

Carumonam の実験動物における体内動態

喜多八洲男・畚野 剛・今田 哲

武田薬品工業株式会社中央研究所

Carumonam のマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびカンクイザルにおける体内動態について、aztreonam を対照に用いて比較検討した。

Carumonam をマウスでは皮下に、その他の動物では筋肉内にそれぞれ 20 mg/kg 投与すると、速やかに吸収され、血漿中および臓器内濃度は投与後 10~20 分に最高値を示した。Carumonam の最高血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$) はマウス 41, ラット 38, ウサギ 45, イヌ 36 およびサル 67, 血中濃度曲線下面積 ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$) はマウス 20, ラット 24, ウサギ 67, イヌ 61 およびサル 80, 血中半減期(h)はマウス 0.24, ラット 0.28, ウサギ 0.73, イヌ 1.10 およびサル 0.89 でいずれも aztreonam のそれらと類似していた。Carumonam の臓器内濃度はいずれの動物種においても、血中濃度に比して腎で高く、マウス、ラット、イヌでは肝へもよく移行し、血中濃度とほぼ同程度であったが、その他の臓器内濃度はいずれも血中濃度より低かった。Carumonam の腎濃度は aztreonam のそれより高いが、肝濃度は aztreonam より低かった。

Carumonam は主として尿中に排泄され(イヌ 51%~ウサギ 73%), 胆汁中への排泄率は低かった(ラット 4.1%, ウサギおよびイヌ 0.1~0.2%)。Carumonam の尿中排泄率は aztreonam のそれに比べて、マウス、ラットおよびサルではより高く、ウサギおよびイヌでは若干低かった。一方、Carumonam の胆汁中排泄率は aztreonam のそれ(ラット 19.1%, ウサギおよびイヌ約 1%) に比べて低かった。

Carumonam の血清蛋白結合率は 11% (イヌ)~36% (ラット) で、aztreonam のそれ(ウサギ 55%~ラット 85%) に比して低かった。

緒 言

Carumonam (CRMN) は新規の単環性 N-sulfo- β -lactam 抗生物質で、*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Haemophilus influenzae* などのグラム陰性菌に対して強い *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を示す¹⁾。CRMN の抗菌力はその化学構造が類似している aztreonam (AZT)²⁾ とほぼ同等であるが、*Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* および *Enterobacter cloacae* に対してはより強い抗菌力を示す³⁾。

本報では、CRMN の実験動物における体内動態について、AZT を対照に用いて比較検討した成績を述べる。

実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

CRMN およびその類縁物質 I (CRMN の開環体) は武田薬品・中央研究所で合成されたものを、

また AZT は F. Hoffmann-La Roche 社で合成されたものを用いた。

2. 実験動物

マウスは Slc:ICR, 雄, 5 週齢, 体重 20~25 g, ラットは Jcl:SD, 雄, 7 週齢, 体重 210~250 g, ウサギは New Zealand White, 雄, 生後 3~3.5 ヶ月齢, 体重 2.5~3.5 kg, イヌは Beagle 種, 雄および雌, 生後約 1 年齢, 体重 10~15 kg, サルは *Cynomolgus monkey*, 雌, 体重 2.8~3.7 kg のものを用いた。いずれも薬剤投与前 16~18 時間の絶食を行った。

3. 薬剤の投与

薬剤の投与量は 20 mg/kg とし、マウスでは皮下 (2mg/ml, 0.1ml/10g), ラットでは筋肉内 (10mg/ml, 0.2 ml/100 g), ウサギでは筋肉内 (40 mg/ml, 0.5 ml/kg), イヌでは筋肉内 (100 mg/ml, 0.2ml/kg), サルでは筋肉内 (20 mg/ml/kg) にそれぞれ注射した。

4. 検体の採取

4-1) 血漿：薬剤投与後の所定時間に、マウスおよびラットではエーテル麻醉下で腋窩動・静脈を切断し、ウサギおよびサルでは股静脈より、イヌでは前肢静脈より、それぞれ少量のヘパリンとともに採血した。ヘパリン加血液は直ちに冷却下遠心分離 (3,000 rpm, 10 min) し、血漿を分離した。

4-2) 臓器：薬剤投与後の所定の時間に、放血致死させた動物より直ちに肺、肝、脾および腎を摘出し、冷却生理食塩水で洗浄後、臓器重量と等量 (w/v) の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) とともにホモジナイズし、直ちにその 4 倍量 (v/v) のメタノールを加えて再びホモジナイズした。次いで遠心分離し、上清を薬剤濃度の測定に用いた。

4-3) 尿：マウス、ラットおよびサルでは薬剤投与後、個体別の代謝ケージに入れ、所定時間内の尿を採取した。ウサギおよびイヌでは膀胱内にゴム製カテーテルを挿入し、流出する尿を所定時間内に採取した。

4-4) 胆汁：Sodium pentobarbital (Nembutal, Abbott Labs.) をラットでは筋肉内に、イヌでは静脈内にそれぞれ注射して麻醉した後開腹し、総胆管にポリエチレンチューブを挿入し、流出する胆汁を薬剤投与後の所定時間に採取した。

