

新合成 Penicillin T-1220 に関する薬理学的研究

第2報：生体内動態

荒谷春恵・山中康光・河野静子・建石英樹

広島大学医学部薬理学教室

新しい合成 Penicillin T-1220 の薬理学的研究として、第1報¹⁾では一般薬理作用を、側鎖物質とともに検討し、その作用ならびに最少作用量を、Ampicillin および Carbenicillin と比較した。

つづいて、第2報ではラットを用い、体内消長を、half life、臓器内移行、尿中排泄、胎仔内移行および体内消長と深い関連性のある血清蛋白との結合、分配係数について検討した。その得られた成績を述べる。

I. 実験材料および実験方法

1. 供試薬物

T-1220 (富山化学) を用い、使用する際には、蒸留水、生塩水、または、M/15 磷酸緩衝液 (pH 6.5) で溶解して用いた。

2. 体内分布および尿中排泄について

体重200g 前後 (週齢6~7) の健康雄性 Wistar 系ラットの1群5匹について、T-1220 20mg/kg (原液4mg/ml) を尾静脈内あるいは大腿筋肉内に注射し、10分、15分、20分、30分、60分および120分後に頸動脈を切断して採血後、肝臓、腎臓、脾臓、肺臓、心臓、筋肉 (注射部位および他側大腿筋肉)、脳および十二指腸を摘出し、できるだけ速やかに秤量 (1mgまで) 後、M/15 磷酸緩衝液を加えてホモジネート (5~20%) を作り、3,000rpm で15分間遠心分離して得られた上清ならびに血清について、生物学的活性を測定した。

尿中排泄に関する実験は、ラットに予めほぼ15ml の常水を経口ゾンデを用いて、強制的に投与し、20~30分後に、T-1220 20mg/kg (4mg/ml) を尾静脈内あるいは大腿筋肉内に注射し、0~1時間、1~2時間、2~4時間、4~8時間および8~24時間の蓄尿を採取し、M/15 磷酸緩衝液で20~200倍に稀釈したものについて、生物学的活性を測定した。

3. 胎仔内移行

自家妊娠ラット (第18日) 1群5匹に、T-1220 20mg/kg を大腿筋肉内に注射後、30分、60分および120分に、頸動脈を切断して採血し、速やかに開腹して、胎盤、胎仔、臍帯血 (予め滅菌した paper disc に採取し、直ちに密封し、できるだけ乾燥しないよう留意した)、胎仔血

清 (同腹の胎仔の頸動脈を切断し、にじみ出る血清を集めた) および羊水を分離、採取の後、胎仔臓器は同腹のものを一括し、それぞれ秤量し、M/15 磷酸緩衝液でホモジネート (20%) とし、遠心分離して得られた上清および血清について、生物学的活性を測定した。

4. 結合率についての実験

ヒト血漿 (7.0g/dl)、ウシ血清 (7.2g/dl) およびウシアルブミン (3g/dl) と T-1220 との結合率を、Seamless cellulose tubing (size 8/32) (直径0.6cm, 1/2 幅1.0cm) (Visking Company) を用いた平衡透析法 (4°C) と Amicon membrane cones CF-25 (アミコン・ファー・イースト・リミテッド) を用いた遠心限外濾過法 (1,600g, 60分, 4°C) で行ない、濾液および残液とその稀釈液の生物学的活性から、結合率および再生率をもとめた。

濾紙電気泳動法により、東洋濾紙 No. 51A の陰極より2cm のところに、T-1220 の50 μ g、ウシ血清と T-1220 の50 μ g およびウシアルブミンと T-1220 の50 μ g を塗布し、200V-5.0mA/cm で2時間泳動後、室温において乾燥し、100°Cで5分間蛋白固定したものを、1cm ずつに切断し、M/15 磷酸緩衝液1ml の中に浸漬し、4°Cの氷室の中で2時間抽出を行なったものについて、生物学的活性を測定した。

