

¹⁴C-Cefclidinのラットにおける体内動態

水尾 均・堀江 透・杠 輝昭
 エーザイ株式会社筑波研究所*

関 英昌・柏崎 清・高市松夫・江角凱夫
 第一化学薬品株式会社東海研究所

SD系ラットに¹⁴C標識Cefclidin (¹⁴C-CFCL) を単回あるいは反復静脈内投与し、体内動態について検討した。

1. ¹⁴C-CFCL 20mg/kg 単回投与後の血漿中放射能濃度は、その消失半減期 $t_{1/2\lambda_1}=38.4$ 分、 $t_{1/2\lambda_2}=16.3$ 時間の二相性で減衰した。投与量 20~820mg/kgの範囲で血漿中濃度のAUCは投与量に比例して増加した。CFCLの血漿蛋白結合率は、約5%と低かった。

2. 単回投与5分後の組織内放射能濃度 ($\mu\text{g eq./g}$) は、腎 (379.2~207.3) > 血漿 > 肺、気管 > 甲状腺、骨髄、動脈 > 肝の順であり、以後漸減した。投与6日後では腎皮質 (5.1) を除いて $0.6\mu\text{g eq./g}$ 以下の濃度となった。

3. 単回投与後の尿および糞中への放射能の排泄は、投与後7日までの尿中に投与量の98.2%、糞中に4.1%が排泄された。胆汁中には、投与24時間までに0.5%が排泄された。

4. 単回投与後の血漿および尿中放射能の95%以上は未変化体CFCLであった。

5. 単回投与後、妊娠19日目のラットでは、胎仔に僅かに放射能が認められたが、胎仔への分布率は低かった。乳汁中濃度は投与1時間後に最高値に達し、以後速やかに消失した。

6. ¹⁴C-CFCL 20mg/kgを1日1回、7日間反復投与後の血漿中濃度、分布、代謝、排泄は概ね単回投与時と同様であった。CFCLの肝薬物代謝酵素系への影響は認められなかった。

Key words : Cefclidin, Metabolic fate, Rat

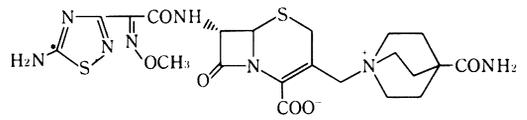
Cefclidin (CFCL) は、エーザイ株式会社で開発された新規セフェム系注射用抗生物質である。CFCLは、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトラムを有し、特に緑膿菌に対して強い活性を示すことが明らかとなっている¹⁻³⁾。

本研究では、¹⁴C-標識CFCL (¹⁴C-CFCL) をラットに単回あるいは反復投与した際の体内動態について検討したので報告する。

1. 実験材料および実験方法

1. 標識化合物

¹⁴C-CFCLは当研究所で合成され、比放射能 $97.1\sim 103.1\mu\text{Ci/mg}$ 、放射化学的純度97%以上のものを使用した (Fig. 1)。非標識のCFCLは、当研究所で合成された Lot No. TS600712, 601007-2, 88082901および90112602を用いた。



* : Labelled position

Fig. 1. Chemical structure of ¹⁴C-Cefclidin (CFCL)

2. 投与量および投与方法

¹⁴C-CFCLに非標識CFCLを加えて注射用生理食塩水に溶解し、濃度 20mg/mlに調製した。投与量は基本的に 20mg/kgとし、大腿部静脈内に投与した。但し、胎盤通過性に関する試験では尾静脈内に投与した。投与放射能量は、組織内分布試験、血漿蛋白結合試験および胆汁中放射能排泄試験において約150~300 $\mu\text{Ci/kg}$ 、尿糞中放射能排泄試験および尿中放射能存在形態の試験では1.929mCi/kg、乳汁中移行および胎盤通過

に関する試験では54 μ Ci/kgとした。

3. 実験動物

実験動物は、日本エスエルシー(株)から購入したSD系ラットを用いた。単回投与および反復投与実験では、7～9週齢の雄性ラットを使用した。胎盤通過実験では9週齢で交配した妊娠12日目および妊娠19日目のラットを用いた。乳汁移行実験では9週齢で交配し分娩後11日目の哺育中ラットを使用した。

実験前および実験期間中は、ラットに水および固形飼料(MF, オリエンタル酵母工業(株))を自由に摂取させて飼育した。

4. 単回投与実験

1) 血液, 血漿中濃度

¹⁴C-CFCL 20mg/kgを雄性ラット(一群3匹)に単回静脈内投与し、投与5, 15, 30分, 1, 2, 4, 6および24時間後に、尾静脈からヘパリン処理したマイクロピペットを用いて約100 μ l採血した。血液を20 μ l採取後、残りの血液を遠心分離(1500 ϕ ×5min)して血漿および血球を得た。血液, 血漿および血球は、その20 μ lを放射能の測定に供した。

2) 血漿蛋白結合率

a) *In vivo*実験

¹⁴C-CFCL 20mg/kgを雄性ラット(一群3匹)に静脈内投与し、投与後5分および1時間にエーテル麻醉下、腹部大動脈からヘパリン処理した注射筒を用いて採血した。血液を4℃で遠心分離(1500 ϕ ×15min)し、血漿試料を得た。血漿1mlを限外濾過装置(セントリーフリー, Amicon)に入れ、アングル式ローターを用いて遠心分離(1500 ϕ ×15min)した。遠心分離前の血漿および遠心分離して得られた濾液の放射能を測定するとともに、HPLC法により未変化体CFCLの濃度を測定し、次式より蛋白結合率を求めた。

$$\text{結合率(\%)} = (1 - (\text{濾液中濃度} / \text{血漿中濃度})) \times 100$$

b) *In vitro*実験

雄性ラットをエーテル麻醉し、腹部大動脈からヘパリン処理した注射筒を用いて採血し、血液を4℃下遠心分離(1500 ϕ ×15min)して血漿を得た。血漿に、¹⁴C-CFCLの500mM磷酸緩衝液(pH7.4)溶液を1/10量添加し、最終薬物濃度100および10 μ g/mlの血漿試料を調製した。血漿試料を、37℃, 5分間インキュベーションした後、その1mlを限外濾過装置に入れ、前述の方法に従い、放射能濃度から蛋白結合率を求めた。

3) 組織内分布

¹⁴C-CFCL 20mg/kgを雄性ラット(一群3匹)に静脈内投与し、投与後5, 30分, 4, 24, 48時間および6日にエーテル麻醉下、腹部大動脈からヘパリン処理した注射筒を用いて採血して致死させ、以下の組織を摘出した。

脳, 下垂体, 心, 肺, 気管, 肝, 膵, 脾, 副腎, 腎, 膀胱, 眼球, 座骨神経, 骨髄, 顎下腺, 甲状腺, 胸腺, リンパ節, 精囊腺, 辜丸, 筋肉, 脂肪, 皮膚, 胃, 十二指腸, 盲腸, 動脈, ハーダー腺, 前立腺

摘出した組織は生理食塩水で洗浄後、水分を拭き取った後、一部ないしは全部の湿重量を精秤し、放射能測定に供した。血液は一部を4℃で遠心分離(1500 ϕ ×15min)し、血漿試料を得た。血液, 血漿および血球は50 μ lを放射能の測定に供した。

4) 尿, 糞中排泄

¹⁴C-CFCL 20mg/kgを雄性ラット(一群4匹)に投与後、ラットを代謝ケージ(メタボリカ, 榊山元医理器)に収容し、投与後7日までの尿および糞を分別採取した。採取時間は、尿では投与後0～1, 1～2, 2～4, 4～6時間, 6時間～1日, 1～3, 3～7日, 糞では0～1, 1～3, 3～7日とした。

尿採取の際は、予め尿受けに1/15Mリン酸緩衝液(pH6.0)を約5ml入れ、氷冷下で尿を受けた。各採取時間に上記リン酸緩衝液で代謝ケージを洗い、その洗液を尿試料に合わせて尿を採取した。尿は、全容量を測定した後、その一部の容量を正確に測定し、放射能の測定に供した。

糞は、水を加えて全重量を測定した後ホモジネートを調製し、その一部を精秤し、放射能の測定に供した。

5) 胆汁排泄

エーテル麻醉下、雄性ラットの総胆管にポリエチレンチューブ(Intramedic PE-50, Clay-Adams Inc. USA)を挿入した。麻醉から覚醒後、¹⁴C-CFCL 20mg/kgをラット(一群6匹)に静脈内投与し、ボールマンケージ(KN-326, 榊夏目製作所)に入れ、経時的に胆汁を採取した。各時間に流出する胆汁の全容量を正確に測定した後、その一部の容量を正確に測定し、放射能の測定に供した。

6) 胎盤通過性および乳汁中への移行性

¹⁴C-CFCL 20mg/kgを妊娠19日目ラット(一群3匹)に静脈内投与した後、飼育ケージに収め、投与後5, 30分, 4時間および24時間後にそれぞれエーテル麻醉下、腹部大動脈より採血致死させ、以下の組織を摘出し、4-3)に準じて測定した。

血漿, 血液, 血球, 大脳, 眼球, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 副腎, 子宮, 卵巣, 胎盤, 乳腺, 胎膜, 羊水, 胎仔(全身), 胎仔血漿, 胎仔血液, 胎仔血球, 胎仔脳, 胎仔心臓, 胎仔肺, 胎仔肝臓, 胎仔腎臓

¹⁴C-CFCL 20mg/kgを分娩後11日目のラット(一群3匹)に静脈内投与した後、哺育ケージに収め、乳汁および血漿を採取した。測定時間は、乳汁は投与後5, 30分, 1, 2, 4, 6, 24および48時間とした。

