

Sultamicillin の実験動物における吸収、分布、代謝及び排泄

加納 弘・竹居 春実・大森健太郎・村上 昌弘・下岡 新雄・福島 英明・沖 俊一
台糖ファイザー株式会社 新薬開発センター生化学研究所

Sultamicillin tosilate (SBTPC) の経口投与時の吸収、分布及び排泄をラット及びイヌを用いて検討し、下記の結果を得た。

1. SBTPC は経口投与後主として十二指腸より吸収され、等モルの ampicillin (ABPC) 及び sulbactam (SBT) を血中に遊離し、末梢血中には SBTPC の未変化体は存在しなかった。

2. SBTPC 100mg/kg を経口投与したラットの血中 ABPC 及び SBT 濃度は共に投与後 1 時間にピーク (ABPC: 7.3 μ g/ml, SBT: 6.3 μ g/ml) を示し、以後漸減した。血中濃度半減期はそれぞれ約 60 分、約 50 分であった。また ABPC・SBT 併用投与時よりはるかに高い血中濃度を示したことから prodrug としての SBTPC の効果が認められた。ラットにおける血中 ABPC 及び SBT 濃度はほぼ SBTPC の投与量に依存していた。

イヌに SBTPC を経口投与した時の ABPC, SBT 濃度推移もラットとほぼ同様であった。

3. SBTPC をラットに経口投与した場合、ABPC 及び SBT は共に各種臓器・組織に広く分布し、特に肝臓及び腎臓には血中より高い分布が認められ、血中濃度の減衰につれて臓器・組織内濃度も同様に減衰した。また両薬物の各種臓器・組織への分布傾向は近似した。このときの ABPC の血中及びへの分布傾向は近似した。このときの ABPC の血中及び組織内濃度の推移は BAPC 投与の場合とほぼ同じであった。また、ラット granuloma pouch 内滲出液中への ABPC 及び SBT の移行は良好で持続性が認められた。

4. SBTPC をラットに経口投与した時の投与後 96 時間までの尿中排泄率はおよそ ABPC 20%, SBT 30%, 糞中排泄率はそれぞれ 5%, 20% であり、またわずかであるが胆汁中へも排泄された。

イヌでもほぼ同様の排泄パターンを示した。なお尿中及び糞中には ABPC, SBT 以外の抗菌活性を持った代謝物は認められなかった。

5. ABPC, SBT 当モル共存下のヒト及び各種動物血清蛋白に対する結合率はそれぞれ単独での結合率とほぼ同じで、ラット血清蛋白に対する SBT の約 55% 以外はいずれの動物血清に対しても ABPC, SBT ともに約 30% であった。

6. SBTPC をラットに連続投与しても ABPC 及び SBT の血中濃度の上昇、尿中排泄の増加及び組織への蓄積は認められなかった。

7. SBTPC の経口投与を受けた四塩化炭素惹起肝障害ラットでは健常ラットに比べ血中 ABPC, SBT 濃度はわずかに低く、尿中排泄率はやや増加した。

一方、塩化第二水銀惹起腎障害ラット及び馬杉型糸球体腎炎ラットでは健常ラットに比べ ABPC, SBT の尿中への排泄の抑制がみられ、血中 ABPC, SBT 濃度が高くなる傾向を示した。

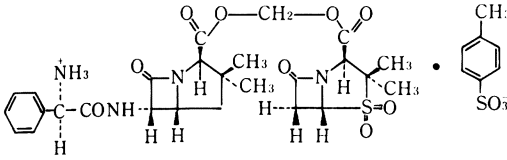
8. ラットに SBTPC を経口投与するとき、SBTPC の塩として用いられた *p*-toluenesulfonic acid (PTS) は血中のピークが ABPC, SBT よりやや遅れるが、吸収は良好でほとんどの臓器・組織に分布したのち、投与量のほぼ全量が主として尿中に排泄された。また連続投与による蓄積もみられなかった。

Sultamicillin tosilate (SBTPC) は ampicillin (ABPC) と β -lactamase 阻害剤である sulbactam (SBT) とをエステル結合させた mutual prodrug¹⁾ であり、その化学構造は Fig. 1 に示すとおりである。

SBTPC は経口投与後効率よく消化管から吸収され、生体内で速やかに加水分解されて等モルの ABPC と SBT を遊離する²⁾。

今回、著者らは SBTPC の *in vitro* 及び *in situ* 試験

Fig. 1 Chemical structure of Sultamicillin tosilate (SBTPC)



により、経口投与時の SBTPC の吸収部位及び加水分解部位を推定したほか、ラット、イヌを用い SBTPC 経口投与後の吸収、分布及び排泄について検討したのでその結果を報告する。

I. 実験材料及び実験方法

1. 被験薬物

Sultamicillin tosilate (SBTPC, 710 μ g 力価/mg), sultamicillin hydrochloride (910 μ g 力価/mg), sodium ampicillin (ABPC, 880 μ g 力価/mg), sodium sulbactam (SBT, 886 μ g 力価/mg), bacampicillin hydrochloride (BAPC, 879 μ g 力価/mg, ABPC として 660 μ g 力価/mg) 及び sodium *p*-toluenesulfonate (PTS, *p*-toluenesulfonic acid として 970 μ g/mg) を用いた。

2. 実験動物

Sprague-Dawley 系 Slc ラット (雄: 体重 186~280 g, 雌: 体重 157~168g), 日本白色種ウサギ (雄, 体重 3~4 kg), ビーグル犬 (雄, 体重 7.6~19kg) 及び雑種犬 (雄, 体重 7.4~11.5kg) を使用した。各動物は購入後 1 週間以上予備飼育し、実験に供した。原則として薬物投与前 16~20 時間絶食したが、飲水は制限しなかった。

3. 薬液調製及び投与方法

SBTPC は 0.3 又は 0.5% CMC の懸濁液として、ABPC, SBT, BAPC 及び PTS は水溶液として力価換算で 2.5~50mg/ml の濃度の薬液を調製し投与した。投与量はラットで SBTPC 25, 50, 85 または 100mg/kg, ABPC と SBT の併用 (以下 ABPC・SBT と略す) 58.8 mg/kg・39.2mg/kg, BAPC 66.7mg/kg 及び PTS 200mg/kg とし、イヌでは SBTPC 25, 34 または 50mg/kg としてそれぞれを経口投与した。また、ラットの各消化管内注投与には SBTPC 水懸濁液 20mg/kg または ABPC・SBT 12mg/kg・8 mg/kg, イヌの十二指腸内投与には sultamicillin hydrochloride の水溶液 34mg/kg を投与した。SBTPC の *in vitro* 試験では sultamicillin hydrochloride を緩衝液又は精製水に溶解して使用した。

4. 吸収経路に関する実験

(1) 人工胃液・腸液中での安定性

SBTPC を人工胃液 (日局 10, I 液) 又は人工腸液 (日局 10, II 液) 中濃度 200 μ g/ml, 温度 37°C でインキュベートし、0.25, 0.5, 1, 2 及び 3 時間に SBTPC 濃度を測定し、半減期を算出した。

(2) ラットの組織ホモジネート及び 10% 血清中での加水分解

放血死させたラットから肝臓及び小腸 (幽門部より 5 cm のところから約 10cm) を摘出し、冷却した生理食塩液でよく洗浄した後、湿重量を測定した。それぞれ 9 倍容量の 0.1M リン酸塩緩衝液 (以下 PBS と略す, pH 7.4) でホモジナイズしたのち、遠心分離 (1000 \times G, 4°C, 10分) し、得られた上澄をそれぞれ 10% 肝臓ホモジネート及び 10% 小腸ホモジネートとした。またラット血清 3 ml を 0.1M PBS (pH 7.4) 27ml で希釈し 10% 血清を調製した。

10% 肝臓及び小腸ホモジネート並びに 10% 血清各 1 ml に SBTPC 200 μ g/ml 水溶液 0.1ml を加え 37°C でインキュベートした。7, 15, 30, 60 及び 120 秒経過後、SBTPC 濃度を測定し、残存率を求めた。また、100°C で 10~20 分加熱処理を行った血清及びホモジネートについても同様に試験した。

対照には 0.1M PBS (pH 7.4) を用いた。

(3) ヒト及び各種動物血清による SBTPC の加水分解

ヒト及びラット、ウサギ、並びにイヌの新鮮血清 1 ml に SBTPC 200 μ g/ml 水溶液 0.1ml を添加後直ちに攪拌、均一化し、37°C でインキュベートした。15 秒後 difluoroisopropyl phosphate (以下 DFP と略す) を 1 滴加え、エステラーゼを失活させたのち試料中の SBTPC 濃度を測定した。

(4) 吸収部位の検討

1 群 4 匹のラット (雄) を用い、ペントバルビタール (ピットマン・ムーア社, 40mg/kg, 腹腔内投与) 麻酔下で開腹し、胃幽門部及び食道を結紮し、SBTPC を胃内に注入投与した。注入後 0.25, 0.5, 1, 2 及び 4 時間に採血屠殺し血液の一部は直ちに DFP 1 滴を加え攪拌し、SBTPC 濃度測定に供した。残りは血清を分離し、ABPC 及び SBT の濃度測定試料とした。同様の実験を十二指腸、空腸又は回腸部結紮ラットを用いて行った。なお、十二指腸内投与については相当量の ABPC 及び SBT を併用投与し、吸収性の比較を行った。

(5) ラット反転腸管による膜透過性

ラット (雄) を放血死させたのち、小腸を摘出し、水

冷した生理食塩液中に移し、幽門より5 cmのところから7 cmの長さの腸管をとり、ガラス管を挿入して反転させ、反転腸管を作製した。一端はガラス管に固定し、他端は糸で結紮したのち内液として Krebs-Hensleit 液 (pH7.4, 1 ml) を加え、外液として SBTPC を濃度200 μ g/ml を含有する Krebs-Hensleit 液 (pH5.5, 50ml) 中に吊した。外液に少量の混合酸素 (CO₂: 95%, O₂: 5%) を通じながら、37°C でインキュベートし、反転腸管内液各0.1ml を5, 10, 20, 30及び60分に採取した。一方、外液に ABPC・SBT (120 μ g/ml・80 μ g/ml) 溶液を用いて同様の実験を行った。

(6) イヌ十二指腸内投与

イヌ (雄) をペントバルビタール (30mg/kg, 静脈内投与) 麻醉下で開腹し、十二指腸と空腸部に内径1 cm のポリエチレン製チューブを挿入し、生理食塩液を導入して内腔を洗浄した。幽門より10cm 及び50cm の部位の2ヵ所を結紮し、SBTPC34mg/ml/kg を腸管結紮部に注入投与した。投与後5, 10, 20, 30, 60, 90及び120分後に門脈血及び頸静脈より末梢血を採取し、直ちに DFP を1滴添加攪拌した後、分析に供した。

5. 吸収、分布及び排泄試験

(1) 血液の採取

ラット (雄, 雌) は1群各4匹を用い、SBTPC 又は ABPC・SBT を経口投与後0.25, 0.5, 1, 2及び4時間に実験動物専用固定器 (CFK 技術研究所) を用いて固定し、頸静脈より各0.5ml を採血した。

イヌ (雄) は1群4匹を用いて SBTPC 又は ABPC・SBT を経口投与後0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6及び8時間に頸静脈より各5 ml を採血した。血清を分離し、ABPC, SBT 濃度を測定した。

(2) 臓器・組織の採取

ラット (雄) は1群4匹を用い、SBTPC を経口投与後0.5, 1, 2, 4, 6及び24時間にエーテル麻醉下で開腹し、腹大動脈からの血液採取により致死させたのち直ちに脳、心臓、肺臓、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉、脂肪、唾液腺、胸腺、眼球、精巣及び皮膚を摘出した。

また、ラット1群3匹を用い同様の操作で SBTPC 又は BAPC 経口投与後0.25, 0.5, 1, 2, 4及び6時間の肺臓、肝臓、腎臓及び血清試料を得た。

