

諸動物における新化学療法剤 AB-206 の吸収、体内分布および排泄
—Bioassay による検討—

井沢昭雄・木崎容子・甲田 彰
山森 芬・小松敏昭

住友化学工業株式会社医薬事業部研究開発センター

吉 武 彬

住友化学工業株式会社生物科学研究所

AB-206 (5,8-dihydro-5-methoxy-8-oxo-2H-1,3-dioxolo [4,5-g] quinoline-7-carboxylic acid) は住友化学工業株式会社において合成された化学療法剤であり、グラム陰性菌に広くかつ強い抗菌活性を有することが見出されている¹⁾。

AB-206 を各種動物に経口投与後の血清中濃度、体内分布、尿糞中への排泄を bioassay により検討したのでここに報告する。

I. 実験方法

1. 薬 剤

AB-206 は住友化学工業株式会社において合成されたものを、対照の Nalidixic acid (以下 NA, 第一製薬) は市販品より抽出精製したものをを用いた。いずれも純度 98% 以上であることを確認しており、マイクロナイズした後、0.5% カルボキシメチルセルロース液に懸濁して投与した。

2. マウスにおける検討

ICR 系雄 (体重 20g 平均) マウスを前夜より絶食し、薬剤各 20, 50, 100mg/kg をゾンデを用いて強制投与した。その後経時的に断頭により採血 (各群 3 匹)、暗所に静置して血清分離し、血清中濃度を bioassay により測定した。また尿中排泄の測定のため、10 匹に投薬後、代謝ケージに入れ、尿は 24 時間まで、糞は 48 時間まで採取した。

体内分布測定のため、屠殺したマウスより臓器を剔出し、生食水にて洗浄後計量し、4 倍量の M/15 リン酸緩衝液を加え、テフロンホモジナイザーまたはポルトロン (Kinematica 製) によりホモジネートとし、2,500rpm 10 分間遠心後上清を bioassay した。

3. ラットにおける検討

Sprague-Dawley 系雄 (体重 200g 平均) ラットを前夜より絶食し、薬剤 50mg/kg をゾンデにて経口投与した。経時的にエーテル麻酔下に腹部大動脈より全採血して屠殺した (1 群 3 匹)。採尿および糞は 1 匹ずつ代謝ケージに入れ、5 匹より採取した。いずれのラットも投

薬 4 時間後より給餌を開始した。

AB-206 の胆汁中への排泄を測定するため、6 匹のラットを使用し、エーテル麻酔下に総胆管にカニューレを挿入し、AB-206 を 50mg/kg 経口投与後、経時的に胆汁を採取した。

4. ビーグル犬における検討

体重 10~15kg のビーグル犬 4 頭を前夜より絶食し、薬剤を経口投与後代謝ケージに入れて採尿、かつ経時的に橈側皮静脈より採血した。

5. サルにおける検討

体重 3~4kg のアカゲザル 3 頭を用い、ビーグル犬と同様に採血、採尿、更に採糞した。

6. AB-206 と NA の微生物学的定量法

生体試料中の AB-206 または NA の定量は別に報告した方法²⁾を用いた。すなわち *E. coli* Kp 株を検定菌とするシリンダーカップ法を用い、標準線は血清中濃度の測定には同種の動物血清、その他の試料には M/15 リン酸緩衝液 (pH 7.4) を用いて作製した。

7. 尿の bioautogram

マウス、ラット、イヌに AB-206 を経口投与後の尿を用いて、薄層クロマトグラフィーにより尿中の活性体の検索を行なった。シリカゲル製薄層 (メルク製、プリコート) 上にこれら動物の尿と AB-206 標準品をスポットし、メタノール:28% アンモニア:水=20:1:3 の混合溶媒系で約 15cm の長さに展開した。風乾後、*E. coli* Kp 株を接種した感性ディスク寒天にはりつけ、室温に 1 時間放置後、静かにはがし、寒天板を 37°C にて 1 夜培養後、抗菌活性スポットの有無を観察した。