血漿では投与後5, 15, 30分, 1, 2, 4, 6, 24および48時間とした。乳汁は母獣の胸部および腹部の乳頭から搾取し、マイクロピペットを用いて20~57mgを採取し、放射能の測定に供した。血漿は、尾静脈より血液を約250 μ l採取後、4 $^{\circ}$ C下遠心分離(1800g \times 15 min)し、その100 μ lを放射能の測定に供した。なお、乳仔は乳汁採取1時間前に母獣から離し、乳汁採取後再び同居させた。

7) 全身オートラジオグラフィ

雄性ラットあるいは妊娠19日目ラットに、 14 C-CFCL 20mg/kgを投与後5, 30分および24時間にエーテル麻酔死させた。その後、ラットはそれぞれ5%カルボキシメチルセルロースに抱埋し、ドライアイス/アセトン中により凍結後、マイクロームを用いて全身の組織切片を作成した。切片は-25 $^{\circ}$ C前後で凍結乾燥した後、表面を保護膜(4 μ m, グイヤホイル)で被い、X線フィルム(MARG 3 Hタイプ, コニカ)と密着させ、4 $^{\circ}$ Cで14日間露出した後、X線フィルムを現像し、全身オートラジオグラムを作製した。

5. 反復投与実験

14 C-CFCL 20mg/kgを雄性ラット(一群3匹)に1日1回、7日間静脈内投与し、血液および血漿中濃度、組織内分布および尿、糞中排泄率を測定した。

1) 血液、血漿中濃度

毎回投与後5分および24時間に、(4-1)に準じて測定した。

2) 組織内分布

3回投与後24時間および7回投与後30分, 24, 48時間, 7日に、(4-3)に準じて測定した。

3) 尿、糞中排泄

採取時間は尿、糞とも毎回投与後24時間, 7回投与後24時間毎に6日までとし、(4-4)に準じて測定した。

6. 薬物代謝酵素への影響

雄性ラット(一群4匹)に、生理食塩水(対照群)あるいはCFCLを投与量100, 300, 1000および2000mg/kgで1日1回, 7日間, 尾静脈内投与した際の肝薬物代謝酵素活性の変動について検討した。

チトクロームP-450および b_5 量, ベンツフェタミンN-脱エチル化活性, p-ニトロアニソールO-脱メチル化活性, およびアニリン水酸化活性の測定は既報⁵⁾に従って行った。

7. 放射能の測定

血液、血漿、血球、糞および胆汁は組織溶解剤SOLUENE-350(Packard)/2-propanol(1:1)混液を、組織はSOLUENE-350をそれぞれ加えて溶解し、必要に応じて過酸化水素水を加えて50 $^{\circ}$ C一夜振盪して脱色した後、10%の0.5N HClを含むシンチレーター-IN-

STAGEL(Packard)を加えて放射能を測定した。

尿はシンチレーター(ACS II, Amersham)を加えて放射能を測定した。

胎盤通過性および乳汁移行性実験では、組織溶解剤SOLUENE-350により試料を溶解した後、必要により過酸化ベンゾイル飽和のベンゼン溶液を加えて脱色し、シンチレーター(ECONOFUOR, Du Pont NEN Research Products)を用いて測定した。

放射能は、液体シンチレーションカウンター(LSC-903, アロカ(株))で測定し、外部標準線源によるチャンネル比法により計数効率の補正を行った。

8. 試料中CFCLおよび代謝物の分離測定

1) HPLC法によるCFCLの定量

尿試料は、4 $^{\circ}$ C下、6000g、5分間遠心分離した後、その上清をHPLC法に供した。

血漿試料 200 μ lに、1M H₃PO₄ 15 μ l、内部標準化合物(Fig. 2)の0.1M酢酸緩衝液溶液(1.0mg/ml) 20 μ l、0.1M酢酸緩衝液(pH5.0) 20 μ lおよびメタノール 500 μ lを加えて30秒間攪拌した後、氷冷下30分間放置した。その後 6000gで5分間遠心分離して上清を得、窒素気流下メタノールを留去して濃縮後HPLC法に供した。

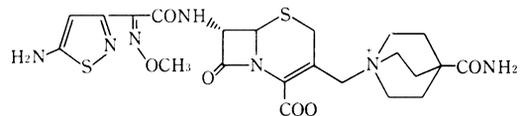


Fig. 2. Chemical structure of internal standard

なお、検量線においては、血漿に加える0.1M酢酸緩衝液(pH5.0)の替わりに、適当な濃度に調製したCFCLの0.1M酢酸緩衝液溶液を加えた。

HPLC条件

ポンプ: Waters 510 pump (Waters)

ガードカラム: YMC-Guardpack BBC-4-

ODS-5 (4.0mm i.d. \times 10mm) (株)YMC)

カラム: YMC-Pack ODS A-312

(6.0mm i.d. \times 150mm) (株)YMC)

移動相: Methanol/H₂O/Acetic acid

(30/970/1)

流速: 1.5 ml/min

検出: UV 254nm (JUSCO 875 UV) および

Radioactivity (RS-8000, 東ソー(株))

データ処理装置: CP-8080(東ソー(株))あるいは3390A (Hewlett Packard)

2) TLC法

血漿試料 500 μ lに 1M H₃PO₄ 40 μ lおよびメタノール 1mlを加えて30秒間攪拌した後、氷冷下30分間放置

した。その後 6000g で 5 分間遠心分離して上清を得、窒素気流下でメタノールを留去して濃縮後 TLC 法に供した。

尿試料は尿を直接 TLC 板にスポットし、薄層クロマトグラフィ (TLC) (Merk kiesel-gel 60 F₂₅₄, 0.25 mm, TLC 系 1: アセトニトリル: 酢酸エチル: 水: 酢酸 (60: 40: 40: 20), TLC 系 2: アセトン: 水: 酢酸: アンモニア水 (50: 20: 20: 2.5)) を行ない、未変化体 CFCL および代謝物を分離した。次いで、TLC 板を TLC リニアアナライザー (丸文^株) または TLC ラジオクロマナイザー (アロカ^株) にかけて放射能を検出し、解析した。なお、定量計算は TLC 系 1 を用いて行った。

3) Bioassay 法

試料を 1/15M リン酸緩衝液 (pH 6.0) で適当濃度に希釈し、薄層ディスク法⁵⁾により測定した。

薄層ディスク法

検定菌: *Escherichia coli* E01174

接種菌量: 約 10^6 cells/ml

検定培地: Brain Heart Infusion Agar (Difco)

標準溶液: 1/15M リン酸緩衝液 (pH 6.0)

定量限界: 0.1 μ g/ml

II. 実験結果

1. 単回投与時の体内動態

1) 血中放射能濃度

¹⁴C-CFCL 20mg/kg をラットに静脈内投与した際の血液、血漿、血球中放射能濃度を Fig. 3 に示した。投与後 5 分における放射能濃度は、血液中は 52.35 μ g eq./ml, 血漿中は 88.83 μ g eq./ml, 血球中は 5.12 μ g eq./ml を示し、以後はいずれの濃度も経時的に漸減した。全血液中放射能濃度は、血漿中濃度 \times (1-ヘマトクリット/100) にほぼ近い値を示していた。ラットに ¹⁴C-CFCL 50, 240 および 820mg/kg を静脈内投与した際の血漿中放射能濃度を Fig. 4 に示した。血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は投与量に比例して増加していた (Fig. 5)。

2) 血漿蛋白結合率

¹⁴C-CFCL をラット血漿に、最終濃度 100 あるいは 10 μ g/ml の濃度に添加した際の血漿蛋白結合率は、いずれも約 5% と低かった (Table 1)。

¹⁴C-CFCL をラットに 20mg/kg 静脈内投与後 5 分および 1 時間における放射能の血漿蛋白結合率は、5.6% および 16.9% であった。未変化体 CFCL の結合率は、いずれの時間においても *In vitro* の結果と有意差はなかった (Table 1)。

3) 体内分布

¹⁴C-CFCL 20mg/kg をラットに静脈内投与した際の組織内放射能濃度を Table 2 に示した。投与後

5 分で、ほとんどの組織では最高組織内濃度に達したが、脳、腎皮質、腎髄質、膀胱、精囊腺、皮膚、盲腸、前立腺では投与後 30 分に最高組織内濃度に達し、以後は経時的に漸減していた。投与後 5 分の各組織内濃度 (μ g eq./g or ml) は、腎髄質 (379.23) が最も高く、次いで腎皮質 (207.32)、血漿、血液、肺、気管、甲状腺、骨髄、動脈 (123.08~24.87) の順に高く、肝 (14.19) は低かった。脂肪 (3.63) および脳 (2.03) への移行は極めて低かった。以後、組織内濃度は漸減し、投与 6 日後には腎皮質 (5.13) を除くほとんどの組織で 0.6 μ g eq./g or ml 以下の濃度となった。なお、腎皮質の濃度は、投与 4 時間以降に他組織と比較して最も高く推移したが、投与 6 日後までのその消失半減期 (1.8 日) は血漿中の半減期 (1.6 日) とほぼ同等であった。

ラットに ¹⁴C-CFCL を投与量 50, 240, 820mg/kg で静脈内投与した後、24 時間における組織内放射能濃度は、ほとんどの組織では血漿中濃度と同様に投与量に比例して増加したが、腎皮質においては顕著な頭打ちの傾向が認められた (Table 3)。

¹⁴C-CFCL 20mg/kg をラットに静脈内投与し、全身オートラジオグラフィにより放射能の体内分布を検討した (Fig. 6)。その結果は、計測分布の結果と同様であり、投与 5 分後には腎 (髄質) に最も高い放射能が認められた。肺の放射能濃度は血液とほぼ同程度であり、肝はより低い濃度であった。24 時間後は、腎 (皮質)、肝臓および腸内容物以外ではほとんどの放射能は消失した。

