

新規経口カルバペネム系抗菌薬 Tebipenem pivoxil の 実験動物における薬物動態

木島功嗣¹⁾・森田 順²⁾・鈴木勝喜³⁾・青木 信¹⁾・加藤和彦¹⁾・
林 宏行¹⁾・芝崎茂樹¹⁾・黒沢 亨¹⁾

¹⁾ 明治製菓株式会社 医薬総合研究所 応用薬理研究所 薬物動態研究室

²⁾ 明治製菓株式会社 臨床開発部

³⁾ 明治製菓株式会社 市販後安全管理部

(2009年4月1日受付)

新規経口カルバペネム系抗菌薬 tebipenem pivoxil (TBPM-PI) の各動物種における薬物動態を明らかにした。

- 1) マウス, ラット, イヌおよびサルにおいて, 経口投与された TBPM-PI は速やかかつ良好に吸収され, 生物学的利用率はそれぞれ, 71.4, 59.1, 34.8 および 44.9% であった。
- 2) ラットにおいて, 経口投与され吸収された TBPM-PI は, 速やかに活性本体 tebipenem (TBPM) へと変換された。血中に移行した TBPM は腎臓に高濃度で分布し, 速やかに消失した。腎臓以外に長時間高濃度で残存する組織は認められず, 中枢への移行性も低かった。TBPM の epithelial lining fluid (ELF) 移行率 (ELF 中 TBPM 濃度/血漿中 TBPM 濃度の比) は $21.8 \pm 14.7\%$ であった。
- 3) 0.1~100 $\mu\text{g/ml}$ の範囲での, TBPM の血清蛋白結合率は, マウスで 90.4~98.3%, ラットで 78.5~90.0%, イヌで 15.7~18.7%, サルで 35.3~39.3%, ヒトで 59.7~73.9% であった。
- 4) 幼若動物 (小児) ならびに成熟動物 (成人) のラット, サルおよびヒトの血漿, 肝 S9 画分および小腸 S9 画分を用いて, *in vitro* 代謝検討を行った結果, いずれの動物種のマトリックスにおいても, 速やかに TBPM-PI から TBPM へ変換された。ラットあるいはサルの幼若動物および成熟動物に ^{14}C -TBPM-PI を単回経口投与後の血漿において, 吸収された TBPM-PI は速やかに TBPM および LJC11,562 (TBPM 開環体) へと変換されていることが確認された。また, 血漿および尿中には, TBPM-PI および TBPM-PI 開環体は検出されなかった。ラットおよびサルを用いて TBPM-PI の幼若動物における薬物動態評価を行ったところ, 経口吸収性, 分布, 代謝物組成並びに排泄は成熟動物と大きな違いは認められなかった。
- 5) ラットにおいて, 1~100 mg/kg TBPM-PI の7日間反復投与による肝薬物代謝酵素系への影響はほとんど認められなかった。また, TBPM-PI および TBPM の各ヒト CYP 分子種の IC_{50} 値はいずれも 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上と推定された。
- 6) ラットにおいて, ^{14}C -TBPM-PI を 10 mg/kg 単回経口投与したとき, 投与 120 時間後

までに、尿中へ36.9~42.7%、糞中へ58.3~62.2%の放射能が排泄された。投与48時間後までに投与量の大部分が体外へ排泄された。同様に、 ^{14}C -TBPMを10 mg/kg単回静脈内投与したとき、投与24時間後までに、尿中へ87.4%、胆汁中へ11.4%の放射能が排泄された。投与4時間後までに投与量の大部分が体外へ排泄された。

Tebipenem pivoxil (TBPM-PI) は、ワイス株式会社（旧 日本ワイスレダリー株式会社）で創製され、明治製菓株式会社が開発中の世界で初めての経口カルバペネム系抗菌薬である¹⁾。TBPM-PIは、活性本体であるtebipenem (TBPM)のC2位カルボン酸をピボキシル基でエステル化することにより経口吸収性を向上させたプロドラッグである。

TBPM-PIの活性本体であるTBPMは、既存の β -ラクタム系抗菌薬に比べて、緑膿菌を除くほとんどすべての菌種に対して強い抗菌活性を持ち、臨床で用いられている注射用カルバペネム薬と比べても同等以上の抗菌活性を有する²⁾。特に、近年小児において中耳炎や肺炎などの感染症を治療する上で問題となっているペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) に対し強い抗菌活性を示し、また呼吸器感染症の原因菌として高頻度に検出されるインフルエンザ菌に対しても強い抗菌活性を有する²⁾。

本検討において我々は、マウス、ラット、イヌおよびサルといった各実験動物におけるTBPM-PIの吸収、分布、代謝、排泄を検討し、新規経口カルバペネム系抗菌薬であるTBPM-PIの薬物動態的な特徴を明らかにした。さらに、幼若動物

と成熟動物の薬物動態を比較しながら検討し、ヒトにおける成人と小児の薬物動態評価の参考とした。

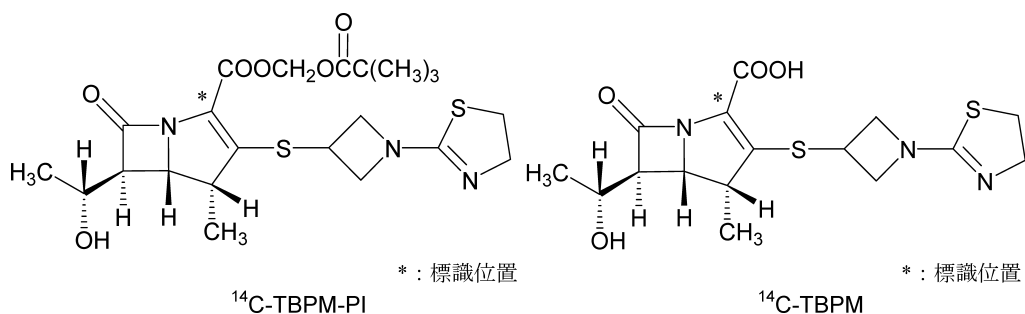
I. 実験材料と方法

1. 使用薬物および試薬

非標識化合物としてTBPM-PIおよびTBPMを、標識化合物としてそれぞれC2位を ^{14}C で標識化した ^{14}C -TBPM-PIおよび ^{14}C -TBPMを使用した(図1)。TBPM-PIおよびTBPMは、明治製菓株式会社CMC研究所あるいは日本ワイスレダリー（現 ワイス株式会社）医薬研究所で化学合成した。 ^{14}C -TBPM-PIおよび ^{14}C -TBPMは第一化学薬品株式会社 東海研究所（現 積水メディカル株式会社 薬物動態研究所）にて化学合成した。 ^{14}C -TBPM-PIおよび ^{14}C -TBPMの比放射能は0.4~2.2 および3.2 Mbq/mgであり、放射化学的純度は97.2および97.4%以上であった。

精製水は、水道水を超純水製造装置にて精製したMilli-Q水を、メタノール、アセトニトリルは高速液体クロマトグラフィー用を使用し、その他の試薬は市販の特級品を用いた。

図1. ^{14}C -TBPM-PIおよび ^{14}C -TBPMの化学構造式と標識位置



2. 実験動物および生体試料

*In vivo*の評価には、ICR系マウス（雄性，6週齢），SD系ラット（雄性および雌性，幼若動物；14日齢，成熟動物；7～9週齢），ビーグルイヌ（雄性，6ヶ月）およびカニクイサル（雄性，幼若動物；6ヶ月齢，成熟動物；3～4年齢）を用いた。特に断らない限り，投与は絶食下で行った。

*In vitro*の評価には，以下の条件で採取・調製したものを用いた。*In vitro*血清蛋白結合率の検討には，ICR系マウス（雄性，4～7週齢），SD系ラット（雄性，7週齢），ビーグルイヌ（雄性，6ヶ月齢），カニクイサル（雄性，4～6年齢）および健康成人男性の血清をそれぞれ用いた。*In vitro*代謝検討には，SD系ラット（雄性，幼若動物；14日齢および成熟動物；7週齢）およびカニクイサル（雄性，幼若動物；6ヶ月齢，成熟動物；3～4年齢）の血漿，小腸S9画分および肝S9画分，小児（9ヶ月齢～4年齢）および健康成人男性の血漿，小児（2年齢）および成人（24～85年齢）の小腸S9画分，小児（11，12年齢）および成人（16～68年齢）の肝S9画分を用いた。なお，小腸S9画分および肝S9画分は，50mM MOPS（3-(*N*-Morpholino)propanesulfonic acid）緩衝液pH7.4で調製したものを用いた。

3. 実験方法

1) 血漿中動態

絶食下，マウス，ラットおよびイヌに，0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC-Na）溶液に懸濁したTBPM-PIを経口投与，生理食塩液に溶解したTBPMを静脈内投与した。サルには，0.5%CMC-Na溶液に懸濁した ^{14}C -TBPM-PIを経口投与，生理食塩液に溶解した ^{14}C -TBPMを静脈内投与した。投与量は経口投与および静脈内投与ともに10mg/kgとした。投与後，所定時毎に採血し，遠心分離により血漿を得た。血漿には等量の1M MOPS緩衝液pH7.0を氷冷下添加し，

HPLC法にて試料中薬物濃度あるいは放射能濃度を測定した。

幼若あるいは成熟のラットおよびサルに，摂餌下，0.5%CMC-Na溶液に懸濁した ^{14}C -TBPM-PIを経口投与した。投与後，所定時毎に採血し，遠心分離により血漿を得た。ラットについては採尿も行った。得られた血漿および尿には等量の1M MOPS緩衝液pH7.0を氷冷下添加し，radio-HPLC法にて試料中放射能濃度を測定した。

2) 組織移行

^{14}C -TBPM-PIを0.5%CMC-Na溶液に懸濁し，摂餌下10mg/kgの用量で経口投与した。投与後，所定時間にエーテル麻酔下，腹大動脈より採血致死させ，所定の組織を摘出した。血液には組織溶解剤Soluene-350（PerkinElmer）および過酸化ベンゾイル飽和のベンゼン溶液を，血漿および各組織には組織溶解剤Soluene-350を加えて加温・溶解し，試料中放射能濃度を測定した。

3) 全身オートラジオグラフィー

^{14}C -TBPM-PIを0.5%CMC-Na溶液に懸濁し，摂餌下10mg/kgの用量で経口投与した。投与後，所定時間にエーテル麻酔死させたラットをドライアイス・アセトンにて凍結し，厚さ30 μm の凍結切片を作製した。得られた切片を保護膜（4 μm ，ダイアホイル）で被った後，イメージングプレート（TYPE BAS-SR2040，富士フィルム）と，室温で24時間密着露出させた。露出後，イメージングプレート上の放射能像をBAS2500にて読み取り，全身オートラジオグラムを作製した。また，投与後，所定時間にエーテル麻酔下，腹大動脈より採血致死させ，所定の臓器を採取し，組織溶解剤Soluene-350を加え，さらにシンチレーターHionic-Fluor（PerkinElmer）を加え，放射能濃度を測定した。

4) 血清蛋白結合率

血清蛋白結合率は，遠心限外ろ過法により測定した。すなわち，ヒトおよび各種動物の血清に

TBPM を 0.1~100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度になるよう添加し、限外ろ過キット CentriFree YM-30 (Amicon) に入れ、1100~1800 $\times g$ で室温あるいは 37°C で 10 分間遠心し、得られたろ液を HPLC 法あるいは LC/MS/MS 法にて測定した。

5) ラット ELF 移行性

ラットに、大腿静脈よりインフュージョンポンプを用いて 4 ml/kg/hr で TBPM を 5 mg/kg/hr、同時にシラスタチン (CS) を 16 mg/kg/hr 持続投与した。投与開始 3 時間後に、エーテル麻酔下、頸部を切開し、気管を露出させた。腹部大動脈より、およそ 1 ml 採血後、腹部大動脈から放血させた。ただちに気管に挿入したシリンジ付カテーテルより、生理食塩液を 5 ml 注入した。注入および回収操作を 3 回繰り返した後に得られる回収液 3 ml を気管支肺胞洗浄液 (BALF) とした。得られた血漿および BALF 中 TBPM 濃度を LC/MS/MS 法にて測定した。また、血漿中および BALF 中の尿素窒素濃度を測定し、その比から BALF の希釈率を求めた。この希釈率を BALF 中 TBPM 濃度に乗じることにより、epithelial lining fluid (ELF) 中 TBPM 濃度の算出を行った。

6) *in vitro* 代謝検討

各種マトリックスに、50% アセトニトリルに溶解した ^{14}C -TBPM-PI を添加し、37°C で所定の時間インキュベートし、ジメチルホルムアミド (DMF) を添加することにより反応を停止した。試料中の TBPM および TBPM-PI 濃度を radio-HPLC 法で測定した。なお、小腸 S9 画分による代謝検討時には、基質濃度および蛋白濃度は、それぞれ 750 $\mu\text{g/ml}$ および 4 mg/ml、肝 S9 画分による検討時には、それぞれ 100 $\mu\text{g/ml}$ および 0.5 mg/ml、血漿による検討時には基質濃度は 20 $\mu\text{g/ml}$ とした。

7) ラット肝代謝酵素への影響

0.5% CMC-Na 溶液に懸濁した TBPM-PI を摂餌下 1, 10 および 1000 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間経口投与した。対照投与群には、0.5% CMC-

Na を 10 ml/kg、陽性対照群には、80 mg/kg フェノバルビタールナトリウムを 1 日 1 回 7 日間経口投与した。最終投与 24 時間後に肝臓を摘出し、各酵素活性を測定し、肝代謝酵素への影響を検討した。

