

## クラブラン酸の HPLC 分析ならびに BRL25000 (Clavulanic acid-Amoxicillin) のヒト尿排泄に関する薬物速度論的考察

宇野 豊三・萩 中 淳・中川 照眞

京都大学薬学部薬品分析学教室

ヒト尿中のクラブラン酸測定を、UV 検出器付イオンペア高速液体クロマトグラフ法を用いて行なった。固定相としては ODS を、移動相としては tetrabutylammonium bromide を含むリン酸緩衝液/メタノールを用いた。

クラブラン酸 (125 mg) および Amoxicillin (250 mg) をそれぞれ単独に、あるいは合剤である BRL25000 として同時に健康男子に投与した後、未変化のクラブラン酸、Amoxicillin および後者の代謝物である Penicilloic acid および Penamaldic acid の尿中排泄量および排泄率を求めた。

モーメント解析の結果、BRL25000 投与では投与されたクラブラン酸の 27~45% が尿中に排泄され、平均体内滞留時間 (MRT) は 1.6~2.1 時間であった。一方 Amoxicillin のそれは 56~73% (代謝物を含む)、2.0~2.6 時間 (未変化の Amoxicillin について) であった。すなわち、クラブラン酸は吸収が悪く (または、代謝物や尿以外への排泄が非常に多い)、Amoxicillin より尿中排泄が速いようである。

さらに、同一被験者にクラブラン酸および Amoxicillin を単独投与して検討してみると、BRL 25000 投与時と比べてクラブラン酸と Amoxicillin 間の薬物速度論的相互作用は認められなかったが、Penamaldic acid の排泄率は単独投与時に比べて有意 (危険率 5%) に減少していた。

クラブラン酸 (以下 CVA) の分析は、従来、微生物学的方法のみによって行なわれており、他の  $\beta$ -lactam 抗生物質に用いられているような分光学的方法や化学的方法は、開発されていない。今回、著者らは、まず、高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC) を用いる分析法を開発した。次に、その方法を用いて、CVA と Amoxicillin (以下 AMPC) をそれぞれ単独にあるいは合剤 (BRL25000) として健康男子に投与した後の未変化の CVA、AMPC および後者の代謝物 Penicilloic acid (以下 AMPA)、Penamaldic acid (以下 AMPM) の尿中排泄挙動に関して、薬物速度論的考察を加えた。

### I. 材料と方法

#### 1. 薬物および試薬

クラブラン酸、アモキシシリンおよび BRL25000 は、ビーチャム薬品株式会社から提供されたものを使用した。その他の試薬は、市販のものをそのまま使用した。HPLC の展開溶媒として用いた水およびメタノールは、ガラス製容器を用いて蒸留後、0.45  $\mu$ m のマイクロフィルターを用いてろ過したものを使用した。

#### 2. CVA の UV 吸収に対する溶媒効果

既知量の CVA を種々の溶媒 ((i)~(iv)) に溶解し (最終濃度  $5 \times 10^{-4}$  M)、200~260 nm の UV スペクトルを測定した。[(i) 0.5 mM-TBAB およびリン酸緩

衝液を含む MeOH/H<sub>2</sub>O=1/4 (v/v),  $\mu=0.02\sim0.03$ , pH 5.02~9.01, (ii) 0.5 mM-TBAB, 16 mM-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> および 4 mM-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> を含む MeOH/H<sub>2</sub>O=0~7/3 (v/v), pH 6.38~8.07, (iii) 0.5 mM-TBAB およびリン酸緩衝液を含む MeOH/H<sub>2</sub>O=1/4 (v/v),  $\mu=0.03\sim0.337$ , pH 6.28~6.74, (iv) 0~10 mM-TBAB, 16 mM-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> および 4 mM-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> を含む MeOH/H<sub>2</sub>O=1/4 (v/v), pH 6.72~6.77]。溶媒組成は、上記のように、(i) pH, (ii) メタノール/水, (iii) イオン強度, (iv) TBAB 濃度に関して変化させた。

### 3. CVA の HPLC 分析

CVA の UV 検出波長に関して検討するため、以下の HPLC 条件 (I) において、検出波長を 210~222 nm の間で変更し、一定量 (6  $\mu$ g) の CVA をくり返し注入した。

#### HPLC 条件 (I)

装置: Twinkle (Jasco Co.)

