

新規経口セファロスポリン Cefotiam hexetilの  
ラット、マウス、イヌにおける生体内運命  
——エステル側鎖由来成分を中心にした検討——

棚山薫晴・吉田清志・三谷政義

塚本剛司・鳥井 洋

武田薬品工業株式会社中央研究所\*

1) セファロスポリン成分の動態

経口投与した  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil ( $^{14}\text{C}$ -CTM-HE) のセフォチアムとしての吸収率はラットで17%、マウスで43%、イヌでは8%であった。ラット、マウス、イヌにおけるセフォチアムの血漿中濃度はそれぞれ15, 5, 30分でピークに達し、その後の消失の半減期はそれぞれ0.9, 0.5, 1.0時間であった。これらの動物の血漿、尿、糞中にはセフォチアムの他に  $\Delta^3$ -セフォチアムも存在したが、未変化体と  $\Delta^3$ -CTM-HE は検出されなかった。*In vitro* での実験により、CTM-HE からセフォチアムへの変換は、ラットとマウスでは主に腸粘膜で、また、イヌでは肝臓で行われることが明らかとなった。

2) エステル側鎖成分の動態

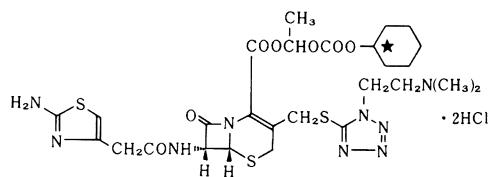
$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラット、マウス、イヌに経口投与すると、 $^{14}\text{C}$  (エステル側鎖成分) は、主にシクロヘキサノールとして吸収された。シクロヘキサノールはこれらの動物の体内で、さらにシクロヘキサジオールとシクロヘキサトリオールに代謝された。ラット、マウス、イヌにおける血漿中  $^{14}\text{C}$  濃度は、それぞれ2, 1, 2時間後にピークとなり、消失の半減期はそれぞれ4.7, 2.1, 5.1時間であった。ラットに経口投与すると、 $^{14}\text{C}$  は肝臓と腎臓に比較的高濃度で移行した。いずれの動物の場合も、排泄は48時間でほぼ終了し、主排泄経路は尿 ( $\geq 78\%$ ) であった。

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラットに連続経口投与しても、エステル側鎖成分の蓄積は見られなかった。

**Key words** : Cefotiam hexetil, 吸収, 排泄, 代謝

Cefotiam hexetil (CTM-HE, SCE-2174) (2HCl) はセフォチアム (CTM) のエステル型誘導体であり、経口セファロスポリンとして開発中の化合物である<sup>1)</sup>。臨床試験において本化合物の経口セファロスポリンとしての有用性が既に確かめられており、特記すべき副作用は報告されていない<sup>2)</sup>。CTM をラットとイヌに非経口的に投与した場合、大部分が未変化のまま、主として尿に排泄されることが明らかにされている<sup>3)</sup>。

今回、エステル側鎖を  $^{14}\text{C}$  で標識した CTM-HE (2HCl) を用いて、ラット、マウス、イヌにおける生体内運命を調べるとともに、エステル側鎖由来成分の体内動態についても検討したので、それらの結果を報告する。ま



Cefotiam hexetil (2HCl) (★ $^{14}\text{C}$  標識位置)

た、これらの動物の血漿と組織ホモジネートを用いて、CTM の生成部位を *in vitro* で調べた。

なお、本研究は昭和59年5月から昭和62年2月にわたって実施したものである。

## 実験材料と方法

### 1. 被験化合物、合成標品と試薬

(*RS*)-1-([1-<sup>14</sup>C]Cyclohexyloxy-carbonyloxy)-ethyl (+)-(6*R*, 7*R*)-7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)acetamido]-3-[[[1-(2-dimethylaminoethyl)-1*H*-tetrazol-5-yl]thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate dihydrochloride (<sup>14</sup>C-cefotiam hexetil (2HCl), <sup>14</sup>C-CTM-HE(2HCl))は武田薬品工業(株)中央研究所において合成した<sup>4)</sup>。本試験には3ロットの標識化合物を用い、それぞれの比放射能は23.1, 29.9, 22.8 μCi/mg, 放射化学的純度はいずれも>91%であった。非放射性CTM-HE(2HCl), Δ<sup>3</sup>-CTM-HE(2HCl), CTM(2HCl)とΔ<sup>3</sup>-セフォチアム(Δ<sup>3</sup>-CTM)も武田薬品工業(株)において製造または合成した(化学構造式についてはFig. 9参照)。<sup>14</sup>C-シクロヘキサノール(<sup>14</sup>C-CH, 比放射能, 570 μCi/mg)はAmersham Laboratoriesから購入した。シクロヘキサノール(CH), 1,2-シクロヘキサンジオール(1,2-CHD), 1,4-シクロヘキサンジオール(1,4-CHD), diethyl *p*-nitrophenyl phosphate (パラオキソン), 硫酸エセリンと*p*-chloromercuribenzoic acid (PCMB)は和光純薬工業(株)から, 1,3-シクロヘキサンジオール(1,3-CHD), 1,3,5-シクロヘキサントリオール(1,3,5-CHT)と*N*, *O*-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (BSTFA)は東京化成工業(株)から, β-グルクロニダーゼ(type H-1, *Helix pomatia*由来)はSigma Chemical社から, ヒト乾燥血清(コンセーラ<sup>®</sup>)は日水製薬(株)から購入した。

### 2. 動物

雄性または雌性Jcl: Wistar ラット(体重178~378 g, 日本クレア), 雄性Jcl: ICR マウス(体重28~40 g, 日本クレア)と雄性ビーグル犬(体重9.5~14.5 kg, 日本クレア)を用いた。これらの動物に固形飼料(ラットとマウス用; CE-2, イヌ用; CD-5, 日本クレア)と水道水を与え, 温度25°C, 湿度60%, 明暗サイクル12時間の飼育室で1週間以上の予備飼育を行った後, 実験に用いた。

### 3. 被験化合物の投与と生体試料の採取

<sup>14</sup>C-CTM-HEを非放射性CTM-HEで希釈した後, 蒸留水(少量の塩酸を含む)に溶解して投与液を調製した。投与量は特に断わらない限り臨床にお

ける推定1日最大投与量(1200 mg)を勘案してCTMとして20 mg (19.1~348.6 μCi)/kgとし, 非絶食の動物に経口投与した。CTMの場合は, 薬物を蒸留水に溶解し, 20 mg/kgを静脈内投与した。化合物を投与した後, 先に報告した方法<sup>5-7)</sup>に従って体液, 組織と排泄物を経時的に採取した。血液の場合は, CTM-HEの分解を防ぐために採取後直ちに氷冷し, 血漿を分離した。同様の理由で, 血漿および尿の保存も, 試料に塩酸を加えてpH 3~4に調整した後, 凍結させて行った。門脈吸収の実験<sup>8)</sup>ではラットとイヌの空腸の一部にループを形成し(ラット: 約30 cm, イヌ: 約20 cm), 化合物を投与した後, その部分を循環する血液をドライアイス-アセトンで冷却したビーカーの中へ滴下させて凍結採取した。

### 4. 分析方法

#### 4.1 放射能の測定

前報の方法<sup>9)</sup>に従って測定用試料を調製し, 液体シンチレーションカウンター(Aloka, LSC-903型, アロカ)を用いて放射能を測定した。

#### 4.2 CTM-HE, Δ<sup>3</sup>-CTM-HEとCHの定量

生体試料中のCTM-HE, Δ<sup>3</sup>-CTM-HEとCHの定量は高速液体クロマトグラフィー(HPLC, 後述)により行った。すなわち, 血液, 血漿と糞ホモジネートのメタノール抽出液(2倍量×1)および尿試料をミリポアフィルター(type FH, 日本ミリポア・リミテッド)でろ過し, 内部標準として非標識CTM-HEとΔ<sup>3</sup>-CTM-HEを一定量添加した後, HPLC分析に供した。CTM-HE(保持時間10.1と11.8分, エステル部分の光学異性体が2成分に分離)とΔ<sup>3</sup>-CTM-HE(保持時間15.1分)の溶出位置は254 nmにおけるUV吸収により確認し, それらの画分中の放射能を測定した。また, CHの場合は, あらかじめ<sup>14</sup>C-CHを用いてその溶出位置を確認(保持時間6~8分)した後, その画分中に含まれる放射能を測定した。血漿中の抱合型CHを定量するために, 試料を2倍量のメタノールで抽出した後, 窒素気流下で乾固した。次いで, 過量のβ-グルクロニダーゼで処理した後, 上述の方法でCHを定量した。なお, 非抱合型CHは上記窒素気流下での乾固の過程で定量的に揮散することが確認された。尿の場合は, 酵素水解前後の試料中のCHを定量し, それらの差から抱合型CHの量を算出した。HPLCの測定条件は次のとおりである。

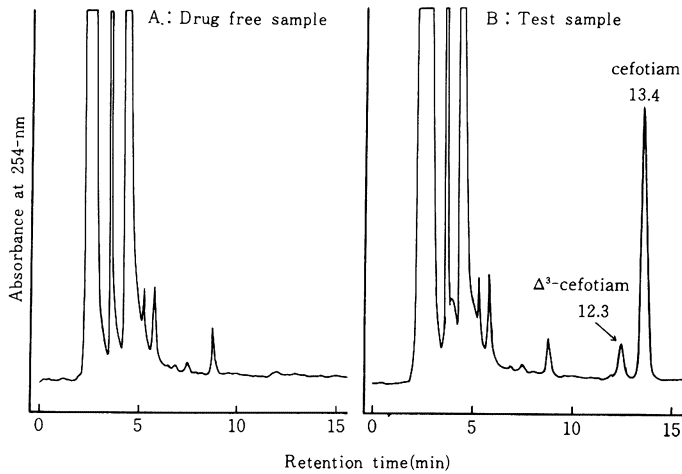


Fig. 1 HPLC separation of cefotiam and  $\Delta^3$ -cefotiam in the mouse plasma given 20 mg (as cefotiam)/kg oral dose of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil.

