

## Piperacillin の尿細管排泄抑制作用について

渡辺 泰雄・林 敏雄・熊野 克彦・北山理恵子

保田 隆・才川 勇

富山化学工業株式会社総合研究所

熊田 徹平・清水喜八郎

東京女子医科大学内科

(昭和 61 年 8 月 7 日受付)

ウサギを用い、piperacillin (PIPC) の尿細管排泄抑制作用の強さをプロベネッドと比較した。

まず尿細管排泄型の PIPC と cefazolin (CEZ) の体内動態に及ぼすプロベネッドの影響を検討した結果、CEZ は大きく影響を受けたが、PIPC の程度は小さく、PIPC の方が尿細管排泄機構に対する親和性が高いことが示唆された。そこで、次に PIPC、プロベネッド点滴静注下に CEZ 20 mg/kg を i. v. 投与したときの各薬剤の血中濃度を測定した。PIPC 0.97 mg/kg/min とプロベネッド 0.16 mg/kg/min、および PIPC 2.65 mg/kg/min とプロベネッド 0.47 mg/kg/min 点滴静注下における CEZ の血中濃度および生物学的半減期に有意な差がないこと、ならびにそのときの PIPC の血中濃度がプロベネッドに比べ 2~3 倍高かったことから PIPC の尿細管排泄抑制作用の強さはプロベネッドの 1/2~1/3 程度と推定された。

先に、我々はウサギを用い、主に腎尿管より排泄される piperacillin (PIPC) と cefazolin (CEZ) ならびに PIPC と cefoperazone (CPZ) を併用投与した場合、CEZ, CPZ の尿中排泄は PIPC によって抑制されるが、PIPC の尿中排泄は CEZ, CPZ によって影響を受けないことから、PIPC にはプロベネッド様作用があることを報告した<sup>1)</sup>。ところでプロベネッドは痛風治療剤以外に種々の有機酸の尿細管排泄を拮抗的に抑制する作用を有し、古くからペニシリン、セファロsporin 剤の血中濃度を高めるのに使用されている<sup>2-3)</sup>。

そこで今回ウサギを用い、PIPC とプロベネッドの尿細管排泄抑制作用の強さを比較した。

## I. 実験材料および方法

## 1. 使用薬剤

Piperacillin (PIPC, 富山化学工業), cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業) を用いた。プロベネッドはプロベネミド (萬有製薬) より抽出し、ナトリウム塩として用いた。

## 2. 使用動物

体重 2.8~3.4 kg のウサギ (♂, 日本白色在来種) を用いた。

## 3. 薬剤投与

プロベネッドの影響を調べる実験では、ウサギにプロベネッド 30 mg/kg を i. v. 投与後、その 30 分後に PIPC あるいは CEZ の 20 mg/kg を i. v. 投与し、さら

に 70 分および 170 分後にプロベネッド 30 mg/kg を i. v. 投与した。また PIPC とプロベネッドの尿細管排泄抑制作用の比較実験では、ウサギに PIPC を 0.97 および 2.65 mg/kg/min、プロベネッドを 0.16 および 0.47 mg/kg/min で点滴静注し、点滴開始 45 分後に CEZ 20 mg/kg を i. v. 投与した。その後 PIPC、プロベネッドはさらに 2 時間点滴を続けた。なお薬剤はいずれも生理食塩水に溶解した。

## 4. 採血および尿、胆汁の採取

血液は薬剤投与した反対側の耳静脈から経時的に採取し、遠心 (1,200 g × 15 min) により血清を分離した。また尿および胆汁はエーテル麻醉下に開腹し、左右の輸尿管ならびに胆管カニューレションにより採取した。なお薬剤の分解を防ぐため尿・胆汁は 1/15 M phosphate buffer (pH 6.0) の入った容器に集めた。

