

TE-031 の体内動態 (第9報)

ヒトにおける吸収および排泄 (HPLC 法)

諏訪 俊男・大竹 盾夫・浦野 英俊
 児玉 智子・中村 方人・岩立 周子
 大正製薬株式会社総合研究所*

渡 辺 暉 邦
 社会保険大宮総合病院

(昭和63年7月26日受付)

TE-031 のヒトにおける体内動態を明らかにするため、前報¹⁾の bioassay による検討に続いて、今回、血清、尿および唾液中の TE-031 および代謝物の測定を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により検討した。

本剤を経口投与後の血清、尿および唾液中には、主に TE-031 とその活性代謝物 (14*R*)-14-hydroxy TE-031 (M-5) がほぼ同濃度で存在した。また、400 mg 投与では TE-031 の占める割合が M-5 を上回り、高投与量時における TE-031 の代謝的飽和が示唆された。

TE-031 と M-5 の濃度の和はいずれの試料においても bioassay で測定した値と大旨一致した。

その他の代謝物として、*N*-脱メチル体 (M-1)、脱クラジノース体 (M-4) および M-5 の異性体 (M-6) が血清および尿から検出されたが量的には少なく、ヒトにおける TE-031 の主要な代謝経路は 14-水酸化反応であることが示された。

本剤 200 mg を1日2回、計 14 日間反復投与した際の血清および尿中の代謝物組成には大きな変化は認められず、反復投与による代謝的変動は少ないものと考えられた。

Key words: TE-031, 代謝物, マクロライド系抗生物質, Pharmacokinetics, HPLC, Human

前報¹⁾で著者らは、健康成人男子を対象に TE-031 錠の体内動態について bioassay により検討した。その結果、消化管からの吸収は良好で、血清中濃度は投与量にほぼ比例して増加し、その後は比較的緩慢に消失すること、その濃度推移は食事によりほとんど影響されないこと、また、反復投与による蓄積性のないことを明らかにした。さらに、尿中への排泄は従来のマクロライド系抗生物質に比べ著明に高く、投与後 24 時間までに投与量の 38~46% に達することが示された。一方、安達ら²⁾は先に実施した TE-031 第一相臨床試験において採取した尿を分析し、主代謝物として、未変化体と同等の抗菌活性を有する (14*R*)-14-hydroxy TE-031 (M-5) を見出している。したがって、このような体内動態の特徴には、本剤が耐酸性に優れるため胃酸による分解・不活化をほとんど受けずに吸収されることに加え、活性代謝物 M-5 の生成が大きく寄与しているものと推察され

た。

そこで本報では、TE-031 錠の体内動態についてさらに詳細に検討するため、HPLC 法を用いて本剤投与後の血清、尿および唾液中代謝物の分析を行なったので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 試料

本研究で分析対象とした生体試料は、前報の TE-031 錠を健康成人男子に単回または反復投与し、採取した血清、尿および唾液を用い、いずれも分析に供するまで -20°C で凍結保存した。

2. 標準品

分析の際に標準品として用いた TE-031 およびその代謝物である *N*-demethyl TE-031 (M-1), decladinosyl TE-031 (M-4) は大正製薬総合研究所で合成したものを使用した。