(3) 尿、糞及び胆汁の採取

1群5匹のラット (雄) 及び1群4匹のビーグル犬 (雄) に SBTPC を、1群3匹のラット (雄) に PTS を経口投与した後、それぞれ個別に代謝ケージに入れ、24時間毎に投与後4日間の尿、糞を採取した。但し、SBTPC 投

与の場合は投与後6時間までと6~24時間に分けて尿を採取した。

一方、1群5匹のラット (雄) を用い、エーテル麻醉下で総胆管にポリエチレンチューブを挿入し、BOLLMAN 型ケージに固定した。覚醒後 SBTPC を経口投与し投与後0~2, 2~4, 4~6及び6~24時間の胆汁を採取した。

6. 尿及び糞中抗菌活性代謝物の検索

SBTPC を経口投与して得られたラット及びイヌの0~6時間の尿、0~24時間の糞並びに SBTPC750mg の投与を受けた2名の健常人の2~4及び0~2時間の尿を試料とし、薄層クロマトグラフィー (TLC) -bioautograph 法により抗菌活性代謝物の検索を行った。

TLC は silica gel 60 F254 (Merck, プレコート板)、展開溶媒として酢酸エチル・酢酸・水 (5:1:1) を用いて行った。Bioautography は後述の bioassay 法における ABPC 及び SBT の2種の検定用培地を用いた。

7. 連続投与

1群4匹3群のラット (雄) を用い、SBTPC100mg/kg を1日1回21日間連日経口投与した。3群ラットを1群ずつ順に1, 2, 3日目の採血にあて、再び7, 14及び21日目に採血した。採血は投与後1時間に頸静脈より行い1回の採血量は0.6ml とし、血清を分離して試料とした。

同時に1, 2, 3, 7, 14及び21日目投与後0~24時間の尿及び投与初日の0~24時間の糞を採取した。

最終投与後1, 4及び24時間にそれぞれの群をエーテル麻醉下で採血屠殺し、臓器・組織を摘出した。

8. 蛋白結合率

(1) *In vitro*

健康男子並びにラット、ウサギ及びイヌの新鮮血清に ABPC 及び SBT をそれぞれ最終濃度20 μ g/ml または13.4 μ g/ml になるように添加し、37°C, 20分間インキュベート後 Amicon membrane cones CF50A (Amicon Far East Limited) を用い遠心限外濾過 (1000×G, 1時間) を行い、濾液中の薬物濃度 (a) を測定した。また、ヒト血清に sultamicillin hydrochloride を34 μ g/ml になるように添加したものについても検討した。対照として1/15M PBS (pH7.4) についても同様の操作を行い、得られた濾液中の薬物濃度 (b) を測定し、次式により蛋白結合率を算出した。

$$\text{蛋白結合率 (\%)} = (1 - a/b) \times 100$$

(2) *In vivo*

ビーグル犬 (雄) に SBTPC34mg/kg を経口投与し投

与後1及び2時間の血清についてABPC及びSBTと血清蛋白との結合率を限外濾過法により測定した。

(3)蛋白結合定数

4%ヒト血清アルブミン(HSA)溶液にABPC又はSBTを加え、それぞれABPC2400~18.75 μ g/ml, SBT1600~12.5 μ g/mlの溶液を調製した。37°C, 20分間インキュベートした後、遠心限外濾過法により得られた濾液中のABPC及びSBT濃度を測定した。またHSAに結合した薬物量を算出し、KLOTZの式を用いて結合定数(k)と最大結合数(n)を求めた。なおHSAの分子量は69000とした。また、ABPC, SBTのモル比1:1の共存下においても同様の実験を行った。

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{n \cdot k} \cdot C + \frac{1}{n} \quad (\text{KLOTZの式})$$

c: 遊離薬物濃度

r: アルブミン1分子当たり結合する薬物の結合量 (mole/mole)

k: 結合定数 (M⁻¹)

n: アルブミン1分子当たりの最大結合数

9. ラット granuloma pouch への移行

SEYLE³⁾の方法に準じ一群4匹のラット(雄)の背部にgranuloma pouchを作製した。すなわちラット背部皮下に20mlの空気を注入して空のうを作成し、さらに1%クロトン油を含有するオリーブ油1mlを注入して急性滲出性炎症を惹起した。炎症惹起2日後に空気を除去し、8日後にSBTPC100mg/kgを経口投与し、投与後0.5, 1, 2, 4及び6時間にエーテル麻酔下で採血屠殺後、滲出液を採取した。

10. 実験的肝及び腎障害ラット

(1)急性肝障害ラット

四塩化炭素(CCl₄, 和光純薬)1ml/kg, 3日間連日筋肉内投与し、最終投与後4日目に血清生化学検査により、明らかに障害を受けている動物を選択し、5日目に実験に供した。また、以下の障害ラットの場合も含めて健常群としては無処置で同環境下で飼育したものを用いた。なお、選択された1群5匹の被験ラット(雄)はGOT 172±15K. U., GPT 45±3 K. U. で健常時に比べ有意の上昇がみられ、病理組織学的検査では、小葉中心域の肝細胞に小さな脂肪空変性と、軽度の腫大及び中心静脈の軽度の拡張が認められた。

(2)慢性肝障害ラット

CCl₄とオリーブ油(和光純薬)の等量混合液2 ml/kg

を週2回, 13週間背部皮下に投与し、最終投与後4日目に同様の生化学検査を行い、7日目に実験に供した。

なお、1群5匹の被験ラット(雄)はGOT 1277±75 K. U., GPT 846±51K. U. で健常群に比べはるかに高い値を示し、病理組織学的検査では、肝細胞変性を伴う輪状肝硬変が認められ、肝小葉構造は不明瞭で、線維組織が増生して輪状に偽小葉を形成していた。肝細胞は散在性に変性壊死を示し、脂肪空胞がびまん性に見られた。

(3)急性腎障害ラット

塩化第二水銀(HgCl₂, 和光純薬)を生理食塩液に溶解し、1 mg/kg 背部皮下に1回投与し、投与後1日目に尿検査を行い、3日目に実験に供した。

なお、1群5匹の被験ラット(雄)は尿検査で蛋白300~2000mg/dl, ブドウ糖1~2%, ケトン体及び潜血陽性であり、病理組織学的検査では尿管は拡張し、尿管上皮はびまん性に高度の変性、壊死、脱落が見られた。下部の尿管腔には蛋白様円柱が認められた。

(4)馬杉型糸球体腎炎ラット

鈴木らの方法⁴⁾に従い、抗ラット腎ウサギ血清を作製し、得られた抗ラット腎ウサギ血清を体重100g当たり0.5ml, ラットの尾静脈内に投与して、馬杉型糸球体腎炎を誘発させた。抗血清投与後8日目に尿検査を行い、15日目に実験に供した。

なお、1群5匹の被験ラット(雄)は尿検査で蛋白2000mg/dl以上で潜血が認められ、病理組織学的検査では糸球体の腫大と係蹄の肥厚が見られ、尿管に蛋白様円柱が認められた。

これらの障害ラットにSBTPC100mg/kgを経口投与し、メタボリックケージに入れて飼育し、投与後0~0.5, 0.5~1及び1~2時間の尿を集め、5匹分を合わせて試料とした。また投与後0.5, 1, 2及び4時間にエーテル麻酔下で腹部大動脈より採血屠殺し血清を分離した。これとは別に1群5匹の障害ラットをメタボリックケージに入れて飼育し、薬物投与後2, 4及び6時間目に2 ml, 8時間目に7 mlの生理食塩液を経口負荷し、投与後2時間目以後の2~4, 4~6, 6~8及び8~24時間の尿試料を採取した。肝障害ラットについては別に胆管カニューレを施し、投与後0~24時間の胆汁を採取した。

一方、健常ラットについても同様の操作を行い、血清、尿、胆汁試料を採取した。

11. 定量法

(1)ABPC及びSBTのbioassay法

ABPCは *M. luteus* ATCC 9341, SBTは *E. coli*

273を検定菌とするペーパーディスク法によって行った(血中濃度検出限界: ABPC $0.03\mu\text{g/ml}$, SBT $0.4\mu\text{g/ml}$)。菌液は nutrient agar 平板から採取した *M. luteus* ATCC 9341または *E. coli* 273の1コロニーをそれぞれ brain heart infusion broth に接種し、それぞれ28°Cで48時間又は37°Cで一晩培養後、同 broth で希釈し分光光度計を用いて菌濃度 (*M. luteus* ATCC 9341: 波長650 nmの透過率25%, *E. coli* 273: 波長660nmの透過率75%)を調製し、作製した。

ABPCの定量には *M. luteus* ATCC 9341菌液を1.5%接種した antibiotic medium No.1, 7 ml, SBTの定量には *E. coli* 273菌液を1%接種し、かつ ABPC $80\mu\text{g/ml}$ 含有する brain heart infusion agar 培地10mlをそれぞれ直径9 cmのプラスチックシャーレに分注、固化させたのち、試料ディスクをのせ28°Cで18~20時間培養した。

各動物の血清試料の測定においてはそれぞれの動物のコントロール血清を、その他の体液及び組織試料の測定には0.1M PBS (pH7.0)を用いて標準曲線を作成した。また試料の希釈も同じくコントロール血清または0.1M PBS (pH7.0)を用いた。

一方、臓器・組織及び糞は3倍容の0.1M PBS (pH7.0)を加え、ホモジナイズ後遠心分離してその上清並びにその0.1M PBS (pH7.0)希釈液を分析に供した。

なお、以下の試験において ABPC, SBT の分析法について特に記載のないものは当 bioassay 法を用いた。

(2) SBT のガスクロマトグラフ (GC) 及びガスクロマトグラフ/質量分析 (GC-MS) 法

試料中微量の SBT はエーテル又は酢酸エチルにて抽出し、ジアゾメタンによるメチルエステル化の後、GC 又は GC-MS 法により測定した⁹⁾(血中濃度検出限界: GC $0.5\mu\text{g/ml}$, GC-MS $0.05\mu\text{g/ml}$)。

(3) SBTPC の蛍光測定法

加藤ら⁹⁾が ABPC 測定法として報告している蛍光測定法を準用し、*in vitro* 及び *in situ* 試験における試料中の SBTPC 又は ABPC を分離して測定した。測定方法は Fig. 2 に示したとおりである(血中濃度検出限界: SBTPC $0.1\mu\text{g/ml}$, ABPC $0.1\mu\text{g/ml}$)。

(4) PTS の高速液体クロマトグラフ (HPLC) 測定法

血清、尿、糞及び組織ホモジネート(3倍容の0.1M PBS, pH7.0によるホモジネート上清)試料をジクロロメタンで洗浄したのち、2% Tetrabutyl ammonium hydroxide (TBAH, pH6.0) 添加により PTS イオンペアーとしてジクロロメタンに抽出する。0.0005M

TBAH (pH4.5) で洗浄したのち溶媒を留去し HPLC 用移動相に溶解しカラムは μ -Bondapak C₁₈ 4 mm i. d. \times 30cm (Waters 社製)、移動相は0.005M TBAH (pH4.5): CH₃CN (3:1)、但し尿試料については0.005M TBAH (pH3.0): CH₃CN (3:1)、検出波長は220nmを用いる HPLC 法にて PTS 濃度を測定した。

II. 実験成績

1. Prodrug 効果

In vitro, *in situ* 試験により、生体内での加水分解部位、吸収部位について検討を加え、SBTPC の mutual prodrug としての効果について検討した。