装置：Waters ALC/GPC 204 型(日本ウォーターズ)

カラム：Waters Radial PAK  $\text{C}_{18}$  (8NVC18 5  $\mu$ , 日本ウォーターズ)

検出器：UV 検出器, Waters 440 型 (254 nm)

移動相：アセトニトリル-0.1 M リン酸水素一カリウム-酢酸 (32 : 68 : 1, v/v)

流速：1 ml/分

本法による CTM-HE,  $\Delta^3$ -CTM-HE, CH の定量限界は、血漿の場合がそれぞれ 0.06, 0.06, 0.01  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であり、排泄物の場合にはそれぞれ投与量の 0.6, 0.6, 0.2% であった。ラットの門脈吸収実験における空腸内容物を用いて調べた CTM-HE,  $\Delta^3$ -CTM-HE, CH の分析精度 (変動係数) はそれぞれ 1.2, 1.4, 1.5% であった。

#### 4.3 CTM と $\Delta^3$ -CTM の定量

CTM と  $\Delta^3$ -CTM の定量も HPLC により行った。生体試料を 2 倍量のメタノールで抽出し、その上清 300  $\mu\text{l}$  に 0.02 N HCl 500  $\mu\text{l}$  を加えた後、酢酸エチル (4 ml) とクロロホルム (4 ml) で順次洗浄した。水層をミリポアフィルター (type FH) でろ過した後、HPLC 分析に供した。試料中の CTM と  $\Delta^3$ -CTM の量は、それらの標準溶液を同様に処理して作成した検量線を用いて算出した。HPLC 条件は、移動相としてアセトニトリル-0.05 M リン酸塩緩衝液 (pH 8.0) (7 : 43, v/v) を用い、それ以外は上記の場合と同じである。CTM と  $\Delta^3$ -CTM の分離例

を Fig. 1 に示した。

本法による CTM と  $\Delta^3$ -CTM の定量限界は、血漿の場合がいずれも 0.03  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、排泄物の場合には投与量の 0.5% であった。ラットの血漿に添加して調べた分析精度 (変動係数) は、CTM が 1.5~2.6%,  $\Delta^3$ -CTM では 0.9~5.3% であった。

#### 4.4 CHD と CHT の定量

1,2-CHD, 1,3-CHD, 1,4-CHD と CHT は薄層クロマトグラフィー (TLC) により定量した。血漿と糞ホモジネートのメタノール抽出液 (4 倍量  $\times$  1) および尿の一定量を silica gel 60F<sub>254</sub> プレート (層厚 0.25 mm, E. Merck) に塗布し、クロロホルム-エタノール-酢酸-水 (3 : 3 : 1 : 1, v/v) を用いて展開した後、プレート上の放射性成分の位置をオートラジオグラフィー (医療用 X 線フィルム, 富士写真フィルム) により確認した。抱合型代謝物の定量は、上記試料を過量の  $\beta$ -グルクロニダーゼ (type H-1, 37°C, 16 時間) で処理し、4 倍量のメタノールで抽出して行った。放射性成分の分離例を Fig. 2 に示した。なお、1,3-CHD と 1,4-CHD は分離しなかったが、これらの存在は GC-MS (後述) により確認された。

本法による 1,2-CHD, 1,3-CHD+1,4-CHD, CHT の定量限界は血漿の場合が 0.01  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、排泄物の場合には投与量の 0.1% であった。ラットの尿を用いて調べた分析精度 (変動係数) は、1,2-CHD, 1,3-CHD+1,4-CHD, CHT でそれぞれ

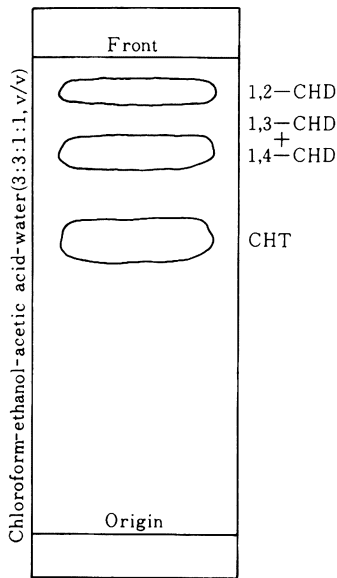


Fig. 2 TLC separation of the  $^{14}\text{C}$ -materials in urine after administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat. CHD: cyclohexanediol. CHT: cyclohexanetriol.

3.4, 1.7, 4.3%であった。

#### 5. 血球への移行

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE を経口投与したラットとイヌの血液を用いて、全血および血漿中の放射能濃度を測定した。放射性成分の血球への移行率は、ヘマトクリット値を用いて計算した<sup>5)</sup>。

#### 6. 血漿 (清) タンパクへの結合

放射性成分の血漿タンパクへの結合率は、超遠心法により測定した。すなわち、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE を経口投与したラットとイヌの血漿を分離用超遠心機 (日立 SCP 70H 型, 日立製作所) とアングルロータ (RP-65T 型, 日立製作所) を用いて 65,000 rpm で 6 時間遠心分離した後、上清中の放射能を測定して結合率を計算した。

ヒト血清タンパクに対する側鎖由来成分の結合は、ラットの血漿から放射性成分を抽出し、抽出物をヒト血清に添加して調べた。すなわち、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラットに経口投与して 0.5~8 時間目の血液を採取し、血漿を分離した後、メタノール (4 倍量×1) で抽出した。次いで、メタノール抽出物を濃縮乾固し、生理食塩液に溶解してヒト血清に添加 (0.1, 1 と 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , CH 換算値) した後、タンパク結合率を上記の方法で測定した。

#### 7. 全身オートラジオグラフィー

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラットに経口投与し、15分, 2, 8, 24 時間後に常法<sup>9)</sup>により全身切片 (厚さ, 40  $\mu\text{m}$ ) を作成した。これらの切片を X 線フィルム (工業用, 富士写真フィルム) に  $-20^\circ\text{C}$  で 4 週間密着させてオートラジオグラムを得た。

#### 8. 胎盤通過

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE を妊娠 20 日目のラットに経口投与し、30分, 2, 8 時間後に常法<sup>7)</sup>に従って胎盤、胎仔と羊水を採取した。比較のために上記の試料を摘出後、母動物の腹大動脈から採血し、血漿中の放射能濃度も測定した。

#### 9. 乳汁への移行

出産後 14 日目のラットに  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE を経口投与し、常法<sup>10)</sup>に従って 30分, 2, 8 時間後に乳汁を採取した。比較のために同一時間に尾静脈から採血し、血漿中の放射能濃度も測定した。

#### 10. *In vitro* での代謝

##### 10.1 代謝部位

ラットの血漿 0.02 ml, マウスとイヌの血漿およびヒト血清 0.2 ml を含む 1.15% KCl-0.01 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) またはラット, マウス, イヌの腸粘膜と肝臓の 0.5% ホモジネート (pH 7.4) 1 ml に  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE (100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を添加し、 $37^\circ\text{C}$  で 5 分間インキュベートした。反応終了後、試料に 1N HCl を加えて弱酸性 (pH 3~4) とし、2 倍量のメタノールで抽出した。抽出液中の CTM-HE,  $\Delta^3$ -CTM-HE, CTM,  $\Delta^3$ -CTM と CH の定量は HPLC で行った。なお、本試験の pH 域では CTM-HE の化学的な分解も同時に進行するため、緩衝液に  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE を添加してインキュベートし、その分解速度を差し引いて代謝活性を算出した。本試験では CTM-HE の加水分解のみを観察するため NADPH, NADH およびそれらの再生系をインキュベーション液には加えなかった。また、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の腸内細菌による代謝は、ラットの盲腸内容物を用いて BAKKE の方法<sup>11)</sup>により調べた。

##### 10.2 非特異的エステラーゼの種類

ラットの血漿 0.05 ml を含む 1.15% KCl-0.01 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) および肝臓と腸粘膜の 0.5% ホモジネート (pH 7.4) に CTM-HE (100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) と酵素阻害剤 (後述) を加えて、 $37^\circ\text{C}$  で 5 分間インキュベートした。反応終了後、生成し

た CTM を定量してエステラーゼ活性を算出した。酵素阻害剤として、PCMB ( $1 \times 10^{-3}$  M)、パラオキソン ( $1 \times 10^{-5}$  M) とエセリン ( $1 \times 10^{-5}$  M) を用い、エステラーゼ活性が PCMB で阻害された場合 A-エステラーゼ、パラオキソンで阻害された場合 B-エステラーゼ、また、エセリンを含むいずれの阻害剤によっても阻害を受けなかった場合には C-エステラーゼによって CTM-HE が加水分解を受けると判断した<sup>12)</sup>。

## 11. 放射性成分の分離と同定

### 11.1 生体試料の採取

1,2-CHD, 1,3-CHD+1,4-CHD と CHT を単離するために、<sup>14</sup>C-CTM-HE (CTM として 100 mg/kg) をラット (n=3) に経口投与し、24 時間目までの尿を採取した。得られた尿中には投与した放射能の 91.5% が回収された。CH は 2 時間にわたって採取したラットの門脈血から単離した。

### 11.2 放射性成分の単離

門脈血をエチルエーテルで抽出 (3 倍量×1) し、CH を得た。1,2-CHD と 1,3-CHD+1,4-CHD を単離するため、尿試料を過量の  $\beta$ -グルクロニダーゼで処理 (37°C, 16 時間) した後、酢酸エチルで抽出 (3 倍量×3) した。CHT の場合は、尿試料を濃縮した後、エタノールで抽出 (5 倍量×1) した。それぞれの抽出液を濃縮し、前述の方法に従って TLC を行い、放射性成分を分離した。1,2-CHD, 1,3-CHD+1,4-CHD と CHT に相当する画分を TLC プレートからかき取り、CHD の場合は水に懸濁させて酢酸エチルで、また、CHT の場合はメタノールで抽出した。得られた代謝物を同じ溶媒系を用いた TLC により、さらに精製した。なお、1,3-CHD と 1,4-CHD は TLC で分離できなかったが、GC 上では分離し、両成分の存在が明らかとなった。

### 11.3 誘導体の調製

CHT のトリメチルシリル (TMS) 誘導体の調製は、試料を BSTFA で処理 (25°C, 10 分間以上) することにより行った。

### 11.4 機器分析

ガスクロマトグラフィー-質量分析 (GC-MS) は、電子衝撃イオン源を装備した島津 GCMS 9020 DF 型質量分析計を用いて行った。GC では、ガラスカラム (3 m×3 mm ID) に 10% (w/w) シリコン OV-17 をコーティングした Gas Chrom Q (60~80 mesh) を充填して用いた。カラム槽温度は、CH,

1,2-CHD, 1,3-CHD と 1,4-CHD の分析に際しては、80°C で 5 分間持続後 200°C まで、また、CHT の場合は 80°C から 250°C まで昇温プログラムを用いて毎分 5°C の速度で昇温した。キャリアーガスは、ヘリウムを毎分 30 ml の流量で用いた。試料注入口温度は 300°C に設定した。マススペクトルの測定条件として、イオン化電圧を 70 eV、トラップ電流を 60  $\mu$ A、加速電圧を 3 kV に設定した。試料を注入した後、マススペクトルを総イオン流量クロマトグラムのピークの頂点で測定した。

## 12. データ処理法

データは特に断らない限り、3~5 例の平均または平均±標準偏差で示した。血漿中濃度の半減期 ( $t_{1/2}$ ) は、最小二乗法により算出した。血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) は最終測定点までは台形公式で、それ以降無限大 (時間) までは消失の半減期を用いて算出した。また、連投時の血漿中濃度の予測値は、単回投与のデータを 1-コンパートメントモデルに当てはめ、非線形最小二乗法 (MULTI)<sup>13)</sup> により得られたパラメータを用いて算出した。なお、<sup>14</sup>C-CTM-HE を動物に経口投与した場合、吸収の過程でほぼ完全に加水分解を受け CTM または  $\Delta^3$ -CTM と CH に変換されることが明らかにされたので、エステル側鎖由来成分の濃度はすべて CH 換算値として表示した。

