

AC-1370の各種動物における体内動態について

村田定三・松沢淑雅・岡野利恵子・平 順子

加藤伸朗・弓狩康三

味の素株式会社中央研究所

大西治夫・小雀浩司・稲場 均

持田製薬株式会社富士中央研究所

要 約

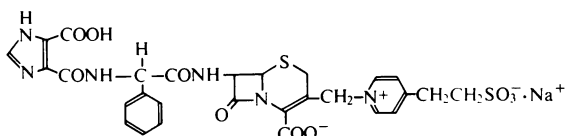
幅広い抗菌スペクトルを有する新しいセファロsporin系抗生物質である AC-1370の体内動態をマウス、ラット、ウサギ、イヌ、サルを用いて検討した。AC-1370を50mg/kg 静脈内投与した時の血漿中濃度は、サルにおいて最も高値を示し、また、持続性となった。イヌにおける血漿中濃度を他剤と比較検討した結果、血漿中半減期は、AC-1370；47分、cefazolin；51分、cefoperazone；42分、cefotaxime；36分であり、本剤は cefazolin とほぼ同等の血漿中濃度および持続性を示した。イヌ、ウサギおよびサルでの AC-1370の尿中排泄率は70～80%であった。また胆汁排泄率は約0.2%と低値を示し、尿排泄主導型の排泄パターンを示した。イヌにおける本剤の血中濃度推移および尿中回収率はフロベネシド併用時にも変化を受けず、腎糸球体濾過が主な排泄経路と考えられた。マウスに AC-1370を静脈内投与した際の臓器分布は腎が最も高く、血漿>肺>心>脾≒肝の順であり、本剤の排泄パターンと関連ある結果であった。血清蛋白との結合率は使用した血清種すべてにおいて他剤より低値を示し、5.7～14.3%であり種差は認められなかった。

緒 言

AC 1370は、味の素株式会社において合成された新しいセファロsporin系注射用抗生物質であり、グラム陽性菌および緑膿菌を含めたグラム陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有する^{1,2)}。本剤の構造式は Fig. 1 に示すとおりである。本剤の抗菌力の特徴として、*in vitro* 抗菌力から予想される以上の良好な生体内抗菌力を示すことが掲げられ、その作用機作として、生体防御因子の活性化³⁾、血清添加による殺菌力の増強等⁴⁾が考えられている。

今回我々は、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サルを用いて AC 1370を非経口投与した際の体内動態を他剤と比較検討したので報告する。

Fig. 1 Chemical structure of AC-1370



I. 実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

AC-1370 (味の素株)、cefoperazone (CPZ、富山化学工業株)、cefazolin (CEZ、藤沢薬品工業株)、cefotaxime (CTX、ヘキストジャパン株)、cefmetazole (CMZ、三共株)、フロベネシド (科研化学株) をおのおの使用した。

2. 実験動物

次に示す実験動物を使用した。

マウス；ICR 系、雄、6～7 週齢、体重25～35g

ラット；SD 系、雄、6～7 週齢、体重150～250g

ウサギ；白色家兎、雄、体重3.0～3.5kg

イヌ；ビーグル犬、雄、体重11.0～16.5kg

サル；カニクイサル、雄、体重約4 kg

3. 薬剤の投与方法

投与液はすべて注射用生理食塩液で調製した。マウスには50mg/10ml/kg の割合で尾静脈または背部皮下より投与した。ラットには50mg/5 ml/kg の割合で尾静脈より投与した。ウサギには50mg/ml/kg の割合で耳介静脈より投与した。イヌには50mg/0.5ml/kg の割合で前

肢静脈より投与し、他剤と交差実験を行う場合は、1週間の間隔をおいて行った。プロベネシドとの併用投与の際は、プロベネシドを50mg/kg 経口投与し、40分後にAC-1370を50mg/kg 静脈内投与した。サルには50mg/ml/kg の割合で後肢静脈より投与した。