(1)人工胃液、人工腸液及び小腸、肝臓ホモジネート並びに血清中での加水分解

SBTPC の人工胃液 (pH1.2) 及び人工腸液 (pH6.8) 中、37°Cでの加水分解半減期はそれぞれ7.5時間及び31分であった。

SBTPC を10%肝臓ホモジネート、10%小腸ホモジネート及び10%血清中37°Cでインキュベートしたときの加水分解率は Fig. 3 に示したとおりで、血清中での加水分解速度が最も早く、ついで肝臓、小腸の順であった。一方、加水分解はこれら組織の加熱処理により対照の0.1M PBS (pH7.4) 中での加水分解速度と同程度にまで抑制されることから、各組織でのエステラーゼの存在が示唆された。

SBTPC を各種動物及びヒトの全血清中37°Cで15秒間インキュベートし未変化 SBTPC の残存率を測定し、血中のエステラーゼ活性を比較した結果、ラット血中エステラーゼ活性が最も強く15秒間で全量が加水分解されたが、ヒトでは約20%が加水分解をうけ、イヌの場合に近似した (Table 1)。

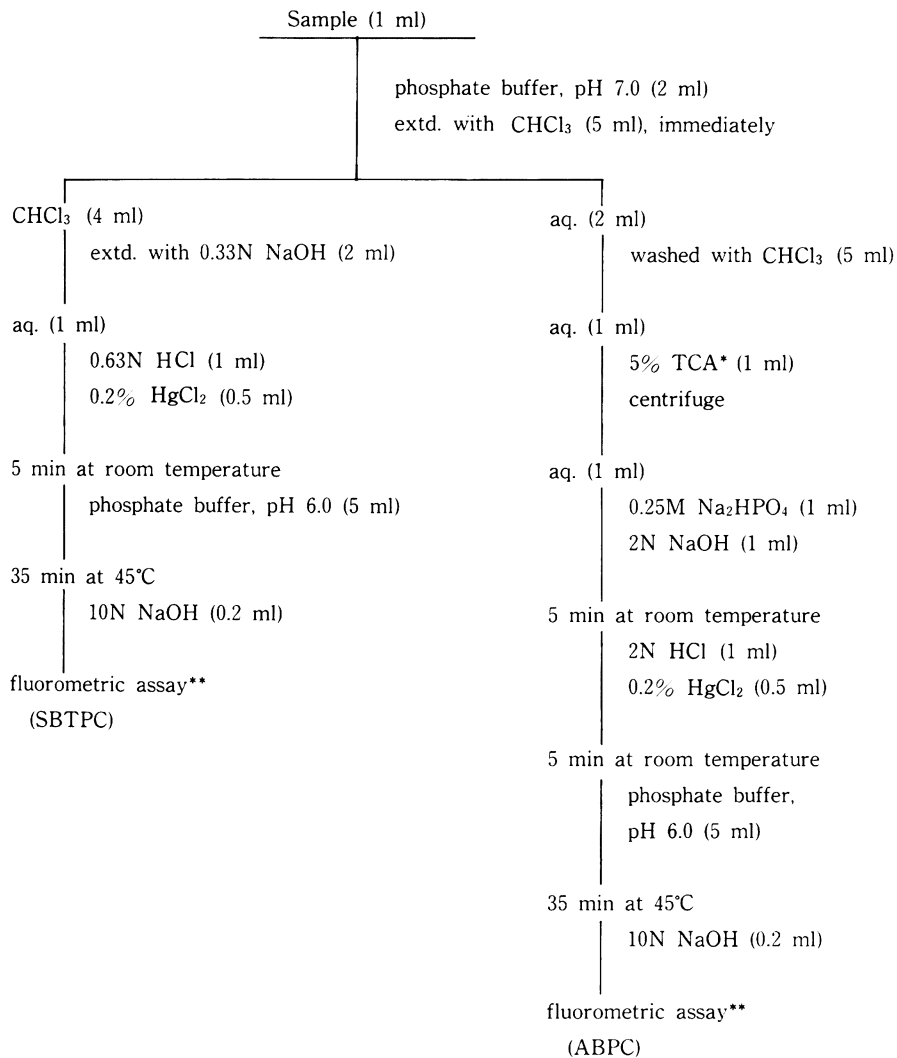
(2)吸収部位及び加水分解部位

ラットの胃、十二指腸、空腸及び回腸の結紮部分に SBTPC を注入投与し、経時的に血中濃度を測定した。十二指腸からの吸収が良好で空腸、回腸部での吸収もわずかに認められたが胃では全く吸収されなかった (Fig. 4)。なお、血中には ABPC, SBT として検出され、SBTPC は認められなかった。

イヌの十二指腸から空腸にかけての腸管結紮部分に SBTPC を注入投与し、門脈血及び末梢血中への薬物の移行を調べた (Fig. 5)。

門脈血中の ABPC 及び SBT 濃度は投与後20~30分まで速やかに上昇し、 $12\mu\text{g/ml}$ に達した。末梢血中濃度は門脈中濃度より低目で推移し、60分後にはほぼプラトー

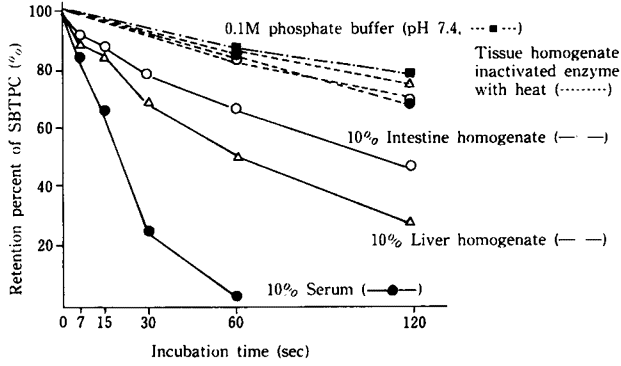
Fig. 2 Procedure of separatory determination of SBTPC and ABPC



* : Trichloroacetic acid

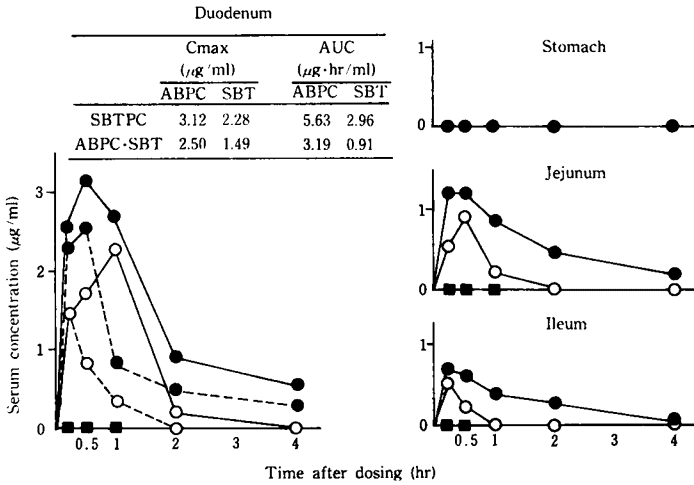
** : Fluorescence intensity was measured at 345 nm excitation wavelength and 420 nm emission wavelength.

Fig. 3 Hydrolysis of SBTPC in the rat serum or tissue homogenate



Drug concentration : 20 $\mu\text{g/ml}$
 Diluent : 0.1M phosphate buffer (pH 7.4)
 Incubation temp. : 37°C
 Assay method : Fluorometry

Fig. 4 Absorption of SBTPC and ABPC-SBT from gastrointestinal tracts in rats (n=4)



Drug concentration in the sera after intragastric injection of 20 mg/kg SBTPC (SBTPC —■—, ABPC —●—, SBT —○—) and of the combination of ABPC and SBT, 12 mg/kg and 8 mg/kg, respectively (ABPC ---●---, SBT ---○---).
 Assay method : Fluorometry (SBTPC), bioassay (ABPC, SBT)

に達した。一方、門脈血中には未変化体の SBTPC が投与後初期にわずかに検出された（その濃度は投与後20分の門脈血中 ABPC, SBT 濃度の総和：20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の1/20以下であった）が、末梢血中には全く認められなかった。

(3) Mutual prodrug 効果

ラットの反転腸管を SBTPC 又は相当量の ABPC, SBT を含む外液中に吊し、内液中への薬物移行を調べた結果、ABPC, SBT を併用した場合に比べて SBTPC では内液中の ABPC 及び SBT 濃度の経時的増加が著しかった。SBTPC は内液中に認められなかった (Fig. 6-a)。

SBTPC 又は相当量の ABPC, SBT をラット十二指腸の結紮部分に注入投与し、血中の ABPC, SBT 濃度を比較した結果、SBTPC 投与時の最高血中濃度 (Cmax) は ABPC, SBT 併用時の血中濃度より高く、血中濃度曲線下面積 (AUC) では ABPC で1.8倍、SBT で3.3倍高かった (Fig. 4)。

また、ラットに SBTPC100mg/kg 経口投与した時の Cmax (ABPC: 7.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$, SBT: 6.28 $\mu\text{g}/\text{ml}$) は相当量の ABPC 及び SBT を併用投与した場合 (ABPC: 3.66 $\mu\text{g}/\text{ml}$, SBT: 0.48 $\mu\text{g}/\text{ml}$) と比較して ABPC で2倍、SBT で13倍また AUC の比較では ABPC で1.7倍、SBT で9.6倍高い値を示した (Fig. 6-b)。

Table 1 Hydrolysis of SBTPC in the sera

Species	Retention % of SBTPC 15 sec. after incubation
Rat	< 1.0
Rabbit	38.3 \pm 4.5
Dog	56.1 \pm 5.0
Human	79.1 \pm 11.0

Drug concentration: 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Incubation temp. : 37°C
Assay method : Fluorometry

Fig. 5 Portal and peripheral blood concentrations of intact SBTPC, ABPC and SBT following intraduodenal administration of 34 mg/kg SBTPC to dogs

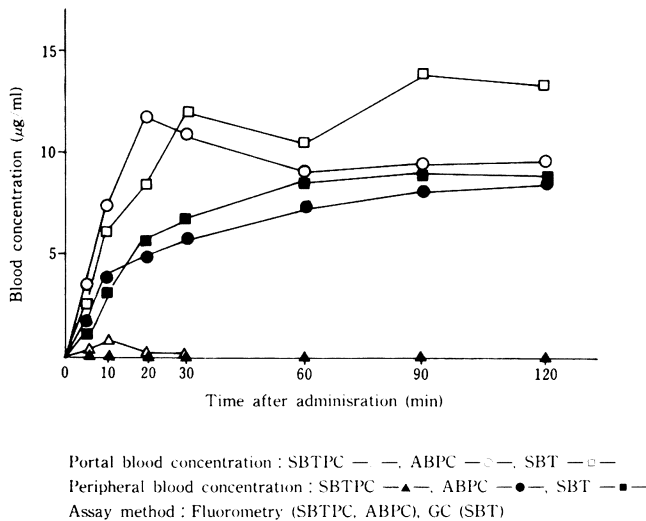


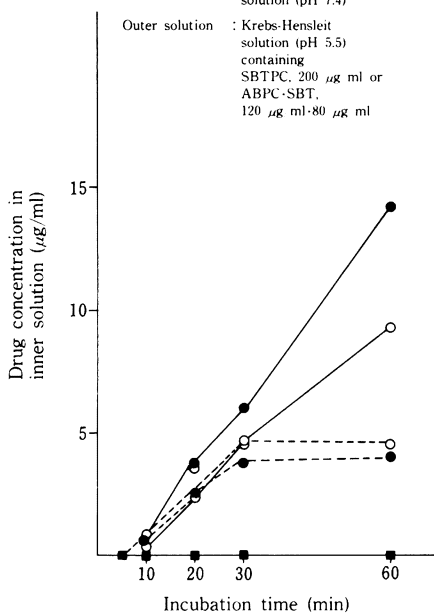
Fig. 6 Mutual prodrug effect of SBTPC

a) Permeability of SBTPC or ABPC-SBT into everted rat intestinal loop

Incubation temp.: 37°C

Inner solution : Krebs-Henseleit solution (pH 7.4)

