

SY5555 の実験動物における体内動態

金井 靖・諸住なおみ・米本 儀之・杉田 修・大沼 規男

サントリー株式会社医薬センター*

菊 地 康 博

山之内製薬株式会社第四創薬研究所

新規経口ペネム薬 SY5555 の体内動態をマウス、ラット、イヌを用いて検討した。

1. 本薬を絶食下のマウス、ラットおよびイヌに経口投与したところ、いずれの種においても消化管より速やかに吸収され、生物学的利用率はマウスで27.1%、ラットで13.0%、イヌで40.4%であった。

2. 幼若イヌに経口投与したところ成犬と比べて半減期は延長した。

3. 本薬は用量依存的に吸収され、主吸収部位は消化管上部と考えられた。摂餌後のイヌに本薬を経口投与したところ半減期の延長が観察された。

4. 経口投与後の未変化体の尿中排泄率はラットで3.8%、イヌで16.3%であり、SY5555 以外に活性代謝物は認められなかった。胆汁排泄率はラットで0.1%とわずかであった。イヌを用いた定型クリアランス法により本薬は主に尿細管分泌により排泄されることが示された。

5. マウス、ラットおよびイヌに経口投与したところ本薬は速やかに各組織に移行した。イヌにおける組織移行率は腎91.2%、肝20.9%、心17.0%、肺18.1%、前立腺15.3%、筋15.2%、顎下腺12.7%であった。本薬の分布容積はマウスおよびイヌでそれぞれ127, 127ml/kg であり、他のβ-ラクタム薬と同様に血漿および組織間質液中に分布するものと推定された。

6. 腎障害ラットに本薬を経口投与したところ半減期は延長したが、生物学的利用率は正常群と変わらなかった。

7. SY5555 は血清中のアルブミンと結合し、血清蛋白結合率は SY5555 濃度が20μg/ml で81.5~91.2%であった。本薬はヒト血清アルブミンに結合したビリルビンを遊離させなかった。

8. イヌに SY5555 錠剤および粒剤(小児用剤: ドライシロップ)を投与したところ、血漿中濃度推移は原体投与時と変わらず、錠剤および粒剤の生物学的利用率はそれぞれ47.8%、50.8%であった。

Key words : SY5555, 体内動態, マウス, ラット, イヌ

SY5555 はサントリー株式会社および山之内製薬株式会社で開発された経口投与可能な新規ペネム系β-ラクタム薬である。本薬は、広域抗菌スペクトラムを有し、好気性ならびに嫌気性菌に対して優れた抗菌力を示す。特に腸球菌に対しては既存の経口抗菌薬と比較して、優れた抗菌活性を示す。

今回著者らは SY5555 をマウス、ラット、イヌに経口または静脈内投与し、活性体である SY5555 の体内動態について検討したのでその成績を報告する。

1. 実験材料および方法

1. 使用薬剤および試薬

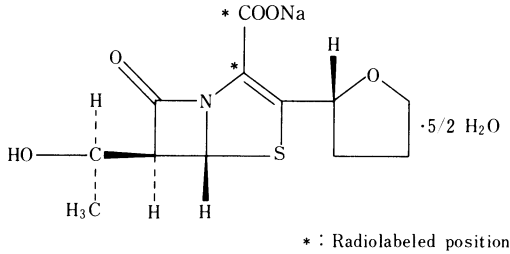
SY5555 の原体、錠剤、粒剤(ドライシロップ)はサントリー株式会社で製造したものを使用した。[¹⁴C]

SY5555 (根本特殊化学(株)にて合成)の比放射能は1.75MBq/mg、放射化学的純度は95%以上であった。Cilastatin (CS) はチエナム[®]製剤(萬有製薬(株))から当社にて単離・精製したものを使用した。微生物学的測定(bioassay)用の培地成分としてペプトン、肉エキスはミクニ化学産業(株)、寒天は栄研化学(株)のものを使用した。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)用試薬およびその他の試薬は市販の特級品を用いた。[¹⁴C] SY5555 の構造式を Fig. 1 に示した。

2. 実験動物

実験動物として以下のものを用いた。

マウス: ICR 系, 雄(日本チャールスリバー(株)), 5~6週令, 体重19.5~28.6g



* : Radiolabeled position

Fig. 1. Chemical structure of [¹⁴C]SY5555

ラット：SD系，雄（日本チャールスリバー（株）），
6～7週令，体重200g前後

イヌ：Beagle種，雄（LRE，（株）東洋実験動物
センター），1～2年令，体重9.8～12.0kg

幼若イヌ：Beagle種，雄（（株）CSKリサーチパーク），
3週令，体重0.6～0.8kg

絶食の場合は実験前日からとし，水は自由に与えた。

3. 薬剤の投与

1) 経口投与

SY5555は生理食塩水に溶解し，マウスおよびラットには経口ゾンデにより，イヌにはゴム製カテーテルを用いて強制経口投与した。錠剤は蒸留水（約20ml）とともに嚥下させた。

2) 静脈内投与

SY5555を生理食塩水に溶解し，マウスおよびラットには尾静脈内に，イヌには前肢腕側皮静脈内に投与した。

4. 試料採取

1) 血漿

薬剤投与後の所定時にマウスでは頸動脈切断により，ラットでは腹部大動脈，イヌでは前肢腕側皮静脈から採血した。ラットおよび幼若イヌでの同一個体から経時的に採取する場合は，予めエーテル麻酔下で大動脈内にポリエチレン製チューブ（PE-50，Clay Adams）を挿入し，このチューブより採血した。血液はヘパリン処理した注射筒または試験管にとり，遠心（3,000rpm×15min，4℃）して血漿を分離した。

2) 尿

ラットではガラス製の代謝ケージを，イヌではステンレス製の代謝ケージを用いて尿を採取した。その他，ラットにおいてはペニスにチューブを接着し，ボールマンケージに保定後に採尿する方法も採用した。

