[薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
103 (1) 119-124 (1983)]

3-アセトキシメチルセファロsporinおよび分解物の投与に伴う疼痛について¹⁾

影向範昭,^a 足立泰儀,^a 池田満雄,^b 嶋田健次,^b 坂口武一^b

日本歯科大学新潟歯学部,^a 新潟薬科大学^b

Pain caused by the Administration of 3-Acetoxyethylcephalosporin and the Degradation Products¹⁾

NORIAKI YOHKOH,^a YASUYOSHI ADACHI,^a MITSUO IKEDA,^b
KENJI SHIMADA,^b and TAKEICHI SAKAGUCHI^b

*Nippon Dental University, Niigata,^a 1-8 Hamaura-cho, Niigata, 951,
Japan and Niigata College of Pharmacy,^b 5829 Kamishin'ei-cho,
Niigata, 950-21, Japan*

(Received May 7, 1982)

The degrees of pain induced by the injection of sodium cephalothin (CET), and its degradation products, deacetylcephalothin (DeCET) and deacetoxycephalothin (DeOCET), were examined by means of writhing response of mice. It was found that these drugs caused slightly painful symptoms, and thought to be likely that the acetic acid liberated during storage was responsible for the pain. CET, dissolved in 0.1 M phosphate buffer at pH 6.2 and 7.0, and stored at 4°C, showed no acid formation and no pain increase, but when stored at 37°C, the solution, in spite of its buffer action, showed remarkable pH decrease, and caused the pain to increase. This was also found in the cases with sodium cephacetrile (CEC) and sodium cephapirin (CEP). In descending order of pH and in ascending order of inducing pain were CEP, CET, and CEC.

Keywords—sodium cephalothin; acetic acid; deacetylcephalothin; deacetoxycephalothin; sodium cephacetrile; sodium cephapirin; pain; writhing reaction; degradation product

セフェム系抗生物質注射剤は投与する際に注射用蒸留水、生理食塩水または5%ブドウ糖注射液などに用時溶解して用いるものが多い。これらの注射剤の溶解後の安定性・分解については Yamana ら²⁾ のほか数多くの報告があり³⁾、また副作用についても多くの報告がなされている。⁴⁾ しかし溶解後保存することによる副作用の出現率の変化などについての報告はほとんどみられない。この点に関してすでに著者らは、セファロチンナトリウム (CET) 注射液を溶解調製後、4°Cあるいは37°Cで保存すると分解して酢酸、デアセチルセファロチン (DeCET) およびデアセトキシセファロチン (DeOCET) を生じ、注射液の疼痛性が増大することを明らかにし、その疼痛性の増大は分解して副生する酢酸が主原因となって引き起こされると推定した。⁵⁾

しかし、この際の疼痛性はすべて酢酸に起因しているものとはいえず、他にも発痛物質・発痛因子が存在する可能性も考えられたので、今回は CET 自体およびその分解生成物である DeCET, DeOCET の疼痛性について検討を加えた。

cephalothin (CET) : R =

cephapirin (CEP) : R =

cephacetrile (CEC) : R = N≡C-

Fig. 1. Chemical Structure of Cephalothin (CET), Cephapirin (CEP) and Cephacetrile (CEC)

また CET を 0.1 M リン酸塩緩衝液で溶解することにより疼痛性の増大を抑制することが可能であるかについても調べた。

さらに Fig. 1 に示すように CET と同様にセフェム系で β -ラクタム環の 3 位にアセトキシメチル基を有するセファセトリル (CEC), セファピリン (CEP) も溶解後保存した場合に疼痛性が増大する可能性が考えられるので, これらの注射液についても溶解保存後の疼痛性をあわせて検討した。

実 験 の 部

薬物および試薬 セファロチンナトリウム (CET) は東洋醸造のシンクロチンおよび鳥居薬品の注射用トリセロシンを使用した。デアセチルセファロチン (DeCET), デアセトキシセファロチンカリウム (DeOCET) は東洋醸造からの提供品を使用した。