4. 血液の採取

各動物の血液は、投与一定時間後にヘパリン処理した注射器により採血した。マウスでは心臓より採血し、ラットでは下行大静脈より採血した。イヌおよびウサギではおのおの、耳介静脈および前肢静脈より採血した。サルでは後肢静脈より採血した。採取した血液は氷冷後3,000rpm10分間の遠心分離により血漿を分離し、bioassay に供した。

5. 臓器分布

マウス1群5匹として、投与後一定時間に血液採取により致死させ、その後ただちに心、肺、肝、腎、脾を摘出した。摘出した臓器は生理食塩水で洗浄し、濾紙上で水分を除いた後、秤量して2~3倍量の0.01M phosphate buffered saline (PBS, pH7.4) を加え、氷冷下にhomogenizerにてホモジェナイズした。ホモジェネートを3,000rpm10分間遠心し、上清をbioassay に供した。

6. 尿の採取

ウサギでは、代謝ケージにて採尿を行った。また薬物投与後6時間目に屠殺開腹し膀胱内に貯留した尿も併せて採取した。イヌでは、代謝ケージに入れ、薬物投与後2, 4, 6, 8時間ごとに膀胱内にカテーテルを挿入することによって自然排泄尿ならびにカテーテル尿を採取し、それらを合した。サルでは代謝ケージにて採尿を行い、3頭のプール尿に関し測定した。

7. 胆汁の採取

ウサギはエーテル麻酔下に開腹し、総胆管にカニューレーションを行い、麻酔から覚醒後、薬物投与した。イヌでは十二指腸総胆管開口部近傍に、瘻管形成手術を施し、術後2週間以上回復期間をおいた後に、無麻酔下にイヌを固定し、瘻管より総胆管開口部にカテーテルを挿入し、薬物投与後胆汁を採取した。

8. Bioassay

各試料中の薬剤濃度の測定は、ペーパーディスク法、カップ法またはアガーウェル法を用いた寒天平板拡散法により測定した。AC-1370の検定菌としては *Proteus mirabilis* 4 または *Klebsiella pneumoniae* IFO3317 を、CEZ および CMZ は *Bacillus subtilis* ATCC6633, CPZ および CTX は *Micrococcus luteus* ATCC9341 をおのおのを使用した。血漿中濃度測定のための検量線は、各種動物より採取した血漿を用いて作製し、尿、胆汁、臓器内濃度測定のための検量線は、0.01M PBS を用いて作

製した。

9. 蛋白結合率

ラット、ウサギ、イヌおよび健康成人の新鮮なプール血清に、各薬剤を最終濃度50 μ g/ml (99%血清) になるように添加し、37 $^{\circ}$ C 1時間インキュベーションした。その後、MPS-1 (アミコン社製) を用いて3,000rpm20分間の遠心限外濾過を行い、濾液中の抗生剤濃度 (X) を bioassay 法にて測定した。蛋白結合率は、0.01M PBS について同様の操作を行い得られた濾液中抗生剤濃度 (Y) を測定し、次式により蛋白結合率を算出した。

$$\text{蛋白結合率 (\%)} = \frac{Y-X}{Y} \times 100$$

II. 実験結果

1. AC-1370の血漿中濃度

AC-1370の50mg/kg をマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルに静脈内投与した際の血漿中濃度-時間曲線を Fig. 2 に示した。AC-1370の血漿中持続性は動物種によって異なり、サルが最も長く、ついでウサギ、イヌ、ラット、マウスの順に短くなった。マウスでは投与後2時間で検出限界 (1.4 μ g/ml) 以下となったのに比べ、サル、ウサギ、イヌでは投与6時間後でもおのおの50.0 μ g/ml, 4.0 μ g/ml, 3.1 μ g/ml の血漿中濃度を示した。各動物種における AC-1370の生物学的半減期は、マウス17.0分、ラット23.3分、イヌ47.0分、ウサギ67.2分、サル95.0分であり、マウス、ラットと、イヌ、ウサギ、サル間に著しい持続性の違いが認められた。

