

イヌおよびウサギにおける Imipenem (MK-0787), Cilastatin sodium (MK-0791) の血漿中濃度および尿中排泄

濱島 健二・小林 速雄・亀井 啓介
柴田 雅彦・堀越 純子・早瀬 清
日本メルク 萬有株式会社 研究所

澁谷 正興・岩本 里美
鳥居薬品株式会社 研究所

成熟犬, 幼若犬, ウサギに imipenem (MK-0787) および cilastatin sodium (MK-0791) を併用 (10 mg/10 mg/kg) により静脈内投与した際の血漿中濃度および尿中排泄量を測定した。また, これらの各種動物およびヒト血漿タンパクとの結合能およびアルブミン-ビリルビン結合への影響についても *in vitro* で検討し, 以下の知見を得た。

1. 投与終了後 5 分における血漿中 MK-0787 濃度は, ウサギ, 成熟犬, 幼若犬の順で, 一方, MK-0791 濃度は, 成熟犬, ウサギ, 幼若犬の順で低下した。
2. 成熟犬, 幼若犬では MK-0791 の AUC が MK-0787 のそれより 1.4~1.5 倍大きい値を示したが, ウサギでは逆に MK-0787 が MK-0791 の 1.4 倍大きい値を示した。
3. 尿中排泄率は成熟犬, 幼若犬において MK-0787 が 31.3~34.2%, MK-0791 が 42.9~43.9% であり極めて類似した排泄パターンを示した。しかし, ウサギにおいては MK-0787 が 68.5%, MK-0791 が 16.8% であり, 犬とは異なった排泄パターンを示した。
4. MK-0787 のヒトおよび各種動物血漿タンパクへの結合率はいずれも 10% 以下であり, 他剤よりかなり低値を示した。MK-0791 の結合率はヒト, イヌ, ウサギ血漿で約 35% であり, サル, ラット, マウス血漿では 20% 以下であった。また両薬剤併用時のタンパク結合率はそれぞれ単独時の結合率とくらべて実質的な差は見られなかった。
5. MK-0787 および MK-0787/MK-0791 併用では 10^{-5} M~ 10^{-4} M の濃度でビリルビン遊離作用を示さなかった。MK-0791 のアルブミン-ビリルビン結合部位への結合定数は 6.9×10^{-1} M⁻¹ であり, 他剤とくらべて最も小さかった。

前報¹⁾では ³⁵S-MK-0787, ¹⁴C-MK-0787 および ¹⁴C-MK-0791 を用い, それぞれ単独あるいは併用投与時におけるラットでの体内挙動を明らかにした。今回著者らは, MK-0787 および MK-0791 を成熟および幼若犬ならびにウサギに併用投与した際の血漿中および尿中 MK-0787, MK-0791 濃度をそれぞれ bioassay, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定した。さらに MK-0787 および MK-0791 の血漿タンパクへの結合率, ならびにアルブミン-ビリルビン結合への影響についても他剤を対照として *in vitro* で比較検討したので, その結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 被験薬物および試薬

MK-0787 および MK-0791 は Merck Sharp & Dohme Research Laboratories (MSDRL) より供与された。試薬は市販の特級品あるいは生化学用を使用した。

2. 実験動物

生後約 12 ケ月齢の雄性成熟ビーグル犬 4 頭 (体重 9.2~10.7 kg), 20~29 日齢の幼若ビーグル犬雌雄 8 頭 (雄 5, 雌 3, 体重 880~1440 g) および 4 ケ月齢の雄性日本白色ウサギ 6 羽 (体重 2.9~3.1 kg) を使用した。

3. 投与液の調製および投与方法

投与液は MK-0787 および MK-0791 を 0.03% 炭酸水素ナトリウムを含有する生理食塩液に溶解し, それぞれ 10 mg/ml の濃度となるように用時調製した。投与量は MK-0787/MK-0791 10 mg/10 mg/ml/kg とした。点滴静注は自動注入装置を用いてウサギは耳介静脈内, 成熟犬および幼若犬は前腕皮静脈内にそれぞれ 1.38 ml/min の速度で投与した。