セファセトリルナトリウム (CEC) は武田薬品のセルトールを, セファピリンナトリウム (CEP) はブリストル・マイヤーズのセファトレキシールを使用した。

その他の試薬は市販特級品を用いた。

疼痛試験 (Writhing 反応)⁶⁾ 前報⁵⁾ に準じて行った。すなわち体重約 25 g の dd 系雄性マウスの腹腔内に試験液をマウスの体重 10 g あたり 0.15 ml の割合で投与し, 投与後 1 時間以内に, マウスが腹部を細くしてからだをねじるなどの苦もん症状を呈して後肢を 3 回以上伸展した場合を writhing 反応陽性とした。1 群 20 匹で観察して疼痛性を検討した。

CET, DeCET, DeOCET の疼痛性 CET は 60, 120, 240 mg (力価)/ml になるように, また DeOCET は 1.88, 3.75, 7.5, 15 mg/ml になるように注射用蒸留水を加えて試験液とした。DeCET は 0.1 g に対して約 0.5 ml の 1 N NaOH 液を加えて溶解し (pH は約 6.0 となる), 注射用蒸留水を加えて 15, 30, 60, 120 mg/ml になるよう調製した。これらの液についてそれぞれ上記の疼痛試験を行い観察した。

緩衝液による影響 CET を 200 mg (力価)/ml となるよう 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 6.2 および 7.0) に溶解し, 4°C および 37°C に保存した際の pH の変動を 48 時間まで観察した。また調製後 4°C および 37°C で 24 時間保存後の注射液について高速液体クロマトグラフィーにより CET の分解について検索し, さらに疼痛試験によって疼痛性を検討した。

CET, CEC, CEP の疼痛性 CET, CEC, CEP はいずれも 200 mg (力価)/ml となるように注射用蒸留水に溶解し, 4°C および 37°C で保存した際の pH の変動を 48 時間後まで観察し, さらに同条件で 24 時間保存後のそれぞれの注射液について上記の疼痛試験を行い疼痛性について比較検討した。

高速クロマトグラフ法 (HPLC) 日立製高速液体クロマトグラフ 635 型を用い, メルク社製の LiChrosorb RP-8 (10 μ m) を 4.0×150 mm のウォータージャケット付カラムに充填し, 40°C に設定し, 0.01% 酢酸アンモニウム-アセトニトリル (9:1, v/v) を移動相として流速 1.0 ml/min で溶出した。検出は波長 254 nm で測定した。

結 果 お よ び 考 察

CET, DeCET, DeOCET の疼痛性

CET および分解生成物の DeCET, DeOCET の疼痛試験結果を Table I に示す。まず CET 注射液自体の疼痛性を再検討するために 60, 120, 240 mg (力価)/ml の各濃度におけるマウス writhing 反応を観察した結果, 120 mg (力価)/ml 濃度で 20 匹中 3 匹, 240 mg (力価)/ml で 20 匹中 2 匹に writhing 反応陽性が認められたが 60 mg (力価)/ml では認められなかった。CET 240 mg (力価)/ml はほぼ飽和溶液に近い濃度である。通常使用される濃度は 200 mg (力価)/ml であり, この 200 mg (力価)/ml ではマウス writhing 反応陽性は 20 匹中 2 匹であったことはすでに報告した。⁵⁾ Walters ら,^{7,8)} Philson ら,⁹⁾ Riley ら¹⁰⁾ は CET 注射液を筋注すると副作用として注射部位に痛みを訴える場合があることを報告しており, 本実験でも 20 匹中 2—3 匹と少数ではあるが writhing 反応陽性例が認められたことは CET 自体はごくわずかではあるが疼痛性を有するように思われる。しかしながら writhing 反応陽性例は少数であり, 用量に大きく依存しないことから注射液の保存による疼痛性の増大についての影響はほとんどないと考えられる。