2. 他剤との血漿中濃度の比較

1) マウス

マウスに AC-1370, CEZ および CMZ をおのおの50mg/kg 静脈内投与した時の血漿中濃度を Fig. 3 に示した。投与15分後の血漿中濃度は AC-1370が66.1 μ g/ml, CEZ が70.5 μ g/ml, CMZ が33.9 μ g/ml であり、AC-1370 は CEZ とほぼ類似した血中濃度推移を示した。各薬剤の生物学的半減期は、AC-1370が17.0分、CEZ が18.0分、CMZ が12.5分であった。

一方、各薬剤をマウスに背部皮下投与した際の血漿中濃度は、CEZ が最も高値を示し AC-1370, CMZ の順に低くなった。投与15分後の各薬剤の血漿中濃度は、CEZ ; 87.8 μ g/ml, AC-1370 ; 53.3 μ g/ml, CMZ ; 43.6 μ g/ml であり、おのおの生物学的半減期は、21分、18分、15分であった (Fig. 4)。

2) ラット

ラットに AC-1370, CEZ, CTX および CPZ をおのおの50mg/kg 静脈内投与した際の血漿中濃度を Fig. 5 に示した。使用した薬剤の中では、マウスの場合と同様に、

Fig. 2 Plasma concentrations of AC-1370 intravenously administered to mice, rats, rabbits in a dose of 50mg/kg

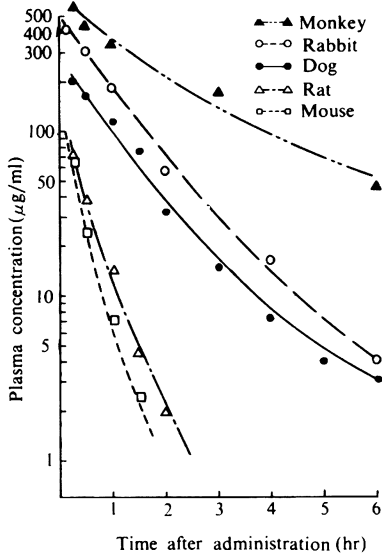


Fig. 3 Plasma concentrations of AC-1370, CEZ and CMZ after intravenous administration of 50mg/kg to mice

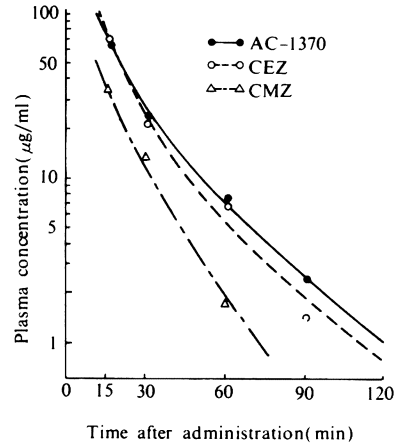


Fig. 4 Plasma concentrations of AC-1370, CEZ and CMZ after subcutaneous administration of 50mg/kg to mice

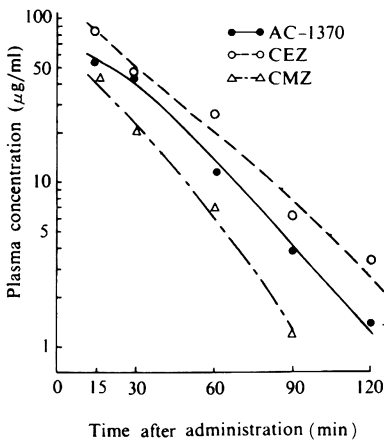
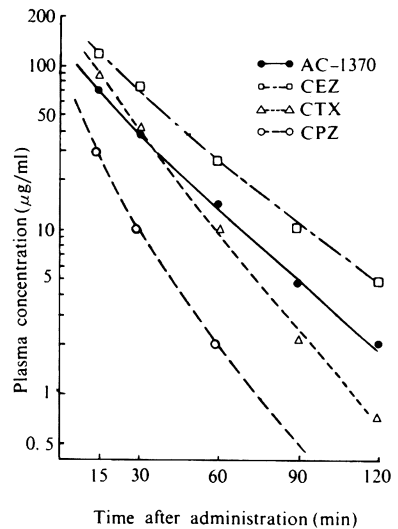