8) ヒト肝ミクロソームを用いた P450 酵素阻害

100 $\mu\text{g/ml}$ (261 μM) TBPM-PI あるいは、10 および 100 $\mu\text{g/ml}$ (26 および 261 μM) TBPM 存在下、ヒト CYP 分子種特異的なモデル基質をヒト肝ミクロソームとインキュベートし、代謝活性を測定した。活性残存率および活性阻害率を指標とし、TBPM-PI あるいは TBPM によるヒト CYP 分子種に特異的な代謝活性の阻害を評価した。なお、各 CYP 分子種に対する陽性対照とその濃度は、CYP1A に対して 1 μM の α -Naphthoflavone、CYP2A6 に対して 5 μM の 8-Methoxypsoralen、CYP2B6 に対して 500 μM の Orphenadrine、CYP2C8 に対して 10 μM の Quercetin、CYP2C9 に対して 3 μM の Sulfaphenazole、CYP2C19 に対して 20 μM の Tranylcypromine、CYP2D6 に対して 4 μM の Quinidine、CYP2E1 に対して 100 μM の Diethylthiocarbamate、CYP3A4 に対して 1 μM の Ketoconazole であった。

9) ラットにおける排泄

0.5% CMC-Na 溶液に懸濁した ^{14}C -TBPM-PI を絶食下单回経口投与、生理食塩液に溶解した ^{14}C -TBPM を単回静脈内投与した。用量はいずれも 10 mg/kg とした。投与後、自然排泄の尿およびあらかじめ施したカニューレより胆汁を採取し、尿および胆汁中の薬物濃度あるいは放射能濃度を測定した。

4. 生体試料中薬物濃度あるいは放射能濃度測定

1) 血漿中 TBPM

マウス、ラットおよびイヌの血漿に等量の 1 M MOPS 緩衝液 pH7.0 を加え、血漿サンプルとした。

さらに血漿サンプルの2倍量のアセトニトリル、4倍量のクロロホルムを加えて混合し、遠心分離した上清をHPLC-UV法にて測定した。HPLC条件は下記の通りとした。

分離カラム：Develosil ODS-UG-3 (4.6×75 mm, 3 μ m, 野村科学株式会社)

移動相：0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 pH5.5/アセトニトリル (100/4)

流速：1.3 ml/min

検出：UV 300 nm

カラム温度：35°C

2) 尿および胆汁中TBPM

ラットの尿および胆汁に等量の1 M MOPS緩衝液 pH7.0を加え、さらに尿および胆汁の10倍量の蒸留水を添加し、HPLC-UV法で測定した。HPLC条件は上記1)と同じとした。

3) ラット、イヌおよびサル血清限外ろ液中TBPM

ろ液をそのままHPLC-UV法にて測定した。HPLC条件は下記の通りとした。

分離カラム：Develosil ODS-UG-3 (4.6×150 mm, 5 μ m, 野村科学株式会社)

移動相：0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 pH5.5/メタノール/アセトニトリル (91/5/4)

流速：0.9 ml/min

検出：UV 300 nm

カラム温度：35°C

4) マウスおよびヒト血清限外ろ液中TBPM

マウスあるいはヒト血清限外ろ液に半量の内部標準溶液および8.5倍量の50 mM MOPS緩衝液を加えた後、Empore disk cartridge SDB-XC (4 mm/1 ml, 3M)に添加し遠心した。その後、50 mM MOPS緩衝液を添加し、遠心洗浄後、50 mM MOPS緩衝液/アセトニトリル混液を添加し、遠心により得られた溶出液をLC/MS/MS法で測定した。測定条件は下記の通りとした。

LC部 分離カラム：Inertsil Ph-3 (2.1×50 mm,

5 μ m, ジーエルサイエンス)

移動相：5 mM 酢酸アンモニウム/アセトニトリル (93/7)

流速：0.2 ml/min

カラム温度：室温

MS部 イオン化：Electrospray

検出モード：Positive ions, Selected reaction monitoring (SRM)

モニターイオン：TBPM: m/z 384→m/z 280

5) 放射能濃度

^{14}C -TBPM-PIあるいは ^{14}C -TBPMを投与した後の生体試料中放射能は、液体シンチレーションカウンタ 1900CAあるいは2700TR (いずれもPerkinElmer)を用いて測定し、計数効率は外部標準線源法により求めた。試料中放射能濃度は、 ^{14}C -TBPM濃度に換算した。なお、検出限界はバックグラウンドの2倍とした。

6) ラットおよびサルにおける ^{14}C -TBPM-PI単回経口投与後の血漿中代謝物分析

採取した各動物の血液に、エステラーゼ阻害剤として約1/100容量の0.1 M ジイソプロピルフルオロリン酸溶液を添加し、遠心分離により血漿を得た。得られた血漿に等量の100 mM MOPS緩衝液 pH7.0および血漿の2倍量のアセトニトリルを加え遠心分離し、上清を得た。さらに、遠心分離して得られた残渣に50%アセトニトリルあるいは100 mM MOPS緩衝液 pH7.4/アセトニトリル (1:1, v/v)を加え再懸濁した後、遠心分離して得られた上清を先に得られた上清と合わせ、窒素気流下で乾固した。得られた残渣を500 mM MOPS緩衝液 pH7.0/DMF (75/25, v/v)で再溶解し、ろ過後に得られたろ液をradio-HPLC法にて測定した。HPLC条件は下記の通りとした。

分離カラム：Unison US-C18 (4.6×250 mm, 5 μ m, インタクト株式会社)

移動相：10 mM 酢酸アンモニウム/アセトニトリル (グラジエント法)

流速：1 ml/min

カラム温度：40°C

7) 血漿および小腸あるいは肝 S9 における *in vitro* 代謝物分析

インキュベートした各マトリックスに2倍量の DMF および等量の 125 mM MOPS 緩衝液 pH7.4 を加えよく攪拌し、遠心分離した。得られた上清をろ過し、ろ液を radio-HPLC 法にて測定した。HPLC 条件は上記 6) と同じとした。

II. 結果

1. 血漿中動態

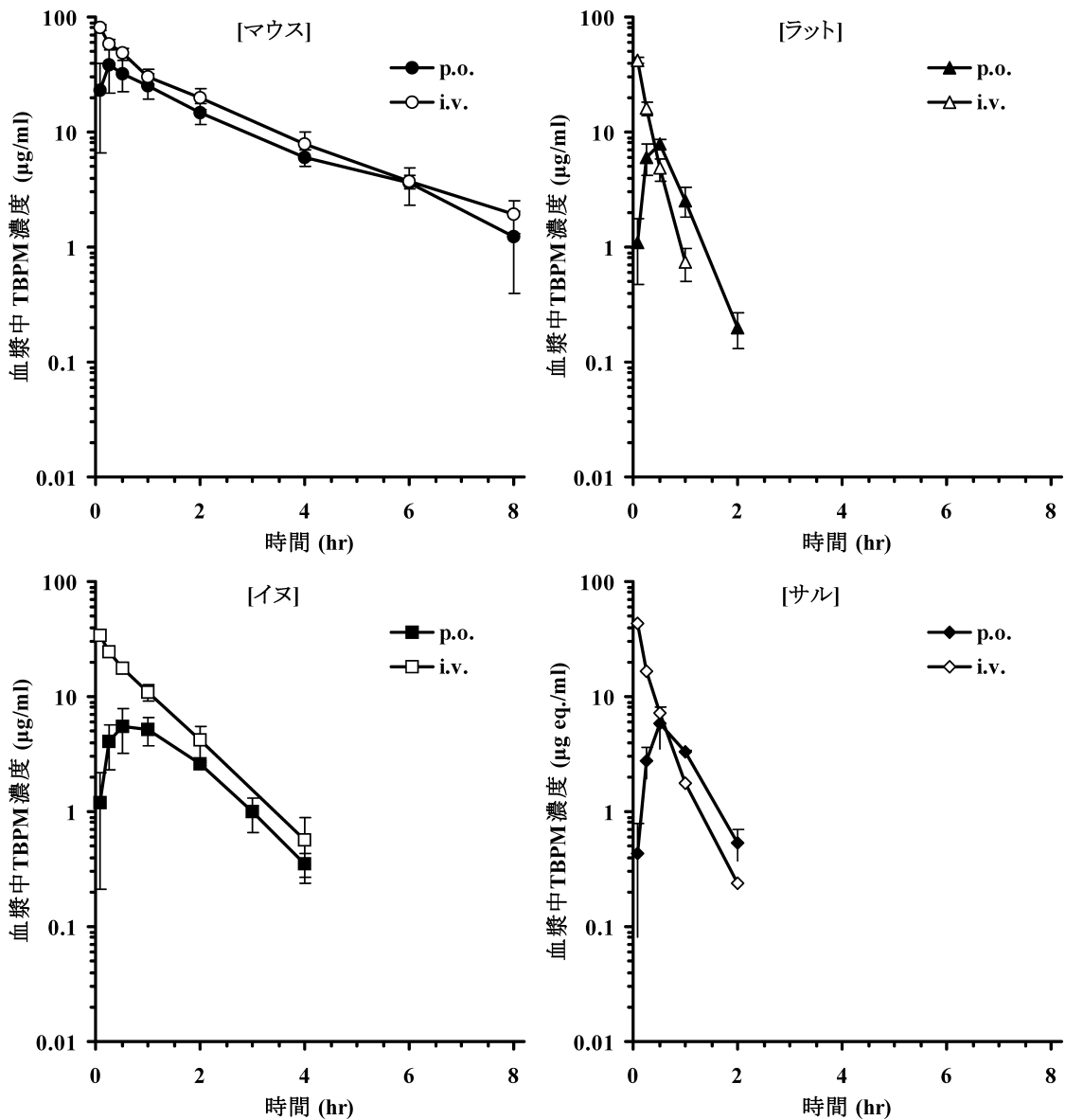
マウス、ラットおよびイヌに絶食下 TBPM-PI を 10 mg/kg 単回経口投与あるいは TBPM を 10 mg/kg 単回静脈内投与した際の血漿中 TBPM 濃度推移を図2に示した。また、血漿中 TBPM 濃度推移から得られた薬物動態パラメータを表1に示した。マウス、ラットおよびイヌにおける、最高濃度到達時間 $t_{\max}$ は 0.25, 0.45 および 0.67 時間、最高血漿中濃度 $C_{\max}$ は 38.14, 7.83 および 5.70 $\mu\text{g/ml}$ 、消失半減期 $t_{1/2}$ は 1.67, 0.28 および 0.69 時間、血漿中濃度-時間曲線下面積 AUC_{inf} は 87.80, 6.41 および 11.05 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ であった。生物学的利用率 F は、71.4, 59.1 および 34.8% であった。同様に、サルに ^{14}C -TBPM-PI を 10 mg/kg 単回経口投与あるいは ^{14}C -TBPM を 10 mg/kg 単回静脈内投与した際の血漿中 TBPM 濃度推移を図2に示した。また、血漿中 TBPM 濃度推移から得られた薬物動態パラメータを表2に示した。 $t_{\max}$ は 0.50 時間、 $C_{\max}$ は 5.80 $\mu\text{g eq./ml}$ 、 $t_{1/2}$ は 0.38 時間、 AUC_{inf} は 5.86 $\mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$ であった。 F は 44.9% であった。

幼若および成熟ラットに ^{14}C -TBPM-PI を摂餌下、経口投与し、radio-HPLC を用いて血漿の放射能を測定した (図3)。血漿中 TBPM 濃度推移から得られた薬物動態パラメータを表3に示した。

幼若および成熟ラットに ^{14}C -TBPM-PI を 10 mg/kg を経口投与したとき、血漿中 TBPM の $t_{\max}$ は 0.5 時間であった。 ^{14}C -TBPM-PI 10 mg/kg を幼若および成熟ラットに経口投与したときの血漿中 TBPM の $C_{\max}$ はそれぞれ 1.29 および 2.89 $\mu\text{g eq./ml}$ 、 $t_{1/2}$ はそれぞれ 1.4 および 0.7 時間であり、TBPM は成熟ラットに比べ幼若ラットでは $C_{\max}$ が低く、血漿中からの消失が遅い傾向が認められた。 AUC_{inf} は、それぞれ 3.62 および 3.52 $\mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$ であり、幼若および成熟ラットでほぼ同程度であった。

幼若および成熟サルに TBPM-PI を経口投与した時の薬物動態特性を比較検討した。 ^{14}C -TBPM-PI 10 mg/kg を経口投与したときの血漿中 TBPM 濃度推移を図3に、血漿中 TBPM 濃度推移から得られた薬物動態パラメータを表3に示した。その結果、 $t_{\max}$ はそれぞれ 0.75 および 0.50 時間、 $C_{\max}$ はそれぞれ 4.75 および 4.06 $\mu\text{g eq./ml}$ であり、幼若および成熟サルでほぼ同程度であったが、 $t_{1/2}$ はそれぞれ 0.73 および 1.34 時間であり、成熟サルに比べ幼若サルでは、血漿中からの消失が早い傾向が認められた。 AUC_{inf} はそれぞれ 4.38~11.4 および 8.67~9.58 $\mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$ であり、差は認められなかった。図2および図3に示した成熟ラットおよび成熟サルの血漿中 TBPM 濃度推移において、摂餌の影響と考えられる差が認められた。ラットにおいては、摂餌により、 $C_{\max}$ および AUC_{inf} は小さくなるが、 $t_{1/2}$ が長くなる傾向が認められた。サルにおいては、摂餌により、 $C_{\max}$ にはあまり影響を及ぼさないものの、 $t_{1/2}$ が長くなり、 AUC_{inf} が大きくなる傾向が認められた。また、血漿中における代謝物組成を検討した結果、主要代謝物は TBPM であった。TBPM 以外に LJC11,562 (TBPM 加水分解物) が認められたが、TBPM-PI および TBPM-PI 開環体は測定したすべての時点において認められなかった。

