

Cefotiam hexetil のマウス、ラット及びイヌにおける体内動態 ——セフェム骨格成分を中心とした検討——

喜多八洲男・浜口 直・平井真一郎・今田 哲

武田薬品工業株式会社中央研究所*

Cefotiam hexetil のマウス、ラット及びイヌにおける経口投与後の体内動態について cefotiam 濃度を測定することにより検討し、次の成績を得た。

1. マウス及びラットにおける cefotiam hexetil 20 mg (cefotiam 換算量)/kg 経口投与時の血漿及び臓器内濃度はマウスでは投与後 5~10 分、ラットでは投与後 15~30 分にそれぞれ最高値を示した。臓器内移行性は良好で、特に肝及び腎への移行が大であった。イヌにおける 20 mg (cefotiam 換算量)/kg 投与時の血漿中濃度は投与後 1 時間に最高値を示し、マウス、ラットのそれに比較して持続的であった。
2. Cefotiam hexetil 20 mg (cefotiam 換算量)/kg 投与時の尿中排泄率はマウスで投与量の 23.2% (24 時間以内)、ラットで 8.3% (24 時間以内)、イヌでは 4.7% (6 時間以内) で、マウスが比較的高かった。胆汁中排泄率はラットで投与量の 8.4% (24 時間以内) であった。
3. ラットの腸管における cefotiam hexetil の吸収部位は主として十二指腸及び空腸上部であった。
4. Cefotiam hexetil を投与したマウス及びラットの尿中代謝物はいずれも cefotiam が主体であるが、マウスでは cefotiam の他に少量の SCE-1006 及び SCE-1136 が、またラットでは微量の SCE-1006 が検出された。
5. マウスに cefotiam hexetil 20 mg (cefotiam 換算量)/kg 経口投与した時の血中濃度曲線下面積 ($5.1 \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$) 及び尿中排泄率 (23.2%) は cefotiam を皮下投与した時のそれらと比較すると、それぞれ 47.7% 及び 47.3% であった。

Key words : Cefotiam hexetil, 体内動態, マウス, ラット, イヌ

Cefotiam hexetil (CTM-HE, SCE-2174) は cefotiam のエステル型プロドラッグであり、それ自身は抗菌力を示さないが、経口投与後小腸壁より速やかに吸収され、直ちに活性体である cefotiam に変換されて、血中及び組織内へ移行する¹⁾。

本報では、マウス、ラット及びイヌにおける cefotiam hexetil 投与時の体内動態について、cefotiam 濃度を測定することにより検討した成績を述べる。

実験材料及び実験方法

1. 使用薬剤

Cefotiam hexetil 及びその代謝生成物 (Δ^3 -cefotiam, SCE-1006, SCE-1136; Fig. 1) は武田薬品・中央研究所で合成された標品を用いた。

Cefotiam (hydrochloride) は市販品を用いた。なお、cefotiam hexetil (hydrochloride) の 1 mg は活性成分 cefotiam の 638 μg を含む。以下、cefotiam hexetil の投与量は cefotiam 力価換算で表示する。

2. 実験動物

マウスは Slc : ICR, 雄, 3~8 週齢, 体重 8~36 g, ラットは Jcl : SD, 雄, 6 週齢, 体重 170~210 g, イヌは Beagle 種, 雌, 生後 1~1.5 年齢, 体重 10~15 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

Cefotiam hexetil の投与量は臨床における推定 1 日最大投与量 (1200 mg) をもとに、cefotiam 力価

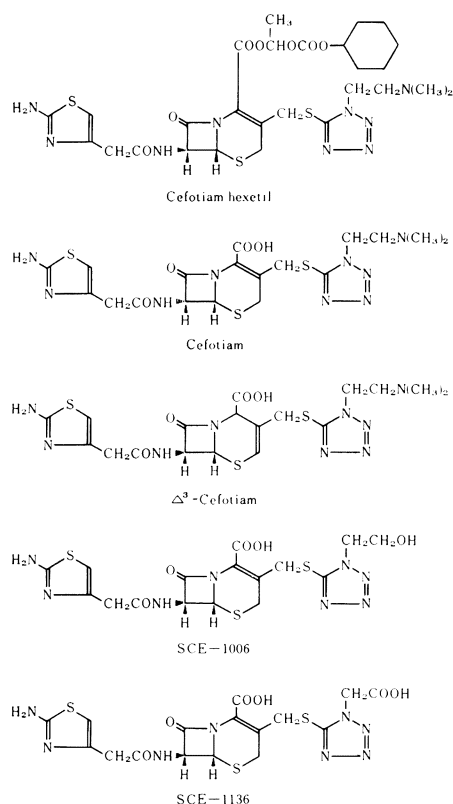


Fig. 1 Chemical structures of cefotiam hexetil and its related compounds.

