

TE-031の体内動態(第1報)
 ラットおよびマウスにおけるTE-031と
 エリスロマイシン ステアレートの比較

諏訪俊男・吉田英生・福島清実・長手尊俊
 大正製薬株式会社総合研究所

ラットおよびマウスにおけるTE-031の吸収、分布、排泄についてエリスロマイシン ステアレート(EM-S)と比較検討した。

TE-031の血漿中濃度は経口投与後1~2時間でピークに達し、最高濃度はラットでEM-Sの4倍、マウスでは5倍を示した。各臓器中濃度は血漿に比べ著明に高く、ラットは肺>腎>肝>脾>心、マウスでは肝>脾>腎>脾>心の順であった。ラットの肺におけるTE-031の最高濃度はEM-Sの36倍、AUCでは69倍であり、本薬物が肺へ特異的に移行することが示された。尿中排泄は投与後24時間までにラットが投与量の23.2%、マウスが13.4%であり、EM-S(3.3%、1.0%)に比べ著しく高かった。

TE-031は14員環マクロライド系抗生物質エリスロマイシン(以下EMと略)のC-6水酸基をメトキシ基に変換したものであり(Fig. 1), 抗菌スペクトルはEMとほぼ同様であるが, *in vitro* 抗菌力はEMと同等もしくは1管程度優れている。一方, マウスを用いた感染防御試験において, TE-031は全身感染症モデルでEMの6~15倍, 呼吸器感染症モデルでは約10倍の著明な防御効果が認められている¹⁾。

EMは酸によってC-6水酸基とC-9カルボニル基が関与し, 容易に分子内 enol ether を形成, 次いで spiroketal を経て加水分解され, 急速に抗菌活性を失うことが知られている^{2,3)}。これに対しTE-031は, C-6メトキシ基が存在することによってこれら一連の反応が抑制され, その結果, 酸に対して極めて安定であることが確認されている⁴⁾。したがって, TE-031を経口投与した際の生物学的利用率はEMに比べ大幅に改善されることが予想された。

今回著者は, TE-031の体内動態をEMと比較する目的で, ラットおよびマウスに経口投与後の血漿中濃度, 組織中濃度, 尿中排泄について bioassay により検討した。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

TE-031および比較対照薬として用いたエリスロマイシン ステアレート(以下EM-Sと略)は大正製薬(株)総合研究所で合成したものを使用した。その他の試薬はいずれも市販の特級品を用いた。

2. 実験動物

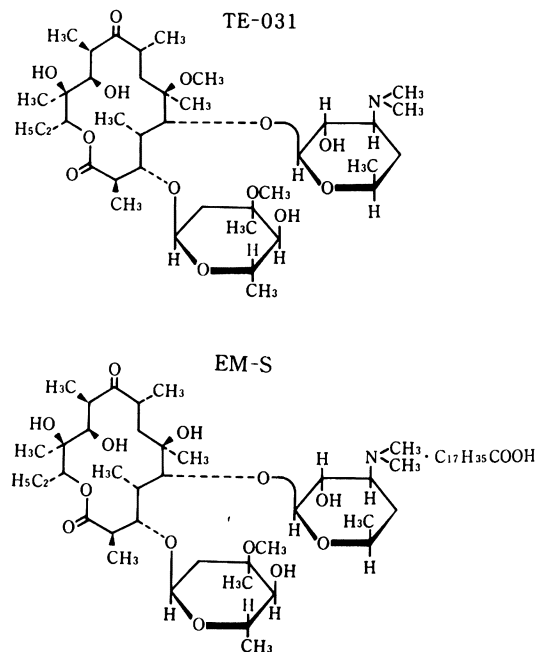
マウスは ddy 系雄性マウス4週齢を, ラットは Wis-

tar 系雄性ラット7週齢をいずれも静岡県実験動物農業協同組合より購入し, 一週間予備飼育後, 健康状態の良好な動物を実験に供した。

3. 投与方法

TE-031またはEM-Sを5%アラビアゴムに懸濁し, 投与前16時間絶食させた動物にTE-031は10または100 mg/kg, EM-Sは100 mg/kg(EM力価)の用量で経口投与

