

Carumonam のイヌおよびウサギにおける腎排泄機序

喜多八洲男・今田 哲

武田薬品工業株式会社中央研究所

Carumonam のイヌおよびウサギにおける腎排泄機序について、Stop-flow 法により検討した。イヌでは carumonam の近位および遠位尿細管部位からの分泌および再吸収は認められず、probenecid 併用の影響もみられなかった。一方、ウサギでは carumonam の近位尿細管部位からの分泌が認められた。この尿細管分泌は probenecid の併用により完全に抑制された。

したがって、carumonam はイヌでは主として糸球体濾過により、ウサギでは糸球体濾過（約 60%）と近位尿細管分泌（約 40%）によって排泄される。

緒 言

Carumonam (CRMN) は新しく合成された単環性の N-sulfo- β -lactam 抗生物質で、*Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌に強い抗菌力を示す¹⁾。CRMN を実験動物に皮下または筋肉内投与すると、速やかに吸収され、高い血中および臓器内濃度を示し、主として尿中に排泄される²⁾。

本報では、イヌおよびウサギにおける CRMN の腎排泄機序を Stop-flow 法により検討した成績について述べる。

実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

CRMN は武田薬品・中央研究所で合成されたものを、その他の試薬は市販の特級品を用いた。

2. 実験動物

イヌは Beagle 種、雄、生後 8~10 カ月齢、体重 10~12 kg、ウサギは New Zealand White、雄、生後 3~3.5 カ月齢、体重 2.5~3.5 kg の健康なものを用いた。いずれも薬剤投与前 16~18 時間の絶食を行った。

3. Stop-flow 法による実験

3-1) 手術処置

動物は sodium pentobarbital (Nembutal, Abbott Labs.) の 30 mg/kg を静注投与して麻酔し、気管切開カニューレ挿入後、正中切開して左輸尿管にポリエチレンチューブを挿入し、尿を採取した。

被験薬物は左大腿静脈に挿入したカニューレより priming および sustaining 投与を行った。採血は右大腿動脈より行った。

3-2) 被験薬物溶液の調製

Priming 投与用薬液：p-アミノ馬尿酸 (PAH, Sigma Chemical Co.) は 200 mg/ml 濃度、クレアチニン (Cr, 和光純薬) は 100 mg/ml 濃度、CRMN は 100 mg/ml 濃度にそれぞれ滅菌蒸留水を加えて溶解した。

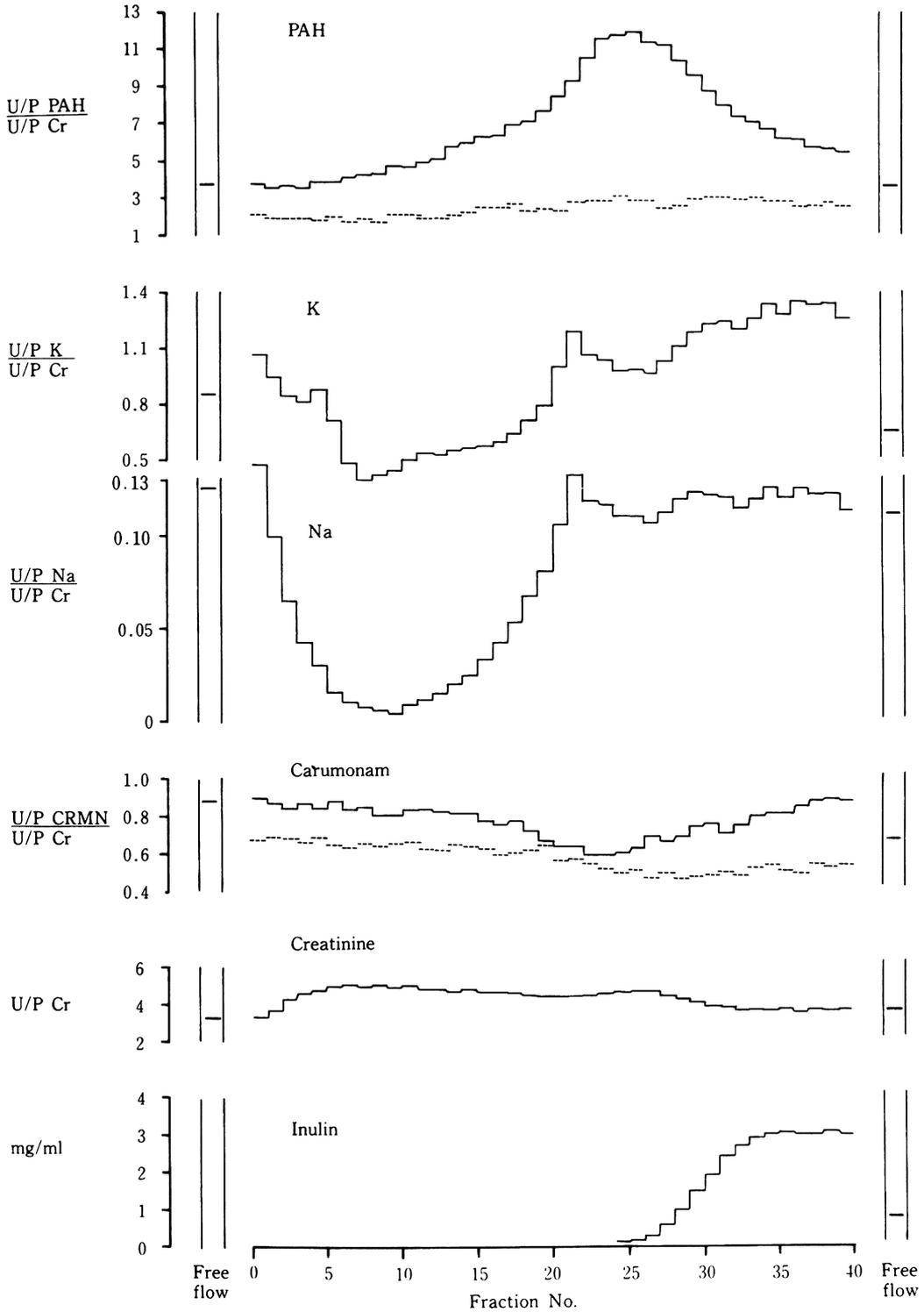
Sustaining 投与用薬液：薬液 I として、D-マンニトール (和光純薬) 15% (w/v)、Cr 0.25%、PAH 0.1%、塩化ナトリウム (和光純薬) 0.9% を含む水溶液を用いた。薬液 II としては上記の薬液 I に CRMN 170 μ g/ml 添加したものを用いた。