5. 分配係数についての実験

共栓付遠心管に、T-1220 の20 μ g/ml 磷酸緩衝液 (pH 6.5, 7.0, 7.5) 2ml を入れ、予め M/15 磷酸緩衝液を飽和したクロロホルム、またはラットより得られた lipid (ラットより分離摘出した脂肪組織に、等重量の生塩水を加えてホモジネートを作り、4°Cで5,000rpm 15分遠心分離して、線維組織などを除き、この操作を、水層が無色となるまで、約3~4回繰返し、上層の lipid を密閉容器内に入れ、氷室に保存し、使用の際には、室温に2~3時間放置し、液状となったものを用いた。1度液状にした lipid は、再び氷室に保存しなかった) 1ml を入れ、振盪機で60回/分-1時間、室温で振盪したものを3,000rpm で15分間 (4°C) 遠心分離を行ない、水層の生物学的活性を、同一操作で行なった M/15

Table 1 Half life of T-1220 in the rat (20 mg/kg)

route	fraction	initial level ($\mu\text{g/ml}$)	Kel ($\mu\text{g/min}$)	half life (min)	r
i. v.	serum	56.69	0.1211	5.72	0.9738
i. m.	serum	76.79	0.0919	7.54	0.8811
i. m.	muscle	5,915.55	0.1685	4.11	0.9584

Table 2 Distribution of T-1220 in the rat (20mg/kg)

route		10	15	20	30	60	120min.
i. v.	Serum $\mu\text{g/ml}$	17.43	11.84	3.55	1.70	1.20	
	Liver $\mu\text{g/g}$	21.45	17.76	4.11	10.75	4.70	
	Kidney $\mu\text{g/g}$	40.35	18.38	12.01	12.43	8.95	
	Lung $\mu\text{g/g}$	6.68	1.03	1.76	0.74	0.43	
	Muscle (n) $\mu\text{g/g}$	1.50	1.60	0.80	0.65	0.06	
	Duo-d $\mu\text{g/g}$	8.65	16.75	107.10	29.40	3.98	
i. m.	Serum $\mu\text{g/ml}$	16.70	24.10	5.66	4.07	3.66	2.25
	Liver $\mu\text{g/g}$	16.86	25.68	14.22	7.16	5.83	1.32
	Kidney $\mu\text{g/g}$	44.56	25.43	20.86	27.02	11.0	3.27
	Spleen $\mu\text{g/g}$	5.28	10.42	0.83	0.61	0.66	
	Lung $\mu\text{g/g}$	2.76	5.56	2.39	1.17	0.63	0.43
	Heart $\mu\text{g/g}$	2.19	2.45	1.82	0.58	0.29	
	Muscle (n) $\mu\text{g/g}$	5.55	3.65	0.86	1.54	0.96	
	Muscle (i) $\mu\text{g/g}$	916.20	392.08	385.43	28.70	19.91	
	Brain $\mu\text{g/g}$	0.61	0.83	0.15	0.15	0.08	
Duo-d $\mu\text{g/g}$	36.35	127.04	75.89	48.89	55.05		

n: normal i: injected

Fig. 1 Distribution of T-1220 in the rat (20mg/kg)

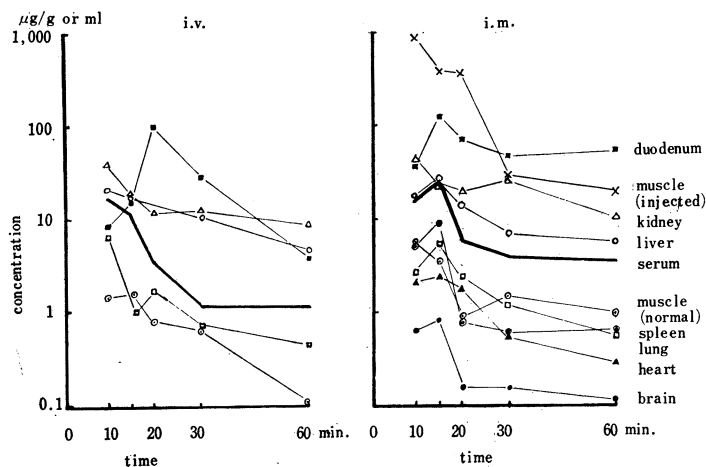


Table 3 Excretion of T-1220 in the urine of the rat (%)

route	0-1	1-2	2-4
i. v.	15.560	3.174	3.120
i. m.	13.34	4.07	3.92
route	4-8	8-24h	Total
i. v.	0.053	0.110	22.017
i. m.	0.095	0	21.425

Table 4 Migration of T-1220 to fetuses of rat (20mg/kg i. m.)