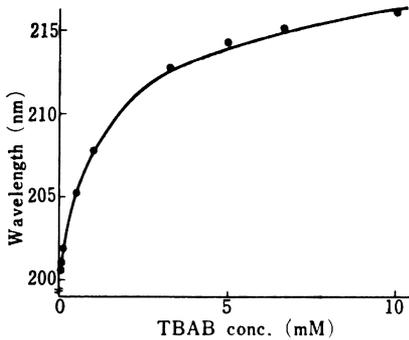
固定相: Lichrosorb RP-18 (25 cm  $\times$  4.6 mm i.d.)

移動相: 5 mM-TBAB, 0.6 mM-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> および 0.6 mM-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> を含む H<sub>2</sub>O/MeOH=5/1 (v/v), pH 7.25

流速: 1.0 ml/min (40 kg/cm<sup>2</sup>)

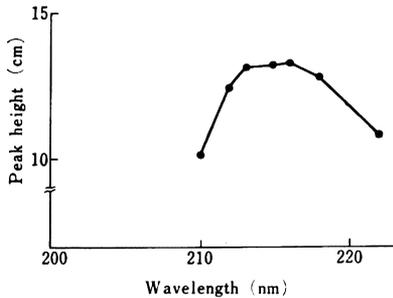
尿中の CVA の定量は、以下の HPLC 条件 (II) で

Fig. 1 Dependence of  $\lambda_{\max}$  of clavulanic acid solution on TBAB concentration.



The concentration of clavulanic acid was  $5 \times 10^{-4} \text{M}$  in methanol/water=1/4 (v/v) containing 0 to 10 mM TBAB+16 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  +4 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Fig. 2 Chromatographic peak height for a constant amount of clavulanic acid at various detection wave lengths.



Injection volume : 10  $\mu\text{l}$  of 600  $\mu\text{g}/\text{ml}$  aqueous solution, Sensitivity : 0.16 aufs, Mobile phase :  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}=5/1$  (v/v) containing 5 mM TBAB+0.4 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +0.6 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (final pH 7.25)

行なった。

#### HPLC 条件 (II)

装置 : LC-3 A (Shimadzu Co.)

固定相 : Lichrosorb RP-18 (25 cm  $\times$  4.6 mm i. d.)

移動相 : (10 mM-TBAB+0.6 mM- $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ +0.4 mM- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )/MeOH=10/1 (v/v), pH 7.02

流速 : 1.5 ml/min (60 kg/cm<sup>2</sup>)

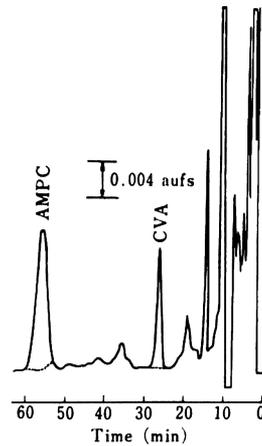
検出 : UV-220 nm

カラム温度 : 室温

#### 4. BRL25000 の投与および尿試料の採取

CVA (125 mg) および AMPC (250 mg) をそれぞれ単独にあるいは、BRL25000 として同時に 3 人の健康男

Fig. 3 Chromatogram of human urine excreted at 3 hours after oral administration of BRL25000



CVA : clavulanic acid, AMPC : amoxicillin, Injection volume : 20  $\mu\text{l}$

子に投与した後、Table 1 に記した時間ごとに、尿を採取した。尿量を測定後、マイクロフィルターでろ過し、その 5~20  $\mu\text{l}$  を用いて、未変化の CVA, AMPC および AMPC の代謝物である AMPA および AMPM の排泄量を測定した。CVA および AMPC の定量は、それぞれの標品を用いて作成した検量線を用いて HPLC 分析で行なった。AMPA および AMPM の定量は、既報の方法<sup>1)</sup>によって行なった。得られた尿中排泄速度-時間曲線を次に述べるモーメント法により解析した。