3) 胆汁

エーテル麻酔下にラットを開腹し胆管にポリエチレン製チューブ（PE-10，Clay Adams）を挿入した。麻酔覚醒後にSY5555を投与し，流出する胆汁をドライ

アイスにて冷却した容器に採取した。

4) 組織

マウス，イヌでは頸動脈切断により，ラットでは腹部大動脈から放血致死させたのち組織を摘出した。各組織は生理食塩水にて洗浄後，マウスおよびラットの組織では3倍量のCS（1mg/ml）を含むM/15リン酸緩衝液（pH7.0）を，イヌの組織では3倍量のM/15リン酸緩衝液（pH7.0）/アセトニトリル（2/3，v/v）の混液を加えホモゲナイズし，遠心分離（1,300～7,000G×15min，4℃）後の上清を測定試料とした。

5. 吸収部位

24時間絶食したラットをエーテル麻酔下に開腹し，胃の噴門，幽門部ならびに小腸上部，中部，下部および結腸の両端を結紮した。各ループ（約10cm）にSY5555投与用のポリエチレンチューブを挿入し，腹腔内に戻した後，生理食塩水に溶解したSY5555を57.1mg/2ml/kgの用量で投与した。大腿動脈内に挿入したポリエチレンチューブから経時的に採血し，血漿中SY5555を測定しAUC_{0-3h}を求めた。

6. 腎排泄機序（プロベネシドの影響）

イヌを用いた定型クリアランス法により本薬の腎排泄機序を調べた。ペントバルビタール麻酔下にイヌ大腿静脈に挿入したポリエチレンチューブを介してクレアチニン（100mg/kg）を急速静脈内投与し，次いでマンニトール（50mg/min/kg）とクレアチニン（1.25mg/min/kg）を持続注入した。SY5555を1.7mg/kgの用量で急速静脈内投与し，引き続き45μg/min/kgで持続注入した。

SY5555の持続注入開始後30分日から5分間隔で計4回，血液は大動脈より，尿は輸尿管に留置したポリエチレンチューブから採取した。次いで，同一のイヌにプロベネシド（30mg/kg）を静脈内投与し，投与30分後から5分間隔で計4回血液および尿を採取した。血漿および尿中のクレアチニンならびにSY5555濃度を測定し，それぞれの腎クリアランスを求めた。SY5555の血漿蛋白結合率は限外濾過法（MPS-3，アマコン社）により求めた。

7. 腎障害時の体内動態

ラットにHgCl₂（2mg/kg）を皮下投与し腎障害を惹起したり。HgCl₂を投与してから約24時間経過したラットに [¹⁴C] SY5555を経口（57.1mg/kg）または静脈内投与（11.4mg/kg）し，大腿動脈に挿入したポリエチレンチューブから経時的に採血した。なお，腎障害の指標として血清中のBUNとクレアチニン濃度を測定した。

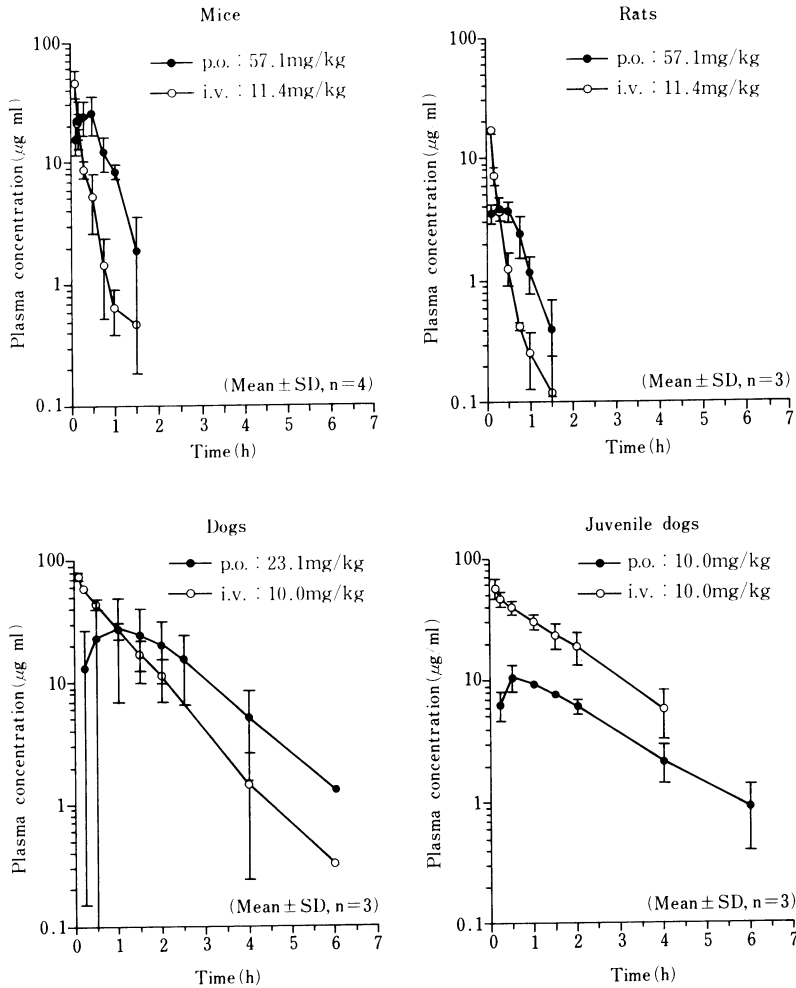


Fig. 2. Plasma concentrations of SY5555 after oral or intravenous administration to fasting mice, rats, dogs and juvenile dogs

Table 1. Pharmacokinetic parameters in mice, rats and dogs after oral or intravenous administration of SY5555