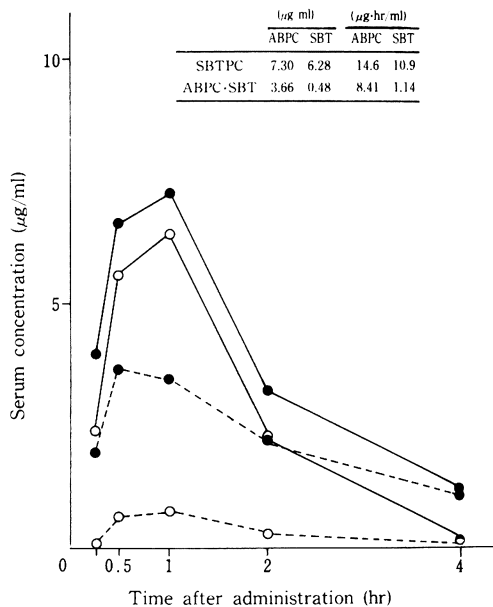
Outer solution : Krebs-Henseleit solution (pH 5.5) containing SBTPC, 200 μ R ml or ABPC-SBT, 120 μ R ml:80 μ R ml



Assay method : Same as in Fig. 5

b) Serum concentrations of ABPC and SBT after oral administration of 100 mg/kg SBTPC or the combination of ABPC and SBT at the equivalent dose to rats (n = 4)

	Cmax		AUC	
	(μ g/ml)		(μ g-hr/ml)	
	ABPC	SBT	ABPC	SBT
SBTPC	7.30	6.28	14.6	10.9
ABPC-SBT	3.66	0.48	8.41	1.14



Assay method : Bioassay (ABPC, SBT), GC-MS (SBT)

Drug concentration

(using SBTPC : —, using ABPC-SBT : - - - - , SBTPC : ■, ABPC : ●, SBT : ○)

2. 動物における検討

(1) 血中濃度

1) ラット

ラット(雄)に SBTPC 25, 50又は100mg/kg を経口投与した時の血中濃度の推移を Fig. 7に示した。

ABPC及び SBTの Cmaxは共に投与後0.5~1時間にみられ、25, 50又は100mg/kg投与でそれぞれ ABPCで2.90, 3.98, 7.30 μ g/ml, SBTで2.02, 3.81, 6.28 μ g/mlであり、SBTPCの投与量にほぼ依存した。以後血中 ABPC, SBT濃度は経時的に減少し血中濃度半減期($t_{1/2}$)は ABPCで約60分, SBTで約50分であり、ほぼ並行して推移した。

また SBTPC100mg/kgを投与した雌ラットの血中 ABPC, SBT濃度は投与後0.5時間にピーク(それぞれ 6.95, 7.33 μ g/ml)に達し、 $t_{1/2}$ はそれぞれ約65分, 43分であり、雄とほぼ同様の血中濃度推移を示した。

2) イヌ

イヌに SBTPC 25及び50mg/kg を経口投与した時の血中濃度推移を Fig. 8に示した。

25mg/kgと50mg/kg経口投与後の ABPC, SBTの血中濃度は0.5~1時間でピークに達し、それぞれ ABPCで6.0, 11.0 μ g/ml, SBTで8.1, 11.8 μ g/mlであった。 $T_{1/2}$ は ABPCで約80分, SBTで約70分であった。

Fig. 7 Serum concentrations of ABPC, SBT or PTS after a single oral administration of SBTPC to rats (n=4)

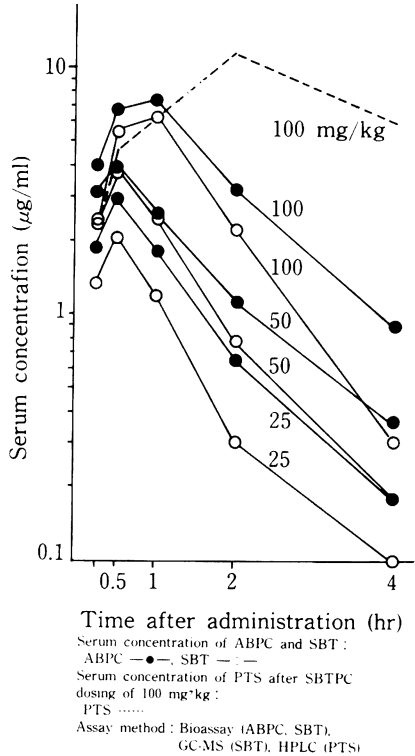
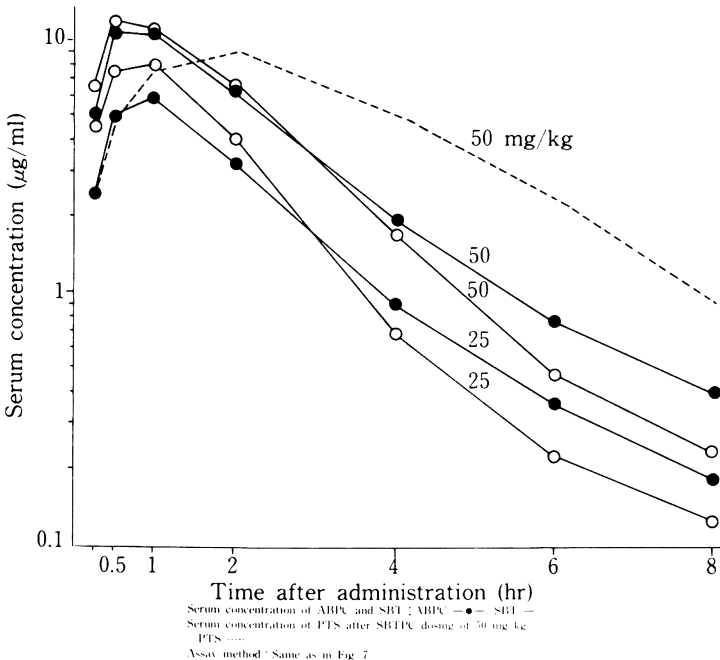


Fig. 8 Serum concentrations of ABPC, SBT and PTS after a single oral administration of SBTPC to dogs (n=4)



(2)分布

1)臓器・組織内濃度

ラットに SBTPC100mg/kg を経口投与した時の血中及び臓器・組織内濃度を Table 2 に示した。

ABPC, SBT 濃度共にほとんどの臓器・組織及び血中で投与後0.5時間に既にピークを示し、以後血中濃度の減衰につれて臓器・組織内濃度も同様な減衰を示し、24時間後にはすべての臓器・組織で検出限界以下であった。ピーク時に高濃度を示した臓器は ABPC で肝臓 (71.3 $\mu\text{g/g}$), 腎臓 (32.0 $\mu\text{g/g}$), 血清 (6.50 $\mu\text{g/ml}$), SBT で腎臓 (47.5 $\mu\text{g/g}$), 肝臓 (18.9 $\mu\text{g/g}$), 血清 (8.62 $\mu\text{g/ml}$) の順であり、肺臓及び皮膚においても比較的高い分布を示したが、脳への分布は極めて低かった。

ラットに SBTPC85mg/kg (ABPC として 50mg/kg, SBT として 35mg/kg) を経口投与した時の血中及び臓器内濃度を BAPC66.7mg/kg (ABPC として 50mg/kg) 投与の場合と比較して Fig. 9 に示した。SBTPC 投与時の ABPC 及び SBT の分布及び減衰パターンは上述の 100mg/kg 投与の場合と同様であった。

また、BAPC 投与及び SBTPC 投与時の ABPC の分布傾向はほぼ同じであった。

2)ラット granuloma pouch への移行

炎症 pouch を作製したラットに SBTPC100mg/kg を経口投与したときの血中及び滲出液中の ABPC 及び SBT 濃度を測定した (Fig. 10)。

ABPC 及び SBT の pouch への移行は良好で、投与後ほぼ 1 時間で滲出液中濃度はピークに達した。2 時間値もほぼ同等の値を示し、それぞれ 2.5 及び 1.5 $\mu\text{g/ml}$ であり、以後も緩やかな減衰を示した。その半減期は ABPC で 2.5 時間、SBT で 1.4 時間であり、投与後 2 時間以後は血中濃度よりも高く、持続性を示した。

(3)排泄

1)ラットにおける尿、糞及び胆汁排泄

ラットに SBTPC50mg/kg を経口投与したときの尿、糞中への薬物排泄濃度及び排泄率を Table 3 に示した。投与後 0 ~ 96 時間の ABPC の排泄率は尿で 18.5%, 糞で 5.3%, 総排泄率は 23.8% であった。一方 SBT の排泄率は尿で 31.8%, 糞で 22.8%, 総排泄率は 54.6% であった。

ラットに SBTPC100mg/kg を経口投与したときの胆汁中排泄率を Table 4 に示した。投与後 0 ~ 24 時間に ABPC で約 2%, SBT で約 0.1% が排泄された。

2)イヌにおける尿、糞中排泄

イヌに SBTPC50mg/kg 経口投与した時の ABPC

及び SBT の尿及び糞中排泄率を Table 5 に示した。投与後 24 時間までの尿中に ABPC 及び SBT はそれぞれ 14.5 及び 37.0%, また糞中に 3.6 及び 20.2% が排泄された。ABPC 及び SBT の総排泄率はそれぞれ 18.1, 57.2% であった。2 日目以後の尿、糞中には ABPC, SBT 共に検出されなかった。

(4)尿及び糞中抗菌活性代謝物の検索

SBTPC 投与をうけたヒトの尿並びにラット及びイヌの尿及び糞について TLC-bioautograph 法により、抗菌活性代謝物を検索した。ラットの尿及び糞中には ABPC, SBT 以外の抗菌活性代謝物の阻止円は検出されなかった (Fig. 11)。またヒトの尿及びイヌの尿、糞についても同様の結果が得られた。

(5)連続投与

ラットに SBTPC100mg/kg を 1 日 1 回、21 日間連日経口投与した結果、毎回投与後 1 時間の血中 ABPC 及び SBT 濃度は 21 日間を通じてそれぞれ 5.0 ~ 6.2 $\mu\text{g/ml}$, 4.1 ~ 5.8 $\mu\text{g/ml}$ でほぼ一定の濃度で推移した (Fig. 12)。また、1 回投与量に対する 1 日の尿中排泄率は連続投与期間を通じて ABPC 17 ~ 24%, SBT 14 ~ 19% とほぼ一定であった (Fig. 13)。最終投与後の臓器・組織内濃度は単回投与の場合とほぼ同等でかつ同様の減衰パターンを示し、蓄積性は認められなかった (Table 6)。

(6)蛋白結合

1)蛋白結合率

ABPC 及び SBT のヒト並びに各種実験動物の血清蛋白に対する結合率を Table 7-1) に示した。ABPC・SBT 当モル共存下の蛋白結合率は ABPC の場合、ヒト及びいづれの動物においても約 30% であった。一方 SBT の場合、ヒト、イヌ、ウサギで約 30%, ラットで 53.3% であった。また、それぞれ単独の蛋白結合率は ABPC・SBT 共存下の値とほぼ同じであった。なお、SBTPC をヒト血清に添加して測定した ABPC, SBT の蛋白結合率は ABPC, SBT それぞれ単独及び共存下の蛋白結合率とかわらなかった。イヌに SBTPC34mg/kg を経口投与した時の投与後 1 及び 2 時間の血清について ABPC 及び SBT の血清濃度と、限外濾過法により測定した血清蛋白結合率を Table 7-2) に示した。投与後 1 ~ 2 時間の ABPC, SBT の血中濃度はともに 4 ~ 6 $\mu\text{g/ml}$ であり、蛋白結合率は約 30% を示し、ABPC・SBT 共存下の *in vitro* 血清蛋白結合率と大差なかった。

2)蛋白結合定数

ABPC・SBT 共存下及びそれぞれ単独で使用した場

Table 2 Tissue distribution of ABPC and SBT after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC to rats