図2. マウス, ラット, イヌおよびサルにおける 10 mg/kg TBPM-PI (^{14}C -TBPM-PI) 単回経口投与あるいは 10 mg/kg TBPM (^{14}C -TBPM) 単回静脈内投与時の血漿中 TBPM 濃度推移



平均 ± 標準偏差 (マウス; n=3, ラット; n=5, イヌ; n=3, サル; n=2~3)

2. 分布

2.1 組織移行

TBPM-PIの組織分布を明らかにするために、幼若および成熟ラットに ^{14}C -TBPM-PIを摂餌下 10 mg/kg 単回経口投与した時の全身オートラジオグラフィおよび組織内濃度による検討を行った。

結果を図4, 図5, 表4および表5に示した。

幼若および成熟ラットで放射能の分布に大きな差は認められず、血液に比べ腸内容物、胃内容物、膀胱内尿、膀胱に高い放射能濃度が認められ、ついで腎臓、胃および肝臓に高かった。脳および眼球の放射能濃度は低いことが示された。他

表 1. マウス, ラットおよびイスにおける 10 mg/kg TBPM-PI 単回経口投与あるいは 10 mg/kg TBPM 単回静脈内投与時の血漿中 TBPM 薬物動態パラメータ

動物種	化合物 / 投与経路	n	$t_{\max}$ (hr)	$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$)	F (%)
マウス	TBPM-PI / p.o.	3*	0.25	38.14	1.67	87.80	71.4
	TBPM / i.v.	3*	-	-	1.78	123.03	-
ラット	TBPM-PI / p.o.	5	0.45 ± 0.11	7.83 ± 0.84	0.28 ± 0.03	6.41 ± 1.09	59.1
	TBPM / i.v.	5	-	-	0.18 ± 0.02	10.85 ± 1.15	-
イス	TBPM-PI / p.o.	3	0.67 ± 0.29	5.70 ± 1.98	0.69 ± 0.09	11.05 ± 1.98	34.8
	TBPM / i.v.	3	-	-	0.67 ± 0.09	31.74 ± 4.22	-

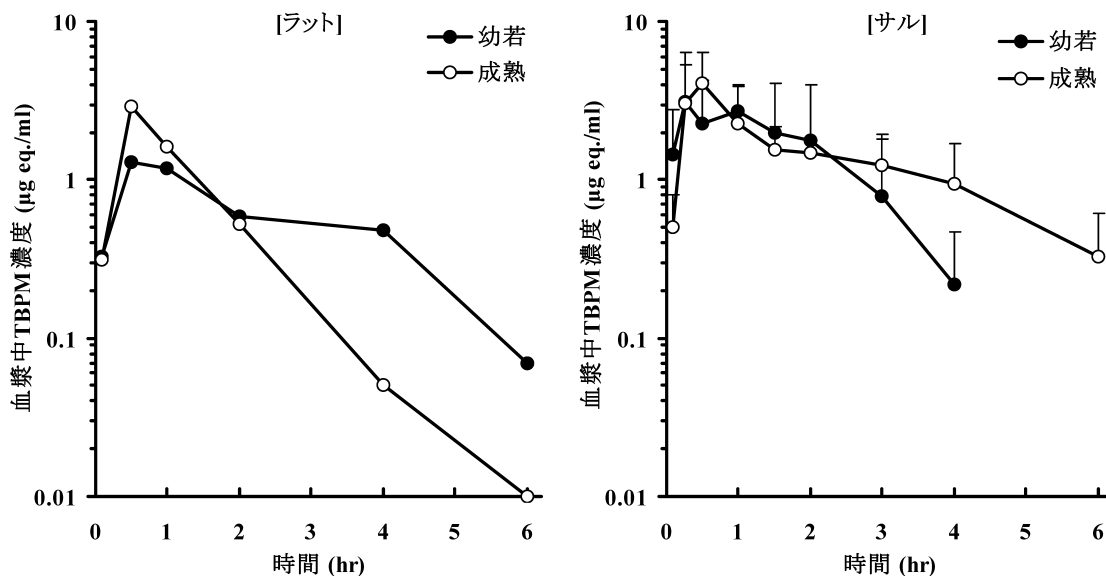
平均 $\pm$ 標準偏差, *各ポイント n=3 の pool で測定し算出した

表 2. サルにおける 10 mg/kg ^{14}C -TBPM-PI 単回経口投与あるいは 10 mg/kg ^{14}C -TBPM 単回静脈内投与時の血漿中 TBPM 薬物動態パラメータ

動物種	化合物 / 投与経路	n	$t_{\max}$ (hr)	$C_{\max}$ ($\mu\text{g eq./ml}$)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{inf} ($\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/ml}$)	F (%)
サル	TBPM-PI / p.o.	3	0.50 ± 0.00	5.80 ± 2.33	0.38 ± 0.07	5.86 ± 1.09	44.9
	TBPM / i.v.	2	-	-	0.31	13.06	-

平均 $\pm$ 標準偏差

図 3. 幼若および成熟のラットあるいはサルにおける 10 mg/kg ^{14}C -TBPM-PI 経口投与後の血漿中 TBPM 濃度推移



平均 $\pm$ 標準偏差 (ラット; n=3 の pool, サル; n=3)
摂餌下

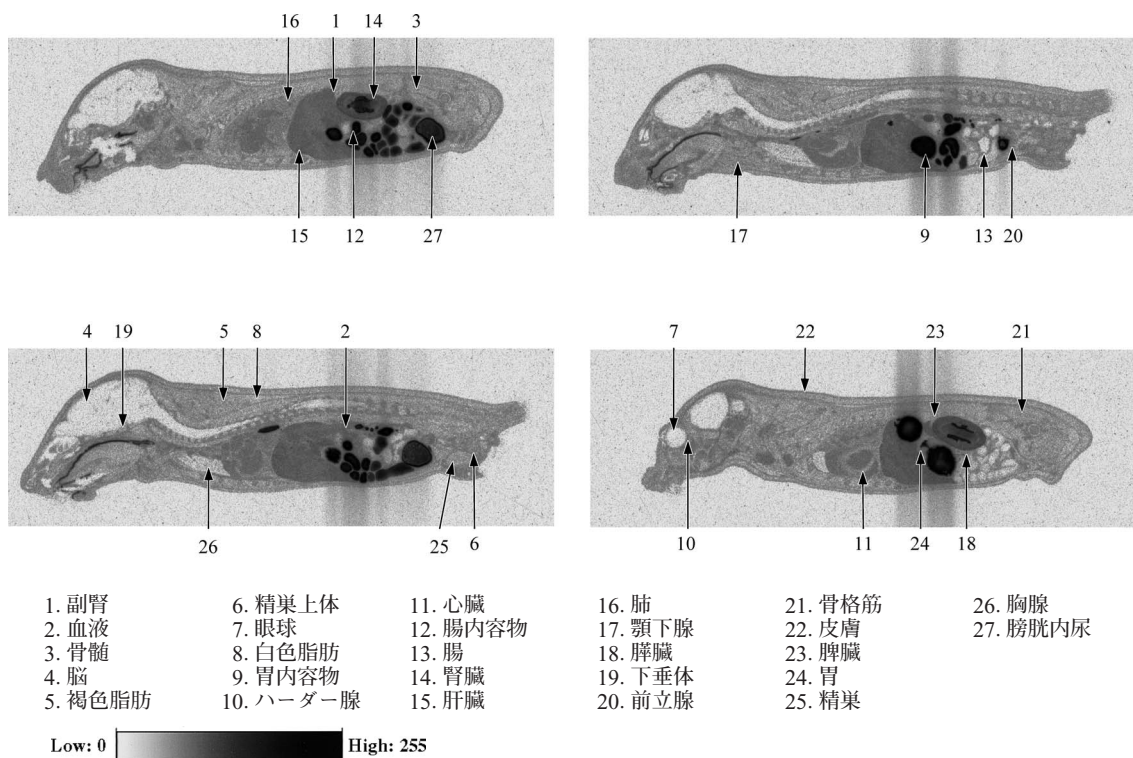
表3. 幼若および成熟ラットにおける 10 mg/kg ^{14}C -TBPM-PI 単回経口投与の血漿中 TBPM 薬物動態パラメータ

動物種		n	$t_{\max}$ (hr)	$C_{\max}$ ($\mu\text{g eq./ml}$)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{inf} ($\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/ml}$)
ラット	幼若	3*	0.5	1.29	1.4	3.62
	成熟	3*	0.5	2.89	0.7	3.52
サル	幼若	3	0.75 ± 0.66	4.75 ± 1.64	0.73 ± 0.17	6.90 ± 3.89
	成熟	3	0.50 ± 0.00	4.06 ± 2.25	1.34 ± 0.61	9.00 ± 0.50

平均 $\pm$ 標準偏差, * 各ポイント n=3 の pool で測定し算出した。

摂餌下

図4. 幼若ラットに ^{14}C -TBPM-PI を 10 mg/kg 単回経口投与 30 分後の全身オートラジオグラム

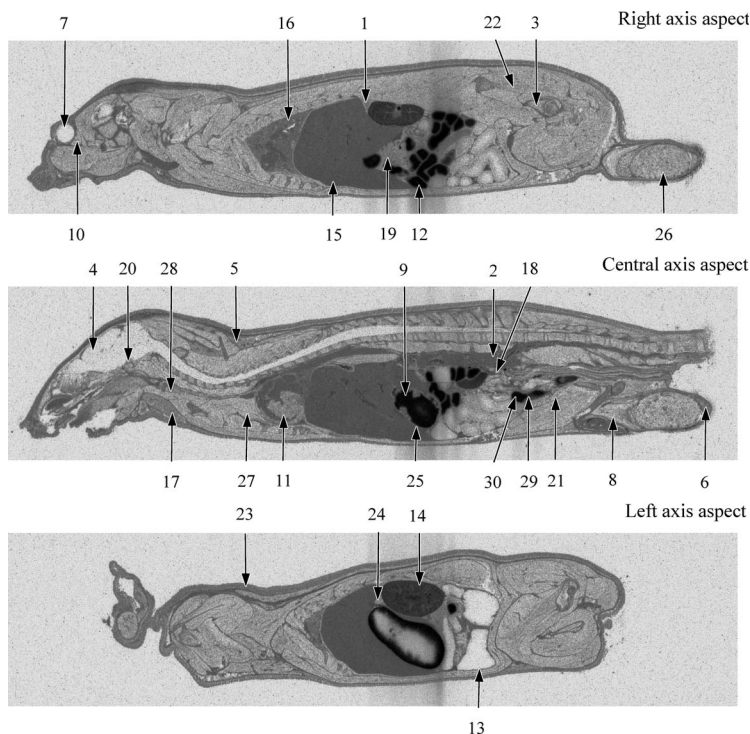


露光条件：室温，24時間

の組織は、血液と同程度か低い放射能濃度であった (図4および図5)。

また幼若および成熟ラットにおいて、 ^{14}C -TBPM-PI 経口投与 0.5 時間後の組織内放射能濃度はそれぞれ、胃に 22.96 および 10.56 $\mu\text{g eq./g}$ 、小腸に 21.15 および 9.14 $\mu\text{g eq./g}$ と最も高い放射能

濃度が認められ、血漿 (4.00 および 5.95 $\mu\text{g eq./ml}$) の 5.74 および 1.77 倍、5.29 および 1.54 倍であった。次いで腎臓に 6.97 および 14.39 $\mu\text{g eq./g}$ 、膀胱に 2.45 および 16.43 $\mu\text{g eq./g}$ であり、これらは血漿中濃度の 1.74 および 2.42 倍、0.61 および 2.76 倍であった。一方、小脳に 0.05 および 0.09

図5. 成熟ラットに ^{14}C -TBPM-PIを10 mg/kg単回経口投与30分後の全身オートラジオグラム

- | | | | | |
|---------|-----------|-------------|---------|----------|
| 1. 副腎 | 7. 眼球 | 13. 腸 | 19. 脾臓 | 25. 胃 |
| 2. 血液 | 8. 白色脂肪 | 14. 腎臓 | 20. 下垂体 | 26. 精巣 |
| 3. 骨髄 | 9. 胃内容物 | 15. 肝臓 | 21. 前立腺 | 27. 胸腺 |
| 4. 脳 | 10. ハーダー腺 | 16. 肺 | 22. 骨格筋 | 28. 甲状腺 |
| 5. 褐色脂肪 | 11. 心臓 | 17. 顎下腺 | 23. 皮膚 | 29. 膀胱 |
| 6. 精巣上体 | 12. 腸内容物 | 18. 腸間膜リンパ節 | 24. 脾臓 | 30. 膀胱内尿 |

Low: 0 High: 255

露光条件：室温，24時間

$\mu\text{g eq./g}$ ，大腦に0.05および0.08 $\mu\text{g eq./g}$ ，脳脊髄液に0.05および0.05 $\mu\text{g eq./ml}$ であり，これらはいずれも血漿中濃度の0.02倍以下であった（表4および表5）。0.5，2および6時間後の組織分布の推移を比較した結果，成熟ラットに比べ幼若ラットでは，血漿中濃度推移を反映して，各臓器からの放射能の消失が遅い傾向が認められた。