## 結果と考察

### 1. セファロスポリン成分の生体内動態

#### 1.1 吸収

##### 1.1.1 吸収率

<sup>14</sup>C-CTM-HE (CTM として 20 mg/kg) をラット、マウス、イヌに経口投与した際の CTM としての生物学的利用率はそれぞれ 16.9%, 43.3%, 7.8% であった (Table 1)。CTM は生体内では代謝を受けにくいことがラットとイヌを用いて明らかにされている<sup>3)</sup>。したがって、上記生物学的利用率は、それぞれの動物における CTM としての吸収率を示していると考えられる。

<sup>14</sup>C-CTM-HE の投与量を 50 mg/kg と 100 mg/kg に増量してマウスに経口投与したところ、生物学的利用率はそれぞれ 45.0% と 38.0% であり、20 mg/kg を投与した場合と大きな差はなかった (Table 1)。したがって、CTM としての吸収率は、20 mg/kg~100 mg/kg の範囲内で変化しないと考

Table 1 Bioavailability of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil as cefotiam in the rat, mouse and dog

Species	Treatment			$\text{AUC}_0^\infty$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ ) of CTM
	Compound	Dose (mg/kg)*	Route	
Rat	CTM	20	I.V.	12.4 (100)
	$^{14}\text{C}$ -CTM-HE	20	P.O.	2.1 (16.9)
Mouse	CTM	20	I.V.	6.0 (100)
	$^{14}\text{C}$ -CTM-HE	20	P.O.	2.6 (43.3)
	CTM	50	I.V.	13.1 (100)
	$^{14}\text{C}$ -CTM-HE	50	P.O.	5.9 (45.0)
Dog	CTM	100	I.V.	27.4 (100)
	$^{14}\text{C}$ -CTM-HE	100	P.O.	10.4 (38.0)
Dog	CTM	20	I.V.	61.8 (100)
	$^{14}\text{C}$ -CTM-HE	20	P.O.	4.8 (7.8)

Means of the results from three animals. \* As cefotiam. CTM: cefotiam. CTM-HE: cefotiam hexetil.

Table 2 Portal absorption of cephalosporins after intrajejunal administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat and dog with jejunal loop

Species	Sample	Composition of cephalosporins (% of dose)			
		CTM-HE	$\Delta^3$ -CTM-HE	CTM	$\Delta^3$ -CTM
Rat	Portal blood	ND	ND	3.7	2.0
	Intestinal wall	0.2	0.1	1.1	0.8
	Intestinal contents	8.2	4.0	33.8	34.0
	Total recovery	8.4	4.1	38.6	36.8
Dog	Portal blood	0.4	0.2	0.1	0.5
	Intestinal wall	0.7	0.4	0.2	0.4
	Intestinal contents	56.5	12.8	0.5	5.3
	Total recovery	57.6	13.4	0.8	6.2

Dose, 20 mg(as cefotiam)/kg. ND: Not detectable. CTM-HE: cefotiam hexetil. CTM: cefotiam.

えられる。

### 1.1.2 門脈吸収

空腸ループを形成したラットとイヌを用いてセファロスポリン成分の門脈吸収について検討した (Table 2)。 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラットの空腸ループに投与すると、門脈血中に CTM および  $\Delta^3$ -CTM として吸収され、未変化体と  $\Delta^3$ -CTM-HE は検出されなかった。空腸内容物中にも CTM-HE と  $\Delta^3$ -CTM-HE は少なく、CTM と  $\Delta^3$ -CTM が主成分であった。一方、イヌの門脈血中には CTM と  $\Delta^3$ -CTM のほかに、未変化体と  $\Delta^3$ -CTM-HE も検出された。イヌの場合、空腸内容物中の主成分は CTM-HE と  $\Delta^3$ -CTM-HE であった。

これらの結果から、ラットの場合、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE は腸粘膜でほぼ完全に加水分解を受けた後、CTM と  $\Delta^3$ -CTM として門脈を介して吸収されるが、イヌでは一部が未変化のまま吸収されて肝臓に移行す

ることが明らかとなった。ラットとイヌにおけるこの違いは腸粘膜におけるエステラーゼ活性の種差 (後述) に起因すると考えられる。また、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の一部が腸管内でも分解されて、 $\Delta^3$ -CTM-HE, CTM と  $\Delta^3$ -CTM を生成することも明らかである。

### 1.2 血漿中濃度

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラット、マウス、イヌに経口投与し、血漿中のセファロスポリン成分の濃度を測定した (Fig. 3, Table 3)。ラット血漿中の CTM 濃度は 15 分 (Tmax) でピーク (Cmax) となり、その後は半減期 0.9 時間の速度で低下した (Table 3)。マウスの場合、血漿中濃度は 5 分 (最初の測定時点) で Tmax を示し、その後の消失の半減期は 0.5 時間であった。イヌにおける血漿中濃度のピークは 30 分後に見られ、半減期は 1.0 時間であった。これらの動物の血漿中  $\Delta^3$ -CTM 濃度は、CTM 濃度に比べ

ると低かった (Table 3)。 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE を経口投与したラット、マウス、イヌの 0.5 時間、2 時間および 8 時間血漿を用いて CTM-HE 濃度を測定したが、

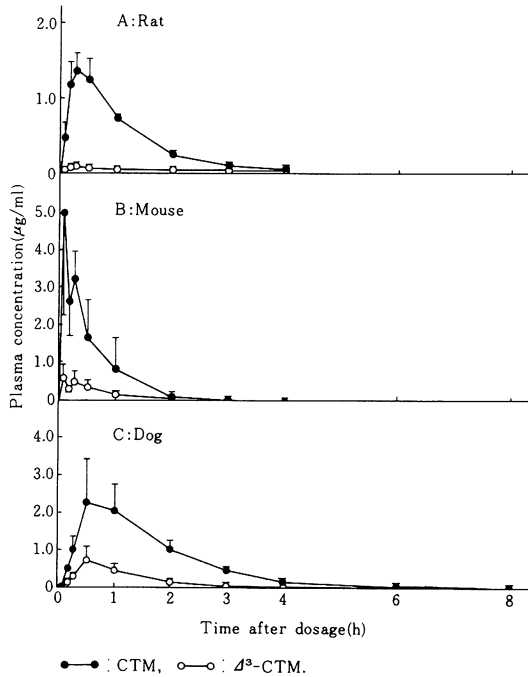


Fig. 3 Plasma levels of cefotiam and  $\Delta^3$ -cefotiam after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog. Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three to four animals.

いずれの場合も未変化体は検出されなかった。

これらの結果から、ラット、マウス、イヌに経口投与した CTM-HE は、主として抗菌活性を有する CTM として全身循環に入ることが明らかである。マウスに  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の投与量を 20 mg/kg から 100 mg/kg に増量して経口投与すると、 $T_{\max}$  はやや遅延傾向を示したが、AUC は用量に比例して増大し、 $t_{1/2}$  の変化は見られなかった (Table 3)。したがって、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の投与量を 100 mg/kg まで増量しても、CTM としての吸収に大きな差はないと考えられる。

### 1.3 排泄

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラット、マウス、イヌに経口投与してセファロsporin 成分の尿と糞への排泄を調べた (Table 4)。いずれの動物の場合も尿と糞中には未変化体と  $\Delta^3$ -CTM-HE は検出されず、CTM および  $\Delta^3$ -CTM として排泄された。CTM の尿への排泄率はラット、マウスとイヌでそれぞれ投与量の 12.6, 8.3, 6.9% であり、 $\Delta^3$ -CTM の排泄率は、CTM に比べると低かった。これらの動物の糞中では、 $\Delta^3$ -CTM が主成分であり、CTM は極微量または定量限界以下であった。

CTM をラットとイヌに非経口的に投与した場合、大部分が未変化のまま、主として尿に排泄されることが明らかにされている<sup>3)</sup>。したがって、尿と糞中に検出された  $\Delta^3$ -CTM は、CTM-HE から生成したものと考えられる。

### 1.4 *In vitro* での代謝

上述のように、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE を経口投与したラ

Table 3 Pharmacokinetic parameter derived from concentration of cefotiam and  $\Delta^3$ -cefotiam in plasma after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog

Species	Dose (mg/kg)*	Compound	Pharmacokinetic parameter			
			$T_{\max}$ (h)	$C_{\max}$ ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$\text{AUC}_0^\infty$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$ )
Rat	20	CTM	0.25	1.36	0.9	2.1
		$\Delta^3$ -CTM	0.25	0.10	ND	0.3
Mouse	20	CTM	0.08	4.99	0.5	2.6
		$\Delta^3$ -CTM	0.08	0.57	0.5	0.4
	50	CTM	0.17	10.09	0.7	5.9
		$\Delta^3$ -CTM	0.17	1.74	0.8	1.4
	100	CTM	0.25	13.48	0.6	10.4
		$\Delta^3$ -CTM	0.25	3.00	0.6	2.9
Dog	20	CTM	0.50	2.32	1.0	4.8
		$\Delta^3$ -CTM	0.50	0.73	0.8	1.3

Means of the results from three or four animals. \* As cefotiam. ND: Not detectable. CTM: cefotiam.

Table 4 Excretion of cephalosporins in urine and feces after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog

Species	Sample	Excretion of cephalosporins (% of dose)			
		CTM-HE	$\Delta^3$ -CTM-HE	CTM	$\Delta^3$ -CTM
Rat	24-H urine	ND	ND	12.6	0.9
	24-H feces	ND	ND	0.9	9.1
Mouse	24-H urine	ND	ND	8.3	2.6
	24-H feces	ND	ND	ND	3.7
Dog	48-H urine	ND	ND	6.9	1.8
	24-H feces	ND	ND	ND	23.8

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Values for pooled samples of three animals. ND: Not detectable.

CTM-HE: cefotiam hexetil. CTM: cefotiam.

Table 5 *In vitro* metabolism of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil incubated with plasma, intestinal mucosa and liver homogenates of the rat, mouse and dog

Tissue	Species	Metabolic activity (mg/min/g tissue)	Composition of cephalosporin (% of added CTM-HE)				CH (% of total $^{14}\text{C}$ )
			CTM-HE	$\Delta^3$ -CTM-HE	CTM	$\Delta^3$ -CTM	
Plasma	Control*	—	75.1	18.6	0.2	2.6	4.5
	Human†	0.02	51.1	33.9	0.7	8.3	12.5
	Rat	0.19	56.4	6.3	13.7	17.1	35.2
	Mouse	0.05	25.1	5.5	31.2	30.0	67.0
	Dog	0.01	64.4	25.8	0.5	4.0	7.8
Liver	Control*	—	74.2	19.3	0.2	2.3	4.5
	Rat	1.15	45.4	13.1	25.9	10.3	38.5
	Mouse	1.78	29.6	6.7	44.4	11.4	60.9
	Dog	1.17	44.9	6.6	31.7	13.1	47.0
Intestinal mucosa	Control*	—	72.0	18.2	0.2	1.7	6.2
	Rat	1.71	29.3	4.4	48.9	8.2	63.3
	Mouse	1.53	33.7	3.5	45.1	9.2	60.0
	Dog	ND	72.2	17.3	0.3	1.6	6.7

$^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )was incubated with plasma or homogenates of intestinal mucosa and liver for 5 min at 37 $^{\circ}\text{C}$ . Means of the results from three determinations. \* 1.15% KCl-0.01 M sodium phosphate buffer (pH 7.4). † Serum. ND: Not detectable. CTM-HE: cefotiam hexetil. CTM: cefotiam. CH: cyclohexanol.

