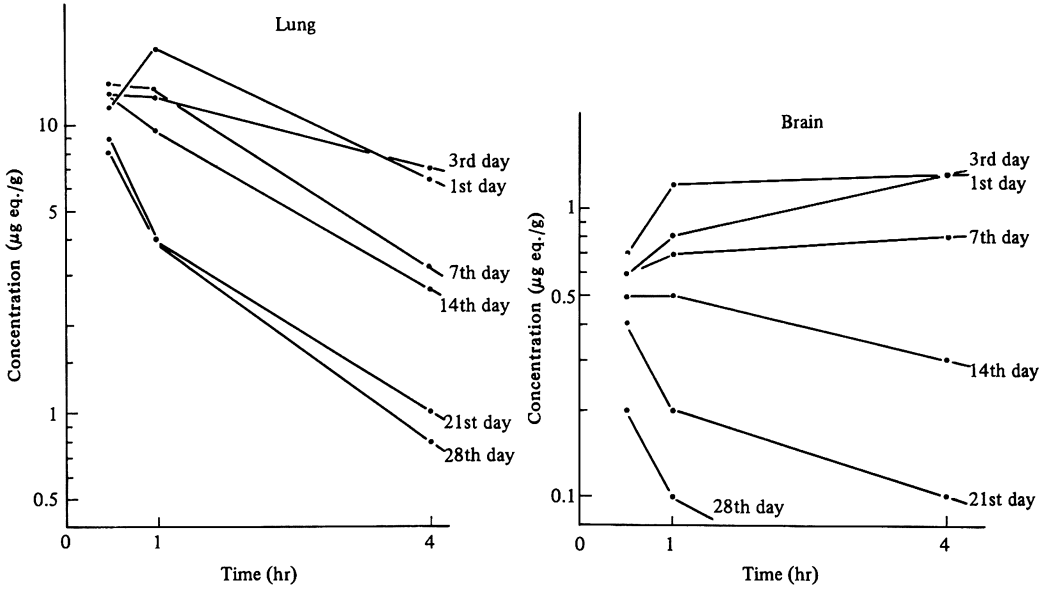


Table 5-1 Concentration of radioactivity in tissues during and after repeated intramuscular administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-CTT twice a day for 15 times to rats

Administration frequencies	(µg eq./g or ml)		
	1		11
Time after the last administration	30 mins	24 hrs	24 hrs
Blood	17.4 ± 1.3	0.8 ± 0.0	4.2 ± 0.2
Plasma	28.1 ± 1.9	1.3 ± 0.1	6.7 ± 0.2
Liver	13.7 ± 1.5	0.4 ± 0.0	2.7 ± 0.1
Kidney	61.1 ± 7.3	23.4 ± 0.6	186.2 ± 8.7
Heart	4.9 ± 0.5	0.3 ± 0.0	1.8 ± 0.0
Lung	8.5 ± 0.9	0.5 ± 0.0	3.2 ± 0.1
Spleen	2.5 ± 0.3	0.3 ± 0.0	2.4 ± 0.2
Brain	0.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Testis	5.1 ± 0.8	0.3 ± 0.0	1.6 ± 0.0
Stomach	6.6 ± 0.7	0.3 ± 0.0	2.8 ± 0.6
Salivary glands	5.1 ± 0.5	0.4 ± 0.0	2.5 ± 0.1
Pancreas	3.5 ± 0.4	0.3 ± 0.0	2.0 ± 0.1
Skin	11.3 ± 2.0	0.7 ± 0.0	4.1 ± 0.2
Small intestine	12.4 ± 0.6	0.2 ± 0.0	1.7 ± 0.2
Adrenal	5.1 ± 1.1	0.4 ± 0.0	2.5 ± 0.1
Thyroid	7.7 ± 1.5	0.8 ± 0.2	2.4 ± 0.5

