

Carbenicillin Indanyl Sodium の吸収, 分布, 代謝および排泄

木村義尚・加納 弘・野口晏弘

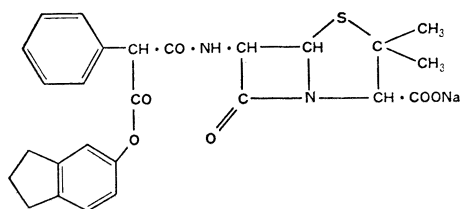
台糖ファイザー株式会社薬理研究所

田中悌二・下岡欽雄

台糖ファイザー株式会社名古屋工場化学研究室

緒 言

Carbenicillin indanyl sodium は, グラム陽性菌およびグラム陰性菌に有効な広域スペクトラムをもつ半合成ペニシリン (ENGLISH ら, 1972) で, ファイザー社により開発された carbenicillin の経口剤である。その化学名は sodium 3, 3-dimethyl-7-oxy-6-[2-phenyl-2-(5-indanyl oxycarbonyl) acetamide]-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptane-2-carboxylate と称し, 構造式は次のようである。



筆者らは, carbenicillin indanyl sodium の吸収, 分布, 排泄および代謝について検討したのでその成績をここに報告する。

実験材料および方法

1. 実験動物

マウス: ICR 系, SPF, 雄, 5~8 週令 (体重20~35 g)

ラット: Sprague-Dawley 系, SPF, 雄, 5~8 週令 (体重160~250 g)

イヌ: 雑種成犬, 雄雌 (体重7.0~10.0 kg)

ウサギ: 日本白色種家兎, 成熟雄 (体重2.5 kg)

2. 使用薬物

Carbenicillin indanyl sodium (以下, I-CBPC) および carbenicillin sodium (以下, CBPC) は精製水にとかし, 使用のつど新しく調製したものを用いた。ヒトおよびイヌにおける一部の実験には I-CBPC 500 mg 錠 (CBPC として 382 mg 力価), またはその力価に相当する CBPC をカプセルにつめたものを用いた。

3. 微生物学的定量法

試料中のカルペニシン活性の測定は, *Pseudomonas*

aeruginosa NCTC 10490 あるいは *Bacillus subtilis* AT-CC 6633 を検定菌とするカップ法でおこなった。

培地	ペプトン	5.0 g/l
	肉エキス	5.0 g/l (pH6.8~7.0)
	寒天末	15.0 g/l

試料は次のように処理, 調製して測定した。血清または尿は 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0) で4倍に希釈して測定し, 濃度の高い試料についてはさらにリン酸緩衝液で希釈して測定した。

臓器または糞は, 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0) を3倍量加え, ホモジナイズした。遠心分離後 (3,000 r.p.m., 5分) 上清をとり, 濃度の高い試料についてはさらに希釈して用いた。

4. 生体試料中 indanol の抽出定量法

抽出操作の概要を Fig. 1 に示した。臓器ホモジネートまたは血清を 0.1M リン酸緩衝液 (pH6.0) で希釈, これにエーテル 20 ml を加えて振盪後, 遠心分離し, エーテル層を分取した。水層はさらにエーテル 15 ml で2回抽出し, エーテル層を合わせ, 重炭酸ナトリウム飽和水 5 ml で2回洗浄後, 無水硫酸マグネシウム (または無水硫酸ナトリウム) で脱水し, N₂ 気流下で乾固してガスクロマトグラフィーの試料とした。

機器および測定条件: Hewlett Packard ガスクロマトグラフ5750型

検出器: 水素炎検出器

カラム: ガラスカラム 1.8 m

充填剤: Gas chrom Q (60~80 mesh)

液相: 2% W-98 methyl vinylsilicone

温度: 150°C

キャリアーガス: N₂

流量: 60 ml/min

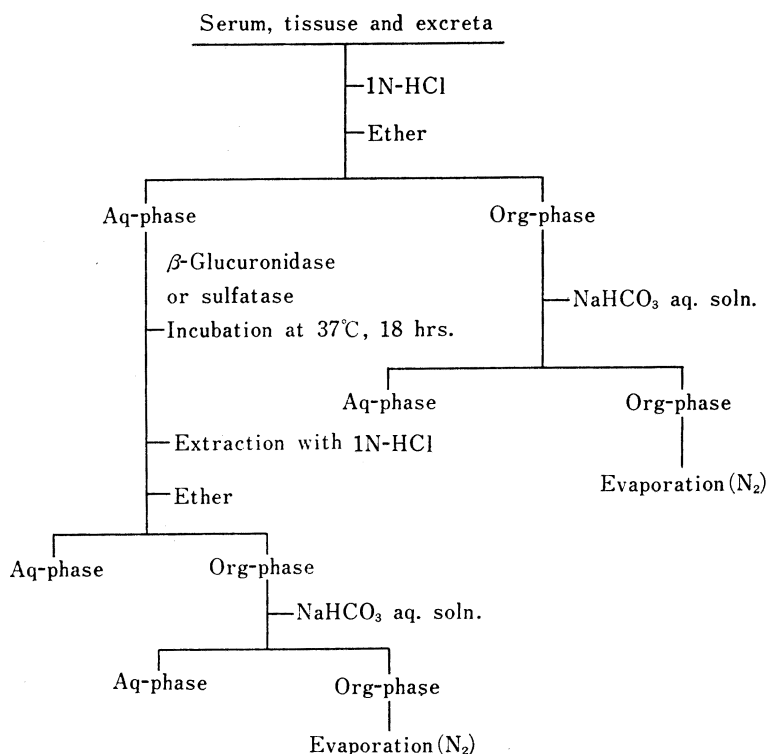
標準試料としては indanol を四塩化炭素に溶かしたものを用い, 内部標準としては α -chlornaphthalene を用いた。試料のガスクロマトグラフィーは indanol および α -chlornaphthalene のピーク面積を測り, その比をもとめて検量線から indanol 濃度を算出した。