4) 尿、糞および胆汁中放射能排泄

ラットに ¹⁴C-CFCL 20mg/kg を静脈内投与した際の、投与後 7 日までの尿および糞中への放射能排泄率は、尿中に 98.2%、糞中に 4.1%、合計 102.2% であった (Table 4)。

ラットに ¹⁴C-CFCL 20mg/kg を静脈内投与した際の、胆汁中への放射能の排泄率は、投与後 24 時間で投与放射能量の 0.52 \pm 0.07% であった (Table 5)。

5) 代謝

a) 血漿中放射能存在形態

血漿をメタノール除蛋白した後の放射能の抽出率は、投与 5 分および 1 時間後血漿でそれぞれ 84.0% および 75.0% であった。なお、投与 5 分後血漿からの抽出率は、¹⁴C-CFCL 添加血漿からの値 85.6% と近似していることから、未抽出の放射能は除蛋白の際に巻き込まれて沈澱した放射能と考えられた。TLC ラジオクロマトグラムのパターンを Fig. 7 に示した。未変化体 CFCL の位置に濃厚なスポットが認められ、その他に CFCL よりも Rf 値の高い所に M1, M2 および M3, Rf 値の低い所に M4 および M5 のスポットが痕跡程度に認められたが、TLC 上および HPLC 上 ¹⁴C-CFCL の分解

物と一致していた。

いずれの時間においても、未変化体CFCLは抽出画分の放射能の98%以上を占め、M1, M2, M3, M4およびM5はいずれも0.8%以下であった (Table 6)。

b) 尿中放射能存在形態

投与後0~24時間に、投与量の97.1%の放射能が尿中に排泄され、そのうち未変化体CFCLは投与量の92.1%、その他に主代謝物M2, M3, M4がそれぞれ1.2%, 0.4%, 1.1%存在していた。なお、M1およびM5は検出されなかった。また、HPLC法およびBioassay法により測定した未変化体の投与量に対する累積排泄率は、それぞれ94.5%, 96.8%であり、TLC法による結果と良く一致していた (Table 7)。

6) 胎盤通過性および乳汁中移行性

a) 胎盤通過性

妊娠12日目のラットの全身オートラジオグラムは、投与後5分では子宮、胎盤に母体血液と同程度の放射能が認められた。卵巣、乳腺の放射能は母体血液より

低く、羊水、胎仔には放射能は認められなかった。投与後30分では、各組織の放射能は低下したものの、放射能の分布パターンは投与後5分と同様であった。投与後24時間では、放射能はさらに低下したものの、子宮、乳腺に痕跡程度の放射能が認められた。胎盤、卵

Table 1. *In vivo* and *in vitro* plasma protein binding of radioactivity and unchanged cefclidin

	Protein binding ratio (%)	
	Radioactivity	Unchanged cefclidin
<i>In vivo</i>		
5 min	5.6±1.3	9.3±5.3
1 hr	16.9±0.7	8.0±1.8
<i>In vitro</i>		
100 µg/ml	4.5±1.2	N.T.
10 µg/ml	5.4±1.0	N.T.

Each data represents the mean±SEM (n=3)

N.T. : not tested

Table 2. Tissue distribution of radioactivity after single intravenous administration of ¹⁴C-cefclidin(20mg/kg) to male rats

Tissue	Concentration of radioactivity (µg eq. of cefclidin/g or ml)					
	5 min	30 min	4 hr	24 hr	48 hr	6 day
Blood	64.17± 1.30	27.03± 2.87	1.28± 0.06	0.61± 0.06	0.28± 0.03	0.07± 0.01
Plasma	123.08± 1.50	49.44± 5.88	2.23± 0.11	0.91± 0.07	0.38± 0.04	0.09± 0.00
Red blood cell	16.84± 4.04	9.94± 2.21	0.57± 0.07	0.21± 0.02	0.17*	0.05± 0.02
Brain	2.03± 0.42	4.14± 1.36	0.58± 0.13	0.13± 0.00	0.07± 0.01	N. D.
Hypophysis	15.53± 1.28	5.71± 0.90	0.77± 0.03	0.60± 0.09	0.31± 0.02	N. D.
Heart	18.41± 1.15	8.63± 1.55	2.06± 1.42	0.33± 0.02	0.16± 0.02	0.09± 0.02
Lung	44.92± 7.29	19.20± 3.04	1.88± 0.36	0.71± 0.02	0.51± 0.04	0.28± 0.09
Trachea	38.15± 3.94	22.73± 5.31	1.41± 0.17	0.85± 0.07	0.80± 0.25	0.22± 0.07
Liver	14.19± 1.56	7.31± 0.32	1.31± 0.11	1.02± 0.05	0.39± 0.04	0.12± 0.02
Pancreas	13.26± 1.09	7.66± 1.80	0.62± 0.04	0.35± 0.01	0.17± 0.03	0.07± 0.02
Spleen	17.13± 3.54	7.09± 1.08	1.02± 0.03	0.68± 0.04	0.24± 0.03	0.63± 0.47
Adrenal gland	14.95± 0.66	8.07± 0.17	1.00± 0.10	0.57± 0.04	0.33± 0.03	0.11± 0.02
Kidney cortex	207.32± 36.76	328.51± 81.02	45.82± 2.84	32.99± 5.98	26.55± 3.21	5.13± 0.91
Kidney medulla	379.23± 121.24	989.94± 289.63	5.18± 0.31	2.52± 0.10	1.74± 0.22	0.57± 0.21
Bladder	26.16± 1.83	58.00± 22.06	3.10± 0.13	1.31± 0.22	1.17± 0.22	0.41± 0.04
Eye ball	13.13± 1.47	7.26± 0.82	0.57± 0.05	0.17± 0.02	0.12± 0.04	0.05± 0.01
Sciatic nerve	12.42± 0.48	9.05± 2.51	1.41± 0.06	0.56± 0.06	0.23± 0.06	0.17± 0.02
Bone marrow	26.77± 6.05	9.16± 0.29	1.61± 0.58	0.41± 0.10	0.24± 0.03	N. D.
Submaxillary gland	19.09± 1.47	9.61± 2.31	0.86± 0.02	0.40± 0.01	0.20± 0.02	0.12± 0.03
Thyroid	29.54± 8.38	15.36± 1.93	1.73± 0.42	1.32± 0.14	0.67± 0.15	0.27± 0.05
Thymus	8.13± 0.66	4.09± 0.91	0.50± 0.02	0.25± 0.01	0.14± 0.02	0.05± 0.01
Lymph node	13.94± 5.84	8.46± 2.62	1.11± 0.08	0.60± 0.02	0.30± 0.09	0.09± 0.02
Seminal vesicle	11.22± 1.35	19.33± 9.98	0.47± 0.05	0.30± 0.03	0.24± 0.05	0.09± 0.02
Testis	11.16± 1.00	9.52± 1.32	0.55± 0.10	0.35± 0.04	0.21± 0.02	0.08± 0.02
Muscle	10.32± 2.41	4.50± 0.82	0.31± 0.02	0.18± 0.01	0.09± 0.00	0.06± 0.01
Adipose tissue	3.63± 0.71	1.85± 0.33	0.14± 0.01	0.10± 0.01	0.04± 0.00	N. D.
Skin	20.15± 0.71	22.69± 5.45	1.36± 0.04	1.02± 0.10	0.60± 0.05	0.24± 0.03
Stomach	22.27± 3.68	13.16± 0.64	0.68± 0.11	0.50± 0.06	0.24± 0.03	0.14± 0.01
Duodenum	17.03± 1.13	9.09± 0.92	0.75± 0.03	0.50± 0.04	0.35± 0.11	0.15± 0.02
Caecum	22.97± 3.47	26.25± 10.49	1.34± 0.11	10.47± 3.11	0.76± 0.21	0.11± 0.02
Aorta	24.87± 1.90	24.25± 5.39	1.53± 0.19	1.15± 0.03	0.88± 0.17	0.42± 0.06
Harderian gland	11.65± 0.73	5.99± 1.09	0.60± 0.04	0.37± 0.03	0.17± 0.04	0.06± 0.01
Prostate gland	7.48± 1.05	18.81± 7.79	0.64± 0.09	0.33± 0.02	0.19± 0.03	0.07± 0.00

Each data represents mean±SEM of three animals, * : n=2, N.D. : not detected

Table 3. Tissue distribution of radioactivity at 24 hr after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (dose : 50, 240 or 820mg/kg) to male rats