4. 試料の採取

i) 血漿

成熟犬, 幼若犬, ウサギに MK-0787/MK-0791 を投

与前および投与終了後 5, 15, 30, 60, 120, 240 分に、イヌでは頸静脈より、ウサギでは耳介静脈からヘパリン処理試験管に採血し、4°C, 3000rpm で10分間遠心分離した。得られた血漿に等容量のMES緩衝液²⁾を加え-80°Cにて保存した。

ii) 尿

成熟犬、幼若犬、ウサギにMK-0787/MK-0791を投与前および投与終了後2, 4, 6, 8, 12時間に尿道カテーテルを挿入して採尿した。得られた尿に等容量のMOPS緩衝液²⁾を加え-80°Cにて保存した。

5. 血漿中、尿中MK-0787およびMK-0791の定量
血漿中および尿中MK-0787の定量は今朝洞ら³⁾のbioassay法、即ち、*B. subtilis* ATCC 12432を検定菌とするペーパーディスク法により行った。一方、MK-0791の定量は前報²⁾のO-フタルアルデヒドを用いたポストカラム法によるHPLCで行った。

6. タンパク結合

MK-0787およびMK-0791のヒトおよび各種動物血漿タンパク、ならびにヒト血清アルブミン(HSA)に対する結合率を遠心限外濾過法により求めた。また対照薬として、cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業), cefoperazone (CPZ, 富山化学工業), ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品工業)およびpiperacillin (PIPC, 富山化学工業)を用い

た。血漿は健常人(男性), サル(カニクイ, 雄), イヌ(ビーグル, 雄), ウサギ(KBL: JW, 雄), ラット(Jcl: SD, 雄)およびマウス(Jcl: ICR, 雄)から採取し、プール血漿として1度だけ凍結保存(-20°C)したものを使用した。血漿はいずれの場合も使用前にリン酸(85%)でpH7に調整した。HSA溶液(10%, Miles Laboratories社)は1/15M等張リン酸緩衝液(pH7.0)で希釈し、4%としたのち使用した。

血漿またはHSA溶液の9容に1/15M等張リン酸緩衝液(pH7.0)にて調製した薬剤溶液の1容を加え、37°Cで30分間反応させた。反応液0.5mlをAmicon社製の限外濾過膜Centrifree™(MPS-3)またはCentriflo®CF25に入れ、1500×g, 4°Cで20分間遠心分離を行った。得られた濾液中の薬剤濃度(A)を高速度液体クロマトグラフィー(HPLC)^{4)~7)}により測定した。HPLC測定の諸条件については、要約してTable1に示した。一方、対照として血漿およびHSAのかわりに、等張リン酸緩衝液を用いて調製した薬剤溶液を同様に処理して得られた濾液中の薬剤濃度(B)を測定し、次式より結合率を求めた。

$$\text{結合率(\%)} = \frac{B-A}{B} \times 100$$

7. アルブミン-ビリルビン結合に及ぼす影響

Table 1 HPLC conditions for determination of MK-0787, MK-0791, CEZ, CPZ, CZX and PIPC

Antibiotics	Column	Mobile phase (v/v)	Flow rate (ml/min)	Detection (nm)
MK-0787	NOVA-PAK C ₁₈ ^{a)} (150×3.9mm, 5μm)	0.2M borate buffer (pH7.2)	2.5	313
MK-0791	ERC-ODS-1162 ^{b)} (100×6.0mm, 5μm)	CH ₃ OH: 0.1M NaH ₂ PO ₄ (25: 75)	1.0	220
CEZ	ERC-ODS-1162 (100×6.0mm, 5μm)	CH ₃ CN: 0.01M NaH ₂ PO ₄ (8: 92)	2.0	254
CPZ	ERC-ODS-1162 (100×6.0mm, 5μm)	CH ₃ OH: H ₂ O: 1.8M H ₂ SO ₄ (25: 75: 0.2)	2.0	254
CZX	ERC-ODS-1162 (100×6.0mm, 5μm)	CH ₃ CN: 0.01M NaH ₂ PO ₄ (4: 96)	1.5	254
PIPC	ERC-ODS-1162 (100×6.0mm, 5μm)	CH ₃ CN: 0.01M NaH ₂ PO ₄ (18: 82)	1.2	230

HPLC apparatus: Hewlett-Packard 1084B. Injection volume: 100μl.
Column temperature: 35°C.

An MPLC RP-18 Spheri-10 guard column cartridge (Brownlee Labs., 30×4.6mm) was used between a injection port and an analytical column in all assays.

a) Waters Associates Inc., Milford, MA, USA.

b) Erma Optical Works Co., Tokyo, Japan.