			30	60	120min.
Cord blood		$\mu\text{g/ml}$	2.163	1.597	1.714
Fetus	serum	$\mu\text{g/ml}$	0.454	0.320	0.458
	kidney	$\mu\text{g/g}$	trace	0.490	trace
	lung	$\mu\text{g/g}$	0.410	0.229	0.347
	liver	$\mu\text{g/g}$	0.864	0.342	0.531
Amniotic fluid		$\mu\text{g/ml}$	0.056	0.085	0.025
Placenta		$\mu\text{g/g}$	0.426	0.260	0.673
Maternal serum		$\mu\text{g/ml}$	6.30	4.92	2.25
C. b. / M. s.		%	34.33	32.46	76.18
F. s. / M. s.		%	7.21	6.50	20.36

C. b.: Cord blood

F. s.: Fetal serum

M. s.: Maternal serum

Table 5 Binding of T-1220 to serum protein

protein	conc. (g/dl)	ultrafiltration		equilibrated dialysis	
		binding (%)	recovery (%)	binding (%)	recovery (%)
human plasma	7.0	31.70 \pm 4.628	27.96 \pm 2.273		
bovine serum	7.2	29.86 \pm 1.515	11.92 \pm 1.362	29.45 \pm 1.756	15.64 \pm 0.978
bovine albumin	3.0	33.58 \pm 0.626	10.92 \pm 0.919	35.39 \pm 1.556	14.67 \pm 1.199

磷酸緩衝液のみのものと比較し、分配係数を算出した。

6. 生物学的活性測定法

検定菌 *B. subtilis* PCI 219 株 (胞子浮遊液) を用いた。薄層カップ法および薄層 disc 法で、上述の試料について行なった。

II. 実験成績

1. 体内分布

1) half life

体重 200g 前後の雄性 Wistar 系ラット 1 群 5~7 匹に、T-1220 20mg/kg (原液 4 mg/ml) を尾静脈または大腿筋肉内注射後、10分、15分、20分、30分、60分および 120 分の血清中濃度および注射部筋肉内濃度での half life は、Table 1 にしめすとおりである。

half life は血清内濃度で、5.72分 (i.v.) および 7.54分 (i.m.) また、筋肉内濃度で 4.11 分であり、消去係数は 0.1211 $\mu\text{g}/\text{min}$ (i.v.-血清内濃度)、0.0919 $\mu\text{g}/\text{min}$ (i.m.-血清内濃度) および 0.1685 $\mu\text{g}/\text{min}$ (i.m.-筋肉内濃度) である。したがって、T-1220 は比較的速やかに血中から消失し、筋注でもよく吸収されることがわかった。

2) 臓器内分布

上述のラットにおける臓器内分布は、Table 2 および Fig. 1 にしめすとおりである。

静脈内注射群では、十二指腸を除き、時間の経過とともに、臓器内濃度は低下する。10分では、腎臓>肝臓>血清>十二指腸>肺臓>筋肉の順であり、腎臓および肝臓内濃度は血清内濃度に比べ、いずれの時間でも高値であり、十二指腸内濃度も20分以後では高い値をしめした。

筋肉内注射群では、腎臓を除き、15分を peak として、時間の経過にしたがい漸減した。15分では、十二指腸>肝臓 \approx 腎臓 \approx 血清>脾臓>肺臓>筋肉>心臓>脳の順であり、いっぽう、十二指腸内濃度は60分後も 55.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ と高値であった。

したがって、T-1220 は臓器内に比較的速く移行し、なかでも、肝臓内には血清内濃度を上まわる量が移行し、そのうち、十二指腸に排泄されるものが多いことがわかった。なお、腸管内での動態については、放射活性をもつ T-1220 を入手したので、詳細に検討した結

Table 6 Electrophorogram of T-1220

segment (1cm)		protein								
		1	2	3	4	5*	6	7	8	9
control**	%	0	0.9	5.5	14.0	27.1	28.1	16.6	7.4	0.4
bovine serum	%	—	3.9	22.5	23.5	23.8	21.3	5.2	—	—
	%***		+ 3.0	+17.0	+ 9.5	— 3.3	— 6.8	—11.4	— 7.4	— 0.4
bovine albumin	%	—	—	1.5	11.3	51.8	19.8	11.6	4.0	—
	%***		— 0.9	— 4.0	— 2.7	+24.7	— 8.3	— 5.0	— 3.4	— 0.4