II. 結 果

1. 血清中濃度

マウスおよびラットに AB-206, NA を経口投与後の血清中濃度推移を Fig. 1 および Fig. 2 に示す。マウスに AB-206 を 20, 50, 100mg/kg 投与した場合、0.5 時間後におのおの 15, 59, 84 μg/ml のピーク濃度に達したのに比べ、NA を 50, 100mg/kg 投与した場合 1 時

Fig. 1 Antibacterial concentrations of AB-206 and Nalidixic acid in mouse serum after a single oral administration (Dose : mg/kg)

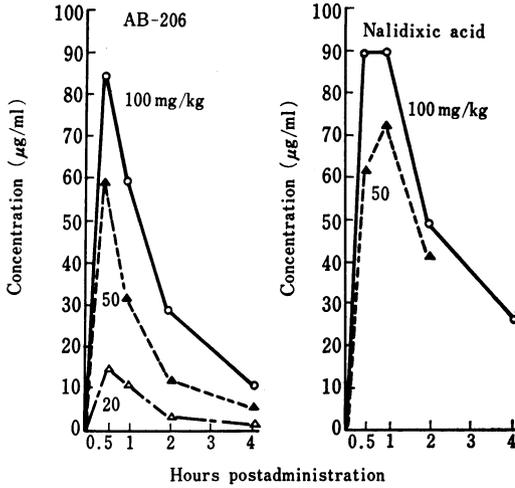
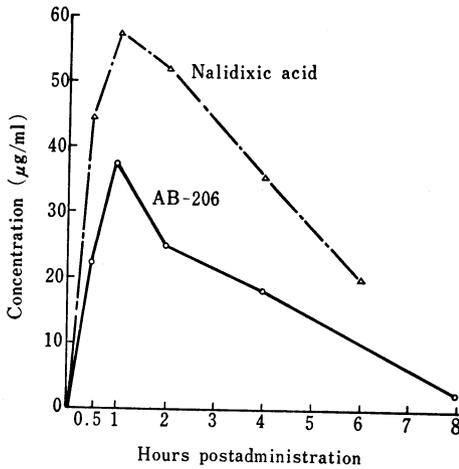


Fig. 2 Antibacterial concentrations of AB-206 and Nalidixic acid in rat serum after a single oral dose of 50mg/kg



間後におおの 73, 90 µg/ml のピーク濃度に達し、以後は両薬剤とも比較的速やかに減少した。両薬剤とも dose response が認められた。

ラットにおいては 50 mg/kg 投与した場合、投与 1 時間後に両薬剤ともピーク濃度が認められ AB-206 では 37 µg/ml, NA では 58 µg/ml であった。

ビーグル犬に AB-206, NA を 10 mg/kg 経口投与したときの血清中濃度を Fig. 3 に示す。投与 1 時間後に AB-206 は 12.5 µg/ml, NA は 23.2 µg/ml のピーク濃度に達し、2 時間後にはおおよそ 9.3 µg/ml, 20 µg/ml となった。

Fig. 3 Antibacterial concentrations of AB-206 and Nalidixic acid in Beagle dog serum after a single oral dose of 10mg/kg

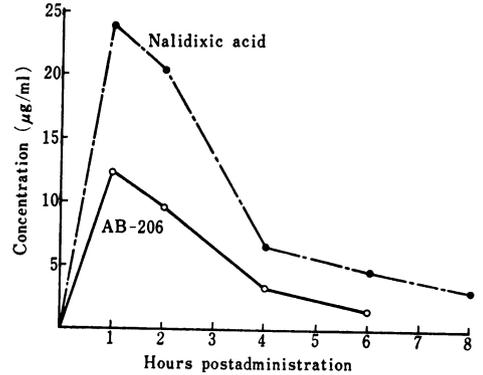
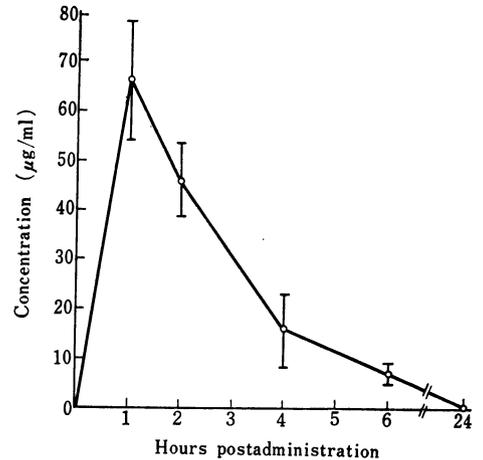