Species (sex)	Dose (mg/kg)	Route	N	Cmax (µg/ml)	Tmax (h)	AUC _{0-∞} (µg·h/ml)	T _{1/2} ¹⁾ (min)	F ²⁾ (%)	Vdss (ml/kg)	Mean±SD
										CL _{tot} (ml/min/kg)
Mice	57.1	p.o.	4	25.84	0.50	20.79	16.2	27.1	—	—
(male)	11.4	i.v.	4	—	—	15.30	12.9	—	127	12.42
Rats	57.1	p.o.	3	3.97±0.78	0.27±0.06	3.43±0.85	17.1±4.0	13.0±3.2	—	—
(male)	11.4	i.v.	3	—	—	5.24±0.29	13.4±1.1	—	351±35	36.30±1.96
Dogs	23.1	p.o.	3	34.06±17.73	1.33±0.58	76.23±41.39	47.6±6.6	40.4±21.9	—	—
(male)	10.0	i.v.	3	—	—	78.85±16.39	43.3±8.2	—	127±7	2.17±0.40
Juvenile dogs	10.0	p.o.	3	11.17±2.09	0.67±0.29	29.28±3.86	87.4±21.0	28.4±3.7	—	—
(male)	10.0	i.v.	3	—	—	102.99±26.95	80.6±17.3	—	185±21	1.69±0.43

1) p.o. : T_{1/2, app}, i.v. : T_{1/2 β}, 2) F = (AUC_{p.o.(0-∞)}/Dose_{p.o.}) / (AUC_{i.v.(0-∞)}/Dose_{i.v.})

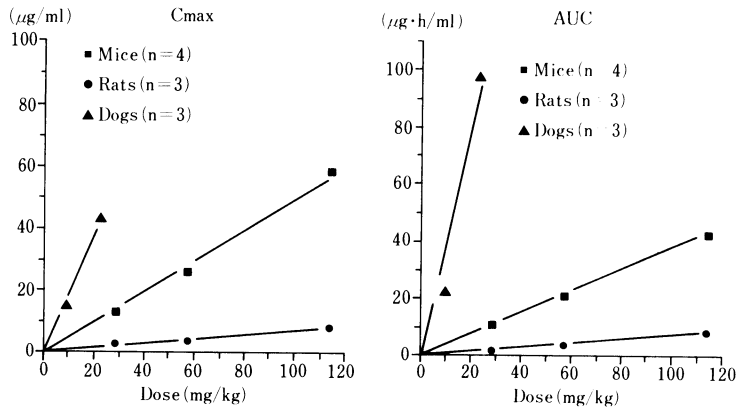


Fig. 3. Relationship between dose and Cmax, AUC after oral administration of SY5555 to fasting mice, rats and dogs

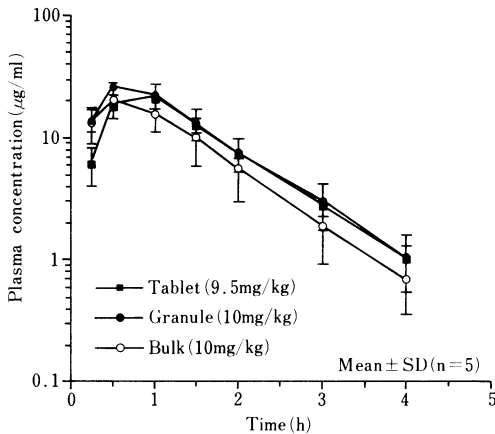


Fig. 4. Plasma concentrations of SY5555 after oral administration of SY5555 tablet, granule and bulk to fasting dogs (tablet: 9.5mg/kg, granule: 10mg/kg, bulk: 10mg/kg)

8. 活性代謝物の検索

ラットおよびイヌに経口投与し、薄層クロマト (TLC) -bioautographyにより尿中の活性代謝物を検索した。シリカゲルプレート (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck) に試料をスポットし、MeOH/CHCl₃ (40/50, v/v) により展開した。展開後プレートを十分に風乾し、*Bacillus subtilis* ATCC6633を検定菌としてbioautographyを行った。

9. 血清蛋白結合およびビリルビン遊離能

1) 血清蛋白結合率

血清蛋白結合率は限外濾過法により測定した。マウ

ス、ラット、イヌ、ヒト血清あるいは5.0%ヒト血清アルブミン (HSA) を含む等張リン酸緩衝液 (pH7.4) に [¹⁴C] SY5555 (5~1,000µg/ml) を10% (v/v) の容量で添加し37°C15分間インキュベートした。試料をMPS-3 (アミコン社) に移し1,000G×15分間遠心し、濾過前の試料および濾過液中の放射能濃度を液体シンチレーションカウンター (Tricarb 2200 CA, Packard) にて測定した。得られた結果をLangmuir型のプロットにより解析し、結合定数、最大結合数を求めた。

2) SY5555結合蛋白

HPLCを用いたゲル濾過法により血清中のSY5555結合蛋白を同定した。ヒト血漿100µlをTSK-Gel G3000SW (0.75×60cm, 東ソー(株)) カラムに注入し、移動相として [¹⁴C] SY5555 (5 µg/ml) を含むM/15等張リン酸緩衝液 (pH7.4) を使い、0.5ml/minの流速で展開した。蛋白の溶出を紫外外部吸収 (280nm) によりモニターすると同時に溶出液を30秒間隔で採取し放射能を測定した。

3) アルブミン結合部位およびビリルビン遊離能

SY5555のアルブミン結合部位を調べるために、diazepam, digitoxinおよびwarfarin 1~10µMを5% HSAを含む等張リン酸緩衝液に添加し、9. -1) に記載した方法によりSY5555の結合率を測定した。

ビリルビン遊離能はBrodersonの方法²⁾に従って調べた。HSA (34mg/ml), ビリルビン (10µg/ml) およびSY5555 (0~500µg/ml) を含むM/15リン酸緩衝液 (pH7.4) を37°C, 20分間インキュベートし、過酸化水素 (35mM) 5µlを添加して3分間インキュベートした。反応液をUVセル中に移し、peroxidase (254nM, Type- I, Sigma 社) 5µl添加後の吸光度変化 (455nm,

Table 2. Urinary and biliary excretion of SY5555 after oral or intravenous administration to rats and dogs

Species	Route	N	Dose (mg/kg)	Time (h)	Mean±SD	
					% of dose	
					Urine	Bile
Rats	p.o.	3	57.1	0~24	3.8±0.5	0.1±0.0
	i.v.	3	11.4	0~8	35.3±9.1	0.6±0.2
Dogs	p.o.	3	20.0	0~24	16.3±5.5	—
	i.v.	3	20.0	0~24	46.4±8.1	—