2.2 血清蛋白結合率

各種動物におけるTBPMの血清蛋白結合率を，*in vitro*（限外ろ過法）で評価した。結果を表6に示した。各種動物とも0.1～100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲

においてほぼ一定の結合率を示したが，種差が認められ，マウス（90.4～98.3%）＞ラット（78.5～90.0%）＞ヒト（59.7～73.9%）＞サル（35.3～39.3%）＞イヌ（15.7～18.7%）の順に高い結合率を示した。

2.3 ラット ELF 移行性

TBPM/CS投与開始3時間後の定常状態における血漿中TBPM濃度は $5.67 \pm 3.19 \mu\text{g/ml}$ ，ELF中TBPM濃度は $1.57 \pm 1.85 \mu\text{g/ml}$ ，ELF移行率（血漿中TBPM濃度に対するELF中TBPM濃度の比）は $21.8 \pm 14.7\%$ であった。

表4. 非絶食下雄性幼若ラットに¹⁴C-TBPM-PIを10 mg/kg単回経口投与したときの組織内放射能濃度

組織	組織内濃度 (μg eq./ml or μg eq./g)					
	30 分		2 時間		6 時間	
血漿	4.00 ± 0.55	(1.00)	3.16 ± 0.70	(1.00)	2.01 ± 0.46	(1.00)
血液	2.81 ± 0.39	(0.70)	2.24 ± 0.56	(0.71)	1.52 ± 0.27	(0.76)
大脳	0.05 ± 0.01	(0.01)	0.06 ± 0.01	(0.02)	0.07 ± 0.01	(0.03)
小脳	0.05 ± 0.01	(0.01)	0.06 ± 0.02	(0.02)	0.08 ± 0.01	(0.04)
脳脊髄液	0.05 ± 0.03	(0.01)	0.19 ± 0.08	(0.06)	0.17 ± 0.02	(0.08)
下垂体 ¹⁾	0.68	(0.17)	0.79	(0.25)	0.40	(0.20)
眼球	0.21 ± 0.02	(0.05)	0.28 ± 0.06	(0.09)	0.34 ± 0.05	(0.17)
甲状腺 ¹⁾	0.64	(0.16)	0.63	(0.20)	0.47	(0.23)
ハーダー腺	0.65 ± 0.24	(0.16)	0.62 ± 0.05	(0.20)	0.50 ± 0.10	(0.25)
顎下腺	0.61 ± 0.07	(0.15)	0.44 ± 0.05	(0.14)	0.32 ± 0.07	(0.16)
胸腺	0.18 ± 0.02	(0.05)	0.17 ± 0.03	(0.05)	0.16 ± 0.01	(0.08)
心臓	0.64 ± 0.13	(0.16)	0.48 ± 0.05	(0.15)	0.39 ± 0.07	(0.19)
肺	0.78 ± 0.12	(0.20)	0.59 ± 0.06	(0.19)	0.48 ± 0.05	(0.24)
肝臓	3.54 ± 0.79	(0.89)	2.34 ± 0.48	(0.74)	2.07 ± 0.17	(1.03)
腎臓	6.97 ± 2.90	(1.74)	5.87 ± 0.72	(1.86)	4.18 ± 0.28	(2.08)
副腎 ¹⁾	0.43	(0.11)	0.52	(0.16)	0.45	(0.22)
脾臓	0.41 ± 0.19	(0.10)	0.27 ± 0.05	(0.09)	0.32 ± 0.09	(0.16)
膵臓	1.43 ± 0.53	(0.36)	0.78 ± 0.17	(0.25)	0.92 ± 0.43	(0.46)
白色脂肪	0.42 ± 0.27	(0.11)	0.32 ± 0.15	(0.10)	0.21 ± 0.02	(0.10)
褐色脂肪	0.54 ± 0.13	(0.14)	0.50 ± 0.12	(0.16)	0.41 ± 0.05	(0.20)
骨格筋	0.55 ± 0.09	(0.14)	0.59 ± 0.14	(0.19)	0.38 ± 0.09	(0.19)
皮膚	0.61 ± 0.11	(0.15)	0.57 ± 0.09	(0.18)	0.47 ± 0.09	(0.23)
骨髓 ¹⁾	0.64	(0.16)	0.66	(0.21)	0.35	(0.17)
大動脈 ¹⁾	1.39	(0.35)	1.12	(0.35)	0.74	(0.37)
腸間膜リンパ節 ¹⁾	1.51	(0.38)	1.35	(0.43)	1.83	(0.91)
精巣	0.69 ± 0.29	(0.17)	0.62 ± 0.07	(0.20)	0.48 ± 0.09	(0.24)
精巣上体	1.00 ± 0.63	(0.25)	0.74 ± 0.20	(0.23)	0.58 ± 0.02	(0.29)
前立腺 ¹⁾	0.44	(0.11)	5.27	(1.67)	1.86	(0.93)
胃	22.96 ± 3.36	(5.74)	10.18 ± 2.78	(3.22)	3.52 ± 0.70	(1.75)
小腸	21.15 ± 5.43	(5.29)	13.44 ± 4.88	(4.25)	20.56 ± 6.35	(10.23)
大腸	1.77 ± 1.79	(0.44)	0.92 ± 0.28	(0.29)	2.28 ± 0.47	(1.13)
膀胱	2.45 ± 1.52	(0.61)	4.47 ± 2.15	(1.41)	13.30 ± 15.42	(6.62)

平均値 ± 標準偏差 (n=3), 括弧内は血漿中濃度比, ¹⁾: 3 個体のプール

表5. 非絶食下雄性成熟ラットに ^{14}C -TBPM-PI を 10 mg/kg 単回経口投与した時の組織内放射能濃度

組織	組織内濃度 ($\mu\text{g eq./ml}$ or $\mu\text{g eq./g}$)					
	30 分		2 時間		6 時間	
血漿	5.95 $\pm$ 1.16	(1.00)	1.57 $\pm$ 0.38	(1.00)	0.28 $\pm$ 0.04	(1.00)
血液	3.58 $\pm$ 0.73	(0.60)	0.93 $\pm$ 0.24	(0.59)	0.17 $\pm$ 0.03	(0.61)
大脳	0.08 $\pm$ 0.01	(0.01)	0.02 $\pm$ 0.01	(0.01)	0.01 $\pm$ 0.00	(0.04)
小脳	0.09 $\pm$ 0.02	(0.02)	0.03 $\pm$ 0.01	(0.02)	0.01 $\pm$ 0.00	(0.04)
脳脊髄液	0.05 $\pm$ 0.05	(0.01)	0.05 $\pm$ 0.03	(0.03)	0.01 $\pm$ 0.00	(0.04)
下垂体	0.97 $\pm$ 0.47	(0.16)	0.19 $\pm$ 0.06	(0.12)	0.08 $\pm$ 0.03	(0.29)
眼球	0.27 $\pm$ 0.02	(0.05)	0.13 $\pm$ 0.04	(0.08)	0.04 $\pm$ 0.01	(0.14)
甲状腺	0.72 $\pm$ 0.15	(0.12)	0.32 $\pm$ 0.12	(0.20)	0.08 $\pm$ 0.03	(0.29)
ハート腺	0.44 $\pm$ 0.05	(0.07)	0.13 $\pm$ 0.04	(0.08)	0.05 $\pm$ 0.01	(0.18)
顎下腺	0.71 $\pm$ 0.02	(0.12)	0.19 $\pm$ 0.06	(0.12)	0.06 $\pm$ 0.01	(0.21)
胸腺	0.32 $\pm$ 0.03	(0.05)	0.09 $\pm$ 0.03	(0.06)	0.03 $\pm$ 0.00	(0.11)
心臓	0.68 $\pm$ 0.12	(0.11)	0.19 $\pm$ 0.05	(0.12)	0.05 $\pm$ 0.01	(0.18)
肺	1.22 $\pm$ 0.16	(0.21)	0.34 $\pm$ 0.04	(0.22)	0.09 $\pm$ 0.01	(0.32)
肝臓	2.67 $\pm$ 0.63	(0.45)	2.96 $\pm$ 0.44	(1.89)	1.94 $\pm$ 0.07	(6.93)
腎臓	14.39 $\pm$ 1.14	(2.42)	5.00 $\pm$ 0.97	(3.18)	1.40 $\pm$ 0.14	(5.00)
副腎	0.59 $\pm$ 0.09	(0.10)	0.20 $\pm$ 0.09	(0.13)	0.06 $\pm$ 0.02	(0.21)
脾臓	0.40 $\pm$ 0.07	(0.07)	0.13 $\pm$ 0.05	(0.08)	0.05 $\pm$ 0.01	(0.18)
膵臓	0.84 $\pm$ 0.13	(0.14)	0.21 $\pm$ 0.07	(0.13)	0.09 $\pm$ 0.01	(0.32)
白色脂肪	0.33 $\pm$ 0.06	(0.06)	0.06 $\pm$ 0.03	(0.04)	0.02 $\pm$ 0.01	(0.07)
褐色脂肪	0.61 $\pm$ 0.15	(0.10)	0.18 $\pm$ 0.09	(0.11)	0.05 $\pm$ 0.01	(0.18)
骨格筋	0.36 $\pm$ 0.09	(0.06)	0.11 $\pm$ 0.04	(0.07)	0.03 $\pm$ 0.01	(0.11)
皮膚	1.14 $\pm$ 0.16	(0.19)	0.33 $\pm$ 0.14	(0.21)	0.13 $\pm$ 0.03	(0.46)
骨髄	0.53 $\pm$ 0.07	(0.09)	0.18 $\pm$ 0.04	(0.11)	0.05 $\pm$ 0.01	(0.18)
大動脈	1.11 $\pm$ 0.29	(0.19)	0.36 $\pm$ 0.10	(0.23)	0.14 $\pm$ 0.02	(0.50)
腸間膜リンパ節	1.10 $\pm$ 0.19	(0.18)	0.28 $\pm$ 0.11	(0.18)	0.16 $\pm$ 0.02	(0.57)
精巣	0.45 $\pm$ 0.11	(0.08)	0.23 $\pm$ 0.08	(0.15)	0.05 $\pm$ 0.01	(0.18)
精巣上体	0.84 $\pm$ 0.13	(0.14)	0.30 $\pm$ 0.08	(0.19)	0.08 $\pm$ 0.02	(0.29)
前立腺	0.56 $\pm$ 0.39	(0.09)	0.65 $\pm$ 0.81	(0.41)	0.07 $\pm$ 0.04	(0.25)
胃	10.56 $\pm$ 3.32	(1.77)	1.65 $\pm$ 0.35	(1.05)	1.56 $\pm$ 0.28	(5.57)
小腸	9.14 $\pm$ 5.15	(1.54)	1.89 $\pm$ 1.23	(1.20)	2.05 $\pm$ 0.42	(7.32)
大腸	0.73 $\pm$ 0.19	(0.12)	0.36 $\pm$ 0.25	(0.23)	4.20 $\pm$ 1.98	(15.00)
膀胱	16.43 $\pm$ 14.31	(2.76)	9.41 $\pm$ 9.09	(5.99)	1.71 $\pm$ 1.38	(6.11)

平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=3), 括弧内は血漿中濃度比

表 6. 各種動物における TBPM の *in vitro* 血清蛋白結合率

動物種	結合率 (%)			
	0.1 µg/ml	1 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml
マウス	96.6 ± 0.1	98.1 ± 0.2	98.3 ± 0.1	90.4 ± 0.2
ラット	-	90.0 ± 0	89.9 ± 0.6	78.5 ± 0.7
イヌ	-	18.7 ± 2.3	15.8 ± 1.0	15.7 ± 0.5
サル	-	39.3 ± 0.6	37.4 ± 1.5	35.3 ± 1.3
ヒト	73.9 ± 3.1	67.0 ± 0.3	67.0 ± 0.2	59.7 ± 1.3

平均値 (n=3), 限外ろ過法

3. 代謝

3.1 *in vitro* 代謝検討

TBPM-PI の代謝の年齢差の有無を明らかにするために、幼若（小児）および成熟（成人）のラット、サルおよびヒトの小腸 S9 画分、肝臓 S9 画分および血漿を用いて、*in vitro* 代謝を検討した（図 6、図 7 および図 8）。小腸 S9 画分においては若干の種差が認められ、ラットおよびサルでは TBPM-PI から TBPM への変換が成熟動物と比べ幼若動物では緩徐な傾向を示したが、ヒトでは小児に比べ成人が緩徐な傾向を示した。肝 S9 画分においては、サルおよびヒトでは幼若動物（小児）と成熟動物（成人）で差は見られなかったが、ラットでは成熟動物に比べ幼若動物で TBPM-PI から TBPM への変換が緩徐な傾向を示した。血漿においてはいずれの動物種とも、幼若動物（小児）および成熟動物（成人）に差は見られず、速やかに活性本体 TBPM へと変換された。データは示さないが、いずれのマトリックスにおいても、TBPM-PI から主として TBPM へ変換され、他の代謝物への変換はほとんど認められなかった。