これらの検体は当日、または -80°C に凍結保存して 2 日以内に薬剤濃度を測定した。

5. 薬剤濃度の測定

5-1) Bioassay 法：CRMN および AZT の体液内濃度は、*Escherichia coli* NIHJ を試験菌、抗生物質用培地「ダイゴ」No. 4 (大五栄養化学) を試験用培地とする Agar well 法により測定した。臓器抽出液内濃度は *Providencia rettgeri* ATCC 9250 を試験菌、MacConkey agar (栄研) を試験用培地とする Paper disc 法により測定した。血漿検体の薬剤濃度は同一動物種の正常血漿で希釈した薬剤溶液により得られた標準曲線を、また尿、胆汁および臓器抽出液検体では 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で希釈した薬剤溶液により得られた標準曲線を用いて、それぞれ算出した。

5-2) TLC-bioautography 法：血漿は等量のメタノールを加えた後、遠心分離して除蛋白したものを、尿および胆汁はそのままか、適宜希釈したものを、標準薬剤溶液とともにシリカゲルプレート (Spotfilm, 東京化成) 上に所定量スポットした。このプレートをアセトニトリル：水：酢酸：アンモニア水 (144：24：12：1, v/v) を展開溶媒として上昇法により展開した後、*P. rettgeri* ATCC 9250

Table 1 Plasma concentrations of carumonam and aztreonam in animals after a single dose of 20 mg/kg^a

Animal	Antibiotic	Plasma concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$) after ^b :						Cmax ^c ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	AUC ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	t _{1/2} ^e (h)
		1/4 h	1/2 h	1 h	2 h	4 h	6 h			
Mice (n=6)	Carumonam	34.1±15.9	15.3± 5.3	3.2± 1.2	0.4± 0.5	n.t. ^f	n.t.	40.7	20.0	0.24
	Aztreonam	40.1± 5.9	24.0± 6.7	6.6± 2.5	0.5± 0.5	n.t.	n.t.	42.2	25.8	0.27
Rats (n=6)	Carumonam	35.9± 6.3	21.9± 3.4	6.5± 1.3	0.6± 0.2	n.t.	n.t.	37.9	23.9	0.28
	Aztreonam	41.2± 5.9	28.5± 4.9	12.2± 3.5	2.3± 0.6	n.t.	n.t.	42.8	34.2	0.41
Rabbits (n=3)	Carumonam	43.9± 7.4	40.6± 7.7	30.7± 2.8	10.9± 1.7	1.8±1.2	0.2±0.1	44.9	66.6	0.73
	Aztreonam	46.0± 9.1	43.5± 1.5	28.5± 2.2	12.4± 1.6	0.4±0.3	0.1±0.1	47.5	62.6	0.59
Dogs (n=3)	Carumonam	34.6±10.1	33.2± 5.7	23.8± 4.8	10.8± 1.3	2.8±0.7	0.7±0.2	35.6	61.1	1.10
	Aztreonam	41.7±11.1	36.7±12.8	22.5± 7.8	9.9± 4.4	2.0±1.5	0.4±0.3	40.7	59.0	0.86
Monkeys (n=3)	Carumonam	65.7±15.4	60.7±17.7	28.5±10.7	11.5± 4.1	2.2±1.1	0.5±0.4	66.6	80.4	0.89
	Aztreonam	61.4± 8.2	61.3± 9.5	26.8± 5.8	11.6± 3.5	1.7±1.2	0.2±0.2	65.8	77.8	0.75

a: Administration route: Subcutaneously in mice and intramuscularly in other animals.

b: Mean±S.D. (n=3~6)

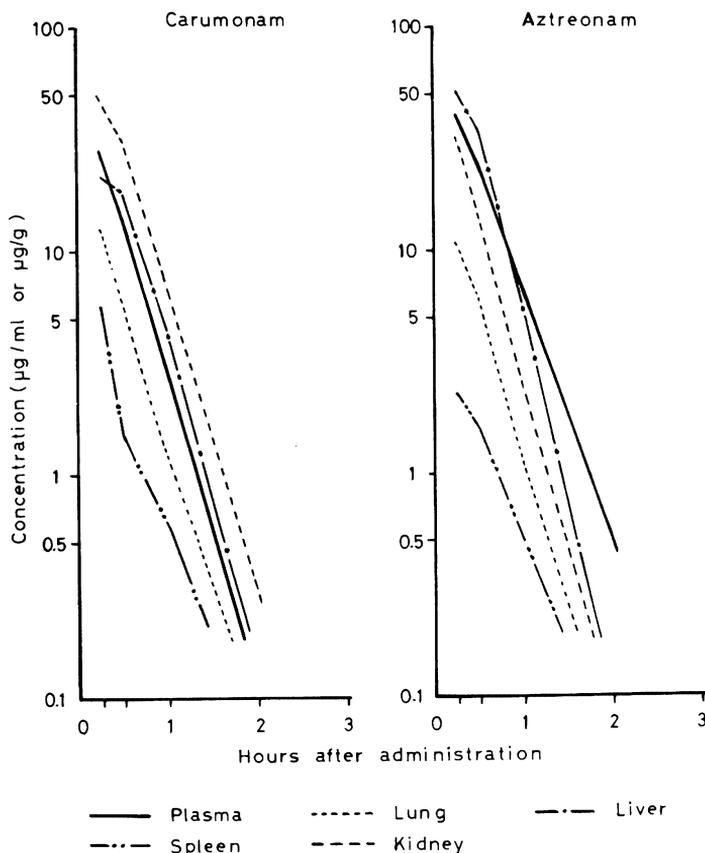
c: Peak plasma concentration.

d: Area under the concentration-time curve.

e: Half life (determined by the two-compartment model in dogs and monkeys, and by the one-compartment model in other animals).

f: Not tested.