Tissue	Concentration of radioactivity (μg eq. of cefclidin/g or ml)		
	50 mg/kg	240 mg/kg	820 mg/kg
Blood	5.46 \pm 4.25	6.35 \pm 0.91	15.74 \pm 1.21
Plasma	1.81 \pm 0.02	9.19 \pm 1.05	22.76 \pm 2.16
Red blood cell	0.28 \pm 0.05	1.24 \pm 0.12	5.16 \pm 0.90
Brain	0.45 \pm 0.12	0.89 \pm 0.22	6.08 \pm 1.66
Hypophysis	1.08 \pm 0.22	3.20 \pm 1.14	7.97 \pm 1.01
Heart	0.89 \pm 0.10	3.89 \pm 0.59	9.57 \pm 1.14
Lung	1.73 \pm 0.04	7.76 \pm 0.44	22.66 \pm 2.42
Trachea	2.42 \pm 0.12	8.05 \pm 0.57	24.75 \pm 3.46
Liver	1.75 \pm 0.34	9.05 \pm 1.10	30.30 \pm 13.60
Pancreas	0.86 \pm 0.06	3.97 \pm 0.79	12.01 \pm 1.57
Spleen	1.08 \pm 0.08	6.58 \pm 1.50	18.90 \pm 3.93
Adrenal gland	1.20 \pm 0.05	5.23 \pm 0.73	14.42 \pm 2.18
Kidney cortex	125.62 \pm 16.49	503.93 \pm 162.49	718.08 \pm 221.08
Kidney medulla	11.98 \pm 0.79	46.92 \pm 14.69	98.56 \pm 24.76
Bladder	3.61 \pm 0.40	14.89 \pm 0.38	40.52 \pm 8.94
Eye ball	0.63 \pm 0.02	3.14 \pm 0.04	7.79 \pm 0.45
Sciatic nerve	1.56 \pm 0.27	5.61 \pm 0.70	14.98 \pm 1.15
Bone marrow	1.45 \pm 0.50	5.52 \pm 2.42	10.59 \pm 1.19
Submaxillary gland	1.34 \pm 0.15	5.35 \pm 0.84	17.72 \pm 3.95
Thyroid	1.92 \pm 0.38	6.70 \pm 1.97	18.19 \pm 1.33
Thymus	0.75 \pm 0.04	4.17 \pm 0.76	12.12 \pm 1.54
Lymph node	2.20 \pm 0.22	12.11 \pm 4.29	26.26 \pm 0.57
Seminal vesicle	1.12 \pm 0.36	5.36 \pm 1.44	11.40 \pm 1.48
Testis	0.68 \pm 0.08	3.31 \pm 0.21	7.34 \pm 0.98
Muscle	0.51 \pm 0.12	3.75 \pm 1.90	5.86 \pm 0.69
Adipose tissue	0.18 \pm 0.01	0.78 \pm 0.09	3.63 \pm 0.89
Skin	2.27 \pm 0.15	8.50 \pm 2.13	28.32 \pm 2.54
Stomach	1.27 \pm 0.18	6.19 \pm 0.96	15.73 \pm 2.50
Duodenum	1.19 \pm 0.13	4.39 \pm 0.69	15.76 \pm 1.73
Caecum	3.18 \pm 0.19	12.77 \pm 3.61	22.51 \pm 4.90
Aorta	3.66 \pm 0.46	16.45 \pm 1.19	41.57 \pm 4.14
Harderian gland	0.80 \pm 0.11	4.01 \pm 0.85	12.57 \pm 1.53
Prostate gland	0.78 \pm 0.03	3.03 \pm 0.44	10.50 \pm 1.85

Each data represents the mean \pm SEM of three animals

Table 4. Urinary and fecal excretion of radioactivity after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg) to male rats

Time (hr)	Cumulative excretion (% of dose)		
	Urine	Feces	Total
1	71.8 \pm 1.8	N.T.	71.3 \pm 1.8
2	86.1 \pm 1.5	N.T.	86.1 \pm 1.5
4	91.8 \pm 2.1	N.T.	91.8 \pm 2.1
6	95.5 \pm 0.5	N.T.	95.5 \pm 0.5
24	97.1 \pm 0.5	3.7 \pm 0.7	100.8 \pm 0.4
72	97.9 \pm 0.6	4.0 \pm 0.7	101.9 \pm 0.5
168	98.2 \pm 0.6	4.1 \pm 0.7	102.2 \pm 0.5

Each data represents the mean \pm SEM of four animals

N.T.: not tested

巢, 羊水, 胎仔には放射能は認められなかった (Fig. 8-1, 8-2)。

妊娠19日目ラットの全身オートラジオグラムは, 投与後5分では子宮, 胎盤, 胎膜に母体血液とほぼ同程度の放射能が認められた。卵巣, 乳腺の放射能は母体血液より低く, 胎仔には痕跡程度の放射能が認められた。投与後30分では, 母体血液と比較して胎膜がやや高く, 子宮は同程度, 胎盤はやや低い放射能が認められた。乳腺, 卵巣, 胎仔の放射能は低かった。投与後24時間では, 各組織の放射能は低下したものの, 胎膜に高い放射能が認められ, 次いで子宮, 胎仔腸内容物に低い放射能が認められた。卵巣, 胎盤, 乳腺, 羊水および腸内容物を除く胎仔組織には放射能は認められなかった (Fig. 9-1, 9-2)。

妊娠19日目ラットに 20mg/kg 静脈内投与した際, 母体の組織はいずれも最初の測定時間である投与後5分に最高濃度に達していたが, 胎仔のほとんどの組織では投与後30分または4時間に最高濃度を示した。羊水および胎仔肝臓は投与後4時間から24時間にかけて, 胎膜は投与後24時間にそれぞれ最高濃度を示した (Table 8)。

投与後5分では子宮, 卵巣, 胎盤および乳腺に母体血漿中濃度 81.47 $\mu\text{g eq./ml}$ の40~12%が認められた。胎膜, 胎仔組織, 胎仔 (全身) および羊水は母体血漿中濃度の1%以下であった。

大部分の胎仔組織が最高濃度を示す投与後30分では,

胎仔の組織内濃度 ($\mu\text{g eq./g or ml}$) は, 血漿 (1.10) > 血球 (0.70) > 胎仔全身 (0.67) > 腎臓 (0.59) > 肺, 心, 肝 (0.36~0.20) > 脳 (0.09) の順であった。

投与後24時間では胎膜が母体血漿中濃度 0.22 $\mu\text{g eq./ml}$ の63倍を示し, 次いで子宮, 胎盤および羊水が母体血漿中濃度の4~2倍を示した。卵巣, 乳腺および胎仔 (全身) には母体血漿中濃度とほぼ同程度の濃度が認められた。胎仔の各組織においては胎仔腎臓が母体血漿中濃度の2倍を示したが, 他の胎仔組織は母体血漿中濃度とほぼ同程度の濃度であった。

各測定時間における胎仔への放射能の分布率は, 1匹当たりでは 0.01~0.02%, 胎仔総数では 0.14~0.27%と低かった (Table 9)。

Table 5. Biliary excretion of radioactivity after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidid (20mg/kg) to male rats

Time (hr)	Cumulative excretion (% of dose)
0.5	0.16 \pm 0.03
1	0.27 \pm 0.04
1.5	0.34 \pm 0.05
2	0.38 \pm 0.06
4	0.44 \pm 0.06
6	0.47 \pm 0.06
8	0.48 \pm 0.06
24	0.52 \pm 0.07

Each data represents the mean \pm SEM of six animals

Table 6. Metabolites in plasma after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidid (20mg/kg) to male rats

Time	Extraction ratio (%)	Metabolite (% in extracted sample)						
		M1	M2	M3	Cefclidid	M4	M5	Others
Control	85.6 \pm 0.4	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	98.1 \pm 0.0	0.8 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0
5 min	84.0 \pm 0.4	0.1 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	0.3 \pm 0.1	97.8 \pm 0.2	0.5 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	0.7 \pm 0.1
1 hr	75.0 \pm 7.0	0.2 \pm 0.0	0.3 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	97.9 \pm 0.2	0.3 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	0.7 \pm 0.1

Each data represents the mean \pm SEM of three animals

Control sample was prepared by addition of ^{14}C -cefclidid to plasma at a concentration of about 100 $\mu\text{g/ml}$ of cefclidid

Table 7. Cumulative excretion of radioactivity, unchanged cefclidid and its metabolites in urine after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidid (20mg/kg) to male rats

Time (hr)	Cumulative excretion (% of dose)							
	Radioassay	TLC assay					HPLC assay	Bioassay
	Radioactivity	M2	M3	Cefclidid	M4	Others	Cefclidid	Cefclidid
1	71.3 \pm 1.8	0.3 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	68.8 \pm 1.6	0.7 \pm 0.1	1.5 \pm 0.1	69.5 \pm 5.2	73.4 \pm 2.4
2	86.1 \pm 1.5	0.4 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	83.1 \pm 1.5	0.8 \pm 0.1	1.8 \pm 0.1	87.0 \pm 1.7	88.4 \pm 1.8
4	91.8 \pm 2.1	0.5 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	88.1 \pm 2.1	1.0 \pm 0.1	2.0 \pm 0.1	91.7 \pm 1.8	93.6 \pm 2.3
6	95.5 \pm 0.5	0.7 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	91.5 \pm 0.5	1.1 \pm 0.1	2.1 \pm 0.1	94.5 \pm 1.0	96.8 \pm 1.0
24	97.1 \pm 0.5	1.2 \pm 0.1	0.4 \pm 0.0	92.1 \pm 0.5	1.1 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	94.5 \pm 1.0	96.8 \pm 1.0

Each data represents the mean \pm SEM of four animals

Table 8. Tissue distribution of radioactivity after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg) to rats on 19 days gestation