ット、マウス、イヌの全身血中に未変化体は検出されず、したがって、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE は CTM とエステル側鎖成分に加水分解を受けてから全身循環に入ると考えられる。そこで、CTM-HE から CTM への変換部位を明らかにするため、ラット、マウス、イヌの血漿、腸粘膜、肝臓および腸内細菌による代謝活性を *in vitro* で検討した。また、ヒト血清における代謝活性についても調べた。

#### 1.4.1 代謝部位

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE はラットとマウスの腸粘膜で加水分解されて CTM を生成し、その代謝活性はラットとマウスでそれぞれ 1.71 と 1.53 mg/min/g であった (Table 5)。イヌの腸粘膜における代謝活性は、ラットとマウスに比べると極めて低かった。インキュベーション液中には  $\Delta^3$ -CTM-HE と  $\Delta^3$ -CTM

も検出されたが、これらは化学的な分解生成物と考えられる。また、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の加水分解の際に生成したエステル側鎖成分は、ほぼ定量的に CH に変換された。前述のように、ラットの門脈血中には  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE は検出されないが、イヌの場合には一部が未変化のまま吸収される (Table 2)。これらの結果は、上記の腸粘膜におけるエステラーゼ活性の種差に基づくものと考えられる。

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE は肝ホモジネートによっても加水分解され、その代謝活性はラット、マウス、イヌでそれぞれ 1.15, 1.78, 1.17 mg/min/g であった (Table 5)。これらの動物の肝臓における主生成物は、腸粘膜の場合と同様に CTM と CH であった。イヌの肝臓における  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の代謝活性がラットおよびマウスとほぼ同じであることから、イヌ



Table 6 Hydrolysis of cefotiam hexetil by non-specific esterase in the rat plasma, liver and intestinal mucosa, and inhibition of the hydrolysis by the enzyme inhibitor

Tissue	Esterase activity (mg/min/ml or g tissue)			
	Control	PCMB* ( $1 \times 10^{-3}$ M)	Paraoxon ( $1 \times 10^{-5}$ M)	Eserine ( $1 \times 10^{-5}$ M)
Plasma	0.11	0.10	<0.01	0.11
Liver	0.58	0.53	<0.02	0.56
Intestinal mucosa	2.38	2.10	<0.02	1.12

Cefotiam hexetil(100  $\mu$ g/ml) was incubated for 5 min at 37°C at pH 7.4 with the plasma and tissue homogenates. Means of the results from three determinations.

\* p-Chloromercuribenzoic acid.

では未変化のまま吸収された  $^{14}$ C-CTM-HE は肝臓で CTM と CH に変換されると考えられる。ラット、マウス、イヌの血漿中には CH のほかに肝臓で代謝されると考えられる CHD と CHT も存在する(後述)が、本実験では生成した CH はさらに代謝変換を受けることはなかった。これは、インキュベーション液に NADPH, NADH とそれらの再生系を添加しなかったためと考えられる。

ラット、マウス、イヌの血漿およびヒトの血清での代謝活性はそれぞれ 0.19, 0.05, 0.01, 0.02 mg/min/ml にすぎなかった(Table 5)。これらの値はラットとマウスの腸粘膜またはイヌの肝臓における代謝活性に比べて低く、 $^{14}$ C-CTM-HE がこれらの動物において主として腸粘膜または肝臓で CTM に変換されることを示している。ヒトの場合も、血清中での代謝活性が低いことから、CTM-HE は腸粘膜または肝臓で CTM に変換されると考えられる。

$^{14}$ C-CTM-HE をラットの盲腸内容物と 37°C で嫌氣的( $N_2$ )にインキュベート(15分, 1と24時間)したが、その分解速度は対照として用いた緩衝液中での速度とほぼ同じであった。したがって、腸内細菌は、 $^{14}$ C-CTM-HE の腸管内での分解にほとんど関与しないと考えられる。なお、24時間インキュベートすると、CTM-HE,  $\Delta^3$ -CTM-HE と CTM はほぼ完全に消失し、 $\Delta^3$ -CTM のみが検出された。エステル側鎖成分としては定量的に CH を生成し、これはさらに代謝変換を受けることはなかった。

#### 1.4.2 非特異的エステラーゼ

上述のように、CTM-HE は腸粘膜または肝臓の非特異的エステラーゼによって代謝変換を受け、CTM を生成する。非特異的エステラーゼは、その活性を阻害する化合物の種類によって A-, B- と C-エステラーゼの3つに分類されている<sup>12)</sup>。本実験で

は、CTM-HE を CTM に加水分解する非特異的エステラーゼの種類を明らかにするため、ラットの血漿および腸粘膜と肝ホモジネートを用いて PCMB, パラオキソンとエセリンによる阻害について検討した(Table 6)。その結果、いずれの試料の場合も CTM-HE の加水分解活性はパラオキソンによって完全に阻害され、PCMB による阻害はほとんど認められなかった。腸粘膜の加水分解活性の一部はエセリンによって阻害された。これらの結果から、CTM-HE は主に B-エステラーゼによって加水分解されると考えられるが、腸粘膜では一部別のエステラーゼが関与している可能性も示唆される。

## 2. エステル側鎖由来成分の生体内動態

### 2.1 吸収

#### 2.1.1 吸収率

$^{14}$ C-CTM-HE をラット、マウス、イヌに経口投与すると、放射能(側鎖成分)は尿と呼吸へ約80%またはそれ以上が排泄された(Table 15, 後述)。したがって、エステル側鎖由来の成分は、いずれの動物の場合もほぼ定量的に吸収されると考えられる。

#### 2.1.2 門脈吸収

空腸ループを形成したラットとイヌのループ内に  $^{14}$ C-CTM-HE を投与すると、側鎖由来成分は主として CH (ラット: 総  $^{14}$ C の 95.3%, イヌ: 82.5%)として門脈血中に吸収された(Table 7)。CH は空腸内容物中にも比較的多く検出された(Table 7)。したがって、腸粘膜または腸管内で加水分解により生成した側鎖成分は O-脱エチル化と脱炭酸を受けた後、CH として門脈を介して吸収されると考えられる。

### 2.2 血漿中濃度

$^{14}$ C-CTM-HE をラットに経口投与すると、血漿

Table 7 Portal absorption of  $^{14}\text{C}$ -materials after intrajejunal administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat and dog with jejunal loop

Species	Sample	Recovery of $^{14}\text{C}$ (% of dose)	Composition of $^{14}\text{C}$ -materials (% of dose)			
			CTM-HE	$\Delta^3$ -CTM-HE	CH	Others
Rat	Portal blood	54.9	ND	ND	52.3	2.6
	Intestinal wall	1.5	0.2	0.1	0.9	0.3
	Intestinal contents	34.7	8.2	4.0	15.7	6.8
	Total recovery	91.1	8.4	4.1	68.9	9.7
Dog	Portal blood	8.0	0.4	0.2	6.6	0.8
	Intestinal wall	2.4	0.7	0.4	1.1	0.2
	Intestinal contents	86.0	56.5	12.8	7.4	9.3
	Total recovery	96.4	57.6	13.4	15.1	10.3

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. The animals shown in Table 2 were used. ND: Not detectable.

CTM-HE: cefotiam hexetil. CH: cyclohexanol.

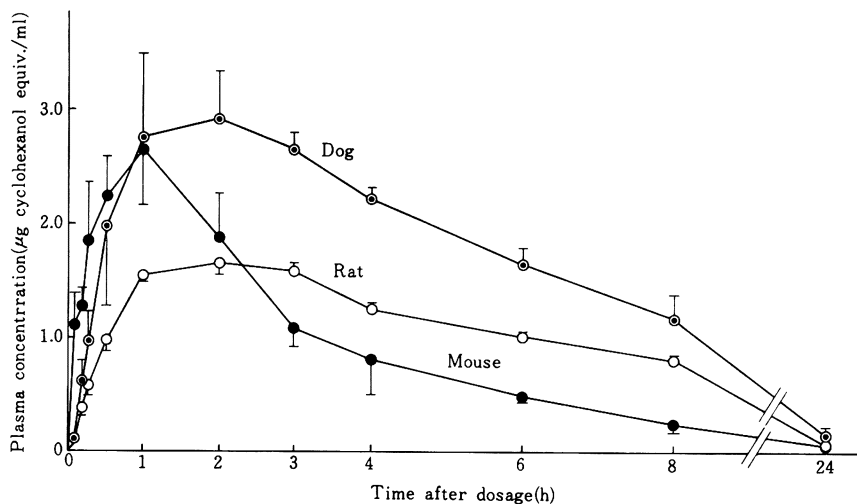


Fig. 4 Plasma levels of radioactivity after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog. Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three to four animals.

Table 8 Pharmacokinetic parameters derived from concentration of radioactivity in plasma after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog

Species	Dose (mg/kg) *	Pharmacokinetic parameter			
		Tmax (h)	Cmax ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) †	$t_{1/2}$ (h)	$\text{AUC}_0^\infty$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$ )
Rat	20	2.0	1.65	4.7	17.9
Mouse	20	1.0	2.64	2.1	12.6
	50	0.5	5.82	2.0	27.5
	100	0.5	11.32	2.0	54.8
Dog	20	2.0	2.92	5.1	30.3

Means of the results from three or four animals. The animals shown in Table 3 were used. \* As cefotiam. †  $\mu\text{g}$  Cyclohexanol equivalent.

Table 9 Composition of  $^{14}\text{C}$ -materials in plasma after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog

Species	Time after dosage (h)	Radioactive concn. ( $\mu\text{g}$ cyclohexanol equiv./ml)					
		Total $^{14}\text{C}$	CH*	1,2-CHD*	1,3-&1.4-CHDs	CHTs	Others
Rat	0.5	1.50 $\pm$ 0.28	0.32	0.80	0.15	0.02	0.21
	2	1.74 $\pm$ 0.20	0.11	1.06	0.39	0.06	0.12
	8	0.91 $\pm$ 0.06	0.01	0.43	0.25	0.06	0.16
Mouse	0.5	2.15 $\pm$ 0.14	0.20	1.08	0.59	0.12	0.16
	2	1.28 $\pm$ 0.21	0.05	0.56	0.47	0.11	0.09
	8	0.19 $\pm$ 0.04	0.01	0.03	0.07	0.02	0.06
Dog	0.5	1.98 $\pm$ 0.71	0.12	1.11	0.41	0.17	0.17
	2	2.92 $\pm$ 0.41	0.08	1.28	0.60	0.65	0.31
	8	1.17 $\pm$ 0.20	0.02	0.37	0.26	0.37	0.15

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three to five animals or values for pooled samples. \* Contain glucuronic and/or sulfuric acid conjugates. CH: cyclohexanol. CHD: cyclohexanediol. CHT: cyclohexanetriol.

