

ラットにおける Ceftriaxone (Ro 13-9904) の体内動態に関する研究 (第1報)

—— ^{14}C -Ceftriaxone 単回投与後の血中濃度推移, 体内分布および排泄——

深沢 英雄・田原 整・市原 成泰・富澤 宏樹・立石 満

日本ロシュ研究所

R. HEINTZ

F. Hoffmann-La Roche 研究所

要 約

新合成セファロスポリン系抗生物質である ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904) の ^{14}C 標識化合物 (^{14}C -CTRX) をラットに20mg/kg あて, 単回静脈内投与した時の血中濃度推移, 体内分布, 尿, 胆汁および糞中排泄について検討した。

1. 血中濃度推移

血中総放射活性濃度は, 静脈内投与後速やかに減少し, 4時間後には投与5分後の1/37(雄)~1/28(雌)まで低下した。投与後4時間以降は緩やかな減少を示した。血中未変化体濃度は, 投与後30分より4時間までは単一指数的に減少し, その際の生物学的半減期は約40分(雌雄ラットとも)であった。

2. 組織内分布

^{14}C -CTRX 静脈内投与後の組織中総放射活性濃度は, 腸(内容物を含む)で最も高く, 次いで腎臓, 血液の順であった。腸内総放射活性濃度は, 投与後6時間で最高値に達したが, 腸以外の組織中総放射活性濃度は, いずれも時間の経過とともに減少した。腎臓の総放射活性濃度の経時的減少は, その他の組織と比較すると緩やかで, 投与後24時間においても30分値の約1/5の濃度が認められた。全身オートラジオグラフィーの結果も上記結果を支持するものであった。

3. 尿中, 胆汁中排泄

胆管カニューレを施したラットにおける総放射活性の排泄率は, 投与後48時間までに, 胆汁中に約50%, 尿中に約40%であった。薬物投与後0~8時間の胆汁および0~24時間の尿中に排泄された総放射活性の約90%は, 未変化CTRXに由来していた。

緒 言

Ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904): (6R, 7R)-7-[(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyimino]acetamido]-3-[(2,5-dihydro-6-hydroxy-2-methyl-5-oxo-1,4-diazepin-3-yl)thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-[4, 2, 0]oct-2-ene-2-carboxylic acid disodium salt (含結晶水, z isomer) は F. Hoffmann-La Roche 社 (スイス) において新しく合成されたセファロスポリン系抗生物質である。

本薬物の抗菌スペクトラムは広範囲にわたり, 特にグラム陰性菌に強い抗菌性を示すとともに, β -lactamase に対しても安定である。

今回著者らは, ^{14}C で標識した CTRX をラットに静脈

内投与し, 血中濃度推移, 体内分布, および排泄について検討を行ったので報告する。

(実験実施期間: 昭和54年6月~昭和56年1月)

I. 実験材料および実験方法

1. 使用動物

6週齢で購入した雌雄ラット (Sprague-Dawley 系) を恒温 ($23 \pm 0.5^\circ\text{C}$), 恒湿 ($55 \pm 5\%$) の室内で1週間(血中濃度推移と体内分布実験), ないし3週間(胆汁中排泄実験)予備飼育した後, 体重増加に異常のないものを選んで実験に供した。

実験日の体重は, 血中濃度推移と体内分布実験 (1群雌雄各5匹) では, 雄で210~250g, 雌で160~190g, 胆

汁中排泄実験(雄3匹)では330~340gであった。ラットは血中濃度推移, 体内分布実験では, 薬物投与後代謝ケージにて飼育した。胆汁中排泄実験では, ラットにエーテル麻酔下胆管カニュレーションを施し, 薬物投与後ボールマンケージに固定した。薬物投与前および投与

後, 水と食餌は自由に摂取させた。

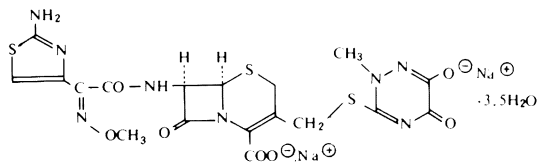
全身オートラジオグラフィ(以下全身ARGと略す)では, Piebald系雄性ラット4匹(8週齢, 体重200g)を実験に供した。

2. 使用薬物

CTRXはFig. 1に示す構造を有する白色または帯微黄白色粉末であり, F. Hoffmann-La Roche社(スイス)より供与された。本化合物のthiazolyl基の2位を ^{14}C で標識した化合物(^{14}C -CTRX)も以下の方法にて同社で合成され供与を受けた(Fig. 2)。

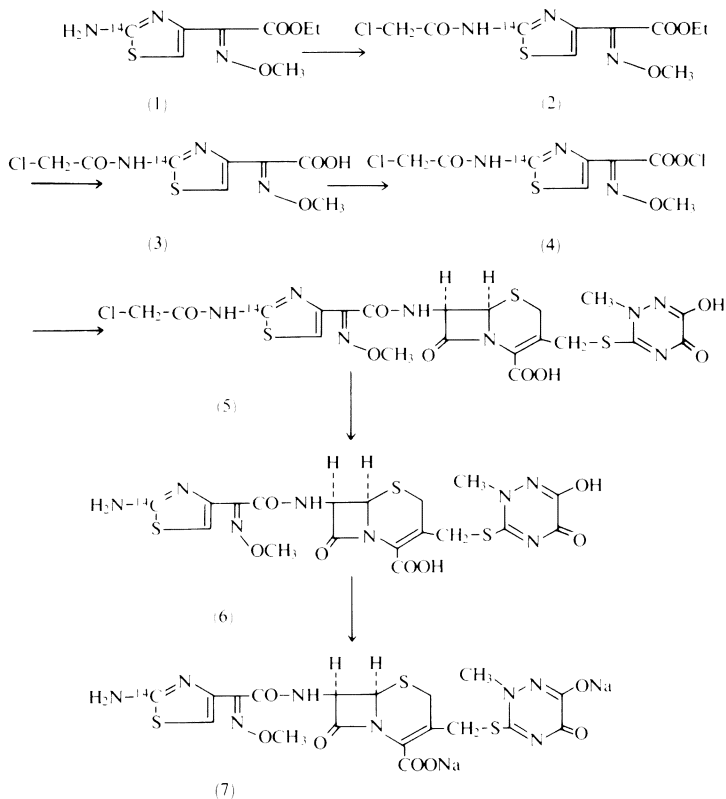
^{14}C 炭酸バリウムとアンモニアを850°Cにて反応させ, ^{14}C バリウムシアナミドとし, 次いで水酸化バリウム水溶液中硫化水素で処理してチオ尿素を得る。4-bromo-2-methoxyimino-3-oxo-butanoic ethylesterに ^{14}C -チオ尿素を作用させ, 2-(2-amino-2- ^{14}C -thiazol-4-yl)-2-methoxyimino acetic acid ethylester (1)を得る。ヒリジン存在下エステル(1)に無水chloro acetic acidを作用させてアミド体(2)を得る。(2)を水酸化ナトリ

