

Sulfamethoxazole と Trimethoprim の研究

ラットにおける吸収, 分布, 排泄, 代謝に関する検討: Sulfamethoxazole について

北風 猛・伊藤和枝・小川保直

塩野義製薬研究所

Trimethoprim [2, 4-diamino-5-(3, 4, 5-trimethoxybenzyl)-pyrimidine] (TMP) が dihydrofolate reductase inhibitor の性質をもつ, サルファ剤 potentiator¹⁾ として化学療法剤としての脚光をあび, 臨床的には sulfamethoxazole (SMX) 5対TMP1の配合剤として使用され, すでに数多くの有効性が示されている。

SMX の生体内での動態については, 基礎的にも臨床的にも多くの検討がなされており, 問題となるところはないが, 新たにこれにTMPを配合した場合には, TMPがSMXの代謝に与える影響について検討しておく必要がある。ここにはラットを用いて SMX-TMP mixture 投与の場合の SMX の吸収, 排泄および代謝を SMX のみを投与した場合と比較検討した。

実 験 方 法

Sprague-Dawley 系の雄ラット (体重 200 g 前後) を 1 群 6 匹として, 単独投与群は SMX 100 mg/kg を, 併用投与群は SMX 100 mg/kg+TMP 20 mg/kg をそれぞれ 2 ml/100 g 体重の割合で経口的に投与した。これら薬剤は 5%アラビアゴム液に懸濁した。

ラットは投薬後 0.5, 1, 2, 4, 6, 16, 24 および 48

時間の時点で, 頸部動静脈を切断して瀉血し各臓器を摘出した。

脳, 肺, 肝, 腎, 脾, 脂肪組織および直腸内容物の 7 項目については, いずれも 0.4N HClO₄ で 10% homogenate をつくり, そのろ過上澄液を SMX の測定に供した。血液はあらかじめ heparinize した容器にうけ, 遠心して plasma を分離した。投薬後ラットは代謝ケージに入れて採尿した。

SMX の定量は BRATTON-MARSHALL の方法によっておこなった。また glucuronide については, KOE-CHLINらの ethyl acetate 抽出法を用いた。

実験成績ならびに考察

血中濃度: SMX 100 mg/kg および SMX+TMP 併用の場合の血中濃度の経時の変化は表 1 に示すとおりである。またその free-SMX を図 1 に示した。血中の acetyl form の SMX はほぼ 8 分前後であり, TMP を併用した場合にも変化はみとめられない。図 1 に明らかなように SMX の吸収はすみやかにおこなわれ, 投与後 30 分においてすでに高い血漿中濃度を示すが, 本実験で用いた投与量では投与後 4 時間で最高に達する。その後

表 1 Plasma levels of sulfamethoxazole after oral administration of sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-trimethoprim in rats

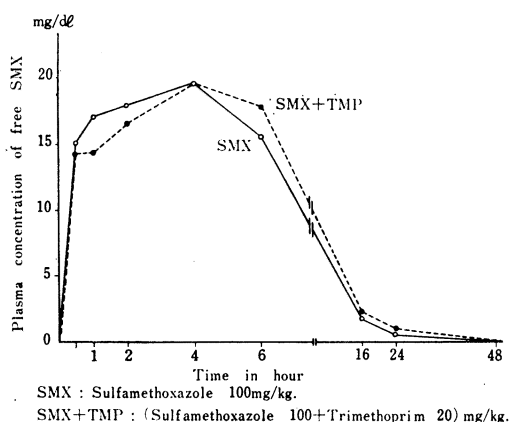
Time	Plasma concentration of SMX (mg/dl)			
	SMX ¹⁾		SMX + TMP ²⁾	
	Free	Total	Free	Total
30 min.	15.1 ± 1.2 ³⁾	16.4 ± 1.3 ³⁾	14.2 ± 0.6 ³⁾	15.2 ± 0.8 ³⁾
1 hour	16.9 ± 0.9	18.6 ± 1.1	14.2 ± 0.8	15.5 ± 1.1
2	17.8 ± 0.7	19.8 ± 0.7	16.6 ± 0.5	18.2 ± 0.5
4	19.4 ± 0.5	21.6 ± 0.6	19.4 ± 0.9	21.5 ± 0.9
6	15.5 ± 0.6	17.4 ± 0.7	17.7 ± 0.3	19.3 ± 0.2
16	1.8 ± 0.2	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.2	2.7 ± 0.3
24	0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.3
48	0	0	0	0