MK-0787 および MK-0791 のアルブミン-ビリルビン結合に対する影響を BRODERSEN の *in vitro* での peroxidase による遊離ビリルビン測定法⁹⁾ により検討した。本実験における対照薬として sulfisoxazole (SS, Sigma 社), salicylic acid (SA, 和光純薬工業), cefoperazone (CPZ, 富山化学工業), latamoxef (LMOX, 塩野義製薬), cephalothin (CET, 鳥居薬品), cefotaxime (CTX, 中外製薬), cefoxitin (CFX, 日本メルク 萬有) および cephaloridine (CER, 鳥居薬品) を用いた。これらの薬剤は 133 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) で溶解し使用した。またヒト血清アルブミン (脂肪酸フリー), 無水ビリルビン, horse radish peroxidase (Type I) はすべて Sigma 社製品を使用した。

試薬の調製, 操作および解析法はすべて先の BRODERSEN の方法⁹⁾ に従って行ったが, アルブミン溶液中にビリルビンおよび薬剤を加えて平衡に達したとき, 遊離ビリルビン濃度は peroxidase による酸化速度に比例するから薬剤濃度と遊離ビリルビンの酸化速度とは次の関係式が得られる。

$$\frac{t_{0.2(0)}}{t_{0.2}} \times \frac{[\text{HRP}]_0}{[\text{HRP}]} = K_D \cdot D + 1$$

但し, $t_{0.2(0)}$ および $t_{0.2}$: 薬剤無添加および添加時の 455 nm における吸光度が 0.2 変化するのに要する時間

[HRP]₀ および [HRP] : 薬剤無添加および添加時の peroxidase 濃度

D : 反応液中に添加した薬剤濃度

K_D : 薬剤のビリルビン結合部位への結合定数

この式に基づき D を X 軸に, 左辺の項を Y 軸にとってプロットし, グラフの勾配から結合定数 (K_D) を算出した。

II. 結 果

1. 成熟犬

MK-0787/MK-0791 (10 mg/10 mg/kg) を点滴静注終了後 5 分における平均血漿中未変化体濃度を Table 2 に示した。MK-0787 で 34.9 μg/ml, MK-0791 では 45.5 μg/ml の最高値が認められ, その後 MK-0787, MK-0791 は共に二相性を示して消失し, 4 時間後にはそれぞれ最高値の約 1/120, 約 1/20 に減少した (Fig. 1)。α 相および β 相における半減期は Table 2 に示した如く, MK-0787 ではそれぞれ 25.8, 34.3 分, MK-0791 では 26.6, 70.7 分であった。AUC は MK-0787, MK-0791 それぞれ 1600.4, 2320.5 μg·min·ml⁻¹ であり, MK-0791 が MK-0787 の 1.4 倍の高い値を示した。

尿中排泄率は投与終了後 12 時間までの累積で MK-0787, MK-0791 それぞれ 34.2, 42.9% であったが (Table 2), いずれもその大部分が 2 時間までに排泄された (Fig. 1)。

2. 幼若犬

MK-0787/MK-0791 (10 mg/10 mg/kg) を点滴静注終了後 5 分における平均血漿中未変化体濃度を Table 2 に示した。MK-0787 で 21.5 μg/ml, MK-0791 では 26.2 μg/ml の最高値が認められその後 MK-0787, MK-0791 は共に二相性を示して消失し, 4 時間後にはそれぞれ最高値の約 1/110, 約 1/20 に減少した (Fig. 2)。α 相および β 相における半減期は Table 2 に示した如く MK-

Table 2 Pharmacokinetic parameters of MK-0787 and MK-0791 after single i.v. infusion of 10 mg/kg each of MK-0787/MK-0791 to laboratory animals

Animals	n	(AUC) ₅ ²⁴⁰ (μg·min·ml ⁻¹)		t _{1/2} (min)		Max. concn. (μg/ml)		Urinary recovery in 0-12 hr (%)	
		MK-0787	MK-0791	MK-0787	MK-0791	MK-0787	MK-0791	MK-0787	MK-0791
Adult dog	4	1600.4 ± 83.6	2320.5 ± 239.7	α: 25.8 ± 3.3 β: 34.3 ± 3.9	α: 26.6 ± 5.3 β: 70.7 ± 15.0	34.9 ± 2.1	45.5 ± 8.0	34.2 ± 8.2	42.9 ± 10.9
Young puppy	8	1017.7 ± 117.8	1539.7 ± 450.4	α: 29.3 ± 10.8 β: 35.1 ± 5.7	α: 33.5 ± 23.7 β: 58.0 ± 13.6	21.5 ± 3.1	26.2 ± 6.8	31.3 ± 11.7	43.9 ± 13.7
Rabbit	6	1137.9 ± 152.2	836.5 ± 120.5	16.6 ± 3.2	13.5 ± 3.4	42.7 ± 4.1	39.5 ± 3.9	68.5 ± 19.4	16.8 ± 4.1

Each value represents the mean ± S.D..