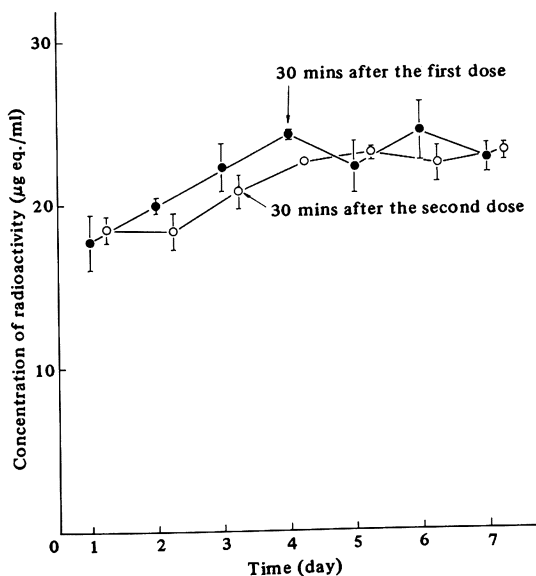
The data represent the mean ± S.E. of three animals or the value from one animal

Table 5-2 Concentration of radioactivity in tissues during and after repeated intramuscular administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT twice a day for 15 times to rats

Administration frequencies	15					
	30 mins	24 hrs	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
Blood	19.4 ± 0.8	3.3 ± 0.1	0.4	0.0	—	—
Plasma	33.4 ± 0.3	5.4 ± 0.2	0.7	0.0	—	—
Liver	17.2 ± 1.0	2.3 ± 0.2	0.7	0.3	0.0	—
Kidney	209.1 ± 5.1	142.5 ± 4.8	69.9	28.7	26.3	9.8
Heart	5.7 ± 0.4	1.6 ± 0.2	0.5	0.4	0.4	0.0
Lung	10.7 ± 0.9	2.7 ± 0.2	1.2	0.7	0.0	—
Spleen	4.5 ± 0.4	1.9 ± 0.4	1.0	0.6	0.2	0.2
Brain	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.0	—	—	—
Testis	6.9 ± 0.6	1.8 ± 0.1	0.3	0.2	—	—
Stomach	6.9 ± 0.3	1.7 ± 0.1	0.9	0.4	—	—
Salivary glands	6.9 ± 0.6	2.2 ± 0.1	0.8	0.7	0.4	0.2
Pancreas	5.2 ± 0.6	1.4 ± 0.1	0.7	0.5	0.4	0.1
Skin	15.8 ± 0.3	4.2 ± 0.5	2.1	1.2	1.0	0.5
Small intestine	11.4 ± 2.2	0.7 ± 0.1	0.3	0.2	0.0	—
Adrenal	7.5 ± 0.6	2.4 ± 0.2	1.1	1.2	0.0	—
Thyroid	9.4 ± 1.8	3.8 ± 0.8	0.7	0.5	0.0	—

The data represent the mean ± S.E. of three animals or the value from one animal

Fig. 9 Concentration of radioactivity in whole blood during repeated intramuscular administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT twice a day for 15 times to rats (n = 3)



0.93~0.98、糞では0.86~1.11となり、投与期間を通じてほぼ一定であった。反復投与時の尿のTLCクロマトグラムにおいては、放射能投与量が低いうえ24時間尿を用いたため、未変化体のみしか検出されなかったが、そのパターンは投与期間を通じて変化しなかった。

考 察

^{14}C -CTTは、静脈内投与後5分には体内に広く分布し、小宮ら²⁾により行われた非標識体を投与したさいの抗菌活性の分布とよく一致した。抗菌活性では測定が困難な皮膚においても高い濃度がみられた。また、中枢神経系への移行はほとんどなく、blood-brain barrierは通過しないと考えられる。いずれの時間でも全血中濃度が血漿中濃度の約1/2であることは、ラットのPCVが1/2であることを考慮すると、CTTが血球にほとんど取り込まれないことを示唆している。

CTTは、尿、胆汁中に、ほぼ1:1の割合で抗菌活性を保ったまま排泄され、いずれにおいても数%が互変異性体に移行していたが代謝物は検出されなかった。糞中にも代謝物は認められず、抗菌活性も保たれていること

Fig. 10 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in a male rat at 4 hours after the 15th intramuscular administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT

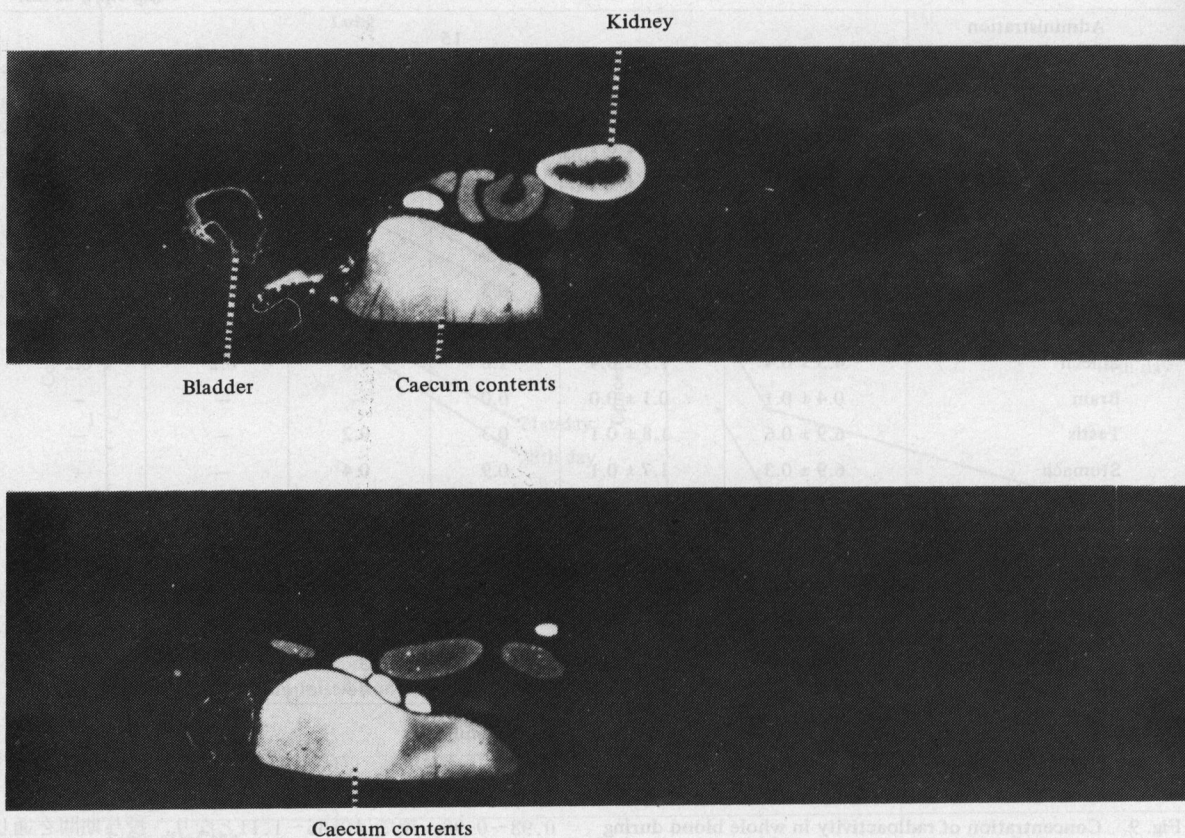
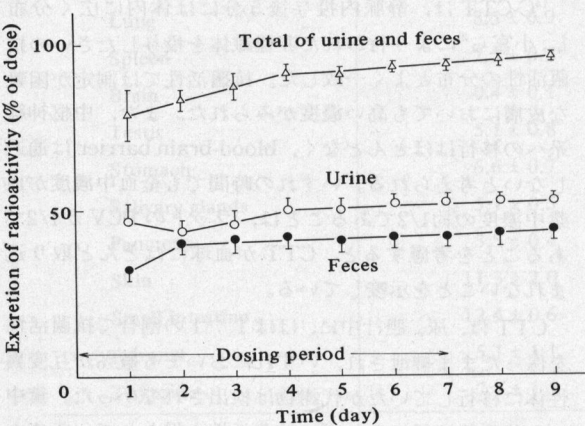