Probenecid 溶液：Probenecid (Sigma Chemical Co.) は当量の 1N NaOH および滅菌水を加え、加温により溶解した (60 mg/ml, pH 7~8)。

3-3) Stop-flow 法

イヌ：左大腿静脈より、PAH 20 mg/kg (20 mg/0.1 ml/kg) および Cr 100 mg/kg (100 mg/ml/kg) を priming 投与し、続いて薬液 I を 0.5 ml/min/kg の速度で注入した。排泄尿量がほぼ一定 (約 10 ml/min) となった薬液 I 注入開始 1 時間後に、CRMN 10 mg/kg (10 mg/0.1 ml/kg) を priming 投与し、続いて薬液 II を 0.5 ml/min/kg で sustaining 投与した。その後 10 分間隔で 3 回採尿し、採尿中央点で血液も 3 回採取して、Free-flow クリアランス測定用試料とした。次いで、輸尿管カテーテルを止血鉗

Fig. 1 Stop-flow pattern of carumonam in dogs.
Before (—), and after (-----) administration of probenecid.



子ではさみ、尿流を停止させ、5分後にイヌリン 50 mg/kg (50 mg/ml/kg) を静注し、その1分後に止血鉗子を開放して、噴出する尿を約0.4 ml ずつ連続的に40本分画採取した。

次に、probenecid 併用の影響をみるために、上記の Stop-flow 尿採取終了40分後に、probenecid 30 mg/kg (30 mg/0.5 ml/kg) を静注し、その30分後に上記の方法により Stop-flow 尿を連続的に40本採取した。

ウサギ：ウサギにおける Stop-flow 法は尿検体を約0.3 ml ずつ連続的に20本採取した以外はイヌでの実験に準じて行った。

4. 分析方法

4-1) CRMN の定量

a) Bioassay 法：CRMN の血漿中および尿中濃度は *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²⁾。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、また尿検体のそれは0.1M 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。

b) HPLC 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、HPLC 用蒸留水で適宜希釈したものを、尿も HPLC 用蒸留水で適宜希釈したものを、また同一動物種の血漿および尿に標準薬剤溶液を添加後、それぞれ上記のように処理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、既報²⁾ に準じて分別定量した。

4-2) p-アミノ馬尿酸の定量

血漿中および尿中の PAH 濃度は WAUGH & BEALL の方法³⁾ に準じて比色定量した。

4-3) イヌリンの定量

尿中のイヌリン濃度は SCHREINER の方法⁴⁾ に準じて比色定量した。

4-4) クレアチニンの定量

血漿中および尿中のクレアチニン濃度は FOLIN & WU の方法⁵⁾ に基づいて、クレアチニン測定用キット (Creatinine-Test Wako, 和光純薬) により比色定量した。