*BPB **T-1220 50 μ g
segment 1: origin (—)

***deference of control
segment 9: front (+)

Table 7 Partition coefficients of T-1220

pH	CHCl ₃ /Buffer	Lipid (rat)/Buffer
6.5	0.5139	0.5139
7.0	0.8669	0.2313
7.5	0.6039	0.5910

果は、第3報で述べる。

2. 尿中排泄

体重200g前後の健常雄性 Wistar系ラット1群5匹として、T-1220の20mg/kgを尾静脈または大腿筋肉内注射後、0～1時間、1～2時間、2～4時間、4～8時間および8～24時間の尿中への排泄率は、Table 3に示すとおりである。

なお、投与後短時間で採尿を必要としたので、経口的に常水を負荷したので、濃度の表示はしなかった。

24時間での総排泄率は、22.017% (i.v.) および21.425% (i.m.) であり、T-1220投与路による差はみられず、また、その過半量は0～1時間に排泄され、4時間以後の排泄は僅少であった。したがって、残余のものについては、ラットでの胆汁排泄が0～6時間で54.3%であり、また、上述の腸管内濃度が、きわめて高く、しかも腸管からの吸収がきわめて少ないことなどから、ラットでは尿中排泄以外の排泄が、その主役と考えられるが、ヒトでは、尿中排泄が主役であると報告されている²⁾。

3. 胎仔内移行

自家妊娠(第19日) Wistar系ラット1群5匹にT-1220の20mg/kgを大腿筋肉内注射後、30分、60分および120分での母体血清、胎盤、臍帯血、胎仔血清、胎仔臓器および羊水中濃度は、Table 4に示すとおりである。

臍帯血中濃度は1.597～2.163 μ g/mlであり、母体血清内濃度との比は、32.46～76.16%であり、胎仔血清内濃度は0.32～0.458 μ g/mlで、母体血清内濃度との比は

6.5～20.36%である。

いっぽう、胎仔臓器内濃度は、肝臓>肺臓>腎臓の順であり、羊水中濃度はきわめて少なかった。

したがって、T-1220はラット胎仔内へ移行するが、それは母体血清内濃度よりもあきらかに低い。その際の胎仔肝臓内には、成熟動物でみられたように、他の臓器に比べ、肝臓で高い値をしめた。

4. 体内分布に関与する1, 2因子について

T-1220の体内分布にもっとも深い関連をもつと考えられる血清蛋白との結合状態および分配係数について検討した。

1) 血清蛋白との結合

遠心限外濾過法(4 $^{\circ}$ C)および平衡透析法(4 $^{\circ}$ C)で行なった、ヒト血漿、ウシ血清およびウシアルブミンとの結合状態はTable 5に示すとおりである。

結合率はヒト血漿で31.7%、ウシ血清ではほぼ29.0%およびウシアルブミンではほぼ34.0%であった。したがって、動物の種による差、あるいは方法による相違はほとんどないものと考えられる。なお、蛋白部分を磷酸緩衝液で10倍に稀釈したときの、生物学的活性から求めた蛋白結合の解離によるとみられる再生率は、ヒト血漿で27.96%、ウシ血清ではほぼ14.0%およびウシアルブミンではほぼ13.0%であり、再生率はヒト血漿であきらかであった。

濾紙電気泳動法による血清蛋白との結合をその泳動図からみたものは、Table 6に示すとおりである。

T-1220単独例では、BPBよりもやや陽極側にpeakをもっているが、T-1220とウシ血清混和例では、BPBよりも陰極側にpeakがあり、T-1220とウシアルブミン混和例ではBPBと同一のところに、きわめてシャープなpeakがみられた。

したがって、T-1220は血中で蛋白分画と結合し、その度は他のpenicillin系抗生物質よりも少ないが、主と

して結合する分画はアルブミンと推測される。

2) 分配係数

T-1220 の lipid (ラット)/磷酸緩衝液 (pH 6.5~7.5) およびクロロホルム/磷酸緩衝液 (pH 6.5~7.5) に対する分配係数は、Table 7 にしめすとおりである。

