

動物における TMS-19-Q の吸収・分布・代謝および排泄に関する研究

酒井敦史・鈴木忠清・遠藤里子・渡辺真由美・森下真孝

東洋醸造株式会社 リサーチセンター 製剤研究所

TMS-19-Q の吸収・分布・代謝および排泄についてラットおよびイスで検討した。

TMS-19-Q は経口投与後 30 分～2 時間でピークに達し、投与量に比例した血漿中濃度を示した。吸収された TMS-19-Q は速やかに広く組織に分布し、ラットにおいて肝臓>脾臓>腎臓>肺臓>心臓>血漿の順に組織内濃度が高く、肝臓は血漿の約 10 倍の濃度を示した。24 時間までの胆汁中回収率はラットで 4.12%、イスで 8.47% であり、尿中回収率はラットで 3.88%、イスで 5.26% であった。この胆汁、尿中の組成は、TMS-19-Q の代謝物が多く、活性の低下した 10''-OH-TMS-19-Q, Leucomycin A₇ (LM A₇), Leucomycin V (LM V) および 14-OH-LM V であった。

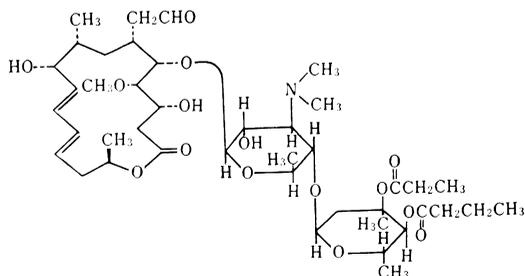
ラットに 28 日間連続投与することによる血漿中濃度、組織内濃度の推移に及ぼす影響を検討したところ、本薬物の蓄積傾向は認められなかった。

TMS-19-Q (3''-O-propionylleucomycin A₅; Fig. 1) は東洋醸造(株)リサーチセンターにおいて開発されたマクロライド系抗生物質である。従来のマクロライド系抗生物質に比べその抗菌力はグラム陽性菌、嫌気性菌、マイコプラズマなどで 1～2 管良好な成績を示し、またキャンピロバクター、レジオネラも良好な感受性を示した¹⁾。

マクロライド系抗生物質は生体内において比較的代謝されやすいという性質をもっているが本薬物においても同様であり、その体内動態を検討することは重要なことである。

本報では、動物を用い、血中濃度、体内分布、代謝および尿中・胆汁中排泄などの生体内動態について検討した。

Fig. 1 Chemical structure of TMS-19-Q



I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

TMS-19-Q, LM A₇, LM V, 10''-OH-TMS-19-Q, および 14-OH-LM V は東洋醸造(株)リサーチセンターにおいて調製した²⁾ものを用いた。

2. 使用動物

ラットは、Wistar 系雄性ラット 5～8 週齢(静岡実験動物農業協同組合)を、イスは、雄性ビーグル種 9 か月～13 か月齢(東洋実験動物センター)を使用した。

3. 薬物濃度測定法

Micrococcus luteus ATCC 9341 を検定菌とする Bioassay により行なった³⁾。標準溶液は 0.31～20 μg/ml の濃度範囲とし、各体液内濃度の測定は、血漿、尿、胆汁あるいは組織ホモジネイトに既知濃度薬物を添加し、サンプルと同様に処理して作成した検量線によって行なった。

4. 薬物投与方法

ラットにおいては絶食下、製剤基本組成(TMS-19-Q 100mg, グリシン 170mg, クエン酸 35mg, DK-エステル 4mg)を水に均一に懸濁して投与した。投与量は 200, 500, または 1,000mg/25ml/kg とし、十二指腸内投与では、同懸濁液を留置針を用いて 200mg/ml/kg 投与した。

イスにおいては 24 時間絶食し、TMS-19-Q・GC 錠(100mg 力価/錠)5 錠を飲用水 100ml とともに投与した。十二指腸内投与の場合は、TMS-19-Q・GC 錠 5 錠をすりつぶし、50ml の水に懸濁した後、注射筒および留置針を用いて投与した。