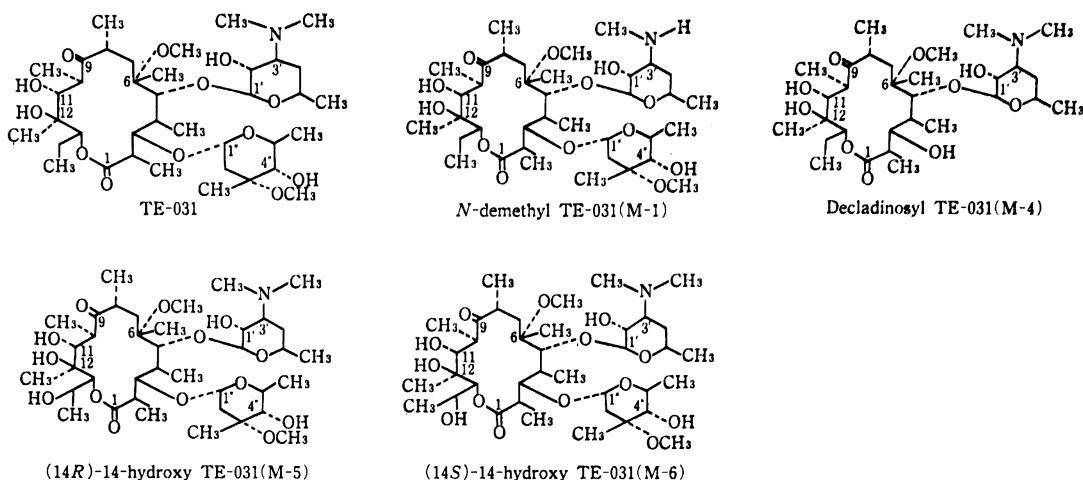


Fig. 1. Chemical structures of TE-031 and its metabolites

内部標準物質として用いた erythromycin B はアボット社より入手し、*N*-demethyl-6-*O*-methyl erythromycin B は erythromycin B から調製したものをを用いた。

また、(14*R*)-14-hydroxy TE-031 (M-5)、(14*S*)-14-hydroxy TE-031 (M-6) は TE-031 の第一相臨床試験³⁾で採取した尿から単離、同定されたものを使用した。TE-031 および代謝物の化学構造を Fig. 1 に示す。酢酸エチルは残留農薬試験用、ヘキサンは蛍光分析用、アセトニトリル、メタノールは高速液体クロマトグラフ用、4-fluoro-7-nitrobenzofurazan (NBD-F) は同仁化学製、その他の試薬はすべて試薬特級を用いた。

3. HPLC 分析

各試料中における未変化体および M-5 の経時的な濃度の測定は、大竹ら⁴⁾の方法に従い高速液体クロマトグラフィ (HPLC) で行なった。

すなわち、各生体試料に内部標準物質として一定量の erythromycin B 溶液を添加し、酢酸エチルにて抽出した。さらに、血清および唾液については、内因性の妨害物質を除去するため希塩酸に転溶し、再度、酢酸エチル抽出を行なった。得られた有機層は蒸発乾固後、溶離液 (アセトニトリル/0.05 M リン酸緩衝液 pH 6.5/メタノール、5:3:2) に溶解し、HPLC (島津 LC-6A 型)-電気化学検出器 (Coulchem 5100 A 型, Environmental Sciences Associates) により定量を行なった。

さらに、投与後 1.5 および 4 時間の血清、12 または 24 時間の尿について、大竹ら³⁾の方法に従い M-5 以外の代謝物も含めた詳細な検討を行なった。

M-1 の測定は、試料に内部標準物質 (*N*-demethyl-6-

O-methyl erythromycin B) を添加した後、酢酸エチル抽出を行ない、NBD-F による誘導体化の後 HPLC (日立 638 型)-蛍光検出器 (日立 650-40 型) により行なった。TE-031, M-4, M-5, M-6 の測定は溶離液の組成をアセトニトリル/0.05 M リン酸緩衝液 pH 6.5/メタノール、35:52:13 とした以外は、すべて前述の TE-031, M-5 の測定法と同様に行なった。なお、動物において認められている⁶⁾代謝物 M-2 (*N,N*-didemethyl TE-031) および M-3 (TE-031 *N*-oxide) は予備的検討の結果、検出限界以下であったため測定対象から除外した。

4. 薬動学的解析

最高血清中濃度 (C_{max}) および最高濃度到達時間 (T_{max}) は実測値を用い、血清中濃度曲線下面積 (AUC) は台形近似法および消失相の直線部分の傾きにより無限大時間までの値を算出し、消失半減期 ($T_{1/2}$) は消失相の傾きにより求めた。