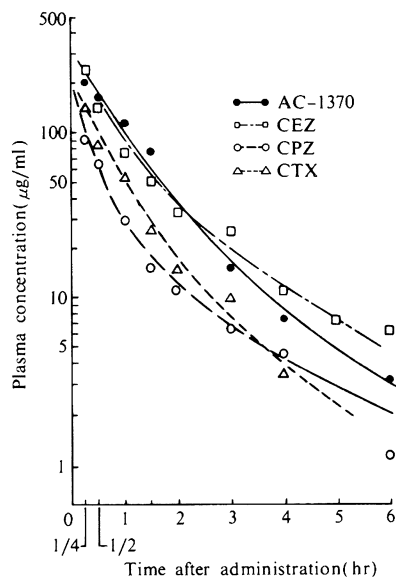
Fig. 5 Plasma concentrations of AC-1370, CEZ, CTX and CPZ after intravenous administration of 50mg/kg to rats



CEZが最も良好な血中濃度推移を示した。CTXは投与15分後の血漿中濃度が、 $86.2\mu\text{g/ml}$ であり、AC-1370の $72.2\mu\text{g/ml}$ に比べて高値を示したが、血中からの消失は速く、投与120分後の血漿中濃度は、CTXが $0.74\mu\text{g/ml}$ 、

AC-1370が $2.0\mu\text{g/ml}$ であった。一方CPZの血漿中濃度は他の3剤に比べて低く、投与90分後には、検出限界($0.78\mu\text{g/ml}$)以下であった。各薬剤の生物学的半減期は、CEZが26.3分、AC-1370が23.3分、CTXが16.8分、

Fig. 6 Plasma concentrations of AC-1370, CEZ, CPZ and CTX after intravenous administration of 50mg/kg to dogs



CPZが13.8分であった。

3) イヌ

Fig. 6にAC-1370, CEZ, CPZおよびCTXをビーグル犬におおの50mg/kg 静脈内投与した結果を示した。AC-1370はCEZとほぼ類似した血中濃度推移を示し、AC-1370およびCEZの血漿中濃度は投与15分後におおの、200.6 μ g/mlおよび239.0 μ g/mlであり、投与4時間後でもおおの7.4 μ g/ml、および11.2 μ g/mlと比較的高値を示した。また生物学的半減期は、AC-1370が47分、CEZが51分と同様な持続性を示した。これに対しCPZおよびCTXは、投与15分後における血漿中濃度が、おおの91.5 μ g/ml、および148.8 μ g/mlと低値を示し、生物学的半減期はCPZが42分、CTXが36分であり、AC-1370, CEZに比べ、持続性の点でもやや劣る成績であった。

3. 尿中ならびに胆汁中排泄

各薬剤を50mg/kg 静脈内投与した際のサル、イヌおよびウサギにおける尿中排泄率をTable 1に、イヌおよびウサギにおける胆汁排泄率をTable 2に示した。

イヌにおけるAC-1370の尿中排泄を他剤と比較検討

Table 1 Urinary excretion of AC-1370, CEZ, CPZ and CTX after intravenous administration of 50 mg/kg to dogs, rabbits and monkeys