Fig. 4 Antibacterial concentrations of AB-206 in Rhesus monkey serum after a single oral dose of 50mg/kg



アガザルにおいては Fig. 4 に示すように AB-206 を 50 mg/kg 経口投与したとき、1 時間後に 66.9 µg/ml のピーク濃度に達し、2 時間後では 46.3 µg/ml, 4 時間後では 16.3 µg/ml に低下した。

AB-206 についてマウス, ラット, イヌ, サルにおける血清中濃度を比較すると、ピーク濃度はマウス, イヌ, サルにおいて比較的一致したが、ラットでは低い値であった。AB-206 の血清中濃度を NA と比較するとマウス, ラット, イヌにおいて AB-206 は NA の 2/3~1/2 であった。

2. 尿中排泄

AB-206 を各種動物に経口投与した後 24 時間の平均尿中濃度と回収率を Table 1 に示す。AB-206 を 50 mg/kg 投与した場合、マウス 6.5%, ラット 5.8%, イヌ 5.2% と比較的一致した回収率を示した。しかしイヌの 10 mg/kg 投与例で 1.4%, サルでは 10 および 50

Table 1 Urinary excretion of AB-206 and Nalidixic acid following an oral administration to mouse, rat, dog and monkey

Animal species	No. of animals	Dose (mg/kg)	Mean concentration ($\mu\text{g/ml}$, 0~24 hr.)		Recovery rate (%)	
			AB-206	NA	AB-206	NA
Mouse	10	50	25.0		6.5	
Rat	5	50	67.6	249	5.8	20.9
Dog	4	10	6.7	78.8	1.4	13.1
	2	40		140		6.6
	2	50	68.0		5.2	
Monkey	3	10	22.3		3.4	
	3	50	31.7		2.1	

Table 2 Fecal excretion of antibacterial activity following an oral administration of AB-206, 50mg/kg, to mice and rats

Animal	Time (hr.)	Feces level ($\mu\text{g/g}$)	Cumulative recovery rate (%)
Mouse (n=10)	0~5	1.3	0.004
	5~8	1.9	0.006
	5~24	0.8	0.025
	24~48	<0.1	
Rat (n=5)	0~8	3.7	0.04
	8~24	<0.1	
	24~48	<0.1	

Table 3 Fecal excretion of antibacterial activity following an oral administration of AB-206, 50mg/kg, to Rhesus monkeys

Animal	Feces level ($\mu\text{g/g}$)				Recovery rate (%)
	0~4	4~8	8~24	24~48 hr.	
1	76.8	19.1	4.4	2.8	0.15
2	—	—	2.2	<0.1	0.02
3	<0.1	<0.1	3.3	4.0	0.04

mg/kg 投与例でそれぞれ 3.4% および 2.1% と低い値を示した例もあった。NA の回収率はラットで 20.9%, イヌで 13.1%, 6.6% であり, AB-206 に比べ, いずれの投与例でも高い回収率であった。

3. 糞中排泄

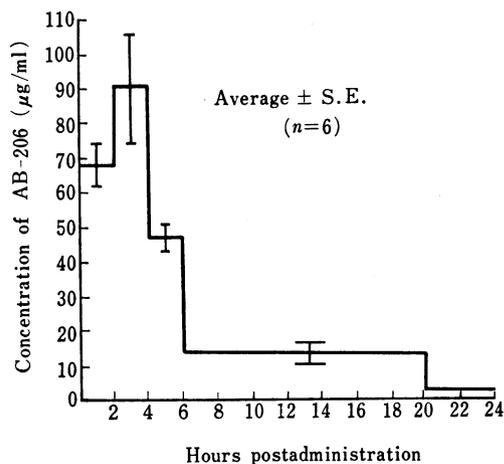
マウス, ラットに AB-206 を 50mg/kg 経口投与した時の糞中排泄を Table 2 に示す。マウスでは投与 24 時間後まで, ラットでは 8 時間後まで数 $\mu\text{g/g}$ の濃度で排泄されたが, 以後検出感度以下となった。回収率はマウス, ラットとも投与量の 0.1% 以下であった。