5. 血中濃度

マウス

マウス30匹に I-CBPC を CBPC として 200 mg (力

Fig.1 Extraction method of indanol from biological materials



価)/kg を経口投与し、15, 30分, 1, 2, 4, 6時間後にエーテル麻酔して5匹ずつから採血し、5匹分をあわせて血清を分離後、前項3の方法により血中濃度を測定した。また別のマウス30匹に CBPC 200 mg (力価)/kg を経口投与した場合についても同様におこなった。

ラット

ラット20匹に I-CBPC を CBPC として 200 mg (力価)/kg を経口投与し、30分, 1, 2, 4, 6時間後にエーテル麻酔して4匹ずつから採血し、血清を分離後、前項3の方法により血中濃度を測定した。また別のラット20匹に CBPC 200 mg (力価)/kg を経口投与した場合についても同様におこなった。

イヌ

イヌ6匹を用い、うち3匹に I-CBPC 500 mg 錠 (CBPC として 382 mg 力価) を、他の3匹に CBPC 382 mg 力価を経口投与し、30分, 1, 2, 4, 6時間後に採血し、血清を分離後、前項3の方法により血中濃度を測定した。

ヒト

健康成人 (男子) 3例に I-CBPC 500 mg 錠 (CBPC として 382 mg 力価) を各1錠経口投与し、30分, 1, 2, 4時間後に採血し、血清を分離後、前項3の方法により血中濃度を測定した。

また、1週間後に同力価相当量の CBPC を上記3例に経口投与し、血中濃度を測定した。

6. 腸管からの吸収

I-CBPC の腸管における吸収およびその速度をしらべるため、次のような *in situ* の実験をおこなった。

ラット

絶食したラット27匹を sodium pentobarbital で麻酔し、胃、十二指腸結合部と回盲部をそれぞれ結紮した。その両結紮部近くの小腸内に長さ約 2 cm, 直径約 1mm のポリエチレン製カニューレをそれぞれ挿入し、約 20 ml の生理食塩液を十二指腸側カニューレから灌流して内部を洗浄、内容物を除去した。うち15匹のラットには I-CBPC を、12匹には CBPC を、いずれも 50 mg (力

価)/kg (0.5%液 1 ml/100 g) 十二指腸側カニューレから小腸内腔に直接注入した。ラットは保温に注意し、投与後 2, 15, 30分, 1, 2 時間目 (CBPC は 2, 15, 30分, 1 時間目) に 3 匹ずつ腹大動脈から採血, 屠殺した。結紮した腸管はそのまま摘出し, その内容物を 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0) で洗浄, 回収した。この洗浄液を遠心後, 上清を用いてカルベニシリン活性を測定した。

腸管のカルベニシリン活性の測定は, 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.0) で25%のホモジネートを作り, 遠心した上清を用いておこなった。

血清は 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で希釈して用いた。

イヌ

血中に存在する I-CBPC を定量するため, 次の実験をおこなった。

絶食したイヌ 6 匹を sodium pentobarbital で麻酔し, 胃, 十二指腸結合部と回盲部を結紮した。次に門脈, 大腿静脈に三方コックのついたポリエチレン製カニューレ (約30 cm, 直径 0.35 mm) を挿入した。その後 I-CBPC を CBPC として 50 mg (力価)/kg (5%, 1 ml/kg) を小腸内腔に注入した。投与 2, 15, 30分, 1, 2, 3, 4, 6 時間後に, カニューレを挿入しておいた門脈および大腿静脈から血液を採取した。採取後, 同容量の生理食塩液を門脈血中および静脈血中に注入した。採血にあたっては I-CBPC のエステラーゼによる加水分解を阻止するため, DFP (Diisopropyl fluoro phosphate) 処理した注射筒を用いた。採取した血液は, さらに DFP を 1 滴加え, よくふりまぜ, 遠心分離後血清を採取し, 総カルベニシリンおよび I-CBPC の測定に供した。血中総カルベニシリン活性は前項 3 の方法によりもとめたが, I-CBPC の測定は次のように処理しておこなった。血清 5 ml に 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 10 ml, エーテル 20 ml を加え, 振盪した後, 遠心分離して DFP をエーテルで除去した。水層を分取し, 血清エステラーゼで I-CBPC を加水分解することによって生成した indanol を前項 4 の方法で測定することにより, I-CBPC 濃度をもとめた。なお, エステラーゼ標本については後述の 9-1) の実験で I-CBPC を加水分解する作用の強いラット血清を用いた。

7. 排泄

マウス

マウス 10 匹を用い, うち 5 匹に I-CBPC を CBPC として 200 mg (力価)/kg を, 他の 5 匹に CBPC 200 mg (力価) /kg を投与し, メタボリックケージに入れ, 24 時間間隔で 72 時間まで尿および糞を採取した。1 匹あたりの試料は少量のため 5 匹分をあわせて処理し, 前項

3 の方法によりカルベニシリン活性を測定した。

ラット

ラット 8 匹を用い, うち 4 匹に I-CBPC を CBPC として 200 mg (力価)/kg を, 他の 4 匹に CBPC 200 mg (力価) /kg を経口投与し, メタボリックケージに入れ, 24 時間間隔で 72 時間まで尿を採取し, 前項 3 の方法によりカルベニシリン活性を測定した。また, CBPC 200 mg (力価) /kg をラット 4 匹に経口投与した場合についても比較検討した。