Animal	Antibiotic	Number	Fractional recovery (%)				Total (%)
			0 ~ 2 (hr)	2 ~ 4 (hr)	4 ~ 6 (hr)	6 ~ 8 (hr)	
Dog	AC-1370	3	41.9	18.1	7.8	8.2	75.9 \pm 3.7
	CEZ	3	38.0	17.8	5.1	1.1	61.8 \pm 4.3
	CPZ	3	22.0	6.4	1.3	0.5	30.1 \pm 13.2
	CTX	3	35.0	14.0	9.0	0.8	58.7 \pm 13.6
Rabbit	AC-1370	5	72.2			N.T.	72.2 \pm 10.8
Monkey	AC-1370	3	26.9	20.7	9.3	11.4	68.3

N.T. : Not tested

Table 2 Biliary excretion of AC-1370 after intravenous administration of 50 mg/kg to dogs and rabbits

Animal	Number	Fractional recovery (%)				Total (%)
		0 ~ 1 (hr)	1 ~ 2 (hr)	2 ~ 4 (hr)	4 ~ 6 (hr)	
Dog	3	0.10		0.03	0.01	0.15 \pm 0.05
Rabbit	3	0.10	0.05	0.02	N.T.	0.17 \pm 0.05

N.T. : Not tested

した結果、AC-1370の尿中排泄率は0～8時間で75.9%と最も高値を示し、ついでCEZ, CTX, CPZの順に低くなった。特にCPZは0～8時間の尿中排泄率が、30.1%

であり、他の3剤に比べ対照的な結果であった。一方、AC-1370の尿中排泄率は、サルにおいて0～8時間で68.3%、ウサギにおいて0～6時間で72.2%であり、イヌとはほぼ同等の高い値であった。

イヌおよびウサギを用いてAC-1370の胆汁排泄率を検討した結果、Table 2に示すように、イヌで0.15%、ウサギで0.17%と低い成績であり、本剤は尿中排泄型の薬剤であることが示された。

4. 臓器分布

マウスにAC-1370およびCEZの50mg/kgを静脈内投与した際の各臓器への分布をFig. 7およびTable 3に示した。AC-1370は腎への分布が最も多く、ついで血漿>肺>心>脾≒肝の順であった。投与15分後における腎内濃度は、139.2 μ g/gと血漿の約2倍であった。また逆に肝への分布は少なく、投与15分後において、7.1 μ g/gと血漿中濃度の約1/10であった。一方、CEZでは、肝、腎への分布が多く、ついで血漿>肺>心>脾の順であった。両剤の臓器分布は肝、腎において違いが認められたが、肺、心、脾に関しては、ほぼ同等と考えられた。また各臓器からの両剤の消失速度は血漿からの消失速度とほぼ等しかった。

5. プロベネシドの影響

フロベネシド併用時におけるAC-1370の血中濃度推

Fig. 7 Plasma and tissue concentrations of AC-1370 and CEZ intravenously administered to mice in a dose of 50mg/kg

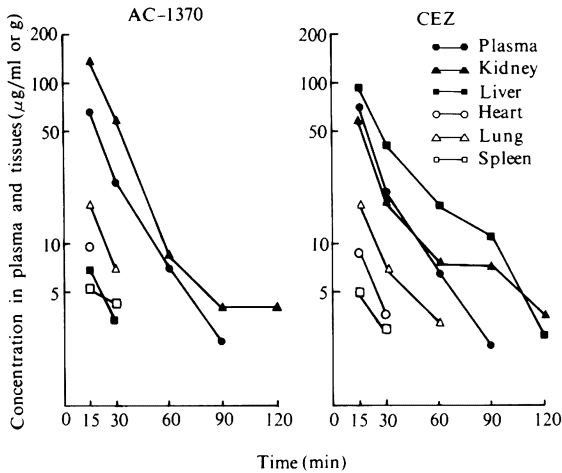


Table 3 Plasma and tissue concentrations of AC-1370 and CEZ after intravenous administration of 50 mg/kg to mice