Fig. 1 Plasma and tissue concentrations of carumonam and aztreonam in mice after a single subcutaneous administration of 20 mg/kg.



を試験菌，MacConkey agar（栄研）を試験用培地とするbioautographyにより，活性代謝物を検索した。

5-3) HPLC法：尿検体はHPLC用蒸留水で適宜希釈したものを，また同一動物種の尿に標準薬剤溶液を添加後上記のように希釈したものを液体クロマト用フィルターユニット（Ekicrodisc，クラボウ）を用いて濾過し，次に示す条件で分別定量した。

Instrument: Waters Liquid Chromatograph
ALC/GPC 204 with an autosampler 710 B

Column: Nucleosil 5C₁₈ (Machery-Nagel Co.),
15×0.4 cm, i. d.

Mobile phase: 0.005 M Tetrabutyl ammonium
hydrogen sulfate (pH 3.0)-acetonitrile (88 :
12, v/v)³⁾

Flow rate: 0.8 ml/min

Detection: UV detector (Model 440), 0.005
AUFS

Injection volume: 70 µl

Chart speed: 0.5 cm/min

Peak-area measurement: Data module 730
(Waters Associates Inc.)

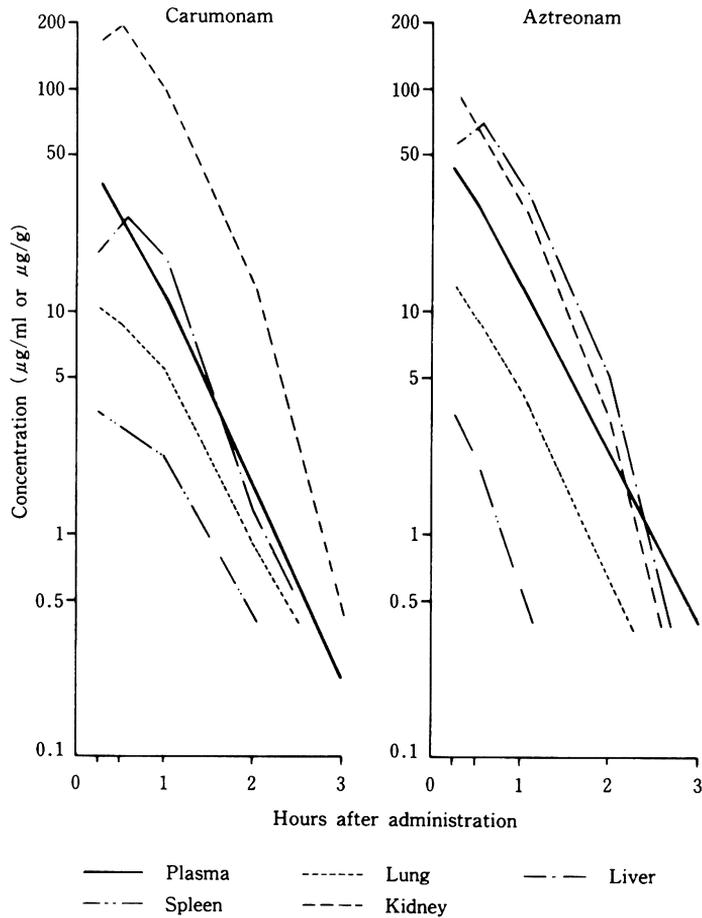
6. 血清蛋白結合率の測定

CRMN および AZT の血清蛋白結合率は平衡透析法により測定した⁴⁾。薬剤添加濃度は 20 µg/ml とし，平衡透析機 (Diapak Model 4000; Kontron AG, Zurich) を用いて 4°C で 24 時間透析した。透析終了後，透析外液の薬剤濃度を HPLC 法により測定した。

7. 薬動学的解析

CRMN および AZT の薬動学的解析は大内田ら⁵⁾ が作製したプログラムを改良⁶⁾ して行った。マウス，ラットおよびウサギにおけるパラメーターは one-compartment open model により，イヌおよびサルでは two-compartment open model により解

Fig. 2 Plasma and tissue concentrations of carumonam and aztreonam in rats after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.



析した。

実験成績

1. 血漿中濃度

CRMN および AZT のマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルにおける血漿中濃度推移、血中濃度曲線下面積 (AUC) および血中濃度半減期 ($t_{1/2}$) を Table 1 に示す。マウス、ラット、ウサギおよびイヌにおける CRMN の最高血中濃度 (C_{max}) は約 40 $\mu\text{g/ml}$ 、サルでは 68 $\mu\text{g/ml}$ で、いずれも AZT と同程度であった。マウスおよびラットにおける AUC および $t_{1/2}$ は他の動物に比して低いが、この傾向は両薬剤共類似していた。

2. 臓器内濃度

CRMN および AZT のマウスおよびラットにお

ける臓器内濃度推移を Fig. 1 および 2 に、ウサギ、イヌおよびサルにおける薬剤投与後 30 分の臓器内濃度を Fig. 3 に示す。いずれの動物種においても、両薬剤の肺および脾濃度は血中濃度より低かったが、腎濃度は AZT のマウス腎濃度を除き、血中濃度より高かった。一方、肝濃度は薬剤または動物種による差異が大きかったが、一般に CRMN の肝濃度は腎濃度より低く、また AZT の肝濃度に比しても低かった。

3. 尿中および胆汁中排泄率

3-1) 尿中排泄率: CRMN および AZT のマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびサルにおける尿中排泄の経過をそれぞれ Fig. 4~8 に示す。両薬剤ともに尿中へ高濃度に排泄され、投与後 8 時間以内に総排泄量の大部分が排泄された。CRMN のマウス、

Fig. 3 Plasma and tissue concentrations of carumonam and aztreonam in rabbits, dogs, and monkeys at 30 min after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.