ヒト

健康成人 (男子) 3 例に, I-CBPC 500 mg (CBPC として 382 mg 力価) 錠を各 1 錠経口投与し, 0 ~ 6 時間における尿中カルベニシリン排泄量を前項 3 の方法によりしらべた。1 週間後に同力価相当量の CBPC を上記 3 例に経口投与し, 同様に尿中カルベニシリン排泄量をしらべた。また別の健康成人 (男子) 6 例に I-CBPC 1,000 mg (500 mg 錠を 2 錠) をそれぞれ経口投与し, 投与後 0 ~ 3, 3 ~ 6, 6 ~ 15, 15 ~ 20 時間における尿中カルベニシリン排泄量をしらべた。

8. 臓器内濃度

マウス

マウス 30 匹に I-CBPC を CBPC として 200 mg (力価)/kg を経口投与し, 15, 30分, 1, 2, 4, 6 時間後に 5 匹ずつエーテル麻酔して屠殺し, 心, 肺, 肝, 腎を摘出, 臓器ごとに 5 匹分を合わせて, 前項 3 に述べた方法で臓器内のカルベニシリン活性を測定した。

ラット

ラット 15 匹に I-CBPC を CBPC として 50 mg (力価) /kg を経口投与し, 30分, 1, 2, 4, 7 時間後に 3 匹ずつエーテル麻酔して屠殺し, 脳, 心, 肺, 肝, 腎, 脾, 筋肉および脂肪を摘出, マウスの場合と同様に測定した。

9. 代謝

1) 生体試料による I-CBPC のエステル加水分解に対する検討—in vitro

I-CBPC が生体内で小腸または肝において加水分解をうけるかどうかをバイオオートグラフィーにより検討した。すなわち, ラットの腸および肝を摘出し, 氷冷した 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) に加え, 小腸は 20%, 肝は 40% のホモジネートを作成した。これらの試料に I-CBPC (200 μ g/ml 最終濃度) を加え, 37°C でインキュベートし, 2, 15, 60 分後に各試料の一部をとり, 20 μ l をそれぞれシリカゲル薄層板 (Merck Precoated, F₂₅₄) 上にスポットした。薄層板はメチルイソブチルケトン: 酢酸: 水 (6: 1: 1) により室温で約 2.5 時間展開した。展開後, 薄層板を充分風乾したのち, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を植菌した寒天培地のバイオプレ

ート上に室温で30分間静置した。薄層板を除去した後のバイオプレートは37°Cで18時間培養し、加水分解によって生成したCBPCをバイオオートグラフィーで記録した。

さらに *in vitro* における加水分解を定量的に行なうため、血清または臓器ホモジネートを用いて次のような実験をおこなった。試料としてはラット、ウサギ、イヌ、ヒトの血清、ラット、ウサギ、イヌの小腸、肝およびラットの胃を用いた。血清は0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)で希釈して用い、胃、小腸は氷冷した生理食塩液により内容物を洗浄、肝は付着している血液を同じく生理食塩液で洗浄した後、0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)を加え、低温下でホモジナイズして用いた。これらの血清および臓器ホモジネートにI-CBPC(200 µg/ml最終濃度)を加え、37°Cでインキュベートし2, 10, 15, 30, 60分後に試料の一部を採取し、I-CBPCの加水分解により遊離してくるindanolを前項4の方法により定量し、それぞれ反応速度定数をもとめ半減期を算出した。

2) 尿中代謝物

尿中抗菌性物質を検索するため、次のようなバイオ

オートグラフィーをおこなった。試料としてはI-CBPCをCBPCとして200 mg(力価)/kgをラットまたはイヌに経口投与して得た24時間尿およびI-CBPC 500 mg(CBPCとして382 mg 力価)錠を1錠ヒトに投与して得た6時間尿を用い、前項9-1)記載のバイオオートグラフィーの方法によりしらべた。

なお、ヒト尿中に排泄されるindanolの代謝物についても検索した。この試料としては前項7に記載したヒト尿を用い、前項4およびFig.1に記載した方法でindanolを抽出し、測定した。ただしindanol抱合体については、遊離のindanolをエーテル抽出で除去した後の尿にβ-グルクロニダーゼ(Sigma社, Type I)または、スルファターゼ(Sigma社, Type III)を加えて37°Cで18時間インキュベートし、indanolを測定した。

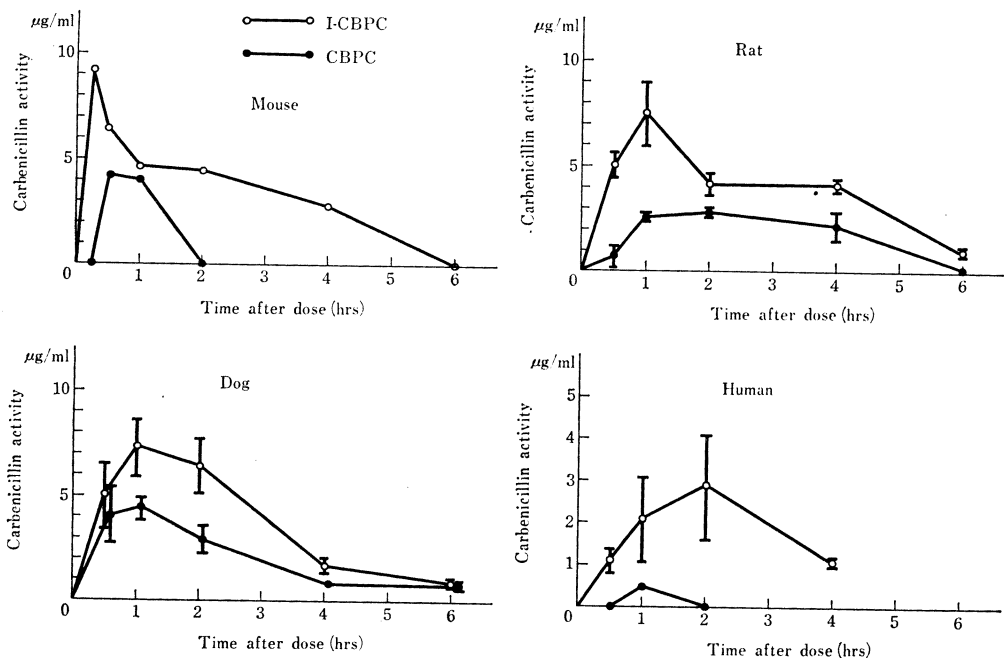
実験成績

1. 血中濃度

マウス

I-CBPCをCBPCとして200 mg(力価)/kgを経口投与すると血中濃度は投与後15分に最も高く約9.0 µg

Fig.2 Carbenicillin activity in serum after administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) or carbenicillin (CBPC)