Drug	Tissue	Concentration ($\mu\text{g/g}$ or ml)					
		0.5	1	2	4	6	24 (hr)
ABPC	Brain	0.19 \pm 0.00	0.13 \pm 0.00	0.16 \pm 0.10	ND	ND	ND
	Heart	1.08 \pm 0.08	1.05 \pm 0.10	0.62 \pm 0.08	0.17 \pm 0.00	0.05 \pm 0.00	ND
	Lung	5.83 \pm 2.72	2.23 \pm 0.16	0.63 \pm 0.06	0.28 \pm 0.00	0.07 \pm 0.00	ND
	Liver	71.3 \pm 8.69	53.8 \pm 3.89	15.8 \pm 1.11	3.53 \pm 0.16	0.37 \pm 0.12	ND
	Kidney	32.0 \pm 5.63	19.9 \pm 4.06	2.56 \pm 0.70	0.50 \pm 0.08	0.10 \pm 0.00	ND
	Spleen	1.30 \pm 0.24	0.85 \pm 0.13	0.35 \pm 0.06	0.19 \pm 0.06	0.03 \pm 0.00	ND
	Muscle	0.55 \pm 0.06	0.75 \pm 0.10	0.54 \pm 0.13	0.18 \pm 0.08	ND	ND
	Fat	1.00 \pm 0.08	1.13 \pm 0.12	0.54 \pm 0.10	0.36 \pm 0.21	0.01 \pm 0.00	ND
	Salivary glands	1.25 \pm 0.27	1.08 \pm 0.10	0.43 \pm 0.06	0.28 \pm 0.10	0.09 \pm 0.08	ND
	Thymus	0.70 \pm 0.17	0.85 \pm 0.17	0.28 \pm 0.00	0.07 \pm 0.00	0.05 \pm 0.06	ND
	Eye	3.10	0.40	0.44	0.16	ND	ND
	Testis	0.34 \pm 0.10	0.40 \pm 0.00	0.21 \pm 0.00	0.07 \pm 0.00	ND	ND
	Skin	1.58 \pm 0.27	2.90 \pm 0.49	0.73 \pm 0.06	0.33 \pm 0.00	0.09 \pm 0.06	ND
	Serum	6.50 \pm 0.65	5.93 \pm 0.66	2.03 \pm 0.14	0.50 \pm 0.13	0.11 \pm 0.06	ND
SBT	Brain	0.14 \pm 0.00	0.08 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	ND	ND	ND
	Heart	2.44 \pm 0.18	1.63 \pm 0.19	0.35 \pm 0.00	0.04 \pm 0.00	ND	ND
	Lung	4.79 \pm 1.18	2.94 \pm 0.33	0.66 \pm 0.06	0.08 \pm 0.00	ND	ND
	Liver	18.9 \pm 4.05	11.5 \pm 0.59	2.50 \pm 0.25	0.31 \pm 0.12	0.10 \pm 0.06	ND
	Kidney	47.5 \pm 6.24	30.2 \pm 5.37	4.56 \pm 1.17	0.35 \pm 0.00	ND	ND
	Spleen	2.41 \pm 0.25	1.49 \pm 0.10	0.59 \pm 0.12	0.10 \pm 0.00	ND	ND
	Muscle	1.19 \pm 0.10	0.89 \pm 0.03	0.37 \pm 0.08	ND	ND	ND
	Fat	2.04 \pm 0.27	1.19 \pm 0.08	0.57 \pm 0.14	0.14 \pm 0.08	ND	ND
	Salivary glands	3.68 \pm 0.31	1.78 \pm 0.15	0.43 \pm 0.10	0.29 \pm 0.14	ND	ND
	Thymus	1.43 \pm 0.17	0.94 \pm 0.13	0.40 \pm 0.08	0.17 \pm 0.06	ND	ND
	Eye	2.52	1.30	0.39	0.10	ND	ND
	Testis	0.68 \pm 0.12	0.56 \pm 0.06	0.30 \pm 0.00	0.15 \pm 0.00	ND	ND
	Skin	4.54 \pm 0.47	3.58 \pm 0.28	0.87 \pm 0.12	0.18 \pm 0.06	ND	ND
	Serum	8.62 \pm 1.09	5.78 \pm 0.30	0.93 \pm 0.10	0.22 \pm 0.04	0.08 \pm 0.03	ND

The data represent mean \pm S.E. of 4 animals.

ND : Not detectable

Assay method : Bioassay (ABPC, SBT), GC-MS (SBT)

Fig. 9 Tissue distribution of ABPC and SBT after a single oral administration of 85 mg/kg SBTPC or 66.7 mg/kg BAPC to rats (n=3)
 (Both dose : 50 mg potency as ABPC/kg. Administration drug : SBTPC —, BAPC - - - -)

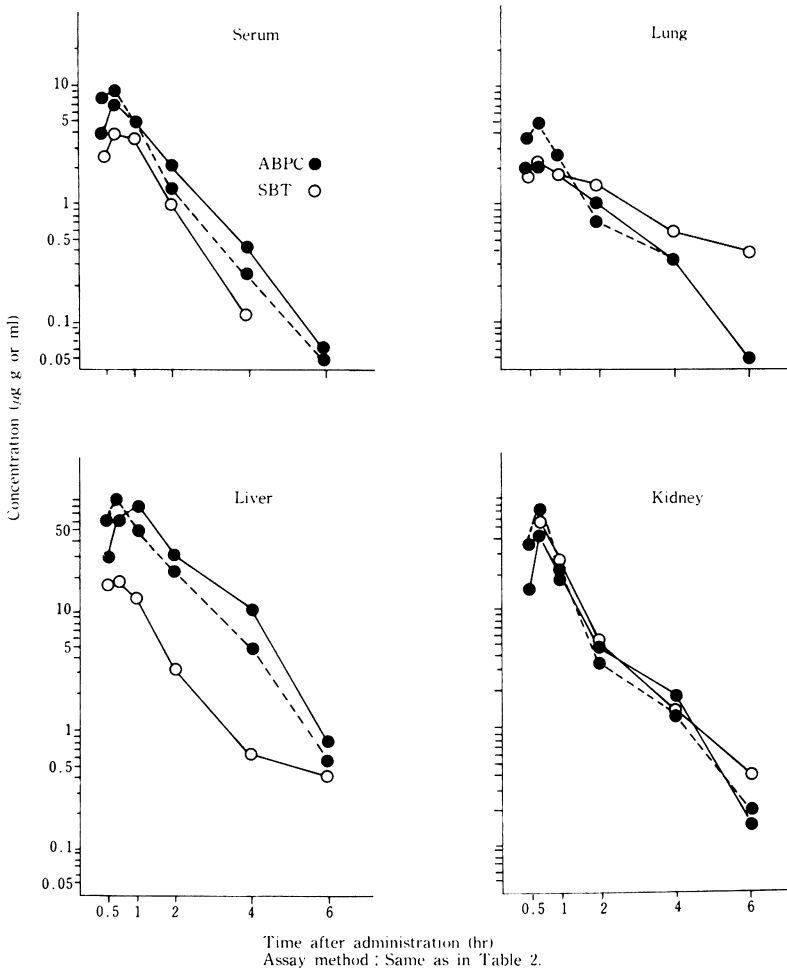


Table 3 Urinary and fecal excretion of ABPC and SBT after a single oral administration of 50 mg/kg SBTPC to rats

Time (hr)	ABPC				SBT			
	Urine		Feces		Urine		Feces	
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/g}$	%
0 - 6	301.5 ± 77.4	13.5 ± 3.46			355.3 ± 22.4	19.2 ± 2.04		
(0 - 24)			47.3 ± 16.0	4.64 ± 0.98			99.6 ± 33.3	14.9 ± 3.52
6 - 24	37.2 ± 22.0	4.69 ± 3.09			56.3 ± 14.8	11.7 ± 3.42		
24 - 48	1.61 ± 0.7	0.23 ± 0.1	2.47 ± 0.59	0.52 ± 0.11	2.69 ± 1.03	0.58 ± 0.18	16.9 ± 3.24	5.36 ± 1.29
48 - 72	0.72 ± 0.62	0.09 ± 0.07	0.59 ± 0.55	0.17 ± 0.16	1.52 ± 1.36	0.28 ± 0.23	4.43 ± 2.74	2.34 ± 1.22
72 - 96	0.05 ± 0.05	0.01 ± 0.0	ND	0	0.17 ± 0.17	0.03 ± 0.03	0.68 ± 0.43	0.22 ± 0.15
Total		18.5 ± 0.57		5.33 ± 1.15		31.8 ± 2.73		22.8 ± 4.46
Total recovery from urine and feces		23.8 ± 0.88				54.6 ± 3.77		

The data represent mean \pm S.E. of 5 animals.

ND : Not detectable

Assay method : Bioassay

Fig. 10 Exudate concentrations of ABPC and SBT in rat pouches after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC (n=4)

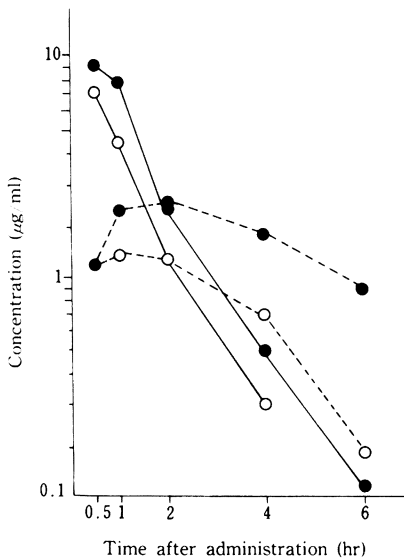


Table 4 Biliary excretion of ABPC and SBT after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC to rats

Time (hr)	ABPC		SBT	
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%
0 - 2	10.7 ± 9.8	0.05 ± 0.05	0.72 ± 0.72	0.01 ± 0
2 - 4	16.4 ± 6.0	0.11 ± 0.05	0.64 ± 0.40	0.01 ± 0
4 - 6	32.9 ± 6.9	0.20 ± 0.07	1.22 ± 0.07	0.01 ± 0
6 - 24	24.7 ± 7.1	1.41 ± 0.57	0.95 ± 0.73	0.09 ± 0.09
Total recover from bile	1.77 ± 0.59		0.12 ± 0.07	

The data represent mean \pm S.E. of 5 animals.

Assay method : Bioassay

Serum concentration : ABPC —●—, SBT —○—
 Exudate concentration : ABPC ---●---, SBT ---○---
 Assay method : Same as in Table 2.

Table 5 Urinary and fecal excretion of ABPC and SBT after a single oral administration of 50 mg/kg SBTPC to dogs

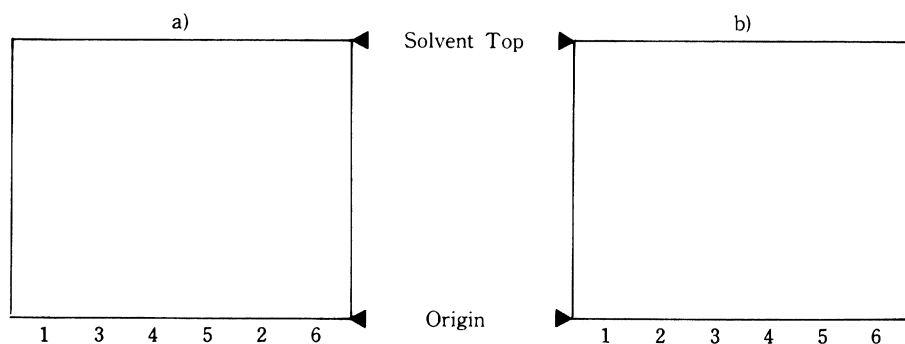
Time (hr)	ABPC				SBT			
	Urine		Feces		Urine		Feces	
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/g}$	%
0 - 6	293.8 ± 157.6	13.0 ± 1.5			511.8 ± 311.9	30.9 ± 6.1		
(0 - 24)			48.3 ± 27.9	3.6 ± 1.1			169.6 ± 40.4	20.2 ± 4.5
6 - 24	14.3 ± 6.7	1.5 ± 0.9			42.6 ± 10.2	6.1 ± 2.1		
24 - 28	ND	0	ND	0	ND	0	ND	0
Total		14.5 ± 2.0		3.6 ± 1.1		37.0 ± 7.4		20.2 ± 4.5
Total recovery from urine and feces			18.1 ± 0.8				57.2 ± 6.0	

The data represent mean \pm S.E. of 4 animals.