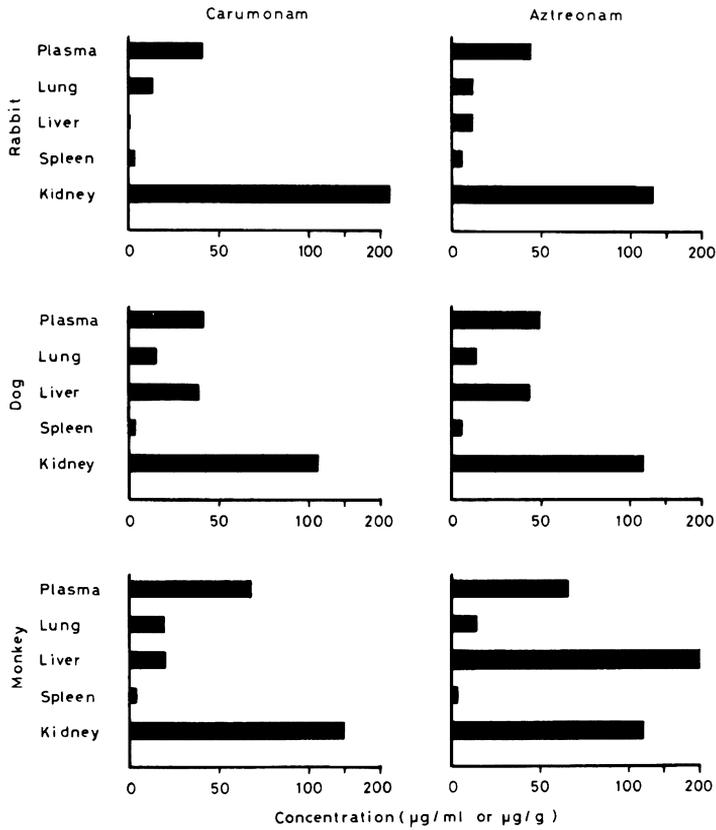


Fig. 4 Urinary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in mice after a single subcutaneous administration of 20 mg/kg.

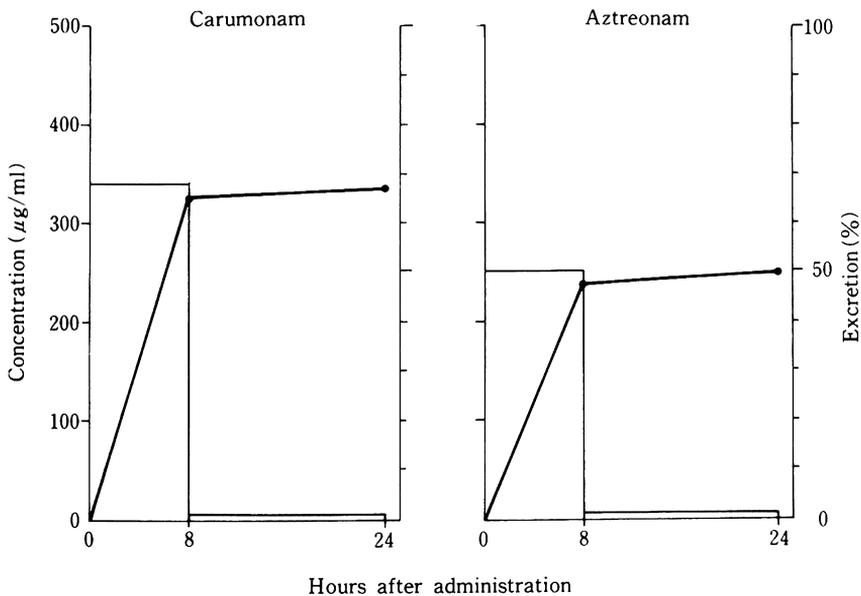


Fig. 5 Urinary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in rats after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.