Fig. 1 Chemical structure of TE-031 and erythromycin stearate



した。給餌は投与後4時間から行った。

4. 血漿および組織中濃度の測定

薬物を投与したのち所定時間に動物をエーテルで軽く麻酔し、マウスは頸動脈、ラットは大腿動脈切断により放血致死させ、予めヘパリン処理を施した試験管に採血した。採取した血液は直ちに3000 rpm、4℃で遠心分離し、血漿を分取した。

臓器は肝、腎、心、脾および肺を摘出し、氷冷生理食塩水で軽く洗浄後、濾紙上で水分を取り精秤した。次いで各組織を1/50 M リン酸緩衝液(pH 7.4)/メタノール(1:4, v/v)で20% ホモジネートとしたのち3000 rpmで遠心分離し、得られた上清を測定試料とした。

5. 尿中排泄の測定

薬物を投与したのち、動物を個別に代謝ケージに収め、8時間毎に24時間までの自然排泄尿を採取した。尿は秤量後、必要に応じて1/15 M リン酸緩衝液(pH 7.2)で希釈し測定に供した。

6. 薬物濃度の測定⁵⁾

各試料中薬物濃度は抗菌活性により測定した。すなわち、*Micrococcus luteus* ATCC 9341を検定菌とし、接種菌量は10⁶cells/ml、測定培地として Heart infusion agar (HIA, 栄研)を用いたペーパーディスク法により測定し

た。標準溶液は標品を少量のメタノールに溶解後、血漿、組織ホモジナイズに用いた溶液、あるいは1/15 M リン酸緩衝液(pH 7.2)で希釈し、0.1~100 μg/ml の濃度範囲に調製して検量線を作成した。検出限界は血漿および尿が0.1 μg/ml、臓器は0.5 μg/gであった。

II. 実験結果

1. 血漿中濃度

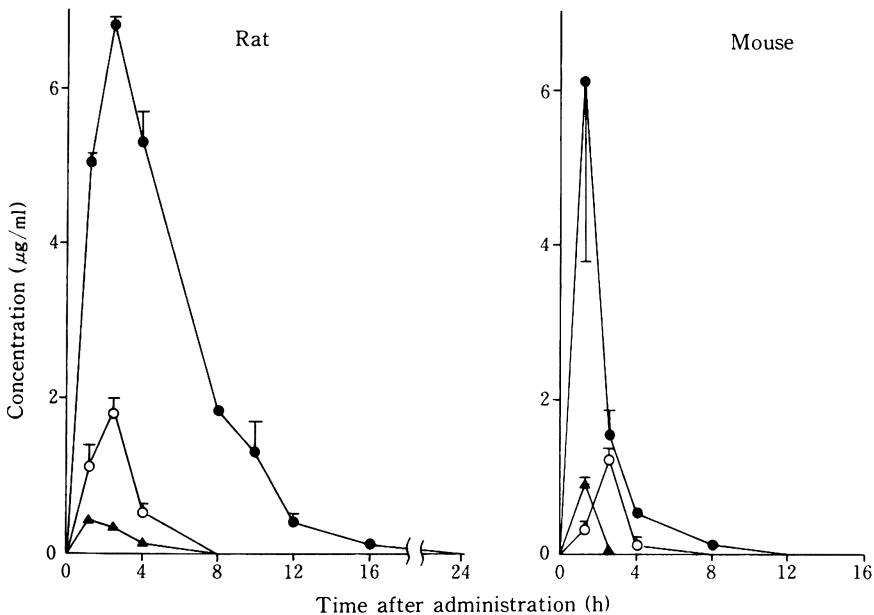
ラットおよびマウスにおける TE-031の血漿中濃度推移を Fig. 2 に示す。