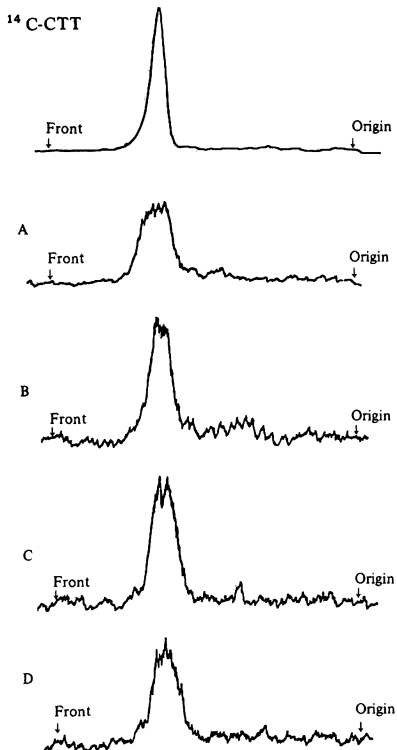
Fig. 11 Urinary and fecal excretion of radioactivity during and after repeated intramuscular administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT twice a day for 15 times to rats ($n = 3$)



は、CTTがCephamycin特有の強い β -lactamase耐性のため腸内細菌による失活を受けないことを示していた。糞中では互変異性体が胆汁中より若干増加していたが、これは、胆汁へ排泄された後、消化管内で互変異性体が増加したものと思われる。一方、血漿中には未変異体のみが検出された。以上のことから、CTTは、ほとんど変化することなく体内を循環し、排泄のさい一部が互変異性体に移行するが、きわめて代謝されにくいと考えられる。以上の見解は、菊地ら³⁾によるHPLCを用いた実験の結果とよく一致した。

CTTを妊娠ラットに投与すると、胎盤には心と同程度の移行がみられたが、胎仔内への移行は非常に少なかった。WADDELLら⁴⁾はyolk sacには薬物が移行しやすいと述べているが、CTTの場合も全身オートラジオグラムで同様の傾向がみられた。乳汁中濃度は血漿中濃度の約1/6であったが、この乳汁を摂取しても、哺乳仔の消化管からのCTTの吸収は認められなかった。

Fig. 12 TLC-radiochromatograms of urine during repeated intramuscular administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT twice a day for 15 times to rats



Urine was collected till 18 hours after the 2nd (A), the 6th (B), the 10th (C) and the 14th (D) dose

日令の異なった幼若ラットに投与したさいには、成長に伴って全血中濃度が低下し、肝、肺、心内濃度もそれに平行して低下した。AXLINEら⁹⁾は β -Lactam系抗生物質を幼児に投与すると、成長に伴い血清中濃度の半減期が短縮することを確かめたが、このさいWESTら⁸⁾が検討したように腎の排泄機能の向上による影響が大きいと考えられている。脳内濃度においては生後14日以降の低下が著しく、blood-brain barrierの完成と関連していると思われる。

15回反復投与30分後の組織内濃度は、腎を除いて初回投与時と差がなく、反復投与しても体内分布に大きな影響はないように思われる。15回反復投与24時間後の組織内濃度は、腎を除いて $5.4\mu\text{g/g}$ or ml以下に低下していたが単回投与と比較すると2~7倍高かった。一方、腎は、単回投与時と同様反復投与時も高濃度を示し、全身オートラジオグラフィから皮質の部分に移行が確認された。しかし、これらの放射能は約1週間で半減し、また、ラットに 100mg/kg 投与時の垂急性、慢性毒性試験では

Table 6 Bioactivity to radioactivity ratios in the urine and feces during repeated intramuscular administration of 20 mg/kg of ^{14}C -CTT to rats

Administration frequencies	Urine	Feces
2	0.98 ± 0.05	1.11 ± 0.01
6	0.95 ± 0.02	0.96 ± 0.03
10	0.96 ± 0.00	0.86 ± 0.02
14	0.93 ± 0.03	1.03 ± 0.03

Urine and feces were collected till 18 hours after administration (n = 3)

異常はみられず、腎毒性もほとんど認められていない⁷⁾。

排泄は単回投与時同様、尿中および糞中にほぼ1:1の割合であり、それらの合計排泄率が最終投与後48時間までに96%を上回ったことから体内に著しい残留はないと考えられる。また、尿、糞中とも抗菌活性がほぼ完全に保たれており、尿のTLCクロマトグラムにも投与回数増加に伴う変動は認められなかったことから、反復投与によりCTTの代謝、排泄が大きな影響を受けることはないと思われる。