つぎに分解生成物の 1 つである DeCET の疼痛試験結果は Table I に示すように 15 mg および 30 mg/ml では writhing 反応陽性は全く認められなかったが, 60 mg/ml で 1 匹, 120 mg/ml で 2 匹に陽性が認められた。こ

TABLE I. Mouse Writhing Reaction of CET, DeCET and DeOCET

	concentration (mg/ml)	No. of positive mouse writhing ^{a, b)}
CET	60 (potency)	0
	120 (potency)	3
	240 (potency)	2
DeCET	15	0
	30	0
	60	1
	120	2
DeOCET	1.88	1
	3.75	3
	7.50	3
	15.00	4

a) $n=20$.

b) dose: 0.15 ml/10 g (body weight).

の結果からは DeCET の疼痛性については全く否定はできない。しかし、CET 200 mg (力価)/ml の濃度で 37°C, 24 時間保存した時に生成する DeCET の量は 25 mg/ml であり,⁵⁾ 今回の実験で 30 mg/ml では writhing 反応陽性例は認められなかったことから、CET 注射液の保存による疼痛性の増大には DeCET の影響はほとんどないものと考えられる。

DeOCET は 1.88 mg/ml の濃度においても 20 匹中 1 匹が writhing 反応陽性を示し、3.75 mg/ml および 7.5 mg/ml ではそれぞれ 3 匹、15 mg/ml では 4 匹に writhing 反応陽性が認められた。DeOCET の濃度に比例して writhing 反応陽性例が多くなること、および 1.88 mg/ml という低濃度においても陽性例が認められたことから DeOCET 自体の疼痛性は、CET, DeCET と比べて強いことが示唆された。したがって弱いながらも DeOCET が疼痛性の一因である可能性も考えられる。しかし前報で CET 注射液を溶解後 37°C, 24 時間保存した時 20 匹中 15 匹に writhing 反応陽性が認められたが、今回の実験で DeOCET 15 mg/ml においても陽性は 4 匹であったこと、また注射液が分解して生成する DeOCET 量はごくわずかであることなど合せ考えると、実際に CET 注射液の保存による疼痛性の増大には大きな影響を与えているとは考えられず、分解副生する酢酸が主原因であろうという前報の推定をさらに支持することができる。

緩衝液による影響

Elfving ら¹¹⁾ は CET の 10% ブドウ糖溶液 (pH 3.5—4.5) をリン酸塩緩衝液で中和 (pH 6.8) することにより CET によって引き起こされる血栓性静脈炎を中和しない液と比べて有意に減少させることができたことと報告している。また、Bergeron ら¹²⁾ も炭酸水素ナトリウムで中和した CET の 5% ブドウ糖溶液の静脈炎の発生率は有意に低かったとしている。一方では緩衝液の影響は認められなかったとする報告もあるが、¹³⁾ Fonkalsrud ら¹⁴⁾ はイヌを使用して 5% ブドウ糖、乳酸リンゲルを炭酸水素ナトリウムで pH 7.4 に中和すると血栓性静脈炎の発生率が有意に減少することを実験的に明らかにしており、CET は緩衝液で中和すると静脈に対する刺激性が少なくなることが考えられる。

これらのことから著者らの CET 注射液の保存後の疼痛性についてもあらかじめ緩衝液で溶解しておくことにより疼痛性を減弱することができる可能性が考えられるので、これについて検討した。Fig. 2 には蒸留水に CET を溶かした時と同じ pH 6.2 の 0.1 M リン酸塩緩衝液、あるいは pH 7.0 の緩衝液に CET を溶解して、それぞれ 4°C あるいは 37°C に保存した時の pH の変動を示す。4°C に保存した場合には緩衝液の効果がよく発揮され、48 時間後においてもほとんど pH の低下を認めなかった。しかし 37°C で保存した場合には蒸留水で溶解した液に比べて若干の緩衝効果は認められたが、それでも著しい pH の低下が認められた。