5. 統計処理

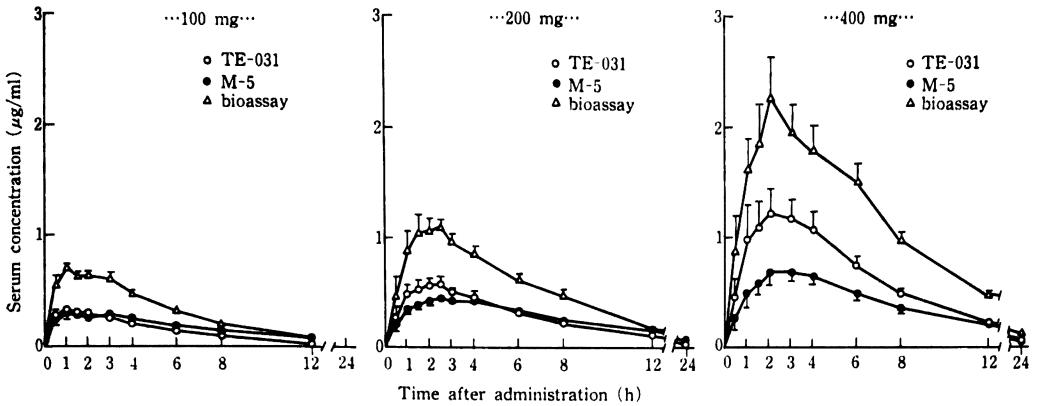
各群間の統計的比較は STUDENT'S *t*-test により行ない、 $p < 0.05$ を有意とした。

II. 試験結果

1. 単回投与

TE-031 を空腹下に 100, 200, 400 mg 単回経口投与後、HPLC により測定した血清中 TE-031 および活性代謝物 M-5 の濃度推移を Fig. 2 に示す。

投与後の TE-031 および M-5 の濃度はいずれの用量においても速やかに上昇したが、 T_{max} , $T_{1/2}$ は TE-031 に比べ M-5 の方が遅延する傾向にあった。100 mg 投与



Dose (mg)		C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (h)	$T_{1/2}$ (h)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)
100	TE-031	0.36 ± 0.03	1.0 ± 0.2	3.81 ± 0.22	2.03 ± 0.13
	M-5	0.32 ± 0.03	1.5 ± 0.2	5.23 ± 0.36	2.80 ± 0.16
	Bioassay	0.79 ± 0.07	1.8 ± 0.4	3.10 ± 0.11	4.53 ± 0.22
200	TE-031	0.65 ± 0.07	1.8 ± 0.4	3.83 ± 0.14	4.54 ± 0.42
	M-5	0.48 ± 0.03	2.1 ± 0.4	7.99 ± 0.19	5.69 ± 0.26
	Bioassay	1.27 ± 0.11	1.6 ± 0.3	4.42 ± 0.32	8.98 ± 0.64
400	TE-031	1.38 ± 0.22	2.6 ± 0.5	4.59 ± 0.75	10.52 ± 1.04
	M-5	0.73 ± 0.09	2.8 ± 0.3	10.27 ± 1.95	8.54 ± 0.47
	Bioassay	2.41 ± 0.30	2.8 ± 0.5	5.57 ± 0.69	20.29 ± 1.53

Mean \pm SE (N=8)

Fig. 2. Serum concentration of TE-031, M-5 and antibiotic activity following single oral administration to healthy volunteers

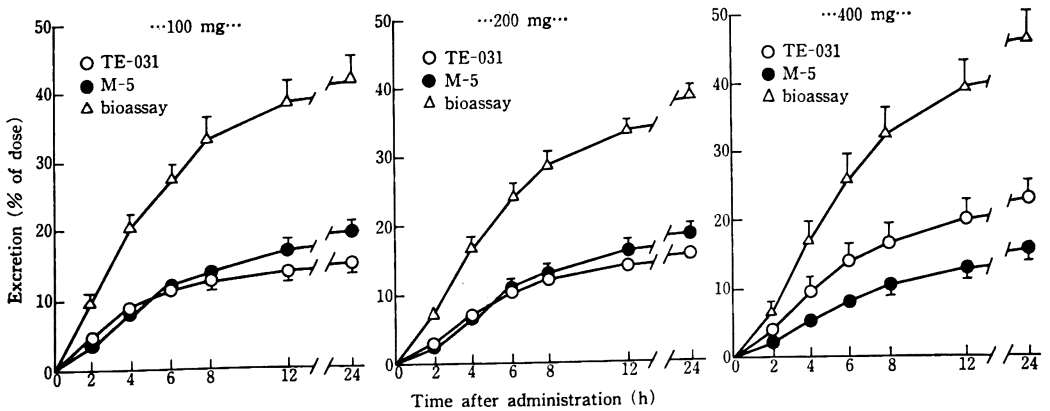
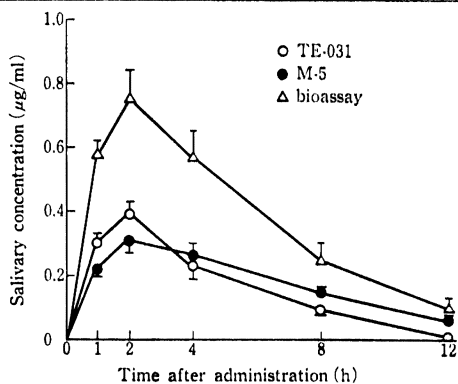