3.2 ラットおよびサルにおける *in vivo* 代謝組成

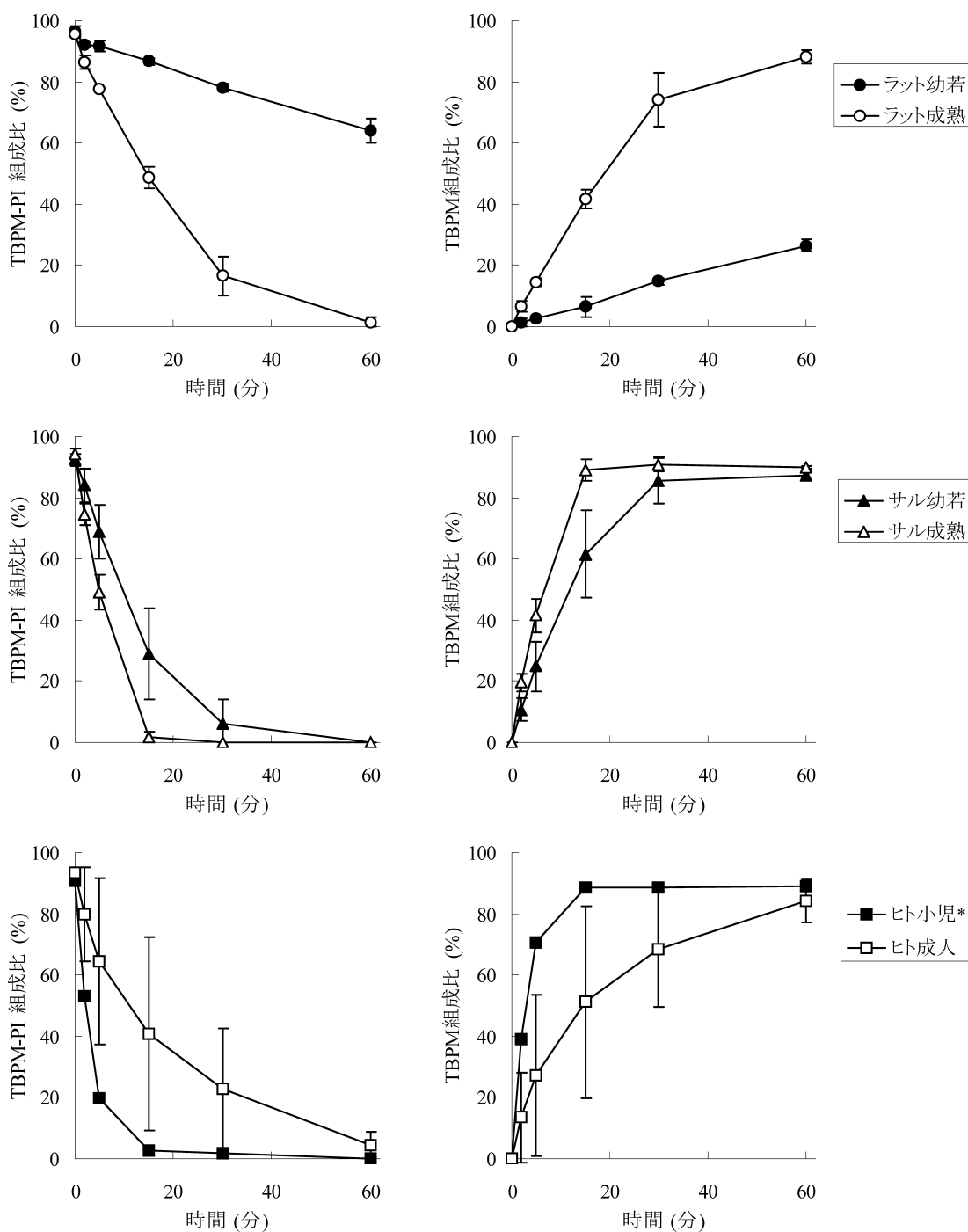
幼若動物および成熟動物のラットあるいはサルに 10 mg/kg ¹⁴C-TBPM-PI を単回経口投与後の血漿のラジオクロマトグラフィーを図 9 および図 10

に示した。吸収された TBPM-PI は速やかに TBPM および LJC11,562（TBPM 加水分解物）へと変換された。ラット、サルともに保持時間 28 分付近に未知の代謝物と考えられるピークがわずかに確認されたが、TBPM-PI および TBPM-PI 加水分解物の溶出位置にピークは確認されなかった。

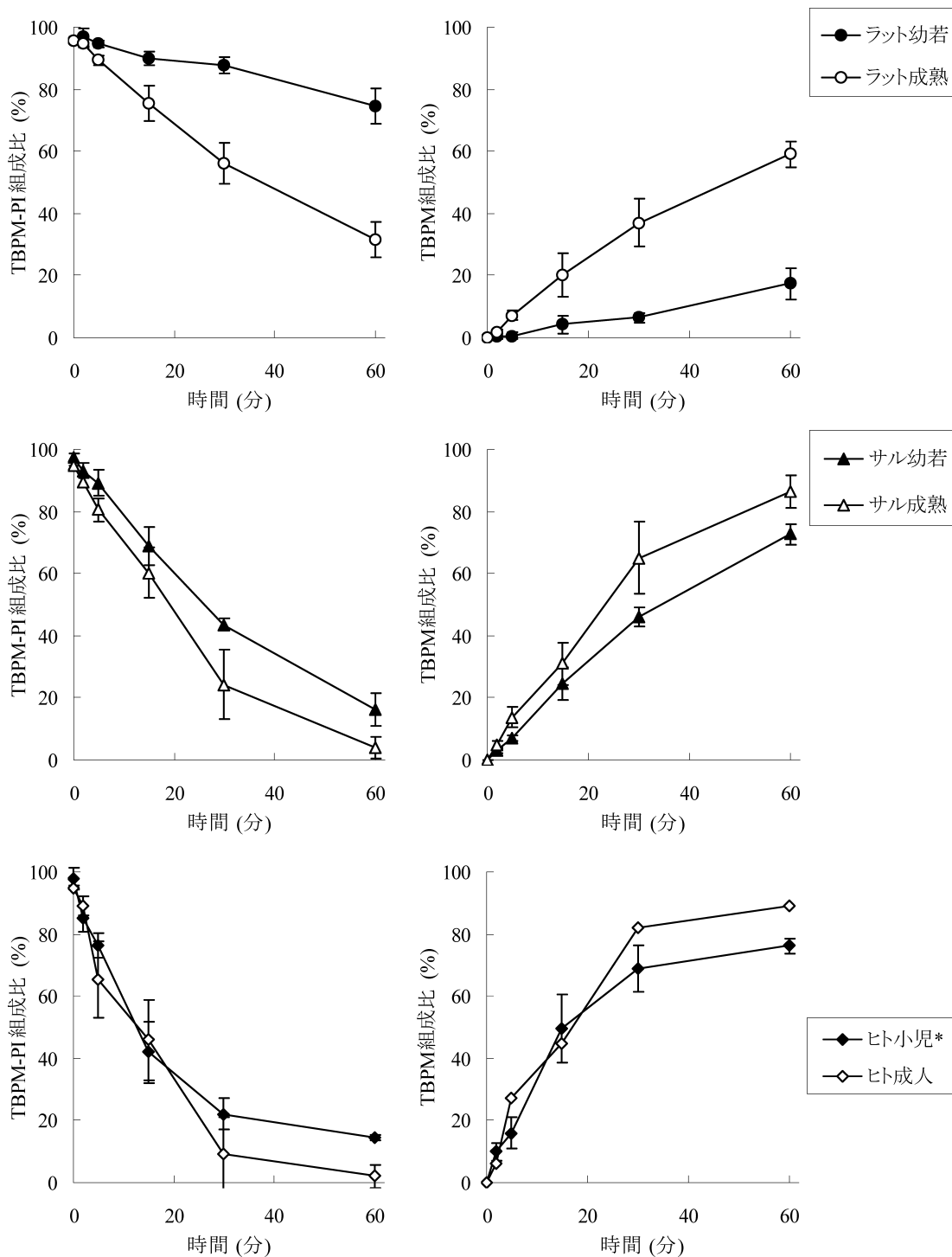
3.3 ラット肝代謝酵素への影響

TBPM-PI の雌性ラットにおける肝薬物代謝酵素系への影響について検討するため、TBPM-PI 投与群は、TBPM-PI を 1, 10 および 100 mg/kg の用量で、対照群は、TBPM-PI 投与媒体である 0.5% CMC-Na を 10 ml/kg で、陽性対照群は、フェノバルビタールナトリウムを 80 mg/kg の用量でそれぞれ 1 日 1 回、7 日間反復経口投与し、最終投与 24 時間後に肝臓を摘出し評価した。結果を図 11 に示した。

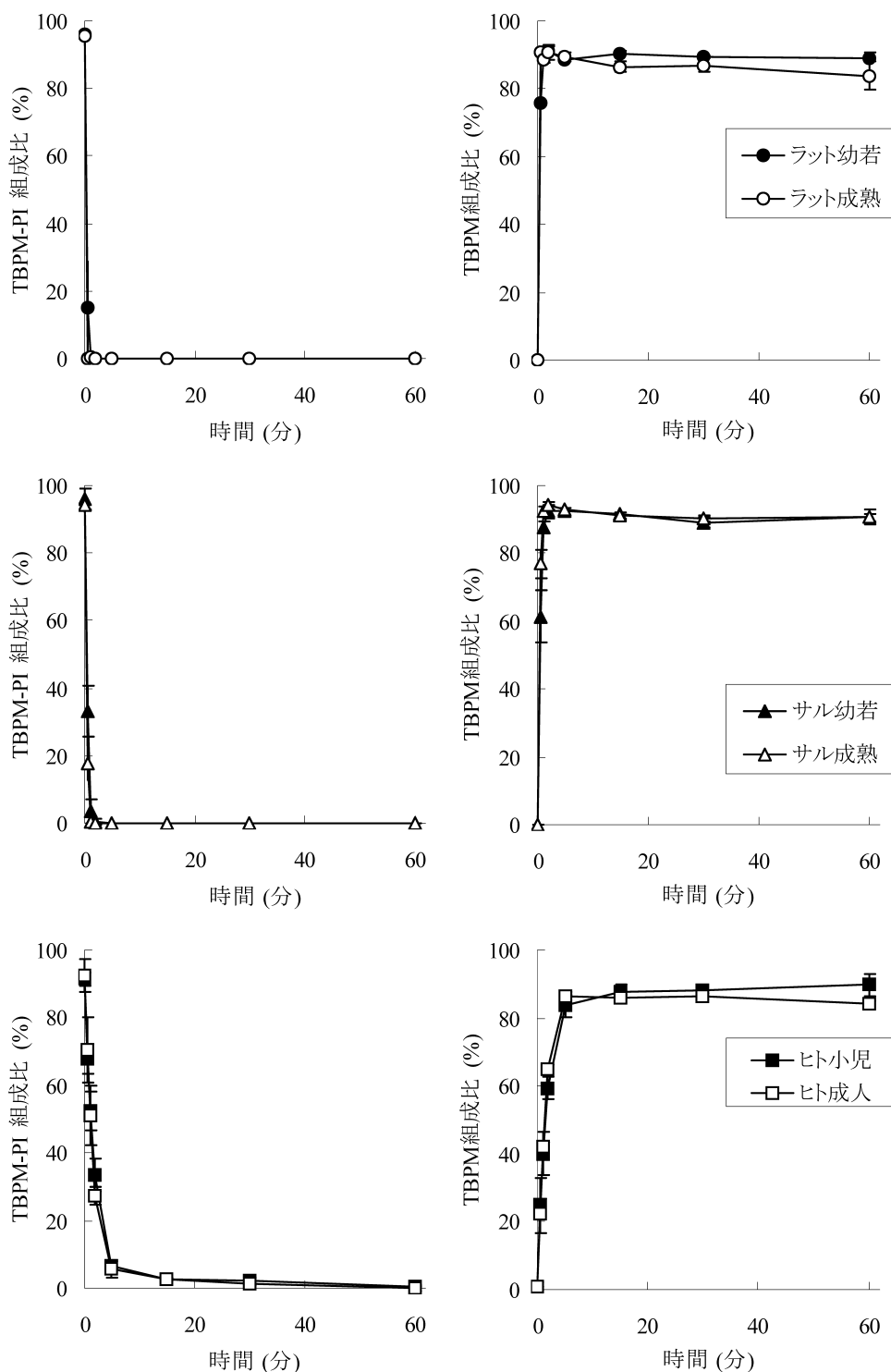
TBPM-PI 投与群では、チトクローム b₅ 含量、アミノピリン *N*-脱メチル活性、アニリン水酸化活性、7-エトキシマリリン *O*-脱エチル活性、テストステロン 6β-水酸化活性、テストステロン 16α-水酸化活性、テストステロン 16β-水酸化活性および UDP-グルクロン酸転移酵素活性に、また肝臓 1 g 当たりのミクロソーム蛋白量に、それぞれ対象群との有意差は認められたものの投与量依存的な増加は無く、その増加倍率は 2 倍以下であった。ミ

図6. 小腸S9を用いた *in vitro* における TBPM-PI代謝

上段；ラット，中段；サル，下段；ヒト，MOPS緩衝液pH7.4で調製したS9
 平均値±標準偏差 (n=3, *: n=1)