として 20 mg/kg とし、所定量の薬剤を滅菌蒸留水または低濃度の塩酸 (1% 溶液では 0.004N HCl) に溶解し、マウスでは体重 10 g あたり 0.1 ml, ラットでは体重 100 g あたり 0.5 ml, イヌでは体重 1 kg あたり 1 ml をゾンデ (マウス及びラット) またはゴム製カテーテル (イヌ) を用いて胃内に経口投与した。

4. 検体の採取

4-1) 血漿：薬剤投与後の所定時間に、マウス及びラットではエチルエーテル麻醉下で腋窩動・静脈を切断し、イヌでは前肢静脈より、それぞれ少量のヘパリンと共に採血した。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：薬剤投与後の所定時間に、放血致死させた動物より直ちに肺、肝、脾及び腎を摘出し、冷却生理食塩水で洗浄後、臓器重量 (約 100 mg 秤量) の 9 倍量の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えてホモジナイズし、その遠心分離上清を薬剤濃度

の測定に用いた。

4-3) 尿：マウス及びラットでは薬剤投与後、個体の代謝ケージに入れ、所定時間内の尿を採取した。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：エチルエーテル麻醉下にラットを開腹し、総胆管にポリエチレン製チューブを挿入し、流出する胆汁を薬剤投与後の所定時間内に採取した。

これらの検体は当日、または -80°C に凍結保存して 1 週間以内に薬剤濃度を測定した。この保存条件下では生体試料中の cefotiam 活性は低下しなかった。

5. 薬剤濃度の測定

5-1) Bioassay 法²⁾：体液及び臓器抽出液中の cefotiam 濃度は *Proteus mirabilis* ATCC 21100 を試験菌、DST agar (Oxoid) を試験用培地とする Agar well 法により測定した。血漿検体の薬剤濃度は同一動物種の血漿で希釈した標準薬剤溶液により得られた標準曲線を、また尿、胆汁及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：Cefotiam hexetil を投与したマウス及びラットの尿中活性代謝物は TLC-bioautography により検索した。まず、Spotfilm (シリカゲル f, 20×20 cm, 東京化成) をシリコン油 (DC-200, 西尾工業) の 5% エーテル溶液中で一夜、上昇法により展開後通風乾燥した。このプレートに cefotiam, SCE-1006, SCE-1136 などの標準液及び尿検体の所定量をスポットし、風乾した後、1% NaCl 溶液を展開溶媒とする上昇法により展開した。Bioautography²⁾ には試験菌として *Providencia rettgeri* ATCC 9250, 試験用培地として MacConkey agar (栄研) を用いた。

5-3) HPLC 法：マウス及びラットの尿中代謝物を HPLC により分別定量した。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それぞれ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を行った。

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

Column: Nucleosil 5C₁₈ (Sumitomo Chemical

Ind., 15×0.4 cm, i.d.)

Mobile phase: 0.1 M Acetate buffer (pH 3.9)

-CH₃CN (95:5)

Flow rate: 0.8 ml/min

Detection: UV detector (Model 440), 254 nm,
0.005 AUFS

Injection volume: 50 μl

Chart speed: 0.5 cm/min

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

6. 腸管吸収部位の検討

絶食したラットをペントバルビタール (65 mg/kg, i.m.) 麻酔下を開腹し, 十二指腸, 空腸上部, 空腸中部, 回腸の各部両端を約 10 cm の長さに結紮して, ループを作製した。Cefotiam hexetil の 20 mg/kg を各ループ内に注入後, 腹部を縫合し, 経時的に尾静脈より採血した。その血漿中濃度は bioassay 法により cefotiam 換算値として測定した。