#### 5. モーメント解析法<sup>2)</sup>

ある薬物 (代謝物も含めて) の無限時間までの総排泄量 ( $X_{\infty}$ ) および平均体内滞留時間 (MRT) は、それぞれ 0 次および 1 次モーメントを用いて次式で定義される。

$$X_{\infty} = \int_0^{\infty} (dX_u/dt) dt$$

$$\text{MRT} = \int_0^{\infty} t(dX_u/dt) dt / X_{\infty}$$

ここで  $dX_u/dt$  は尿中排泄速度-時間曲線を表す関数である。 $X_{\infty}$  および MRT は、 $dX_u/dt$  の実験値を用いて数値積分することによって求めた。詳細は、既法の方法<sup>2)</sup>を参照されたい。

## II. 成 績

### 1. CVA の UV 吸収に対する溶媒効果

CVA は、HPLC 検出に適した UV 吸収をもたない<sup>3)</sup>。そこで、著者らは、CVA の HPLC 分析に適した UV 検出波長および分離条件を検索するため、まず、そ

Fig. 4 Time courses of urinary excretion rates for clavulanic acid, amoxicillin, and metabolites of amoxicillin following single oral dose of BRL25000 to a human subject (J.H.)

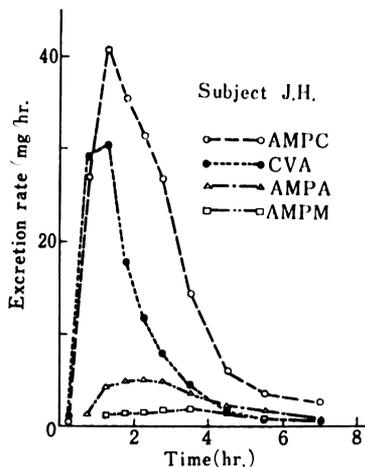
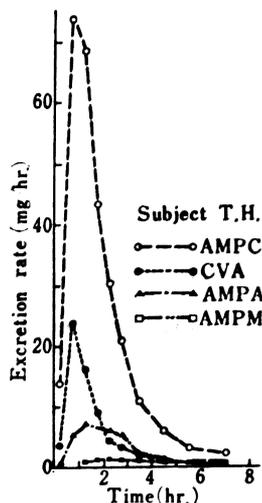


Fig. 5 Time courses of urinary excretion rates for clavulanic acid, amoxicillin, and metabolites of amoxicillin following single oral dose of BRL25000 to a human subject (T.H.)



の  $\lambda_{max}$  に対する溶媒の影響を HPLC の展開溶媒系 [(i)~(iv)] において検討した。その結果, pH, 水とメタノールの混合割合およびイオン強度は, CVA 溶液の  $\lambda_{max}$  にほとんど影響を与えなかったが, TBAB 濃度に関しては, その増加に伴って,  $\lambda_{max}$  は急激に深色移動 (bathochromic shift) を起こし (Fig. 1), TBAB 無添加では 201 nm であるのに対して, 10mM 添加時

には 216 nm に達した。

2. CVA の HPLC 分析

HPLC 条件 (I) のもとで, 一定量の CVA をくり返し注入し, 検出波長を 210~222 nm の間で変更した結果, Fig. 2 に示すように, 213~217 nm の間で最大の

Table 1. Urinary excretion(mg) of clavulanic acid following administration of BRL25000(375 mg) or an individual dose of 125 mg clavulanic acid(given in parentheses)