図7. 肝S9を用いた *in vitro* における TBPM-PI代謝

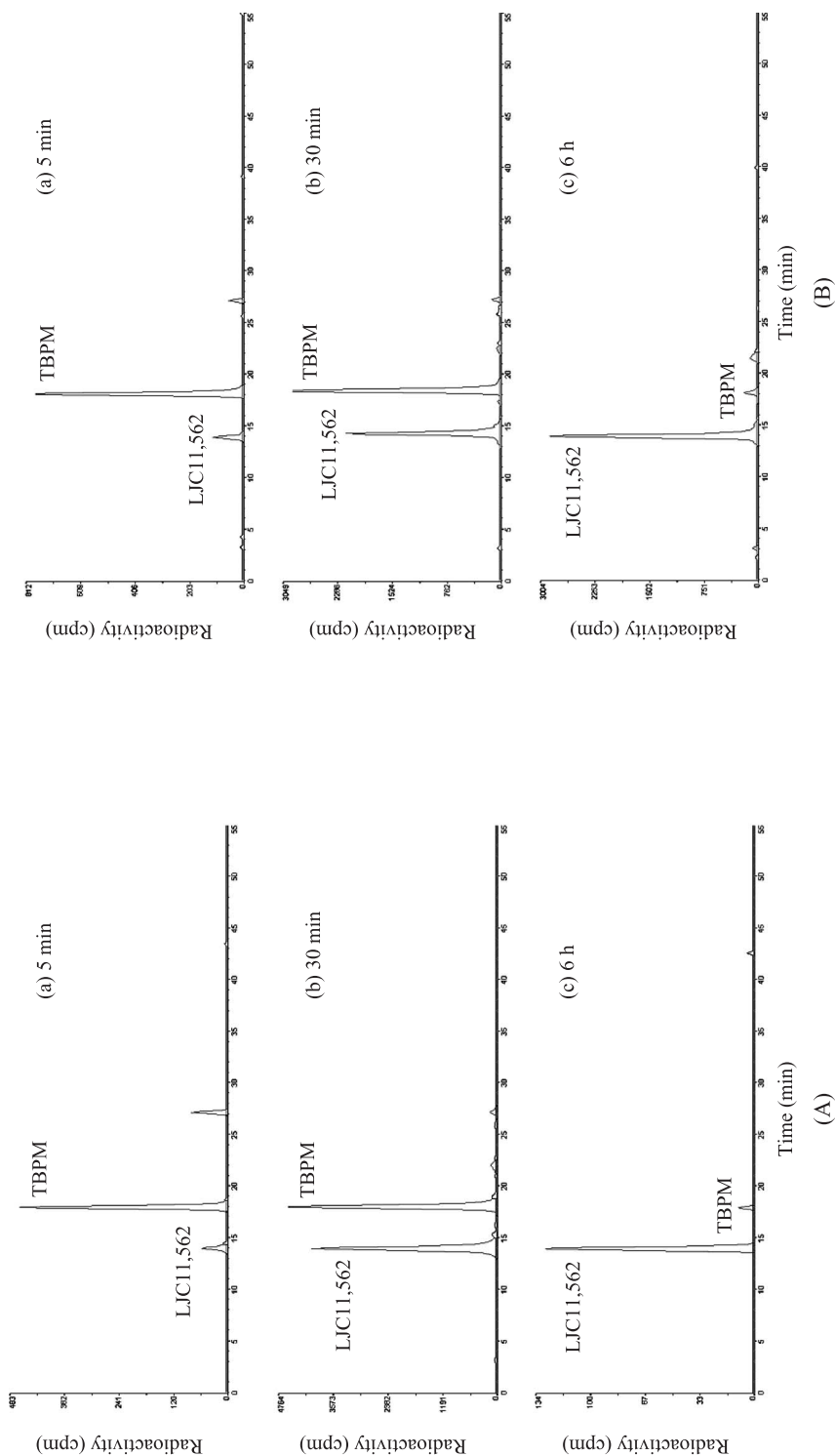
上段；ラット，中段；サル，下段；ヒト，MOPS緩衝液pH7.4で調製したS9
 平均値±標準偏差 (n=3, *: n=2)

図8. 血漿を用いた *in vitro* における TBPM-PI代謝

上段；ラット，中段；サル，下段；ヒト

平均値±標準偏差（ラットおよびサル：n=3，ヒト：n=3～5）

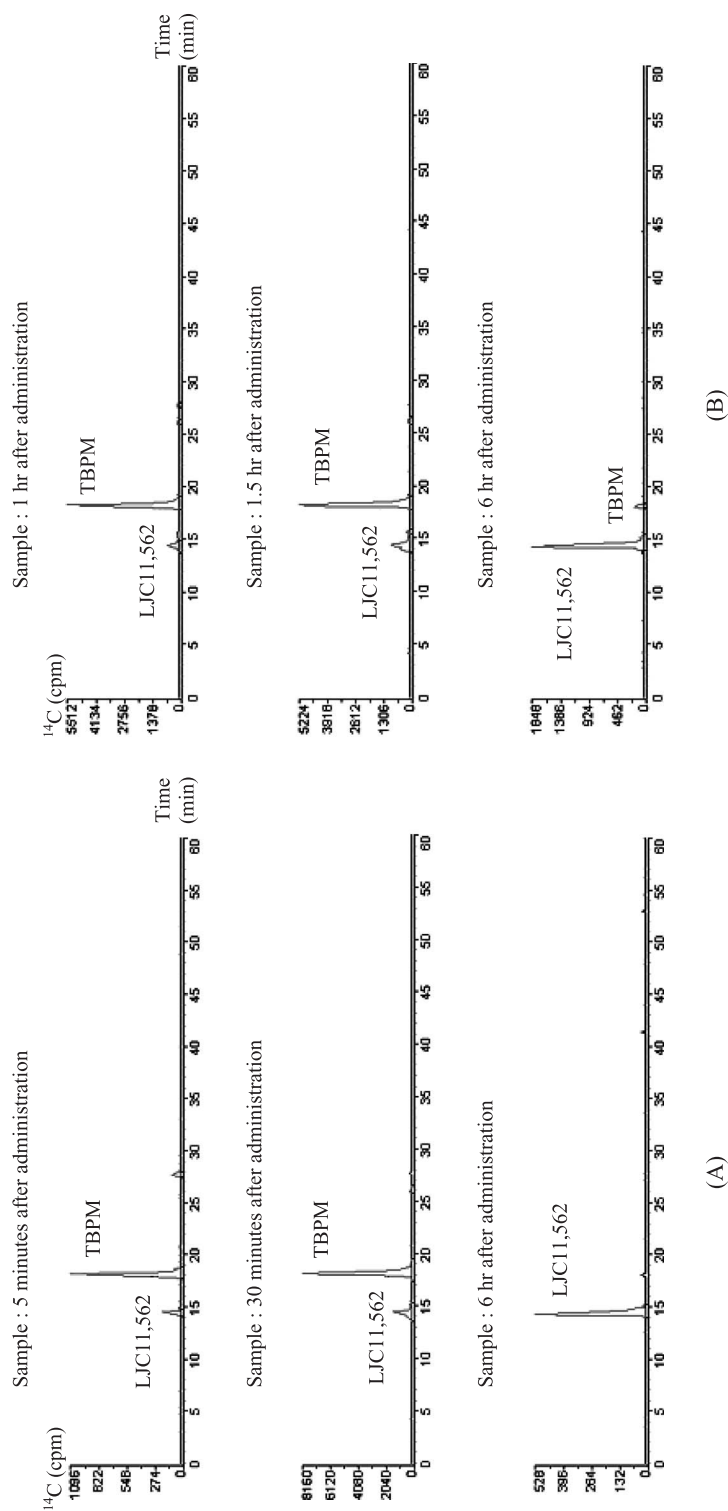
図9. 成熟および幼若ラットに10 mg/kg ^{14}C -TBPM-PIを投与したときの血漿のradio-HPLC



(A); 成熟ラット, (B); 幼若ラット, (a); 投与5分後, (b); 投与30分後, (c); 投与6時間後

保持時間: TBPM-PI; 40.8 min, TBPM-PI開環体; 30.2~34.7 min, TBPM; 17.6 min, LJC11,562; 13.6 min

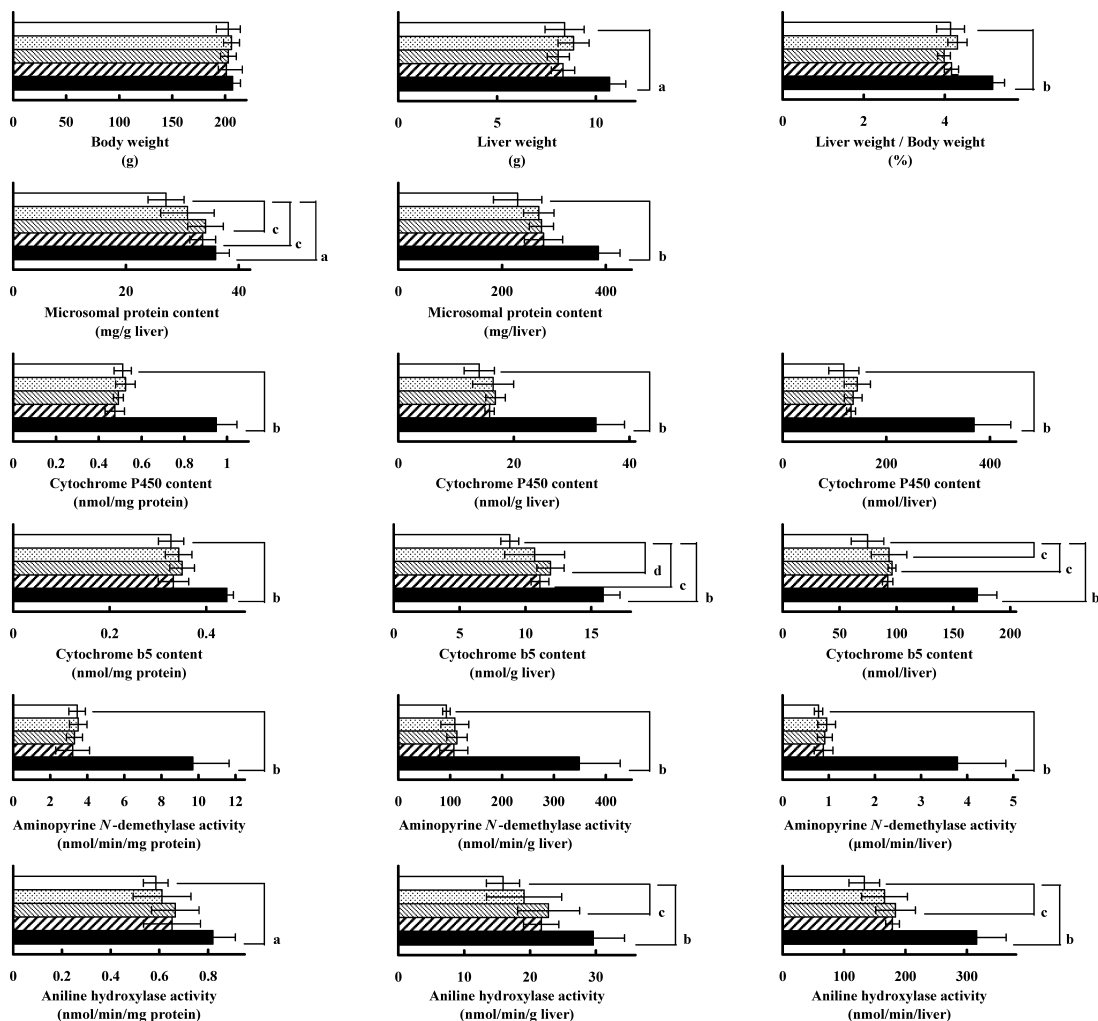
図 10. 成熟および幼若サルに 10 mg/kg ^{14}C -TBPM-PI を投与したときの血漿の radio-HPLC



(A) ; 成熟サル, (B) ; 幼若サル

保持時間 : TBPM-PI; 41.30 min, TBPM-PI 開環体 ; 31.03 min, TBPM; 17.80 min, LJC11,562; 14.13 min