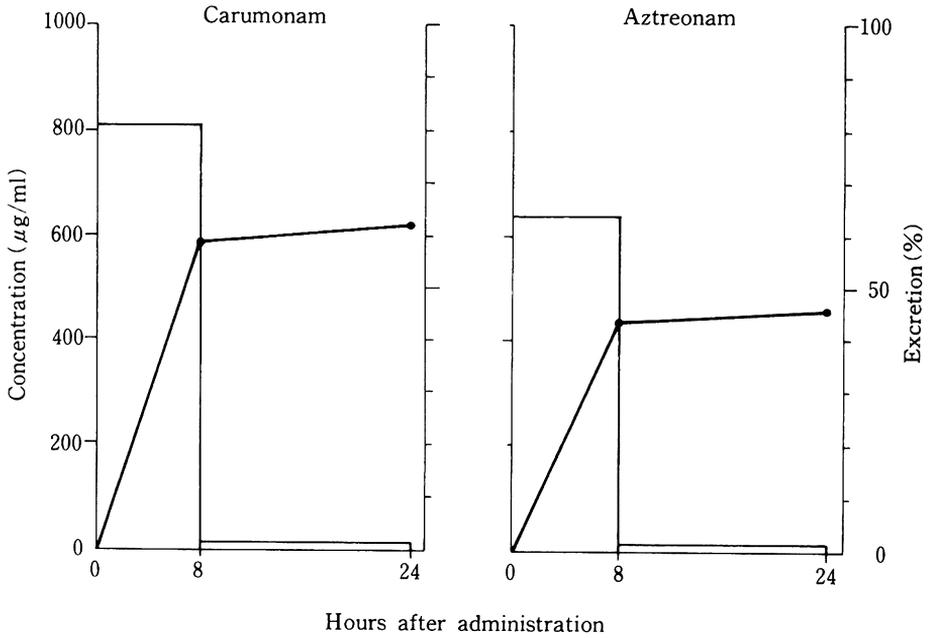


Fig. 6 Urinary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in rabbits after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.

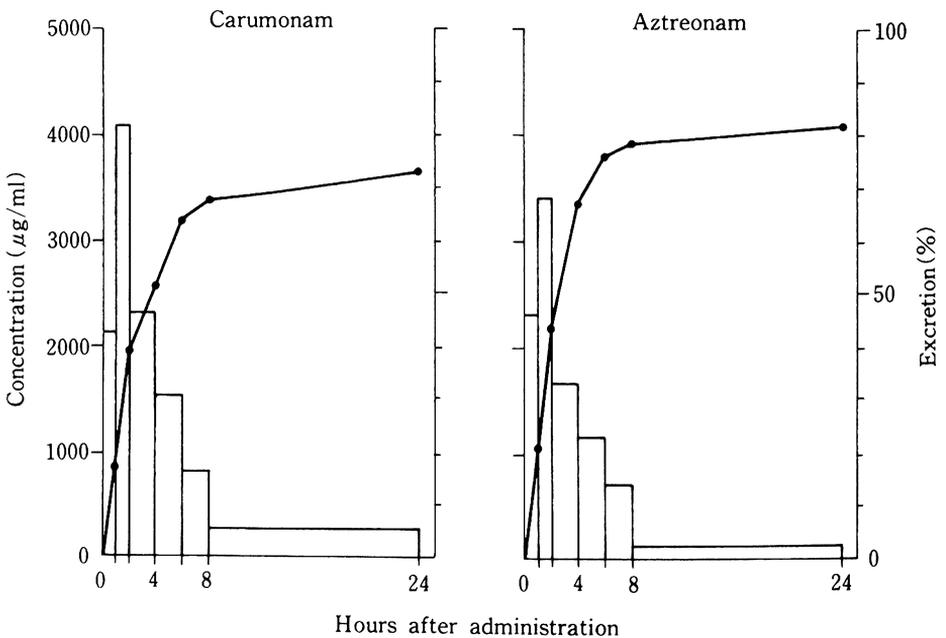


Fig. 7 Urinary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in dogs after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.

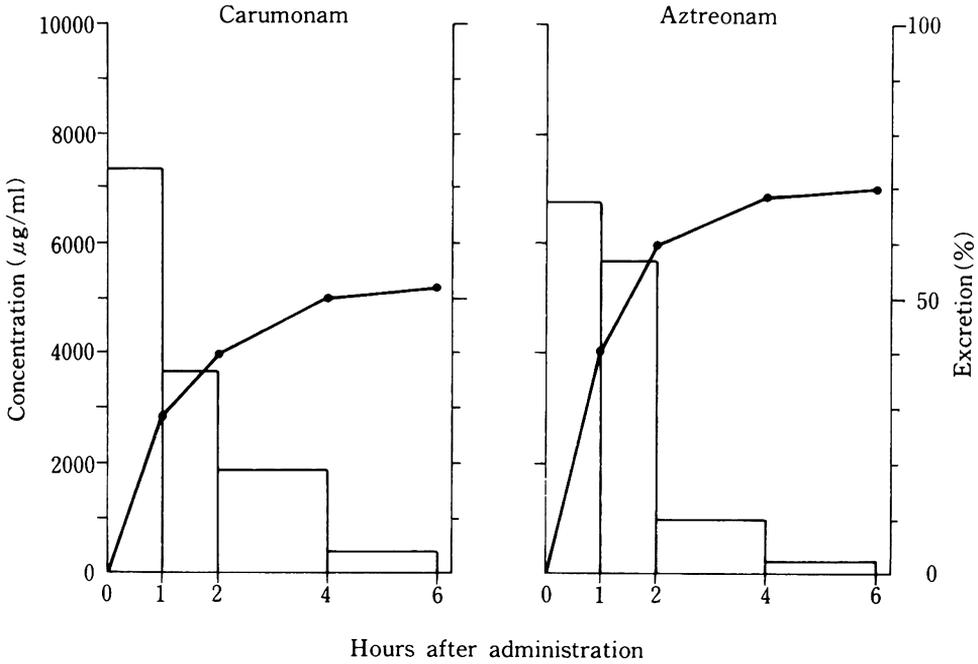


Fig. 8 Urinary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in monkeys after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.