| Time (hr.) | J.H.         | T.H.         | H.M.         | Mean         | S.D.        |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| 0 ~0.5     | 0.49( 2.40)  | 1.86( 2.07)  | 1.56( 1.26)  | 1.30( 1.91)  | 0.59( 0.48) |
| 0.5~1.0    | 14.55(16.50) | 11.94(11.35) | 8.64( 8.79)  | 11.71(12.21) | 2.42( 3.21) |
| 1.0~1.5    | 15.30(12.55) | 8.18( 9.53)  | 11.43( 8.19) | 11.64(10.09) | 2.91( 1.82) |
| 1.5~2.0    | 8.92( 8.80)  | 4.53( 6.26)  | 8.54( 4.49)  | 7.33( 6.52)  | 1.99( 1.77) |
| 2.0~2.5    | 5.86( 5.86)  | 2.16( 4.03)  | 5.36( 3.70)  | 4.46( 4.53)  | 1.64( 0.95) |
| 2.5~3.0    | 3.91( 3.99)  | 1.70( 2.41)  | 4.28( 2.56)  | 3.30( 2.99)  | 1.14( 0.71) |
| 3.0~4.0    | 4.38( 4.19)  | 1.98( 2.48)  | 4.99( 3.37)  | 3.78( 3.35)  | 1.30( 0.70) |
| 4.0~5.0    | 1.55( 2.13)  | 0.93( 1.35)  | 2.61( 1.36)  | 1.70( 1.61)  | 0.69( 0.37) |
| 5.0~6.0    | 0.66( 0.80)  | 0.49( 0.48)  | 1.10( 0.65)  | 0.75( 0.64)  | 0.26( 0.13) |
| 6.0~8.0    | n.d.( 1.08)  | n.d.( 0.73)  | n.d.( n.d.)  | - ( 0.60)    | - ( 0.45)   |
| Total      | 55.62(58.30) | 33.77(40.69) | 48.51(34.37) | 45.97(44.45) | 9.10(10.13) |

Table 2. Urinary excretion(mg) of amoxicillin following administration of BRL25000(375 mg) or an individual dose of 250 mg amoxicillin(given in parentheses)

| Time (hr.) | J.H.           | T.H.           | H.M.           | Mean           | S.D.         |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------|
| 0 ~0.5     | 0.16( 0.14)    | 6.90( 3.90)    | 2.84( 3.08)    | 3.30( 2.37)    | 2.77( 1.61)  |
| 0.5~1.0    | 13.46( 11.90)  | 37.30( 26.69)  | 18.59( 18.94)  | 23.12( 19.18)  | 10.25( 6.04) |
| 1.0~1.5    | 20.35( 39.15)  | 34.31( 28.94)  | 26.59( 27.32)  | 27.08( 31.80)  | 5.71( 5.24)  |
| 1.5~2.0    | 17.86( 31.13)  | 22.08( 21.69)  | 17.41( 17.83)  | 19.12( 23.55)  | 2.10( 5.59)  |
| 2.0~2.5    | 15.74( 18.29)  | 15.18( 15.19)  | 13.24( 13.38)  | 14.72( 15.62)  | 1.07( 2.03)  |
| 2.5~3.0    | 13.37( 13.51)  | 10.45( 13.59)  | 13.18( 12.06)  | 12.33( 13.05)  | 1.63( 0.70)  |
| 3.0~4.0    | 14.06( 15.89)  | 10.74( 22.27)  | 18.96( 15.65)  | 14.59( 17.94)  | 3.38( 3.07)  |
| 4.0~5.0    | 5.84( 4.86)    | 5.89( 10.77)   | 8.80( 8.14)    | 6.84( 7.92)    | 1.38( 2.42)  |
| 5.0~6.0    | 3.41( 2.02)    | 3.95( 6.09)    | 4.64( 3.23)    | 4.00( 3.78)    | 0.50( 1.71)  |
| 6.0~8.0    | 4.91( 1.52)    | 4.14( 5.26)    | 4.09( 3.31)    | 4.38( 3.36)    | 0.38( 1.53)  |
| Total      | 109.16(138.41) | 150.94(154.39) | 128.34(122.94) | 129.48(138.58) | 17.08(12.84) |