ラットに TE-031を10または100 mg/kg で経口投与後の血漿中濃度は、投与後1~2時間で最高値に達し、それぞれ0.4および6.9 μg/mlであった。その後、10 mg/kg 投与群は4時間で0.1 μg/mlに低下し、8時間では検出限界以下であったが、100 mg/kg 投与群では、投与後16時間においても0.1 μg/mlの濃度が検出された。

一方、EM-S 100 mg/kg(EM 力価)経口投与後の血漿中濃度は、TE-031と同様に投与後2時間で最高濃度に達したが、その値(1.8 μg/ml)はTE-031の約1/4にすぎなかった。

マウスの場合もラットと同様な傾向が認められ、TE-031を10および100 mg/kg 経口投与後の最高血漿中

Fig. 2 Plasma concentrations after oral administration of TE-031 (▲ : 10, ● : 100mg/kg) and erythromycin stearate (○ : 100mg/kg) in rats and mice



Each point represents the mean ± S.E. of three animals

濃度は、いずれも投与後1時間でそれぞれ0.8および6.1 $\mu\text{g/ml}$ であった。EM-S 100 mg/kg 投与群では投与後2時間に最高濃度1.2 $\mu\text{g/ml}$ を示し、TE-031の最高値の1/5であった。なお、血漿中濃度の消失はTE-031, EM-S共にマウスの方がより速やかであった。

2. 組織中濃度

1) ラット

ラットにTE-031を10または100 mg/kg 経口投与後の主要組織中濃度は、Table 1に示すように血漿中濃度に比べ著明に高く、特に肺の濃度は最高時において10 mg/kg 投与群で血漿の約84倍、100 mg/kg 投与群では71倍の分布がみられた。次いで、肝、腎、脾では血漿の25～54倍の濃度が認められたが、心への分布は他の臓器に比べて低かった。

各臓器からの消失は血漿中濃度とはほぼ平行し、10 mg/kg 投与群では投与後16時間で検出限界以下となったが、100 mg/kg 投与群では投与後24時間においても肺、肝、脾に若干の分布が認められた。

一方、EM-S 100 mg/kg 投与の場合もTE-031と同様に各臓器中の濃度は血漿に比べ明らかに高かったが、臓器間では肝がもっとも高く、次いで腎、脾、肺、心の順であった。

TE-031とEM-Sの100 mg/kg 投与群について最高濃度を比較すると、肝および心のTE-031濃度は、血漿と同様にEM-Sの4～5倍、腎、脾は9倍であったが、肺は約36倍を示した。なお、TE-031 10 mg/kg 投与時の肺の濃度はEM-S 100 mg/kg 投与群と比べても明らかに高かった。

2) マウス

マウスにおけるTE-031およびEM-Sの主要組織中濃度をTable 2に示す。ラットの場合と同様に、TE-031の各臓器中濃度は血漿に比べていずれも高かったが、臓器間でみると10 mg/kg 投与群の最高濃度は腎が、100 mg/kg 投与群では肝が最も高かった。EM-Sの場合は肝が最も高く、血漿の27倍であった。

TE-031 100 mg/kg 投与群の最高濃度をEM-S投与群と比べると、いずれの臓器においてもTE-031の方が明らかに高く、肺はEM-Sの13倍で最も高かった。

3) 薬動学的解析

血漿中濃度および臓器中濃度推移から濃度曲線下面積(AUC)を台形則により算出した。

Table 3に示すようにラットにTE-031 100 mg/kg 経口投与後の各臓器のAUCは血漿のAUCに比べ著明に高く、特に肺は血漿の73倍を示した。これらをEM-S 100 mg/kg 投与時と比較すると、血漿、肝、腎、心、脾は7～19倍であったが、肺はEM-Sの69倍に達し、

TE-031が肺に著しい親和性を有することが示された。

一方、マウスの場合もラットと同様に血漿のAUCに比べて各臓器の値は高く、良好な組織移行性が示されたが、その比率4～21でラットに比べ低かった。しかし、肺のAUCはEM-S投与群の約13倍であり、血漿や他の臓器に比べて明らかに高く、TE-031はマウスにおいても肺に特異的に分布することが示された。