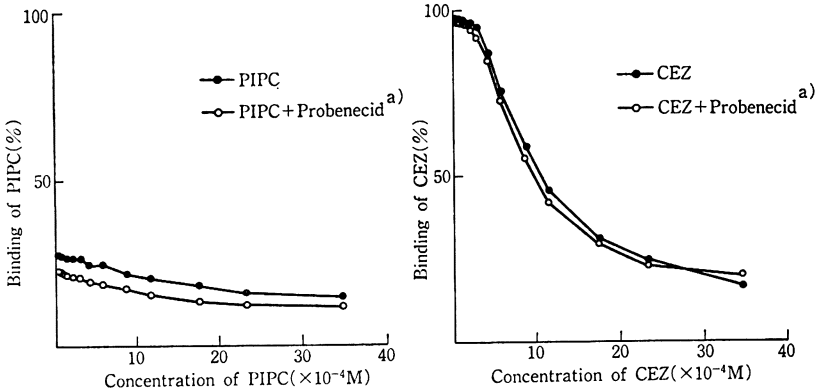
## 5. 蛋白結合率の測定

種々の濃度の PIPC あるいは CEZ 溶液 0.5 容とウサギ血清 9 容を混合し、さらに最終濃度 165.3 μg/ml (5.8 × 10<sup>-4</sup> M) となるようにプロベネッド 0.5 容を加え、37 °C、1 時間インキュベートした後、遠心限外濾過法で結合率を測定した。

## 6. 薬剤濃度測定法

血清、尿および胆汁中の薬剤濃度は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定を行なった。固定相と

Fig.1 Effect of probenecid on binding of PIPC and CEZ



a) Probenecid :  $5.8 \times 10^{-4} M$  (165  $\mu g/ml$ )  
 Method : Centrifugal ultrafiltration  
 Serum protein : 69.7mg/ml

して Nucleosil 10 C<sub>18</sub> (4 mm  $\phi$   $\times$  300 mm) を用い、カラムに注入後 PIPC では CH<sub>3</sub>CN 220 ml, 1 M CH<sub>3</sub>COOH 2 ml, 1 M CH<sub>3</sub>COONa 20 ml を, CEZ では CH<sub>3</sub>CN 120 ml, 1 M CH<sub>3</sub>COOH 2 ml, 1 M CH<sub>3</sub>COONa 20 ml を, プロベネシドでは CH<sub>3</sub>CN 280 ml, 1 M CH<sub>3</sub>COOH 2 ml, 1 M CH<sub>3</sub>COONa 20 ml を水で 1 l にしたもの移動相として, 流速 2.0 ml/min で分離を行ない 254 nm で検出した。血清は除蛋白のため CH<sub>3</sub>OH を加え, 充分攪拌後遠心 (1,000 g  $\times$  10 min) 上清を, 尿, 胆汁はミリポアフィルター (0.5  $\mu m$ ) で濾過した後 HPLC に注入した。

7. 薬動学的解析

2-compartment open model<sup>6)</sup> で解析を行なった。薬動学的パラメーター算出は富士通 FACOM 130 F コンピューターを使用し, Monte Carlo simulation<sup>7)</sup> および simplex 法<sup>8)</sup> で行なった。またプロベネシド併用時の PIPC, CEZ の生物学的半減期 (T<sub>1/2</sub>) は最小二乗法で求めた。

II. 実験結果

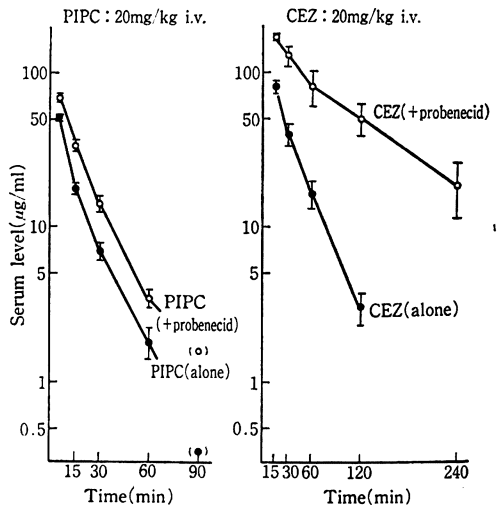
1. PIPC および CEZ の血清蛋白結合に及ぼすプロベネシドの影響

PIPC および CEZ にプロベネシド 165.3  $\mu g/ml$  ( $5.8 \times 10^{-4} M$ ) を添加したときのウサギ血清蛋白に対する結合率を調べた。その結果, Fig.1 に示す如く PIPC の結合率は単独時に比べ若干低下したがその影響は小さなものであった。また CEZ の結合率はプロベネシド併用の影響はほとんど受けなかった。