Table 3. Urinary excretion(mg) of penicilloic acid following administration of BRL25000(375 mg) or an individual dose of 250 mg amoxicillin(given in parentheses)

| Time (hr.) | J.H.         | T.H.         | H.M.         | Mean         | S.D.       |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------|
| 0 ~0.5     | n.d.( n.d.)  | 0.20( n.d.)  | n.d.( n.d.)  | 0.07( - )    | 0.09( - )  |
| 0.5~1.0    | 0.59( 0.64)  | 2.59( 1.74)  | 1.26( 2.74)  | 1.48( 1.71)  | 0.83(0.86) |
| 1.0~1.5    | 2.08( 3.33)  | 3.56( 3.15)  | 3.85( 3.71)  | 3.16( 3.40)  | 0.78(0.23) |
| 1.5~2.0    | 2.45( 4.12)  | 4.42( 3.24)  | 3.64( 4.07)  | 3.50( 3.81)  | 0.81(0.40) |
| 2.0~2.5    | 2.49( 3.25)  | 2.96( 2.49)  | 3.17( 3.84)  | 2.87( 3.19)  | 0.28(0.55) |
| 2.5~3.0    | 2.46( 2.88)  | 2.62( 1.86)  | 3.38( 3.12)  | 2.82( 2.62)  | 0.40(0.55) |
| 3.0~4.0    | 3.57( 4.80)  | 2.22( 3.32)  | 6.75( 5.71)  | 4.18( 4.61)  | 1.90(0.98) |
| 4.0~5.0    | 2.09( 3.93)  | 1.40( 1.86)  | 5.06( 2.61)  | 2.85( 2.80)  | 1.59(0.86) |
| 5.0~6.0    | 1.65( 1.83)  | 0.74( 1.06)  | 3.52( 1.90)  | 1.97( 1.79)  | 1.16(0.58) |
| 6.0~8.0    | 1.30( 2.08)  | 0.81( 1.35)  | 1.29( 2.49)  | 1.13( 1.97)  | 0.23(0.47) |
| Total      | 18.68(26.86) | 21.52(20.07) | 31.92(30.19) | 24.04(25.71) | 5.69(4.21) |

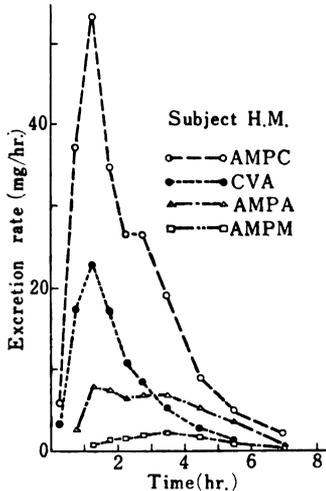
Table 4. Urinary excretion(mg) of penamaldic acid following administration of BRL25000(375 mg) or an individual dose of 250 mg amoxicillin(given in parentheses)

| Time (hr.) | J.H.        | T.H.        | H.M.         | Mean         | S.D.        |
|------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| 0 ~0.5     | n.d. (n.d.) | n.d. (n.d.) | n.d. (n.d.)  | - ( - )      | - ( - )     |
| 0.5-1.0    | n.d. (n.d.) | n.d. (n.d.) | n.d. (n.d.)  | - ( - )      | - ( - )     |
| 1.0-1.5    | 0.57 (0.38) | 0.38 (0.62) | 0.32 ( 0.87) | 0.42 ( 0.62) | 0.11 (0.20) |
| 1.5-2.0    | 0.64 (0.55) | 0.53 (0.64) | 0.64 ( 1.41) | 0.60 ( 0.87) | 0.05 (0.39) |
| 2.0-2.5    | 0.73 (0.62) | 0.62 (0.92) | 0.74 ( 1.53) | 0.70 ( 1.02) | 0.05 (0.38) |
| 2.5-3.0    | 0.84 (0.71) | 0.54 (1.06) | 0.97 ( 1.52) | 0.78 ( 1.10) | 0.18 (0.33) |
| 3.0-4.0    | 1.86 (2.11) | 0.92 (1.59) | 2.14 ( 2.89) | 1.64 ( 2.20) | 0.52 (0.53) |
| 4.0-5.0    | 1.18 (1.65) | 0.70 (1.25) | 1.65 ( 1.66) | 1.18 ( 1.52) | 0.39 (0.19) |
| 5.0-6.0    | 0.95 (1.36) | 0.89 (1.10) | 0.83 ( 0.88) | 0.89 ( 1.11) | 0.05 (0.20) |
| 6.0-8.0    | 1.16 (2.23) | 1.14 (1.68) | 0.40 ( 1.53) | 0.90 ( 1.81) | 0.35 (0.30) |
| Total      | 7.93 (9.61) | 5.72 (8.86) | 7.69 (12.29) | 7.11 (10.25) | 0.99 (1.47) |