5. 血漿中濃度の測定

血漿サンプルは薬物投与後経時的に、ラットでは眼底静脈叢あるいは腹部動脈より、イスでは前腕静脈より採取した。血液は Diisopropylfluorophosphate (DFP) 処理(ラットで 7.5mM, イスで 5mM)を行ない、氷冷下保存後、3,000rpm-10 分間の遠心分離操作を行なって得た血漿を前報³⁾の方法に従い、CH₃CN を用いて抽出

した。

この抽出上清を減圧下乾固し、20% CH₃CN 含有 1/15 M phosphate buffer (pH 6.5) で溶解したものを濃度測定用試料とした。

6. 組織内濃度の測定

ラットに 200mg/kg を経口投与した後、経時的に腹部動脈より全採血により致死させ、血漿、肝臓、腎臓、心臓、肺臓および脾臓の各組織を摘出した。各組織は生理食塩水で軽く洗浄し、濾紙上で水分を吸い取った後秤量した。2倍量の 20% CH₃CN 含有 1/15 M phosphate buffer (pH 6.5) および 1g 組織当り 25 μl の 0.3 M DFP を加えポリトロンにて作成したホモジネイトを 3,000 rpm-10 分間の遠心分離操作後、得られた上清を濃度測定用試料とした。

7. 尿中および胆汁中排泄の測定

ラットにおいて、尿は代謝ケージで、胆汁はネンブター麻酔下総胆管にポリエチレンチューブを挿入した後ポールマンケージに保定し、サンプルが直ちに抽出できるよう NaHCO₃ を含有する CH₂Cl₂ に採取した。薬物は尿採取の場合は経口にて、胆汁採取の場合は麻酔下での吸収を考慮して十二指腸内へ投与した。

イスにおいては尿および胆汁の採取はネンブター麻酔下にて行ない、総胆管カニューレ、膀胱内カテーテルを施した後 TMS-19-Q を十二指腸内投与し、尿、胆汁を採取した。サンプルはラットと同様 CH₂Cl₂ 中に 0~2, 2~4, 4~6, 6~8 および 8~24 時間の間隔で集めた。

尿、胆汁サンプルは 3 倍量 (v/v) の CH₂Cl₂ で抽出を 2 回行なった後、CH₂Cl₂ 層の一部を減圧下乾固し、20% CH₃CN 含有 1/15 M phosphate buffer (pH 6.5) で溶解したものを濃度測定用試料とした。

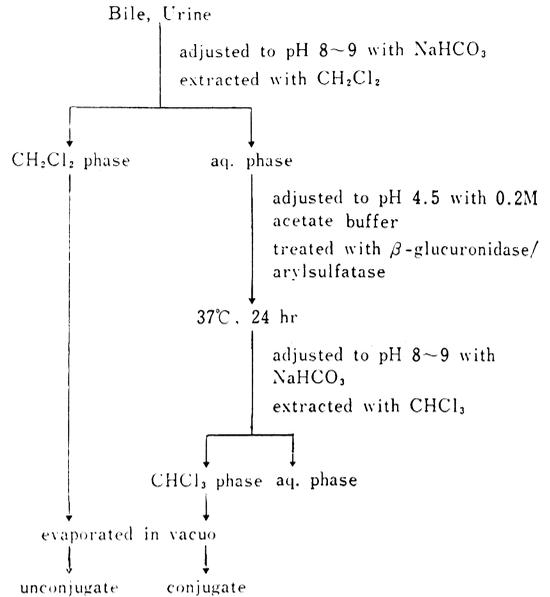
8. 抱合体の検索

イスにおいて遊離型薬物抽出後の尿、胆汁 1ml に 2,000 U β-Glucuronidase/arylsulfatase (Sigma 社製) を加え、37°C-24 時間インキュベートしたのち加水分解されてくる薬物を CHCl₃ で抽出し Bioassay で測定した (Chart 1)。