Tissue	Antibiotic	Concentration (μ g/ml or g)				
		15 (min)	30 (min)	60 (min)	90 (min)	120 (min)
Plasma	AC-1370	66.1 \pm 13.1	24.2 \pm 5.3	7.1 \pm 4.7	2.4 \pm 0.3	N.D.
	CEZ	70.5 \pm 8.2	21.0 \pm 2.8	6.7 \pm 1.0	1.4 \pm 0.4	N.D.
Kidney	AC-1370	139.2 \pm 70.6	58.4 \pm 43.0	8.6 \pm 3.6	4.1 \pm 1.5	4.2 \pm 1.9
	CEZ	58.1 \pm 26.2	18.4 \pm 6.6	7.8 \pm 1.1	7.5 \pm 3.4	2.7 \pm 0.8
Liver	AC-1370	7.1 \pm 1.1	3.4 \pm 0.6	N.D.	N.D.	N.D.
	CEZ	94.8 \pm 30.7	41.2 \pm 6.8	17.5 \pm 8.4	11.1 \pm 5.5	1.8 \pm 0.5
Heart	AC-1370	9.8 \pm 1.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	CEZ	8.9 \pm 2.2	2.7 \pm 0.6	N.D.	N.D.	N.D.
Lung	AC-1370	17.8 \pm 2.8	6.8 \pm 1.0	N.D.	N.D.	N.D.
	CEZ	17.6 \pm 5.8	6.9 \pm 0.8	2.3 \pm 0.2	N.D.	N.D.
Spleen	AC-1370	5.3 \pm 0.7	4.2 \pm 0.5	N.D.	N.D.	N.D.
	CEZ	5.0 \pm 0.7	2.0 \pm 0.4	N.D.	N.D.	N.D.

* : The values indicate the mean of five animals \pm S.D.

N.D. : Not detectable

Fig. 8 Influence of probenecid on plasma concentrations of AC-1370 in dogs

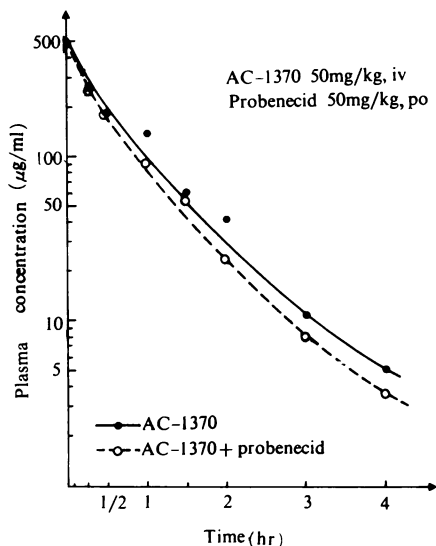


Fig. 9 Influence of probenecid on urinary excretion of AC-1370 in dogs

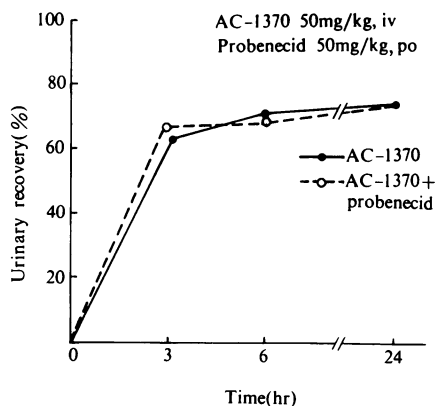


Table 4 Protein binding of AC-1370, CPZ and CEZ

Antibiotic	Protein binding (%)*			
	Human	Dog	Rabbit	Rat
AC-1370	14.3	5.7	8.6	7.1
CEZ	77.9	22.8	89.5	97.0
CPZ	74.1	27.0	72.2	63.5