Fig. 1 Mean plasma levels and urinary excretion of MK-0787 and MK-0791 after the end of single i. v. infusion of 10mg/kg each of MK-0787/MK-0791 to adult beagles (n=4)

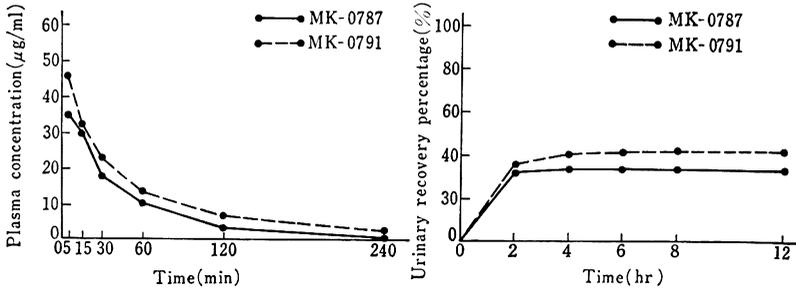


Fig. 2 Mean plasma levels and urinary excretion of MK-0787 and MK-0791 after the end of single i. v. infusion of 10mg/kg each of MK-0787/MK-0791 to beagle puppies (n=8)

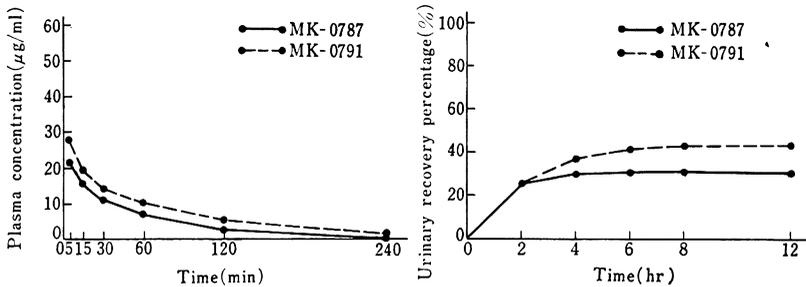
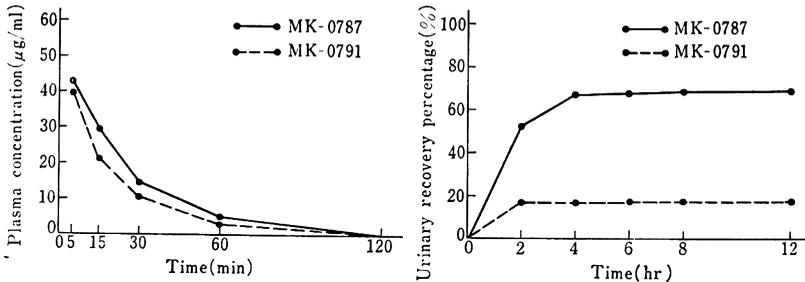


Fig. 3 Mean plasma levels and urinary excretion of MK-0787 and MK-0791 after the end of single i. v. infusion of 10mg/kg each of MK-0787/MK-0791 to rabbits (n=6)



0787 ではそれぞれ 29.3, 35.1 分, MK-0791 では 33.5, 58.0 分であり, 成熟犬とほぼ同様のパターンを示した。AUC は MK-0787, MK-0791 それぞれ 1017.7, 1539.7 $\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{ml}^{-1}$ であり MK-0791 が MK-0787 の 1.5 倍の高い値を示し, 成熟犬の場合と類似した。

尿中排泄率は投与終了後 12 時間までの累積で MK-0787, MK-0791 それぞれ 31.3, 43.9% であり, 成熟犬と酷似した (Table 2, Fig. 2)。

3. ウサギ

MK-0787/MK-0791 (10 mg/10 mg/kg) を点滴静注終了後 5 分における平均血漿中未変化体濃度を Table 2 に示した。MK-0787 で 42.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MK-0791 で 39.5