Table 3. Steady state renal clearance of SY5555 in dogs
(SY5555 : 1.7mg/kg, i.v. + 45μg/min/kg, i.v. infusion)

Probenecid 30mg/kg, i.v.	Ccr (ml/min)	Total SY5555		Unbound SY5555	
		Clearance ¹⁾	Ratio ²⁾	Clearance ¹⁾	Ratio ²⁾
-	17.0 ±8.9	6.04 ±3.63	0.342 ±0.042	137.9 ±115.0	7.03 ±3.46
+	14.0 ±6.8	1.24 ±0.99	0.078 ±0.042	30.5 ±26.5	1.86 ±1.31

1) ml/min, 2) SY5555 clearance/creatinine clearance

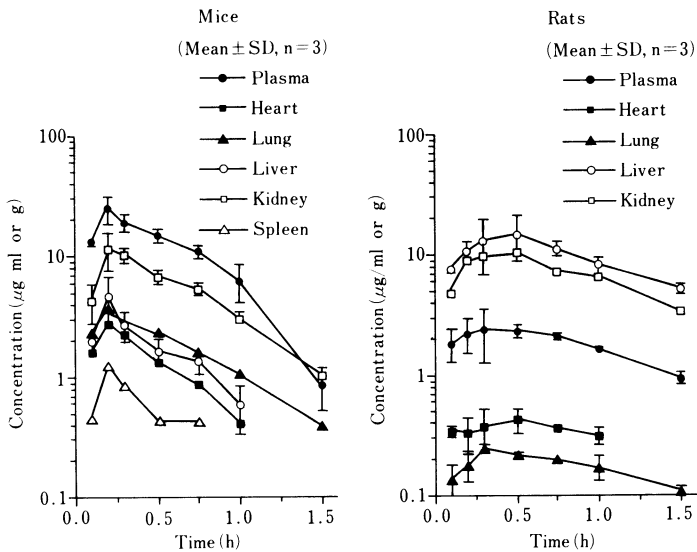


Fig. 5. Tissue concentrations of SY5555 after oral administration of SY5555 to mice and rats (57.1mg/kg)

Table 4. Tissue concentration of SY5555 at 30 min after oral administration of SY5555 (20mg/kg) to dogs

	Plasma	Kidney	Liver	Heart	Lung	Prostate	Muscle	M.G. ¹⁾
Concentration (μg/ml or g)	10.74	9.80	2.25	1.83	1.94	1.64	1.63	1.36
Tissue/Plasma (%)	100	91.2	20.9	17.0	18.1	15.3	15.2	12.7

1) Mandibular gland

Table 5. Absorption site for SY5555 in the gastrointestinal tract

AUC _{0-3h} ¹⁾ ($\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$)	Mean \pm SD, n = 3				
	Stomach	Small intestine			Large intestine
		Upper	Middle	Lower	Colon
	9.17 \pm 3.39	10.97 \pm 2.28	0.95 \pm 0.49	0.36 \pm 0.06	0.51 \pm 0.24

1) obtained from the plasma concentration of SY5555 after injection of SY5555 (57.1mg/kg) into each loop (ca. 10cm)

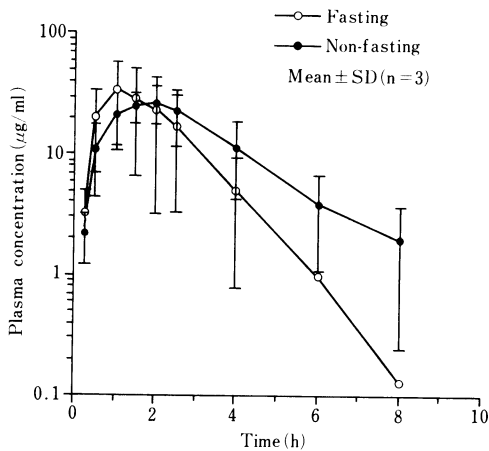


Fig. 6. Plasma concentrations of SY5555 after oral administration of SY5555 tablet to fasting or non-fasting dogs (250mg/head, fasting: 22.9mg/kg, non-fasting: 23.2mg/kg)

UV-3000, 島津製作所(株))を記録した。薬物添加時と非添加時の吸光度変化の比から相対遊離ビリルビン濃度を求めた。

10. SY5555 濃度測定法

試料中の SY5555 濃度は HPLC 法または bioassay 法にて測定した³⁾。試料は採取当日に測定する場合は 4℃ に保存し、それ以外は測定に供するまで -80℃ に凍結保存した。

1) HPLC 法

血漿に等量のアセトニトリルを加えて除蛋白し、遠心上清 (7,000G×15min, 4℃) を 10mM リン酸緩衝液 (pH7.0) または 10mM 酢酸アンモニウムにて 5 倍に希釈して HPLC 用試料とした。尿、胆汁および組織ホモゲネート上清は 10mM リン酸緩衝液 (pH7.0) または 10mM 酢酸アンモニウムにて希釈して HPLC に注入した。HPLC 測定法として 2 種の系を採用した。カラムには Inertisil ODS (5 μm , 4.6×250mm, GL sciences) または KASEISORB ODS-300-5 (5 μm , 4.6×150mm, 東京化成工業(株)) を、移動相にはそれぞれ 20

mM リン酸緩衝液 (pH2.0)/アセトニトリル (68/32), 1mM の臭化テトラブチルアンモニウムを含む 10mM 酢酸アンモニウム/アセトニトリル (95/5→45/55, 20 分間) を用いた。流速は両方法とも 1 ml/min に設定した。注入量は 200 μl とし、検出は 318nm または 306nm で行った。

2) Bioassay 法

B. subtilis ATCC6633 を検定菌とする agar well 法により測定し、検定培地にはクエン酸ナトリウム培地を用いた。検量線はプール血漿あるいは分析対照組織のホモゲネートの上清にそれぞれ既知量の SY5555 を添加して作製した。予備拡散 (4℃, 2時間) 後, 37℃ 18 時間培養し阻止円径を測定した。