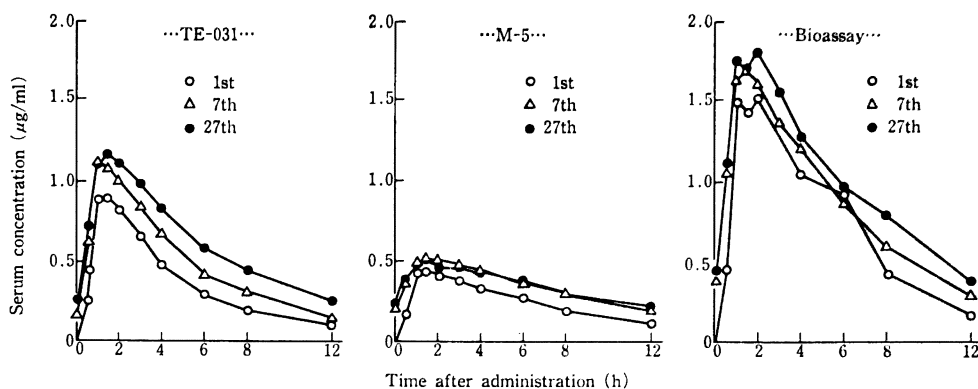
Fig. 3. Urinary excretion of TE-031, M-5 and antibiotic activity following single oral administration to healthy volunteers



	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (h)	$T_{1/2}$ (h)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)
TE-031	0.40 ± 0.04	1.9 ± 0.4	3.22 ± 0.22	2.17 ± 0.29
M-5	0.34 ± 0.04	2.4 ± 0.4	4.28 ± 0.28	2.63 ± 0.37
Bioassay	0.80 ± 0.08	2.0 ± 0.3	3.49 ± 0.10	5.18 ± 0.69

Mean \pm SE (N=8)

Fig. 4. Salivary concentration of TE-031, M-5 and antibiotic activity following single oral administration to healthy volunteers



	Day	Times	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (h)	AUC _{0-12h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	$T_{1/2}$ (h)
TE-031	1	1	1.03 ± 0.16	1.3* ± 0.1	4.84 ^{b)} ± 0.71	3.98 ± 0.16
	4	7	1.21 ± 0.17	1.4 ± 0.2	6.14 ± 0.76	3.87 ± 0.20
	14 ^{a)}	27	1.23 ± 0.22	1.9 ± 0.2	7.56 ± 1.43	4.43 ± 0.30
M-5	1	1	0.48 ± 0.02	1.3 ± 0.1	4.02 ^{b)} ± 0.25	5.30 ± 0.22
	4	7	0.55 ± 0.05	1.6 ± 0.2	4.31 ± 0.35	6.84 ± 1.07
	14 ^{a)}	27	0.49 ± 0.06	1.6 ± 0.2	4.21 ± 0.54	7.76 ± 1.79
Bioassay	1	1	1.79 ± 0.21	1.4* ± 0.1	9.00 ^{b)} ± 1.06	3.40* ± 0.14
	4	7	1.90 ± 0.19	1.9 ± 0.3	10.84 ± 1.04	4.26 ± 0.54
	14 ^{a)}	27	2.06 ± 0.26	1.9 ± 0.2	12.39 ± 1.67	4.20 ± 0.25

Mean \pm SE (N=8)

a) : N=7

b) : AUC_{int}

Significantly different from the final dose, * : $p < 0.05$

Fig. 5. Serum concentration of TE-031, M-5 and antibiotic activity following daily oral administration (200 mg \times 2/day, 27 times) to healthy volunteers