2. プロベネシド併用時の PIPC および CEZ の血中濃度

ウサギに PIPC, CEZ の各 20 mg/kg 投与 30 分前と投与 70 および 170 分後にプロベネシドをそれぞれ 30 mg/kg i.v. 投与したときの PIPC および CEZ の血中濃度を測定した (Fig.2)。プロベネシド併用時の PIPC は単独時に比べ高濃度で推移したが, T<sub>1/2</sub> の延長は認められなかった (単独群 : 14.0 分, 併用群 : 13.9 分)。CEZ では高濃度持続的に推移し, T<sub>1/2</sub> の大幅な延長が認められた (単独群 : 24.1 分, 併用群 : 84.1 分)。なお図には示さなかったが, プロベネシド単独時の血中濃度は 5 分後 105.6  $\mu g/ml$ , 30 分後 57.0  $\mu g/ml$ , 60 分後 26.4  $\mu g/ml$  であった。

Fig.2 Effect of probenecid on serum levels of PIPC and CEZ in rabbits



Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 3-4 rabbits

### 3. プロベネシド併用時の PIPC および CEZ の尿中・胆汁中排泄率

上記血中濃度測定条件下における PIPC の 4 時間までの尿中・胆汁中排泄率はそれぞれ  $56.0 \pm 3.9\%$ 、 $20.5 \pm 3.2\%$  であり、単独群の  $58.6 \pm 3.6\%$  および  $24.8 \pm 2.3\%$  に比べ若干低値を示したが有意な差は認められなかった。CEZ の場合プロベネシド併用群の尿中排泄率は  $61.8 \pm 5.1\%$  であり、単独群の  $90.8 \pm 4.6\%$  に比べ有意 ( $P < 0.01$ ) に低かったが、胆汁中排泄率は併用群で  $3.5 \pm 1.9\%$ 、単独群  $0.7 \pm 0.3\%$  であり逆にプロベネシド併用群の方が有意に高かった (Fig. 3)。