9. 血漿中、尿中および胆汁中代謝物の検索

ラットの血漿、尿、胆汁サンプルおよびイスの尿、胆汁サンプルについて TLC/Bioautography を行ない、抗菌活性体を検索した。各検体の前処理は前報³⁾に従って行ない、CHCl₃:CH₃OH (1:2) に溶解後これを Silica gel 60 Art. 5721 (Merck 社製) にスポットした。CHCl₃:CH₃OH:CH₃COOH:H₂O (70:11:8:2) の溶媒系で 15cm 展開した後、抗菌活性の検出は、*M. luteus* ATCC 9341、普通寒天培地 (pH 8.0) を用い、

Chart 1 Procedure used for detection of conjugated TMS-19-Q and its metabolites in bile and urine



37°C で 18 時間培養して行なった。

10. 肝障害ラットの血漿中濃度

TMS-19-Q 投与前 24 時間に 50% (v/v) CCl₄ (オリブ油にて希釈) を 1ml/kg 腹腔内へ投与し、肝障害ラットを作成⁴⁾した。対照群としては無処置群をおき、200mg/kg の TMS-19-Q を投与後、経時的に血液を採取し、これを試料とした。

II. 実験結果

1. ラットにおける吸収・分布・排泄・代謝

1) 血漿中濃度

ラットにおける TMS-19-Q の血漿中濃度の推移を Fig. 2 に示した。

TMS-19-Q 200 および 500mg/kg 投与群では投与後 1 時間に最高血漿中濃度 2.92 および 5.46 μg/ml を示し、1,000mg/kg 投与群では、ピーク時が遅れ 2 時間となり、11.24 μg/ml の血漿中濃度であった。また各群の AUC 値はそれぞれ 7.97, 12.08 および 37.98 μg·hr/ml であった。Fig. 3 に TMS-19-Q の投与量と AUC 値の関係を示したが、最小二乗法で求めた相関係数は 0.92 と投与量に比例した AUC 値を示した。

2) 単回および連続投与時における組織内濃度

TMS-19-Q 200mg/kg を経口投与し、その組織内濃度を測定した。Fig. 4 に示すように TMS-19-Q は投与後 30 分から 2 時間で各組織に分布し、肝臓>脾臓>腎臓>肺臓>心臓>血漿の順に高い組織内濃度であった。

Fig. 2 Plasma concentration of TMS-19-Q after oral administration in fasted rats

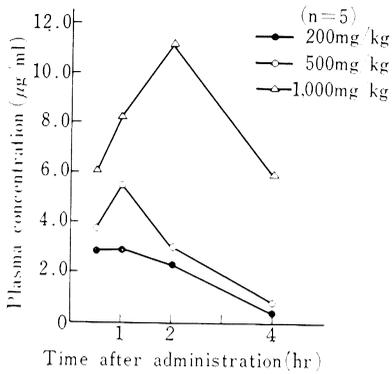


Fig. 5 Urinary and biliary excretion of TMS-19-Q after oral administration in fasted rats

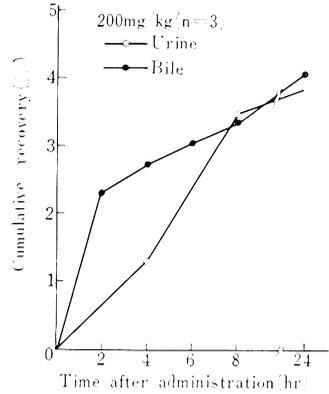
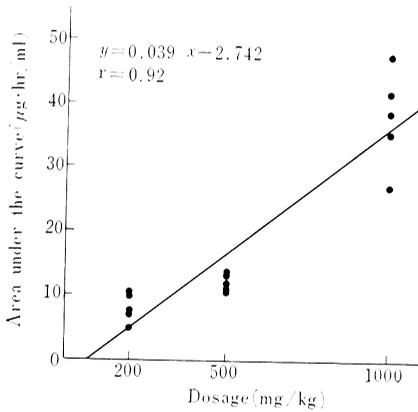