中の放射能濃度は、2時間でピークとなり、以後半減期4.7時間の速度で低下した(Fig. 4, Table 8)。マウスとイヌにおける血漿中放射能濃度のピークはそれぞれ1時間と2時間後に見られ、消失の半減期は2.1時間と5.1時間であった(Fig. 4, Table 8)。

$^{14}\text{C}$ -CTM-HEの投与量を20 mg/kg から100 mg/kg まで増量してマウスに経口投与するとCmax と AUC は用量に比例して上昇したが、Tmax と  $t_{1/2}$  はほとんど変化しなかった(Table 8)。これらの結果は、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HEの投与量を増量しても、エステル側鎖由来成分の体内動態はほとんど変わらないことを示している。

側鎖由来成分の代謝物として、CH, 1,2-CHD, 1,3-CHD, 1,4-CHD と CHT が血漿中に検出された(Table 9)。主代謝物は、いずれの動物の場合もCHDであり、イヌではCHTも比較的多かった。CHは、いずれの動物においても比較的少量成分であった。また、CHと1,2-CHDの一部はグルクロン酸または硫酸抱合体として存在した。これらの代謝物を合わせると、ラット、マウス、イヌの血漿中放射能のそれぞれ82~93, 68~93, 87~91%を占めた。

## 2.3 分布

### 2.3.1 全身オートラジオグラフィ

$^{14}\text{C}$ -CTM-HEをラットに経口投与し、15分、2, 8, 24時間後の全身オートラジオグラムを作成した(Fig. 5)。投与15分後、放射能は既に肝臓と腎臓に分布しており、2時間後には各組織中の放射能は最高となった。この時点では、排泄臓器である肝臓と

腎臓における濃度が特に高く、その他の組織への移行も認められた。各組織中の放射能は時間とともに徐々に減少し、24時間後には消化管内容物を除き、ほぼ消失した。

### 2.3.2 組織内濃度

$^{14}\text{C}$ -CTM-HEをラットに経口投与し、2, 24, 48時間後における組織内放射能濃度を測定した(Table 10)。投与2時間後における放射能濃度は、肝臓で最も高く、次いで腎臓、胃壁、血漿、副腎、脾臓、肺の順であり、脂肪組織で最も低かった。各組織中の放射能は、投与後24時間から48時間にかけて低い濃度にまで低下した。

### 2.3.3 血球への移行

$^{14}\text{C}$ -CTM-HEを経口投与したラットとイヌの血液を用いて、放射能の血球への移行率を調べたところ、ラットでは血中放射能の33%が、イヌでは35~39%が血球へ移行することがわかった(Table 11)。したがって、エステル側鎖成分は、比較的容易に血球へ移行すると考えられる。

### 2.3.4 胎盤通過と乳汁移行

$^{14}\text{C}$ -CTM-HEを妊娠20日目のラットに経口投与し、放射能の胎仔への移行を調べた(Table 12)。投与30分、2, 8時間後、放射能は胎仔に移行したが、胎仔血漿および組織中濃度は母体血漿中濃度よりやや低かった。放射能は、胎盤と羊水中にも検出された。

$^{14}\text{C}$ -CTM-HEを出産後14日目のラットに経口投与すると放射能は乳汁に移行し、その濃度は血漿中濃度とほぼ同じであった(Table 13)。

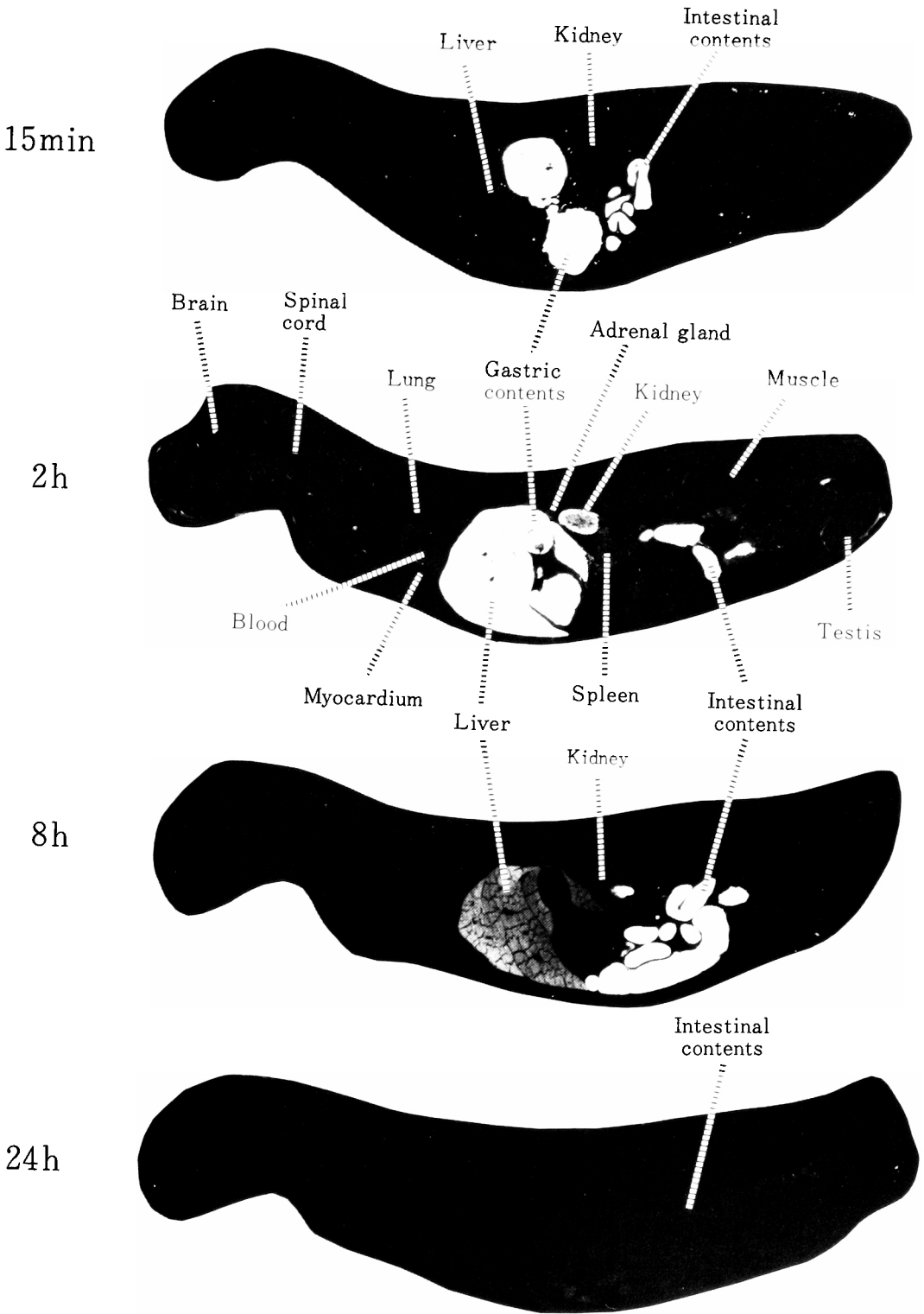


Fig. 5 Whole-body autoradiography in the rat after oral administration of <sup>14</sup>C-cefotiam hexetil. Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg.

Table 10 Tissue levels of radioactivity after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat

Tissue	Radioactive concn. ( $\mu\text{g}$ cyclohexanol equiv./ml or g)		
	2h	24h	48h
Plasma	1.38 $\pm$ 0.10	0.05 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01
Brain	1.06 $\pm$ 0.22	0.03 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.00
Spinal cord	1.05 $\pm$ 0.16	0.04 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.00
Thymus	1.13 $\pm$ 0.28	0.04 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.01
Heart	0.92 $\pm$ 0.09	0.02 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.01
Lung	1.29 $\pm$ 0.23	0.06 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.01
Liver	4.33 $\pm$ 1.72	0.16 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.00
Spleen	1.31 $\pm$ 1.01	0.03 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.01
Pancreas	1.14 $\pm$ 0.06	0.06 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.02
Adrenal gland	1.32 $\pm$ 0.07	0.15 $\pm$ 0.10	0.06 $\pm$ 0.01
Kidney	3.26 $\pm$ 0.95	0.08 $\pm$ 0.06	0.04 $\pm$ 0.01
Skeletal muscle	0.86 $\pm$ 0.14	0.06 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.01
Epididymal fat	0.34 $\pm$ 0.08	0.06 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.01
Testis	0.47 $\pm$ 0.33	0.02 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.00
Stomach	1.85 $\pm$ 1.41	0.06 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01
Intestine	1.17 $\pm$ 0.67	0.04 $\pm$ 0.03	0.03 $\pm$ 0.01

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three rats.

Table 11 Distribution of radioactivity into erythrocytes after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat and dog

Species	Time after dosage (h)	Blood concn. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) *	Erythrocyte distribution (%)
Rat	2	1.81 $\pm$ 0.09	33.3 $\pm$ 1.9
	0.5	1.95 $\pm$ 0.72	38.9 $\pm$ 1.6
Dog	2	2.84 $\pm$ 0.45	37.3 $\pm$ 1.2
	8	1.10 $\pm$ 0.23	34.8 $\pm$ 7.1

Dose, 20mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three animals. \*  $\mu\text{g}$  Cyclohexanol equivalent.

Table 12 Fetal distribution of radioactivity after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat

Time after dosage (h)	Radioactive concentration ( $\mu\text{g}$ cyclohexanol eq./g or ml)				
	Maternal plasma	Placenta	Amniotic fluid	Fetal plasma	Fetal tissue
0.5	2.65 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.10	1.58 $\pm$ 0.05	1.66 $\pm$ 0.05	0.96 $\pm$ 0.08
2	3.10 $\pm$ 0.25	2.15 $\pm$ 0.20	2.49 $\pm$ 0.22	2.43 $\pm$ 0.22	1.99 $\pm$ 0.21
8	1.76 $\pm$ 0.10	1.47 $\pm$ 0.06	1.77 $\pm$ 0.10	1.73 $\pm$ 0.09	1.48 $\pm$ 0.07

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three female rats (on the 20th day of gestation).

#### 2.4 血漿 (清) タンパクへの結合

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラットに経口投与して2時間後における血漿中放射能のタンパクへの結合率は、0.1%にすぎなかった (Table 14)。イヌの場合も、血漿タンパクに対する結合率は低く、経口投与30分、2、

8時間後でそれぞれ2.2、7.2、3.4%にすぎなかった (Table 14)。 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE を経口投与したラットの血漿から抽出したエステル側鎖由来成分 (0.1、1と10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , CH 換算値) をヒト血清に添加した際のタンパクへの結合率は、1.7~3.7%であった。こ

Table 13 Lacteal secretion of radioactivity after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat

Time after dosage (h)	Radioactive concn. ( $\mu\text{g}$ cyclohexanol eq./ml)	
	Plasma	Milk
0.5	2.60 $\pm$ 0.12	2.03 $\pm$ 0.11
2	1.78 $\pm$ 0.18	1.68 $\pm$ 0.22
8	1.16 $\pm$ 0.05	1.31 $\pm$ 0.07

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from four female rats (14 days after parturition).

Table 14 Plasma protein binding of radioactivity after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat and dog

Species	Time after dosage (h)	Plasma concn. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )*	Protein binding (%)
Rat	2	1.86	0.1
	0.5	2.01	2.2
Dog	2	3.14	7.2
	8	1.19	3.4

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Values for pooled samples of three animals. \*  $\mu\text{g}$  Cyclohexanol equivalent.