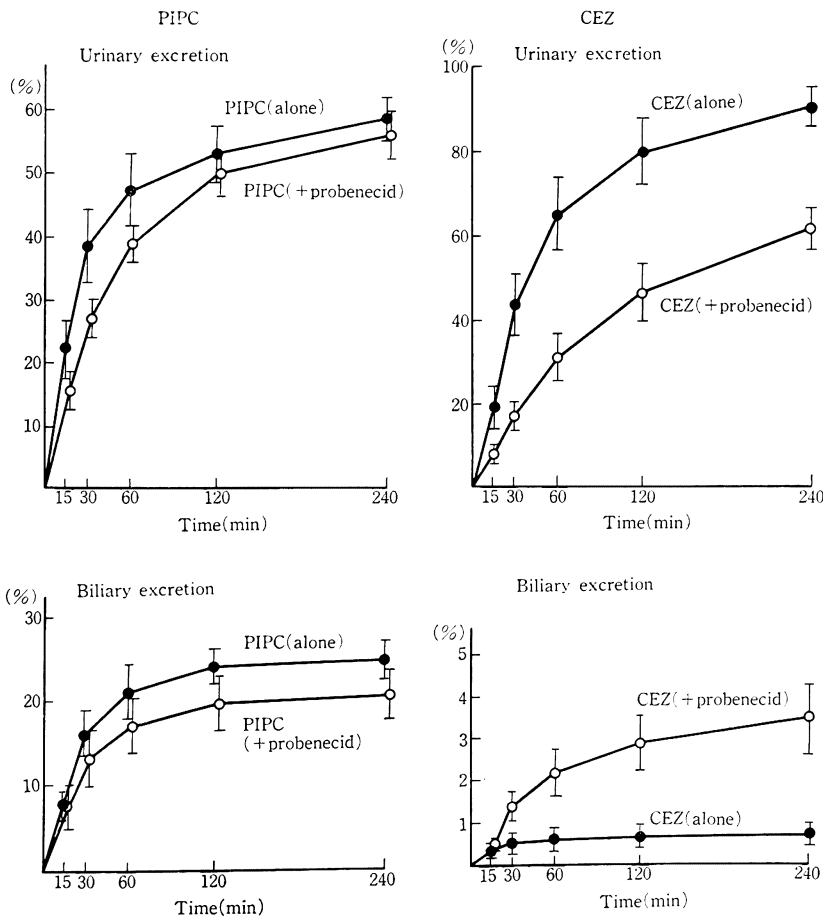
### 4. CEZ の血中濃度に及ぼす PIPC およびプロベネシドの影響

PIPC あるいはプロベネシド点滴静注下に CEZ を  $20 \text{ mg/kg i.v.}$  投与したときの各薬剤の血中濃度を測定した (Fig. 4)。PIPC、プロベネシド点滴静注下の CEZ の血中濃度は単独時に比べ高濃度持続的に推移し、いずれ

もその影響は PIPC あるいはプロベネシドの投与量が多いほど大であった。PIPC  $0.97 \text{ mg/kg/min}$  点滴静注時の血中濃度は  $42.1 \sim 52.9 \mu\text{g/ml}$ 、プロベネシド  $0.16 \text{ mg/kg/min}$  点滴静注時のそれは  $15.2 \sim 25.1 \mu\text{g/ml}$  であり、PIPC はプロベネシドに比べ 2~3 倍程度高く推移したが、CEZ の血中濃度は類似していた。また PIPC  $2.65 \text{ mg/kg/min}$  点滴静注時の血中濃度は  $304 \sim 412 \mu\text{g/ml}$ 、プロベネシド  $0.47 \text{ mg/kg/min}$  点滴静注時のそれは  $87.3 \sim 188 \mu\text{g/ml}$  であり、上記同様 PIPC はプロベネシドに比べ 2~3 倍程度高く推移し、CEZ の血中濃度も類似していた。

CEZ の血中濃度を 2-compartment open model で解析した結果を Table 1 に示す。PIPC  $0.97 \text{ mg/kg/min}$  およびプロベネシド  $0.16 \text{ mg/kg/min}$  点滴静注下における CEZ の  $T_{1/2}$  はそれぞれ  $31.2 \pm 2.7$  分、 $38.4 \pm 5.0$  分、PIPC  $2.65 \text{ mg/kg/min}$  およびプロベネシド  $0.47 \text{ mg/kg/min}$  点滴静注下におけるそれはそれぞれ  $109.8$

Fig. 3 Effect of probenecid on urinary and biliary excretion of PIPC and CEZ in rabbits



Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 3~4 rabbits

±15.0 分, 82.6±7.7 分であり, いずれも単独群の 20.5±1.3 分に比べ有意に高かったが, 各投与群間に有意な差は認められなかった。また  $K_{el}$ , Total clearance 値は単独時に比べ併用時の方が低かったが, PIPC 0.97 mg/kg/min とプロベネシド 0.16 mg/kg/min, PIPC 2.65 mg/kg/min とプロベネシド 0.47 mg/kg/min 投与群間にはいずれも有意な差は認められなかった。

III. 考 察

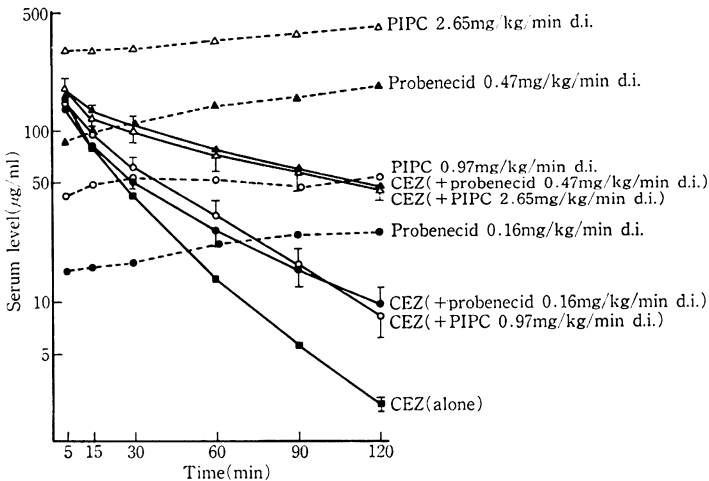
我々は PIPC にプロベネシド様作用, すなわち尿細管排泄抑制作用があることを報告<sup>1)</sup>したが, 今回その強さをプロベネシドと比較した。