$\mu\text{g}/\text{ml}$ の最高値が認められた。ウサギでは成熟犬, 幼若犬と異なり一相性を示して急速に消失し, 2 時間後には MK-0787 が最高値の約 1/210, MK-0791 が約 1/200 に減少した。4 時間後ではいずれも検出限界以下となった (Fig 3)。半減期は Table 2 に示した如く, MK-0787 が 16.6 分, MK-0791 が 13.5 分であった。AUC は MK-0787, MK-0791 それぞれ 1137.9, 836.5 $\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{ml}^{-1}$ であり, 成熟犬, 幼若犬と異なって逆に MK-0787 が 1.4 倍の高い値を示した。

尿中排泄率は投与終了後 12 時間までの累積で MK-0787 は 68.5% であり成熟犬, 幼若犬に比べ高い値であったが, MK-0791 では 16.8% と逆に低い値を示した

Table 3 Binding extent of MK-0787, MK-0791 and other antibiotics to plasma protein and human serum albumin

Antibiotics ^{a)}	% of bound						
	HSA ^{b)}	Human	Monkey	Dog	Rabbit	Rat	Mouse
MK-0787	6	2	10	3	5	4	2
MK-0787 ^{c)} /MK-0791 (1:1)	3	4	7	9	5	6	5
MK-0791	17	41	13	28	33	14	8
MK-0791 ^{d)} /MK-0787 (1:1)	15	46	17	32	34	16	15
CEZ	93	92	95	31	98	94	72
CPZ	93	92	94	28	96	67	50
CZX	18	47	30	33	25	34	22
PIPC	20	43	43	34	48	41	30

Method: centrifugal ultrafiltration.

a) Concentration of antibiotics: 30 $\mu\text{g/ml}$ in 90% plasma and HSA solution.

b) 4% human serum albumin (M.W.: 67,000) dissolved in 1/15 M phosphate buffer (pH 7.0).

c) Binding of MK-0787 in the presence of MK-0791 (1:1, w/w).

d) Binding of MK-0791 in the presence of MK-0787 (1:1, w/w).

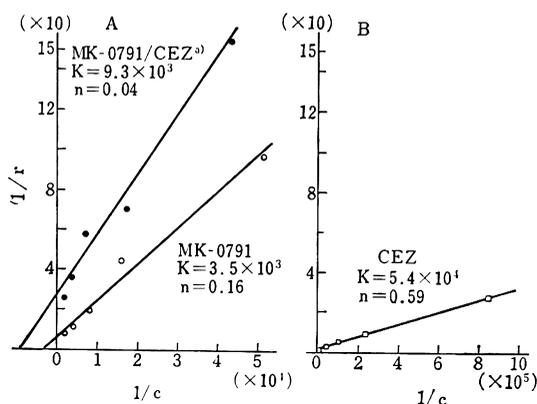
(Table 2)。尿中 MK-0787 および MK-0791 の大部分は投与後 2 時間までに排泄された (Fig. 3)。

4. タンパク結合

Table 3 に遠心限外濾過法により求めた MK-0787, MK-0791 および対照抗生物質の各種血漿タンパクおよび HSA との結合率を示した。MK-0787 (30 $\mu\text{g/ml}$) のヒト血漿タンパクおよび HSA との結合率は 2% および 6% であり、他剤の結合率より極めて低率であった。また他の動物血漿タンパクへの MK-0787 の結合率も 2~10% であり、いずれも他剤の結合率とくらべて低かった。一方 MK-0791 のタンパク結合率はヒト血漿で最も高く 41% であり、イヌおよびウサギ血漿で約 30%, 他の動物血漿および HSA 溶液では 8~17% であった。MK-0791 のタンパク結合率を他剤のそれと比較すると、CZX および PIPC と同程度かあるいはやや低く、イヌ以外の血漿では CEZ および CPZ の 1/9 から 1/2 程度であった。これら MK-0787 および MK-0791 のタンパク結合率はいずれの血漿においても、両剤の併用による実質的な変化を示さなかった。