アカゲザルに AB-206 を 50mg/kg 投与した後の糞中排泄を Table 3 に示す。個体差が認められた。すなわち最高濃度は No. 1 のサルでは 76.8 $\mu\text{g/g}$, No. 2 および 3 のサルにおいては 2.2 $\mu\text{g/g}$ と 4.0 $\mu\text{g/g}$ であった。糞中への回収率はマウスやラットと同様, いずれも 0.2% 以下であった。

4. 胆汁中排泄

ラットに AB-206 を 50mg/kg 経口投与後の胆汁中への排泄を Fig. 5 に示す。胆汁中濃度は投与後 2 時間までは 68 $\mu\text{g/ml}$, 2~4 時間では 91 $\mu\text{g/ml}$ とピークに達し, 4~6 時間には 47 $\mu\text{g/ml}$ に低下した。24 時間まで

Fig. 5 Antibacterial concentrations of AB-206 in rat bile after a single oral dose of 50 mg/kg



の胆汁中からの回収率は平均 4.3% であった。

5. 組織内分布

マウスおよびラットに AB-206 を 50mg/kg 経口投与した後の主要臓器内の分布を Table 4 および 5 に示す。マウスにおける体内分布は各臓器とも投与 0.5 時間後に最も高い濃度が認められ, 腎と肺が最も高く, 次いで脾・筋肉・皮膚に高かった。また 1 および 2 時間後においても同じ濃度順位であった。最も高濃度に分布する肺

Table 4 Tissue distribution of antibacterial activity after oral administration of AB-206, 50mg/kg, to ICR mice. Values are given in μg equivalent to AB-206 per gram wet tissue and expressed as means of three mice.

Tissue	Time (hr.)					
	0.5	1	2	4	8	24
Serum ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	59	34	18	8.0	2.4	—*
Liver	12	7.5	6.5	1.9	—	—
Kidney	32.5	24	10.5	3.1	—	—
Lung	32.5	30	12	3.2	—	—
Spleen	19	15	8	3.6	—	—
Brain	13.5	10	4.1	0.9	—	—
Testis	10.5	9.5	4.6	1.3	—	—
Muscle	19	16.5	8.5	2.4	—	—
Skin	19	10	5.0	0.9	—	—

* — : $<0.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ or g

Table 5 Tissue distribution of antibacterial activity after oral administration of AB-206, 50mg/kg, to male SD rats. Values are given in μg equivalent to AB-206 per gram wet tissue and expressed as means of three rats.

Tissue	Time (hr.)					
	0.5	1	2	4	8	24
Serum ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	22.5	37.3	24.8	18.2	3.0	1.0
Liver	3.9	3.6	2.4	2.0	—*	—
Kidney	9.0	18.8	10.1	5.1	—	—
Brain	—	6.8	1.8	—	—	—
Spinal cord	—	5.8	1.5	—	—	—
Lung	5.5	14.0	6.3	5.3	—	—
Spleen	2.7	6.3	3.2	2.4	—	—
Testis	—	6.3	3.2	—	—	—
Muscle	3.1	10.0	5.5	1.9	—	—

* — : $<1.5 \mu\text{g}/\text{g}$ wet tissue

Table 6 Distribution of antibacterial activity in gastrointestinal tracts after an oral administration of AB-206, 50 mg/kg

Animal	Tissue	Tissue level ($\mu\text{g}/\text{g}$)					
		0.5	1	2	4	8	24 hr.
Mouse	Stomach	110	97.5	87.5	19.0	1.6	0.7
	Small intestine	150	95.0	85.0	31.0	4.7	—*
	Large intestine	5.3	5.0	4.4	1.3	—	—
Rat	Stomach	455	390	200	200	1.7	—
	Small intestine	360	340	240	150	16.0	—
	Large intestine	—	5.5	5.0	230	5.3	—