7. *In vitro* 加水分解

マウス及びラットの血漿及び小腸, 肝のホモジネート中における cefotiam hexetil の加水分解をしら

べるため, 血漿あるいは 10% 小腸 (肝)/等張リン酸緩衝液 (pH 7.4) ホモジネート上澄液 (対照: 等張リン酸緩衝液, pH 7.4) 5 ml に等量の cefotiam hexetil 溶液 (final concn. 50 μg/ml) を加えて, 37°C で振盪反応させた。反応前及び反応後 30 分までの所定時間に, 反応液 0.5 ml を採取し, 等量の 0.1 N HCl を加えて遠心分離後, 上清中の分解生成物を HPLC により分別定量した。

Cefotiam 及び Δ³-cefotiam の定量には, 移動相として 0.03M (NH₄)₂SO₄-CH₃COOH-CH₃OH (100:3:2) を用いた。

8. 薬動学的解析

Cefotiam hexetil 投与後の血中濃度 (cefotiam 換算値) の薬動学的解析は, 大内田ら³⁾ が作製したプログラムを改良⁴⁾ して行った。マウス及びラットにおけるパラメーターは two-compartment open model により, イヌでは one-compartment open model により解析した。

9. 統計学的処理

実験成績の統計学的処理は Student の t-test により行った。

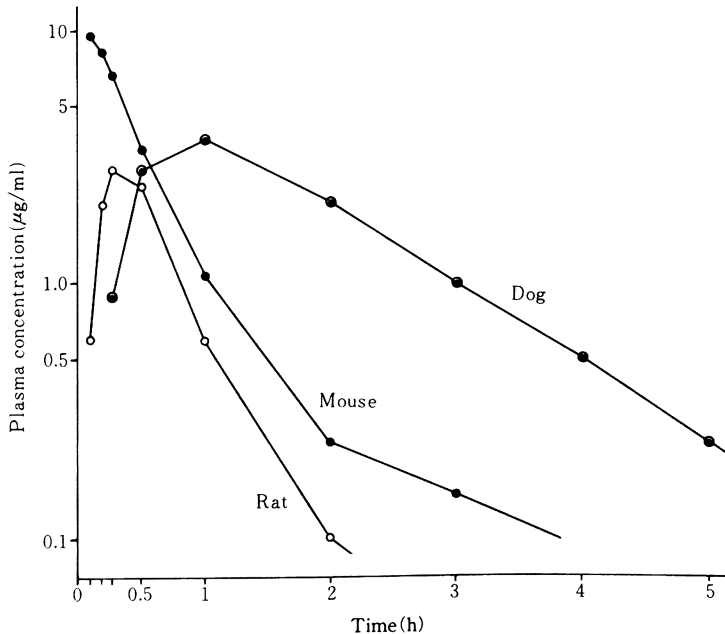


Fig. 2 Plasma concentrations of cefotiam after a single oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.) /kg of cefotiam hexetil to mice, rats and dogs.

実験成績

1. 血漿中濃度

マウス、ラット及びイヌに cefotiam hexetil を 20 mg/kg 経口投与した時の血漿中濃度 (cefotiam 換算値) を Fig. 2 に示す。マウスでは速やかに吸収され、投与後 5 分には最高血中濃度 (C_{max}) 9.4 µg/ml を示した。ラット及びイヌではマウスの場合と異なり、投与後 15 分及び 1 時間前後にそれぞれ C_{max} (ラット: 2.8 µg/ml, イヌ: 3.8 µg/ml) を示した。

Table 1 Pharmacokinetic parameters of cefotiam in mice, rats, and dogs after a single oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.)/kg of cefotiam hexetil

Animal (n)	C _{max} (µg/ml)	T _{max} (h)	AUC (µg·h/ml)	t _{1/2} (h)
Mouse (10)	9.4	0.09	5.1	1.3
Rat (6)	2.8	0.30	2.0	1.0
Dog (5)	3.8	0.86	8.0	0.9

See the text for the parameter analysis. The parameters were estimated from the mean plasma levels in plasma of different animals killed at various times; thus no SDs are given.