また、TE-031 100 mg/kg 投与群における血漿および各臓器のAUC値を10 mg/kg 投与群と比較すると、いずれも明らかに用量比を上回る増加が認められた。

3. 尿中排泄

TE-031またはEM-Sを力価100 mg/kgでラットおよびマウスに経口投与後の尿中排泄率をTable 4に示す。

TE-031投与後24時間までにラットが投与量の23.2%、マウスでは13.4%が尿中に排泄された。これに対しEM-S投与後の活性体の尿中排泄はラットが3.3%、マウスは1.0%にすぎなかった。

Ⅲ. 考 察

一般にマクロライド系抗生物質は経口的に投与されるが、その代表的薬剤であるエリスロマイシンは胃酸によって容易に分解、不活性化されることが知られている²⁾。

TE-031はEMのC-6水酸基をメトキシ基に変換したもので、pH 2の条件下でEMは30分後に99.5%が分解されるのに対し、TE-031はわずか5%分解されるにすぎず酸に対し極めて安定であることが明らかにされている¹⁾。

今回、TE-031の体内動態を把握する目的で、ラットおよびマウスに経口投与後の血漿中濃度、組織分布および尿中排泄について、EM-Sを対照薬としてbioassayにより比較検討した。

TE-031またはEM-Sを経口投与後の血漿中濃度は速やかに上昇し、ラットおよびマウスいずれの場合も投与後1～2時間で最高濃度に達したことから、TE-031の消化管吸収はEMと同様に良好であることが示された。

TE-031 100 mg/kg 投与後の最高血漿中濃度は、EM-S 100 mg/kg(EM力価)投与に比べラットで約4倍、マウスでは約5倍と明らかに高値を示した。

さらにEM-Sの場合、投与後8時間以降は検出限界($<0.1 \mu\text{g/ml}$)以下であったのに対し、TE-031では16時間においても若干の抗菌活性が検出され、より持続的であることが示された。

栗秋ら⁶⁾は4種のマクロライド系抗生物質をイヌに経口投与した結果、投与後1時間の血清中濃度の順位はスピラマイシンがEMの約4倍で最も高く、次いで、ジョサマイシン>ロイコマイシン>エリスロマイシンであり、

Table 1 Plasma and tissue concentrations after oral administration of TE-031 and erythromycin stearate in rats