Table 5. Statistical moments for clavulanic acid and amoxicillin following administration of BRL25000 (375 mg) or an individual dose of 125 mg clavulanic acid or 250 mg amoxicillin (given in parentheses)

|                                  | J.H.         | T.H.         | H.M.          | Mean         | S.D.         |
|----------------------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| Clavulanic acid                  |              |              |               |              |              |
| X <sub>0</sub> <sup>∞</sup> (mg) | 56.10(58.57) | 34.19(40.85) | 49.71(35.04)  | 46.67(44.82) | 9.200(10.01) |
| MRT (hr.)                        | 1.765(1.826) | 1.580(1.752) | 2.094(1.906)  | 1.813(1.828) | 0.213(0.063) |
| Amoxicillin                      |              |              |               |              |              |
| X <sub>0</sub> <sup>∞</sup> (mg) | 111.1(138.8) | 152.3(157.5) | 130.6(124.3)  | 131.4(140.2) | 16.79(13.59) |
| MRT (hr.)                        | 2.583(2.112) | 1.985(2.502) | 2.498(2.328)  | 2.355(2.314) | 0.264(0.160) |
| Penicilloic acid                 |              |              |               |              |              |
| X <sub>0</sub> <sup>∞</sup> (mg) | 19.78(28.84) | 21.83(20.99) | 33.49(32.21)  | 25.03(27.35) | 6.038(4.701) |
| MRT (hr.)                        | 3.594(3.715) | 2.511(3.162) | 3.566(3.477)  | 3.224(3.451) | 0.504(0.227) |
| Penamaldic acid                  |              |              |               |              |              |
| X <sub>0</sub> <sup>∞</sup> (mg) | 9.221(14.61) | 9.146(12.02) | 7.862(13.72)  | 8.743(13.45) | 0.624(1.074) |
| MRT (hr.)                        | 4.912(7.555) | 8.191(6.355) | 3.785( 4.369) | 5.629(6.093) | 1.869(1.314) |

Fig. 6 Time courses of urinary excretion rates for clavulanic acid, amoxicillin, and metabolites of amoxicillin following single oral dose of BRL25000 to a human subject (H. M.)



応答を示した。

また、ODS 固定相における CVA の保持値に対する移動相中の TBAB 濃度、pH、メタノール/水の混合比などの影響を検討し、その結果と上述の  $\lambda_{max}$  の結果および検出波長の結果を考慮して、尿中の CVA の定量的ための HPLC 条件 (II) を設定した。検出波長は、尿中成分との分離を考慮して、220 nm に設定した。Fig. 3 に、BRL25000 投与後、3 時間の尿のクロマトグラムを示した。なお、本法によるヒト尿中 CVA の定量下限は、10 ng であった。

### 3. BRL25000 のヒト尿排泄に関する薬物速度論

Table 1, 2, 3, 4 に、BRL25000 投与後の各被検者の CVA, AMPC, AMPA, AMPM の尿中排泄量およびその平均値と標準偏差をそれぞれ示した。ただし、( ) 内の数値は、CVA および AMPC をそれぞれ単独に投与した場合の値である。Fig. 4, 5, 6 は、この値から得られた各被検者の尿中排泄速度-時間曲線である。さらに、Fig. 4, 5, 6 のデータから得られた  $X_{u}^0$  および MRT の値を Table 5 に示した。