Fig. 1 Chemical structure of CTRX



(Z)-(6R, 7R)-7-(2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-(methoxyimino)acetamido)-3-[[[(2, 5-dihydro-6-hydroxy-2-methyl-5-oxo-4,2,0)oct-2-ene-2-carboxylic acid disodium salt

Fig. 2 Synthetic method of ^{14}C -CTRX



ウム-ethanol 水溶液中で加水分解し、2-(2-chloroacetamido-2-¹⁴C-thiazol-4-yl)-2-methoxyimino acetic acid (3) を得る。カルボン酸 (3) を低温下、PCl₅ で処理して酸クロリド (4) を得る。(4) に (7R)-7-amino-3-[(1,2,5,6-tetrahydro-2-methyl-5,6-dioxo-as-triazin-3-yl) thio] methyl-3-cephen-4-carboxylic acid を作用させ (5) を得る。(5) を酢酸ナトリウムにてナトリウム塩とした後、水酸化ナトリウム水溶液にて pH を 7 に維持しつつ 17 時間チオ尿素で処理し、¹⁴C-CTRX を得る。アセトン-水混合溶媒中酢酸ナトリウムで処理し (6) のナトリウム塩 (7) を得る。

本化合物の放射化学的純度は、2 種類の展開溶媒 ethyl acetate/methanol/H₂O (3 : 1 : 1, v/v) および ethyl acetate/methanol/H₂O (10 : 10 : 7.5, v/v) を用いた薄層クロマトグラフィーのラジオクロマトグラムにより 90% 以上であることを確認した。その他、本実験では試薬はすべて市販の分析用特級試薬を使用した。

3. 投与薬物の調製および投与方法

全身 ARG 実験では、¹⁴C-CTRX は希釈せず (比放射活性 72.9 μCi/mg) に使用したが、それ以外の実験では非放射性 CTRX を加え、比放射活性が 1.56 ~ 4.94 μCi/mg となるように希釈した。¹⁴C-CTRX は投与直前に生理食塩液に溶解し (20 mg/ml), 20 mg/kg あてラット尾静脈内に投与した。投与量は本薬物の推定臨床用量 (1,000 ~ 2,000 mg/人) に基づいて決定した。

4. 血中濃度測定

¹⁴C-CTRX 投与後所定の時間 (投与後 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6 時間) に無麻酔下、尾静脈よりヘパリン処理したマイクロビペットを用いて採血した。

1) 血中総放射活性濃度の測定

血液 10 μl を放射活性測定用バイアルに取り、Soluene 350 (Packard) 200 μl を加えて溶解後、10 ml の Bray シンチレーターを加え化学発光の消失を待って液体シンチレーションカウンター (Packard TRICARB 3390) で放射活性を測定した。結果は用いた ¹⁴C-CTRX の比放射活性から換算して μg CTRX 当量/ml 血液で示した。

2) 血中未変化 CTRX 濃度の定量

採取した血液の一部 (約 20 μl) を遠心分離 (11,000 rpm, 5 分) にて血漿および血球成分に分離した後、同一時点の血漿一定量 (ラット 1 匹あたり 8 μl) を 5 匹分合わせ試料とした。各血漿に担体として非放射性 CTRX 200 μg (0.4% 水溶液 50 μl, w/v) および 250 μl の ethanol を加えて振盪した。遠心分離にて除タンパクした後、上清を直接薄層クロマト板 (Kieselgel, 60 F 254, 厚さ 0.25 mm, Merck) に塗布した。クロマト板は、ethyl acetate/methanol/H₂O (6 : 4 : 3, v/v) の混合溶媒にて展開し

た後、CTRX に相当する部分 (Rf 値 0.74) を紫外線ランプで確認し、その部分の silicagel を削りとった。この Rf 値付近には CTRX 以外に UV 吸収および放射活性を示す化合物は血漿試料中には認められなかった。Silicagel 上の CTRX は 3 ml の methanol を用いて抽出し、そのうちの一部 (2 ml) を用いて ¹⁴C-CTRX の放射活性を液体シンチレーションカウンターにより測定した。総 CTRX 量は残りの抽出液 1 ml を用いて、本薬物の最大吸収波長 (274 nm) における吸光度測定により求めた。総 CTRX のほとんど (>98.5%) は、加えた担体によるものであるから、吸光度測定による定量の結果から精製操作後の回収率を求め、血漿中 ¹⁴C-CTRX の放射活性はこの回収率により補正した。さらに用いた ¹⁴C-CTRX の比放射活性から CTRX 濃度を算出した。

5. 胆汁中排泄

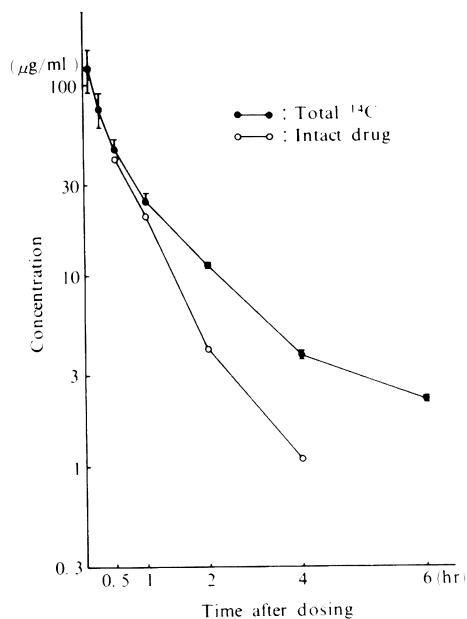
胆汁中排泄実験では、ラットに ether 麻酔下胆管カニューレーションを施し、術後の覚醒を待って、¹⁴C-CTRX を静脈内投与した。投与後 0 ~ 30 分, 30 分 ~ 1 時間, 1 ~ 2, 2 ~ 4, 4 ~ 6, 6 ~ 8, 8 ~ 24, 24 ~ 48 時間に胆汁を、また 0 ~ 4, 4 ~ 8, 8 ~ 24, 24 ~ 48 時間に尿をそれぞれ toluene 存在下採取し測定用試料とした。なお各測定時点で得た試料のうち、胆汁は 10 μl (8 ~ 24, 24 ~ 48 時間は 20 μl) を、尿については 50 μl を直接放射活性測定用バイアルに取り、10 ml の Bray シンチレーターを加えて液体シンチレーションカウンターで総放射活性を測定した。