Dose: 200 mg (act.)/kg for mouse and rat

500 mg (382 mg act.)/body of I-CBPC or 382 mg act./body of CBPC for dog and human

/ml となり。以後30分値は約 $6 \mu\text{g/ml}$ 、2 時間値は約 $4.5 \mu\text{g/ml}$ 、4 時間では約 $3 \mu\text{g/ml}$ に減少した。

CBPC を同力価量経口投与した場合、血中濃度は投与30分後に最高値を示し約 $4 \mu\text{g/ml}$ であった。これは I-CBPC の30分値に比べても約 $\frac{1}{2}$ の濃度である。投与1時間後はそれよりわずかに減少し、2、4 時間後には検出できなかった。I-CBPC にくらべ最高血中濃度は低く消失もすみやかであった (Fig. 2)。

ラット

I-CBPC を CBPC として $200 \text{ mg(力価)}/\text{kg}$ を経口投与すると、血中濃度は投与1時間後に最も高く、約 $7 \mu\text{g/ml}$ であった。2、4 時間後に約 $4 \mu\text{g/ml}$ に減少し、6 時間後には約 $0.9 \mu\text{g/ml}$ となった。

CBPC を同力価量経口投与した場合の血中濃度は投与30分後で $0.5 \mu\text{g/ml}$ 、投与1、2 時間後で約 $3 \mu\text{g/ml}$ であったが、4 時間後では約 $2 \mu\text{g/ml}$ 、6 時間後では検出できなくなり、I-CBPC を投与した場合にくらべ低かった (Fig.2)。

イヌ

I-CBPC 500 mg 錠 (CBPC として 382 mg 力価) をイヌ1匹あたり1錠経口投与すると、血中濃度は投与1時間後に最高となり、約 $7 \mu\text{g/ml}$ の値を示した。以後、濃度は減少し、6 時間後には約 $1 \mu\text{g/ml}$ となった。

CBPC を同力価量経口投与しても血中濃度は同じく1時間後に最高となったが、その値は約 $4 \mu\text{g/ml}$ であって I-CBPC の最高値にくらべて低かった。この血中濃度は以後4、6 時間には約 $1 \mu\text{g/ml}$ に減少した (Fig.2)。

ヒト

ヒトに I-CBPC 500 mg 錠 (CBPC として 382 mg 力価) を1錠経口投与すると、血中濃度は投与1時間後に約 $2 \mu\text{g/ml}$ 、2 時間後に約 $3 \mu\text{g/ml}$ と上昇したが、4 時間後には減少し約 $1 \mu\text{g/ml}$ となった。

CBPC を同力価量経口投与した場合には、3 例中2例の血中濃度はいずれの時点においても検出できず、1例では投与1時間後に約 $1 \mu\text{g/ml}$ をみとめたが、他の時点においてはまったく検出できなかった (Fig. 2)。

2. 腸管からの吸収

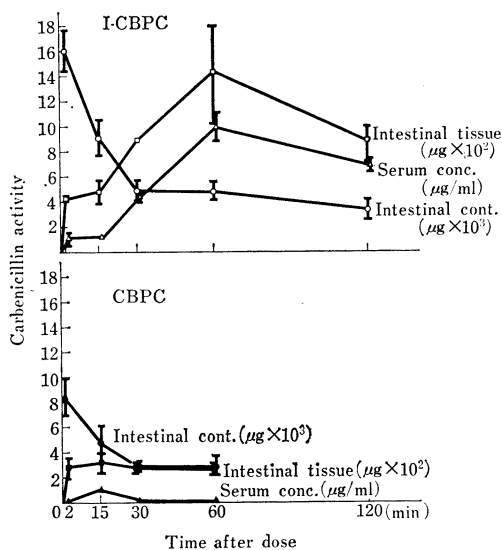
ラット

ラットの結紮腸管に I-CBPC または CBPC を $50 \text{ mg(力価)}/\text{kg}$ 投与した場合の腸内容物、腸壁組織内および血中におけるカルベニシリン活性は次のようであった。

I-CBPC を投与した場合、腸内容物総力価は投与2分後にくらべ、15分後にはその半分に減少したが、30分、1 時間値は約 $5,000 \mu\text{g}$ 、2 時間値は約 $4,000 \mu\text{g}$ でほぼ同じであった。これに対し、腸壁組織内総力価の消長は1時間後で最高の約 $1,400 \mu\text{g}$ に達し、血中濃度もこれ

とほぼ平行して約 $10 \mu\text{g/ml}$ まで上昇し、2 時間後には減少した。CBPC を投与した場合、腸管内容物総力価は I-CBPC と同様の経過をたどり、15分後に半減したが、腸壁組織内の総力価は、2分~1時間後は約 $300 \mu\text{g}$ のほぼ同一レベルを保った。血中濃度は、投与15分後において約 $1 \mu\text{g/ml}$ を示しただけで、30分以降は検出できなかった (Fig. 3)。