11. 薬動学的解析

経口投与後の薬動学的パラメータのうち, C_{max}, 最高血漿中濃度到達時間 (T_{max}) には実測値を採用し, T_{1/2} は消失相の複数を用いて最小二乗法により計算した。AUC は台形則と外挿法により求めた。静脈内投与後の血漿中濃度-時間曲線は, Yamaoka ら⁴⁾ の MULTI を用いて 2-コンパートメントモデルにより解析した。

II. 結 果

1. 血漿中濃度

絶食下のマウス, ラット (57.1mg/kg) およびイヌ (23.1mg/kg) に SY5555 を経口投与した際の血漿中 SY5555 濃度推移を静脈内投与後の結果と併せて Fig. 2 に示した。マウス, ラットでは投与後 0.5, 0.27 時間に C_{max} (25.84, 3.97 $\mu\text{g/ml}$) に達し, T_{1/2} は 16.2 分, 17.1 分であった。イヌでは投与後 1.33 時間に C_{max} (34.06 $\mu\text{g/ml}$) が観察され, 47.6 分の T_{1/2} で消失した。Table 1 にはこの際の薬動学的パラメータを示したが, AUC より求めた SY5555 経口投与後の生物学的利用率はマウスで 27.1%, ラットで 13.0%, イヌで 40.4% であった。

生後 3 週令の幼若イヌに SY5555 を絶食下に 10mg/kg 経口投与した際の血漿中濃度推移を Fig. 2 に, 薬動学的パラメータを Table 1 に静脈内投与後の結果と併せて示した。最高濃度は投与後 0.67 時間で 11.17 $\mu\text{g/}$

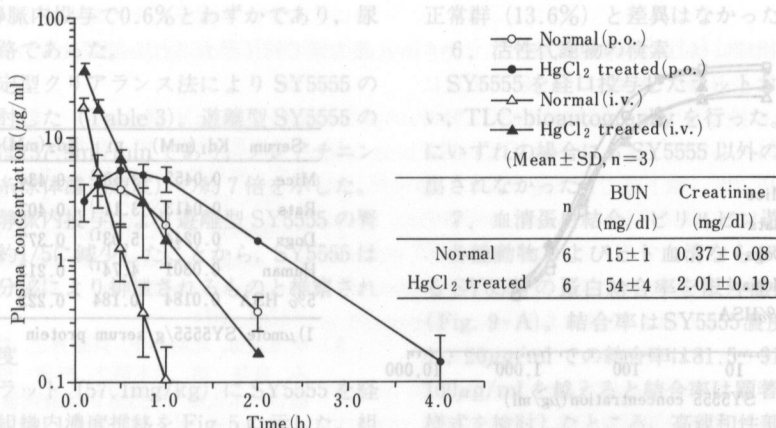


Fig. 7. Plasma concentrations of SY5555 after intravenous or oral administration of SY5555 to normal and HgCl₂ treated rats (i.v. : 11.4mg/kg, p.o. : 57.1mg/kg)

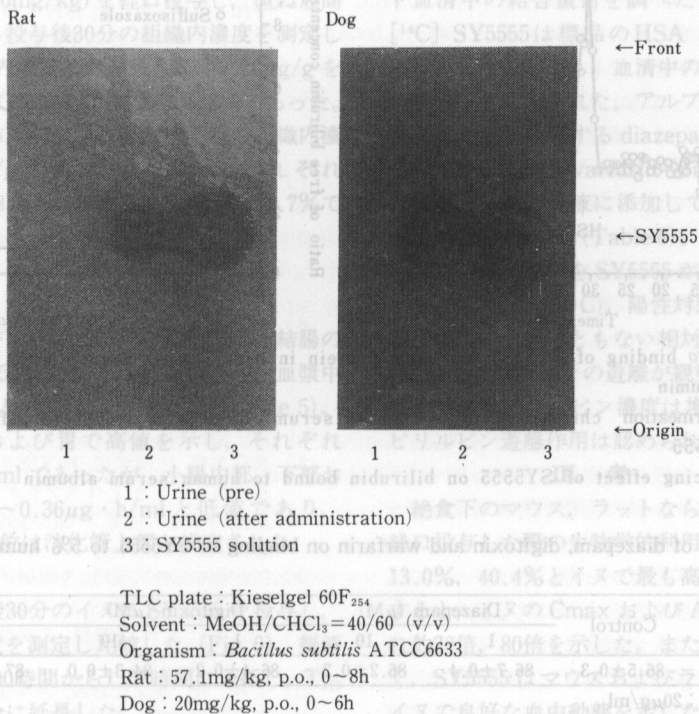


Fig. 8. TLC-bioautograms of rat and dog urine after oral administration of SY5555 (rat : 57.1mg/kg, dog : 20mg/kg)

mlを示し、 $T_{1/2}$ は87.4分、生物学的利用率は28.4%であった。成犬と比べて半減期は約2倍に延長し、分布容積は185ml/kgであり、成犬の1.5倍に増加した。絶食下のマウス、ラットおよびイヌにSY5555 (9.0~114mg/kg) を経口投与した時の投与量と

Cmax および AUC の関係を Fig. 3 に示した。Cmax および AUC とともに投与量に比例して増加した。また、同一投与量に換算した場合、イヌの Cmax および AUC はラットと比べてそれぞれ約30倍、80倍を示した。