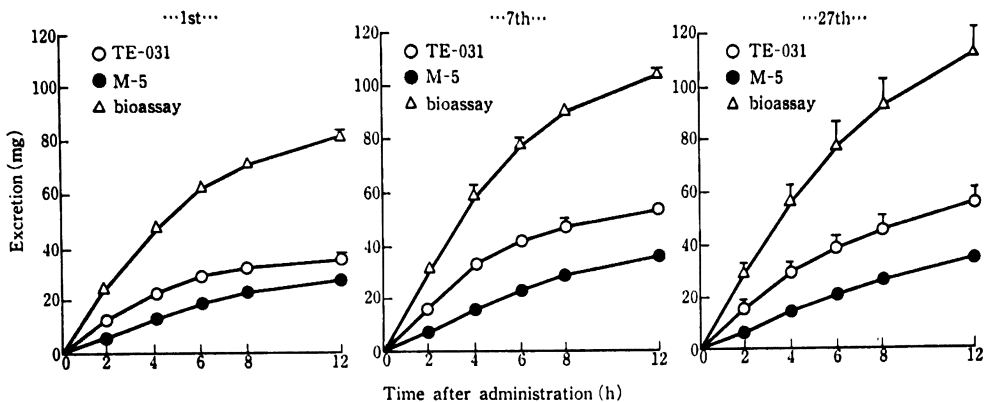


Fig. 6. Urinary excretion of TE-031, M-5 and antibiotic activity following daily oral administration (200 mg \times 2/day, 27 times) to healthy volunteers

時の TE-031 と M-5 の C_{max} はほぼ同レベルであったが、用量が増加するに従って TE-031 濃度の方が M-5 を上回り、400 mg 投与における M-5 の C_{max} は TE-031 の 53%、AUC は 81% であった。また、各時点における TE-031 と M-5 の濃度の和は bioassay で求めた濃度にはほぼ一致した。

投与後 24 時間までの経時的な尿中排泄率は、Fig. 3 に示す通りであり、100 mg および 200 mg 投与の場合、投与後 8 時間までは TE-031 と M-5 がほぼ同量排泄されたが、その後は M-5 の方が若干多く、投与後 24 時間までの累積排泄率は TE-031 が投与量の 15.0% および 15.3%、M-5 が 19.4% および 18.5% であった。一方、400 mg 投与では投与初期から TE-031 の排泄が M-5 を上回り、投与後 24 時間までに TE-031 が 23.1%、M-5 が 15.3% 排泄された。なお、TE-031 と M-5 の排泄率の和は bioassay の値に比べ、いずれの用量においても若干低い値であった。

TE-031 200 mg 投与後の唾液中濃度は、Fig. 4 に示すように投与後 2 時間までは TE-031 の方が高かったが、その後の消失は M-5 の方が緩慢であり、4 時間以降は M-5 の方が TE-031 に比べ若干高濃度で推移した。なお、各時点における TE-031 と M-5 の濃度の和は bioassay で得られた値と良好に一致した。

2. 反復投与

TE-031 200 mg を 12 時間ごと (朝、夕食前 30 分) に 14 日間、計 27 回反復投与し、初回、7 回 (4 日目) および 27 回 (14 日目) 投与後 12 時間までの血清中 TE-031 および M-5 の濃度推移を Fig. 5 に示す。TE-031 の血清中濃度推移は投与回数が増えるに従って若干増加する傾向がみられたが、各回投与時の C_{max} 、AUC に有意な差は認められなかった。M-5 の推移につ

いては、 C_{max} は TE-031 の約 1/2 であったが、 $T_{1/2}$ は TE-031 より長く、また、各回投与時の M-5 の C_{max} および AUC は TE-031 の場合と同様に有意な変化は示さなかった。

なお、各時点における TE-031 と M-5 の濃度の和は、空腹時単回投与の場合と同様に bioassay の値と大旨一致した。

尿中への排泄は Fig. 6 に示すように、各回投与時とも M-5 より TE-031 の方が多く、初回投与後 12 時間までに TE-031 が 35.4 mg、M-5 が 27.5 mg であり、27 回投与後ではそれぞれ約 56 mg および 35 mg であった。