Tissue	Concentration of radioactivity (μg eq. of cefclidin/g or ml)			
	5 min	30 min	4 hr	24 hr
Plasma	81.47 \pm 15.50	34.19 \pm 2.82	1.04 \pm 0.06	0.22 \pm 0.02
Blood	52.26 \pm 10.01	22.04 \pm 1.29	0.71 \pm 0.03	0.16 \pm 0.01
Red blood cell	1.58 \pm 0.86	0.45 \pm 0.45	0.10 \pm 0.03	0.06 \pm 0.03
Cerebrum	1.14 \pm 0.30	0.60 \pm 0.04	0.07 \pm 0.03	N. D.
Eye ball	5.62 \pm 1.40	4.54 \pm 0.56	0.48 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01
Heart	12.18 \pm 1.65	5.15 \pm 0.47	0.31 \pm 0.01	0.12 \pm 0.00
Lung	33.62 \pm 7.45	16.32 \pm 1.08	1.23 \pm 0.09	0.39 \pm 0.03
Liver	7.65 \pm 1.40	4.79 \pm 0.26	1.44 \pm 0.06	0.47 \pm 0.03
Kidney	238.15 \pm 56.02	81.10 \pm 9.54	18.79 \pm 1.49	13.29 \pm 0.75
Adrenal	12.70 \pm 2.21	5.90 \pm 0.35	0.78 \pm 0.08	0.42 \pm 0.05
Uterus	32.60 \pm 9.91	23.74 \pm 4.76	3.68 \pm 1.15	0.79 \pm 0.08
Ovary	23.44 \pm 4.12	11.42 \pm 0.83	0.79 \pm 0.03	0.31 \pm 0.02
Placenta	16.84 \pm 3.95	10.74 \pm 1.01	1.56 \pm 0.14	0.66 \pm 0.04
Mammary gland	9.95 \pm 1.82	6.39 \pm 2.15	0.77 \pm 0.08	0.30 \pm 0.03
Amnion	1.04 \pm 0.31	2.87 \pm 0.17	10.76 \pm 0.81	13.83 \pm 0.77
Amniotic fluid	0.14 \pm 0.03	0.17 \pm 0.02	0.48 \pm 0.02	0.48 \pm 0.02
Fetus	0.37 \pm 0.06	0.67 \pm 0.06	0.59 \pm 0.04	0.23 \pm 0.01
Fetal plasma	0.76 \pm 0.17	1.10 \pm 0.09	0.80 \pm 0.02	0.23 \pm 0.02
Fetal blood	0.54 \pm 0.10	0.70 \pm 0.08	0.58 \pm 0.03	0.21 \pm 0.00
Fetal red blood cell	0.20 \pm 0.10	0.00 \pm 0.00	0.06 \pm 0.06	0.17 \pm 0.04
Fetal brain	0.04 \pm 0.01	0.09 \pm 0.00	0.19 \pm 0.00	0.15 \pm 0.00
Fetal heart	0.18 \pm 0.03	0.33 \pm 0.01	0.27 \pm 0.01	0.13 \pm 0.00
Fetal lung	0.20 \pm 0.05	0.36 \pm 0.01	0.32 \pm 0.02	0.19 \pm 0.01
Fetal liver	0.13 \pm 0.01	0.20 \pm 0.03	0.24 \pm 0.03	0.24 \pm 0.02
Fetal kidney	0.30 \pm 0.05	0.59 \pm 0.04	1.05 \pm 0.09	0.49 \pm 0.06

Each data represents the mean \pm SEM of three animals
N. D. : not detected

Table 9. Tissue distribution of radioactivity in fetus after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg) to rats on 19 days gestation

Tissue	Tissue content of radioactivity (% of dose)			
	5 min	30 min	4 hr	24 hr
Each animal	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00
Total animals	0.14 \pm 0.03	0.27 \pm 0.02	0.27 \pm 0.02	0.14 \pm 0.02

Each data represents the mean \pm SEM of three animals

b) 乳汁中移行性

乳汁中濃度は投与後1時間に最高濃度9.26 μg eq./gを示した後、24時間まで半減期4.59hrで消失し、投与後48時間には検出限界以下になった (Table 10)。母体の血漿中濃度と比較すると、乳汁/血漿濃度比は投与後5分では0.03であるが、その後経時的に上昇して投与後6時間では3.91を示した。しかしながら、投与後24時間には血漿中濃度と同程度の濃度となった。

2. 反復投与時の体内動態

1) 血中放射能濃度

各回投与後5分の血漿中放射能濃度は、反復投与により変化しなかった。一方、各回投与24時間後の血漿中放射能濃度は、反復投与により漸増し、5回投与以

降プラトーに達し、7回投与後は初回投与時の約4倍となった (Fig. 10)。しかし、7回投与後の放射能濃度推移 (Fig. 11) のAUCおよび λ_1 相、 λ_2 相の消失半減期は、ともに単回投与時と同様であり、有意な差は認められなかった (Table 11)。

2) 体内分布

反復投与した際の分布傾向は、単回投与時と同様であった (Table 12)。7回反復投与後24時間の組織内分布を単回投与後24時間のそれと比較すると、血液、血漿、血球、脳および脳下垂体においては2倍以下の放射能濃度の増加が認められた。心、肺、眼球および精のう腺は4~5倍に、その他の組織は2~3倍程度の増加が観察された。

単回投与した際に濃度が高く推移した腎皮質では、24時間後の濃度の増加率は7回投与により単回投与時の2.4倍であり、他の組織とほぼ同等であった。また、腎皮質からの放射能の消失半減期は2.2日であり、単回投与時の1.9日と大きな差はなかった。動脈中放射能濃度は、7回反復投与後6日後においても5.00 $\mu\text{g eq./g}$ の濃度を示し、消失も遅延する傾向が認められた。

3) 尿, 糞中放射能排泄

反復投与した際の、尿および糞中への放射能の排泄率を Fig. 12 に示した

初回投与時の糞中排泄率が若干高く観測されたが、これは尿中放射能の糞への汚染が原因と考えられる。それ以降は、各回投与後24時間の、尿および糞中への放射能の排泄率は、投与回数によらずほぼ一定であり反復投与による排泄経路の変化は認められなかった。7回投与後6日までの尿および糞中への放射能の排泄率は、尿中に98.6%、糞中に5.3%、合計103.9%であった。

4) 代謝

a) 尿中放射能存在形態

ラットに ^{14}C -CFCL 20mg/kg を1日1回、7回反復投与した際の、1, 3, 5 および7回投与後、0~24時間の蓄積尿中放射能の存在形態を検討した (Table 13)。

各回投与後24時間の蓄積尿中放射能の93.7~96.8%

は未変化体CFCLであり、その他に代謝物としてM2+M3が2.0~4.5%、M4が0.7~1.0%認められた。なお、M1およびM5は検出されなかった。未変化体および代謝物の割合には、反復投与による変化は認められなかった。

b) 薬物代謝酵素への影響

CFCLをラットに100, 300, 1000, 2000mg/kgの投与量で1日1回、7日間反復静脈内投与し、肝薬物代謝酵素に対する影響について検討した (Table 14)。肝ミクロゾーム中のチトクローム P-450量、チトクローム b_5 量および benzphetamine N-脱メチル化活性、p-nitroanisole O-脱メチル化活性、aniline 水酸化活性のいずれも変化は認められなかった

III. 考 察

ラットにおけるCFCLを単回および反復投与時の体内動態を ^{14}C -標識CFCLを用いて検討した。

^{14}C -CFCLをラットに静脈内投与した際の血液中放射能のほとんどは血漿中に分布しており、放射能の血球への移行率は低かった。この様な知見は cefoxitin⁶⁾, cefotetan⁷⁾, L-105⁸⁾, cefodizime⁹⁾等、他のcephem系抗生物質における報告と類似していた。

CFCLの血漿蛋白結合率は、10および100 $\mu\text{g/ml}$ のいずれの濃度においても約5%と低く、*in vivo*におけるCFCLの蛋白結合率もほぼ同等であった。一方、放射能の蛋白結合率は、投与後1時間の血漿で16.9%と、

Table 10. Plasma and milk levels of radioactivity after intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg) to lactating rats

Time	Concentration of radioactivity ($\mu\text{g eq. of cefclidin/g or ml}$)		Ratio
	Milk	Plasma	Milk/Plasma
5 min	2.21 \pm 0.42	82.27 \pm 2.82	0.03
15	N. T.	51.21 \pm 1.77	N. T.
30	8.70 \pm 1.08	34.35 \pm 1.22	0.25
1 hr	9.26 \pm 2.76	24.07 \pm 1.61	0.38
2	4.69 \pm 1.47	8.15 \pm 0.52	0.58
4	4.62 \pm 1.15	1.27 \pm 0.10	3.64
6	2.62 \pm 0.84	0.67 \pm 0.03	3.91
24	0.22 \pm 0.06	0.23 \pm 0.01	0.96
48	N. D.	0.12 \pm 0.00	0.00

Each data represents the mean \pm SEM of three animals

N.D.: not detected, N.T.: not tested

Table 11. Kinetic parameters of ^{14}C -cefclidin after single or repeated intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg) to male rats

	AUC ($\mu\text{g eq. hr/ml}$)	$t_{1/2\lambda_1}$ (min)	$t_{1/2\lambda_2}$ (hr)
Single dose	117.86 \pm 23.21	38.4 \pm 8.5	16.31 \pm 2.62
7th dose	120.42 \pm 6.01	24.6 \pm 1.5	20.10 \pm 1.08

Each data represents the mean \pm SEM of three animals

Table 12. Tissue distribution of radioactivity after repeated intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg, once daily for 7 days) to rats