さらに MK-0787 および MK-0791 の 10 $\mu\text{g/ml}$ ~240 $\mu\text{g/ml}$ の添加濃度における HSA (最終濃度は 3.6 g/dl) との結合率を CEZ を対照薬として測定したところ、MK-0787 は濃度の違いによる一定の結合率の変化を示さず、MK-0791 では 15% から 20% とわずかな変化があったが、CEZ では 95% から 79% へほぼ添加濃度の上昇に従い結合率が低下した。この結果を用い MK-0791 および CEZ について、Klotz の計算式⁹⁾により求めた結合定数 (K) はそれぞれ $3.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ および $5.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、同様に最大結合量 (n) はそれぞれ 0.16 および 0.59 であり、いずれも CEZ の方が大きな値を

Fig. 4 klotz plots for binding of MK-0791 and cefazolin to human serum albumin (M. W.: 67,000)



c: free concentration (mole/l), r: moles of bound drug per one mole of albumin, n: maximum number of binding sites, K: association constant, a) CEZ: 30 $\mu\text{g/ml}$ ($6.6 \times 10^{-5} \text{ M}$)

示した (Fig. 4)。また CEZ (30 $\mu\text{g/ml}$) との併用時における MK-0791 の HSA への結合率を測定したが、MK-0791 単独時の結合率より低下し、 K は $9.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ で、 n は 0.04 であった (Fig. 4)。したがって MK-0791 と CEZ の HSA への主結合部位が異なることが示された。

5. アルブミン-ビリルビン結合に及ぼす影響

MK-0787, MK-0791 および対照薬剤のアルブミン-ビリルビン結合部位への結合定数 (K_D) を Table 4 に示した。 K_D については SS が最も大きく $1.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ であり、ついで CPZ がこれに近い値を示し、以下

Table 4 Binding constants of various drugs to the high-affinity bilirubin-binding site of human serum albumin in sodium phosphate buffer (at pH 7.4, 37°C)

Drug	K_D (M^{-1})
Sulfisoxazole(SS)	1.8×10^4
Cefoperazone(CPZ)	1.7×10^4
Latamoxef(LMOX)	4.8×10^3
Salicylic acid(SA)	3.9×10^3
Cephalothin(CET)	1.2×10^3
Cefotaxime(CTX)	7.2×10^2
Cefoxitin(CFX)	4.2×10^2
Cephaloridine(CER)	1.3×10^2
MK-0791	6.9×10^1
MK-0787	N.D.*
MK-0787/MK-0791	N.D.*

* Not detected at 1×10^{-5} to 1×10^{-4} M.

LMOX, SA, CET, CTX, CFX および CER の順で低下した。MK-0791 の K_D は $6.9 \times 10^1 M^{-1}$ であり、上記の薬剤とくらべてさらに低い値であった。一方、MK-0787, MK-0791 は $10^{-5} M \sim 10^{-4} M$ の添加濃度で全くビリルビン遊離作用を示さなかった。

III. 考 察

MK-0787/MK-0791 (10 mg/10 mg/kg) を成熟犬および幼若犬に点滴静注し投与終了後 5 分における血漿中濃度を比較すると、MK-0787, MK-0791 いずれも成熟犬の方が高い値を示し、半減期においてはほぼ同等ではあるものの AUC は MK-0787 で 1.6 倍、MK-0791 で 1.5 倍といずれも成熟犬の方が高い値を示した。この様な傾向はセフェム系抗生剤である cefoxitin (CFX) に関する常磐の報告¹⁰⁾ にも見られ、血漿中 cefoxitin の AUC は成熟犬が幼若犬に対し、1.4 倍 (100 mg/kg 投与) ないし 1.5 倍 (300 mg/kg 投与) の高い値を示しており、MK-0787, MK-0791 のそれと酷似している。これらの原因としては成熟犬と幼若犬における体内水分含量の相違に基づく薬物の分布容量に差異が生じた結果と考えられた。尿中排泄率についてみると成熟犬および幼若犬でそれぞれ MK-0787 は 34.2, 31.3%, MK-0791 は 42.9, 43.9% であり極めて近似した値を示した。また MK-0787 および MK-0791 の排泄速度も成熟犬と幼若犬では大差なく、以上のことから成熟犬と幼若犬における MK-0787 および MK-0791 の体内動態はほぼ類似しているものと推察される。

MK-0787 および MK-0791 の血漿中濃度の消失はいずれも成熟犬、幼若犬で二相性を示したのに対し、ウサギでは一相性であった。消失相における半減期は成熟犬、幼若犬、ウサギでそれぞれ MK-0787 は 34.3, 35.1,