なお、TE-031 と M-5 の排泄量の和は bioassay の値に比べ若干低かった。

3. 代謝物分析

1) 単回投与

TE-031 を空腹時に単回投与後 1.5 および 4 時間後の血清中未変化体および代謝物組成を Fig. 7 に示す。100 mg 投与後 1.5 時間では未変化体および活性代謝物 M-5 がそれぞれ 44.8 および 40.3% を占め、他に M-1、M-6 が少量検出され、200、400 mg 投与ではその他に M-4 が微量検出された。また、用量が増加するに従い M-5 の割合が減少し、未変化体が増加する傾向が認められた。投与後 4 時間においても未変化体と M-5 が合わせて 83.1~89.6% を占めたが、1.5 時間に比べ M-5 の割合が若干増加した。

投与後 24 時間までの尿について分析した結果、Fig. 8 に示すように 100 mg では M-5 が全体の 45.4% で最も多く、次いで未変化体が 40.5% を占め、他に M-1、M-4、M-6 が 2.7~6.2% 検出された。高用量では未変化体の増加、M-5 の減少傾向が認められ、400 mg

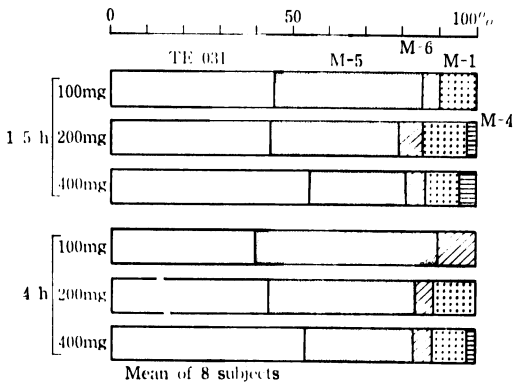


Fig. 7. Proportion of metabolites in serum following single oral administration of TE-031 to healthy volunteers

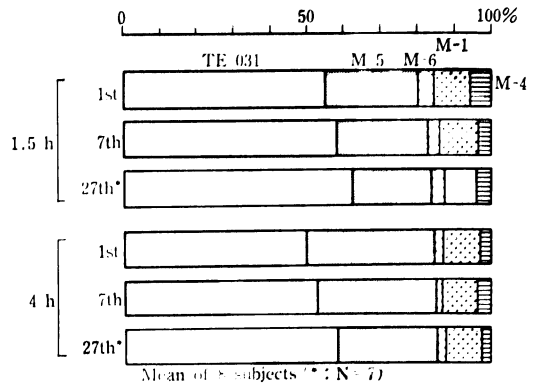


Fig. 9. Proportion of metabolites in serum following daily oral administration of TE-031 (200 mg x 2/day, 27 times) to healthy volunteers

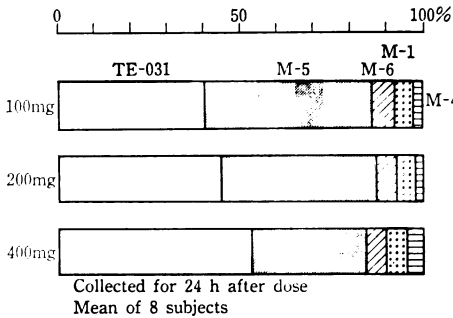


Fig. 8. Proportion of metabolites in urine following single oral administration of TE-031 to healthy volunteers

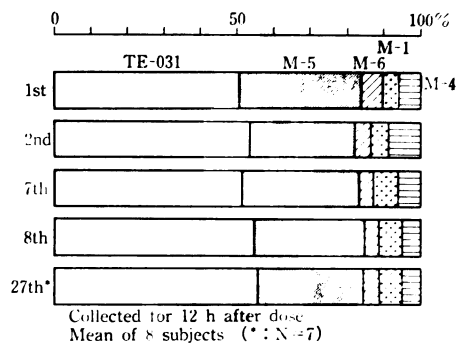


Fig. 10. Proportion of metabolites in urine following daily oral administration of TE-031 (200 mg x 2/day, 27 times) to healthy volunteers