Tissue	Concentration of radioactivity (μg eq. of cefclidin/g or ml)				
	Time after 3rd administration	Time after 7th administration			
	24 hr	30 min	24 hr	48 hr	144 hr
Blood	1.02±0.05	19.84± 1.14	0.80±0.06	0.97±0.04	0.52±0.02
Plasma	1.61±0.12	31.02± 1.52	1.11±0.08	1.20±0.04	0.58±0.06
Red blood cell	0.44±0.07	5.86± 0.71	0.35±0.04	0.40±0.08	0.34±0.05
Brain	0.12±0.02	0.54± 0.06	0.23±0.04	0.23±0.02	0.07±0.00
Hypophysis	0.69±0.14	4.12± 0.31	1.11±0.45	0.53±0.09	0.40±0.08
Heart	0.64±0.04	6.95± 1.67	1.66±0.22	0.80±0.08	0.64±0.03
Lung	1.17±0.10	11.10± 1.60	2.84±0.30	1.77±0.08	1.45±0.10
Trachea	1.40±0.17	13.93± 2.12	3.08±0.20	2.51±0.14	1.85±0.11
Liver	1.09±0.05	6.58± 0.33	2.14±0.08	1.52±0.08	0.65±0.06
Pancreas	0.62±0.00	4.82± 1.67	1.18±0.07	0.82±0.05	0.47±0.05
Spleen	0.63±0.10	5.29± 0.42	1.57±0.15	1.27±0.15	0.89±0.01
Adrenal gland	0.86±0.10	5.32± 0.58	1.73±0.13	1.20±0.23	0.81±0.03
Kidney cortex	29.39±1.17	120.48±12.66	79.01±2.50	58.98±4.61	16.09±2.07
Kidney medulla	2.13±0.10	238.47±12.88	7.06±0.23	4.41±0.08	2.51±0.40
Bladder	1.51±0.15	35.99±15.75	3.50±0.47	2.12±0.08	2.04±0.20
Eye ball	0.41±0.03	4.53± 0.17	0.70±0.05	0.79±0.05	0.58±0.05
Sciatic nerve	0.94±0.06	5.78± 0.55	1.83±0.19	1.56±0.06	1.16±0.07
Bone marrow	0.86±0.26	5.79± 1.84	0.97±0.15	0.68±0.10	0.41±0.04
Submaxillary gland	0.81±0.04	5.01± 0.62	1.46±0.48	1.22±0.24	0.62±0.12
Thyroid	1.30±0.36	9.71± 1.31	2.68±0.80	1.73±0.15	1.40±0.08
Thymus	0.41±0.06	2.46± 0.19	0.84±0.06	0.61±0.10	0.29±0.01
Lymph node	0.67±0.03	5.32± 1.09	1.55±0.28	1.34±0.12	0.64±0.05
Seminal vesicle	0.70±0.03	5.34± 0.57	1.51±0.07	0.88±0.06	0.62±0.04
Testis	0.38±0.02	3.12± 0.20	0.71±0.12	0.54±0.04	0.32±0.03
Muscle	0.27±0.02	3.26± 0.69	0.71±0.23	0.53±0.10	0.30±0.04
Adipose tissue	0.17±0.04	1.05± 0.33	0.33±0.08	0.29±0.04	0.15±0.05
Skin	1.69±0.06	15.05± 3.90	3.54±0.36	2.82±0.27	1.96±0.15
Stomach	0.80±0.07	8.34± 0.86	1.72±0.06	1.37±0.17	0.99±0.05
Duodenum	0.63±0.07	6.88± 0.51	1.45±0.03	1.07±0.10	1.13±0.06
Caecm	1.35±0.13	7.11± 0.54	2.20±0.17	1.35±0.21	1.18±0.18
Aorta	1.84±0.11	16.53± 4.48	4.57±0.52	4.17±0.66	5.00±0.85
Harderian gland	0.60±0.04	3.53± 0.42	1.08±0.12	0.93±0.10	0.46±0.03
Prostate gland	0.58±0.01	8.04± 4.53	0.83±0.06	0.86±0.22	0.53±0.06

Each data represents the mean±SEM of three animals

Table 13. Urinary excretion of unchanged cefclidin and its metabolites after repeated intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg, once a day for 7 days) to male rats

Dosing	Excretion (% in sample)			
	M2+M3	Cefclidin	M4	Others
1st dose	2.0±0.3	96.8±0.5	0.7±0.1	0.5±0.2
3rd dose	2.8±0.5	95.7±0.6	1.0±0.1	0.6±0.0
5th dose	2.6±0.2	96.2±0.1	0.8±0.1	0.5±0.1
7th dose	4.5±1.2	93.7±1.3	0.9±0.3	0.9±0.3

Each data represents the mean±SEM of three animals

Table 14. Effects of repeated intravenous administration of cefclidin (once a day for 7 days) on the drug-metabolizing enzymes in rats

Dose (mg/kg)	Specific content (nmole/mg protein)		Monooxygenase activity (nmole/mg protein/15min)		
	P-450	b ₅	Benzphetamine N-demethylation	p-Nitroanisole O-demethylation	Aniline hydroxylation
Control	0.53±0.07	0.21±0.02	96.71± 9.03	9.70±0.73	10.19±1.35
Cefclidin					
100	0.52±0.02	0.22±0.00	75.87± 4.30	11.52±1.24	9.50±0.64
300	0.50±0.04	0.23±0.01	82.34± 2.68	9.29±1.37	10.98±0.44
1000	0.43±0.03	0.20±0.02	71.81± 9.01	9.96±0.85	10.82±1.83
2000	0.48±0.02	0.21±0.01	100.79±21.90	10.57±0.60	11.01±0.91

Each data represents the mean±SEM of four animals

投与後5分の5.6%に比して高値を示した。投与後1時間の血漿からの放射能抽出率が投与5分に比して低いことから、投与後1時間における蛋白結合率の増加は、血漿中放射能の一部が強固な結合をしていることを示唆すると考えられた。この様な結果は、cefoxitin⁶⁾においても認められている。

¹⁴C-CFCLを静脈内投与した際、投与後5分で既に腎(髄質および皮質)に極めて高い放射能の移行が認められることから、尿路感染症における有用性が高いことが期待される。また、腎への速やかな分布から、腎からの排泄が速やかなことが推察され、尿中排泄の速やかなことと一致していた。肺、気管等の呼吸器組織への移行も血漿に次いで高いことから、これら組織におけるCFCLの高い薬効を示唆するものと考えられた。また、脳への移行は低いことから、CFCLは血液-脳関門を透過し難いものと考えられた。CFCLの肝臓への移行は、L-105⁸⁾、cefpiramide¹⁰⁾、cefotetan⁷⁾、

cefmetazole¹¹⁾に報告される様な高い移行ではなかった。これら薬剤は、胆汁排泄型薬剤で、肝臓中での濃縮を経て、胆汁を介して糞中に排泄されると考えられる。CFCL投与初期における肝臓中濃度は、血漿中濃度にイヌリンスペースの報告値16.9%¹²⁾を乗じた値に近似していた。これは、肝細胞内へのCFCLの取り込みが極めて低いことを示唆しており、胆汁中排泄率が低く尿中排泄率が高いことに反映しているものと考えられた。尿排泄型薬剤であるAC-1370¹³⁾およびceftazidime¹⁴⁾においても同様の傾向が認められている。なお、組織内分布は全身オートラジオグラフィーにおいても同様の結果が示された。

¹⁴C-CFCL 20~820mg/kgを静脈内投与した際の、血漿中放射能濃度のAUCおよび投与後24時間の組織内濃度は、ほとんどの組織において投与量にほぼ比例して増加しており、使用した投与量の範囲において¹⁴C-CFCLの体内動態に線形性があると考えられた。

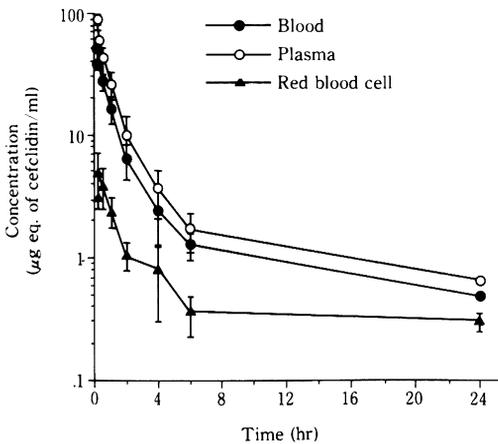


Fig. 3. Concentration of radioactivity in blood, plasma and red blood cell after single intravenous administration of ¹⁴C-cefclidin (20mg/kg) to male rats (n=3, mean±SEM)

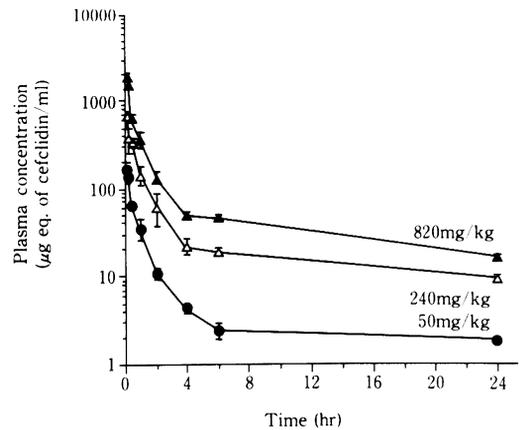


Fig. 4. Concentration of radioactivity in plasma after single intravenous administration of ¹⁴C-cefclidin (50, 240 or 820 mg/kg) to male rats (n=3, mean±SEM)

投与された¹⁴C-CFCLの体外への排泄は速やかであり、そのほとんど(98.2%)は尿中に排泄された。胆管カニューレーションを施したラットの胆汁中への放射能の排泄率は、投与後24時間で投与放射能量の0.52%と低いことから、腸内細菌叢への影響が少ないことが示唆された。

投与後5分および1時間血漿のメタノール抽出画分中放射能のほとんどは未変化体であった。また、24時間蓄積尿中放射能においても、そのほとんどは未変化体であった。その他の代謝物はTLCおよびHPLC上で分解物と一致していることから、¹⁴C-CFCLはcefoxitin⁶⁾、cefpiramide¹⁰⁾およびAC-1370¹³⁾等のセファロsporin系薬剤と同様、生体内でほとんど代謝を受けないことが示唆された。

妊娠ラットにおける母体組織内分布は、妊娠12および19日目とも雄と同様の放射能分布を示した。妊娠12日目のラットでは、羊水および胎仔への放射能の移行は認められなかった。一方、妊娠19日目ラットでは、