さらに胆汁の一部を用いて胆汁中未変化 CTRX の定量を行った。すなわち胆汁試料 (5 ~ 50 μl) に担体として 200 μg (0.1% methanol 溶液) の非放射性 CTRX を加えた後、直接薄層クロマト板に塗布し、ethyl acetate/methanol/H₂O (6 : 4 : 3, v/v) の混合溶媒にて展開し、血中未変化体濃度測定法に従って定量を行った。本実験では、胆汁に由来する定量阻害物質の存在は認められなかった。

6. 組織中総放射活性濃度の測定

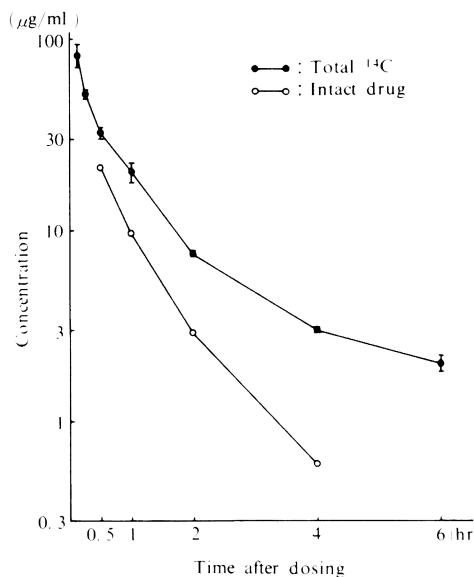
雌雄ラットに ¹⁴C-CTRX を静脈内投与し、投与後 30 分, 2, 6, 24 時間 (雌については 30 分, 24 時間の 2 時点のみ) に ether 麻酔下心臓採血により脱血致死させ、各主要臓器、組織を摘出し、生理食塩液で洗浄した後秤量を行った。また各時点までの尿および糞を回収した。摘出臓器のうち、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、精巣および子宮については、約 3 倍量の水でホモジナイズした後ホモジネート 100 ~ 200 μl を、下垂体および甲状腺については 2 ~ 3 匹分を合わせて、副腎、卵巢は 1 匹分を、胸腺、脾臓、睪臓、筋肉および脂肪はその一部 (30 ~ 100 mg) を、それぞれ直接放射活性測定用バイアルに取り、Solu-

Fig. 3 Blood level profiles of total ^{14}C and intact drug in male rats after a single i.v. administration of ^{14}C -CTRX, 20mg/kg



Each point for intact drug represents a value determined in a pooled plasma sample from 5 rats, while the symbol for total ^{14}C represents the average of 5 rats, the vertical line indicating S.E.

Fig. 4 Blood level profiles of total ^{14}C and intact drug in female rats after a single i.v. administration of ^{14}C -CTRX, 20mg/kg



Each point for intact drug represents a value determined in a pooled plasma sample from 5 rats, while the symbol for total ^{14}C represents the average of 5 rats, the vertical line indicating S.E.

ene 350を200 μl 加えて溶解した。溶解後10mlのBrayシンチレーターを加え、化学発光の消失を待って液体シンチレーションカウンターで測定した。胃、腸（共に内容物を含む）および糞は、約8倍量の水でホモジナイズした後ホモジネート100~200 μl を、眼球は左右いずれか一方を、脊髄および上記臓器を取り除いた屍体ミンチはその一部（30~100mg）を、サンフルオキシタイサー（Packard Model 306）で燃焼し、生じた $^{14}\text{CO}_2$ の放射活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。総放射活性濃度は、用いた ^{14}C -CTRXの比放射活性より μg CTRX 当量/g組織に換算して示した。尿および血中総放射活性濃度は、4、および5、の項に記した方法に準じて測定した。

また、投与後30分、2、6、24時間（雌では30分のみ）の主要臓器（肺、肝臓、腎臓）について未変化CTRX量を定量した。すなわち、各臓器ホモジネート（100あるいは200 μl ）に担体として200 μg （0.4%水溶液、50 μl ）の非放射性CTRXを加えた後、血中未変化体濃度測定法に従って定量を行った。本実験では、各臓器に由来する定

量阻害物質の存在は認められなかった。

7. 全身 ARG

雄のラットに ^{14}C -CTRXを静脈内投与し、所定の時点（投与後1、24時間、8、20日）にchloroform麻醉下ドライアイス-ヘキサン中で急速凍結した。凍結した動物は2%カルボキシメチルセルロースで包埋し、クリオスタットにて20 μm の切片とした。各切片は凍結乾燥後3日間Agfa Gevaert Structurix D-10X線フィルムと密着させ、切片上の放射能を感光させた。放射活性分布は、得られたオートラジオグラムの各主要臓器組織の黒化度から半定量的に推定した。

II. 実験結果

1. 静脈内投与後の血中濃度推移

^{14}C -CTRXを20mg/kgあて静脈内投与した後の血中総放射活性濃度（ μg CTRX 当量/ml血液）および未変化体濃度の経時変化をFig. 3（雄）、Fig. 4（雌）に示した。

今回の実験では、総放射活性濃度の測定は全血を用い

て行ったが、未変化体の定量に関しては血球由来の定量妨害物質が TLC 上に認められたため、血漿を測定用試料として行った。

両実験値の比較は、血漿中未変化体濃度を以下の式に従って血中濃度に換算して行った。すなわち、 ^{14}C -CTRX をラット血液（最終濃度 $5 \sim 100 \mu\text{g/ml}$ ）に加えて血漿および血球成分画中の放射活性を測定したところ、加えた ^{14}C -CTRX 濃度にかかわらずその分配比はほぼ 85 : 15 と一定であった。一方、全血液量に対する血漿の体積の比率 (K) をそれぞれの時点のヘマトクリット値 (ラット 5 匹の平均値) より求めた。この結果に基づき、全血中未変化体濃度を次の式により計算した。

全血中未変化体濃度 =

$$K \div 0.85 \times \text{血漿中未変化体濃度}$$

血中総放射活性濃度は、雄において投与後 5 分で $123 \mu\text{g/ml}$ の高い値を示し、その後 4 時間 ($3.9 \mu\text{g/ml}$) までは比較的速やかに血中より消失した。投与後 6 時間には $2.3 \mu\text{g/ml}$ であった。血中総放射活性に対して未変化 CTRX の占める割合は、投与後 30 分、1、2、および 4 時間においてそれぞれ 88、84、38 および 28% であり、時間とともに減少していた (Fig. 3)。

雌についても血中総放射活性濃度は、投与後 5 分 ($82.6 \mu\text{g/ml}$) から 4 時間 ($3.0 \mu\text{g/ml}$) まで速やかに減少した。血中総放射活性に対して未変化 CTRX の占める割合は、投与後 30 分、1、2 および 4 時間においてそれぞれ 67、49、39 および 18% であった (Fig. 4)。

投与後 5 分から 6 時間までの総放射活性の血中濃度対時間曲線下面積 (AUC) は、雄で $89.6 \mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ 、雌で $64.4 \mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ と雌において低い値が認められた。