Fig. 3 Absorption pattern in the rat ligated intestine after administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) or carbenicillin (CBPC)



50 mg(act.)/kg of I-CBPC or CBPC was administered into the intestine

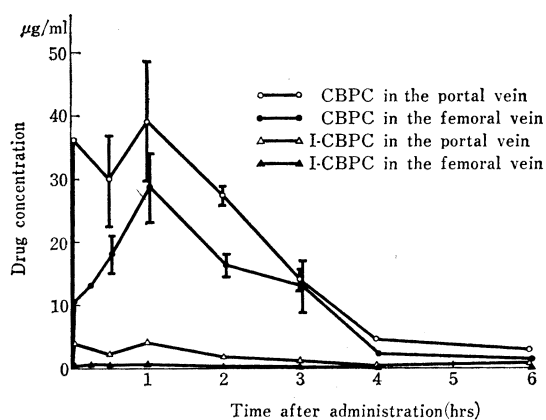
イヌ

I-CBPC を CBPC として $50 \text{ mg(力価)}/\text{kg}$ をイヌの結紮腸管内に投与し、門脈血中および静脈血中における未変化の I-CBPC 濃度および総カルベニシリン活性を測定した成績を Fig.4 に示した。

門脈血中の総カルベニシリン活性は、投与後、急速に上昇して1時間後には約 $40 \mu\text{g/ml}$ の最高値となったが、以後減少し、6 時間後には約 $3 \mu\text{g/ml}$ に低下した。一方 I-CBPC の形で存在するものは、門脈血中で1時間後に最高値約 $4 \mu\text{g/ml}$ であり、総カルベニシリンに対して約 $\frac{1}{10}$ であった。

末梢静脈中での総カルベニシリン活性は、門脈血中とほぼ同様の傾向をたどり、投与1時間後には約 $30 \mu\text{g/ml}$ に達し、以後減少した。しかし、末梢静脈血中の I-CBPC は投与1時間の最高時でも $0.5 \mu\text{g/ml}$ と低く約

Fig. 4 Concentration of I-CBPC and total carbenicillin in the portal and femoral vein of dogs



50 mg(act.)/kg of I-CBPC was administered into the intestine

$1/60$ であり、2時間以降は検出できなくなった。門脈血、静脈血、いずれにおいても、総カルベニシリン活性に対する未変化の I-CBPC の割合はきわめて低かった。

3. 排泄

マウス

I-CBPC を CBPC として 200 mg(力価)/kg を経口投

与した場合、投与72時間までにカルベニシリン活性として11%が尿中に、約2%が糞中に排泄された。

CBPC の場合では尿中、糞中ともに72時間までで約2.5%排泄され、同力価量の I-CBPC 投与の場合にくらべて、尿中に排泄されたカルベニシリン活性は低かった。

ラット

I-CBPC を CBPC として 200 mg(力価)/kg を経口投与すると、尿中排泄率は72時間までの総計で約13%であり、その大部分は24時間までに排泄された。

CBPC を同力価量経口投与した場合は、約1%が尿中に排泄されたにすぎず、I-CBPC 投与時にくらべ著しく低かった (Table 1)。

ヒト

I-CBPC 500 mg 錠 (CBPC として 382 mg 力価) をヒト 3 例に経口投与した場合、投与後 0~6 時間の尿中における濃度は約 155~810 $\mu\text{g/ml}$ で、排泄率は約 24%であった。同力価量の CBPC を経口投与した場合は I-CBPC 投与のそれより濃度は低く約 10~480 $\mu\text{g/ml}$ で、排泄率は約 5%であった (Table 2)。

別に I-CBPC 1000 mg (500 mg 錠を 2 錠) をヒト 6 例に経口投与してしらべた結果、投与15時間までで 1050 $\mu\text{g/ml}$ に達した例もみられたが、投与後 15~20 時間では検出できなかった。0~20 時間における尿中排泄率の

Table 1 Excretion in mouse, and rat after oral administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) or carbenicillin (CBPC)

Animal	Drug	Excreta	Percentage of dose excreted			
			0~24 hr	24~48 hr	48~72 hr	Total
Mouse ^{a)}	I-CBPC	Urine	11.0	0.05	*	11.05
		Feces	1.83	0.03	*	1.86
	CBPC	Urine	2.60	0.01	*	2.41
		Feces	2.44	0.02	0.01	2.46
Rat ^{b)}	I-CBPC	Urine	11.02±0.61	1.06±0.30	0.70±0.18	12.78±0.76
	CBPC	Urine	0.63±0.20	0.31±0.11	0.16±0.07	1.05±0.32

Dose: 200 mg(act.)/kg

Assayed by *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490

* : Not detected

a) Excreta are pooled from 5 mice.

b) Average of 5 rats \pm S.E.

Table 2 Carbenicillin activity in human urine after oral administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) or carbenicillin (CBPC)

Drug and dose	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Percentage of dose
		excreted (0~6 hr)
I-CBPC (500 mg tab. 382 mg act.)	155~810	23.8 \pm 4.42
CBPC (382 mg act.)	10~480	5.3 \pm 1.91

Assayed by *B. subtilis* ATCC 6633

Average of three human volunteers (\pm S.E.)