* : At 99% serum and 50 µg/ml of antibiotics

移および尿中排泄率をイヌを用いクロスオーバー法にて検討した (Fig. 8, 9)。AC-1370の血漿中濃度はフロベネシド投与によりほとんど変化を受けず、AC-1370単独投与時およびフロベネシド併用時のAC-1370の生物学的半減期は、おのおの44分、42分であった。また尿中排泄率に関しても、血漿中濃度と同様にフロベネシド投与の影響は認められず、投与後24時間までの尿中排泄率は、単独投与群が73.5%、プロベネシド併用群が73.3%であった。

6. 血清蛋白結合率

ヒト、イヌ、ウサギ、ラットの血清に対する結合率をAC-1370、CEZ、CPZに関し検討した (Table 4)。AC-1370の蛋白結合率は、使用したいずれの血清に対しても低く、5.7~14.3%であった。イヌ、ウサギ、ラット間で蛋白結合率はほぼ同程度であり、種差は認められなかった。これに比べ、CEZ、CPZではイヌを除く各種血清に対し高い結合率を示し、63.5~97%であった。イヌ血清に対してはCEZが22.8%、CPZが27.0%と他の血清に比べて著しく低値を示し、両剤に関しては蛋白結合率に種差が認められた。

III. 考 察

新しいセファロsporin系薬剤であるAC-1370の体内動態について種々のセファロsporin系薬剤を対照としてbioassay法により比較検討を行った。

AC-1370静脈内投与時における血中濃度を種々の動物

を用い検討した結果、マウス、ラットでは血中濃度が低くまた持続性も劣っていたのに比し、サル、イヌ、ウサギでは血中濃度が高く、かつ持続性となった。各動物種におけるAC-1370の生物学的半減期は、マウス17.0分、ラット23.3分、イヌ47.0分、ウサギ67.2分、サル95.0分であった。ヒトに1g静脈内投与した際のAC-1370の半減期は102分であり⁵⁾、イヌを例外として大動物になるに従ってヒトに類似した血中濃度推移を示した。また、これら動物種による違いは、松井ら⁶⁾のcofpiramideにおける報告と一致するものであった。

他剤と血中濃度を比較検討した結果、AC-1370は、CEZとほぼ同様な血中濃度および持続性を示し、CPZ、CTX、CMZと比べ良好な成績であった。本剤の血清蛋白との結合率は、CEZに比べ検討したすべての種において低く、蛋白結合率からは、本剤のCEZに匹敵する良好な血中濃度推移は説明できないものと考えられた。また、ラット、イヌ、ウサギ、ヒト血清蛋白に対するAC-1370の結

合率はおのおの7.1%, 5.7%, 8.6%, 14.3%であり, 上述したようなヒトおよび各動物種における持続性の違いに関しても, 蛋白結合率との関連は認められなかった。

AC-1370の排泄経路に関し検討した結果, 本剤は0~8時間で70%以上が尿中に排泄され胆汁排泄は0.15~0.17%と非常に低く, 尿排泄主導型の薬剤と考えられた。またマウスにおける臓器分布は, 腎>血漿>肺>心>脾≒肝の順であり, CEZに比べ腎に対する移行性が高く, 肝に対する移行性が低い点が特徴的であった。これらの臓器分布の結果は, 本剤の排泄経路をよく反映しているものと思われる。奥村ら⁷⁾は ceftazidime に関し, 腎排泄型であり, また腎への移行が高く, 肝への移行が低いことを報告しており, 本剤と共通する性質を有するものと考えられる。

本剤の腎よりの排泄機序に関し検討した結果, プロベネシド併用時の血中濃度および尿中排泄率は, AC-1370単独投与時に比べ, ほぼ一致しており, 本剤の腎よりの排泄は糸球体濾過が主な経路と考えられた。尿細管分泌の関与等に関しては更に詳細な検討が必要と考えられる。