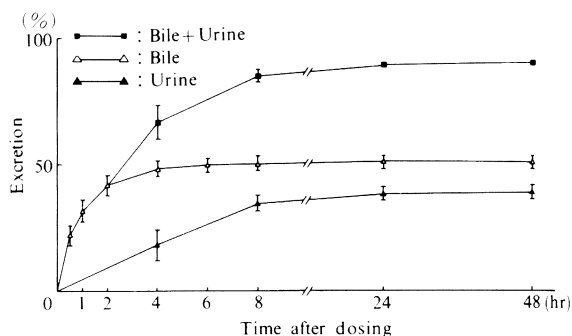
血中未変化 CTRX 濃度は、雌雄とも 30 分から 4 時間まではほぼ単一指数関数的減少を示した。未変化 CTRX 濃度は、各測定時点で雄で雌よりも若干高い値が認められた。その結果、投与後 30 分から 4 時間までの未変化 CTRX 濃度の AUC は、雄で $33.2 \mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ 、雌で $17.7 \mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ と雄に高い値が認められた。

2. 尿および胆汁中排泄

胆管カニキュレーションを施した雄ラットに ^{14}C -CTRX を静脈内投与 (20mg/kg) し、投与後 48 時間までに尿および胆汁中に排泄された総放射活性の累積排泄率を Fig. 5 に示した。

^{14}C -CTRX 投与後 8 時間までに胆汁中に排泄された総放射活性は、投与量の 50.6% に達し、このうちの約半分は 1 時間以内に排泄された。8 時間以降 48 時間までに胆汁中に排泄された総放射活性は、投与量の 1% 未満であった。一方、投与後 0 ~ 8 時間までのこれらラットの尿中累積総放射活性は、投与量の 34.7% に達し、その後

Fig. 5 Cumulative biliary and urinary excretion of ^{14}C -radioactivity in rats ($n=3$) after a single i.v. injection of ^{14}C -CTRX at a dose of 20mg/kg



Each point represents the average of 3 rats, the vertical line indicating S.E.

48 時間までに約 5% が排泄された。以上の結果から、 ^{14}C -CTRX 投与後 8 時間以内に投与薬物の大部分 (85% 以上) が尿および胆汁中に排泄されていることが判明した。

^{14}C -CTRX 投与後 0 ~ 8 時間の胆汁中、および 0 ~ 24 時間の尿中に排泄された総放射活性の約 90% は未変化 CTRX に由来していた。

3. 組織内分布

^{14}C -CTRX を 20mg/kg あて雌雄ラットに単回静脈内投与し、投与後 30 分、2、6、24 時間 (雌に関しては 30 分、24 時間のみ) における各臓器・組織中の総放射活性濃度を測定し、結果を組織 1 g (ml) あたりの μgCTRX 当量に換算して Table 1 に示した。

^{14}C -CTRX 投与後 30 分の雄ラット組織中総放射活性濃度は腸 (内容物を含む) で最も高く、次いで腎臓、血液であり、その値はそれぞれ $96 \mu\text{g/g}$ 、 $48 \mu\text{g/g}$ 、および $37 \mu\text{g/ml}$ であった。肺、肝臓、屍体ミンチに比較的高い濃度が認められたが、その他の臓器・組織では血液の 1/4 以下の濃度であった。30 分以降の組織中総放射活性濃度推移に関しても、常に腸が測定臓器中最も高く、投与後 6 時間に最高値 ($134 \mu\text{g/g}$) を示した。腸に次いで腎臓に高い濃度が各測定時点を通じて観察された。その他の臓器では、投与後 24 時間の肺に血液と同等の総放射活性濃度が認められた以外、血中のそれより低値であり、いずれも時間と共に減少していた。すなわち、投与後 24 時間には、腸、胃 (ともに内容物を含む)、腎臓を除く各臓器・組織における濃度は 30 分値の 1/10 以下であった。雌についても雄と同様、投与後 30 分では腸 (内容物を含む)、腎臓

Table 1 Tissue levels of total ¹⁴C determined at various times after a single intravenous injection of ¹⁴C-CTR_X to rats at a dose of 20 mg/kg

		$\mu\text{g eq./g (ml)}$					
Sex		Male				Female	
Organ	Time after dosing	30th min	2nd hr	6th hr	24th hr	30th min	24th hr
Blood		37.2 ± 1.3	11.1 ± 0.3	3.35 ± 0.18	1.08 ± 0.08	39.5 ± 1.7	1.38 ± 0.05
Brain		0.64 ± 0.05	0.20 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.60 ± 0.05	0.06 ± 0.01
Pituitary gland		5.06	1.12	0.60	0.32	7.15	0.31
Adrenal		5.41 ± 0.37	2.07 ± 0.14	0.95 ± 0.11	0.52 ± 0.05	5.72 ± 0.30	0.51 ± 0.05
Thyroid		6.57	2.26	0.83	0.63	8.74	0.79
Thymus		3.37 ± 0.20	1.33 ± 0.08	0.60 ± 0.02	0.30 ± 0.02	4.31 ± 0.43	0.38 ± 0.02
Heart		9.13 ± 0.40	1.68 ± 0.16	0.98 ± 0.03	0.39 ± 0.01	9.63 ± 0.48	0.63 ± 0.03
Lung		16.5 ± 1.2	6.38 ± 0.97	2.16 ± 0.08	1.28 ± 0.25	17.3 ± 0.5	1.44 ± 0.14
Liver		15.6 ± 0.9	5.03 ± 0.27	1.40 ± 0.08	0.77 ± 0.05	19.0 ± 0.5	0.78 ± 0.05
Spleen		4.04 ± 0.39	1.56 ± 0.07	0.90 ± 0.06	0.45 ± 0.06	5.06 ± 0.14	0.52 ± 0.04
Pancreas		6.11 ± 1.16	1.93 ± 0.12	0.80 ± 0.06	0.40 ± 0.04	8.39 ± 0.21	0.55 ± 0.03
Eye ball		2.16 ± 0.36	0.95 ± 0.09	0.37 ± 0.06	0.15 ± 0.02	2.65 ± 0.16	0.15 ± 0.02
Kidney		48.4 ± 1.6	17.7 ± 0.8	15.0 ± 0.3	10.2 ± 0.8	42.2 ± 2.6	9.59 ± 0.34
Stomach		3.28 ± 0.36	2.49 ± 0.39	0.86 ± 0.13	0.69 ± 0.04	5.06 ± 1.36	1.77 ± 1.28
Intestine		96.1 ± 4.3	119.4 ± 5.3	133.8 ± 4.7	71.9 ± 17.3	81.3 ± 5.8	55.7 ± 10.6
Testis		6.97 ± 0.31	3.92 ± 0.26	0.83 ± 0.08	0.38 ± 0.02	—	—
Ovary		—	—	—	—	12.9 ± 0.9	0.81 ± 0.09
Uterus		—	—	—	—	18.2 ± 0.3	1.03 ± 0.08
Spinal cord		0.97 ± 0.42	0.56 ± 0.17	0.26 ± 0.02	0.10 ± 0.02	2.54 ± 0.52	0.18 ± 0.04
Muscle		4.00 ± 0.33	1.31 ± 0.09	0.32 ± 0.02	0.16 ± 0.01	4.64 ± 0.86	0.24 ± 0.03
Fat pad		3.29 ± 1.35	0.71 ± 0.08	0.31 ± 0.03	0.15 ± 0.01	3.41 ± 0.39	0.19 ± 0.02
Carcass		10.3 ± 0.7	2.29 ± 0.21	0.96 ± 0.04	0.51 ± 0.04	10.3 ± 0.2	0.62 ± 0.05

Each value represents the average of five rats ± S.E.