総計は22~42%で、平均は33%であった (Table 3)。

4. 臓器内濃度

マウス

I-CBPC を CBPC として 200 mg (力価)/kg を経口投与すると肝に高濃度に分布し、その濃度は投与15, 30

分後で約 64 $\mu\text{g/g}$ であったが、1, 2時間後には約45 $\mu\text{g/g}$ 、4時間後には約 20 $\mu\text{g/g}$ 、6時間後には 13.4 $\mu\text{g/g}$ に減少した。腎では血中濃度よりわずかに高く、この場合も投与後30分で約 13 $\mu\text{g/g}$ を示し、その後1, 2時間では約 6 $\mu\text{g/g}$ を保ち、6時間後には検出できなかった。心、肺では投与後15分においてだけ検出できた (Fig.5)。

ラット

ラットの場合 I-CBPC を CBPC として 50 mg (力価)/kg を経口投与すると肝、腎に高濃度に分布した。腎は肝よりもやや高く、いずれも投与後1時間に最高値を示し、肝で約 14 $\mu\text{g/g}$ 、腎では 18 $\mu\text{g/g}$ であった。2時間値、4時間値は肝で約 9 $\mu\text{g/g}$ 、腎では約 7 $\mu\text{g/g}$ であったが、投与後7時間目ではいずれも検出できなかった。肺における濃度は血中濃度とほぼ等しく、投与後30分、1時間で約 2 $\mu\text{g/g}$ であったが、4時間では 1 $\mu\text{g/g}$ のレベルを保った。

その他、脳、心、脾、脂肪、筋肉の臓器には投与後いずれの時間においても検出できなかった (Fig.6)。

5. 代謝

1) 生体試料による I-CBPC のエステル加水分解に対する検討— *in vitro*

I-CBPC をラットの小腸および肝ホモジネートと *in vitro* でインキュベートした試料の一部をバイオオート

Table 3 Carbenicillin activity in human urine after oral administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC)

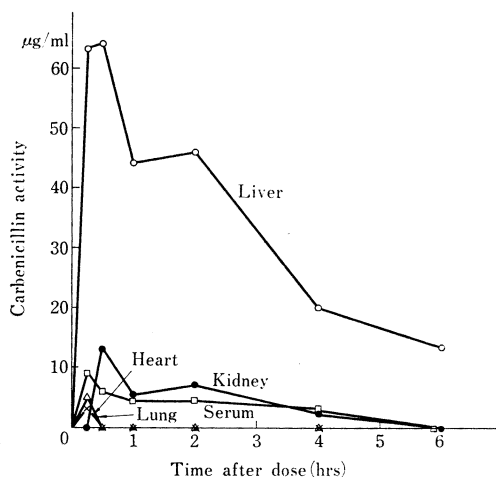
Volunteer	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)				Percentage of dose excreted				
	0~3 hr	3~6 hr	6~15 hr	15~20 hr	0~3 hr	3~6 hr	6~15 hr	15~20 hr	Total
A	1050	510	330	*	13.35	18.00	8.21	*	39.56
B	114	1030	38	*	3.58	19.06	4.82	*	27.46
C	112	930	35	*	3.09	15.14	3.34	*	21.57
D	275	640	153	*	10.72	27.09	4.01	*	41.82
E	630	335	64	*	17.45	8.52	2.85	*	28.82
F	193	730	28	*	6.82	21.30	11.56	*	39.68
Mean	395.67	695.83	108.00	*	9.17	18.19	5.81	*	33.15
\pm S. E.	\pm 139.29	\pm 96.54	\pm 44.06		\pm 2.12	\pm 2.31	\pm 1.27		\pm 3.09

Dose: 2 tablets of 500 mg (382 mg act.)/body

Assayed by *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10490

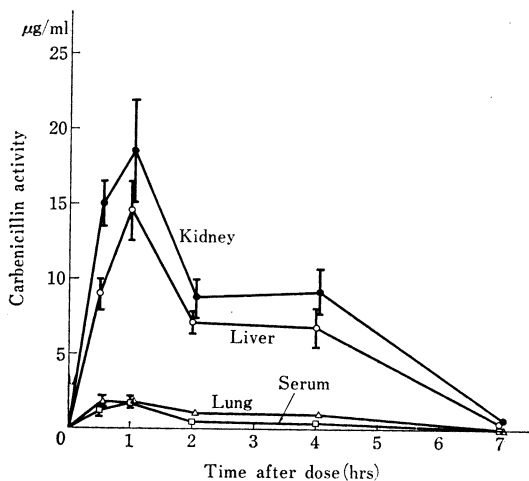
* : Not detected

Fig.5 Carbenicillin activity in mouse tissue after oral administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC)



Dose : 200 mg (act.)/kg

Fig.6 Carbenicillin activity in rat tissue or serum after oral administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC)

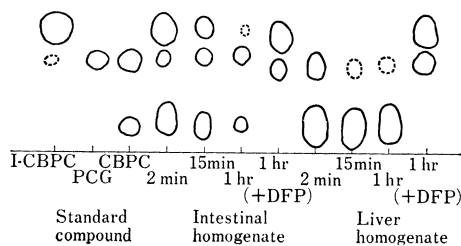


Dose : 50 mg(act.)/kg

グラフィーによって検索した結果、CBPCに加水分解されることをみとめた。このエステル加水分解はDFPの添加により阻止された (Fig.7)。

また、ラット、ウサギ、イヌ、ヒトの血清、ラット、ウサギ、イヌの小腸および肝ホモジネート、ラットの胃ホモジネートなどとI-CBPCを反応させた場合のエステル結合の加水分解速度を検討するとTable 4に示し

Fig.7 Bioautograms of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) incubated with intestinal and liver homogenates of rats



Solvent system: Methyl isobutyl ketone : Acetic acid: H₂O=6:1:1

Bioautography: Normal nutrient broth with beef extract (pH6.8)

Test organism: *B. subtilis* ATCC 6633

Table 4 Hydrolysis of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) in biological materials

Samples*	Species	Half life(min.)
Serum	20% Rat	1
	Rabbit	5
	Dog	35
	Human	20
Serum	80% Rabbit	2
	Dog	12
	Human	7
Liver homogenate	40% Rat	<0.5
	Rabbit	1
	Dog	2
Intestinal homogenate	20% Rat	15
	Rabbit	15
	Dog	50
Stomach homogenate	60% Rat	45