投与では未変化体が全体の 53.2% を占めた。

2) 反復投与

TE-031 200 mg を 1 日 2 回 14 日間反復投与した際の血清および尿中代謝物組成を Fig. 9 および Fig. 10 に示す。

初回投与後 1.5 時間の血清中は未変化体が全体の 55.2% で最も多く、次いで M-5, M-1, M-4, M-6 がそれぞれ 25.3, 9.8, 5.7, 4.0% 認められた。投与後 4 時間では、空腹下单回投与時と同様に未変化体の減少、M-5 の増加傾向が認められた。また、投与回数が増えるに従って未変化体の割合が若干増加したが全体として大きな変化は認められなかった。

投与後 24 時間までの尿中代謝物組成は投与期間を通してほぼ一定であり、未変化体が 50.4~55.3%, M-5 が 28.9~33.6% であった。なお、空腹時単回投与と比べ血清、尿いずれも M-4 が若干多く検出された。

III. 考 察

今回、TE-031 錠を経口投与後の体内動態について、前報¹⁾の bioassay による検討に引き続き、代謝物も含めて HPLC 法を用いて検討した。

単回経口投与後の血清中および唾液中の TE-031 と活性代謝物 M-5 の濃度を経時的に測定した結果、各時点における TE-031 と M-5 の濃度の和は bioassay の値と良く一致した。

一方、尿中排泄についても TE-031 と M-5 の排泄量の和は bioassay の値より低かったものの有意な差は認められず、大旨一致した値となった。

これまで、動物およびヒトの尿中から 6 個の代謝物が同定されているが、M-5 以外の *in vitro* 抗菌活性は TE-031 に比べかなり低く⁷⁾、また、ヒトの尿について行なった TLC-バイオオートグラフィの結果、その他の

未同定代謝物はほとんど検出されていない。

一方、M-5 の抗菌力に関しては菌株により若干異なるものの、測定に用いた *M. luteus* ATCC 9341 に対しては TE-031 とほぼ同等の抗菌活性を示すことが知られている⁷⁾。これらのことから、血清、尿あるいは唾液中の抗菌活性はその大部分が TE-031 および M-5 の活性に基づくものと考えられた。

100 mg あるいは 200 mg 投与の場合、TE-031 と M-5 の割合は、血清中濃度、尿中排泄のいずれもほぼ同等であったが、400 mg 投与では TE-031 が M-5 を明らかに上回った。これは高投与量となるに従って、肝における M-5 への水酸化反応が一部飽和したことによる現象と推察された。

投与後の血清および尿について未変化体を含めすでに同定されている M-1~M-6 までの代謝物を測定し、それらの比率を求めた。その結果、血清、尿ともに TE-031 と M-5 を合わせて 80~90% を占め、次いで *N*-脱メチル体である M-1、M-5 の異性体 M-6 および脱クラジノース体である M-4 が若干認められた。先に実施した動物の場合^{6,8)}、ラットとイヌは *N*-脱メチル体である M-1、M-2 が最も多く、サルでは M-1 と M-5 が多く認められており、TE-031 の代謝経路はヒトと動物で大きく異なることが示された。

なお、M-4 は主に胃内の酸により分解され生成するものと考えられるが⁹⁾、その量は極めて少なく、本剤の高い耐酸性が立証された。

TE-031 錠 200 mg を 1 日 2 回 14 日間反復投与し、初回、4 日目および 14 日目の血清中濃度と尿中排泄の推移および代謝物組成を検討した結果、いずれの場合も投与回数による著しい変化は認められず、反復投与による代謝的変動は少ないものと思われた。

今回の結果、TE-031 錠をヒトに投与すると高濃度かつ持続的な血清中濃度を示すが、これは本剤が耐酸性に優れるため消化管内でほとんど分解・不活化を受けることなく吸収され、さらに体内で活性代謝物 M-5 が生成し、これが未変化体とともに活性に寄与しているためと考えられた。