血中濃度曲線下面積 (AUC) はイヌ (8.0 µg·h/ml) 及びマウス (5.1 µg·h/ml) がラット (2.0 µg·h/ml) に比較して高かった。血中濃度半減期 (t_{1/2}) はいずれの動物種でも約 1 時間と大差はなかった (Table 1)。

なお、マウスに cefotiam の 20 mg/kg を皮下投与した時の AUC は 10.7 µg·h/ml であった。

2. 臓器内濃度

マウス及びラットに cefotiam hexetil を 20 mg/kg 経口投与後の臓器内濃度 (cefotiam 換算値) は、マウスでは投与後 10 分、ラットでは投与後 15~30 分にそれぞれ最高値に達し、3 時間後にはほぼ検出限界濃度まで低下した (Fig. 3, 4)。マウス、ラット共に腎及び肝濃度が高く、肺及び脾濃度は血中濃度より低かった。マウスにおける肝濃度と腎濃度はほぼ同じ推移を示した。

3. 尿中及び胆汁中排泄率

3-1) 尿中排泄率: マウス、ラット及びイヌに cefotiam hexetil を 20 mg/kg 経口投与した時の尿中排泄の経過 (cefotiam 換算値) を Table 2 に示す。マウス及びラットでは投与後 24 時間にそれぞれ投与量の 23.2% 及び 8.3% の尿中排泄率、イヌでは投与後 6 時間に投与量の 4.7% の排泄率を示した。

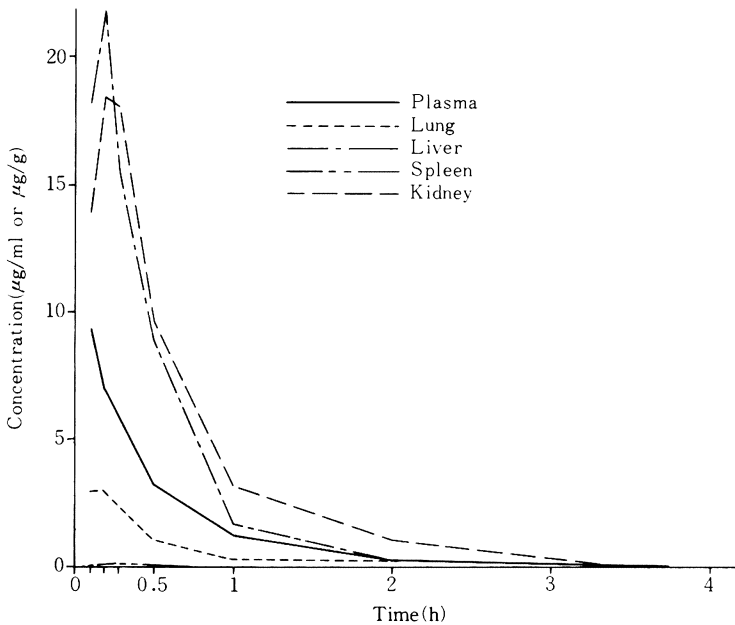


Fig. 3 Plasma and tissue concentrations of cefotiam after a single oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.) /kg of cefotiam hexetil to mice.

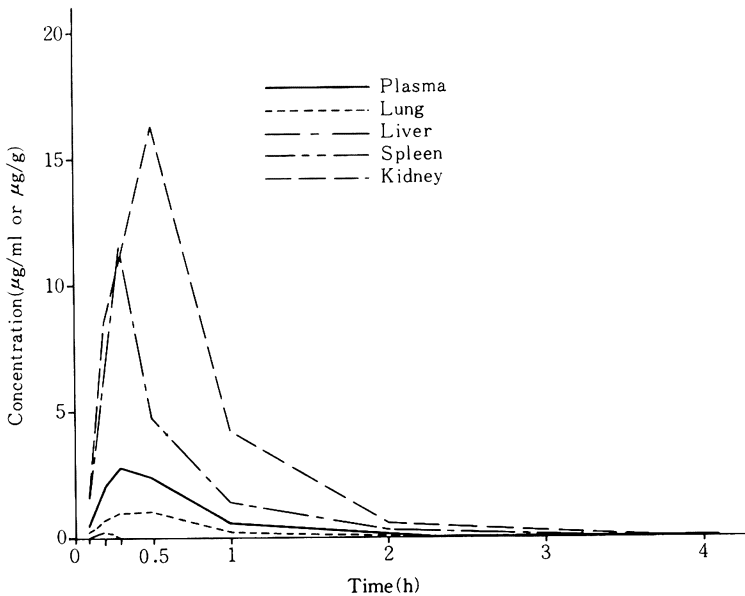


Fig. 4 Plasma and tissue concentrations of cefotiam after a single oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.) /kg of cefotiam hexetil to rats.