1) SMX (sulfamethoxazole 100 mg/kg)

2) SMX+TMP (sulfamethoxazole 100 mg/kg+trimethoprim 20 mg/kg)

3) Mean ± S. E. (n=6)

図1 Plasma levels of free sulfamethoxazole after oral administration of sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-trimethoprim in rats



血中濃度は低下し、24時間後には1 mg/dl 以下にすぎない。血中最高濃度の半減する時点は投与後約10時間近辺であると考えられる。

SMX の単独投与と TMP を同時投与した場合では、SMX の血中濃度のピークおよびその推移にはほとんど差異は認められない。TMP を併用した際にわずかに吸収

がおくれている傾向がみられたにすぎない。

臓器内濃度：表2に投与後の各経過時間における、肺、肝、腎、脾の各臓器中ならびに脂肪組織と糞中の SMX の濃度を示した。図2には total の SMX 量をもあわせて投与4時間後の値を図示した。これら臓器や組織内に含まれる SMX 量は上記の血中濃度と平行して増減しており、その最高値は投与4時間後にみられる。また SMX 含量の多い臓器から列記すれば、腎、肝、脾、肺、脳、脂肪組織の順であり、そこには SMX はほとんど free-SMX として存在し、acetyl 体と考えられるのは10%以下である。なお直腸内容物については、かなり高い含量がみられたがその含量は投与後6時間において最も高い値を示した。

以上の臓器ならびに組織内濃度についても、SMX 単独の投与と、TMP を併用した時との間に何ら相違するところはみられなかった。

尿中排泄：薬物投与後6, 16, 24 および48時間の経時的な SMX の尿中排泄を表3にまとめた。この尿中排泄については0~6, 0~16, 0~24, および0~48時間の各群をもうけて測定したものと、同一ラット群で各時間経過毎の排泄を follow したものの2つの実験結果を示したが、表の数値はいずれも投与した SMX の総量に対す

表2 Organ levels of sulfamethoxazole after oral administration of sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-trimethoprim in rats

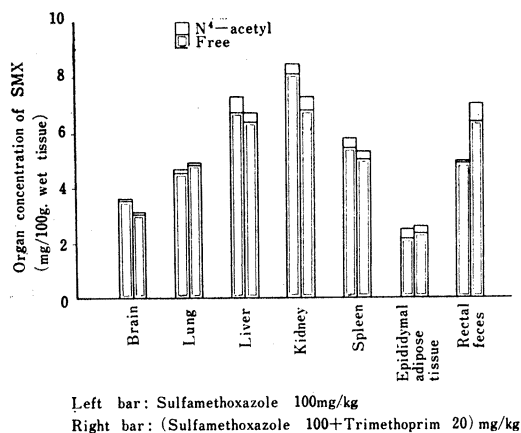
Treatment	Time	Organ concentration of free SMX (mg/100g. wet tissue)						
		Brain	Lung	Liver	Kidney	Spleen	Epididymal adipose tissue	Rectal feces
SMX ¹⁾	30 min.	1.0±0.1 ³⁾	2.8±0.2 ³⁾	4.4±0.5 ³⁾	4.7±0.4 ³⁾	2.6±0.2 ³⁾	1.2±0.1 ³⁾	0.2±0.1 ³⁾
	1 hour	1.5±0.1	3.3±0.2	5.1±0.4	6.1±0.3	3.1±0.2	1.5±0.2	1.4±0.3
	2	1.9±0.1	3.9±0.3	5.7±0.4	6.5±0.2	3.8±0.4	1.9±0.2	2.5±0.6
	4	3.5±0.1	4.5±0.1	6.7±0.2	8.1±0.2	5.4±0.3	2.1±0.1	4.9±0.4
	6	2.2±0.1	4.1±0.2	4.9±0.3	6.1±0.3	3.8±0.2	1.7±0.1	14.0±1.4
	16	0.1	0.6	0.2	0.5	0.1	0.2	6.6
	24	0.1	0.1	0.1	0.2	0	0.1	7.2
	48	0	0	0	0	0	0	1.1
SMX+TMP ²⁾	30 min.	1.0±0.1	2.8±0.3	3.9±0.3	4.3±0.3	2.5±0.2	1.6±0.1	0.9±0.2
	1 hour	1.3±0.1	3.1±0.6	4.3±0.3	4.2±0.3	2.6±0.2	1.7±0.2	1.0±0.3
	2	1.8±0.1	3.6±0.1	5.0±0.3	6.7±0.2	3.3±0.2	1.9±0.1	2.1±0.2
	4	3.0±0.2	4.8±0.3	6.4±0.4	6.8±0.4	5.0±0.4	2.3±0.2	6.4±1.0
	6	3.1±0.2	4.7±0.1	6.4±0.3	6.2±0.7	4.6±0.1	2.0±0.1	16.8±3.7
	16	0.3	0.5	0.3	0.5	0.2	0.2	8.9
	24	0.1	0.3	0.2	0.3	0.1	0.1	8.9
	48	0	0	0	0	0	0	1.2