ND : Not detectable

Assay method . Bioassay

Fig. 11 Bioautograms of urine samples obtained after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC to rat



Conditions

TLC-plate : Silicagel 60 F₂₅₄ (Merck, precoated)

Mobile phase : Ethyl acetate : Acetic acid : Water (5 : 1 : 1)

Test organism : a) *M. luteus* ATCC 9341 in Antibiotic medium No.1

b) *E. coli* 273 in BHI agar containing ABPC (80 $\mu\text{g/ml}$)

Application sample

	a)	b)
1. SBT standard (10 mg/ml)	1 μl	(10 mg/ml) 1 μl
2. SBTPC standard (1 mg/ml)	1 μl	(10 mg/ml) 1 μl
3. Urine before administration	2 μl	2 μl
4. Urine after administration, 0-6 (1)	1 μl	5 μl
5. Urine after administration, 0-6 (2)	1 μl	5 μl
6. ABPC standard (0.1 mg/ml)	2 μl	(0.1 mg/ml) 2 μl

Fig. 12 Serum concentrations of ABPC and SBT during 21-day repeated oral administration of 100 mg/kg/day SBTPC to rats

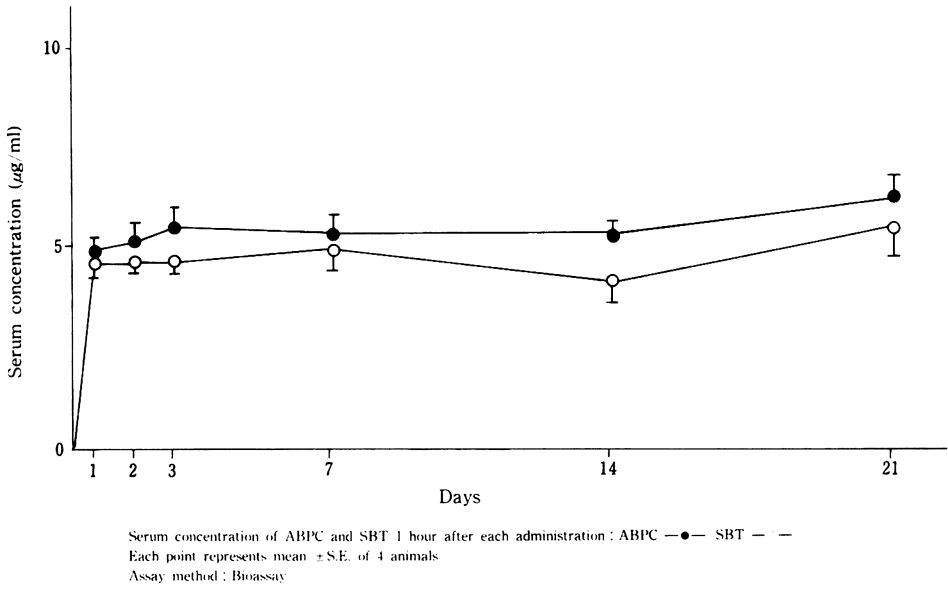


Fig. 13 Urinary excretion of ABPC and SBT during 21-day repeated oral administration 100 mg/kg/day SBTPC to rats

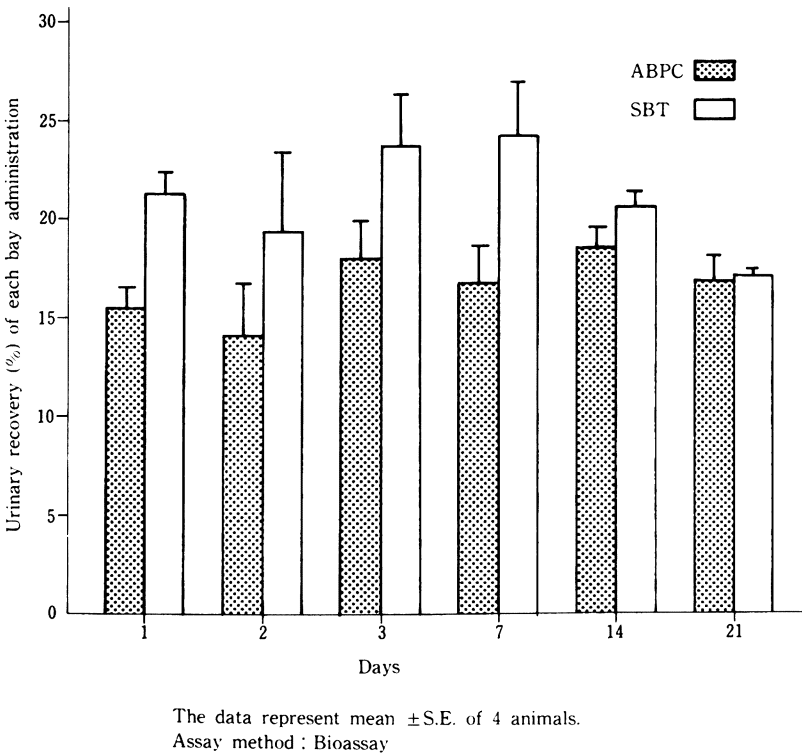


Table 6 Tissue distribution of ABPC and SBT after 21-day repeated oral administration of 100 mg/kg/day SBTPC to rats

Tissue	ABPC			SBT		
	1	4	24	1	4	24 (hr)
Brain	0.51 ± 0.15	0.05 ± 0.02	ND	0.39 ± 0.05	0.09 ± 0.01	ND
Heart	2.33 ± 0.72	0.28 ± 0.05	ND	1.51 ± 0.20	0.14 ± 0.01	ND
Lung	1.63 ± 0.45	0.26 ± 0.03	ND	1.79 ± 0.32	0.14 ± 0.01	ND
Liver	55.6 ± 4.83	9.50 ± 1.50	ND	8.09 ± 0.92	0.38 ± 0.10	ND
Kidney	8.70 ± 2.52	1.28 ± 0.19	ND	15.8 ± 3.34	0.80 ± 0.14	ND
Spleen	1.20 ± 0.29	0.22 ± 0.01	ND	1.30 ± 0.18	0.14 ± 0.02	ND
Muscle	1.32 ± 0.40	0.15 ± 0.01	ND	0.35 ± 0.04	0.07 ± 0.01	ND
Fat	1.35 ± 0.39	0.23 ± 0.08	ND	0.82 ± 0.16	0.05 ± 0.02	ND
Salivary glands	0.93 ± 0.08	0.18 ± 0.05	ND	1.50 ± 0.21	0.10 ± 0.01	ND
Thymus	0.75 ± 0.05	0.19 ± 0.01	ND	0.82 ± 0.08	0.11 ± 0.02	ND
Eye	1.10	0.24	ND	1.39	0.16	ND
Testis	0.75 ± 0.15	0.18 ± 0.05	ND	0.67 ± 0.12	0.29 ± 0.04	ND
Skin	3.20 ± 0.19	0.39 ± 0.06	ND	2.64 ± 0.18	0.21 ± 0.03	ND
Serum	6.00 ± 0.41	0.61 ± 0.11	ND	5.73 ± 0.58	0.26 ± 0.04	ND

The data represent mean ± S.E. of 4 animals.

ND : Not detectable

Assay method : Same as in Table 2

Table 7 Protein binding of ABPC and SBT with human and animal sera

1) *in vitro*

	Binding rates (%)			
	ABPC	ABPC · SBT* (SBTPC**)		SBT
		ABPC	SBT	
Rat	34.0	24.8	53.3	56.3
Rabbit	33.7	31.4	30.3	28.6
Dog	28.2	29.4	26.7	29.6
Human	24.0	31.8	28.8	29.3
		(25.6)	(29.2)	

Drug concentration:

* : ABPC · SBT 20 µg/ml · 13.4 µg/ml

** : SBTPC 34 µg/ml

Incubation: 37°C, 20 min

Centrifugal ultrafiltration method

(Amicon CF-50A, 1000 × G, 1 hr)

2) *in vivo* (dog)

Sampling Time (hr)	Binding rates (%)		Concentration (µg/ml)	
	ABPC	SBT	ABPC	SBT
1	36.6 ± 5.0	35.0 ± 7.5	4.8 ± 0.4	6.3 ± 0.6
2	28.4 ± 3.0	33.6 ± 3.6	4.2 ± 1.0	4.9 ± 1.1

The data represent mean ± S.E. of 3 animals.

Assay method : Bioassay

合の4% HSAに対する ABPC 及び SBT の結合定数 (K) 及び最大結合数 (n) を求め Table 8 に示した。共存下の ABPC 及び SBT の結合定数はそれぞれ 1.01×10^3 , 3.36×10^2 で ABPC の方がやや高い値を示し、最大結合数はそれぞれ 0.80, 2.61 であり、ABPC 及び SBT 単独時の結合定数及び最大結合数とはほぼ同じであった。

3. 実験的肝及び腎障害ラット

(1) 肝障害ラット

四塩化炭素で惹起させた肝障害ラットに SBTPC100 mg/kg を経口投与し、ABPC 及び SBT の血中、尿中及び胆汁中濃度を健常ラット (無処置) と比較検討した (Fig. 14, 15)。

急性肝障害ラットでは ABPC の血中濃度は健常群より低い傾向を示したが、SBT の血中濃度は健常群とほとんど差はなかった。尿中排泄率では ABPC, SBT とともに障害群が健常群より高い値を示した。慢性肝障害ラットでは、ABPC, SBT とともに健常群より低い血中濃度を示し、尿中排泄率は両薬物ともほぼ同様の結果であった。

ABPC, SBT の胆汁中への排泄はいずれの群でもわずかであったが、慢性肝障害ラットで ABPC の排泄が健常群に比べ低い傾向を示した。

(2) 腎障害ラット

塩化第二水銀惹起急性腎障害ラット及び馬杉型糸球体腎炎ラットに SBTPC100 mg/kg を経口投与し、ABPC 及び SBT の血中及び尿中濃度を健常ラット (無処置) と比較した (Fig. 16, 17)。

急性腎障害ラットでは ABPC, SBT とともに健常ラットより高い血中濃度を示し、投与後初期の両薬物の尿中への排泄抑制がみられた。

馬杉型糸球体腎炎ラットでは、ABPC 及び SBT の血中濃度は、健常群に比べ高い値を示し、両薬物の尿中排泄は健常群に比べ、わずかに低い傾向を示した。

4. *p*-Toluenesulfonic acid (PTS) の生体内動態
前述の SBTPC の生体内動態に関する一部の実験については SBTPC 投与時の ABPC, SBT の体液及び組織内濃度測定に加え、sultamicillin の塩として用いた PTS の濃度を測定し、PTS の生体内動態を調べた。

(1) 血中濃度

SBTPC100 mg/kg 投与をうけたラット及び 50 mg/kg 投与をうけたイヌの血中 PTS 濃度をそれぞれ Fig. 7, 8 及び Table 9 に示した。ABPC, SBT に比べ、最高血中濃度到達時間 (Tmax) が遅く (ラット: Tmax 2 時間; Cmax 11.1 又は 12.3 $\mu\text{g/ml}$, イヌ: Tmax 2 時間; Cmax 8.87 $\mu\text{g/ml}$), 血中濃度の減衰はやや緩慢であった (ラット: $t_{1/2}$ 60 分, イヌ: $t_{1/2}$ 約 100 分)。