図11-1. 雌性ラットにおける TBPM-PI の7日間連投による肝薬物代謝酵素への影響

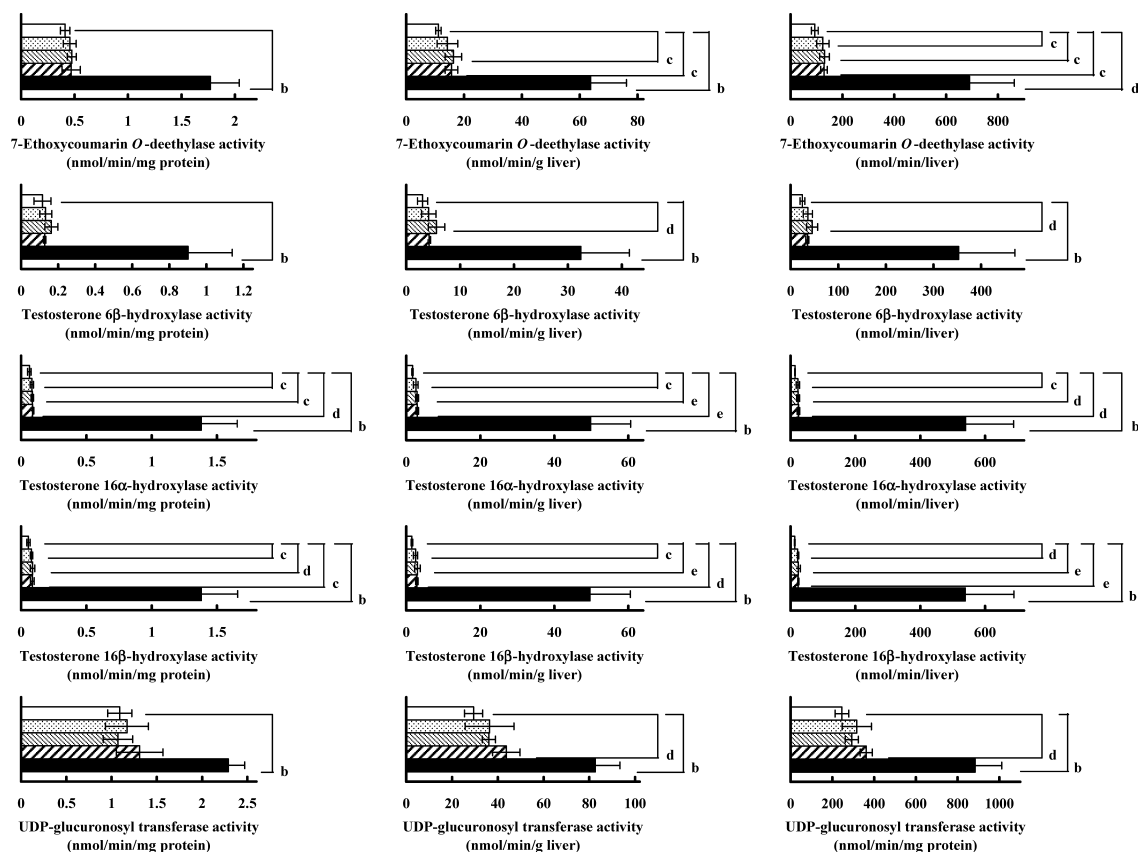


□: Vehicle (0.5% CMC-Na), ▤: 1 mg/kg TBPM-PI, ▨: 10 mg/kg TBPM-PI
 ▩: 80 mg/kg TBPM-PI, ■: 80 mg/kg Phenobarbital sodium

a) Student's t-test ($p < 0.01$), b) Student's t-test ($p < 0.001$), c) Dunnett ($p < 0.05$), d) Dunnett ($p < 0.01$)

平均値 ± 標準偏差 (n=5)

図 11-2. 雌性ラットにおける TBPM-PI の 7 日間連投による肝薬物代謝酵素への影響



□: Vehicle (0.5% CMC-Na), ▤: 1 mg/kg TBPM-PI, ▨: 10 mg/kg TBPM-PI

▩: 100 mg/kg TBPM-PI, ■: 80 mg/kg Phenobarbital sodium

a) Student's t-test ($p<0.01$), b) Student's t-test ($p<0.001$), c) Dunnett ($p<0.05$), d) Dunnett ($p<0.01$)

e) Dunnett ($p<0.001$)

平均値 $\pm$ 標準偏差 ($n=5$)

表7. TBPM-PI および TBPM によるヒト P450 分子種への阻害作用

分子種	% of control (% of inhibition)			陽性対照
	TBPM-PI	TBPM		
	100 μg/ml (261 μM)	10 μg/ml (26 μM)	100 μg/ml (261 μM)	
CYP1A	103.2 (−3.2)	104.5 (−4.5)	111.5 (−11.5)	6.2 (93.8)
CYP2A6	72.1 (27.9)	104.8 (−4.8)	105.1 (−5.1)	<14.8* (>85.2*)
CYP2B6	103.1 (−3.1)	98.3 (1.7)	101.3 (−1.3)	30.9 (69.1)
CYP2C8	92.8 (7.2)	104.3 (−4.3)	108.7 (−8.7)	29.6 (70.4)
CYP2C9	78.1 (21.9)	99.6 (0.4)	96.7 (3.3)	11.6 (88.4)
CYP2C19	64.8 (35.2)	82.7 (17.3)	64.8 (35.2)	32.4 (67.6)
CYP2D6	102.8 (−2.8)	103.1 (−3.1)	104.7 (−4.7)	<15.9* (>84.1*)
CYP2E1	102.8 (−2.8)	94.8 (5.2)	98.0 (2.0)	33.3 (66.7)
CYP3A4	69.5 (30.5)	98.9 (1.1)	100.9 (−0.9)	6.4 (93.6)

陽性対照とその濃度

CYP1A: α -Naphthoflavone (1 µM), CYP2A6: 8-Methoxypsoralen (5 µM), CYP2B6: Orphenadrine (500 µM), CYP2C8: Quercetin (10 µM), CYP2C9: Sulfaphenazole (3 µM), CYP2C19: Tranylcypromine (20 µM), CYP2D6: Quinidine (4 µM), CYP2E1: Diethyldithiocarbamate (100 µM), CYP3A4: Ketoconazole (1 µM)

* ; 検出限界以下であったため, 検出限界より算出

クロソーム中蛋白 1 mg 当たり, 肝臓 1 g 当たりおよび肝臓当たりのテストステロン 16 β -水酸化活性については, 投与量増加に伴う有意な増加が認められたものの, その増加倍率は対照群の 1.75 倍以下であった。以上から, TBPM-PI の 1~100 mg/kg 投与において, ラット肝薬物代謝酵素系への影響は軽微であった。

3.4 ヒト肝ミクロソームを用いた P450 酵素阻害

TBPM-PI 濃度を 100 µg/ml (261 µM), TBPM 濃度を 10 および 100 µg/ml (26 および 261 µM) とし, ヒト肝ミクロソームを用いて TBPM-PI および TBPM によるヒト P450 分子種 (CYP1A, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 および CYP3A4) に対する酵素阻害作用を検討した (表7)。その結果, TBPM-PI

表8. TBPM-PI によるヒト P450 分子種への阻害作用に対するブレインキュベーションの影響

分子種	15 min preincubation	
	(% of control)	(% of inhibition)
CYP1A	97.0	3.0
CYP2A6	127.4	−27.4
CYP2B6	98.6	1.4
CYP2C8	90.3	9.7
CYP2C9	187.7	−87.7
CYP2C19	108.7	−8.7
CYP2D6	108.0	−8.0
CYP2E1	99.7	0.3
CYP3A4	57.3	42.7

の CYP2C19, CYP3A4, CYP2A6 および CYP2C9 に対する阻害率は, 100 $\mu\text{g/ml}$ において, それぞれ 35.2%, 30.5%, 27.9% および 21.9% であった。他の CYP 分子種に対する阻害は 7.2% 以下であった。TBPM の CYP2C19 に対する阻害率は 100 $\mu\text{g/ml}$ において 35.2% であり, 他の CYP 分子種に対する阻害率は 3.3% 以下であった。このことから TBPM-PI およびその活性体である TBPM の IC_{50} 値はいずれの分子種においても 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上と推定された。

また, ヒト肝ミクロソームの基質反応に及ぼす TBPM-PI 100 $\mu\text{g/ml}$, 15 分間プレインキュベーションによる影響の検討を行った (表 8)。その結果, CYP3A4 に対し, 42.7% の阻害が, CYP2C9 および CYP2A6 では 87.7% および 27.4% の酵素活性の上昇が認められ, 他の CYP 分子種ではほとんど影響が認められなかった。

4. 排泄

雄性および雌性ラットに絶食下 ^{14}C -TBPM-PI を 10 mg/kg 単回経口投与したとき, 雄性ラットでは投与後 120 時間までに尿および糞中へそれぞれ投

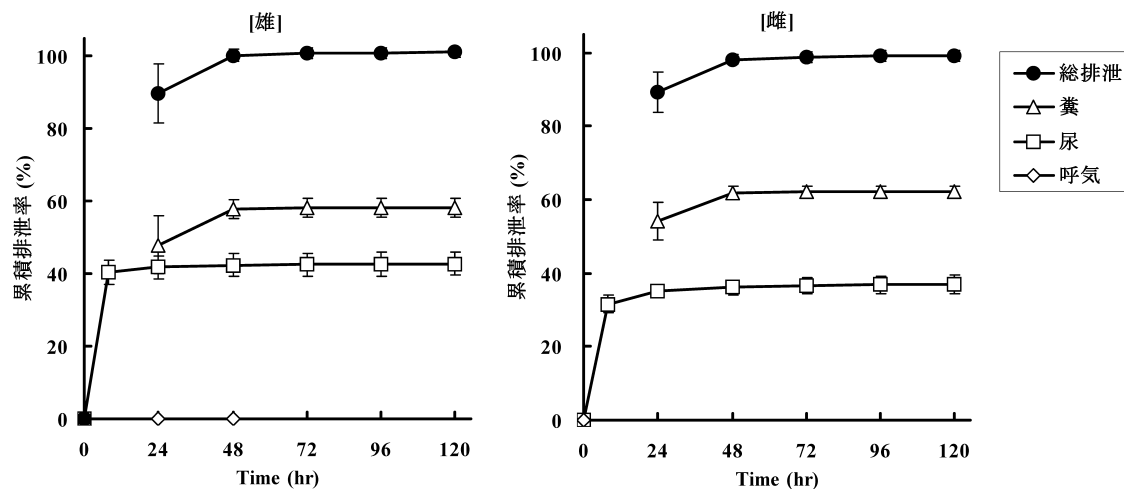
与量の 42.7 および 58.3% が排泄され, 呼気中へはほとんど排泄されないものと考えられた (図 12)。また, 雌性ラットでは尿および糞中へ 36.9 および 62.2% が排泄された。雌雄ラットともに投与後 48 時間までに投与量の大部分が排泄されたことより, ^{14}C -TBPM-PI は速やかに体外へ排泄されることが示された。

絶食雄性ラットに ^{14}C -TBPM を 10 mg/kg 単回静脈内投与したとき, 投与後 24 時間までの尿および胆汁中排泄率は, それぞれ 87.4 および 11.4% であった (図 13)。また, 投与後 4 時間までに投与量の大部分が排泄されたことより, ^{14}C -TBPM は速やかに尿および胆汁中へ排泄されることが示された。

考察

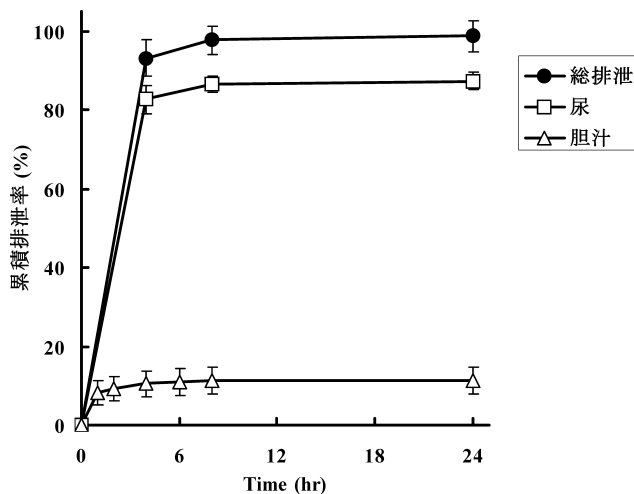
中耳炎, 副鼻腔炎, 肺炎の 3 疾患の主要原因菌である PRSP, BLNAR (β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*) 等の急速な薬剤耐性化が近年進んでおり³⁾, 特に小児においては問題視されている状況にある。TBPM

図 12. 絶食雄性および雌性ラットに ^{14}C -TBPM-PI を 10 mg/kg 単回経口投与したときの尿, 糞および呼気中放射能排泄率



平均値 $\pm$ 標準偏差 (n=3)

図 13. 絶食雄性ラットに ^{14}C -TBPM を 10 mg/kg 単回静脈内投与したときの尿および胆汁中放射能排泄率



平均値 ± 標準偏差 (n=3)

は、PRSPやBLNARに対して強力な抗菌力を有し、TBPMのプロドラッグであるTBPM-PIは、初の経口カルバペネム系抗菌薬として、小児の難治性の中耳炎、副鼻腔炎ならびに肺炎を適応症として開発が進められている。従来、カルバペネム系抗菌薬は注射剤であり、重症感染症治療薬として適切な投与設計を行い使用されているが、経口剤として用いられるTBPM-PIにおいても、耐性菌を選択しない確実な効果が求められる。すなわち、経口剤として開発するにあたり、十分な有効性が期待できる血中動態を示すことが重要であると考えられた。

マウス、ラット、イヌおよびサルにTBPM-PIを単回経口投与したとき、各動物種における血漿中TBPMの $t_{\max}$ はそれぞれ0.25~0.67時間といずれの動物種でも速やかな吸収が認められた。ラット、イヌおよびサルにおける $t_{1/2}$ はそれぞれ0.28~0.69時間であり、速やかに血漿中から消失した。マウスにおける $t_{1/2}$ は1.67時間であり、他の種より高値を示した。これは、マウスにおける血清蛋白結合率が、他の種に比べて極めて高いことから、腎

からの排泄が遅れることが一因ではないかと考えられた。マウス、ラット、イヌおよびサルにおける生物学的利用率は34.8~71.4%であり、いずれの動物種においても良好な経口吸収性を示した。ヒト（健康成人）において200 mgのTBPM-PI経口投与後の活性本体TBPMの $t_{\max}$ は0.49時間、 $C_{\max}$ は9.4 $\mu\text{g/ml}$ 、尿中排泄率は70.2%であり⁴⁾、ヒトにおいても速やかに優れた経口吸収性が認められた。小児における急性中耳炎を対象とした二重盲検比較による検証的試験（第III相試験）の結果では、TBPM-PI投与3日後の菌消失率が高く、速効性のある薬理効果が得られている⁵⁾。この効果は、TBPMの優れた殺菌力に加え、先に述べたTBPM-PIの優れた薬物動態特性が寄与したためと推察される。