16.6 分、MK-0791 は 70.7, 58.0, 13.5 分でありウサギは成熟犬、幼若犬に比較して有意に短い値 ($P < 0.05$) を示し、ウサギとイヌでは種差が見られた。イヌ、ウサギにおける血漿タンパク結合率は MK-0787 ではそれぞれ 9, 5%, MK-0791 では 32, 34% であり血漿タンパク結合率にはイヌとウサギで差が見受けられず、したがって半減期における種差をこれのみによっては充分説明することはできなかった。

今回我々は、MK-0787 および MK-0791 の未変化体についてのみ測定を行っており、それらの代謝物については検討していない。しかし MSDRL との共同実験¹¹⁾ では、 ^{14}C -MK-0787/MK-0791 (10 mg/10 mg/kg) あるいは ^{14}C -MK-0787 (10 mg/kg) をウサギに静注した際の血漿中での総放射能は MK-0787 単独あるいは MK-0791 併用下においても AUC が同等であり、また尿中総排泄率はいずれの場合も 95% 以上であったことを示している。今回の我々の成績では、ウサギ尿中に MK-0787 の未変化体が 68.5% 排泄されており、したがって尿中へは未変化体 MK-0787 が主として排泄されかつ主排泄経路は腎であることが推察された。また、Zaschev¹¹⁾ は MK-0787/ ^{14}C -MK-0791 (10 mg/10 mg/kg) をウサギに静注した際の総放射能の AUC は未変化 MK-0791 の約 2 倍であり、尿中へは総放射能が 96%, MK-0791 が 19% 排泄されたことを示しており、未変化 MK-0791 に関しては今回の我々の成績とはほぼ一致した。これらのことからウサギにおける MK-0791 およびその代謝物の主排泄経路は、MK-0787 同様腎ではあるものの尿中代謝物の未変化体に対する割合は MK-0787 に比べ多いことが示唆された。成熟犬、幼若犬において MK-0787 および MK-0791 の尿中排泄率は極めて類似したパターンを示したが、イヌとウサギとの比較では種差が認められた ($P < 0.05$)。

MK-0787 および MK-0791 の血漿タンパクおよび HSA に対する結合率は他の抗生物質の結合率とくらべて低く、特に MK-0787 では著しく低率であった。これらの結合率はそれぞれ単独時および併用時で大きな差がなく、タンパク結合に関し MK-0787 および MK-0791 が互いに影響しあわないことが示唆された。またタンパクへの結合能もそれ程大きくないことが示唆された。さらに、アルブミン-ビリルビン結合に対し MK-0787 がビリルビン遊離作用を示さず、MK-0791 のビリルビン遊離作用も他剤とくらべて小さいことはタンパク結合率の結果を支持するものであり、これらの結果は抗生物質のヒト血清タンパクとの結合率とビリルビン遊離作用との間に相関性を認めている知見¹²⁾⁻¹⁴⁾ と一致するものと考えられる。これらのことから、MK-0787/MK-0791 によ