Fig. 3 Correlation between area under the curve and dosage in fasted rats



肺臓、心臓および腎臓では血漿の2～3倍、脾臓および肝臓では5～10倍程度の濃度であり、良好な組織移行性を示した。

28日間の連続投与実験をラットを用いて行ない、その影響を検討した。実験期間中午後7時より午前9時までは絶食とし、薬物投与2時間後より給餌した。薬物は200mg/kgを1日1回28日間経口投与した。Fig. 4に示すように連投14日目、28日目の組織内濃度は単回投与と比較し特に大きな差はなく、組織への蓄積性は認められなかった。

3) 尿中および胆汁中排泄

ラットにTMS-19-Q 200mg/kgを経口投与した時の24時間までの尿および胆汁中排泄率をFig. 5に示した。24時間までのTMS-19-Qの尿中排泄率は、TMS-19-

Fig. 4 Plasma and tissue concentration of TMS-19-Q after orally consecutive administration in rats

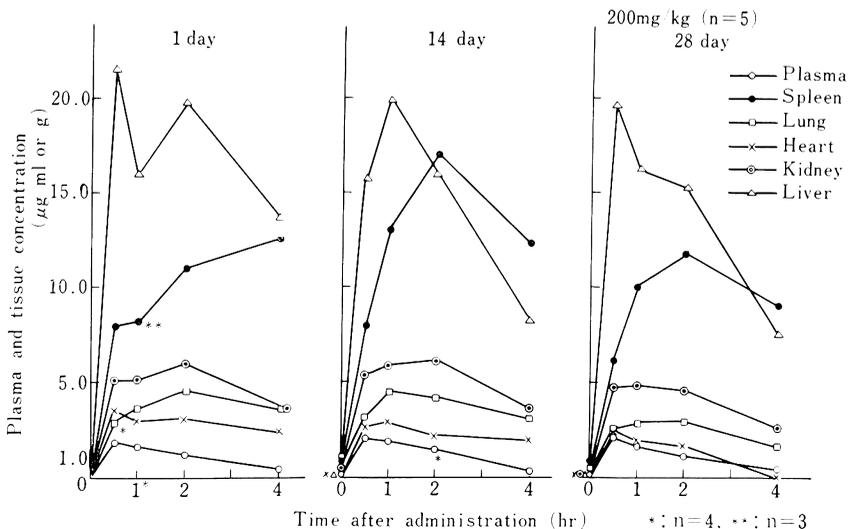


Fig. 6 Bioautograms of plasma, urine and bile after oral administration of TMS-19-Q in fasted rats