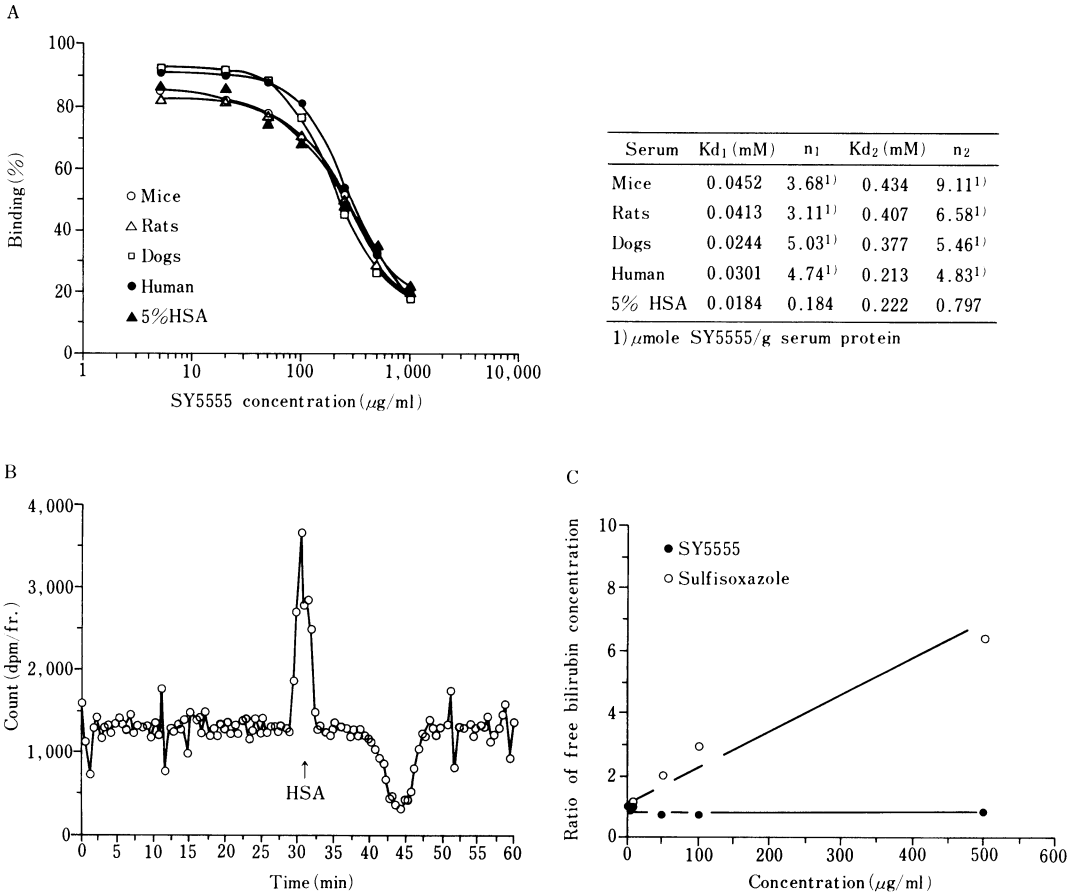


Fig. 9. A : *In vitro* binding of SY5555 to serum protein in mice, rats, dogs, human and 5% human serum albumin
 B : Gel permeation chromatography of human serum eluted with phosphate buffer containing [¹⁴C]SY5555
 C : Displacing effect of SY5555 on bilirubin bound to human serum albumin

Table 6. Influence of diazepam, digitoxin and warfarin on binding of SY5555 to 5% human serum albumin

Binding (%)	Control	Mean \pm range, n=2					
		Diazepam (μ M)		Digitoxin (μ M)		Warfarin (μ M)	
		1	10	1	10	1	10
	86.5 \pm 0.3	86.7 \pm 0.4	86.2 \pm 0.2	86.4 \pm 0.2	84.3 \pm 0.0	87.2 \pm 0.2	86.7 \pm 0.4

SY5555 concentration : 20 μ g/ml

絶食下のイヌに SY5555 錠剤(100mg/イヌ, 9.5mg/kg) および粒剤 (10.0mg/kg) を経口投与した際の血漿中濃度推移を Fig. 4 に示した。錠剤および粒剤投与後の血漿中濃度推移は原体を投与した時と変わらず、生物学的利用率は錠剤で47.8%, 粒剤で50.8%であり、後者では原体投与 (39.0%) に比べてわずかに増加した。

2. 尿中, 胆汁中排泄

ラット (57.1mg/kg) およびイヌ (20mg/kg) に SY5555 を投与した際の尿, 胆汁中排泄率を Table 2 に示した。投与後24時間までの SY5555 の累積尿中排泄率は経口投与においてラットで3.8%, イヌで16.3%であり, 静脈内投与後ではラットで35.3%, イヌで46.4%であった。ラットにおける胆汁中排泄率は経口

投与で0.1%、静脈内投与で0.6%とわずかであり、尿への排泄が主経路であった。

イヌを用いた定型クリアランス法によりSY5555の腎排泄機序を検討した (Table 3)。遊離型SY5555の腎クリアランスは137.9ml/minであり、クレアチニンクリアランス (糸球体濾過速度) の約7倍を示した。プロベネシドの静脈内投与により遊離型SY5555の腎クリアランスは約1/5に減少したことから、SY5555は主として尿細管分泌により排泄されるものと推察された。

3. 組織内濃度

マウスおよびラット (57.1mg/kg) にSY5555を経口投与した際の組織内濃度推移を Fig. 5 に示した。組織内濃度はマウスでは投与後12分に最高濃度に達し、腎>肝>肺>心>脾の順で高く、ラットでは投与後30分に最高濃度に達し、肝>腎>>心>肺の順であった。

イヌにSY5555 (20mg/kg) を経口投与し、概ね最高血漿中濃度を与える投与後30分の組織内濃度を測定した (Table 4)。組織内濃度は腎が最も高く9.80 μ g/gを示し、移行率 (組織/血漿濃度比率) は91.2%であった。その他、肝、心、肺、前立腺、筋、顎下腺の組織内濃度は1.36~2.25 μ g/gであり、移行率はそれぞれ20.9%、17.0%、18.1%、15.3%、15.2%、12.7%であった。

4. 吸収動態

1) 吸収部位

ラットの胃ならびに小腸上部、中部、下部、結腸の各グループ内にSY5555 (57.1mg/kg) を投与し、血漿中SY5555濃度を測定しAUC_{0-3h}を求めた (Table 5)。AUCは小腸上部および胃で高値を示し、それぞれ10.97、9.17 μ g \cdot h/mlであったが、小腸中部、下部および結腸では0.95~0.36 μ g \cdot h/mlと低値であり、SY5555の主吸収部位は消化管上部と推定された。