TBPM-PIは、治療に難渋している小児の中耳炎を対象にしている。成人における血中動態データから、小児における薬物動態を予想し、さらに用量設定をするにあたり、幼若動物と成熟動物の薬物動態を比較することは有用であった。幼若および成熟ラットに ^{14}C -TBPM-PIを経口投与したと

きの血漿中TBPM濃度推移を比較したところ、その $C_{\max}$ は成熟ラットに比べ幼若ラットでは低く、 $AUC_{\inf}$ は幼若および成熟ラットでほぼ同程度であった。また幼若ラットでは成熟ラットに比べ血漿からの消失が遅い傾向が認められた。セフェム系抗菌薬は、そのほとんどが血漿あるいは細胞外液に分布することが知られている。体内の水分含量比は、幼若動物の方が成熟動物より高いことから、幼若動物におけるセフェム系抗菌薬の血中濃度は成熟動物よりも低いことが報告されている^{6,7)}。TBPM-PIもこれらのセフェム系抗菌薬と同様な理由により、幼若ラットで成熟ラットより低い $C_{\max}$ を示したと考えられた。また、一般に幼若動物の腎薬物排泄能は、成熟動物に比べ低く、幼若動物における薬物の排泄が遅れることが知られている⁸⁾。このことから、幼若ラットにおけるTBPMの体内からの消失が成熟ラットよりも遅かったと考えられた。また、 $AUC_{\inf}$ については、上記の要因が複合的に関与した結果、幼若および成熟ラット間で大きな差が認められなかったものと推察された。同様に、幼若および成熟サルに ^{14}C -TBPM-PIを経口投与したとき、 $C_{\max}$ および $t_{\max}$ は、それぞれほぼ同程度であったが、成熟サルに比べ幼若サルでは、血漿中からの消失が早い傾向が認められた。幼若サルおよび成熟サル（ともに $n=3$ ）の $AUC_{\inf}$ は、それぞれ $4.38\sim 11.38\text{ }\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/ml}$ および $8.67\sim 9.58\text{ }\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $C_{\max}$ はそれぞれ $3.34\sim 6.54\text{ }\mu\text{g eq.}/\text{ml}$ および $2.63\sim 6.65\text{ }\mu\text{g eq.}/\text{ml}$ と個体差が大きく、幼若サルと成熟サルの薬物動態の差は、ばらつきの範囲内であると考えられた。また、小児患者⁹⁾における 4 mg/kg TBPM-PI投与時および成人患者¹⁰⁾における 250 mg （約 4 mg/kg ）投与時の薬物動態は、 $C_{\max}$ がそれぞれ 3.48 ± 1.67 および $7.92\pm 4.02\text{ }\mu\text{g/ml}$ 、 $AUC_{0-24\text{h}}$ がそれぞれ 11.00 ± 1.84 および $15.85\pm 8.08\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ と、大きな違いはないと考えられた。

^{14}C -TBPM-PIを幼若および成熟ラットに単回経口投与したとき、放射能は主要排泄臓器である腎臓に高濃度で分布したが、それ以外に長時間高濃度で残存する組織は認められず、各組織からの放射能の消失は速やかであり、中枢への移行性は低かった。TBPMと同じカルバペネム系抗菌薬であるMeropenemは、ラットにおいて中枢への移行が血漿中濃度に対して $1.4\sim 66.7\%$ であり中枢毒性が低いことが報告されているが¹¹⁾、TBPMの中枢への移行性は $1\sim 4\%$ と同程度以下であった。またTBPM-PIは経口剤であるため静脈内投与のような急激な血中濃度の上昇がなく、中枢濃度が高くなる可能性は低いことから、中枢毒性の発現リスクは極めて低いと考えられた。また、ラットにおけるTBPMの肺への移行性は血漿中濃度に対して約 $20\sim 30\%$ であり、他の β -ラクタム系抗菌薬の報告^{12,13)}と同程度であった。また、これらの β -ラクタム系抗菌薬は臨床において、血漿（あるいは血清）中濃度に対して約 $10\sim 50\%$ のELF中移行性が確認されており^{14,15)}、TBPMにおいてもこれらの β -ラクタム系抗菌薬と同程度のELFへの移行性が推測されることから、肺炎を含む呼吸器感染症の治療をする上で、移行性は特に問題にないと考えられた。

幼若動物（小児）ならびに成熟動物（成人）のラット、サルおよびヒトの血漿、肝S9画分および小腸S9画分を用いて、*in vitro*代謝検討を行った。いずれの動物種のマトリックスにおいても、その反応速度に若干の差はみられるものの、速やかにTBPM-PIからTBPMへ変換された。また、幼若および成熟ラット、並びに幼若および成熟サルにTBPM-PIを経口投与したときの血漿中および尿中における代謝物組成を検討したところ、TBPM-PIおよびTBPM-PI開環体は測定したすべての時点において認められず、速やかに活性本体であるTBPMへ変換されていると考えられた。TBPM以外にはLJC11,562が認められた。消化管

から吸収した後、速やかに脱エステルされて、活性本体である TBPM に変換するものと考えられた。TBPM-PI が速やかに TBPM へと変換され、TBPM-PI や TBPM-PI 開環体が循環血や尿に認められないことに、幼若動物と成熟動物とで違いは認められなかった。ヒトにおいて、TBPM-PI 経口投与後の尿中に TBPM として約 60~70% が排泄され、代謝物 LJC11,562 は約 10% しか排泄されなかったこと⁴⁾からも、TBPM-PI は消化管から吸収された後、速やかに脱エステル TBPM に変換され、ほとんど代謝を受けることなく排泄されることが考えられた。

さらに TBPM-PI の肝薬物代謝酵素系への影響を明らかにするために 1~100 mg/kg の TBPM-PI を 7 日間反復投与したところ、ラット肝薬物代謝酵素系への影響はほとんど認められなかった。また、*in vitro* 薬物代謝試験における TBPM-PI および TBPM の各ヒト CYP 分子種の IC₅₀ 値はいずれも 100 µg/ml 以上であり、臨床における血漿中濃度および肝臓への移行性を勘案すると、CYP の関与する薬物相互作用のリスクは極めて低いと考えられた。

以上、マウス、ラット、イヌおよびサルを用いて TBPM-PI の薬物動態を検討したところ、若干の種差はあるものの、いずれの動物種においても速やかに、かつ良好な経口吸収性を示すことが明らかとなった。経口投与された TBPM-PI は、速やかに TBPM へと変換され、主要排泄臓器である腎臓に高く分布したものの、これ以外に長時間高濃度で残存する組織は認められず、中枢への移行性も低かった。TBPM-PI を経口投与したときの主要代謝物は、活性本体である TBPM であり、次いで LJC11,562 が認められ、投与 48 時間後までに大部分が尿および糞中に排泄されるものと考えられた。ラットおよびサルを用いて TBPM-PI の幼若動物における薬物動態評価を行ったところ、経口吸収性、分布、代謝物組成並びに排泄など、そ

の薬物動態は成熟動物と大きな違いは認められなかった。

引用文献

- 1) HIKIDA, M.; K. ITAHASHI, A. IGARASHI, *et al.*: *In vitro* antibacterial activity of LJC11,036, an active metabolite of L-084, a new oral carbapenem antibiotic with potent antipneumococcal activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 2010~2016, 1999
- 2) MIYAZAKI, S.; T. HOSYOYAMA, N. FURUYA, *et al.*: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of L-084, a novel oral carbapenem, against causative organisms of respiratory tract infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 203~207, 2001
- 3) UBUKATA, K.: Problems associated with high prevalence of multidrug-resistant bacteria in patients with community-acquired infections. *J. Infect. Chemother.* 9: 285~291, 2003
- 4) 中島光好, 森田 順, 相澤一雅: 健康成人男性における tebipenem pivoxil 細粒の薬物動態および安全性の検討。日本化学療法学会雑誌 57(S-1): 90~94, 2009
- 5) 鈴木賢二, 馬場駿吉, 戸塚恭一, 他: Tebipenem pivoxil 細粒の小児急性中耳炎に対する cefditoren pivoxil 高用量対照ランダム化二重盲検比較臨床試験 (第 III 相試験)。日本化学療法学会雑誌 57(S-1): 167~185, 2009
- 6) TSUJI, A.; T. TERASAKI, K. IMAEDA, *et al.*: Age-related change in tissue-to-plasma partition coefficient of cefazolin for noneliminating organs in the rat. *J. Pharm. Sci.* 78: 535~540, 1989
- 7) 中田 宏, 江藤広範, 知久 滋, 他: 幼若犬および成熟犬におけるセファロスポリン誘導体の体内動態の比較。Xenobio. Metabol. & Dispos. 14: 294~299, 1999
- 8) 川崎良彦, 立田和宏, 鈴木 泰, 他: 幼若動物におけるアセトアミノフェンシロップの体内動態。Xenobio. Metabol. & Dispos. 9: 482~498, 1994
- 9) SATO, N.; K. KIJIMA, T. KORESAWA, *et al.*: Population pharmacokinetics of tebipenem

- pivoxil (ME1211), a novel oral carbapenem antibiotics, in pediatric patients with otolaryngological infection or pneumonia. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 23: 434~446, 2008
- 10) 木島功嗣, 佐藤信雄, 是澤友和, 他: Tebipenem pivoxil の耳鼻咽喉科領域感染症成人患者における薬物動態. *Jpn. J. Antibiotics* 62: 143~154, 2009
- 11) 射場一彦, 吉武 彬: [^{14}C]Meropenem のラットにおける体内動態. *Chemotherapy* 40: 132~144, 1992
- 12) 駒井 亨, 河合賢司, 椿 秀美, 他: 経口用セフェム剤CS-807の実験動物における体内動態. *Chemotherapy* 36: 229~240, 1998
- 13) 下岡新雄, 伊藤俊彦, 伊藤正実, 他: Sulbactam・Ampicillinの実験動物における吸収, 分布, 代謝および排泄. *Chemotherapy* 36: 66~80, 1988
- 14) MULLER-SERIEYS, C.; C. BANCAL, M. C. DOMBRET, *et al.*: Penetration of cefpodoxime proxetil in lung parenchyma and epithelial lining fluid of noninfected patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 2099~2103, 1992
- 15) VALCKE, Y. J.; M. T. ROSSEEL, R. A. PAUWELS, *et al.*: Penetration of ampicillin and sulbactam in the lower airways during respiratory infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34: 958~962, 1990

Pharmacokinetics of tebipenem pivoxil, a novel oral carbapenem antibiotic, in experimental animals

KOJI KIJIMA¹⁾, JUN MORITA²⁾, KATSUYOSHI SUZUKI³⁾, MAKOTO AOKI¹⁾,
KAZUHIKO KATO¹⁾, HIROYUKI HAYASHI¹⁾, SHIGEKI SHIBASAKI¹⁾ and
TOHRU KUROSAWA¹⁾

¹⁾ Pharmacokinetic Labs., Applied Pharmacology Research Labs.,
Pharmaceutical Research Center, Meiji Seika Kaisha, Ltd.

²⁾ Clinical Research Department, Meiji Seika Kaisha, Ltd.

³⁾ Pharmacovigilance Dept., Reliability & Quality Assurance Center,
Meiji Seika Kaisha, Ltd.

Pharmacokinetics of tebipenem pivoxil (TBPM-PI), a novel oral carbapenem antibiotic, were known in various laboratory animal.

- 1) In mouse, rat, dog and monkey, TBPM-PI were absorbed quickly, and the bioavailability was 71.4, 59.1, 34.8 and 44.9%, respectively.
- 2) TBPM-PI was quickly converted to tebipenem (TBPM), an active form of TBPM-PI. Through blood circulation, TBPM was distributed into the kidney at a high concentration and eliminated quickly. There was no other tissue than the kidney, in which TBPM was highly distributed and remained for a long time. In addition, low penetration to the central nervous system was confirmed. The penetration ratio of TBPM to ELF, that is the ratio of ELF concentration to plasma concentration of TBPM, was $21.8 \pm 14.7\%$.
- 3) Serum protein bindings of TBPM in the range of 0.1–100 $\mu\text{g/ml}$ were 90.4–98.3% for mouse, 78.5–90.0% for rat, 15.7–18.7% for dog, 35.3–39.3% for monkey and 59.7–73.9% for human.
- 4) *In vitro* metabolism was investigated in plasma, liver S9 fractions and small intestinal S9 fractions derived from infant and adult animals. TBPM-PI was transformed into TBPM quickly in

any matrices. It was confirmed that absorbed TBPM-PI was quickly transformed into TBPM or LJC11,562 (opened ring TBPM) in the plasma after oral administration of ^{14}C -TBPM-PI to infant or adult rat and monkey. TBPM-PI and opened ring TBPM-PI was not detected in plasma and urine samples. In rat and monkey, the oral absorption, distribution, metabolite and excretion of TBPM-PI were not so much different between infant and adult animals.

- 5) Liver metabolic enzyme system was little affected by 7-days repeated administration of 1–100 mg/kg TBPM-PI. IC_{50} values of TBPM-PI and TBPM for human CYP isoforms were estimated to be 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or higher.
- 6) After single oral administration of 10 mg/kg ^{14}C -TBPM-PI to rat, 36.9–42.7% and 58.3–62.2% of radioactivity was excreted to urine and feces, respectively, by 120 hours after administration. The majority of dosage was excreted out of body by 48 hours after administration. After single intravenous administration of 10 mg/kg ^{14}C -TBPM, 87.4% and 11.4% of radioactivity was excreted in urine and bile, respectively, by 24 hours after administration. The majority of dosage was excreted out of body by 4 hours after administration.