Table 15 Cumulative excretion of radioactivity in urine, feces and expired air after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog

Species	Dose (mg/kg)*	Time after dosage (h)	Cumulative excretion (% of dose)			Total $^{14}\text{C}$ recovered (% of dose)
			Urine	Feces	Expired air	
Rat	20	4	27.2 $\pm$ 12.1	—	1.5 $\pm$ 0.3	—
		8	57.3 $\pm$ 3.8	—	2.2 $\pm$ 0.4	—
		24	90.5 $\pm$ 2.3	4.5 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.4	97.8 $\pm$ 2.1
		48	92.8 $\pm$ 1.9	5.1 $\pm$ 0.4	2.9 $\pm$ 0.4	100.8 $\pm$ 1.3
		72	92.9 $\pm$ 1.9	5.1 $\pm$ 0.4	2.9 $\pm$ 0.4	100.9 $\pm$ 1.3
Mouse	20	4	35.6 $\pm$ 5.7	—	9.5 $\pm$ 2.2	—
		8	66.7 $\pm$ 4.7	—	11.5 $\pm$ 1.9	—
		24	83.1 $\pm$ 2.6	5.2 $\pm$ 0.7	12.6 $\pm$ 1.6	100.9 $\pm$ 0.5
		48	84.6 $\pm$ 2.6	5.3 $\pm$ 0.6	12.8 $\pm$ 1.6	102.7 $\pm$ 0.7
		72	85.1 $\pm$ 2.6	5.4 $\pm$ 0.7	12.8 $\pm$ 1.6	103.3 $\pm$ 0.7
	50	4	43.5 (40.3, 46.7) †	—	—	—
		8	60.5 (53.0, 68.0) †	—	—	—
		24	81.0 $\pm$ 5.8	5.5 $\pm$ 2.7	—	86.5 $\pm$ 3.5
		48	83.0 $\pm$ 5.5	5.8 $\pm$ 3.0	—	88.9 $\pm$ 3.1
		72	83.7 $\pm$ 5.4	6.0 $\pm$ 3.1	—	89.7 $\pm$ 2.9
	100	4	28.0 $\pm$ 9.3	—	—	—
		8	41.7 $\pm$ 1.4	—	—	—
		24	74.9 $\pm$ 3.8	3.9 $\pm$ 1.3	—	78.8 $\pm$ 5.1
		48	78.0 $\pm$ 2.6	4.4 $\pm$ 1.3	—	82.3 $\pm$ 3.8
		72	78.7 $\pm$ 2.5	4.5 $\pm$ 1.3	—	83.2 $\pm$ 3.7
300	4	41.0 $\pm$ 14.8	—	5.6 $\pm$ 0.4	—	
	8	61.7 $\pm$ 11.5	—	7.0 $\pm$ 0.2	—	
	24	88.9 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 1.0	7.5 $\pm$ 0.2	101.0 $\pm$ 0.6	
	48	89.4 $\pm$ 0.5	5.2 $\pm$ 0.8	7.6 $\pm$ 0.2	102.2 $\pm$ 0.3	
	72	90.1 $\pm$ 0.5	5.3 $\pm$ 0.8	7.6 $\pm$ 0.2	103.0 $\pm$ 0.4	
1000	4	28.0 $\pm$ 14.9	—	5.3 $\pm$ 0.6	—	
	8	54.2 $\pm$ 6.5	—	7.5 $\pm$ 0.6	—	
	24	87.0 $\pm$ 2.7	4.2 $\pm$ 0.7	8.2 $\pm$ 0.6	99.3 $\pm$ 2.4	
	48	88.0 $\pm$ 2.1	5.0 $\pm$ 0.9	8.3 $\pm$ 0.6	101.3 $\pm$ 1.7	
	72	89.4 $\pm$ 1.2	5.2 $\pm$ 1.0	8.3 $\pm$ 0.6	102.9 $\pm$ 0.7	
Dog	20	4	27.8 $\pm$ 2.3	—	—	—
		8	52.2 $\pm$ 8.5	—	—	—
		24	69.9 $\pm$ 11.6	12.0 $\pm$ 1.5	—	81.9 $\pm$ 12.2
		48	81.8 $\pm$ 1.9	12.6 $\pm$ 2.0	—	94.5 $\pm$ 0.4
		72	82.2 $\pm$ 2.0	12.6 $\pm$ 2.0	—	94.9 $\pm$ 0.3

Mean  $\pm$  S.D. of the results from three animals. \* As cefotiam. † Means of two mice with individual values in parentheses. — : Not determined.

Table 16 Composition of  $^{14}\text{C}$ -materials in urine and feces after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat, mouse and dog

Species	Sample	Total $^{14}\text{C}$ (% of dose)	Radioactive materials (% of dose)				
			CH*	1,2-CHD*	1,3- & 1,4-CHDs	CHT <sub>s</sub>	Others
Rat	24-H urine	90.5	2.4	49.1	11.7	8.4	18.9
	24-H feces	4.5	0.2	0.2	0.6	0.1	3.4
	Total	95.0	2.6	49.3	12.3	8.5	22.3
Mouse	24-H urine	83.1	5.1	30.8	16.5	11.6	19.1
	24-H feces	5.2	0.5	0.4	0.5	0.3	3.5
	Total	88.3	5.6	31.2	17.0	11.9	22.6
Dog	48-H urine	81.8	1.3	11.5	10.1	38.9	20.0
	24-H feces	12.0	1.4	1.9	1.5	0.7	6.5
	Total	93.8	2.7	13.4	11.6	39.6	26.5

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Means of the results from three animals or values for pooled samples of three animals. \* Contain glucuronic and/or sulfuric acid conjugates. CH: cyclohexanol. CHD: cyclohexanediol. CHT: cyclohexanetriol.

これらの結果から、エステル側鎖由来成分の血漿(清)タンパクに対する結合はきわめて弱いことが明らかである。

## 2.5 排泄

### 2.5.1 尿、糞と呼吸への排泄

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラット、マウス、イヌに経口投与すると、放射能の排泄は48時間ではほぼ終了した (Table 15)。ラットでは投与した放射能の93%が尿に、5%が糞に、3%が呼吸に排泄された。マウスの場合、85%が尿に、5%が糞に、13%が呼吸に排泄された。イヌにおける尿と糞への排泄率はそれぞれ82%と13%であった。これらの結果から、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラット、マウス、イヌに経口投与すると、エステル側鎖由来の成分はほぼ定量的に吸収され、主として尿に排泄されることが明らかである。また、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の投与量を20 mg/kg から1,000 mg/kg まで増量してマウスに経口投与しても、排泄パターンに大きな変化は見られなかった (Table 15)。したがって、側鎖由来成分の吸収と排泄速度は、高投与量の場合でも変わらないと考えられる。

### 2.5.2 放射能の組成

尿中の主代謝物は、ラットとマウスではCHD、イヌではCHTであり少量のCHも検出された (Table 16)。CHと1,2-CHDの一部はグルクロン酸または硫酸抱合体として排泄された。これらの動物の糞中にはCH、1,2-CHD、1,3-CHD、1,4-CHD

とCHTが検出されたが、未知成分の割合が比較的高かった。尿と糞に排泄されたCH、1,2-CHD、1,3-CHD、1,4-CHDとCHTを合わせると、ラット、マウス、イヌでそれぞれ投与放射能量の73、66、67%を占めた。

## 2.6 蓄積性

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラットに1日1回7日間または14日間にわたって連続経口投与し、側鎖由来成分の蓄積性を調べた。

### 2.6.1 血漿中と組織内濃度

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE を連続投与すると、血漿中放射能のC<sub>max</sub>は投与開始後3日目で定常状態になり、また、各回投与24時間後における濃度(C<sub>min</sub>)も特に著しい上昇傾向を示さなかった (Fig. 6)。

各回投与24時間後における組織内濃度は投与開始後3~5日目で定常状態に達したが、血漿、脳、胸腺、心臓、肝臓、脾臓と脂肪組織では7日間の連投期間中やや上昇傾向を示した (Table 17)。そこで連投期間を14日間に延長して、これらの組織内の放射能濃度を測定した (Table 18)。各回投与24時間後における血漿、脳、胸腺、心臓、肝臓、脾臓と脂肪組織中の放射能濃度は連投により徐々に上昇したが、7~12日目で定常状態に達した。投与を中止すると、各組織中の放射能濃度は徐々に低下した (Table 17)。

### 2.6.2 尿と糞への排泄

連投期間中、放射能はほぼ定量的に排泄され、投

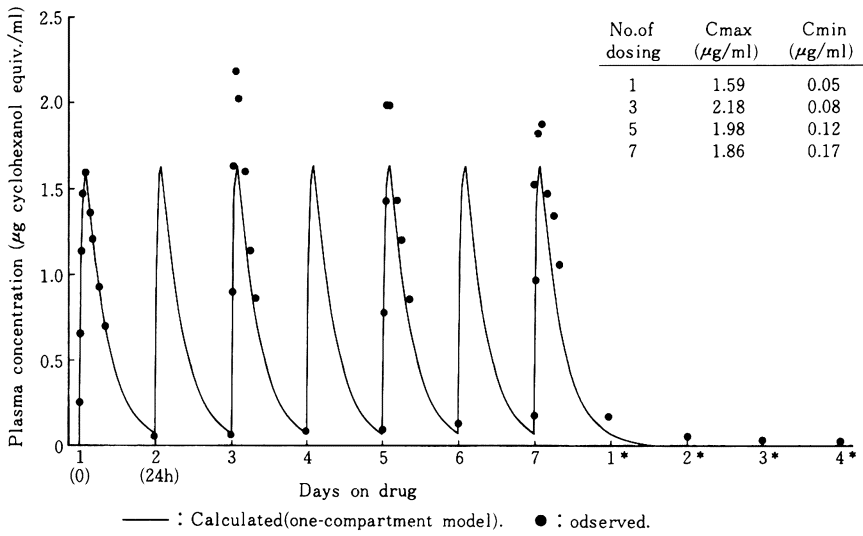


Fig. 6 Plasma levels of radioactivity during and after once-daily oral administration of <sup>14</sup>C-cefotiam hexetil to the rat. Daily dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. \* Days after the 7th administration.