分配係数はいずれも 1.0 以下であり、lipid/磷酸緩衝液では、クロロホルム/磷酸緩衝液のそれよりやや低値であった。

ま と め

Gram 陰性菌による難治性感染症に対する抗生物質の一つである T-1220 のラット体内分布を、half life, 臓器内移行, 尿中排泄, 胎仔内移行ならびに血清蛋白結合, 分配係数について検討した。

ラットに T-1220 の 20mg/kg を静脈内注射および大腿筋肉内注射した際の、血清内濃度での half life は 5.72分 (i.v.) および 7.54分 (i.m.) であり、筋肉内濃度での half life は 4.11分であった。したがって、T-1220 は筋肉内注射により速やかに吸収され、血中から速やかに消失する。

その際の臓器内分布は、腎臓および肝臓では血清内濃度より高く、脾臓, 肺臓, 筋肉, 心臓および脳では低値であり、とくに、脳への移行は少ない。腸管内濃度は、15分を peak として十二指腸内にみられ、60分後にも高濃度であった。

ラットに T-1220 の 20mg/kg を静脈内注射および大腿筋肉内注射した際の、尿中排泄率は、24時間ではほぼ 22% であり、その過半量は 1 時間で排泄され、残余のものは、ラットでは胆汁内排泄が 54% であるとの報告ならびに 6 時間での腸管内濃度よりみたら量は、ほぼ 15% である

ことなどから、尿中以外での排泄が主役と考えられるが、ヒトでの尿中排泄が 50~90% で、胆汁排泄が少ないと述べられている²⁾。

ラット胎仔内移行率 (母体血清内濃度との比) は、臍帯血濃度では 32.46~76.16% であり、胎仔血清濃度では 6.5~20.36% であり、胎仔臓器では肝臓が腎臓などより高値であった。なお羊水内濃度は低かった。

血清蛋白との結合率はヒト血漿では 31.7% であり、ウシ血清およびウシアルブミンではほぼ 30% であった。濾紙電気泳動図から、ウシアルブミン分画での生物学的活性が高く、アルブミンとの結合が多いことがうかがわれた。

ラット lipid に対する分配係数は 0.2313~0.5910 であり、脂溶性が少ない事がうかがわれた。

以上の事実から、T-1220 は筋肉により速やかに吸収され、血中より速やかに消失し、臓器内に移行し、とくに肝臓内に高濃度に移行し、十二指腸内には高濃度の分布がみられた。尿中には 22% (24時間) が排泄され、ラット胎仔内には臍帯血で 32.46~76.19% が移行し胎仔肝臓内濃度は他の臓器内濃度より高値であったが、羊水内濃度は低い。

血清蛋白との結合はほぼ 30% である。

文 献

- 1) 山中康光, 河野静子, 建石英樹, 荒谷春恵: 新合成 penicillin T-1220 に関する薬理学的研究, 第 1 報, 一般薬理作用. *Chemotherapy* 25(5): 769~782, 1977
- 2) 第 23 回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム I, T-1220 抄録集, 1976

PHARMACOLOGICAL STUDIES ON T-1220,
A NEW SEMISYNTHETIC PENICILLIN
SECOND REPORT: DISTRIBUTION, FATE AND EXCRETION

HARUE ARATANI, YASUMITSU YAMANAKA,
SHIZUKO KONO and HIDEKI TATEISHI

Department of Pharmacology, Hiroshima University School of Medicine,
Hiroshima, Japan

Distribution, fate and excretion of T-1220, which is effective against severe infections by gram-negative bacilli, were investigated.

Rats were intravenously or intramuscularly injected T-1220 in a dose of 20 mg/kg. Biological half lives of T-1220 in rat serum were 5.72 min and 7.54 min, respectively. Biological half life of T-1220 in the injected site of muscle was 4.11 min. The levels in kidney and liver were higher than the serum level. The high level in duodenum was also observed. The total amount excreted in 24 hr urine of the rat was 22% of the injected amount. The cord blood levels were 32.46 to 76.19% of maternal serum levels in the pregnant rats. The fetal liver level was higher than other organ levels. The amniotic level was low. Approximately 30% of T-1220 was bound to serum proteins.