Table 2 Urinary concentrations and excretion of cefotiam after a single oral administration of 20 mg(cefotiam equiv.) /kg of cefotiam hexetil to mice, rats and dogs

Animal	(n)	Time (h)	Concentration (µg/ml)	Excretion (%)
Mouse	(20)	0- 8	122 ± 31.4	22.8±4.1
		8-24	1.0± 0.7	0.4±0.3
Rat	(10)	0- 8	66.7± 18.3	8.0±2.9
		8-24	1.1± 0.9	0.3±0.2
Dog	(5)	0- 1	334 ±183	2.0±0.9
		1- 2	428 ±310	1.4±0.2
		2- 4	257 ±103	0.9±0.4
		4- 6	81.2± 42.0	0.4±0.3

All values are expressed as means±SD.

なお、マウスに cefotiam 20 mg/kg を皮下投与後 24 時間における尿中排泄率は投与量の 49.0%であった⁵⁾。

3-2) 胆汁中排泄率：ラットに cefotiam hexetil を 20 mg/kg 経口投与後 24 時間における胆汁中排泄率 (cefotiam 換算値) は投与量の 8.4%で、尿中排泄率とほぼ同程度であった (Fig. 5)。

4. 週齢の影響

マウスにおける cefotiam hexetil の吸収、排泄に

及ぼす週齢の影響を検討するために、生後 3, 4, 5, 6 及び 8 週齢のマウスに cefotiam hexetil を 20 mg/kg 経口投与し、血漿中濃度及び尿中排泄率 (cefotiam 換算値) を測定した (Table 3)。血中濃度の AUC 及び尿中排泄率は幼若マウスの方が比較的高く、週齢の増加するにしたがって低くなる傾向がみられた。

5. 腸管吸収部位

ラットの十二指腸、空腸上部、空腸中部、回腸の各部位のループ内に cefotiam hexetil を 20 mg/kg 注入後 3 時間までの血中濃度を測定し、AUC を算出した (Table 4)。Cefotiam hexetil は十二指腸及び空腸上部で比較的良好に吸収されたが、空腸及び回腸の腸管下部での吸収は極めて低かった。

6. *In vitro* 加水分解

Cefotiam hexetil はマウス、ラットの血漿及び小腸・肝ホモジネート中において、いずれも速やかに cefotiam に変換され、一部 Δ^3 -cefotiam も生成した。一方、cefotiam hexetil は pH 7.4 の等張リン酸緩衝液中においても緩やかに分解し、 Δ^3 -cefotiam を生成するが、この際 cefotiam の生成は認められなかった。これらのことは、cefotiam hexetil が血漿及び小腸・肝組織内に存在するエステ

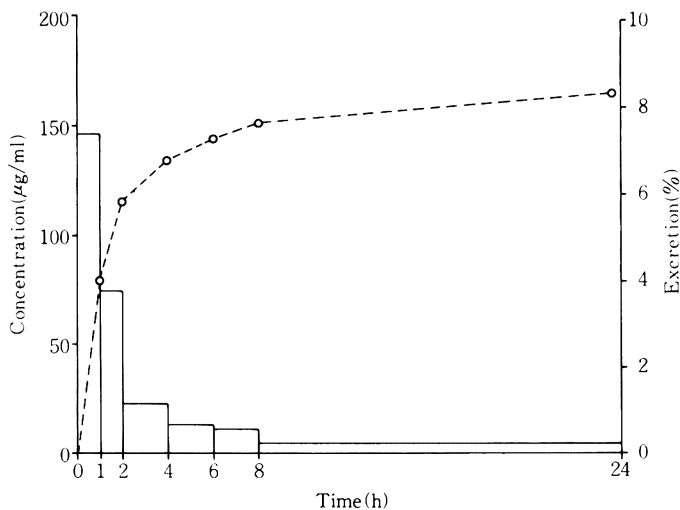


Fig. 5 Biliary excretion of cefotiam after a single oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.) /kg of cefotiam hexetil to rats.