Table 17 Tissue levels of radioactivity 24 h after once-daily oral administration of <sup>14</sup>C-cefotiam hexetil to the rat

Tissue	Radioactive concn. (µg cyclohexanol equiv./ml or g)						
	Days on drug				Days after the 7th administration		
	1	3	5	7	2	4	7*
Plasma	0.05±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.09±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.01(0.01, 0.01)
Brain	0.03±0.02	0.04±0.01	0.04±0.01	0.05±0.02	0.03±0.01	0.02±0.01	0.02(0.02, 0.01)
Spinal cord	0.04±0.02	0.05±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.02(0.02, 0.02)
Thymus	0.04±0.02	0.07±0.01	0.11±0.02	0.12±0.03	0.08±0.02	0.04±0.02	0.02(0.03, 0.01)
Heart	0.02±0.02	0.05±0.03	0.08±0.02	0.09±0.02	0.03±0.02	0.06±0.03	0.03(0.04, 0.02)
Lung	0.06±0.02	0.09±0.00	0.11±0.02	0.09±0.02	0.08±0.05	0.06±0.01	0.03(0.03, 0.03)
Liver	0.16±0.03	0.26±0.09	0.33±0.07	0.39±0.03	0.20±0.02	0.10±0.03	0.06(0.07, 0.05)
Spleen	0.03±0.02	0.04±0.02	0.07±0.04	0.10±0.03	0.04±0.03	0.05±0.01	0.03(0.03, 0.02)
Pancreas	0.06±0.05	0.16±0.05	0.15±0.03	0.15±0.03	0.13±0.03	0.06±0.01	0.03(0.03, 0.02)
Adrenal gland	0.15±0.10	0.15±0.01	0.17±0.04	0.17±0.02	0.14±0.01	0.12±0.03	0.06(0.08, 0.04)
Kidney	0.08±0.06	0.15±0.03	0.18±0.03	0.18±0.02	0.14±0.01	0.09±0.01	0.06(0.07, 0.05)
Skeletal muscle	0.06±0.02	0.06±0.00	0.06±0.02	0.06±0.01	0.06±0.02	0.04±0.01	0.04(0.04, 0.03)
Epididymal fat	0.06±0.02	0.11±0.05	0.11±0.04	0.16±0.04	0.12±0.04	0.18±0.01	0.09(0.11, 0.06)
Testis	0.02±0.02	0.04±0.00	0.05±0.00	0.04±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.02(0.02, 0.02)
Stomach	0.06±0.01	0.08±0.03	0.10±0.02	0.11±0.02	0.07±0.01	0.04±0.01	0.04(0.05, 0.02)
Intestine	0.04±0.03	0.10±0.02	0.12±0.02	0.13±0.03	0.06±0.02	0.02±0.01	0.02(0.02, 0.02)

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean ± S.D. of the results from three rats. \* Means of two rats with individual values in parentheses.



Table 18 Tissue levels of radioactivity 24 h after once-daily oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat

Tissue	Radioactive concentration ( $\mu\text{g}$ cyclohexanol equiv./ml or g)					
	Days on drug					
	1	4	7	10	12	14
Plasma	0.04 $\pm$ 0.00	0.09 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01
Brain	0.06 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01
Thymus	0.06 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.01
Heart	0.05 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.00	0.12 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.01
Liver	0.14 $\pm$ 0.04	0.31 $\pm$ 0.03	0.41 $\pm$ 0.03	0.38 $\pm$ 0.04	0.46 $\pm$ 0.03	0.47 $\pm$ 0.02
Spleen	0.06 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.00
Epididymal fat	0.03 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.02	0.27 $\pm$ 0.11	0.25 $\pm$ 0.12	0.42 $\pm$ 0.17	0.38 $\pm$ 0.02

Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three rats.

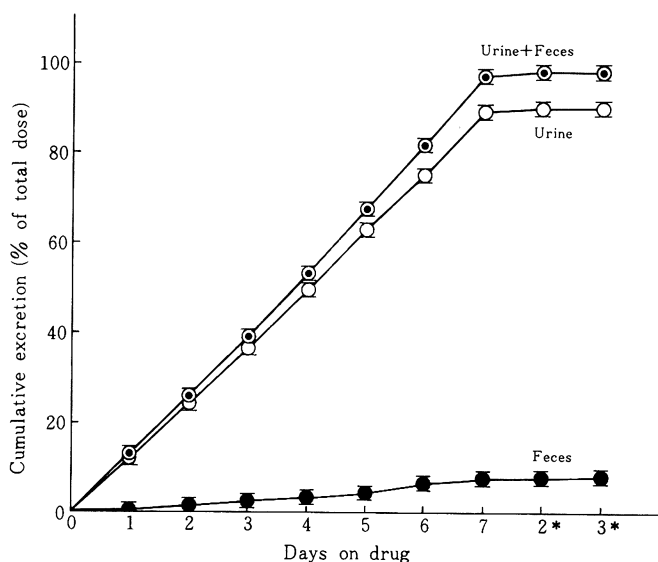


Fig. 7 Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces during and after once-daily oral administration of  $^{14}\text{C}$ -cefotiam hexetil to the rat. Dose, 20 mg (as cefotiam)/kg. Mean  $\pm$  S.D. of the results from three rats. \* Days after the 7th administration.

与を中止すると3日間で総投与量の89.5%が尿に、8.0%が糞に、合わせて97.5%が排泄された (Fig. 7)。

これらの結果から、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE をラットに連投しても、エステル側鎖由来の成分は体内に蓄積しないと判断される。

マウスで明らかにされたように、 $^{14}\text{C}$ -CTM-HE の投与量を20 mg/kg から1,000 mg/kg に増量しても、その生体内動態が大きく変化することはないと考えられる。したがって、本実験における投与量20 mg/kg をさらに増量しても蓄積性を示さないと

推定される。

## 2.7 放射性成分の構造解析

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE のエステル側鎖の代謝物を明らかにするため、“実験材料と方法”の項に記載した方法に従ってラットの門脈血からCH、ラット尿から1,2-CHD、1,3-CHD、1,4-CHDおよびCHTと推定される成分を単離し、GC-MSによりそれらの構造解析を行った。

### 2.7.1 CH

ラットの門脈血から単離したCHのGCにおける保持時間は8.2分であった。そのマススペクトルは

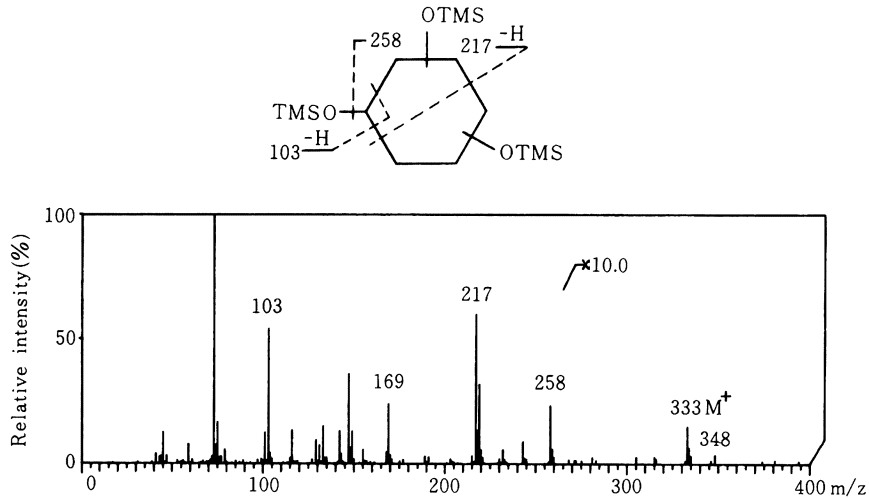


Fig. 8 A representative mass spectrum of the trimethylsilyl derivative of cyclohexanetriol isolated from the rat urine. TMS: trimethylsilyl.

分子イオン ( $M^+$ ) を  $m/z$  100 (4, 相対強度 (%), 以下同じ) に示し, さらに, 特徴的なフラグメントピークを  $m/z$  82 (48), 57 (100) と 44 (22) に与えた。 $m/z$  82 におけるピークは脱水により, また,  $m/z$  57 と 44 におけるピークはシクロヘキサン環の開裂により生じたものと考えられた。これらのマススペクトルのパターンと GC の保持時間は合成標品のそれらと完全に一致した。

### 2.7.2 CHD

ラットの尿から得られた 1,2-CHD, 1,3-CHD と 1,4-CHD の GC における保持時間はそれぞれ 16.4, 18.8, 19.0 分であった。これらのマススペクトルはいずれも  $m/z$  116 に  $M^+$  を与えることから, これらは CHD の異性体であると推定された。1,2-CHD のマススペクトルは特徴的なフラグメントピークを  $m/z$  98 ( $M^+ - H_2O$ ) 70, 57, 44 に与えた。 $m/z$  70, 57, 44 におけるピークはシクロヘキサン環の開裂によって生じたものと推定された。1,2-CHD の  $m/z$  116, 98, 70, 57, 44 におけるピークの相対強度 (%) はそれぞれ 13, 35, 100, 71, 33 であった。この代謝物は TLC (Fig. 2) および GC により他の 2 種の異性体とは完全に分離され, マススペクトルのパターンも合成標品の 1,2-CHD と完全に一致した。1,3-CHD と 1,4-CHD は TLC (Fig. 2) で分離することができず, また, GC の保持時間もきわめて接近していた。しかし, マススペクトルのパターンは脱水に伴う  $m/z$  98 のピークおよびシクロヘキサン

環の開裂に伴う  $m/z$  70, 58, 44 におけるピークの強度に明らかな相違が見られた。すなわち,  $m/z$  116, 98, 70, 58, 44 におけるピークの相対強度 (%) は 1,3-CHD がそれぞれ 1, 92, 59, 64, 100 であるのに対して, 1,4-CHD では 1, 20, 22, 100, 32 であった。これらの特徴はそれぞれの合成標品のパターンと完全に一致した。したがって, 1,3-CHD と 1,4-CHD のいずれもエステル側鎖由来の代謝物として存在することが確認された。

### 2.7.3 CHT

ラットの尿から得られた CHT の TMS 誘導体は GC で 4 本のピークとして検出され, 保持時間はそれぞれ 22.1, 22.5, 23.4, 24.1 分であった。これらの 4 つのピークのマススペクトルはいずれも互いに類似したフラグメンテーションパターンを示した (Fig. 8)。いずれのピークも  $m/z$  348 に  $M^+$  を示すことから, これらの代謝物は CHT の異性体であると推定された。さらに, 特徴的なフラグメントピークが  $m/z$  333 ( $M^+ - CH_3$ ), 258 ( $M^+ - TMSOH$ ), 217, 169 ( $M^+ - 2TMSOH + H$ ) と 103 に観察された。 $m/z$  217 と 103 でのピークはシクロヘキサン環の開裂によって生じたものと推定された。これらの結果から, この代謝物は CHT の異性体の混ざりと推定され, GC 上で 4 成分に分離したものと考えられた。水酸基の位置を確認するため, 合成標品の 1,3,5-CHT (保持時間, 22.4 と 24.0 分) を同様に測定したが, そのマススペクトルのパターンはいず