まず PIPC および CEZ のウサギにおける腎排泄はヒトと同様いずれも尿細管排泄が主であり<sup>1)</sup>, プロベネシドによる尿中排泄率の低下ならびにそれに伴う血中濃度

の上昇が考えられたのでその影響を調べた。CEZ ではプロベネシドの影響を大きく受け, 血中濃度は高く持続的に推移し, 尿中排泄率の低下がみられたが, PIPC では血中濃度は高く推移したものの  $T_{1/2}$  の延長は認められず, 尿中排泄率もさほど影響を受けなかった。これは PIPC の尿細管排泄機構に対する親和性が CEZ に比べ高いためと考えられ前報<sup>1)</sup>の成績を裏付けるものであった。またこの成績はヒトで得られた成績<sup>9)</sup>ともよく一致している。なおプロベネシド併用により CEZ の胆汁中排泄率が増加した理由は, CEZ の尿中排泄が抑制され血中濃度が高くなったため代償的に排泄されたためと考えられる。

そこで, 次に PIPC あるいはプロベネシドの血中濃度と組織内濃度が平衡状態になるように点滴静注し,

Fig. 4 Effect of PIPC and probenecid on serum levels of CEZ after 20 mg/kg i. v. administration to rabbits



Each value represents the mean±S.E. of 3~4 rabbits

Table 1 · Pharmacokinetic parameters of CEZ in rabbits

	Alone	Under probenecid 0.16mg/kg/min d. i.	Under PIPC 0.97mg/kg/min d. i.	Under probenecid 0.47mg/kg/min d. i.	Under PIPC 2.65mg/kg/min d. i.
$V$ (1/kg)	0.080±0.009	0.108±0.004*	0.100±0.007	0.100±0.006	0.075±0.030
$K_{12}$ (hr <sup>-1</sup> )	2.59±0.79	2.09±0.49	2.45±0.66	1.53±0.30	9.93±7.40
$K_{21}$ (hr <sup>-1</sup> )	5.26±0.88	3.36±0.37	6.96±2.33	4.17±1.34	4.11±1.55
$K_{el}$ (hr <sup>-1</sup> )	3.69±0.35	2.14±0.22*	2.13±0.29*	0.76±0.07**	1.47±0.65*
$T_{1/2}$ (min)	20.5±1.3	38.4±5.0*	31.2±2.7*	82.6±7.7**	109.8±15.0**
Total clearance (ml/min)	4.8±0.1	3.9±0.5	3.5±0.5	1.3±0.0**	1.2±0.2**

\* P<0.05, \*\* P<0.01.

Significantly different from the control group.

PIPC とプロベネシドの尿細管排泄抑制作用の強さを CEZ の血中濃度推移より比較した。PIPC 0.97 mg/kg/min とプロベネシド 0.16 mg/kg/min, および PIPC 2.65 mg/kg/min とプロベネシド 0.47 mg/kg/min 点滴静注下の CEZ の血中濃度ならびに  $T_{1/2}$  に差が認められないこと, そのときの PIPC の血中濃度がプロベネシドの血中濃度に比べ 2~3 倍高いことから PIPC の作用の強さはプロベネシドの  $1/2 \sim 1/3$  程度と推定された。これらの成績は Fig. 1 に示したようにプロベネシドは PIPC, CEZ の血清蛋白結合にほとんど影響を与えないこと, また前報<sup>1)</sup>に示した如く PIPC は CEZ の血清蛋白結合にほとんど影響を与えないことから血清蛋白結合の変化によるものでないことは明らかである。

以上 PIPC のプロベネシド様作用の強さはプロベネシドの  $1/2 \sim 1/3$  程度と推定されたが, PIPC のプロベネシド様作用は濃度依存的であることから, 投与量, 投与方法によってはプロベネシドより強く現われることも予想される。また通常薬剤の腎排泄機序を調べる場合, プロベネシド併用時の体内動態から糸球体濾過型であるか尿細管排泄型であるかを判断しているが, 尿細管排泄機構に対する親和性が高い薬剤ではプロベネシドの影響が現われにくいことも考えられるので薬剤の腎排泄機序解明の上でこのことを充分留意する必要がある。