および血液に高い総放射活性濃度が、次いで肝臓、肺、子宮、卵巣、屍体ミンチの順に高い濃度が認められた。投与24時間後の臓器・組織中総放射活性濃度も雄とほぼ同様の値であった。

Table 2に、各臓器・組織中総放射活性の投与量に対する割合を百分率で示した。投与後30分の雄ラットにおける総放射活性分布は主として各臓器を除いた屍体に高く(38%)、次いで腸(32%)ならびに血液(18%、体重の1/13として計算)に、さらに肝臓、腎臓の順に高い分布が認められた。その他の臓器・組織ではいずれも投与量の1%以下であった。投与2時間後および6時間後の雄の体内分布では、最高総放射活性は腸に認められ(それぞれ39および50%)、次いで屍体(9~3%)および血液に高い放射活性が分布していた。その他の臓器・組織

では、肝臓、腎臓に1%弱の放射活性が認められた以外、多くの組織で0.2~0.1%以下に減少していた。投与後24時間目には、尿糞中から投与総放射活性の76%が回収され、体内残存放射活性としては腸(21%)に最も高く、次いで屍体、血液、腎臓に認められたのみであった。雌ラットについても、雄と同様の分布傾向が観察された。

高い総放射活性濃度の認められた主要臓器(肺、肝臓、腎臓)については未変化CTR_Xの定量を行った(Table 3)。その結果、薬物投与後30分の雄の肺、肝臓、腎臓ではそれぞれ12、10、27μg/gの未変化体が認められ、これら未変化体が総放射活性に占める割合は55(腎臓)~75%(肺)であった。雌の30分値も雄とほぼ同様であり、著しい雌雄差は認められなかった。臓器中未変化体濃度は、時間と共に減少し24時間後には0.2(肝臓)~1.2

Table 2 Percent distribution of total ¹⁴C in tissues after a single intravenous injection of ¹⁴C-CTRX to rats at a dose of 20 mg/kg

		Percent of dose					
Sex		Male				Female	
Time after dosing		30th min	2nd hr	6th hr	24th hr	30th min	24th hr
Organ							
In the body	Blood	18.3 ± 0.6	5.54 ± 0.11	1.67 ± 0.09	0.53 ± 0.04	19.8 ± 1.0	0.69 ± 0.02
	Brain	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	Pituitary gland	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Adrenal	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	Thyroid	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Thymus	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.01 ± 0.00
	Heart	0.18 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.19 ± 0.02	0.01 ± 0.00
	Lung	0.54 ± 0.08	0.20 ± 0.02	0.05 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.51 ± 0.02	0.04 ± 0.00
	Liver	3.42 ± 0.21	0.97 ± 0.05	0.31 ± 0.01	0.14 ± 0.01	4.31 ± 0.21	0.16 ± 0.01
	Spleen	0.06 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.01 ± 0.00
	Pancreas	0.11 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.18 ± 0.01	0.01 ± 0.00
	Eye ball	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	Kidney	2.11 ± 0.07	0.77 ± 0.02	0.66 ± 0.01	0.44 ± 0.02	1.96 ± 0.11	0.45 ± 0.01
	Stomach	0.28 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.41 ± 0.08	0.18 ± 0.14
	Intestine	32.3 ± 1.3	38.7 ± 1.7	49.9 ± 1.6	20.5 ± 2.2	27.6 ± 1.5	22.9 ± 4.6
	Testis	0.32 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00	—	—
	Ovary	—	—	—	—	0.03 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	Uterus	—	—	—	—	0.18 ± 0.01	0.01 ± 0.00
	Carcass	37.8 ± 2.5	8.70 ± 0.75	3.43 ± 0.15	1.86 ± 0.16	35.9 ± 1.4	2.17 ± 0.17
Total		95.5 ± 2.4	55.3 ± 2.1	56.2 ± 1.7	23.5 ± 2.3	91.3 ± 2.5	26.7 ± 4.7
Excreted	Urine	1.98 ± 1.78	41.7 ± 2.0	44.3 ± 1.8	46.7 ± 4.1	9.43 ± 0.58	41.0 ± 2.9
	Feces	—	0.00 ± 0.00	0.20 ± 0.12	29.4 ± 4.6	0.10 ± 0.03	31.4 ± 4.6
Total		97.5 ± 1.2	97.0 ± 1.1	100.6 ± 0.7	99.7 ± 2.3	100.8 ± 2.1	99.0 ± 2.2

Each value represents the average of five rats ± S.E.

Table 3 Tissue levels of intact drug determined at various times after a single intravenous injection of ¹⁴C-CTRX to rats at a dose of 20 mg/kg

		μg/g				
Sex		Male				Female
Time after dosing		30th min	2nd hr	6th hr	24th hr	30th min
Organ						
	Lung	11.5 (75.0)	2.43 (76.9)	N.M.	0.51 (42.0)	13.4 (75.3)
	Liver	10.3 (59.1)	3.18 (78.4)	N.M.	0.15 (21.8)	10.4 (59.3)
	Kidney	26.6 (54.9)	5.02 (29.5)	3.70 (25.5)	1.23 (13.3)	27.5 (56.4)

Each value represents the average of duplicate measurement
Figures in parentheses represent the percentage of intact drug
N.M. : not measured

Fig. 6 Distribution of ¹⁴C-CTR_X 1 hr after a single intravenous dose of 20 mg/kg to Piebald male rats (3 days exposure)