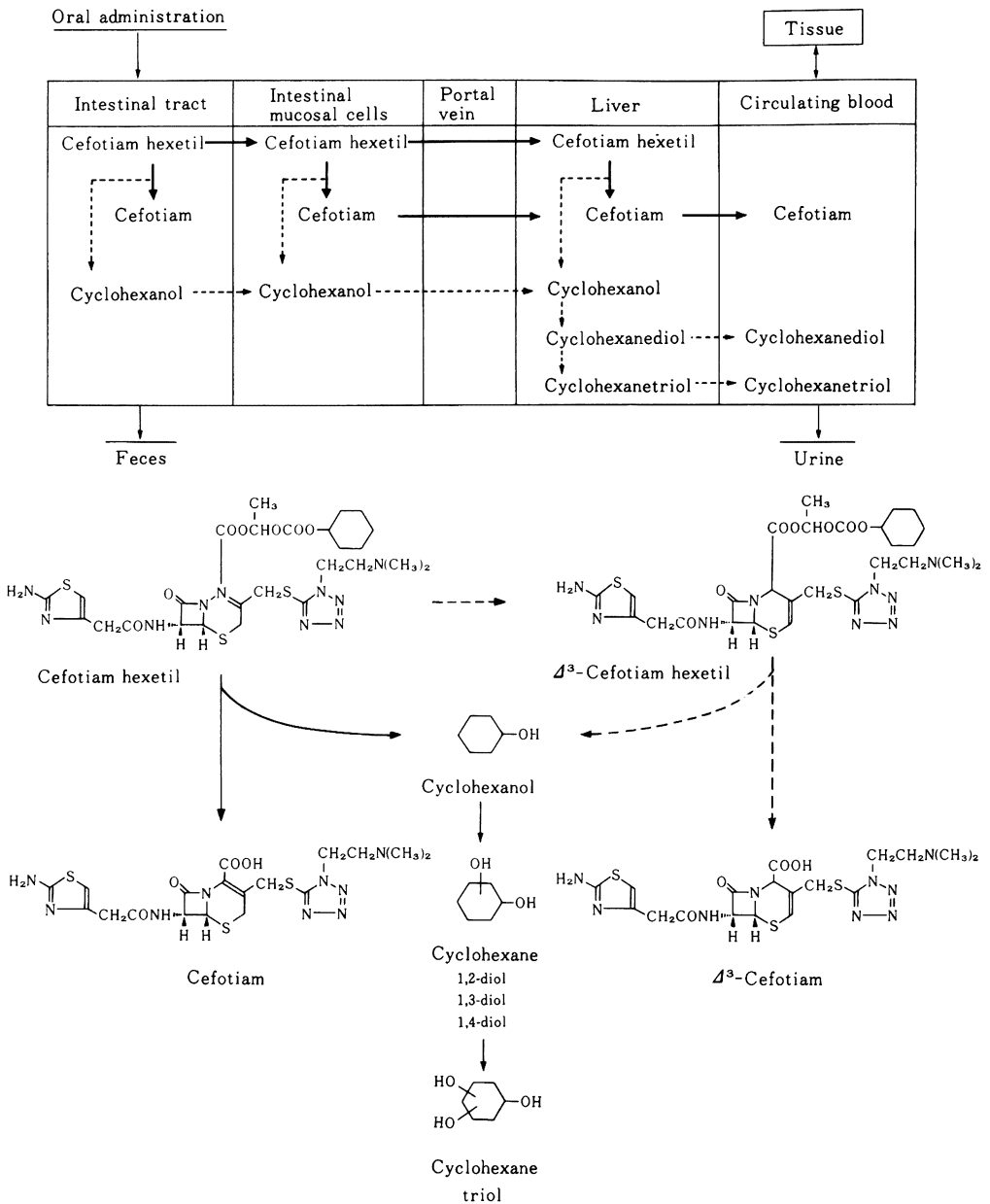


Fig. 9 Schematic representation of disposition and metabolic pathways of <sup>14</sup>C-cefotiam hexetil.

れの代謝物とも異なっていた。したがって、ラットの尿から単離した CHT は水酸基の位置異性体である 1,2,4-CHT または 1,2,3-CHT と推定された。

以上の結果から、<sup>14</sup>C-CTM-HE の側鎖由来の代謝物として CH, 1,2-CHD, 1,3-CHD, 1,4-CHD, CHT の存在が明らかとなった。すなわち、<sup>14</sup>C-CTM-HE の加水分解により生成したエステル側鎖は順

次 O-脱エチル化と脱炭酸を受けて CH を生成し、この CH は肝臓でさらに水酸化されて CHD と CHT に変換されると考えられる。

総 括

CTM-HE の生体内動態と代謝経路をまとめて Fig. 9 に示す。ラットとマウスに経口投与した

CTM-HE は、小腸粘膜の B-エステラーゼにより加水分解を受け、主に CTM と CH として門脈経路で吸収される。イヌでは小腸粘膜のエステラーゼ活性が低いいため、CTM-HE の一部は未変化のまま吸収されるが、肝臓で CTM と CH に変換されてから全身循環に移行する。吸収された CTM は体内でほとんど代謝変換を受けず、尿と胆汁に排泄されるが、CH は肝臓でさらに CHD, CHT とその他の成分に代謝された後、主に尿に排泄される。CTM-HE をラットに連続経口投与しても、エステル側鎖由来の成分が体内に蓄積されることはない。

### 文 献

- 1) NISHIMURA T, YOSHIMURA Y, MIYAKE A, YAMAOKA M, TAKANOHASHI K, HAMAGUCHI N, HIRAI S, YASHIKI T, NUMATA M: Orally active 1-(cyclohexyloxy-carbonyloxy)alkyl ester prodrugs of cefotiam. *J. Antibiotics* 40: 81~90, 1987
- 2) 原 耕平, 他: 第 35 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム, SCE-2174. 盛岡, 1987
- 3) TANAYAMA S, KONDO T, KANAI Y: Metabolic fate of SCE-963, a new broad-spectrum cephalosporin, after parenteral administration to rats and dogs. *J. Antibiotics* 31: 703~711, 1978
- 4) WATANABE M, TADA N, IMANISHI M, YAMAOKA M: Synthesis of 1-( $^{14}\text{C}$ ) cyclohexyloxy-carbonyloxyethyl 7 $\beta$ -[2-(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]-3-[[[1-(2-dimethylaminoethyl)-1H-tetrazol-5-yl]thio]methyl]ceph-3-em-4-carboxylate dihydrochloride ( $^{14}\text{C}$  SCE-2174) *J. Labelled Comp. Radiopharm.* 25: 257~261, 1988
- 5) TANAYAMA S, SHIRAKAWA Y, KANAI Y, SUZUOKI Z: Metabolism of 8-chloro-6-phenyl-4H-s-triazolo [4,3- $\alpha$ ] [1,4] benzodiazepine (D-40TA), a new central depressant. I. Absorption, distribution and excretion in rats. *Xenobiotica* 4: 33~47, 1974
- 6) TANAYAMA S, KOBAYASHI T, KANAI Y: Metabolism of 3-(2,4,5-triethoxybenzoyl)-propionic acid, a new biliary smooth muscle relaxant with choleretic activity. I. Disposition after a single administration in rats and dogs. *Xenobiotica* 8: 365~375, 1978
- 7) TANAYAMA S, YOSHIDA K, ADACHI K, KONDO T: Metabolic fate of SCE-1365, a new broad-spectrum cephalosporin, after parenteral administration to rats and dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18: 511~518, 1980
- 8) KOBAYASHI T, YOSHIDA K, MITANI M, TORII H, TANAYAMA S: Metabolism of idebenone (CV-2619), a new cerebral metabolism improving agent: Isolation and identification of metabolites in the rat and dog. *J. Pharmacobio-Dyn.* 8: 448~456, 1985
- 9) TANAYAMA S, YOSHIDA K, KANAI Y: Metabolic fate of SCE-129, a new antipseudomonal cephalosporin, after parenteral administration in rats and dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14: 137~143, 1979
- 10) TANAYAMA S, MOMOSE S, KANAI Y, SHIRAKAWA Y: Metabolism of 8-chloro-6-phenyl-4H-s-triazolo [4,3- $\alpha$ ] [1,4] benzodiazepine (D-40TA), a new central depressant. IV. Placental transfer and excretion in milk in rats. *Xenobiotica* 4: 219~227, 1974
- 11) BAKKE OM: Studies on the degradation of tyrosine by rat caecal contents. *Scand. J. Gastroent.* 4: 603~609, 1969
- 12) EVERSON PEASE AG: "Histochemistry-Theoretical and applied" Vol. 2, Churchill Livingstone, London.: pp.761~807, 1972
- 13) YAMAOKA K, TANIGAWARA Y, NAKAGAWA T, UNO T: A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. *J. Pharmacobio-Dyn.* 4: 879~885, 1981

## METABOLIC FATE OF CEFOTIAM HEXETIL, A NEW ORAL CEPHALOSPORIN ANTIBIOTIC, IN RATS, MICE, AND DOGS

SHIGEHARU TANAYAMA, KIYOSHI YOSHIDA, MASAYOSHI MITANI

TAKEJI TSUKAMOTO, and HIROSHI TORII

Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.,

2-17-85 Juso-honmachi, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

We studied the metabolic fate of cefotiam hexetil (CTM-HE), the cyclohexyloxycarbonyloxyethyl ester of cefotiam, in rats, mice, and dogs.

### 1) Disposition of cephalosporin compounds

$^{14}\text{C}$ -CTM-HE administered orally was absorbed largely as cefotiam by the portal route; the extent of absorption was 17, 43, and 8% in rats, mice, and dogs, respectively. In rats given  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE orally, the level of cefotiam in plasma peaked 15 min after dosing and then declined with an apparent half-life of 0.9 h. Oral administration of  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE to mice gave a peak cefotiam level in plasma at 5 min and an apparent half-life of 0.5 h. In dogs, the level of cefotiam in plasma reached a maximum 30 min after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE, this was followed by a decline with an apparent half-life of 1 h. The plasma of these animals also contained a small amount of  $\Delta^3$ -cefotiam. Rats, mice, and dogs excreted cefotiam and  $\Delta^3$ -cefotiam in both urine and feces. No detectable amounts of CTM-HE and  $\Delta^3$ -CTM-HE were present in the plasma and excreta of these animals.

*In vitro* studies using plasma and homogenates of tissues showed that in rats and mice CTM-HE was converted to cefotiam by carboxyesterase (B-esterase), mainly in the intestinal mucosa, whereas in dogs the antibiotic was hydrolyzed in the liver.

### 2) Disposition of the cyclohexyloxycarbonyloxyethyl side chain.

After oral administration of  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE to rats, mice, and dogs,  $^{14}\text{C}$  derived from the side chain was well absorbed, mainly as cyclohexanol. Cyclohexanol was further metabolized in the bodies of these animals to 1,2-cyclohexanediol, 1,3-cyclohexanediol, 1,4-cyclohexanediol, and cyclohexanetriols.

In rats, mice, and dogs given  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE orally, the  $^{14}\text{C}$  level in plasma reached a maximum 2, 1, and 2 h after dosing, respectively. Apparent elimination half-lives of  $^{14}\text{C}$  were 4.7, 2.1, and 5.1 h. In rats and dogs,  $^{14}\text{C}$  was protein-bound only to a small extent (<10%). After oral administration of  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE to rats,  $^{14}\text{C}$  was distributed widely in tissues, with relatively high concentrations in the liver and kidney. Placental transfer and lacteal secretion of  $^{14}\text{C}$  were observed in rats.

In rats, mice, and dogs,  $^{14}\text{C}$  was mostly eliminated within 48 h. These animals excreted the ingested  $^{14}\text{C}$  preferentially in urine ( $\geq 78\%$ ). The remainder was excreted in feces and expired air.

Once-daily oral administration of  $^{14}\text{C}$ -CTM-HE to rats for 14 days resulted in no accumulation of  $^{14}\text{C}$ -labeled materials.