謝 辞

標識化合物を合成して載きました当社、玉沢一晴、有馬英樹両氏に感謝致します。

文 献

- 1) 玉沢一晴、有馬英樹：投稿中
- 2) 小宮正行、菊地康博、立花章男、矢野邦一郎：Cefotetan (YM09330)の実験動物における吸収、分布、代謝、排泄。Chemotherapy 30(S-1)：106~118, 1982
- 3) 菊地康博、小宮正行、立花章男、矢野邦一郎：Cefotetan (YM09330)を実験動物に投与した時のCefotetanおよびその互変異性体について。Chemotherapy 30(S-1)：137~143, 1982
- 4) WADDELL, W. J.; G. C. MARLOWE: Perinatal pharmacology and therapeutics. (Mirkin, B. L.) pp. 155~205, Academic press, 1976
- 5) AXLINE, S. G.; S. J. YAFFE, H. J. SIMON: Clinical pharmacology of antimicrobials in premature infants II. Ampicillin, methicillin, oxacillin, neomycin and colistin. Pediatrics 39: 97~107, 1967
- 6) WEST, J. R.; H. W. SMITH, H. CHASIS: Glomerular filtration rate, effective renal blood flow and maximal tubular excretory capacity in infancy. J. Pediatrics 32: 10~18, 1948
- 7) 第28回日本化学療法学会西日本支部総会、新薬シンポジウム、YM09330, 1980

DISTRIBUTION, EXCRETION AND METABOLISM OF ¹⁴C-CEFOTETAN (¹⁴C-YM09330) IN RATS

TAKASHI WATANABE, YOMOHIRO ENJOJI,* MASAYUKI KOMIYA,* YASUHIRO KIKUCHI,
RYUTARO KAWAI and SHIGEO KAWAMURA

Institute of Research and Development; *Central Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

The metabolic fate of cefotetan (CTT, YM09330) was studied after single or repeated parenteral administration of 20 mg/kg of ¹⁴C-cefotetan to SD rats.

1. At 5 minutes after single intravenous administration, the tissue level of radioactivity was highest in kidney (114.2 μg/g) followed by plasma (62.2 μg/ml), liver (45.5 μg/g), skin, lung, small intestine (15 to 30 μg/g), heart, testis, spleen, muscle (5 to 15 μg/g), and brain (0.8 μg/g). The tissue levels at 30 minutes after administration decreased 1/2 to 1/3 of those at 5 minutes. At 24 hours after administration, low radioactivity was detected only in renal cortex besides intestinal contents, which were under excretion, in whole body autoradiography.

2. Tissue levels of radioactivity during 15 times-repeated intramuscular administration plateaued within 11 times. Tissue levels at 30 minutes after the last administration were almost as same as those after the first administration except that in kidney in which the level after the last administration was 3.5 times higher than that after the first administration. Tissue levels at 24 hours after the last administration were 2 or 7 times higher than those after the first administration.

3. About 44% of dosed radioactivity was excreted in urine within 3 hours, which amounted to about 47% within 72 hours. The rest of dosed radioactivity was excreted in feces *via* bile. Total recovery in urine and feces within 72 hours was about 97% of the dose. The ratios of urinary to fecal excretion during repeated administration were similar to those after single administration. Total of urinary and fecal excretion within 48 hours after the last administration was about 97%.

4. Unchanged cefotetan alone was detected in ultrafiltrate of plasma. The ratios of tautomer to radioactivity excreted in urine, bile and feces were 6%, 12% and 16% respectively. The rest of excreted radioactivity in those biological samples was unchanged cefotetan and no metabolite was detected. The antibiotic activity hardly lost in those biological samples. TLC-radiochromatograms of urine did not change during the repeated administration.

5. Radioactivity in fetus, whose concentration was below 1/70 of that in maternal plasma, was extremely low. However, concentrations in generative organs including placenta were 1/2 to 1/5 of that in maternal plasma.

Radioactivity excreted in milk, whose concentration was 1/6 of that in maternal plasma, was not absorbed from suckling's gastrointestinal tract.

Tissue levels of radioactivity in young rats at 1 to 28 days after birth decreased with their growth.