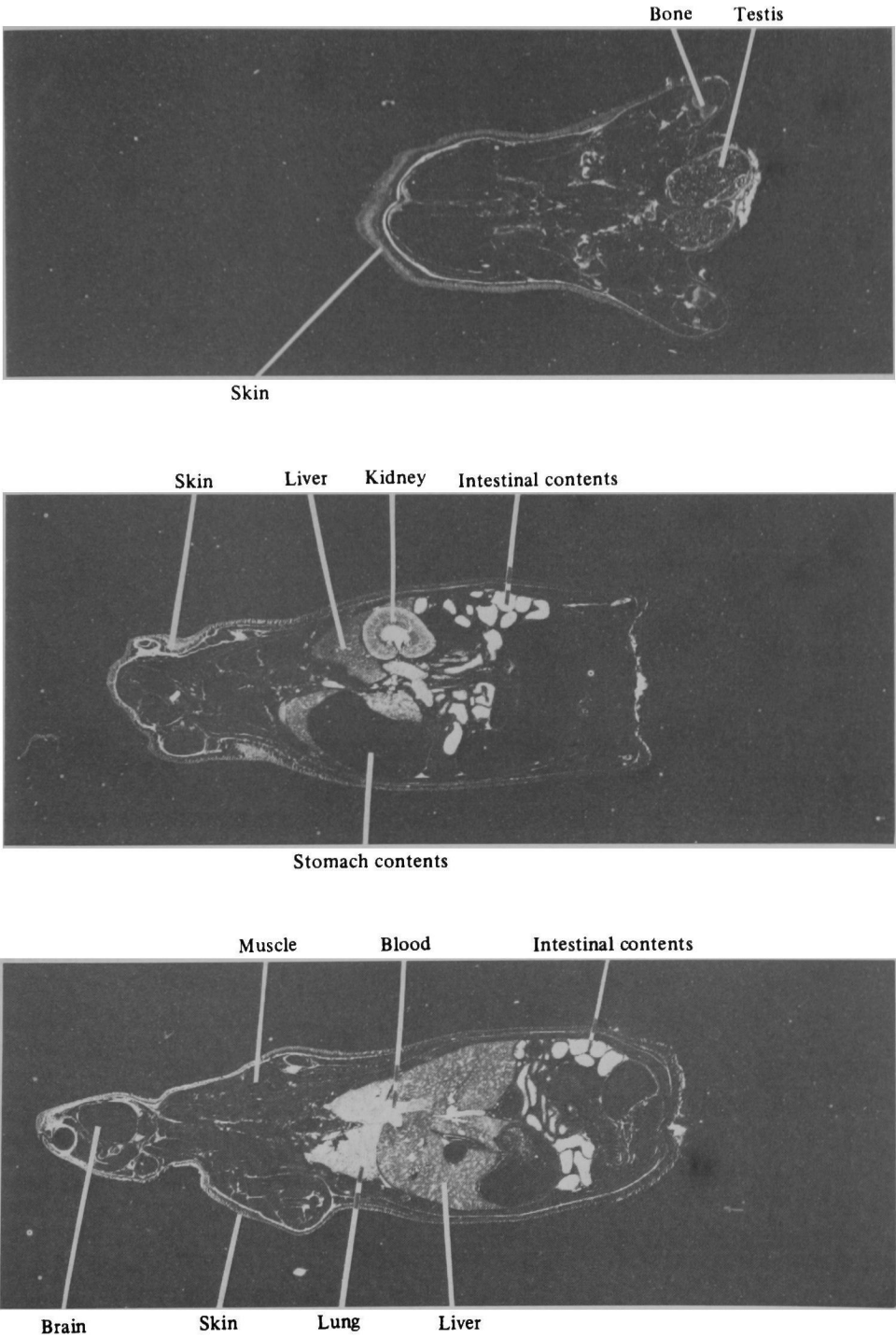
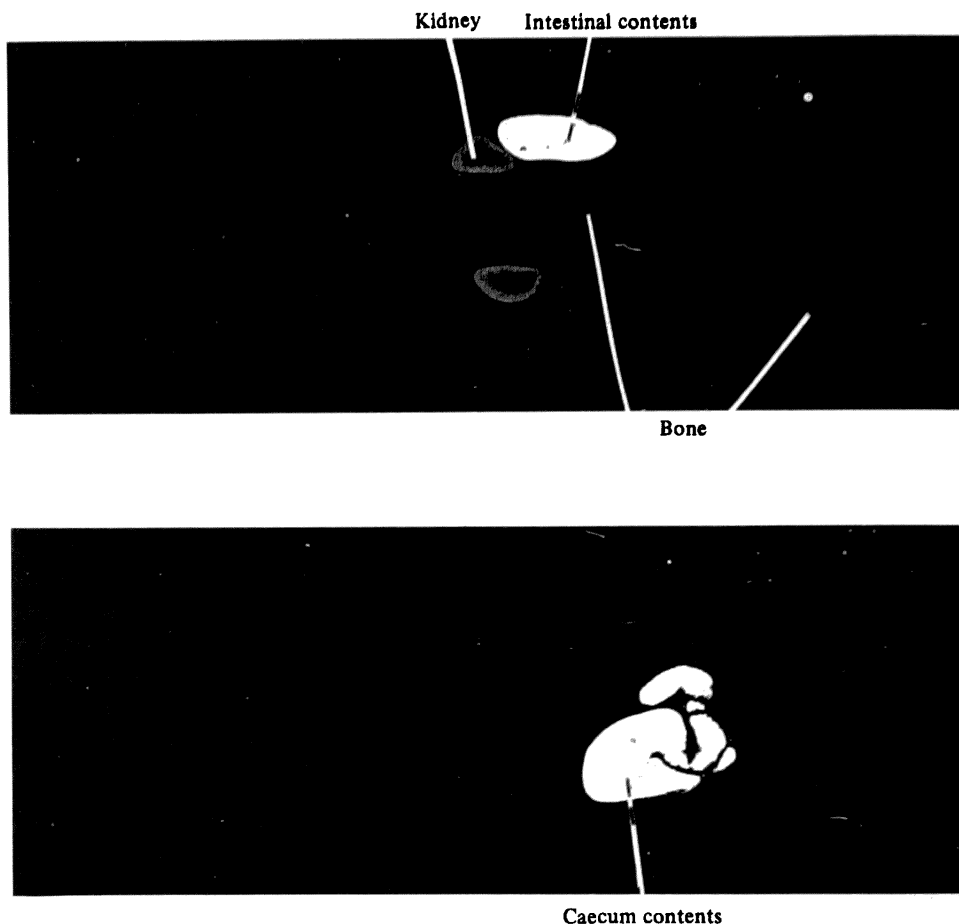


Fig. 7 Distribution of ^{14}C -CTRX 24 hr after a single intravenous dose of 20 mg/kg to Piebald male rats (3 days exposure)



$\mu\text{g/g}$ (腎臓) となった。

4. 全身オートラジオグラフィー (ARG)