* — : $<0.6 \mu\text{g}/\text{g}$ wet tissue

においても血清を上まわることはなかった。

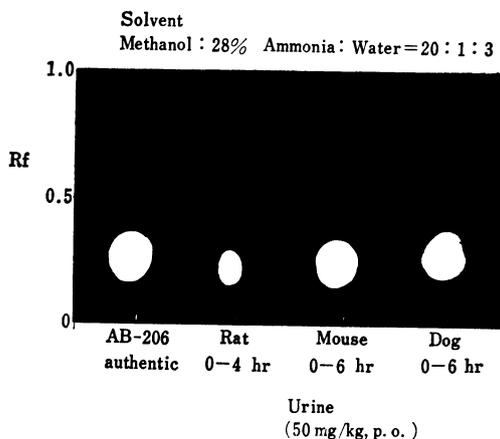
ラットにおける体内分布は肝以外の臓器では投与1時間後に最も高く、マウス同様腎、肺が高く、筋肉がこれについだ。投与0.5, 2および4時間後においても同様の傾向であり、またいずれも血清より低い値であった。

マウスおよびラットにおける AB-206 の 50mg/kg 経口投与後の消化管内濃度を Table 6 に示す。胃と小腸においてはマウス、ラットとも0.5時間において最も高い濃度を示し、以後漸減した。大腸においてはマウスではいずれの時間においても低い分布しか認められないのに比べ、ラットでは4時間後に高濃度 (230 $\mu\text{g}/\text{g}$) の分布を認めた。

6. 尿中抗菌活性物質

AB-206 を投与したマウス、ラットおよびイヌの尿中の活性代謝物を薄層クロマトグラフィーにより検索したが、Fig. 6 に示すようにいずれの動物においても標準

Fig. 6 Bioautogram of urine of mice, rats and dogs developed by thin-layer chromatography



AB-206 と同じ Rf 値の位置にのみ抗菌スポットを認め、尿中の活性は未変化の AB-206 によることが推定された。

III. 考 察

AB-206 をマウス、ラット、ビーグル犬に経口投与した後の血清中濃度を測定したところ、NA の 2/3~1/2 の濃度であった。またラットにおける濃度を Piromidic acid (PA) および Pipemidic acid (PPA) の文献上の値と比較すると、PA の場合 100mg/kg 投与後のピーク濃度は 12 μ g/ml であり³⁾、PPA では 50mg/kg 投与にて 4.5 μ g/ml である⁴⁾のに対し、AB-206 においては 50mg/kg で 37 μ g/ml のピーク濃度を示し、PA, PPA 両剤より高いピーク濃度といえる。

AB-206 を経口投与した場合、各種動物における抗菌活性体の尿中排泄率は 24 時間までに 1.4~6.5% であった。尿の bioautography よりこの抗菌活性体は未変化の AB-206 そのものであることが推定された。このことは ¹⁴C 標識 AB-206 を用いて行なった代謝研究⁵⁾ および代謝体の抗菌活性の検討によって明らかにされている。AB-206 の抗菌活性は極めて強く、大部分のグラム陰性菌に対し、1 μ g/ml またはそれ以下で増殖抑制することより、尿中排泄率は低くても十分な抗菌力を発揮すると思われる。

AB-206 のラットにおける胆汁中濃度は 50mg/kg 投与により 90 μ g/ml にも達した。このことは本剤の胆汁中移行が良好であることを示すものであり、本剤の胆道系感染症に対する治療効果が期待できることを示唆している。

主要臓器への AB-206 の分布を検討したところ、肺と腎において高濃度の分布が認められ、脳や脊髄において低いことは化学療法剤としては望ましい動態であるといえる。また肝において活性体量が少ないことはこれまでの検討より⁶⁾、肝が主要代謝臓器と推定されることからうなずける結果である。AB-206 の消化管内の分布はマウス、ラットとも、胃、小腸において高濃度の分布を認めた。

一方、盲腸~直腸ではマウスで低く、ラットで比較的高い濃度を示し、種差が認められた。ラットにおいて盲腸~直腸まで抗菌活性が認められるのにもかかわらず、糞中には極めてわずかの抗菌活性体しか排泄されないことは、盲腸~直腸において腸内細菌叢によって代謝分解されていることが推定されたが、このことは *in vitro* 実