Table 3 Plasma levels and urinary excretion of cefotiam after a single oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.) /kg of cefotiam hexetil to mice of various ages

Mouse age (week old)	AUC ^a (µg·h/ml)	Urinary excretion ^b (%)
3W	10.5	38.9 ± 15.5 ^c
4W	6.2	25.3 ± 4.8
5W	5.1	23.2 ± 4.1
6W	4.5	17.2 ± 6.4 ^d
8W	3.1	9.8 ± 3.2 ^c

a See the text for the parameter analysis of plasma levels.

b 24-h urinary excretion (mean ± SD, n=10~20).

c P<0.001 vs. 5W mice.

d P<0.02 vs. 5W mice.

Table 4 Absorption sites for cefotiam hexetil in rat intestine

Absorption site	AUC ^a (µg·h/ml)
Duodenum	2.73 ± 1.17
Upper-jejunum	2.79 ± 1.52
Jejunum	0.11 ± 0.06
Ileum	0.10 ± 0.08

a Each value represents the AUC (mean ± SD) of plasma levels within 3 hr after injection of 20 mg (cefotiam equiv.) /kg of cefotiam hexetil to each loop (ca. 10 cm) of rat intestine (n=3~5).

Table 5 In vitro conversion of cefotiam hexetil into cefotiam and Δ³-cefotiam in plasma and intestine- or liver-homogenate of mice and rats

Animal	Tissue	Cefotiam hexetil t _{1/2} (min)	Production (%)	
			Cefotiam	Δ ³ -Cefotiam
Mouse	Plasma	0.61	60.5	29.6
	Intestine	0.38	87.6	10.6
	Liver	2.00	76.7	26.3
Rat	Plasma	0.36	67.9	13.1
	Intestine	0.79	89.3	10.8
	Liver	7.03	22.7	57.7
Isotonic phosphate buffer (pH7.4)		15.0	ND ^a	34.1

Cefotiam hexetil (final concn. 50 µg/ml) was incubated with plasma (50%), and intestine- or liver-homogenate (5%) at 37°C for 30 min.

a ND: Not detected.

ラーゼによって速やかに cefotiam に変換されることを示している (Table 5)。

7. 尿中活性代謝物の検索

マウス及びラットの尿中における cefotiam hexetil の活性代謝物を TLC-bioautography 及び HPLC によって検討した (Table 6)。

マウスの尿中には cefotiam hexetil の活性代謝物

Table 6 Metabolites in urine specimens of mice and rats given cefotiam hexetil orally

Metabolite	HPLC ^a			TLC-bioautography ^b		
	Rt (min)	Mouse urine ^c (%)	Rat urine ^c (%)	Rf	Mouse urine ^c (%)	Rat urine ^c (%)
Cefotiam	11.6	20.2±4.4	7.0±1.3	0.08	12 ±2.5	4.1±1.7
SCE-1006	17.8	3.4±0.6	0.4±0.1	0.28	4.3±0.5	0.1
SCE-1136	4.6	ND ^d	ND	0.58	2.0±0.2	ND
Unknown	— ^e	—	—	0.41	± ^f	ND

a See the text for HPLC.

b See the text for TLC-bioautography.

c Cefotiam hexetil 100 mg (cefotiam equiv.)/kg (p. o.), 0~8 h urine (n=4~5).

d ND: Not detected.

e —: Not determined.

f ±: Trace.

として、cefotiam (20.2%)の他、少量の SCE-1006 (3.4%) 及び SCE-1136 (2.0%) が検出された。一方、ラットの尿中には主として cefotiam (7.0%) の他、微量の SCE-1006 (0.4%) が検出されたのみであった。

考 察

Cefotiam hexetil は cefotiam の 2 位カルボキシル基をエステル化することにより腸管吸収性を高めた経口剤である。本剤は経口投与すると、小腸より速やかに吸収され、小腸粘膜組織のエステラーゼによりエステル部分が加水分解されて、活性体である cefotiam となり血中及び組織内へ移行する¹⁾。

マウス、ラット及びイヌに cefotiam hexetil を経口投与すると、マウス及びイヌでは比較的良好な血中濃度を示し、持続的に推移したが、ラットにおける血中濃度推移はマウス、イヌに比して低かった (Fig. 2)。Cefotiam hexetil はマウス、ラットに投与後、cefotiam となって速やかに主要臓器に分布するが、特に肝及び腎への移行性は両動物共良好であった (Fig. 3, 4)。この臓器内移行のパターンは cefotiam の皮下または筋肉内投与時のそれ⁵⁾ に類似している。