^{14}C -CTRX を雄ラットに 20mg/kg あて静脈内投与し、1, 24時間, 8 日および 20 日後にオートラジオグラムを作成しそれぞれ Fig. 6~9 に示した。投与後 1 時間 (Fig. 6) では小腸内容物, 肺ならびに腎髄質に極めて高い, 次いで肝臓, 皮膚, 腎皮質, 眼球周囲の組織に高い放射活性分布が認められた。心臓, 甲状腺, 鼻腔ならびに唾液腺にはわずかな放射活性が認められた。筋肉層では放射活性の局在が観察されたが, これは血管内血液由来のものと考えられる。水晶体, 骨組織, 胃内容物における活性は非常に低く, 脳, 脊髄および脂肪組織ではほとんど放射活性は見られなかった。この時点では, 盲腸および大腸 (いずれも内容物を含む) には放射活性は

観察されなかった。投与後 24 時間 (Fig. 7) では, 盲腸, 次いで腎皮質に高い放射活性が認められた。その他, 小腸内容物, 皮膚および骨組織にわずかな活性が認められた以外は, すべての臓器において放射活性はほぼ消失していた。これらの結果は体内分布実験の結果とも一致している。投与後 8 日および 20 日 (Fig. 8, 9) では腎皮質にのみ放射活性がわずかに検出されたが, 20 日後における活性は 8 日後のそれよりもさらに減少していた。

III. 考 察

今回の実験では, ^{14}C -CTRX 投与後 30 分より 4 時間まで, 血中未変化 CTRX 濃度はほぼ単一指数関数的な減少を示し, その際の半減期は雌雄ラットで 40.5~40.6 分と算出された。ヒト¹⁻³⁾およびイヌ⁴⁾では, CTRX 投与後

Fig. 8 Distribution of ^{14}C -CTRX 8 days after a single intravenous dose of 20 mg/kg to Piebald made rats (3 days exposure)

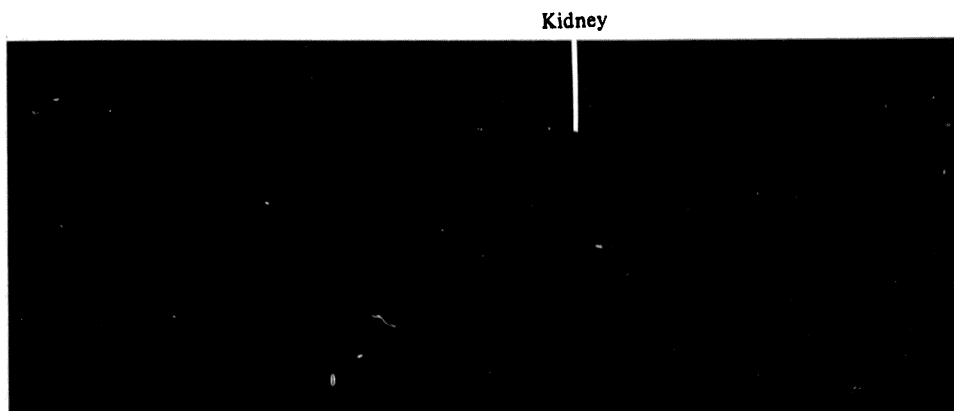
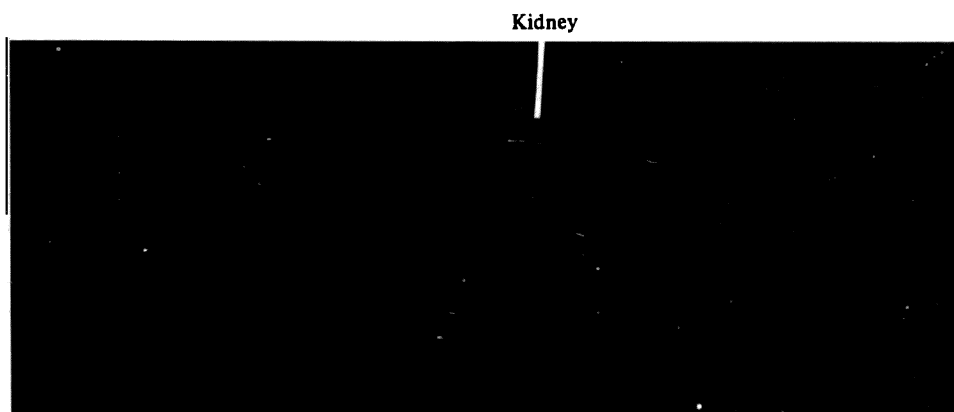


Fig. 9 Distribution of ^{14}C -CTRX 20 days after a single intravenous dose of 20 mg/kg to Piebald male rats (3 days exposure)



の血中未変化体濃度は2相性の減少を示すことが報告されているが、今回のラットの実験では、血中未変化体濃度がヒトおよびイヌと同様2相性の減少を示すか否かについては明らかにすることはできなかった。しかし、以下の事実より、ラットにおいても血中未変化体は2相性の減少をするものと推定される。すなわち上記減少曲線より算出された血中未変化体濃度の半減期は、イヌの $t_{1/2\alpha}$ (約9分) よりは著しく長く、むしろ $t_{1/2\beta}$ (約49分) に近似していること、さらに投与零時における薬物が全て血中に滞まったと仮定した場合、本薬物の血中濃度は、全血液量を体重の7.7% (15.4ml/200g 体重) として、約260 $\mu\text{g/ml}$ と算出されるのに対し、今回観察された減少曲線を零時に外挿して得られる血中濃度は約120

$\mu\text{g/ml}$ とかなり低いという点である。さらに、ラットに非放射性 CTRX を静脈内投与し、血漿中未変化体濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定したところ、未変化体濃度は投与後5分より4時間までほぼ単一指数関数的に減少し、その際の半減期は36分であった。この場合にも投与後5分以前に分布相 (α 相) が存在すると考えられた(追補参照)。以上、ラットにおいても、ヒトおよびイヌと同様血中 CTRX は2相性の減少を示す可能性が高いものと考えられる。

CTRX のヒトにおける $t_{1/2\beta}$ は6~8時間で、他のセファロsporin系薬物である ceftizoxime ($t_{1/2\beta}=1.5$ 時間)⁵⁾, cefoperazone ($t_{1/2\beta}=1.5$ 時間)⁶⁾, あるいは cefotaxime ($t_{1/2\beta}=0.8$ 時間)⁷⁾ の $t_{1/2\beta}$ に比べ著しく長いことが知

られている。今回の結果より、CTRX はラットにおいても上記セファロスポリン系薬物、すなわち ceftizoxime ($t_{1/2\beta}=20$ 分)⁸⁾、cefoperazone ($t_{1/2\beta}=13$ 分)⁹⁾、あるいは cefotaxime ($t_{1/2\beta}=9$ 分)¹⁰⁾ よりは長い血中半減期を有することが明らかとなった。

本薬物の体内分布に関しては、全身 ARG および組織中総放射活性測定法により検討を加えた。その結果、血液以外に代謝、排泄に関与している臓器（腎臓、肝臓、腸）あるいは血管系に富む臓器（肺）に高い放射活性が認められた。腸（内容物を含む）における高い放射活性が本薬物の強い腸管内排泄によるものであることは、放射活性の胆汁中累積排泄率が投与後24時間までに投与量の50%に達していることとも符合している。