* : Incubated with I-CBPC (200 µg/ml, final conc.) at 37°C in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)

たようにラットの血清および小腸、肝ホモジネートが他の動物の生体試料にくらべて最も強く作用することをみとめた。またヒト血清による I-CBPC の加水分解速度はウサギとイヌの間であった。

2) 尿中代謝物

I-CBPC を CBPC として 200 mg (力価)/kg をラットおよびイヌに、I-CBPC 500 mg 錠 (CBPC として 382 mg 力価) をヒトに経口投与して採取した尿をバイオオートグラフィーにより検索した結果、いずれの場合も主として CBPC に相当する阻止円がみとめられた。I-CBPC に相当するスポットは検出できなかった (Fig. 8)。

一方、I-CBPC の加水分解により遊離された indanol の尿中排泄量は、ヒトで投与後20時間までに約83%であり、大部分はグルクロン酸抱合体、約2%は硫酸抱合体であり、抱合されない遊離の indanol は痕跡にすぎなかった (Table 5)。

Table 5 Excretion of indanol in human urine after oral administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC)^{a)}

Conjugated form	Percentage of dose excreted ^{b)}				
	0~3 hr	3~6 hr	6~15 hr	15~20 hr	Total
Glucuronide	20.72±8.54	26.51±8.94	26.56±12.05	8.01±6.78	83.41±5.58
Sulfate	0.63±0.41	0.88±0.58	0.31±0.12	*	2.17±0.85
Free	0.17±0.36	0.24±0.07	0.19±0.07	*	0.61±0.07

a) Dose: 2 tablets of 500 mg (382 mg act.)/body

b) Assayed by gas chromatography

*: Not detected

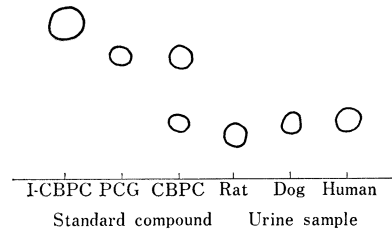
Average of 6 volunteers (±S. E.)

考 察

マウス、ラット、イヌおよびヒトに I-CBPC を経口投与すると血中濃度は投与後すみやかに上昇したのに対し、CBPC は同力価相当量経口投与してもマウス、ラット、イヌでは I-CBPC に匹敵する濃度にはいたらず、ヒトではほとんど吸収されなかった (Fig. 2)。

またラットの結紮腸管内に I-CBPC を注入した場合、腸内容物総力価の減少とともに腸管壁中総力価は1時間をピークに上昇し、血中濃度も平行して上昇したが、CBPC を投与した場合には腸管壁および血中における濃度は低く、上昇しなかった (Fig. 3)。

Fig. 8 Bioautograms of urine after oral administration of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC)



Dose: 200 mg (act.)/kg (rat, dog), 500 mg (382 mg act.)/body (human)

Solvent system: Methyl isobutyl ketone: Acetic acid: H₂O=6:1:1

Bioautography: Normal nutrient broth with beef extract (pH 6.8)

Test organism: *B. subtilis* ATCC 6633

これらの成績から I-CBPC は腸管壁透過力、体内への吸収が CBPC に比べてよりすぐれていることがあきらかとなったが、これは I-CBPC が酸に対しより安定で胃液によりほとんど分解されないこと (BUTLER ら, 1971, 1973)、I-CBPC の脂溶性がより高いこと (ENGLISH ら, 1972, BUTLER ら, 1973) などにもとづくものと考えられる。

このような I-CBPC の性質はマウス、ラット、ヒトにおける経口投与後の排泄成績にも反映しており、I-CBPC 投与による排泄率は CBPC 投与の場合にくらべて約 5~10 倍高かった (Table 1, 2)。またヒトにおける尿中濃度は 1,000 mg 投与で 335~1030 μg/ml であり、

これは 1,000 mg を経口的に投与すれば感受性の低い菌に対してもかなり有効に作用することを示唆している。

I-CBPC は生体内で CBPC として作用する点については、ENGLISH ら (1972) もすでに指摘しているが、筆者らはイヌの末梢静脈血中でカルベニシリン活性が最も高い時でも I-CBPC の形で存在するのは痕跡程度しかないことを確認した (Fig. 4)。

I-CBPC が CBPC に加水分解される部位については BUTLER ら (1973) は腸粘膜と肝を推定しているが、腸管壁ホモジネートと I-CBPC をインキュベートしてバイオオートグラフィーで検索した実験成績では、I-CBPC のスポットが時間とともに減少消失し、DFP の添加によってこれが阻止されることをみとめた (Fig. 7)。

また腸管壁ホモジネートとのインキュベートでは遊離の indanol が時間とともに増加することから小腸壁において I-CBPC が CBPC に転換することはあきらかである。さらに血液でも I-CBPC が CBPC に加水分解され indanol が遊離してくること (Table 4) から、たとえ腸管壁で作用をうけず I-CBPC のまま吸収されたとしても血中でエステラーゼの作用をうけるものと思われる。エステラーゼ活性の弱いイヌ (Table 4) を用いて門脈血中に存在する I-CBPC を測定した成績では総カルベニシリン活性の10%以下の I-CBPC がみとめられた。またイヌよりエステラーゼ活性の強いヒトの血中においては I-CBPC として存在するのはさらに低いと思われる。肝にも強力なエステラーゼが存在し (Table 4, Fig. 7)、イヌ末梢静脈血中では I-CBPC はほとんど痕跡しか証明されていない (Fig. 3)。