### III. 考 察

Table 5 からわかるように、CVA の排泄率 ( $X_{u}^0/D$ ,

$D=125$  mg) は、BRL25000 投与では、27~45% 単独投与では、28~47% であった。また、CVA の MRT の値は、BRL25000 投与では、1.6~2.1 時間、単独投与では、1.8~1.9 時間であり、排泄率、MRT とともに、同時投与に起因する有意差は認められなかった。一方、AMPC については、排泄率 ( $X_{u}^0/D$ ,  $D=250$  mg) は、BRL25000 投与時に、56~73% (代謝物も含めて)、単独投与では、68~76% であり、MRT は、BRL25000 投与時には、2.0~2.6 時間、単独投与では、2.1~2.5 時間であり、この場合も、同時投与による変化は認められなかった。しかし、CVA と AMPC の排泄率を比較すると、投与時には、両者の比率が 1:2 であったものが、尿中排泄時には、1:3 に変化していることがわかる。このことから、CVA は、AMPC に比べて吸収から排泄に至る体内変化の過程における損失が、大きいことが予測される。また、両者の MRT を比較すると、CVA は、AMPC に比べて約 30 分体内滞留時間が短く、このことは、両者の血中濃度のピーク時間のずれを反映しているものと思われる。次に、AMPC の代謝挙動については、BRL25000 投与時および AMPC 単独投与時に、AMPA の排泄率および MRT の値に変化がみられなかったが、AMPM の排泄率は、単独投与に比べて、BRL25000 投与時には、やや減少し、分散分析の結果、5% レベルで有意差が認められた。

以上の結果から、AMPM の排泄率に、若干の差が認められたものの、全体としては、CVA と AMPC の間には、同時投与に起因する薬物速度論的相互作用は存在しないと結論される。

### 文 献

- 1) UNO, T.; M. MASADA, K. YAMAOKA & T. NAKAGAWA: High performance liquid chromatographic determination and pharmacokinetic investigation of amino-penicillins and their metabolites in man. Chem. Pharm. Bull. 29: 1957~1968, 1981
- 2) YAMAOKA K.; T. NAKAGAWA & T. UNO: Statistical moments in pharmacokinetics. J. Pharmacokin. Biopharm. 6: 547~558, 1978
- 3) HOWARTH, T. T.; A. G. BROWN & T. J. KING: Clavulanic acid, a novel  $\beta$ -lactam isolated from *Streptomyces clavuligerus*; X-ray crystal structure analysis. J. C. S. Chem. Comm. 1976: 266-267, 1976

## HPLC ANALYSIS OF CLAVULANIC ACID AND PHARMACOKINETIC INVESTIGATION ON URINARY EXCRETION OF BRL25000 (CLAVULANIC ACID-AMOXICILLIN) IN MAN

TOYOZO UNO, JUN HAGINAKA and TERUMICHI NAKAGAWA  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

A reversed phase ion pair HPLC method with UV detection has been developed for the determination of clavulanic acid (CVA) in human urine, taking solvent effects on detection wave length and on retention behavior on a hydrophobic stationary phase into account. The addition of tetrabutylammonium bromide (TBAB) to aqueous methanol containing phosphate buffer salts facilitated the detection of CVA at an accessible UV wave length, and also allowed the specific separation of CVA from endogenous urinary components.

The time courses of urinary excretion rate for intact CVA, amoxicillin (AMPC), and the latter's metabolites [penicilloic acid (AMPA) and penamaldic acid (AMPM)] following oral doses of BRL25000 or each of CVA and AMPC separately to healthy human subjects were determined by the established HPLC method. The statistical moment analysis of the time course curves indicated that when CVA was dosed in combination with AMPC, 27 to 45% of the dosed amount (125 mg) of CVA was excreted in the urine as the intact form with the mean residence time (MRT) ranging of 1.6 to 2.1 hours after administration, while the corresponding values for AMPC were 56 to 73% (including metabolites) and 2.0 to 2.6 hours (for intact AMPC). These results indicate that CVA may undergo less absorption (and/or a greater degree of metabolism and extraurinary excretion) and faster urinary excretion than that of AMPC. From comparison of these results with those obtained after administration of individual doses of CVA and AMPC to the same subjects, it was found that there was no appreciable pharmacokinetic interaction between CVA and AMPC ascribable to the combination dose, although the analysis of variance indicated that the difference in the excreted amount of AMPM between individual and combined doses was significant at the 5% level.