(2) 臓器・組織内濃度

SBTPC100 mg/kg を投与したラットの臓器・組織内 PTS 濃度は大部分の臓器・組織で 2 時間に最高濃度に到達し、血中濃度とほぼ同様の推移を示した (Table 9)。腎臓で血中濃度より高い分布を示したが、他の臓器・組織への分布は低かった。またラットに 21 日間連続投与した試験の最終投与後の臓器・組織内分布は単回投与時とほぼ同等で、特定臓器・組織への蓄積傾向もみられなかった。減衰は速やかで、24 時間目にはすべての組織から PTS の消失が確認された。

(3) 排泄

ラットに PTS200 mg/kg 経口投与した時の尿中及び糞中排泄率を Table 10 に示した。PTS は投与後 24 時間までに尿中に 87.0%, 糞中に 1.2% 排泄された。投与後 96

Table 8 Binding constant and maximum binding number of ABPC and SBT

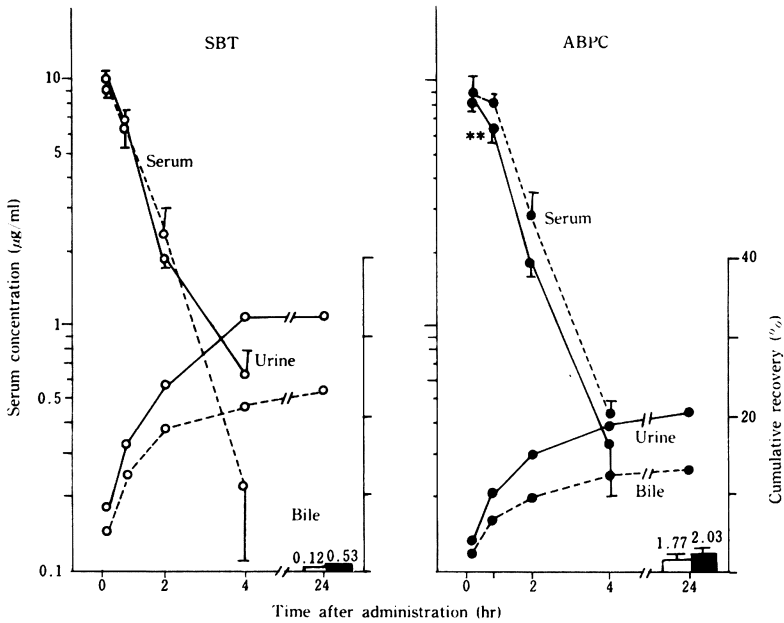
Drugs	Binding constant K (M^{-1})	Maximum binding number n
ABPC·SBT co-existence		
ABPC	1.01×10^3	0.80
SBT	3.36×10^2	2.61
ABPC alone	2.14×10^3	0.60
SBT alone	2.18×10^2	2.28

Human serum albumin concentration: 4% ($5.8 \times 10^{-4} \text{M}$)

Method: Centrifugal ultrafiltration (Amicon CF-50A, 1000 \times G, 1 hr)

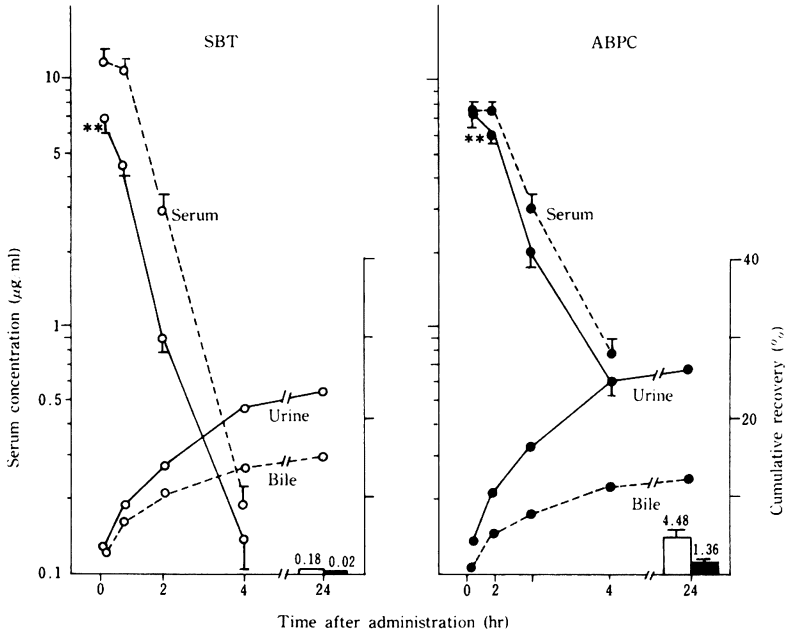
Assay method: Bioassay

Fig. 14 Serum concentrations and urinary and biliary excretion after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC to normal rats or CCl₄-induced acute liver damage rats



— Acute liver damage rats
 - - - Normal rats
 ■ Acute liver damage rats
 □ Normal rats
 I Mean ± S.E. (n = 5)
 ** Significance (P < 0.01)
 Assay method: Same as in Table 2

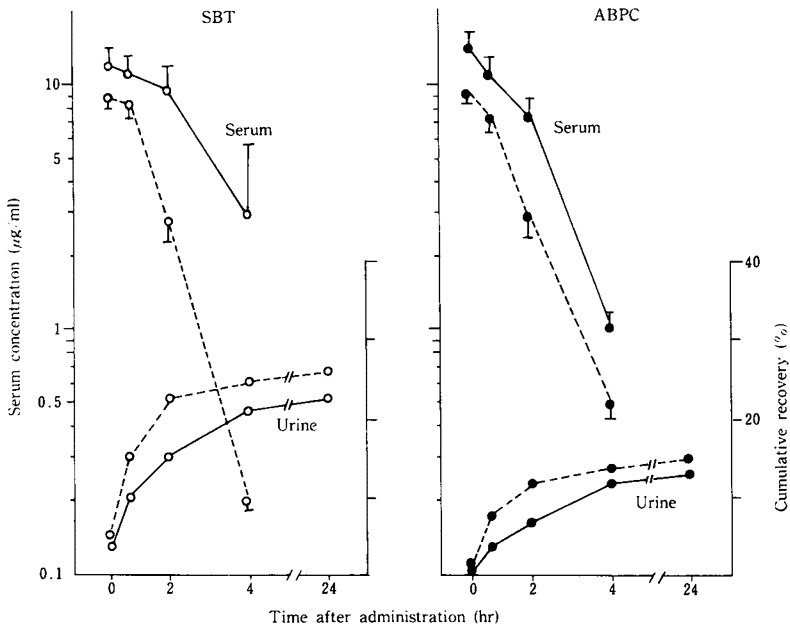
Fig. 15 Serum concentrations and urinary and biliary excretion after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC to normal rats or CCl₄-induced chronic liver damage rats



— Chronic liver damage rats
 - - - Normal rats
 ■ Chronic liver damage rats
 □ Normal rats
 I Mean ± S.E. (n=5)
 ** Significance (P<0.01)

Assay method : Same as in Table 2.

Fig. 16 Serum concentrations and urinary excretion after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC to normal rats or HgCl₂-induced acute renal failure rats



— Acute renal failure rats
 - - - Normal rats
 I Mean ± S.E. (n=5)
 Assay method : Same as in Table 2.

Fig. 17 Serum concentrations and urinary excretion after a single oral administration of 100 mg/kg SBTPC to normal rats or Masugi-type glomerulonephritis rats

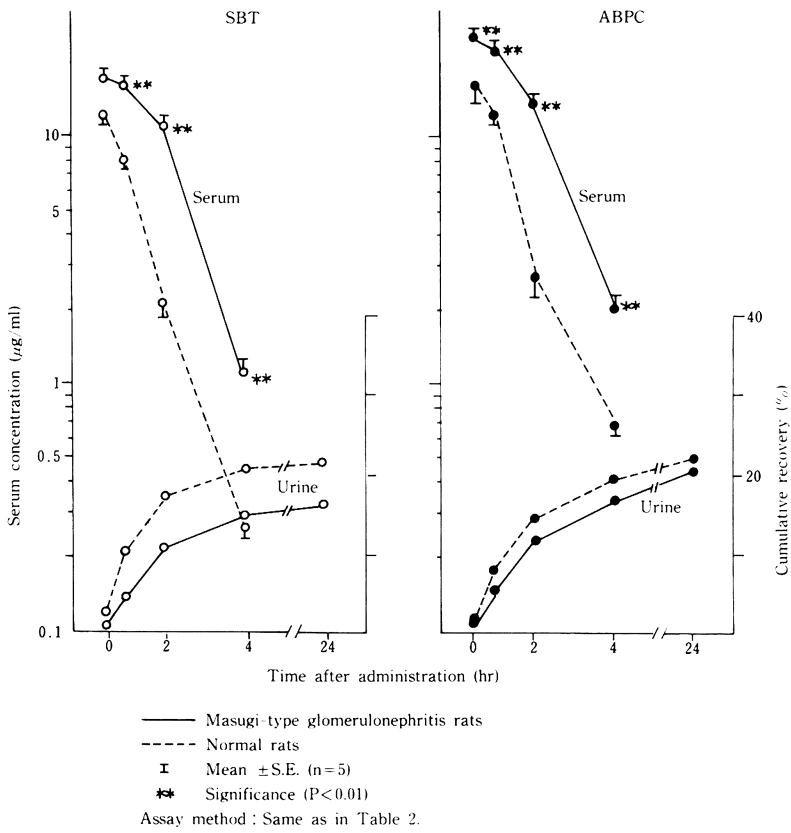


Table 9 Tissue distribution of PTS after single or 21-day repeated oral administration of 100 mg/kg/day SBTPC to rats

	($\mu\text{g/g}$ or ml)						
	Single administration					21-day repeated administration	
	Time after administration					Time after the last administration	
	0.5	1	2	4	6	1	4 (hr)
Brain	0.55±0.19	ND	ND	ND	ND	0.42±0.28	ND
Heart	0.89±0.07	1.41±0.10	2.37±0.48	1.02±0.08	0.11±0.11	1.55±0.10	0.68±0.07
Lung	3.28±1.17	2.28±0.37	2.97±0.60	2.00±0.49	ND	1.95±0.62	0.53±0.15
Liver	2.93±1.89	1.18±0.22	2.34±0.49	ND	ND	1.66±0.30	ND
Kidney	11.7 ±2.02	19.5 ±3.99	33.9 ±10.1	12.0 ±3.03	1.23±0.57	33.5 ±4.16	14.3 ±2.38
Spleen	0.93±0.34	0.76±0.34	0.88±0.46	0.50±0.50	ND	2.58±0.93	0.59±0.10
Muscle	ND	0.40±0.40	0.64±0.64	ND	ND	1.15±0.38	ND
Fat	ND	1.00±0.33	2.21±0.42	1.83±1.83	ND	1.03±0.00	0.45±0.45
Salivary glands	ND	0.68±0.07	1.70±0.57	1.19±0.33	ND	1.06±0.19	0.16±0.09
Thymus	ND	0.23±0.23	0.51±0.32	ND	ND	1.12±0.45	ND
Eye	0.79	ND	ND	ND	ND	1.04	ND
Testis	0.16±0.16	0.42±0.25	0.68±0.43	ND	ND	0.87±0.53	0.48±0.28
Skin	0.21±0.21	2.5 ±0.70	1.70±0.35	0.40±0.23	ND	1.81±0.37	0.92±0.09
Serum	2.72±0.33	6.28±1.04	12.3 ±2.72	2.95±0.15	0.33±0.20	8.61±3.94	2.93±0.28

The data represent mean ± S.E. of 3–4 animals.