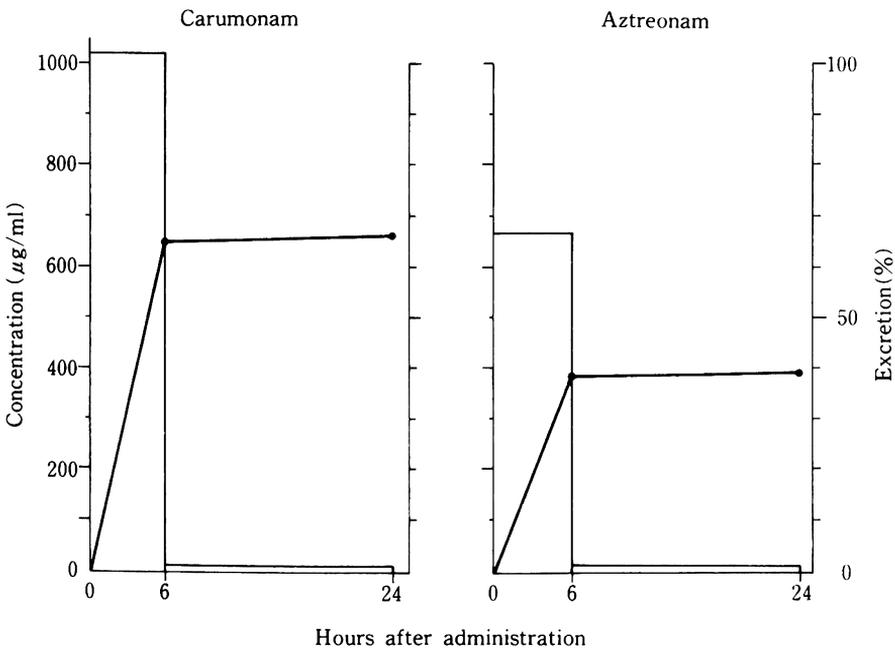


Fig. 9 Biliary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in rats after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.

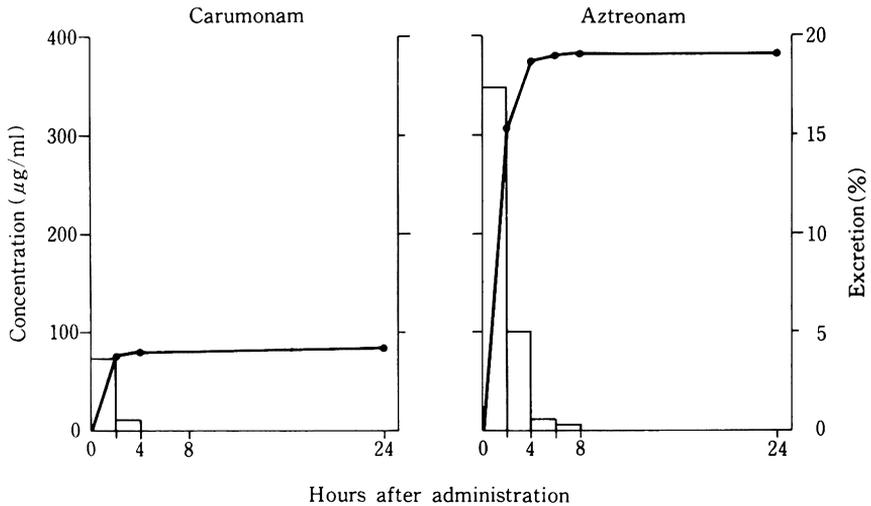
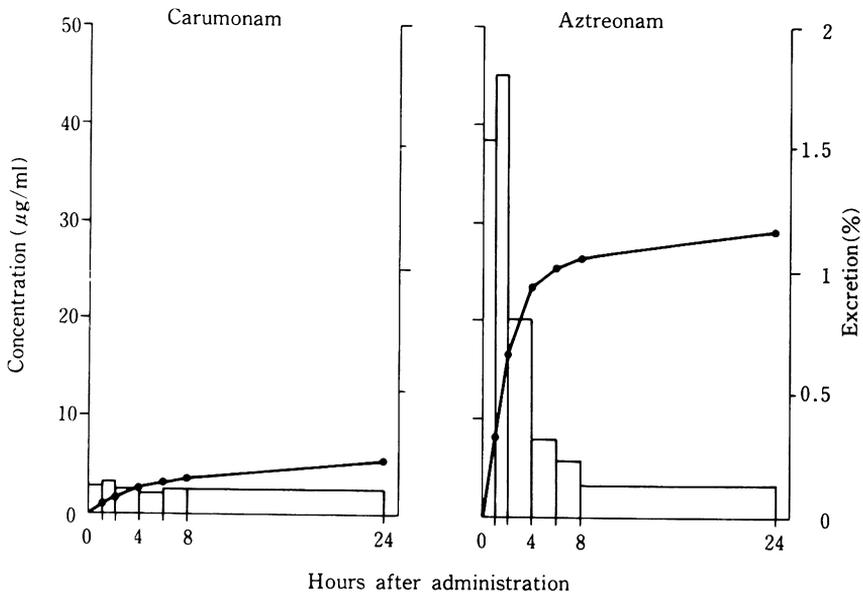


Fig. 10 Biliary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in rabbits after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.