2) 食餌の影響

絶食および摂餌後30分のイヌにSY5555を投与し、血漿中SY5555濃度を測定し比較した (Fig. 6)。摂餌によりTmaxが1.00時間から1.67時間に遅延し、T_{1/2}が41.7分から83.9分に延長した。

5. 腎障害モデルにおける体内動態

HgCl₂を皮下投与し腎障害を惹起したラットにSY5555を投与した際の血漿中濃度推移を Fig. 7 に示した。最高濃度は投与後0.58時間に5.65 μ g/mlを示し、T_{1/2}は0.87時間と正常群の約2倍に延長し、腎障害ラットでは正常群と比べて血漿中濃度が持続した。腎障害ラットにSY5555を静脈内投与して得られたAUCから生物学的利用率を求めると12.6%であり、

正常群 (13.6%) と差異はなかった。

6. 活性代謝物の検索

SY5555を経口投与したラットおよびイヌの尿を用い、TLC-bioautographyを行った。Fig. 8に示すようにいずれの場合にもSY5555以外の抗菌活性物質は検出されなかった。

7. 血清蛋白結合、ビリルビン遊離能

各種動物およびヒト血清ならびに5%HSAに対するSY5555の蛋白結合率を限外濾過法により調べた (Fig. 9-A)。結合率はSY5555濃度に依存して変化し、20 μ g/mlでの結合率は81.5~91.2%であったが、100 μ g/mlを越えると結合率は顕著に低下した。結合様式を検討したところ、高親和性部位と低親和性部位の2種類の結合部位が検出され、高親和性部位のKdは0.0184~0.0452mM、低親和性部位で0.213~0.434mMであった。ゲル濾過クロマトグラフィーによりヒト血清中の結合蛋白を調べたところ (Fig. 9-B)、¹⁴C SY5555は標品のHSA (67kDa) と同じ位置に溶出したことから、血清中のSY5555結合蛋白はアルブミンと同定された。アルブミンの3種類の結合部位にそれぞれ結合する diazepam (Site-I)、digitoxin (Site-II) および warfarin (Site-III) を5%HSAを含む等張リン酸緩衝液に添加しても、SY5555の結合率は変わらなかった (Table 6)。また、アルブミンに結合したビリルビンをSY5555が遊離させるか否かを調べたところ (Fig. 9-C)、陽性対照である sulfisoxazole では濃度の上昇にともない相対遊離ビリルビン濃度が増加し、ビリルビンの遊離が観察されたが、SY5555では相対遊離ビリルビン濃度は増加せず、SY5555にはビリルビン遊離作用は認められなかった。

III. 考 察

絶食下のマウス、ラットならびにイヌにSY5555を経口投与した際の生物学的利用率はそれぞれ27.1%、13.0%、40.4%とイヌで最も高く、同一投与量に換算すると、イヌのCmaxおよびAUCはラットのそれぞれ約30倍、80倍を示した。また半減期もイヌで最も長く、SY5555はマウスおよびラットの小動物に比べてイヌで良好な血中動態を示した。本薬は主に小腸上部および胃から吸収されたが、本薬は胃液に対して安定であることや胃内では非イオン型 (pKa: 3.5) として存在するために胃からも効率よく吸収されるものと推察された。摂餌後のイヌにSY5555を投与するとTmaxの遅延および半減期の延長が観察されたが、ヒトにおいてはTmaxが遅れたことを除き半減期はほとんど変化しなかったと報告されており⁹⁾、本薬の吸収に及ぼす食餌の影響は種によって異なるものと推察

された。

本薬は速やかに組織に移行し、組織内濃度はマウスおよびラットともに投与後0.5時間以内に最高濃度に達した。イヌに経口投与した際の組織移行率は腎で91.2%、肝で20.9%、心で17.0%、肺で18.1%、前立腺で15.3%、筋で15.2%、顎下腺で12.7%であり、他の経口セフェム薬⁹⁾とほとんど同じであった。本薬の分布容積はマウスおよびイヌでそれぞれ127, 127ml/kgであり、動物の細胞外液量にほぼ等しいことから、SY5555は他の β -ラクタム薬と同様に血漿および組織間質液に移行することが示唆された。ちなみに薬効により密接に関係する間質液中濃度を、イヌ組織内濃度測定値をもとに血液容積、間質液容積および組織容積⁷⁾を用いて推定すると、間質液中濃度は組織内濃度の4~8倍となりほぼ血漿中濃度に近い値となった。

本薬をラットに静脈内投与すると未変化体として尿中に35.3%が排泄され、胆汁中には0.6%とわずかであることから、尿への排泄が主排泄経路であると考えられた。また、腎排泄機序をイヌを用いた定型クリアランス法により検討したところ、SY5555は主に尿細管分泌により排泄されるものと推察された。ラットに経口投与した際の尿中排泄率は3.8%とわずかであったが、この原因については本薬の低い経口吸収率(13.0%)の他に、他のカルバペネム系抗生物質⁸⁻¹⁰⁾と同様に本薬もラット肺および腎に存在するdehydropeptidase-I (DHP-I)-特に腎においては尿細管刷子縁膜にDHP-Iが局在する-により代謝されることから、腎排泄過程において代謝されるためではないかと推察した。

HgCl₂により腎障害を惹起したラットにSY5555を経口投与したところ、血漿中濃度は正常群に比べて持続した。他方、腎障害ラットの生物学的利用率は正常群とほぼ同様であり、本薬は腎不全状態においても消化管からの吸収性は低下しなかった。

幼若イヌに本薬を投与すると成犬に比して半減期の延長および分布容積の増大が観察された。一般に幼若動物では腎排泄機能が未発達であること¹²⁾や組織間質液容積が増大すること¹³⁾が知られており、成犬との差異はこのためではないかと推察された。

本薬の血清蛋白結合率はヒトならびに各種動物ともにSY5555濃度が20 μ g/mlにおいて90%前後と高い値を示し、結合蛋白はアルブミンと同定された。本薬はHSAに結合したビリルビンを遊離させることはなく、新生児においてしばしば問題になる核黄疸を誘因する可能性は低いものと思われた。