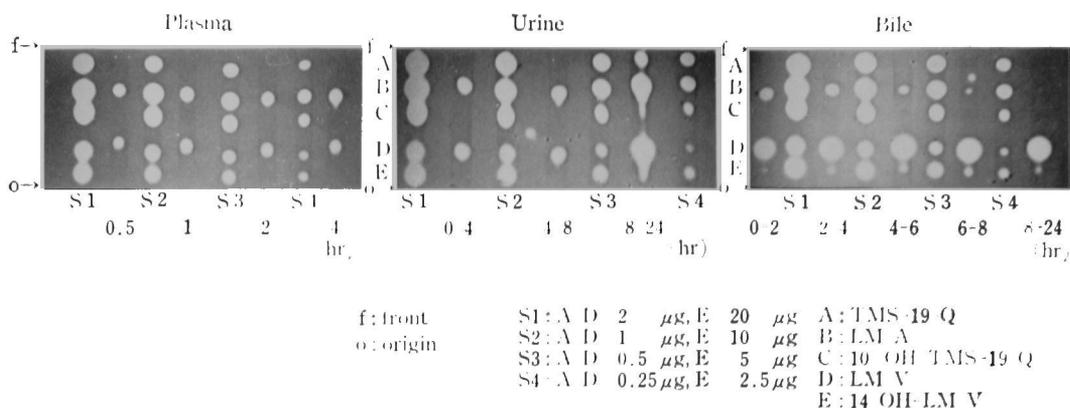
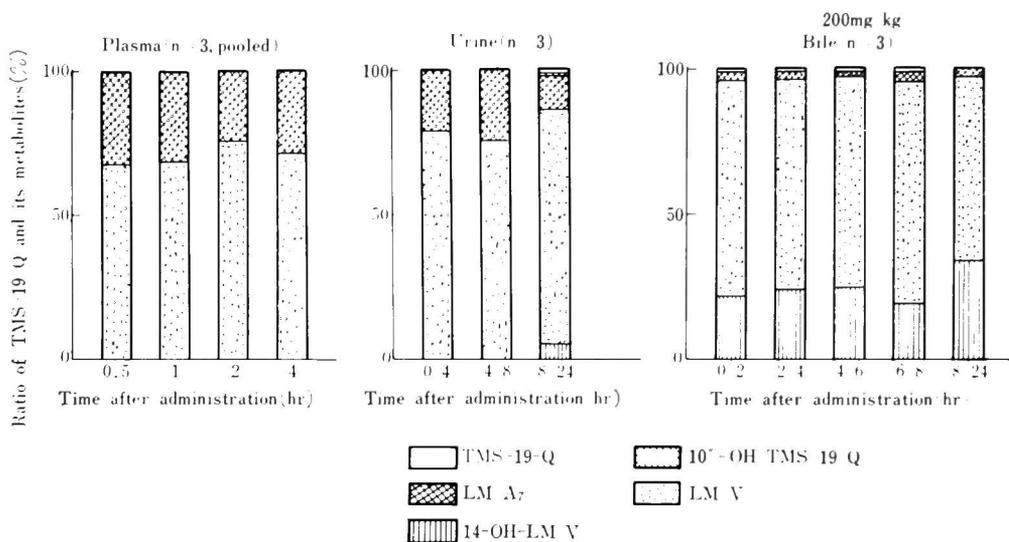


Fig. 7 Concentration ratio of TMS-19-Q and its metabolites in fasted rats



-Q 換算で $3.88 \pm 0.68\%$ 、胆汁中排泄率は $4.12 \pm 0.62\%$ であった。すなわち尿および胆汁両経路から排泄される薬物は、抗菌活性で投与量の約 8% であった。

4) 血漿中・尿中・胆汁中代謝物の検索

ラットに TMS-19-Q 200mg/kg を経口投与した場合の血漿、尿および胆汁試料について、TMS-19-Q および代謝物の経時的变化を TLC/Bioautography で求め、その結果を Fig. 6, 7 に示した。

ラットにおいて、代謝物は LM A₇、10'-OH-TMS-19-Q、LM V および 14-OH-LM V の 4 種が検出された。血漿中での代謝物は LM V および LM A₇ がほとんどであった。胆汁においては、抗菌活性の低い LM V お

よび 14-OH-LM V が主な代謝物であり、わずかに数% の LM A₇ が検出された。また尿中において、0~4 および 4~8 時間では血漿と同様 LM V および LM A₇ が大部分を占めており、8~24 時間では 90% が LM V および LM A₇ であり、その他数% の 14-OH-LM V および微量の 10'-OH-TMS-19-Q が検出された。

5) 肝障害ラットの血漿中濃度

CCl₄ 投与後 24 時間目に TMS-19-Q 200mg/kg を経口投与し、投与後経時的に血漿を採取し、Bioassay を行なった。血漿中濃度は Fig. 8 に示すように対照群と比べて有意に高く推移した。この時の各動物の血清 GOT, GPT 値を測定したところ、CCl₄ 投与群は対照群と比べ

Fig. 8 Comparison of plasma concentration between normal rats and CCl₄-treated rats