ラットおよびサルにおける尿中排泄率は投与後 24 時間以内に投与量の 60%以上となり、AZT のそれ (50%以下) より高かった。一方、ウサギ (73%) およびイヌ (51%) における CRMN の尿中排泄率は AZT のそれ (ウサギ 81%, イヌ 69%) に比べて若干低かった。

3-2) 胆汁中排泄率: CRMN および AZT のラット, ウサギおよびイヌにおける胆汁中排泄の経過をそれぞれ Fig. 9~11 に示す。CRMN の胆汁中排泄率はラットでは投与量の 4.1%, ウサギおよびイヌでは 0.1~0.2%で、AZT (ラット 19.1%, ウサギおよびイヌ約 1%) に比べて低かった。

Fig. 11 Biliary concentrations and excretion of carumonam and aztreonam in dogs after a single intramuscular administration of 20 mg/kg.

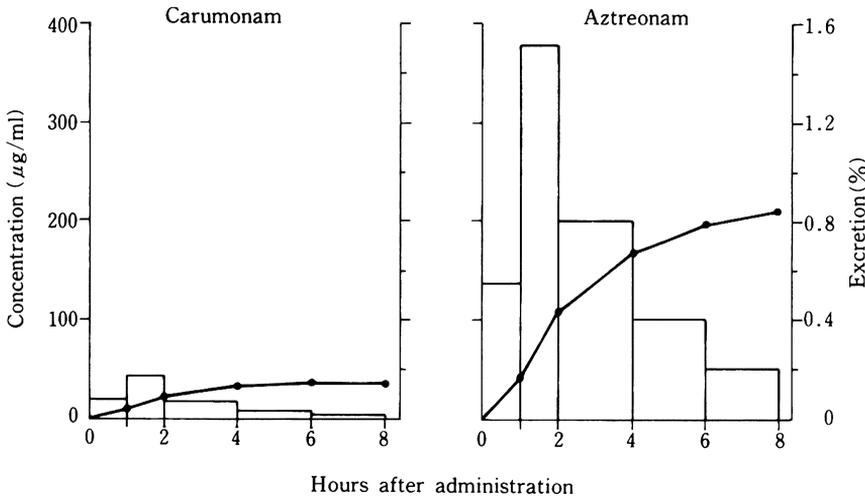


Table 2 Protein binding in sera of animals and humans determined by equilibrium dialysis

Organism	Serum protein binding (%)	
	Carumonam	Aztreonam
Mouse	20	84
Rat	36	85
Rabbit	21	55
Dog	11	20
Monkey	24	47
Human	28	62
HSA ^a	34	66

a: 4% Human serum albumin solution.

考 察

CRMN および AZT は単環性の N-sulfo-β-lactam 抗生物質で、化学構造ばかりでなく、抗菌活性も類似している。両薬剤ともにグラム陰性菌に強い抗菌力を示すが、CRMN は *K. oxytoca*, *K. pneumoniae* および *E. cloacae* などに対しては AZT より強い抗菌性を示す¹⁾。本報では、各種実験動物における体内動態について、両薬剤を比較検討した。

両薬剤の体内動態は類似している点が多い。つまり、血中濃度の Cmax, AUC および t_{1/2} はラット以外では類似している。しかし、血清蛋白結合率は動物種間で異なるが、CRMN は AZT の 1/2~1/4 程度の低い蛋白結合率を示す。MERRIKIN⁷⁾ は、血清蛋白結合率の高い β-lactam 抗生物質では t_{1/2} が長いことを示したが、他の研究者^{8,9,10)} は血清蛋白結合率と t_{1/2} との間に相関関係は認められないと報告している。CRMN および AZT においても両パラメーター間に相関性は認められなかった。

CRMN の腎濃度は血中濃度より高く、またマウス、ラットおよびウサギでは AZT のそれに比して高かった。イヌおよびサルでは両薬剤の腎濃度は同程度であった。一方、マウス、ラット、ウサギおよびサルにおける AZT の肝濃度は CRMN に比して高く、イヌにおいては同程度であった。CRMN の肝

4. 代謝物の検索

CRMN を投与したマウス、ラット、イヌおよびサルの血漿、尿および胆汁中には活性代謝物は検出されなかったが、β-lactam の開環体がサルの尿中に少量 (投与量の 5% 以下) 見出された。

5. 血清蛋白結合率

CRMN および AZT の動物およびヒトにおける血清蛋白結合率を Table 2 に示す。CRMN の蛋白結合率は 11% (イヌ) ~ 36% (ラット) で、いずれの動物種においても AZT の蛋白結合率 [55% (ウサギ) ~ 85% (ラット)] に比べて低かった。

濃度は腎濃度より低いが、AZTの肝濃度はマウスおよびサルでは腎濃度より高かった。このように、両薬剤の腎および肝への移行性は動物種により異なっているが、これは両薬剤の尿および胆汁中への排泄に反映された。すなわち、CRMNのマウス、ラットおよびサルにおける尿中排泄率はAZTのそれに比して高かった。イヌではAZTの方がCRMNより高い尿中排泄率を示した。ウサギにおける両薬剤の肝内移行性は低かったが、尿中排泄率は他の動物種に比して最も高かった。一方、CRMNの胆汁中排泄率はAZTに比して低かったが、この差異は両薬剤の肝内移行濃度に関連しているものと考えられる。また、CRMNの肝-胆道系への移行性がAZTに比べて低いことが、CRMNが相対的にAZTよりも腎へよく移行し、高い尿中排泄率を示す要因になっているものと考えられる。