以上、実験動物におけるSY5555の体内動態を明ら

かにしたが、本薬をヒトに適用するにあたって体内動態の面で特に懸念される問題はないことが示された。

文 献

- 1) 本多西男, 菱田 明: 腎不全. 新薬開発のための動物モデル利用集成(伊藤隆太, 高橋 良, 本多西男編), p. 295~302, R & D プランニング, 東京, 1985
- 2) Broderson R: Competitive binding of bilirubin and drugs to human serum albumin studies by enzymatic oxidation. J Clin Invest 54: 1353~1364, 1974
- 3) 菊地康博, 北崎知子, 斉藤秀之, 柴沼忠夫, 諸住なおみ, 金井 靖, 米本儀之, 杉田 修, 大沼規男: 新規経口ペネム薬SY5555の体内濃度測定法. Chemotherapy 42 (S-1): 227~234, 1994
- 4) Yamaoka K, Tanigawara Y, Nakagawa T: A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. J. Pharm. Dyn. 4: 879~885, 1981
- 5) 中島光好, 植松俊彦, 吉長孝二, 末吉俊幸, 菊地康博, 平林 隆, 和田 徹, 杉田 修: 新規ペネム系経口抗生物質SY5555の第I相臨床試験. Chemotherapy 41: 1277~1292, 1993
- 6) 松本 隆, 岡本淳一, 斉藤光一, 相沢一雅, 小宮 泉: 新規IIセフェム剤, ME1207の実験動物における体内動態. Chemotherapy 40 (S-2): 120~130, 1992
- 7) Tsuji A, Sato H, Tamai I, Adachi H, Nishihara T, Ishiguro M, Ohnuma N, Noguchi T: Physiological based pharmacokinetics of a new penem, SUN5555, for evaluation of *in vivo* efficacy. Drug Metab Dispos 18: 245~252, 1990
- 8) Kropp H, Sundelof J G, Hajdu R, Kahan F M: Metabolism of thienamycin and related carbapenem antibiotics by renal dipeptidase, dehydropeptidase-I. Antimicrob Agents Chemother 22: 62~70, 1982
- 9) 高萩英邦, 広田孝司, 松下洋子, 村松重基, 田中 実, 松尾英一: デヒドロペプチダーゼ-I (DHP-I) の組織内分布の種差とpanipenemの代謝に及ぼす影響. Chemotherapy 39 (S-3): 236~241, 1991
- 10) 住田能弘, 納田浩司, 多田央子, 上月庸生, 加藤益弘, 奥田隆夫, 深澤万左友: Meropenemの各種実験動物における体内動態. Chemotherapy 40 (S-1): 123~131, 1992
- 11) 金井 靖, 諸住なおみ, 米本儀之, 杉田 修, 大沼規男, 安達栄樹, 菊地康博: [¹⁴C]SY5555の実験動物における体内動態-単回投与試験-. Chemotherapy 42 (S-1): 254~268, 1994
- 12) 中島光好, 橋本久郎: 4. 薬物動態の個体による差. ファルマシアレビュー-No. 8, p. 37~48, 1982
- 13) Tsuji A, Terasaki T, Imaeda N, Nishide K, Nakajima E: Effect of extracellular water volume on the distribution kinetics of β -lactam antibiotics as a function of age. J Pharmacobio-Dyn 8: 167~174, 1985

Pharmacokinetics of SY5555, a novel oral penem antibiotic, in animals

Yasushi Kanai, Naomi Morozumi, Yoshiyuki Yonemoto,
Osamu Sugita and Norio Ohnuma

Suntory Bio · Pharma Tech Center

2716-1 Kurakake, Akaiwa, Chiyoda-machi, Ohra-gun, Gunma 370-05, Japan

Yasuhiro Kikuchi

Infectious Disease and Immunology Research Laboratories,

Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

1. The pharmacokinetics of SY5555 were studied in mice, rats and dogs. SY5555 was rapidly absorbed in the experimental animals. The bioavailability was 27.1 %, 13.0 % and 40.4 % in mice, rats and dogs, respectively.

2. When SY5555 was administered orally to juvenile dogs, $T_{1/2}$ prolonged markedly compared with those obtained in adult dogs.

3. SY5555 was absorbed from the upper part of the gastro-intestinal tract in rats. A prolongation of $T_{1/2}$ was observed when the substance was administered orally to dogs in the non-fasting state.

4. The cumulative excretion of SY5555 after oral administration was 3.8 % and 16.3 % in rats and dogs, respectively, and no active metabolite was observed in the urine. SY5555 was mainly eliminated through the renal tubules rather than the glomeruli, as evidenced by the decreased clearance of SY5555 in the presence of probenecid in dogs. The cumulative biliary excretion rate was 0.1 % in rats.

5. After oral administration of SY5555 to the animals, SY5555 was rapidly distributed to all the tissues examined. The relative tissue to plasma concentration was 91.2 % for the kidney, 20.9 % for the liver, 18.1 % for the lung, 17.0 % for the heart, 15.3 % for the prostate, 15.2 % for the muscle and 12.7 % for the submandibular gland. The distribution volume of SY5555 was 127, and 127 ml/kg in mice and dogs, respectively, indicating that SY5555 was predominantly distributed in plasma and interstitial fluid, like other common β -lactam antibiotics.

6. The plasma half-life $T_{1/2}$ of SY5555 after oral administration to rats with renal insufficiency induced by $HgCl_2$ was prolonged compared with that in normal rats, while the bioavailability was not affected.

7. SY5555 bound to serum protein. The binding of SY5555 to serum proteins (albumin) was 81.5~91.2% at a concentration of 20 μ g/ml in mice, rats, dogs and human *in vitro*. SY5555 did not displace bilirubin bound to human serum albumin.

8. The bioavailability of the formulated tablets and granules was 47.8% and 50.8% in dogs, respectively. The plasma concentration-time curves after oral administration of tablets or granules of SY5555 were not different from those obtained after administration of the substance in solution.