文 献

- 1) YASUDA, N. ; H. IWAGAMI, E. NAKANISHI, T. NAKAMIYA, Y. SASAKI & T. MURATA : Synthesis and antibacterial activity of 6-and 7- (2-(5-carboxyimidazole-4-carboxamide) phenylacetamide) -penicillins and cephalosporins. *J. Antibiotics* 36 (3) : 242~249, 1983
- 2) MURATA, T. ; N. KATO, Y. HIROSE, M. INOUE & S. MITSUHASHI : In vitro and in vivo antibacterial activities of AC-1370, a new parenterally active cephalosporin. 20th Interscience Conference on Antimicrob. Agents and Chemother. Abstr. No. 150, 1980
- 3) OHNISHI, H. ; H. KOSUZUME, H. INABA, M. OKURA, H. MOCHIZUKI, Y. SUZUKI & R. FUJII : Effects of AC-1370, a new semisynthetic cephalosporin, on phagocyte functions. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 23 : 874~880, 1983
- 4) 加藤伸朗, 村田定三, 馬場利恵子, 村上真理子, 弓狩康三, 三橋 進, 上田 泰 : 新セフェム系抗生物質 AC-1370 抗菌力の血清添加による増強効果。第30回日本化学療法学会西日本支部総会講演抄録集, No. 82, 1982
- 5) 第31回日本化学療法学会総会 : 新薬シンポジウムII。AC-1370, 大阪, 1983
- 6) 松井秀文, 野城洋子, 矢野邦一郎, 奥田隆夫 : Cefpiramide (SM-1652) の実験動物における体内動態。 *Chemotherapy* 31 (S-1) : 114~123, 1983
- 7) 奥村和夫, 達 彦二, 武田憲三, 福田一郎, 長岐為一郎, 高野真理子, 肥後喬一, 木南純二 : Ceftazidime のマウス, ラットおよびウサギにおける吸収, 体内分布, 代謝および排泄について。 *Chemotherapy* 31 (S-3) 188~197, 1983

PHARMACOKINETICS OF AC-1370 IN ANIMALS AFTER PARENTERAL DOSING

TEIZO MURATA, YOSHIMASA MATSUZAWA, RIEKO OKANO, JUNKO TAIRA,
NOBUO KATO and YASUMI YUGARI
Central Research Laboratories, Ajinomoto Co., Inc.
HARUO OHNISHI, KOJI KOSUZUME and HITOSHI INABA
Fuji Central Research Laboratory, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.

AC-1370, a new parenteral cephalosporin derivative, was administered to experimental animals, such as mice, rats, rabbits, dogs and monkeys at a single dose of 50 mg/kg.

The plasma concentrations of AC-1370 after single intravenous administration were highest in monkeys, followed by rabbits, dogs, rats and mice, in this order, and the plasma half-lives of AC-1370 were 95.0, 67.2, 47.0, 23.3 and 17.0 minutes, respectively. Those of AC-1370 in mice, rats and dogs were almost comparable to those of cefazolin and longer than cefoperazone, cefotaxime and cefmetazole.

AC-1370 was rapidly distributed into various tissues of mice after intravenous administration and the concentrations were high in the order of those in kidney, plasma, lung, myocardium, spleen and liver. The AC-1370 concentration in kidney was three times higher than that of cefazolin, however, its concentration in liver was about one tenth of that of cefazolin.

Urinary recoveries of AC-1370 in dogs, rabbits and monkeys over a 8 hour period were ranged from 68.3% to 75.9% of the administration dose and biliary recoveries over a 6 hour period were 0.15% in dogs and 0.17% in rabbits. Probenecid had no influence on plasma concentration or urinary recovery of AC-1370, indicating AC-1370 was mainly excreted by glomerular filtration.

The extent of serum protein binding of AC-1370 measured by centrifugal ultrafiltration method were 14.3% in humans, 5.7% in dogs, 8.6% in rabbits and 7.1% in rats. These values were smaller than those of cefazolin or cefoperazone.