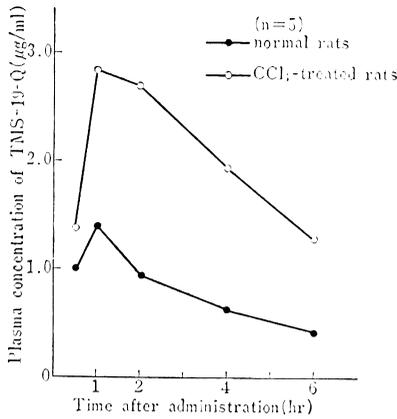


Fig. 9 Plasma concentration of TMS-19-Q after oral administration in dogs

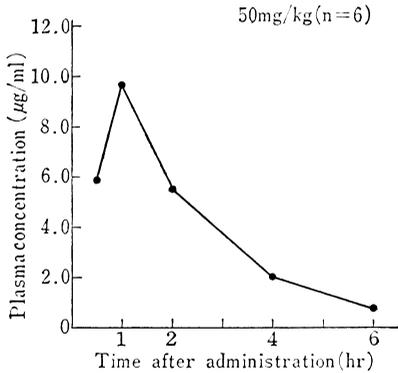


Fig. 10 Urinary and biliary excretion of TMS-19-Q after oral administration in dogs

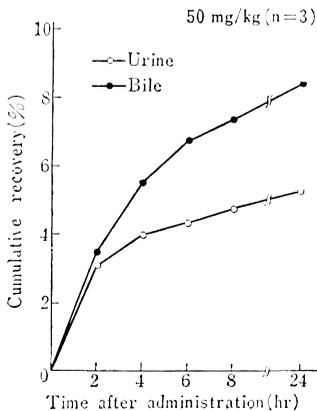


Table 1 TMS-19-Q activity extracted with CHCl₃ from urine and bile treated with β-glucuronidase/arylsulfatase

Urine	Sampling time interval (hr)				
	0~2	2~4	4~6	6~8	8~24
Unconjugate	3.70	1.13	0.56	0.46	0.81
Untreated	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00
Treated	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00
Bile					
Unconjugate	15.12	6.75	4.51	3.28	7.09
Untreated	0.23	0.10	0.11	0.04	0.10
Treated	0.25	0.12	0.11	0.05	0.10

(mg)

て GOT, GPT ともに高かった。

2. イスにおける, 吸収, 排泄, 代謝

1) 血漿中濃度

イスにおける血漿中濃度の推移を Fig. 9 に示した。投与後 1 時間で最高値に達し, 50mg/kg の投与量で 9.68 µg/ml であり AUC 値は 24.04 µg·hr/ml であった。

2) 尿中および胆汁中排泄

TMS-19-Q 50mg/kg を投与した場合の尿中および胆汁中排泄は Fig. 10 に示すように, 抗菌活性でそれぞれ 5.26±1.27 および 8.47±2.69% の排泄率であり, 両経路より約 14% が回収された。

3) 抱合体の検索

イスに TMS-19-Q 50mg/kg を投与後経時的 (0~2, 2~4, 4~6, 6~8 および 8~24 時間) に採取した尿, 胆汁サンプルを使用し, 抱合体の検索を行なった。加水分解酵素量設定に際し, あらかじめ陽性対照基質として Phenolphthalein glucuronic acid および p-Nitrocatechol sulfate を用い反応条件を設定した。これら抱合体の加水分解量は添加量の約 90% であり, ほとんどの抱合体が加水分解された。上記条件下で試料をインキュベートした後, CHCl₃ で抽出される薬物量を測定した。その薬物量をインキュベート前の薬物量および遊離型薬物とともに Table 1 に示した。尿, 胆汁ともに遊離型薬物と比べて極端に低い値であり, 最も高い値でも遊離型薬物の 3/1,000 程度であった。

III. 考 察

TMS-19-Q をラットに経口投与すると血漿中濃度は投与後 30 分から 2 時間で最高濃度に達し, 腸管からの吸収は良好であった。また, 血漿中濃度は 200~1,000 mg/kg の間で用量依存的に推移した。血漿中においてその代謝物はほとんどが LM V, LM A₇ であり, ラットで特に血清中エステラーゼ活性が高いこと⁵⁾を反映し