IV. 追 補

今回、¹⁴C-CTRX を用いた実験では、血中未変化体濃度の測定時点が少なかった（特に投与初期において）ため、未変化 CTRX の血中動態を十分に把握することはできなかった。この¹⁴C-CTRX の実験を補足する目的で、我々は非放射性 CTRX を用いて追加実験を行ったので以下にその概要を記す。

実験には、7 週齢の S.D.系雄性ラット 3 匹（体重 236~238g）を使用した。生理食塩液に溶解（20mg/ml）した CTRX を 20mg/kg あて単回静脈内投与し、投与後 5、10、20、30分、1、2、3、4 および 6 時間にヘパリン処理したヘマトクリット管を用いて約 150 μ l の血液を採取した。血液を遠心分離（11,000rpm、5 分）し血漿（約 80 μ l）を分取した。血漿中 CTRX 濃度は以下の手順で HPLC により測定した。血漿 50 μ l に内部標準として cephalothin 5 μ g を含む水 100 μ l を加えて攪拌した。これに acetonitrile 400 μ l を加えて攪拌後遠心分離（3,000 rpm、10 分）にて除タンパクし、その上清を HPLC 用試料とした。HPLC の条件は下記の通りである。カラムは Richrosorb RP-18 (4 $\times$ 250mm, 5 μ m) を使用し、移動相には acetonitrile/H₂O (60:40, v/v, セチルトリメチルアンモニウムフロミド 4 g/l, Titrisol[®] (Merck), pH 7.0 50ml/l を含有) を使用した。移動相の流速は 1 ml/分とし、CTRX は 274nm の UV 吸収により検出した。本定量法による CTRX の検出感度は 0.5 μ g/ml 血漿であった。

血漿中 CTRX 濃度は、投与後 5 分で 79.6 μ g/ml となり、その後はほぼ単一指数関数的に減少し、投与後 30 分で 44.3 μ g/ml、投与後 4 時間には 0.94 μ g/ml にまで低下した。投与後 6 時間には、血漿中 CTRX 濃度は検出限界以

下となった。投与後 5 分より 4 時間までの半減期は 36.0 分と算出された。

この実験においても、投与零時における薬物が全て血中に滞まったと仮定した場合、血漿中 CTRX 濃度は約 420 μ g/ml と算出されるのに対し、今回観察された減少曲線を投与零時に外挿して得られる血漿中濃度は約 80 μ g/ml とかなり低いことから、投与後 5 分程度で分布相 (α 相) が終了していると考えられる。

文 献

- 1) SEDDON, M.; R. WISE, A. P. GILLET & R. LIVINGSTON: Pharmacokinetics of Ro 13-9904, a broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 18: 240~242, 1980
- 2) PATEL, I. H.; S. CHEN, M. PARSONNET, M. R. HACKMAN, M. A. BROOKS, J. KONIKOFF & S. A. KAPLAN: Pharmacokinetics of ceftriaxone in humans. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 20: 634~641, 1981
- 3) STOECKEL, K.; P. J. MCNAMARA, R. BRANDT, H. PLOZZA-NOTTEBROCK & W. H. ZIEGLER: The effects of concentration-dependent plasma protein binding on the pharmacokinetics of ceftriaxone (Ro 13-9904), a new parenteral cephalosporin. *Clin. Pharmacol. Ther.* 29: 650~657, 1981
- 4) HEINTZ, R.; H. NOTTEBROCK, K. STÖCKEL & R. BRANDT: personal communication, 1979
- 5) 山作房之輔、鈴木康稔、武田 元、関根 理、薄田芳丸: Ceftizoxime (CZX) の薬動学的研究、健康者ならびに腎機能障害者について。Chemotherapy 28 (S-5): 338, 1980
- 6) 清水喜八郎、熊田徹平、小出桂三: Cefoperazone (T-1551) の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 28 (S-6): 390, 1980
- 7) 真下啓明、国井乙彦、深谷一太、大和邦雄、里見信子、笠井一弘、重柄幹夫: Cefotaxime に関する基礎的臨床的検討。Chemotherapy 28 (S-1): 194, 1980
- 8) 村川武雄、坂本 博、深田志計美、中本昭治、広瀬俊治、伊藤位一、西田 実: Ceftizoxime (CZX) の実験動物における体内動態について。Chemotherapy 28 (S-5): 111~118, 1980
- 9) 才川 勇、保田 隆、渡辺泰雄、滝 秀雄、松原信之、林 敏雄、松永清美、高田理恵子: Cefoperazone (T-1551) の吸収・分布および排泄について。Chemotherapy 28 (S-6): 163~172, 1980
- 10) 荒谷春恵、建石英樹、祢宜田純子、山中康光: Cefotaxime の体内動態に関する研究。Chemotherapy 28 (S-1): 65~72, 1980

DISPOSITION OF CEFTRIAXONE (Ro 13-9904) IN RATS (I)

— BLOOD LEVEL PROFILES, TISSUE DISTRIBUTION
AND EXCRETION OF ^{14}C -CEFTRIAXONE —

HIDEO FUKAZAWA, HITOSHI TAHARA, SHIGEYASU ICHIHARA,
HIROKI TOMISAWA and MITSURU TATEISHI
Nippon Roche Research Center
R. HEINTZ
F. Hoffmann-La Roche Co., Ltd.

Blood level profile, tissue distribution and excretion of ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904), a new synthetic cephalosporin antibiotic, were examined in rats after a single intravenous injection of ^{14}C -ceftriaxone (^{14}C -CTRX) at a dose of 20 mg/kg.

1. Blood level profile: A blood concentration of ^{14}C -radioactivity was rapidly decreased over the first 4 hr after the i.v. injection (the level at the 4th hr was as low as 1/37 (male rats) $\sim$ 1/28 (female) of the 5-min level), while after the 4th hr, relatively slow decline curve was observed.

The blood level of the intact drug represented a monophasic decline curve with a half time of 40 min between 30 min and 4 hr.

2. Tissue distribution: The highest ^{14}C -radioactivity was observed in intestine (including its contents) and then in kidney and blood at each time point. The ^{14}C -radioactivity in almost all the tissues examined was found to become lower with time, while the ^{14}C in the intestine showed a peak level at the 6th hr postadministration. Elimination of ^{14}C -radioactivity from kidney was somewhat slower when compared with the other tissues: approximately 20% of the 30-min radioactivity retained in this organ even after the 24th hr.

3. Excretion: During the initial 48 hr, nearly 40 and 50% of the dosed ^{14}C were recovered in urine and bile, respectively, the latter was collected through a drainage inserted into the bile duct. About 90% of the radioactivity recovered in the initial 8-hr bile and in the 24-hr urine were associated with the intact drug itself.