4-5) Na⁺, K⁺ の定量

血漿中および尿中の Na⁺ および K⁺ 濃度は蛍光光度分析法 (日立 205 型蛍光光度計使用) により測

定した。

実験成績および考察

CRMN のイヌおよびウサギにおける Stop-flow パターン：

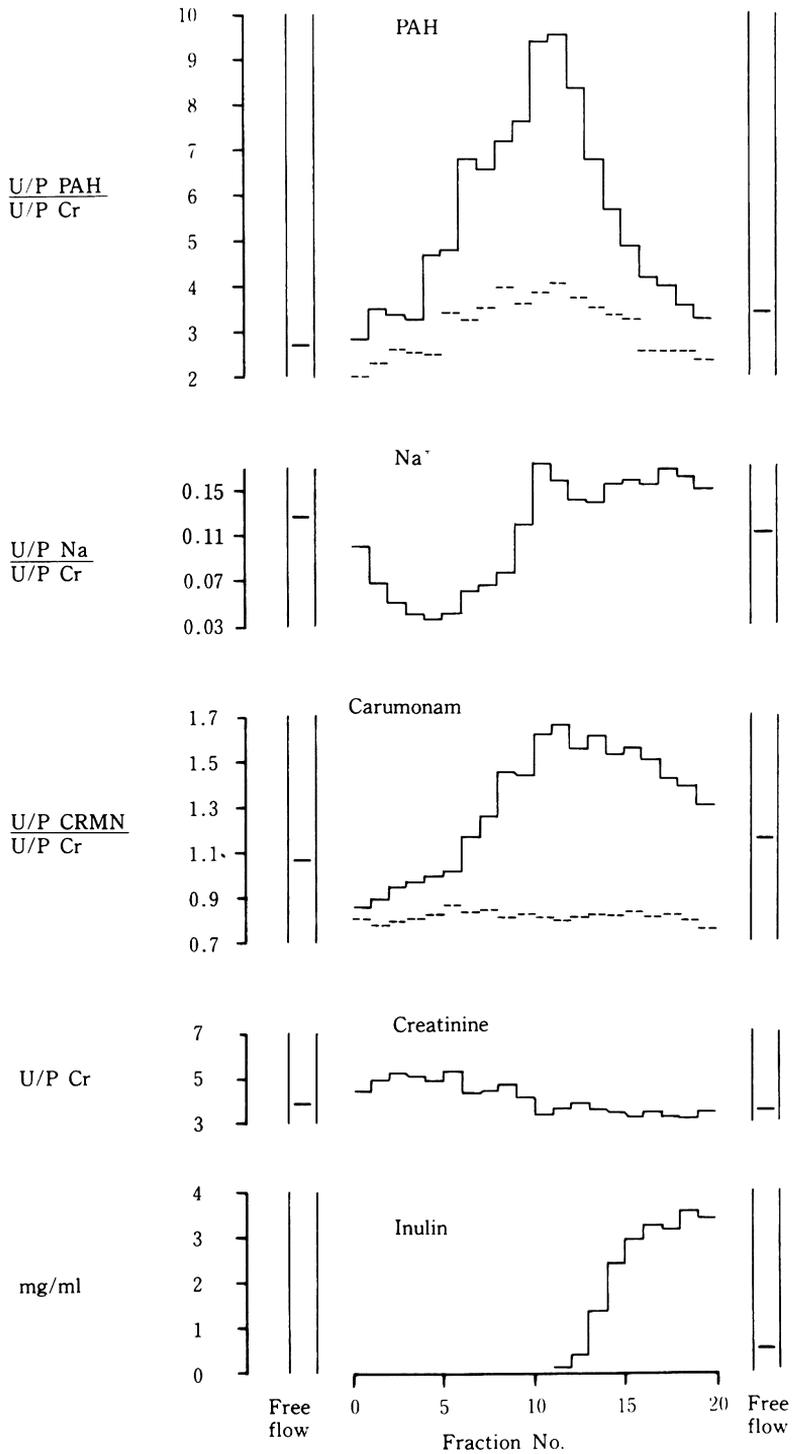
CRMN の腎排泄機序について、イヌおよびウサギを用いた Stop-flow 法により検討した。尿細管各部位の指標として、近位尿細管分泌には PAH、遠位尿細管再吸収には Na⁺, K⁺ の濃度を測定した。イヌリンは尿管解放直前に投与し、糸球体原尿の指標とした。さらに、尿中および血中の Cr 濃度を測定し、尿中および血中 Cr 濃度比 (U/P Cr) を尿濃縮の指標とした。