ているものと考えられた。

分布に関しては、各組織に TMS-19-Q は比較的速度やかに移行し、血漿中濃度に比べかなり高い組織内濃度を維持した。血漿は 4 時間までに減衰するのに比べ各組織は 4 時間でもかなりの薬物が残っており組織移行性は良好であった。しかしながら連投 14 および 28 日目の成績から組織への蓄積性は特に認められなかった。

本薬物の排泄は尿、胆汁の両経路より行なわれ、ラットにおいては投与量の 8% が両経路より排泄された。しかしながら上記排泄率は抗菌性による TMS-19-Q 換算の数値であり、排泄薬物量 (重量) を表わす数値ではない。

Bioautography の結果から排泄薬物の大部分が活性の低い LM V および 14-OH-LM V であることが示されており、これら代謝物の組成と、相対的力価 (TMS-19-Q, 1.00 に対して LM V 0.10, 14-OH-LM V 0.01) を考慮すると、実際の排泄率は更に高いものと考えられる。

一方イヌにおいても、TMS-19-Q は良好な吸収性を示し、投与後 1 時間で最高血漿中濃度に達した。その後 24 時間までに投与薬物量の 14% が尿および胆汁の両経路から排泄され、ラットに比べ多少高い結果であった。

TMS-19-Q およびその代謝物の抱合体の有無についてイヌの尿、胆汁を用いて検討した。遊離型薬物 (Unconjugate) 濃度に比べ、酵素処理による有意な抗菌活

性の上昇はなく、抱合体の存在を示唆する成績は得られなかった。

四塩化炭素投与ラットにおいて、無処置群に比べ血漿中濃度はかなり高い推移を示した。これは肝機能低下のために薬物の胆汁中排泄が低下したことおよび薬物の代謝活性が低下していることによるものと考えられる。このことより、肝機能障害を有するヒトにおいては、血漿中濃度が期待した以上に高く推移することも考えられ、肝機能障害患者に対して本剤を用いる場合、慎重な投与計画が必要であろう。

文 献

- 1) 第 31 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム IV. TMS-19-Q, 大阪, 1983
- 2) 森下真孝, 大野 勝, 芹沢和憲, 藤原達郎, 榎原秀夫: TMS-19-Q の代謝物の分離同定. *Chemotherapy* 32(S-6): 85~92, 1984
- 3) 森下真孝, 酒井敦史, 遠藤里子, 鈴木忠清: TMS-19-Q の体液内濃度測定法に関する研究 (I) Bioassay 法による体液内濃度測定. *Chemotherapy* 32(S-6): 70~79, 1984
- 4) 藤沢 洵, 岡部和彦, 田中健一: 疾患モデル, 実験医学の臨床へのアプローチ. *日本臨床*, 30(1): 207~215, 1972
- 5) BODIN, N. O.; EKSTRÖM, U. FORSGREN, L. P. JALAR, L. MAGNI, C. H. RAMSAY & B. SJÖBERG: Bacampicillin, a new orally well-absorbed derivative of ampicillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 8: 518~528, 1975

ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM AND EXCRETION AFTER ORAL ADMINISTRATION OF TMS-19-Q IN RATS AND DOGS

ATSUSHI SAKAI, TADAKIYO SUZUKI, SATOKO ENDO

MAYUMI WATANABE and MASATAKA MORISHITA

Pharmaceutical Research Laboratories, Toyo Jozo Co., Ltd.

TMS-19-Q, a new macrolide antibiotic, was administered to rats and dogs.

Plasma concentrations of TMS-19-Q reached the peak at 30 min-2 hr after oral administration. The AUC values responded to the doses.

TMS-19-Q distributed to the liver, spleen, kidney, lung, heart and plasma in order of the concentration in rats. The concentration in the liver was about 10 times higher than that of plasma.

The urinary and biliary recovery of TMS-19-Q in rats and dogs after oral administration was 8% and 14% of doses, respectively.

The major metabolites of TMS-19-Q found in urine and bile were LM V and 14-OH-LM V in rats.

There was no evidence to suggest the accumulation of TMS-19-Q in plasma and tissues during multiple administrations of this drug to rats.