CET を蒸留水および pH 7.0 の 0.1 M リン酸塩緩衝液で溶解し、37°C, 24 時間保存後の高速液体クロマトグラムが Fig. 3 である。1 のピーク (t_R 1.1 分) は DeOCET, 2 (t_R 1.7 分) は DeCET, 3 (t_R 3.4 分) は CET である。⁵⁾ 蒸留水で溶解した時と緩衝液で溶解した時とでは DeCET と DeOCET の生成量は異なるが、両成分が検

Fig. 2. Effect of Temperature on pH Variation of CET Solutions

- : dissolved in distilled water and stored at 4°C,
- : dissolved in distilled water and stored at 37°C,
- : dissolved in phosphate buffer (pH 7.0) and stored at 4°C,
- : dissolved in phosphate buffer (pH 7.0) and stored at 37°C,
- : dissolved in phosphate buffer (pH 6.2) and stored at 4°C,
- : dissolved in phosphate buffer (pH 6.2) and stored at 37°C.

Fig. 3. HPLC of CET Solution stored at 37°C for 24 h

(A): dissolved in phosphate buffer (pH 7.0) and stored at 37°C for 24 h.

(B): dissolved in distilled water and stored at 37°C for 24 h.

Apparatus: Hitachi HPLC model 635,
 Detector: UV 254 nm,
 Column: LiChrosorb RP-8 10 μ m (4.0 $\times$ 150 mm)
 with water jacket,
 Column pressure: 25–30 kg/cm²,
 Column temperature: 40°C,
 Eluting solvent: 0.01% NH₄CN-CH₃CN
 (9:1, v/v),
 Flow rate: 1.0 ml/min,
 Sample size: 1–2 μ l,
 1: DeOCET,
 2: DeCET,
 3: CET.

Fig. 4. Mouse Writhing Reaction of CET stored for 24 h

- : negative writhing response,
- ▨: positive writhing response.

A: dissolved in distilled water and stored at 37°C,
 B: dissolved in phosphate buffer (pH 6.2) and stored at 37°C,
 C: dissolved in phosphate buffer (pH 7.0) and stored at 37°C,
 D: dissolved in distilled water and stored at 4°C,
 E: dissolved in phosphate buffer (pH 6.2) and stored at 4°C,
 F: dissolved in phosphate buffer (pH 7.0) and stored at 4°C,
 Conc. of CET: 1 g (potency)/5 ml,
 Dose: 0.15 ml/10 g (body weight).

出された。上記の pH の変動および高速液体クロマトグラムから、緩衝液で溶解しても CET の分解を抑制することはできず、特に 37°C に保存した場合にはかなり高濃度の緩衝液でも効果のない程の分解が生じていることは明らかである。

Fig. 4 はこの 0.1 M リン酸塩緩衝液で溶解して 4°C あるいは 37°C で 24 時間保存後の注射液についての疼痛試験の結果である。4°C 保存の溶液では writhing 反応陽性を示すものは各群とも 20 匹中 2–3 匹で差は認められなかった。37°C 保存の溶液においては、蒸留水溶解群で 16 匹である

のに比べ pH 6.2 緩衝液溶解群で 14 匹, pH 7.0 緩衝液溶解群で 10 匹であった. すなわちリン酸塩緩衝液で溶解した場合, 疼痛性がわずかではあるが抑制される傾向を示すが, 著しい抑制効果は期待することができないことが示唆された.

以上のことから CET 注射液を調製後保存すると分解を生じ, 酢酸, DeCET, DeOCET が副生されるが, その酢酸が主原因となって疼痛を引き起こし, DeCET, DeOCET は疼痛性には大きな影響を与えていないことが確認された.