イヌおよびウサギにおける典型的な Stop-flow パターンを Fig. 1 および 2 に示す。このパターンの縦軸は、各種測定物質の尿中および血中濃度比 (U/P) を U/P Cr で除した値で表示している。イヌにおいては、近位尿細管部位を示す PAH の正のピーク出現部位にも、遠位尿細管部位を示す Na⁺, K⁺ 濃度の負のピーク出現部位にも、CRMN のピークは認められなかった。また、probenecid を前投与し、近位尿細管分泌を抑制すると、PAH のピークは消失したが、CRMN のパターンに特定の変化はなかった。したがって、CRMN はイヌでは主として糸球体濾過によって排泄され、尿細管からの分泌および再吸収はほとんどないものと考えられる。

一方、ウサギにおいては、近位尿細管部位を示す PAH のピーク位置に CRMN のピークが認められた。Na⁺ 濃度の極小域では CRMN の濃度変化はみられなかった。また、probenecid 併用時には PAH と同様に、CRMN のピークが消失した。したがって、CRMN はウサギにおいてはイヌの場合と異なり、糸球体濾過および近位尿細管分泌によって排泄されるものと考えられる。CRMN の尿細管分泌は Free-flow クリアランスの結果から、尿中排泄量の約 40% であった。

このように、CRMN の腎排泄機序は動物種によってかなり相違するものと考えられる。WEIDEKAMM ら⁶⁾ は健康成人における CRMN の体内動態に及ぼす probenecid 併用投与の影響を検討した結果、CRMN の血中濃度曲線下面積、血中半減期、腎クリアランスおよび尿中排泄率は probenecid を併用してもほとんど変化しないことを認め、CRMN は主として糸球体濾過により排泄されるも

Fig. 2 Stop-flow pattern of carumonam in rabbits.
Before (—), and after (-----) administration of probenecid.



のと推論している。一方、熊田ら⁷⁾および斎藤ら⁸⁾は CRMN の健康成人における血中濃度半減期が probenecid の前投与で若干延長することを報告しているが、その程度はわずかである。

謝 辞

本研究に御協力いただいた当中央研究所の木村義昭、岸上茂和の両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) 喜多八洲男, 畚野 剛, 今田 哲: Carumonam の実験動物における体内動態. *Chemotherapy* 35(S-2): 187~197, 1987
- 3) WAUGH, W.H. & P.T. BEALL: Simplified measurement of p-aminohippurate and other arylamines in plasma and urine. *Kidney Int.* 5: 429~436, 1974
- 4) SCHREINER, G.E.: Determination of inulin by means of resorcinol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 74: 117~120, 1950
- 5) FOLIN, O. & H. WU: A system of blood analysis. *J. Biol. Chem.* 38: 81~110, 1919
- 6) WEIDEKAMM, E.; K. STOECKEL, H.-J. EGGER & W. H. ZIEGLER: Single-dose pharmacokinetics of Ro 17-2301 (AMA-1080), a monocyclic β -lactam, in humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 26: 898~902, 1984
- 7) 熊田徹平, 清水喜八郎, 深田智子: Carumonam の体内動態に関する研究. *Chemotherapy* 35(S-2): 234~236, 1987
- 8) 斎藤 篤, 嶋田甚五郎, 大森雅久, 柴 孝也, 山路武久, 北條敏夫, 加地正伸, 奥田新一郎, 堀 誠治, 宮原 正, 上田 泰: Carumonam にかんする臨床的研究. *Chemotherapy* 35(S-2): 288~299, 1987

MECHANISM OF RENAL EXCRETION OF CARUMONAM IN DOGS AND RABBITS

YASUO KITA and AKIRA IMADA

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

The mechanism of renal excretion of carumonam (CRMN) was investigated by stop-flow analysis in dogs and rabbits.

In dogs, there was no specific CRMN peak corresponding to the peak of p-aminohippuric acid (PAH) secretion nor of Na^+/K^+ reabsorption in the stop-flow pattern. Though the PAH peak disappeared when probenecid was administered, the CRMN stop-flow pattern showed no change.

In the stop-flow pattern in rabbits, the peak CRMN concentration corresponded to that of PAH and disappeared when probenecid was administered.

These results suggest that the renal excretion of CRMN in dogs takes place exclusively through glomerular filtration. In rabbits, however, CRMN is excreted through glomerular filtration (c. 60%) and renal tubular secretion (c. 40%).