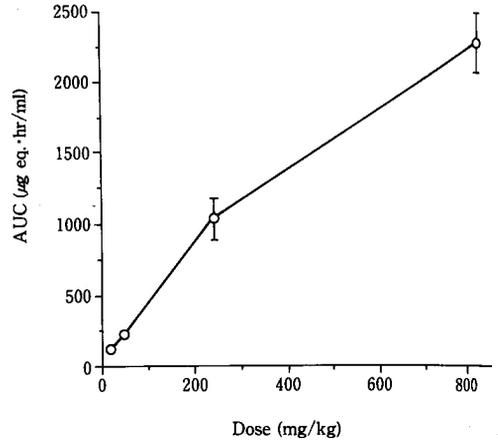


Fig. 5. Correlation between AUC and dose after single intravenous administration of ¹⁴C-cefclidin to male rats (n=3, mean±SEM)

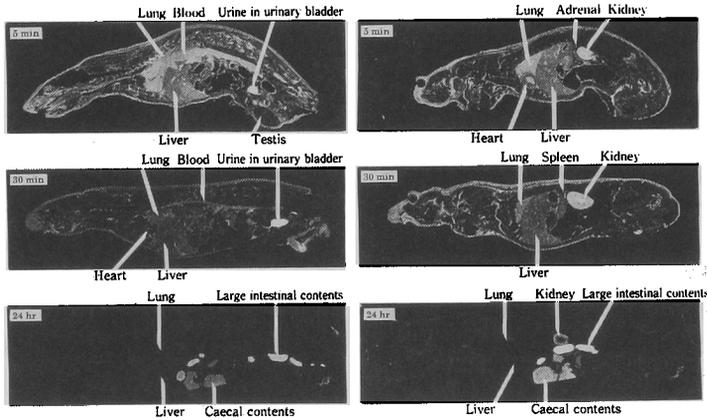


Fig. 6. Autoradiograms of male rats after single intravenous administration of ¹⁴C-cefclidin(20mg/kg)

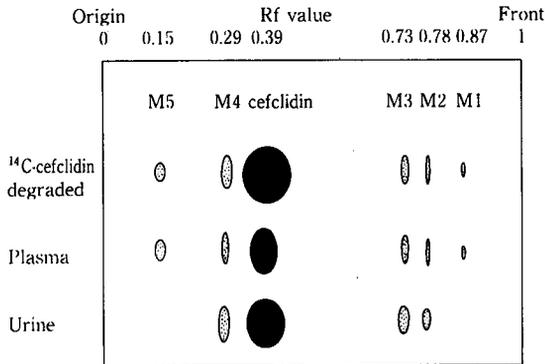


Fig. 7. TLC-ARG patterns of rat plasma and urine

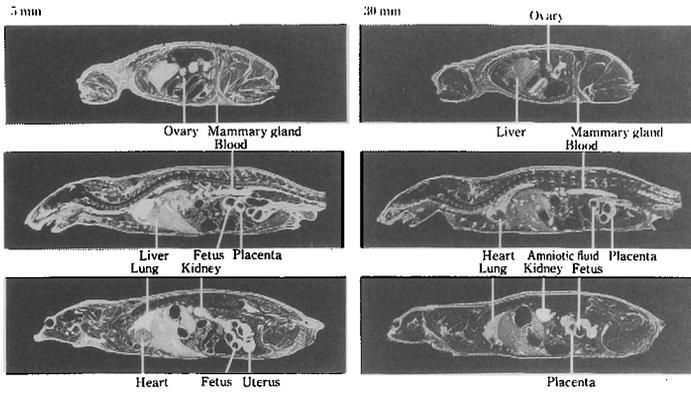


Fig. 8-1. Autoradiograms of pregnant rats (on the 12-th day of gestation) at 5 min and 30 min after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidn (20mg/kg)

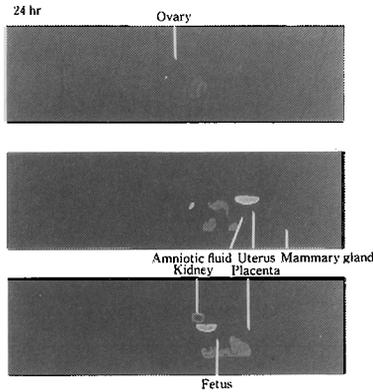


Fig. 8-2. Autoradiograms of pregnant rats (on the 12-th day of gestation) at 24 hr after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidn (20mg/kg)

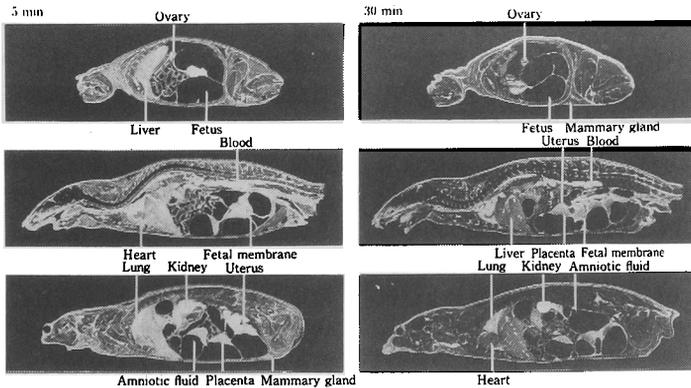


Fig. 9-1. Autoradiograms of pregnant rats (on the 19-th day of gestation) at 5 min and 30 min after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidn (20mg/kg)

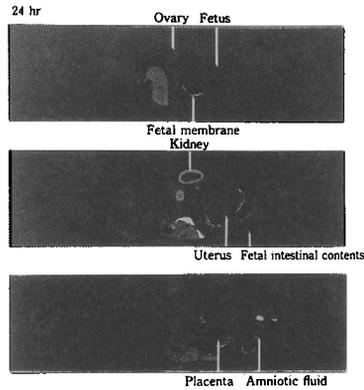


Fig. 9-2. Autoradiograms of pregnant rats (on the 19-th day of gestation) at 24 hr after single intravenous administration of ^{14}C -cefclidid (20mg/kg)

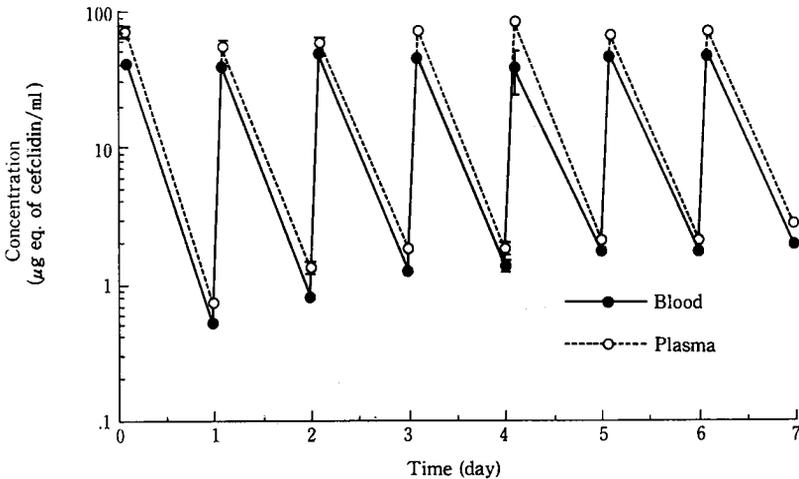


Fig. 10. Concentration of radioactivity in blood and plasma during and after repeated intravenous administration of ^{14}C -cefclidid (20mg/kg, once a day for 7 days) to male rats ($n=3$, mean \pm SE)

時間経過に伴って胎膜へ、また僅かではあるが胎仔への移行が認められた。一般に妊娠後期では、薬物が血液-胎盤関門を透過し易くなることが報告されており、他のセフェム系抗生物質 cefoxitin⁸⁾, cefodizime⁹⁾, cefpiramide¹⁰⁾, ceftriaxone¹⁵⁾等においても妊娠後期において胎膜および胎仔内移行が認められている。以上、妊娠後期におけるCFCLの胎膜、胎仔組織への移行性は、他のセフェム系抗生物質と同様と考えられた。なお、ラット生殖試験において、CFCLの胎仔および新生仔への影響が無いことが松原らにより報告されている。¹⁶⁾

^{14}C -CFCLの乳汁中への移行は、cefotetan⁷⁾と同程度であった。母体の血漿中濃度の消失と比較して乳汁中濃度の消失は遅い傾向にあったものの、投与24時間後

では血漿とほぼ同程度の濃度となり48時間後では検出限界以下となることから、乳汁中に移行した放射能が長期にわたって残留する傾向は低いものと考えられた。

反復投与した際の各回投与後5分の血漿中放射能濃度は反復投与により変化しなかった一方、投与後24時間の血漿中放射能濃度は、反復投与により漸増し、5回投与以後定常状態に達した。その値は7回投与で、初回投与時の約4倍に達したが、AUCおよび消失半減期はともに単回投与時と有意な差はないことから、 ^{14}C -CFCL投与後の放射能の血漿における蓄積性は、特に問題は無いと考えられた。反復投与後の組織内放射能濃度は、腎臓が最も高く、次いで血漿、肺の順で、その他の組織の濃度は血漿よりも低く、単回投与の場合と同じ傾向であり、大きな変化を示す組織は認めら

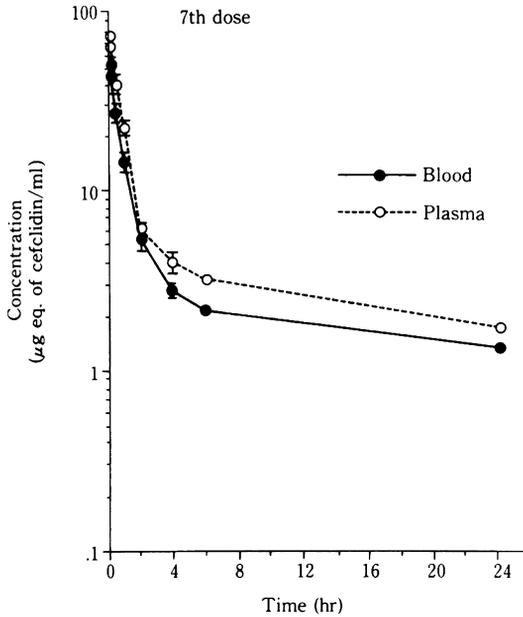


Fig. 11. Concentration of radioactivity in blood and plasma after repeated intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg, once a day for 7 days) to male rats ($n=3$, mean \pm SEM)