Admini- stration	Time (h)	Concentration ($\mu\text{g/g}$ or ml)					
		Plasma	Lung	Liver	Kidney	Heart	Spleen
TE-031 10mg/kg	1	0.4 \pm 0.0	33.5 \pm 1.6	21.6 \pm 2.9	12.5 \pm 1.2	6.4 \pm 0.7	14.8 \pm 2.3
	2	0.3 \pm 0.0	31.1 \pm 4.0	13.6 \pm 1.2	8.2 \pm 0.6	2.9 \pm 0.3	13.7 \pm 1.2
	4	0.1 \pm 0.0	18.0 \pm 0.8	4.1 \pm 0.6	4.4 \pm 0.3	1.3 \pm 0.1	9.3 \pm 0.7
	8	N.D.	4.1 \pm 0.2	N.D.	0.3 \pm 0.2	N.D.	1.0 \pm 0.1
	12	N.D.	1.0 \pm 0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	16	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TE-031 100mg/kg	1	5.0 \pm 0.1	236.7 \pm 7.3	193.3 \pm 6.7	111.7 \pm 3.3	29.7 \pm 1.7	103.3 \pm 1.7
	2	6.9 \pm 0.1	491.7 \pm 58.3	178.3 \pm 39.2	188.3 \pm 11.7	51.7 \pm 4.8	175.0 \pm 10.4
	4	5.3 \pm 0.4	363.3 \pm 33.3	93.3 \pm 6.0	113.3 \pm 13.3	36.2 \pm 2.8	141.7 \pm 5.8
	8	1.8 \pm 0.0	153.3 \pm 21.7	28.3 \pm 2.4	28.0 \pm 2.1	10.5 \pm 1.4	46.8 \pm 2.9
	10	1.3 \pm 0.4	108.3 \pm 12.0	18.7 \pm 3.3	20.7 \pm 3.3	7.5 \pm 1.5	34.0 \pm 5.5
	12	0.4 \pm 0.1	58.8 \pm 6.3	7.9 \pm 0.6	10.6 \pm 1.0	3.8 \pm 1.0	18.3 \pm 2.0
	16	0.1 \pm 0.0	14.5 \pm 3.2	2.0 \pm 0.9	3.2 \pm 1.3	0.5 \pm 0.2	7.1 \pm 2.8
	24	N.D.	1.3 \pm 0.4	0.1 \pm 0.1	N.D.	N.D.	0.4 \pm 0.2
EM-S 100mg/kg	1	1.1 \pm 0.3	6.7 \pm 1.2	30.0 \pm 6.5	12.3 \pm 3.0	5.7 \pm 1.8	10.2 \pm 2.0
	2	1.8 \pm 0.2	13.8 \pm 3.4	44.2 \pm 2.8	21.0 \pm 3.8	11.0 \pm 4.3	19.3 \pm 2.8
	4	0.5 \pm 0.1	4.6 \pm 0.2	9.1 \pm 2.0	6.2 \pm 0.6	1.6 \pm 0.2	5.8 \pm 1.0
	8	N.D.	0.6 \pm 0.0	N.D.	0.5 \pm 0.1	N.D.	0.6 \pm 0.1
	10	N.D.	0.2 \pm 0.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	12	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	16	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Each value represents the mean \pm S.E. of three animals
N.D. : Not detected

これは人工胃液中での安定性と良く相関することを報告している。

したがって、TE-031の血漿中濃度がEM-Sに比べて明らかに高かったのは、TE-031が胃酸に対し極めて安定なため、経口投与後消化管内でほとんど分解を受けることなく、活性体として高率に吸収されるためと考えられる。

エリスロマイシンをはじめマクロライド系抗生物質は組織移行性が良好で、血漿中濃度に比べかなり高い臓器

内濃度を示すことが知られている。

今回、TE-031をラットおよびマウスに経口投与後の主要組織中濃度を測定した結果、いずれの臓器も血漿中濃度に比べはるかに高く、特に肺においては血漿のAUCに対する臓器のAUCの比率は、ラットの10または100 mg/kg投与群でそれぞれ129および73、マウスの100 mg/kg投与群では21であり、動物種により若干の差はあるものの、本薬物が肺に著しい親和性を示すことが明らかとなった。一方、EM-S投与後の臓器内濃度も血漿に

Table 2 Plasma and tissue concentrations after oral administration of TE-031 and erythromycin stearate in mice