ラットの腸管における cefotiam hexetil の吸収部位を *in situ* での腸管ループ法でしらべた結果 (Table 4)、cefotiam hexetil は主として十二指腸及び空腸上部で吸収されるものと考えられた。

Cefotiam hexetil の尿中における活性代謝物は cefotiam が主体であるが、マウスでは cefotiam の他に、3 位側鎖が一部変化した SCE-1006 及び SCE

-1136 が少量検出され、またラットでも微量の SCE-1006 が検出された (Table 6)。Cefotiam hexetil を投与したヒトの尿中にも cefotiam の他に、微量の SCE-1006 及び SCE-1136 が検出されている⁶⁾。

健康成人における cefotiam hexetil の bioavailability は約 60% であり¹⁾、マウスにおける cefotiam hexetil 20 mg/kg 経口投与時の血中濃度の AUC (5.1 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$) 及び尿中排泄率 (23.2%) と、cefotiam 20 mg/kg 皮下投与時の AUC (10.7 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$) 及び尿中排泄率 (49.0%) の比較から算出した bioavailability (約 48%) と同等またはやや良好と考えられる。

謝 辞

本研究に御協力いただいた当中央研究所 (現、筑波研究所) の水田栄治博士 (薬動学的解析)、木村義昭、岸上茂和 (実験援助) の諸氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 横田 健, 斎藤 篤: SCE-2174 の抗菌作用及び体内動態について。第 35 回日本化学療法学会総会講演抄録, 演題 230, 盛岡, 1987
- 2) 畚野 剛, 前田憲一: Cefotiam (SCE-963) の体内濃度測定法。Chemotherapy 27 (S-3): 106-111, 1979
- 3) 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
- 4) MIZUTA E, TSUBOTANI A: Preparation of mean drug concentration-time curves in plasma. A study of the frequency distribution of pharmaco-

- kinetic parameters. Chem. Pharm. Bull. 33 : 1620-1632, 1985
- 5) TSUCHIYA K, KONDO M, KITA Y, NOJI Y, TAKEUCHI M, FUGONO T: Absorption, distribution and excretion of SCE-963, a new broad spectrum cephalosporin, in mice, rats, rabbits and dogs. J. Antibiotics 31 : 1272-1282, 1978
- 6) 立野政雄, 衣非 脩, 杉山一郎: Cefotiam hexetil の臨床第一相試験。Chemotherapy 投稿中

PHARMACOKINETICS OF CEFOTIAM HEXETIL IN MICE, RATS AND DOGS

YASUO KITA, NAORU HAMAGUCHI,
SHINICHIRO HIRAI and AKIRA IMADA

Central Research Division, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

We studied the pharmacokinetic properties of cefotiam hexetil in mice, rats and dogs.

1. The plasma and tissue levels of cefotiam after oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.)/kg of cefotiam hexetil reached a peak at 5-10 min in mice and at 15-30 min in rats. The tissue levels of cefotiam in mice and rats were higher in liver and kidney than in plasma.
In dogs, cefotiam concentrations in plasma after oral administration of 20 mg (cefotiam equiv.)/kg of cefotiam hexetil peaked at 1 h and remained at higher levels than in other animals.
2. The 24-h urinary recovery of cefotiam after oral administration of cefotiam hexetil in mice and rats was 23.2% and 8.3%, and the 6-h urinary excretion of cefotiam in dogs was 4.7% of the dose. The biliary excretion of cefotiam in rats after the same administration regimen was 8.4% of the dose within 24 h.
3. In rats cefotiam hexetil was absorbed mainly in the duodenum and upper parts of the jejunum ; absorption in the rest of the jejunum and in the ileum was low.
4. Cefotiam was the main active metabolite detected in the urine specimens of mice and rats given cefotiam hexetil orally. Small amounts of SCE-1006 and SCE-1136 in mice, and of SCE-1006 in rats, were also detected.
5. The bioavailability of cefotiam hexetil in mice was 47.7% calculated from the AUC and 47.3% from the urinary recovery.