れなかった。反復投与した際の放射能の腎臓への蓄積性(単回投与時の2.4倍)は他の組織と同等であり、また消失半減期(2.2日)も単回投与時の値(1.8日)とほぼ同等であることから、反復投与による腎臓への蓄積性は特に問題となるものではなく、消失の遅延も無いものと考えられた。なお、腎毒性試験において、CFCLの腎の障害性は、cephaloridine, cefazolin, cephalotinよりも弱いことが松原らにより報告されている¹⁷⁾。また、反復投与によるCFCLの排泄および代謝に変化は認められなかった。

以上のことからCFCLを反復投与しても、その生体内動態への影響は少ないものと考えられた。

モノバクタム系抗生物質である aztreonamは、雌雄ラットの肝薬物代謝酵素系に対して影響を及ぼすことが報告されているが¹⁸⁾、CFCLは影響を及ぼさなかった。これは、CFCLの肝への移行が極めて少ないことが一つの要因と考えられた。また、このことは、CFCLが他の薬剤の代謝に大きな影響を及ぼさないことを示唆するものと考えられた。

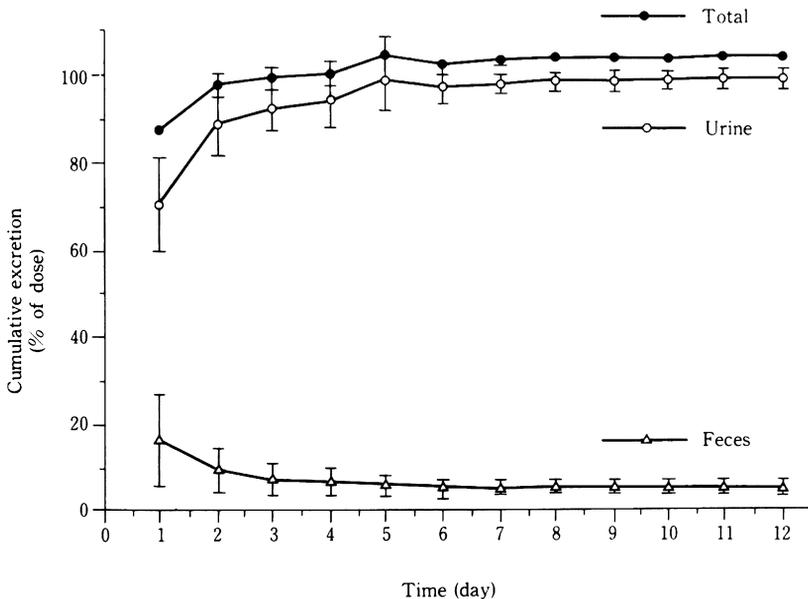


Fig. 12. Cumulative urinary and fecal excretion of radioactivity during and after repeated intravenous administration of ^{14}C -cefclidin (20mg/kg, once a day for 7 days) to male rats ($n=3$, mean \pm SEM)

文 献

- 1) Watanabe N, Katsu K, Moriyama M, and Kitoh: In vitro evaluation of E1040, a new cephalosporin with potent anti-pseudomonal activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32 693~701, 1988
- 2) Neu HC, Clin N, and Novelli A: In vitro activity of E1040, a novel cephalosporin with potent activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32 1666~1675, 1988
- 3) Hiruma R, Otsuki M, Tashima M, Obana Y, and Nishino T: In vitro and in vivo antibacterial activity of E1040, a novel cephalosporin with potent antipseudomonal activity. *J. Antimicrob. Chemother.* 26 769~781, 1990
- 4) Horie T, Kitada M, Yoshioka H, Kanakubo Omura T: 6-Fluoro-2-methylspiro(chroman-4,4'-imidazolidine)-2',5'-dione and related compounds as inducers of monooxygenase in rat liver microsomes. *Drug Metab. Disp.* 15 560~564, 1987
- 5) 森山めぐみ, 渡辺直彰, 豊澤逸生, 杉原芳樹, 勝鎌政, 紀藤恭輔: Cefclidinの各種動物における体内動態. *Chemotherapy* 40(S-4) 215~222, 1992
- 6) 佐々野博, 立沢晴男, 斎藤 薫, 佐野光司: Cefoxitinのラットにおける生体内動態. *Chemotherapy* 26(S-1) 120~134, 1978
- 7) 渡辺 隆, 円城寺四方弘, 小宮正行, 菊池康博, 川井龍太郎, 河村成男: ^{14}C -Cefotetan (^{14}C -YM09330)のラットにおける体内動態. *Chemotherapy* 30(S-1) 119~136, 1982
- 8) 山下憲昭, 水村光男, 井之川芳之, 武井啓司, 前田正敏: ^{14}C -L-105のラットにおける体内動態. *Chemotherapy* 34 (s-3) 119~132, 1986
- 9) 松下 仁, 吉田昌彦, 川口安郎, 神 義容, 石川久子, 柏崎 清, 林 一志, 渡辺裕子, 江角凱夫: ^{14}C -Cefodizime(THR-221)のマウスラットにおける体内動態. *Chemotherapy* 36(S-5) 203~216, 1988
- 10) 今崎 一, 円城寺四方弘, 松井秀文, 川井龍太郎, 河村成男, 奥田隆夫: C-Cefpiramide (^{14}C -SM-1652)のラットにおける体内挙動. *Chemotherapy* 31(S-1) 124~134, 1983
- 11) 進藤英世, 河合賢司, 前田敏彦, 五十嵐勇, 田島正三, 菅原眞一: 新セファマイシン系抗生物質CS-1170の各種動物における吸収, 分布, 代謝ならびに排泄. *Chemotherapy* 26(S-5) 99~114, 1978
- 12) Akira Tsuji, et al.: Physiologically based pharmacokinetic model for β -lactam Antibiotics I Tissue distribution and elimination in rats. *J. Pharm. Sci.* 72 1239~1252, 1983
- 13) 松沢淑雅, 関根征吉, 村田定三, 加藤伸朗: ^{14}C -AC-1370のラットにおける体内動態. *Chemotherapy* 32(S-9) 145~156, 1984
- 14) Ceftazidimeのマウス, ラットおよびウサギにおける吸収, 体内分布, 代謝および排泄について. *Chemotherapy* 31(S-3) 188~197, 1983
- 15) 深沢英雄, 田原 整, 市原成泰, 富澤宏樹, 立石満, R.Heintz: ラットにおけるCeftriaxone (R013-9904)の体内動態に関する研究(第2報) - ^{14}C -Ceftriaxone投与後の乳汁中移行および胎仔移行. *Chemotherapy* 32(S-7) 148~157, 1984
- 16) 後藤公孝, 西村 修, 岡田文弘, 大角 勇, 松原孝雄: Cefclidinのラットにおける静脈内投与による胎児の器官形成期投与試験. *Chemotherapy* 40 (S-4) 137~153, 1992
- 17) 岡田文弘, 川口 隆, 後藤公孝, 松原孝雄: Cefclidinのラットにおける連続静脈内投与による腎毒性試験. *Chemotherapy* 40(S-4) 162~172, 1992
- 18) Horie T, Kitada M, Tanabe Y and Kanakubo Y: Sex difference in responsiveness to Aztreonam of monooxygenase system in liver microsomes from rats. *Biochem. Pharmacol.* 36 1053~1058, 1987

METABOLIC FATE OF ^{14}C -CEFCLIDIN IN RATS

Hitoshi Mizuo, Toru Horie and Teruaki Yuzuriha

Tsukuba research Laboratories, Eisai Co., Ltd.
5-1-3 Tokodai, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken 300-26, Japan

Hideaki Seki, Kiyoshi Kasiwazaki, Matsuo Takaichi and Yoshio Esumi

Tokai Research Laboratories, Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd.

Metabolic fate of cefclidin(CFCL) was studied in SD rats after single or repeated intravenous administration of ^{14}C -CFCL.

1. After single administration of ^{14}C -CFCL (20mg/kg), the plasma level of radioactivity decreased biphasically ($t_{1/2\lambda 1} = 38.4\text{min}$, $t_{1/2\lambda 2} = 16.3\text{hr}$). AUC increased in proportion to the increase in dosages (20~820mg/kg). The plasma protein binding rates of CFCL was about 5%.

2. At 5 min after single administration, the tissue level of radioactivity ($\mu\text{g eq./g}$) was highest in the kidney (379.2~207.3) followed by plasma, lung, trachea, thyroid, bone marrow, aorta and liver, and thereafter decreased rapidly. At 6 day, it decreased below $0.6\mu\text{g eq./g}$ except kidney cortex(5.1).

3. Within 7 days after single administration, 98.2% and 4.1% of the given radioactivity were excreted into the urine and feces, respectively. About 0.5% of the doses was excreted into the bile within 24hr.

4. After single administration, 95% or more of the radioactivity remained unchanged in plasma and urine.

5. Only a small amount of radioactivity passed through the placenta of pregnant rats on the 19th day of gestation. The milk levels of radioactivity reached peak level at 1 hr after administration, then decreased rapidly.

6. After repeated administration of ^{14}C -CFCL (20mg/kg, once a day for 7 days), plasma levels, tissue distribution, metabolism and excretion were similar to those after a single administration. There were no effects of CFCL on the hepatic drug-metabolizing enzyme system.