以上のことから I-CBPC は生体内において CBPC として存在し、作用することが明らかになった。

なお特に精製した PCG を含まない I-CBPC をヒトに与えた場合の尿についてバイオオートグラフィーを行った結果、CBPC のスポットだけを見とめ、PCG のスポットを見とめなかった (Fig. 8) ことから生体内で CBPC が PCG に転換する可能性は少ないと思われる。

HOBBS (1972), BUTLER ら (1973) および KNIRSCH ら (1973) は indanol がイヌでは hydroxy indanol, hydroxy indanone およびそれらのグルクロン抱合体となつてほぼ100%排泄され、ラットおよびヒトでは indanol のグルクロン抱合体および硫酸抱合体として100%近く尿中に排泄されると報告している。筆者らもヒト尿中に排泄される indanol の大部分はグルクロン抱合体であることを確認した (Table 5)。

さらに glucuronyl transferase 活性能を欠くといわれているネコ (ROBINSON ら, 1958) に I-CBPC を CBPC

として 100 mg/kg を 1 ヶ月間連続投与した場合、尿中には遊離の indanol が主に排泄され、最終投与 24 時間後の臓器内に indanol は検出できなかったこと (野口ら, 未発表) から glucuronyl transferase を欠く例でも生体内蓄積はないものと考えられる。

以上、I-CBPC を経口投与した場合、尿中には高濃度のカルベニシリン活性がみられ、加水分解された一方の indanol は主としてグルクロン抱合体になり尿中に完全に排泄されるものと思われる。

総 括

I-CBPC の吸収、排泄、分布および代謝について検討した。

1) I-CBPC を経口投与すると、マウス、ラット、イヌ、いずれの動物、ヒトでも 2 時間以内に最高血中濃度に達した。CBPC の経口投与では、マウス、ラット、イヌでは血中濃度はみとめられるが、I-CBPC よりも低く、ヒトではほとんど吸収されなかった。

2) ラットの結紮腸管内に I-CBPC を与えた場合では、腸壁内力価および血中濃度は上昇し、1 時間後に最高値となったが、CBPC を与えた場合では、これらの値は上昇しなかった。I-CBPC の腸管からの吸収は明らかに良好であった。

3) 臓器内濃度は肝、腎で高く、マウスの場合には特に肝、ラットでは肝、腎に比較的高濃度にみとめられ、心、脾、筋肉、脂肪などの臓器においては低かった。

4) I-CBPC を投与した動物およびヒトの尿中には、抗菌性物質として CBPC だけが確認され、PCG の存在を認めなかった。マウス、ラットでは主として尿中に排泄され、糞中での排泄は約 2% にすぎなかった。ヒトでは平均 33% が尿中に排泄されたが、いずれの場合も CBPC 経口投与の場合にくらべて排泄成績はよかった。

Indanol はほぼ完全に回収でき、大部分はグルクロン抱合体および硫酸抱合体であった。

5) I-CBPC は生体内で CBPC として存在するが、その転換する部位はおもに小腸壁であり、さらに血清、肝においても加水分解されることをみとめた。

文 献

- 1) BUTLER, K.; A.R. ENGLISH, A.K. KNIRSCH & J.J. KORST: Carbenicillin indanyl sodium (CP-15, 464-2): Metabolism and laboratory studies with an oral dosage form of carbenicillin. *Del. Med. J.* 43: 366~375, 1971
- 2) BUTLER, K.; A.R. ENGLISH, B. BRIGGS, E. GRALLA,

- R.B. STEBBINS & D.C. HOBBS: Indanyl carbenicillin: Chemistry and laboratory studies with a new semisynthetic penicillin. *J. Infect. Dis.* 127 (Suppl.): S 97~S104, 1973
- 3) ENGLISH, A.R.; J.A. RETSEMA, V.A. RAY & J.E. LYNCH: Carbenicillin indanyl sodium, an orally active derivative of carbenicillin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1: 185~191, 1972
- 4) HOBBS, D.C.: Metabolism of indanyl carbenicillin by dogs, rats and humans. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 2: 272~275, 1972
- 5) KNIRSCH, A.K.; D.C. HOBBS & J.J. KORST: Pharmacokinetics, tolerance, and safety of indanyl carbenicillin in man. *J. Infect. Dis.* 127 (Suppl.): S105~S110, 1973
- 6) ROBINSON, D. & R.T. WILLIAMS: Do cats form glucuronide? *Biochem. J.* 68: 23~24, 1958

ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM AND EXCRETION OF CARBENICILLIN INDANYL SODIUM

YOSHIHISA KIMURA, HIROSHI KANO, YASUHIRO NOGUCHI,
TEIJI TANAKA and KINO SHIMOOKA

Nagoya Pharmacology Laboratory and Chemical Laboratory,
Pfizer Taito Co., Ltd.

Carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) was readily absorbed after oral administration to the mouse, rat, dog and man, and its antibacterial activity in the serum reached a maximum within 2 hours. On the other hand, carbenicillin (CBPC) when administered orally to those species did not reach comparable blood concentration to I-CBPC. I-CBPC administered to the rat ligated intestine was also better absorbed than CBPC administered same way. It was noticed that I-CBPC was rapidly hydrolyzed by tissue esterases to yield CBPC and indanol, thereby antibacterial activity found *in vivo* was virtually due to CBPC. Carbenicillin activity in the urine was also higher by oral administration of I-CBPC than by that of CBPC in all species examined.

Tissue concentration following oral administration of I-CBPC to the mouse and rat showed higher levels in liver and kidney than in other organs and serum.

Bioautography indicated that CBPC was the only antibacterial substance present in the urine of the rat, dog and man after administration of I-CBPC with the free of benzyl penicillin. The indanyl moiety resulting from the hydrolysis of I-CBPC, was also excreted in the human urine in good yield mostly as glucuronide and some as sulfate conjugates.