1) SMX (sulfamethoxazole 100 mg/kg)

2) SMX+TMP (sulfamethoxazole 100 mg/kg+trimethoprim 20 mg/kg)

3) Mean±S. E. (n=6)

図2 Organ contents of sulfamethoxazole 4 hours after oral administration of sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-trimethoprim in rats



る各経過時間内の排泄量の比率で示してある。すなわち、投薬後48時間内に投与SMXの74~82%が尿中に排泄される。前項に述べたように本実験条件においては、糞中にかなりのSMXの排泄が示唆されるので、投与SMX

のほとんどは48時間以内に尿および糞から排泄されるものと考えられる。しかも、その大部分は24時間内に排泄されることがうかがえよう。なお尿中に排泄されるSMXの代謝物の量比は表3の右側に示すようにN⁴-acetyl $\geq$ free > glucuronideである。同一ラット群で48時間の時間経過を追った結果を図示すると図3のとおりで、SMX単独投与のものよりも、TMPを同時投与した群のほうがややSMXの排泄量が多いようにみうけられる。また代謝物についてみると、TMP併用群でやや尿中のfree-SMXが多い傾向を示しているが、これらの点は、これら両薬剤の併用効果に関連して興味あるところでありさらに詳細な検討を行なう必要がある。

またSMX-TMP併用について、各薬剤の生体内運命の点から興味ある所見はSCHWARTZら²⁾およびMESHIら³⁾のC¹⁴-trimethoprimを用いたラットについての報告にもみられる。すなわち、TMPはその吸収、血中濃度の上昇ならびに減少の経過はSMXに比べて極めて早い、腎、肝、肺、脾などの臓器に対する親和性が極めて高いことが示されている。このような点について今後問題が残されているといえよう。

表3 Urinary excretion of sulfamethoxazole after oral administration of sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-trimethoprim in rats

Treatment	Period	Urinary excretion (%)		Metabolites (%)		
		Total	Direct free	Direct free		N ⁴ -acetyl
				Free	Glucuronide	
SMX ¹⁾	0—6 hr ³⁾	24.7 ⁵⁾	9.3 ⁵⁾	8.1 ⁵⁾	1.2 ⁵⁾	15.4 ⁵⁾
	0—16	67.2	37.7	33.1	4.6	29.5
	0—24	59.5	32.6	26.0	6.6	36.9
	0—48	73.8	34.5	26.8	7.7	39.3
	0—6 hr ⁴⁾	29.3	13.5	11.7	1.8	15.8
	6—24	37.3	16.7	12.9	3.8	20.6
	24—48	7.2	4.3	2.2	2.1	2.9
SMX+TMP ²⁾	0—6 hr ³⁾	29.4	8.9	7.0	1.9	20.5
	0—16	67.7	42.0	37.6	4.4	25.7
	0—24	73.2	40.9	34.7	6.2	32.3
	0—48	82.3	41.7	32.7	9.0	40.6
	0—6 hr ⁴⁾	26.2	12.6	11.0	1.6	13.6
	6—24	45.6	24.8	19.9	4.9	20.8
	24—48	10.4	4.4	1.8	2.6	6.2

1) SMX (sulfamethoxazole 100 mg/kg)

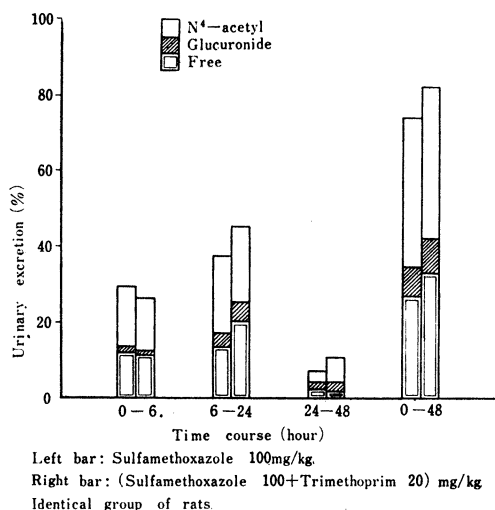
2) SMX+TMP (sulfamethoxazole 100 mg/kg+trimethoprim 20 mg/kg)