Admini- stration	Time (h)	Concentration ($\mu\text{g/g}$ or ml)					
		Plasma	Lung	Liver	Kidney	Heart	Spleen
TE-031 10mg/kg	1	0.8 \pm 0.1	7.0 \pm 1.4	3.7 \pm 0.1	8.9 \pm 2.7	0.9 \pm 0.3	4.0 \pm 1.1
	2	N.D.	2.0 \pm 0.6	1.8 \pm 0.1	1.5 \pm 0.2	N.D.	1.4 \pm 0.1
	4	N.D.	0.6 \pm 0.3	0.4 \pm 0.4	0.5 \pm 0.5	N.D.	0.4 \pm 0.4
	8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TE-031 100mg/kg	1	6.1 \pm 2.3	72.8 \pm 17.2	96.8 \pm 24.7	71.3 \pm 18.8	24.5 \pm 6.0	55.2 \pm 14.5
	2	1.5 \pm 0.4	36.0 \pm 10.1	50.5 \pm 8.8	32.3 \pm 10.1	8.4 \pm 1.2	21.8 \pm 3.8
	4	0.5 \pm 0.0	22.5 \pm 1.9	12.2 \pm 1.2	12.2 \pm 1.3	2.1 \pm 0.3	12.5 \pm 1.2
	8	0.1 \pm 0.0	4.1 \pm 1.4	1.2 \pm 0.3	1.9 \pm 0.0	N.D.	3.1 \pm 0.4
	12	N.D.	0.6 \pm 0.6	N.D.	1.1 \pm 1.1	N.D.	0.4 \pm 0.4
	16	N.D.	0.3 \pm 0.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EM-S 100mg/kg	1	0.3 \pm 0.1	4.6 \pm 1.3	18.9 \pm 2.6	5.7 \pm 0.8	2.6 \pm 1.1	4.5 \pm 0.5
	2	1.2 \pm 0.2	5.7 \pm 1.1	32.2 \pm 5.0	8.6 \pm 1.5	2.4 \pm 0.5	9.4 \pm 1.8
	4	0.1 \pm 0.1	1.2 \pm 0.2	1.6 \pm 1.6	3.0 \pm 3.0	0.7 \pm 0.7	0.8 \pm 0.8
	8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	12	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	16	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Each value represents the mean \pm S.E. of three animals
N.D.: Not detected

比べていずれも高かったが、分布パターンはTE-031の場合と異なり、肝が最も高く、次いで腎、脾、肺、心の順であった。この結果はLEEら⁷⁾の報告と一致している。TE-031の各臓器中濃度はいずれもEM-S投与群を大きく上回っており、多くの臓器において最高濃度はEM-Sの3-9倍であったが、ラットの肺の濃度はEM-Sの36倍、AUCで比較すると69倍の高値を示した。マウスにおいても肺のTE-031の濃度はEM-S投与群の13倍であった。この様にTE-031の肺の濃度がEM-S投与群に比べて著しく高かったことから、TE-031は経口投与後、活性体として高率に吸収されるのみならず、肺へ特異的な親和性を有することが示された。

TE-031が臓器移行性、とりわけ肺への移行性に優れることは、本薬物の *in vitro* 抗菌力がEMとほぼ同等であるにもかかわらず、感染防御試験においてEMに比べ顕著な効果を示すことを裏付けるものと考えられる。

尿中への抗菌活性の排泄もEM-Sは投与後24時間までにラット、マウス共に投与量の数%にすぎなかったが、TE-031ではラットが23.2%、マウスが13.4%と高い排泄率を示した。

この結果は、従来のマクロライド系抗生物質^{8,9)}と異なり本薬物が尿路感染症においても有効であることを示唆するものと考えられる。

Table 3 Area under the tissue concentration versus time curve (AUC) after oral administration of TE-031 and erythromycin stearate in rats and mice

Tissue	TE-031				EM-S	
	10mg/kg		100mg/kg		100mg/kg	
	Rat	Mouse	Rat	Mouse	Rat	Mouse
Plasma	1.2 (1)	0.8 (1)	41.1 (1)	10.3 (1)	5.3 (1)	2.4 (1)
Lung	154.6 (129)	11.8 (15)	3009.3 (73)	214.9 (21)	43.4 (8)	16.8 (7)
Liver	54.3 (45)	7.6 (10)	899.1 (22)	214.0 (21)	123.6 (23)	72.0 (30)
Kidney	39.2 (33)	12.7 (16)	910.5 (22)	167.8 (16)	63.9 (12)	27.6 (12)
Heart	14.7 (12)	0.9 (1)	276.8 (7)	43.4 (4)	27.0 (5)	8.3 (3)
Spleen	67.3 (56)	7.3 (9)	1098.4 (27)	139.4 (14)	58.4 (11)	21.0 (9)

AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/g}$ or ml) : Calculated by trapezoidal analysis

Figures in parentheses are expressed as the ratio of AUC in tissue to that in plasma