CRMNを投与したマウス、ラット、イヌおよびサルの尿中に活性代謝物は検出されなかったが、CRMNの β -lactam開環体がサルの尿中に見いだされた。この β -lactam開環体はAZTを投与したラット、イヌおよびサルの尿および胆汁中にも検出されている¹¹⁾。

以上のとおり、CRMNは構造的に類似したAZTと一般的に類似した体内動態を示すが、両薬剤間には血清蛋白結合率、腎および肝濃度、尿中および胆汁中排泄率の点で若干の差異がみられた。

謝 辞

本研究に御協力いただいた当中央研究所の水田栄治(薬動力学的解析)、増岡通夫(サルの投与実験)、前田憲一、木村義昭、宮地美江(技術援助)の諸氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 近藤正熙, 西 武, 中尾雅文, 深沢一郎, 野路弓子, 今田 哲: 新規単環性 N-sulfo- β -lactam 抗生物質, carumonam の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用. *Chemotherapy* 35(S-2):104~145, 1987
- 2) SYKES, R.B. ; D.P. BONNER, K. BUSH & N.H. GEORGOPAPADAKOU: Azthreonam (SQ 26, 776), a synthetic monobactam specifically active against aerobic gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 21 : 85~92, 1982
- 3) PILKIEWICZ, F.G. ; B.J. REMSBURG, S.M. FISHER & R.B. SYKES: High-pressure liquid chromatographic analysis of aztreonam in sera and urine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 23 : 852~856, 1983
- 4) 近藤正熙, 野路弓子, 土屋皖司: Cefmenoxime (SCE-1365) の蛋白結合率. *Chemotherapy* 29 (S-1) : 200~205, 1981
- 5) 大内田 明, 水田栄治, 島 高: 電子計算機による薬物の血中濃度曲線のシミュレーション. *武田研報* 32 : 522~531, 1973
- 6) MIZUTA, E. & A. TSUBOTANI : Preparation of mean drug concentration-time curves in plasma. A study of the frequency distribution of pharmacokinetic parameters. *Chem. Pharm. Bull.* 33 : 1620~1632, 1985
- 7) MERRIKIN, D.J. ; J. BRIANT & G.N.ROLINSON : Effect of protein binding on antibiotic activity *in vivo*. *J. Antimicrob. Chemother.* 11 : 233~238, 1983
- 8) DUDLEY, M.N. & C.H. NIGHTINGALE : Effect of protein binding on the pharmacology of cephalosporins. In H.C. NEU ed., *New β -lactam antibiotics : A review from chemistry to clinical efficacy of the new cephalosporins.* Francis Clark Wood Institute for the History of Medical College of Physicians of Philadelphia. pp. 227~239, 1982
- 9) WISE, R. ; A.P. Gillett, B. Cadge, S.R. DURHAM & S. BAKER: The influence of protein binding upon tissue fluid levels of six β -lactam antibiotics. *J. Infect. Dis.* 142 : 77~82, 1980
- 10) WISE, R. ; Protein binding of β -lactams : The effects on activity and pharmacology particularly tissue penetration. *J. Antimicrob. Chemother.* 12 : 1~18, 1983
- 11) KRIPALANI, K.J. ; S.M. SINGHVI, S.H. WEINSTEIN, D.W. EVERETT, M.S. BATHALA, A.V. DEAN, C.E. ITA, L. LAWRENCE, F.S. MEEKER, JR., J.M. SHAW, B.D. WALKER & B.H. MIGDALOF : Disposition of [¹⁴C] aztreonam in rats, dogs, and monkeys. *Antimicrob. Agents Chemother.* 26 : 119~126, 1984

PHARMACOKINETICS OF CARUMONAM IN EXPERIMENTAL ANIMALS

YASUO KITA, TAKESHI FUGONO and AKIRA IMADA

Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka

The pharmacokinetic properties of carumonam (CRMN) were studied in mice, rats, rabbits, dogs, and cynomolgus monkeys and compared with those of aztreonam (AZT). CRMN administered subcutaneously in mice or intramuscularly in other animals at a dose of 20 mg/kg was readily absorbed and distributed at high concentrations in the plasma, kidney, liver (except in rabbits), and lung as was AZT. The peak plasma levels of CRMN were ($\mu\text{g/ml}$): mouse 41, rat 38, rabbit 45, dog 36 and monkey 67. The areas under the plasma concentration-time curve were ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$): mouse 20, rat 24, rabbit 67, dog 61 and monkey 80. The plasma half-lives were (h): mouse 0.24, rat 0.28, rabbit 0.73, dog 1.10 and monkey 0.89. All these ranges were comparable to respective values for AZT. The kidney levels of CRMN in all species were much higher, and the liver levels in mice, rats, and dogs were comparatively higher than the respective plasma levels; the levels in other tissues were less than the plasma levels. The kidney level of CRMN was usually higher than that of AZT, whereas the liver level of CRMN was usually lower.

CRMN was excreted mainly in urine; the recovery ranged from 51 % in dogs to 73 % in rabbits. Urinary recovery of CRMN in mice, rats, and monkeys was higher, but in rabbits and dogs lower than that of AZT. Biliary excretion of CRMN, 4.1 % in rats and less than 0.2 % in rabbits and dogs, was lower than that of AZT, namely, 19.1 % in rats and c. 1 % in rabbits and dogs.

The extent of protein binding of CRMN in sera of animals and humans, which ranged from 11 % in dogs to 36 % in rats, was lower than that of AZT, which ranged from 55 % in rabbits to 85 % in rats.