3) Individual groups

4) Identical group

5) Mean (n=6)

図3 Urinary excretion of sulfamethoxazole after oral administration of sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-trimethoprim in rats



以上本報告の実験では、SMX-TMP mixture を投与した場合の SMX の吸収、分布、排泄および代謝について、SMX 単独投与の場合との異同を検討したが、ほとんど TMP の影響はみられなかった。TMP 併用投与で SMX の尿中排泄量が僅かに多い傾向を示したことで、その尿中代謝物に free-SMX がやや多いかにみられた点があるが、この点は今後の検討にまちたい。

本研究は、田辺製薬株式会社、日本ロシユ株式会社および塩野義製薬株式会社の3社の共同企画によって行われたものである。

文 献

- 1) BUSHBY, S. R. & G. H. HITCHINGS: Trimethoprim, a sulfonamide potentiator. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* 33: 72~90, 1968
- 2) SCHWARTZ, D. E. & J. RIEDER: Pharmacokinetics of sulfamethoxazole+trimethoprim in man and their distribution in the rat. *Chemotherapy* 15: 337~355, 1970
- 3) MESHI, T. & Y. SATO: *Chem. Pharm. Bull.* 20: 2079~2090, 1972

ABSORPTION, DISTRIBUTION, EXCRETION AND METABOLISM OF SULFAMETHOXAZOLE IN RATS

TAKESHI KITAKAZE, KAZUE ITO and YASUNAO OGAWA

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

This report is based on the studies of pharmacokinetic studies of sulfamethoxazole (SMX) with particular reference to the effect of coexistence of trimethoprim (TMP).

Methods:

Each group of animals comprises 6 Sprague-Dawley strain male rats weighting approximately 200 g. SMX was given either 100 mg/kg alone or combined with TMP 20 mg/kg. Drugs were given orally as suspensions in 5% gum arabic in volume of 2 ml/100 g animal weight. Animals were sacrificed in 0.5, 1, 2, 4, 6, 16, 24 and 48 hours after drug administration by exsanguination from cervical vein. Each organ was immediately excised. Brain, lung, liver, kidney, spleen, fatty tissues and contents of the rectum were processed by 0.4 N HClO₄ to make a 10% homogenate. SMX present in the filtered supernatant was assessed for its concentration. The assay of SMX was made according to the method of BRATTON-MARSHALL. Glucuronide fractions of SMX were determined employing ethyl acetate extraction as described by KOECHLIN *et al.*

Results:

Plasma concentration: Table 1 demonstrates changes in plasma levels of SMX after oral administration of SMX alone or SMX with TMP. Figure 1 illustrates concentrations of free SMX. The acetyl form of SMX corresponded approximately to 8% of the total SMX and this relation remained practically identical when TMP was given together. As shown in Figure 1, the absorption of SMX was rapid reaching peak levels in the first 4 hours followed by a gradual decrease. No significant changes of plasma SMX concentration were detected whether SMX was given alone or combined with TMP; if any, the rats of SMX absorption appeared to be slightly retarded when TMP was given together.

Intra-organ distribution: Table 2 and Figure 2 present concentrations of SMX at different hours after dosing in the brain, lung, liver, kidney, spleen, fatty tissues and feces. The peak values in these organs roughly coincided with the maximum plasma concentration 4 hours post-administration. SMX in the kidney, liver, spleen, lung, brain and fatty tissues, in the order of decreasing concentration, was present mostly as the free form and acetyl form accounted less than 10% of the total. The concentrations in rectal contents were relatively elevated particularly at 6 hours after administration. These concentrations did not differ significantly between the animals which were given SMX alone and those given the combination of SMX and TMP.

Urinary excretion: Data relative to urinary excretion of SMX after SMX alone and SMX with TMP are tabulated in Table 3. The administered SMX was found at 72~82% to be excreted in the urine during the first 48 hours after administration. Most of the SMX was excreted in the first 24 hours. N⁴-acetylated SMX was major metabolite followed by free-SMX and glucuronide. The amount of SMX excreted was found to be slightly more when SMX was given with TMP than that when SMX was given alone. The effect of combined administration was also detectable in the quantity of free-SMX in the urine. The free-SMX in the urine was found to be larger in quantity when SMX was given together with TMP.