また、尿中排泄も投与量の 30~50% と従来のマクロ

ライド系抗生物質¹⁰⁾に比べ著明に高いことから、尿路感染症への適応が期待されているが、尿中抗菌活性についてもその約 1/2 は M-5 に基づくことが示された。

文 献

- 1) 諏訪俊男, 浦野英俊, 児玉智子, 中村方人: TE-031 の体内動態 (第 8 報), ヒトにおける吸収および排泄 (bioassay 法)。Chemotherapy 36: 921~932, 1988
- 2) 安達 孝, 森本繁夫, 渡辺慶昭, 曾田 馨: TE-031 のヒト尿中代謝物の単離同定。Chemotherapy 36 (S-3): 264~273, 1988
- 3) 水島 裕, 平塚秀雄: TE-031 の第一相臨床試験。Chemotherapy 36 (S-3): 452~499, 1988
- 4) 大竹盾夫, 小椋 薫, 岩立周子, 諏訪俊男: TE-031 の体液内濃度測定法に関する研究 (第 2 報), HPLC 法による体液内濃度測定。Chemotherapy 36 (S-3): 192~197, 1988
- 5) 大竹盾夫, 小椋 薫, 岩立周子, 諏訪俊男: TE-031 の体液内濃度測定法に関する研究 (第 3 報), HPLC 法による体液内代謝物濃度測定。Chemotherapy 36: 916~920, 1988
- 6) 諏訪俊男, 吉田英生, 吉富幸代, 亀井慶子: TE-031 の体内動態 (第 4 報), ラットおよびイヌにおける ¹⁴C-TE-031 の代謝。Chemotherapy 36 (S-3): 227~237, 1988
- 7) 長手尊俊, 小野武夫, 杉田和彦, 明石 敏, 森川悦子, 宮崎真奈美, 竹市千恵, 大村貞文: TE-031 のヒト主要代謝物 M-5 の抗菌作用について。Chemotherapy 36 (S-3): 156~169, 1988
- 8) 諏訪俊男, 吉田英生, 河野喜郎, 吉富幸代, 亀井慶子, 江角凱夫, 高市松夫, 横田喬枝: TE-031 の体内動態 (第 6 報), サルにおける TE-031 の吸収, 分布, 代謝, 排泄。Chemotherapy 36 (S-3): 248~256, 1988
- 9) MORIMOTO S, ADACHI T, TAKAHASHI Y, ASAKA T, KASHIMURA M, WATANABE Y, OMURA S, SOTA K: A new macrolide antibiotic, TE-031. Synthesis and biological properties. Abstracts of papers of 26 th Intersci. Conf. on Antimicrob. Agents Chemother. No. 409, New Orleans, La., 1986
- 10) 清水喜八郎: II Macrolide antibiotics の吸収・排泄・体内分布・代謝, 1) 既知の macrolide antibiotics についての review。Chemotherapy 21: 915~919, 1973

METABOLIC FATE OF TE-031 (A-56268) (IX)
ABSORPTION AND EXCRETION IN HUMANS (HPLC METHOD)

TOSHIO SUWA, TATEO OHTAKE, HIDETOSHI URANO, TOMOKO KODAMA,
MASATO NAKAMURA and CHIKAKO IWATATE
Research Center, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.,
1-403 Yoshino-cho, Ohmiya, Saitama 330, Japan

TERUKUNI WATANABE
Ohmiya General Hospital

To study the pharmacokinetics of TE-031 tablets in humans, we measured TE-031 and its metabolites in serum, urine and saliva by HPLC and compared the results with the preceding bioassay data.

After oral administration of TE-031, roughly equal concentrations of TE-031 and its active metabolite, (14*R*)-14-hydroxy TE-031 (M-5), were mainly detected in serum, urine and saliva. Also, at 400 mg, the proportion of TE-031 increased over that of M-5, suggesting metabolic saturation of TE-031 at higher doses.

The total concentration of TE-031 and M-5 in each sample was generally in agreement with the value measured by bioassay.

As for the other metabolites, small amounts of *N*-demethyl TE-031 (M-1), decladinosyl TE-031 (M-4) and the isomer of M-5 (M-6) were detected in the serum and urine. These results indicate that 14-hydroxylation of TE-031 is the principal metabolic pathway in humans.

With repeated administration of TE-031 at 200 mg \times 2/day for 14 days, the composition of metabolites was not significantly changed in serum and urine, suggesting that metabolic changes scarcely occurred during repeated administration.