CET, CEC, CEP の疼痛性

CET と同様に β -ラクタム環の 3 位にアセトキシメチル基を有するセファロsporin 系注射剤として CEC, CEP が市販されており, これらも溶解後保存すると分解して酢酸を生成することはすでに報告した.¹⁵⁾ 今回は CET, CEC, CEP の疼痛性について観察し比較検討を加えた. CET, CEC, CEP の 3 種の薬剤を 200 mg (力価)/ml の割合に溶解して 4°C あるいは 37°C に保存した場合の pH の変動を Fig. 5 に示す. 溶解時の pH は CEP が最も高く (pH 7.8), CEC が最低で (pH 5.0), CET はその中間であった (pH 5.8). これらを 4°C で保存した場合は CET はごくわずかな pH の低下傾向は認められたが, CEC, CEP には pH の低下は認められなかった. これに対し, 37°C で保存した場合には各溶液とも速やかに pH の低下が認められ, CEP, CET, CEC 溶液は 37°C では速やかに分解していくことが示唆された. つぎに 37°C, 24 時間保存後の各溶液のマウス writhing 反応の結果を Fig. 6 に示す. CEC は溶解直後でも 20 匹中 4 匹に writhing 反応陽性が認められ, さらに 4°C 保存で 5 匹, 37°C 保存で 19 匹に認められた. これに対し CEP では溶解直後および 4°C 保存の場合 20 匹中 1 匹, 37°C 保存でも 3 匹に writhing に反応陽性が認められるにすぎなかった. CET は 4°C 保存で 10 匹に陽性が認められ, 3 群の中では writhing 反応陽性例が最も多かったが, 37°C, 24 時間保存群では 15 匹で CEC より少なく CEP より多かった. 今回の実験で CEP は CEC, CET に比べて疼痛性が少ないことが明らかとなった. CET と CEP 静脈炎の出現率について, Carrizosa ら¹⁶⁾ は両者に差はなかったとしているが, Lane ら,¹⁷⁾ Bran ら¹⁸⁾ は CET において有意に高い出現率が認められたと報告している. また Inagaki ら¹⁹⁾ も全体の出現率は同じであったが CET は CEP に比べて強い静脈炎を引き起こしたと述べている. 今回の疼痛性試験結果と考え合わせると CET のほうが CEP に比べて刺激性が強く疼痛性も強いことが示唆された. この 3 種の注射液の疼痛試験結果は Fig. 5 の pH の変動とよく一致し, pH が低くなるに伴ってマウス writhing 反応陽性が多くなってきている. したがって pH も疼痛性を考えるとき無視できない要因であると思われるが, CET を調製直後に塩酸で pH 4.5 (CET,

Fig. 5. Effect of Storage Temperature on Variation of pH for CET, CEP and CEC Solutions

—●—: CET stored at 4°C,
—●—: CET stored at 37°C,
—○—: CEP stored at 4°C,
—○—: CEP stored at 37°C,
—■—: CEC stored at 4°C,
—■—: CEC stored at 37°C,
Conc. of solution: 1 g (potency)/5 ml.

Fig. 6. Mouse Writhing Reaction of CET, CEC and CEP

□: 0 h,
▨: stored at 4°C for 24 h,
▩: stored at 37°C for 24 h.
A: CET,
B: CEC,
C: CEP,
Conc. of solution: 1 g (potency)/5 ml,
Dose: 0.15 ml/10 g (body weight).

37°C, 24 時間保存後の pH に相当する) にまで低下させても 20 匹中 3 匹にしか writhing 反応陽性は認められず, 疼痛性はほとんど増加しなかった. また 0.7% 酢酸生理食塩水 (pH 2.75) では全例が writhing 反応陽性であるにもかかわらず, 同じ pH 2.75 の塩酸生理食塩水では 20 匹中 8 匹にしか陽性が認められないことから pH のみに依存するとは考えられない.

以上本実験の結果を総括してみると, CET を溶解調製後保存することによる疼痛性の増大は分解副生する遊離酢酸が主原因であり, その他に DeOCET および pH などが弱いながらも一部影響を及ぼしている可能性があるかと推察される.