Table 4 Urinary excretion after oral administration of TE-031 and erythromycin stearate in rats and mice

(100 mg/kg)

Time (h)	TE-031		EM-S	
	Rat	Mouse	Rat	Mouse
0 ~ 8	17.2 ± 0.2	4.1 ± 2.4	2.6 ± 1.0	0.7 ± 0.1
8 ~ 16	5.2 ± 0.4	7.3 ± 2.0	0.6 ± 0.1	0.2 ± 0.0
16 ~ 24	0.8 ± 0.1	2.0 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Total	23.2 ± 0.3	13.4 ± 1.8	3.3 ± 1.0	1.0 ± 0.1

Each value represents the mean ± S.E. of three animals

文 献

- 1) 長手尊俊, 杉田和彦, 沼田和生, 小野武夫, 宮地純子, 森川悦子, 大村貞文: 新マクロライド系抗生物質 TE-031の抗菌作用について。Chemotherapy 投稿中
- 2) 大村 智, 榑原秀夫: 14員環 Macrolides 抗生物質の化学修飾。有機合成化学 38(4): 395~414, 1980
- 3) LAZAREVSKI, T. ; G. RADOBJA & S. DJOKIC : Erythromycin VI : Kinetics of Acid-Catalyzed Hydrolysis of Erythromycin Oxime and Erythromycylamine. J. Pharm. Sci. 67 : 1031~1033, 1978
- 4) MORIMOTO, S. ; Y. TAKAHASHI, Y. WATANABE & S. OMURA Chemical Modification of Erythromycins I. Synthesis and Antibacterial Activity of 6-O-methyl-erythromycin A. J. Antibiot. 37 : 187~189, 1984
- 5) 長手尊俊, 杉田和彦, 宮地純子, 宮崎真奈美, 竹市千恵, 小野武夫, 大竹盾夫, 大村貞文: TE-031の体液内濃度測定法に関する研究(第1報) bioassay 法による体液内濃度測定。Chemotherapy 投稿中
- 6) 栗秋 要, 佐藤卓朗, 佐野健治, 佐々木弘三, 塩原有一: JOSAMYCIN の研究 VI。Jpn. J. Antibiot. 22 : 226~231, 1969
- 7) LEE, C. C. : R. C. ANDERSON & K. K. CHEN : Tissue Distribution of Erythromycin in Rats. Antibiot. Chemother. 3 : 920~924, 1953
- 8) 酒井敦史, 鈴木忠清, 遠藤里子, 渡辺真由美, 森下真考: 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。Chemotherapy 32 (S-6) : 93~98, 1984
- 9) SYOMURA, T. & K. UMEMURA : Studies of Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion of a New Macrolide Antibiotic SF-837 I. Chem. Pharm. Bull. 21(8) : 1824~1831, 1973

METABOLIC FATE OF TE-031(A-56268)(I)

Comparative pharmacokinetics of TE-031 and erythromycin stearate in rats and mice

TOSHIO SUWA, HIDEO YOSHIDA, KIYOMI FUKUSHIMA and TAKATOSHI NAGATE
 Research Center, Taisho Pharmaceutical Co. Ltd., Saitama

Absorption, distribution and excretion of TE-031 were compared with those of erythromycin stearate(EM-S) in rats and mice.

The peak plasma levels of TE-031, attained at 1~2h after oral administration, were four times those of EM-S in rats and five times those in mice. TE-031 concentrations in tissue were generally higher than in plasma : lung \gg kidney \geq liver \geq spleen $>$ heart in rats, liver \geq lung \geq kidney $>$ spleen $>$ heart in mice. In rat lung, the peak tissue level and AUC value for TE-031 were 36 and 69 times those of EM-S, respectively, suggesting specific affinity of TE-031 to the lung. The urinary recovery of TE-031 over 24h 23.2% of the dose in rats and 13.4% in mice, while those of EM-S were only 3.3% and 1.0%, respectively.