験において実証されている⁶⁾。

IV. 結 論

新抗菌剤 AB-206 をマウス、ラット、ビーグル犬、アカゲザルに経口投与後の吸収、分布、排泄を bioassay により検討し、以下の結果を得た。

1. AB-206 は経口投与後すみやかに血清中に出現し、その濃度は各投与例で dose response が見られた。種差は認められたが、50mg/kg 投与後のピーク濃度は約 37~67 μ g/ml に達した。

2. 尿中の抗菌活性体は bioautography により未変化の AB-206 であることが明らかとなり、投与 24 時間内に投与量の 1.4~6.5% が回収された。尿中濃度は多くのグラム陰性菌に対する AB-206 の MIC を上まわる濃度であった。

3. ラットの胆汁中に高濃度の抗菌活性体が排泄され、24 時間に 4.3% が回収された。

4. 経口投与後、肺と腎に最も高濃度の分布を認めたが、血清中濃度より低かった。肝では最も低濃度であった。

5. 消化管内において抗菌活性体はラットの盲・直腸に高濃度の分布を認めたが、糞中にはマウス、ラット、サルいずれも投与量の 0.2% 以下しか排泄されなかった。

(本研究期間は昭和 47 年 2 月から 52 年 1 月までである。)

文 献

- 1) 井沢昭雄, 木崎容子, 入江健二, 江田靖子, 小松敏昭, 並木信重郎, 水谷卓, 長手尊俊, 神郡邦男, 大村貞文: 新化学療法剤 AB-206 の抗菌作用. *Chemotherapy* 26(Suppl. 4): 48~59, 1978
- 2) 井沢昭雄, 木崎容子, 小松敏昭, 原寛, 杉田和彦, 大村貞文: AB-206 の微生物学的定量法. *Chemotherapy* 26(Suppl. 4): 65~70, 1978
- 3) 清水当尚, 中村信一, 高瀬善行, 関根豊, 鈴木啓郷, 中村清: 新抗菌剤 Piromidic acid の研究, II. 吸収, 分布, 排泄および代謝. *Chemotherapy* 19: 387~393, 1971
- 4) 清水当尚, 中村信一, 黒部暢之, 高瀬善行: Pipe-midic acid の吸収, 分布および排泄. *Chemotherapy* 23: 2724~2729, 1975
- 5) 吉武彬, 川原一夫, 庄野文章, 井沢昭雄, 小松敏昭, 山森芬: ¹⁴C 標識 AB-206 の各種実験動物における代謝. *Chemotherapy* 26 (Suppl. 4): 83~90, 1978
- 6) 吉武彬, 井沢昭雄, 川原一夫, 庄野文章, 小松敏昭: 新化学療法剤 AB-206 の *in vitro* における代謝. (未発表)

AB-206, A NOVEL CHEMOTHERAPEUTIC AGENT
STUDIES ABOUT ABSORPTION, DISTRIBUTION AND
EXCRETION OF AB-206 BY BIOASSAY

AKIO IZAWA, YOHKO KISAKI, AKIRA KOHDA, KAORU YAMAMORI,
TOSHIAKI KOMATSU and AKIRA YOSHITAKE*
Research and Development Center, Institute for Biological Science*,
Pharmaceuticals Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd.

AB-206, a novel chemotherapeutic agent active against gram-negative bacteria, was administered to mice, rats, Beagle dogs and Rhesus monkeys at a single oral dose of 10~100mg/kg and absorption, distribution and excretion were investigated by bioassay using *E. coli* Kp. The results were as follows :

AB-206 was absorbed well and rapidly appeared in serum. At a dose of 50mg/kg, mean peak levels in serum were 37~67 μ g/ml. Dose response and species difference of serum level in these animals were observed.

About 1.4~6.5% of active AB-206 were excreted into urine for 24hr. postadministration and their mean urine levels of AB-206 were fully beyond the MICs on many gram-negative bacteria.

High bile levels of AB-206 in rats were observed and the recovery rate reached about 5% in 24hr. postadministration.

The highest AB-206 concentrations in tissues were observed in lung and kidney but their concentrations were below the serum levels and the levels in liver were the lowest. High antibacterial concentrations in gastrointestinal tracts in mice and rats except for caecum and rectum in mice were observed during 4hr. postadministration. But fecal recovery rates of antibacterial activity in mice, rats and monkeys were below 0.2% of dosage.