る *in vivo* での遊離ビリルビンの増加の可能性は少ないことが推察された。

謝 辞

本研究に際し、数々の有益な御助言を賜りました帝京大学医学部藤井良知教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 原 健一; 柴田雅彦, 小林速雄, 濱島健二, 早瀬清, 澁谷正興, 佐々木洋明: ラットにおける Imipenem (MK-0787) および Cilastatin sodium (MK-0791) の生体内動態 (I)。Chemotherapy 33(S-4): 290~304, 1985
- 2) 亀井啓介; 岡崎明彦, 岡田則子, 濱島健二: Cilastatin sodium (MK-0791) の体液および組織内濃度測定法。Chemotherapy 33(S-4): 282~289, 1985
- 3) 今朝洞忠孝; 朝日良成, 橋爪照隆: Imipenem (MK-0787) の微生物学的定量法による体内濃度測定法に関する検討。Chemotherapy 33(S-4): 275~281, 1985
- 4) GRAVALLESE, D. A.; D. G. MUSSON, L. T. PAULIUKONIS & W. F. BAYNE: Determination of imipenem (*N*-formimidoyl thienamycin) in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography, comparison with microbiological methodology and stability. J. Chromatogr. 310: 71~84, 1984
- 5) MYERS, C. M. & J. L. BLUMER: Determination of imipenem and cilastatin in serum by high-pressure liquid chromatography. Antimicrob. Agents Chemother. 26: 78~81, 1984
- 6) ROUAN, M. C.; F. ABADIE, A. LECLERC & F. JUZE: Systematic approach to the determination of cephalosporins in biological fluids by reversed phase liquid chromatography. J. Chromatogr. 275: 133~144, 1983
- 7) HUANG, W. F.: A new comparative method of the pharmacokinetics of the antibiotics by HPLC analysis after simultaneous administration. Nippon Geka Hokan 52: 273~298, 1983
- 8) BRODERSEN, R.: Competitive binding of studies by enzymatic oxidation. J. Clin. Invest. 54: 1353~1364, 1974
- 9) KLOTZ, I. M.: The application of the low mass action to binding protein. Interaction with calcium. Arch. Biochem. Biophys. 9: 109~117, 1946
- 10) 常磐知宜: Cefoxitin の幼若ビーグル犬における吸収・排泄試験, 野村総合研究所 (未発表)
- 11) ZACCHEI, A. G.; J. S. MACDONALD, L. L. WEINDER, J. D. ROGERS & K. HAYASE: Preclinical disposition, metabolism and safety assessment of imipenem and cilastatin. (to be submitted)
- 12) 地藏本博章; 岩田辰夫, 栗山 馨, 紺野昌俊, 藤井良知, 生方公子, 斎藤洪太: 各種抗生物質の蛋白結合と新生児高ビリルビン血症との関係, 第1報 円2色性測定による基礎的研究。Chemotherapy 25, 639, 1977
- 13) 紺野昌俊; 藤井良知, 生方公子, 斎藤洪太, 地藏本博章, 岩田辰夫, 栗本 馨: 各種抗生剤の蛋白結合と新生児ビリルビン血症との関係, 第2報 円2色性測定の臨床への応用。Chemotherapy 25: 640, 1977
- 14) 重栖幹夫; 藤本和巳: ビリルビン-アルブミン結合に対する cefotaxime の競合について。Chemotherapy 30: 189~192, 1982

PLASMA LEVELS AND URINARY EXCRETION OF IMPENEM AND CILASTATIN SODIUM IN DOGS AND RABBITS

KENJI HAMAJIMA, HAYAO KOBAYASHI, KEISUKE KAMEI,
MASAHIKO SHIBATA, JUNKO HORIKOSHI and KIYOSHI HAYASE
Research Laboratories, Nippon Merck-Banyu Co., Ltd.

MASAOKI SHIBUYA and SATOMI IWAMOTO
Research Laboratories, Torii & Co., Ltd.

Imipenem (MK-0787) was coadministered intravenously with cilastatin sodium (MK-0791) to dogs, young puppies and rabbits at a dose of 10 mg/kg in order to determine intact MK-0787 and MK-0791 in plasma and urine. The following results were obtained:

- 1) Five minutes after the end of administration, the plasma levels of MK-0787 in descending order was rabbits, adult dogs and young puppies, but for MK-0791 plasma levels in descending order was adult dogs, rabbits and young puppies.
- 2) Adult dogs and young puppies showed a similar biological half-life in plasma for both MK-0787 and MK-0791. Rabbits, however, showed a significantly shorter biological half-life than that in dogs.
- 3) In dogs, the AUC value for MK-0791 was 1.4 to 1.5 times as high as that for MK-0787. On the contrary in rabbits, the AUC value for MK-0787 was 1.4 times as high as that for MK-0791.
- 4) The urinary excretion profiles of both MK-0787 and MK-0791 in young puppies showed a remarkable resemblance to those in adult dogs. The profile in rabbits, however, differed from that in dogs.

The protein binding and displacing effects on bilirubin bound to albumin of both compounds were examined *in vitro*, in an attempt to explain some dynamic changes in blood levels of the compounds as described above. The results were as follows.

1) The extent of protein binding of MK-0787 as determined by centrifugal ultrafiltration was found to be less than 10% in the plasma of humans and animals, and was much lower than that of other antibiotics examined. MK-0791 binding to protein was found to be approximately 35% in the plasma of humans, dogs and rabbits, and less than 20% in the plasma of monkeys, rats and mice and in human serum albumin solution. The extent of binding of the two compounds was virtually the same, whether present alone or in combination.

2) Neither MK-0787 nor MK-0787/MK-0791 had any displacing effect on bilirubin bound to human serum albumin at concentrations from 10^{-5} M to 10^{-4} M. The association constant of MK-0791 to the site of bilirubin binding to human serum albumin was found to be $6.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, which was significantly smaller than that of control antibiotics examined.