#### 文 献

- 1) HAYASHI, T.; Y. WATANABE, K. KUMANO, R. KITAYAMA, T. YASUDA, I. SAIKAWA, K. TOTSUKA, T. KUMADA & K. SHIMIZU: Pharmacokinetic studies on the concomitant administration of piperacillin and cefazolin, and piperacillin and cefoperazone in rabbits. *J. Antibiotics* 39: 699~712, 1986
- 2) NAUTA, E. H.; H. MATIE & W. R. O. GOSLINGS: Effect of probenecid on the apparent volume of distribution and elimination of cloxacillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 6: 300~303, 1974
- 3) GOODWIN, C. S.; E. B. RAFTERY, A. D. GOLDBERG, H. SKEGGS, A. E. TILL & C. M. MARTIN: Effects of rate of infusion and probenecid on serum levels, renal excretion, and tolerance of intravenous doses of cefoxitin in humans: comparison with cephalothin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 6: 338~346, 1974
- 4) GRIFFITH, R. S.; H. R. BLACK, G. L. BRIER & J. D. WOLNY: Effect of probenecid on the blood levels and urinary excretion of cefamandole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 11: 809~812, 1977
- 5) CUNNINGHAM, R. F.; Z. H. ISRAILI & P. G. DAYTON: Clinical pharmacokinetics of probenecid. *Clin. Pharm.* 6: 135~151, 1981
- 6) GIBALDI, M. & D. PERRIER (ed.): Multicomponent models. *Drugs and Pharmaceutical Science. Vol. 1, Pharmacokinetics.*, pp. 45~96, Merce! Dekker Inc. New York, 1975
- 7) 沖野教郎, 佐々木泰生: モンテカルロ積分を利用した多峰性関数各峰分離, 多峰性極値探索問題の一解法。計測自動制御学会論文集 8: 676~683, 1972
- 8) 化学工学協会編: 化学工学プログラミング演習, 136~144, 培風館, 1976
- 9) 戸塚恭一, 大井聖至, 熊田徹平, 清水喜八郎, 渡辺泰雄, 林敏雄: 抗菌薬の併用に関する研究 (第一報)。Chemotherapy 34: 286~293, 1986

## INHIBITION ABILITY OF PIPERACILLIN AT THE TUBULAR SECRETION SITE

YASUO WATANABE<sup>1)</sup>, TOSHIO HAYASHI<sup>1)</sup>, KATSUHIKO KUMANO<sup>1)</sup>,  
RIEKO KITAYAMA<sup>1)</sup>, TAKASHI YASUDA<sup>1)</sup>, ISAMU SAIKAWA<sup>1)</sup>,  
TEPPEI KUMADA<sup>2)</sup> and KIHACHIRO SHIMIZU<sup>2)</sup>

1) Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

2) Department of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical College

The action of piperacillin (PIPC) at the tubular secretion site was studied in rabbits, as compared with probenecid.

When probenecid was co-administered with PIPC or cefazolin (CEZ) in rabbits, which are mainly secreted from renal tubule the serum levels of CEZ were elevated and prolonged, and its urinary excretion was significantly decreased. PIPC was also influenced by probenecid, however, the effect of probenecid on the serum levels and urinary excretion of PIPC was less than that on CEZ. These findings reveal that PIPC has a high affinity to tubular secretion system.

To study these findings in detail, serum levels of CEZ following its i. v. administration of 20 mg/kg were determined under a drip infusion of PIPC or probenecid. Although serum levels of PIPC under its drip infusion of 0.97 mg/kg/min. were 2~3 times higher than those of probenecid under its drip infusion of 0.16 mg/kg/min., in these cases there was no significant difference in the serum levels and serum half-life of CEZ. The same results were obtained under a drip infusion of 2.65 mg/kg/min. of PIPC and 0.47 mg/kg/min. of probenecid.

From these results, the inhibition ability of PIPC on the tubular secretion seemed to be 1/2~1/3 times that of probenecid.