ND : Not detectable

Assay method : HPLC

Table 10 Urinary and fecal excretion of PTS after a single oral administration of sodium *p*-toluenesulfonate to rats (200 mg/kg as *p*-toluenesulfonic acid)

	Time after administration (hr)				
	0 – 24	24 – 48	48 – 72	72 – 96	Total
Urine	87.0 ± 0.8	6.2 ± 1.1	1.0 ± 0.1	0.2 ± 0.1	94.4 ± 1.7
Feces	1.2 ± 0.5	0.5 ± 0.3	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	2.0 ± 0.8
Total	88.2 ± 0.9	6.7 ± 1.0	1.1 ± 0.2	0.4 ± 0.1	96.4 ± 1.6

The data represent mean ± S.E. of 3 animals and is expressed as % of dose.

Assay method : HPLC

時間までの総排泄率は96.4%であり、ほとんど尿中に排泄された。

SBTPC100mg/kg連続投与したラットの投与初日0~24時間の尿及び糞中PTS排泄率はそれぞれ78.7%及び5.4%、総排泄率は84.1%であり、上述のPTS単回投与時の0~24時間尿、糞中総排泄率(88.2%)とはほぼ同等の値を示した。

III. 考 察

SBTPCは経口投与後効率よく腸管より吸収され生体内で加水分解されてABPC及び β -lactamase阻害剤であるSBTを遊離し、標的組織で相乗的に作用するペニシリン系経口抗生剤である。

今回の著者らが実施した*in vitro*及び*in situ*の試験の結果からSBTPCは胃内で安定であり、徐々に腸管へ移行し、主に十二指腸部分で速やかに吸収されるものと推定された。イヌの十二指腸内pHを測定したところ約5.5であり、人工腸液のpH6.8よりも低pHに傾いており、胃液pHの関与がみられた。

SBTPCは人工腸液中(pH6.8)では不安定(半減期:31分)であるが、低pHでは比較的安定であり、また、エステラーゼ活性も抑制されることからSBTPCの腸管上部での比較的低pH領域での吸収が本薬のbio-availabilityに大きく関与することを示唆した。

今回のラット反転腸管の膜透過性及びイヌ腸管ループ内注入投与の実験から、腸管上皮内に存在するエステラーゼ活性は極めて大で吸収に与ったSBTPCは腸管膜通過時にほぼ完全に加水分解され、ほとんどABPC、SBTとして門脈血中へ移行したことからSBTPCの経口投与時の生体内加水分解は主に腸管壁通過時に起きるものと推定される。なお、血中のエステラーゼ活性には種差がみられ、ラットが最も高く、ヒトはイヌに近似した。ラットの血中エステラーゼ活性は、ラットの肝臓及び小腸ホモジネートより大であった。

ラットにSBTPCを投与し得られたABPC及びSBTのC_{max}はABPC・SBT投与時に比べそれぞれ2倍及び13倍高く、AUCはそれぞれ1.7倍、3.3倍大きかった。またラットの反転腸管を用いた膜透過性の実験からSBTPCがABPC・SBTに比べ、吸収性に優れていることが確認された。これらの動物での成績はヒトでの最近の試験結果からも支持された。即ち、HARTLEYら⁹⁾は、SBTPC250mg及び500mgを経口投与した際の血中ABPC濃度が相当量のABPCを投与した場合の2倍であることを見出し、SBTPCのmutual prodrugとしての意義が認められた。SBTについては単独でヒト

に投与した試験がないので同様の比較データは得られていない。

SBTPC投与後の血中に遊離したABPC及びSBTは同様の生体内挙動を示した。即ち、血中濃度はほぼ同様に推移し、ほとんどの臓器・組織でABPC、SBT濃度からほぼ同等の値を示し、分布傾向が近似していた。ABPC、SBT共に肝臓、腎臓に血中濃度より高い分布を示し、肺臓及び皮膚への分布も比較的高かった。またgranuloma pouch作製ラットを用いた試験では両薬物共、滲出液中への移行は良好で持続性が認められた。

ラットの場合、ABPC、SBT共に尿中への排泄が主で胆汁への排泄がわずかであった。但し、糞中には投与量の約20%がSBTとして排泄されており未吸収のSBTPCが腸管通過時に加水分解を受けたものと推定される。イヌの場合もほぼ同様の排泄パターンを示した。

Bioautographyの結果からヒトの尿、ラット及びイヌの尿、糞中にはABPC、SBT以外の抗菌活性代謝物は認められなかった。

尿中排泄型の薬物については腎機能障害により薬物の生体内動態に変化をもたらすことが予想される。著者らは塩化第二水銀惹起腎障害ラット及び馬杉型糸球体腎炎ラットを用いたSBTPCの経口投与試験においてそれらの障害ラットが健常ラットに比べ腎の排泄機能低下に基づくABPC、SBTの血中濃度の上昇及び尿中への排泄低下の傾向を示す事を確認した。

また四塩化炭素惹起肝障害ラットを用いた試験では本来ABPC、SBTの胆汁中への排泄が低いことから胆汁排泄率に及ぼす影響は無視出来る程度であったが、障害ラットは健常ラットに比べABPC、SBTの血中濃度がわずかに低下し、両薬物の尿中排泄率がやや増加する傾向を示した。後者は肝障害による代謝能の低下から未変化体の尿中排泄率が上昇したものと推定され、前者は障害ラットでの経口吸収性の低下がその原因と考えられる。LEWISら⁹⁾は肝機能が胃内分泌に影響を及ぼし、ひいては薬物の経口吸収性にも関与すること、肝硬変患者ではABPCの分布容量の上昇がみられ血中濃度が低下することを報告しており今回の動物実験の結果とよく一致した。

ラットにSBTPCを21日間連続して経口投与した結果、血中濃度、尿中排泄等生体内動態に変化を認めず組織への蓄積性は認められなかった。

一方、SBTPCの塩として用いたPTSはABPC、SBTよりやや遅れて血中ピークを示し、そのt_{1/2}もABPC、SBTよりやや長い傾向を示した。また、ほとんど

の臓器、組織へ分布したが、連投による蓄積性もなく排泄は速やかでほぼ全量が未変化体として尿中に排泄された。PTSの単独投与についても同様の結果が得られた。DREYFUSSら¹⁰⁾は³⁵S-PTSを用いた動物実験で投与放射能のほぼ全量が尿、糞中に回収され、ラジオ薄層クロマトグラフの結果から代謝物は存在せず、すべてが未変化体であったことを報告しており、著者らのPTS単独投与試験の結果とよく一致した。

以上SBTPCの細菌学的特性と、今回我々が得たSBTPCのラット、イヌにおける速やかな吸収及びABPC、SBTとしての高い血中濃度と両薬物がほぼ同濃度で種々の組織及び体液への広範な分布を示す所見より、SBTPCはABPC感受性菌のみならず、 β -lactam耐性菌によって惹起される感染に対しても有用な薬物であることが示唆された。

文 献

- 1) STAM, J. G. et al : Synthetic approaches to sultamicillin, A novel, broad spectrum oral antibiotic. The twenty-second Interscience Conference on Antimicrob. Agents Chemother. Oct., 1982, Miami Beach.
- 2) ENGLISH, A. R. ; D. GIRARD & S. L. HASKELL : Pharmacokinetics of Sultamicillin in Mice, Rats and Dogs. Antimicrob. Agents Chemother. 25 (5) : 599~602, 1984
- 3) SEYLE, H. : On the mechanism through which hydrocortisone affects the resistance of tissue to injury. An experimental study with the granuloma pouch technique. JAMA. 152 : 1207~1213, 1953
- 4) 鈴木良雄, 伊奈圭子, 原田美登理, 山上一番 : 実験的 Nephrotic rat に関する薬理学的研究 (第一報) 抗ラット腎家兔血清投与による rat nephrosis の発症と腎酵素活性の変化。日薬理誌 58 : 572~585, 1972
- 5) 加納 弘, 関口金雄, 立松 洋, 下岡新雄, 沖 俊一 : 微生物学的定量法ならびにGCまたはGC-MS法による Sulbactam 及び Sulbactam/Cefoperazone の定量法。Chemotherapy 32 (S-4) : 131~141, 1984
- 6) 加藤安之, 高松陸男, 秋山洋一, 飯盛勝義, 本庄勝彦, 栗山経渡 : Bacampicillin hydrochloride の生体内変化について。Chemotherapy 27 (S-4) : 59~63, 1979
- 7) BALTZER, B. ; E. BINDERUP, W. VON DAEHNE, W. O. GODTFREDSSEN, K. HANSEN, B. NIELSEN, H. SØRENSEN & S. VÅNGEDAL : Mutual Pro-Drugs of β -lactam antibiotics and β -lactamase inhibitors. J. Antibiotics 33 (10) : 1183~1192, 1980
- 8) HARTLEY, S. & R. WISE : A three-way crossover study to compare the pharmacokinetics and acceptability of sultamicillin at two dose levels with that of ampicillin. J. Antimicrob. Chemother. 10 : 49~55, 1982
- 9) LEWIS, G. P. & W. J. JUSKO : Pharmacokinetics of ampicillin in cirrhosis. Clin. Pharmacol. Therap. 18 : 475~484, 1985
- 10) DREYFUSS, J. ; J. M. SHEKOSKY & J. J. ROSS, Jr. : Metabolism of Sodium Tosylate-³⁵S by Rats and Dogs. Toxicology and applied pharmacology 20 : 548~551, 1971

THE ABSORPTION, DISTRIBUTION AND EXCRETION OF SULTAMICILLIN TOSILATE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

HIROSHI KANO, HARUMI TAKEI, KENTARO OMORI, MASAHIRO MURAKAMI,
KIN-O SHIMOOKA, HIDEAKI FUKUSHIMA and TOSHIKAZU OKI

Nagoya Biochemistry Laboratory,
New Product Research Center, Pfizer Taito Co., Ltd.

The absorption, distribution and excretion after oral administration of sultamicillin tosylate (SBTPC) were studied in rats and dogs. The following results were obtained.

1. After oral administration of SBTPC, it was mainly absorbed from the duodenum followed by being completely hydrolyzed to equimolar portions of ABPC and SBT, thereby acting as an efficient mutual prodrug. Intact SBTPC was not found in the peripheral blood.

2. The serum levels of ABPC and SBT in rats reached the peak with dose dependency 0.5 to 1 hour after oral administration of SBTPC and declined with the half-life of 60 min and 50 min, respectively. Almost the same results were given in dogs. In rats, SBTPC revealed 2 times and 13 times greater maximum serum concentrations of ABPC and SBT, respectively, than when the combination of ABPC and SBT was used.

3. After oral administration of SBTPC in rats, ABPC and SBT were widely distributed in the various tissues. The concentrations of ABPC and SBT in the liver and kidney were higher than those in the serum. These tissue levels declined in parallel with the blood level, and the ABPC levels in the serum and tissues were much the same to those after ABPC dosing.

4. After oral administration of 50 mg/kg SBTPC in rats, the urinary and fecal recoveries of ABPC within 96 hours were about 20% and 5%, and those of SBT were about 30% and 20%, respectively. Both ABPC and SBT hardly excreted into the bile. No microbiologically active metabolites except for ABPC and SBT were detected in the urine and feces.

5. The extents of protein binding of SBT either in the presence of ABPC or alone were about 30% for human, dog and rabbit sera and about 55% for rat serum. Those of ABPC either in the presence of SBT or alone were about 30% for human and animal sera.

6. When SBTPC was repeatedly administered to rats, no accumulation of ABPC and SBT was observed in the serum, urine and tissues.

7. After oral administration of SBTPC in the liver-damaged rats induced with CCl_4 , the ABPC and SBT serum levels were lower and the urinary recoveries were higher than those in normal rats. In the HgCl_2 -induced renal failure rats and Masugi-type glomerulonephritis rats the suppressive urinary excretion and the increased serum levels of both drugs were observed.

8. By oral administration of SBTPC in rats p-toluenesulfonic acid (PTS) which is the salt of SBTPC was slowly absorbed and widely distributed in various tissues followed by being almost completely recovered mainly in the urine. No accumulation of PTS in the tissues was observed following repeated administration of SBTPC.