謝辞 デアセチルセファロチン, デアセトキシセファロチンカリウムを提供された東洋醸造に感謝致します.

引用文献および注

- 1) 日本薬学会第 101 年会で一部発表, 熊本 1981 年 4 月.
- 2) T. Yamana, A. Tsuji, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1563 (1976).
- 3) J.M. Mann, D.L. Coleman, J.C. Boylan, *Am. J. Hosp. Pharm.*, **28**, 760 (1971); J.C. Boylan, J.L. Simmons, C.L. Winely, *ibid.*, **29**, 687 (1972); J. Konecny, E. Felber, J. Gruner, *J. Antibiot.*, **26**, 135 (1973); T. Yamana, A. Tsuji, K. Kanayama, O. Nakano, *ibid.*, **27**, 1000 (1974); B.A. Dinell, D.L. Ayotte, R.J. Behme, B.L. Black, J.L. Whitby, *Drug Intell. Clin. Pharm.*, **11**, 542 (1977); M.J. Pikal, A.L. Lukes, J.E. Lang, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1312 (1977); D. Pitkin, P. Actor, J.J. Filan, R. White, J.A. Weisbach, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **12**, 284 (1977); 後藤勝博, 宮下元樹, 加藤清治, 佳谷貞春, 大石 元, 病院薬学, **7**, 231 (1981).
- 4) J.J. Rahal, Jr., B.R. Meyers, L. Weinstein, *N. Engl. J. Med.*, **279**, 1305 (1968); F.G. Spruill, L.J. Minette, W.Q. Sturmer, *J. Am. Med. Assoc.*, **229**, 440 (1974); J.R. Burton, N.S. Lichtenstein, R.B. Colvin, N.E. Hyslop, Jr., *ibid.*, **229**, 679 (1974); 伊藤昌男, 城 祐孝, 最新医学, **31**, 1385 (1976).
- 5) 足立泰儀, 中村千鶴子, 影向範昭, 池田満雄, 加藤 旭, 嶋田健次, 薬誌, **100**, 1104 (1980).
- 6) E. Siegmund, R. Cadmus, G. Lu, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **95**, 729 (1957); R. Koster, M. Anderson, E.J. de Beer, *Fed. Proc.*, **18**, 412 (1959).
- 7) E.W. Walters, M.J. Romansky, A.C. Johnson, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1963**, 247 (1964).
- 8) E.W. Walters, M.J. Romansky, A.C. Johnson, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1962**, 706 (1963).
- 9) J.R. Philson, C.F. Clancy, J.D. Alexander, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1963**, 267 (1964).
- 10) H.D. Riley, Jr., E.C. Bracken, M. Flux, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1962**, 716 (1963).
- 11) G. Elfving, K. Saikku, *Lancet*, **1**, 953 (1966).
- 12) M.G. Bergeron, J.L. Brusch, M. Barza, L. Weinstein, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **9**, 646 (1976).
- 13) J. Carrizosa, M.E. Levison, D. Kaye, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **5**, 192 (1974); A.G. Lipman, *Am. J. Hosp. Pharm.*, **31**, 266 (1974).
- 14) E.W. Fonkalsrud, J. Murphy, F.G. Smith, Jr., *J. Surg. Res.*, **8**, 539 (1968).
- 15) 池田満雄, 坂口武一, 嶋田健次, 足立泰儀, 影向範昭, 分析化学, **30**, 274 (1981).
- 16) J. Carrizosa, M.E. Levison, D. Kaye, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **3**, 306 (1973).
- 17) A.Z. Lane, J.G. Taggart, R.L. Iles, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2**, 234 (1972).
- 18) J.L. Bran, M.E. Levison, D. Kaye, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1**, 35 (1972).
- 19) J. Inagaki, G.P. Bodey, *Curr. Ther. Res.*, **15**, 37 (1973).