

¹⁴C 標識 AB-206 の各種実験動物における吸収、分布、排泄

吉武 彬・川原 一夫・庄野 文章

住友化学工業株式会社生物科学研究所

井沢 昭雄・山森 芬・小松 敏昭

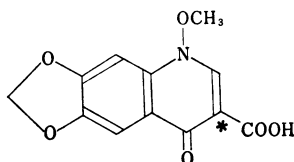
住友化学工業株式会社医薬事業部研究開発センター

5,8-dihydro-5-methoxy-8-oxo-2H-1,3-dioxolo [4,5-g] quinoline-7-carboxylic acid (AB-206) は, Nalidixic acid に類似した構造を有する新しい化学療法剤である。AB-206 はグラム陰性菌に対し広範な抗菌スペクトルを有し、さらに一部のグラム陽性菌に対しても抗菌力をもっている。その抗菌力は、多くの菌に対して、Nalidixic acid より強力である¹⁾。本薬剤の動物実験における吸収、分布、排泄については Bioassay による検討結果が報告されているが²⁾、本報では ¹⁴C 標識 AB-206 を用い、マウス、ラット、イヌおよびサルにおける生体内動態について検討を行なったので、その結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 標識薬物

既報の方法³⁾にしたがって、7位の炭素を炭素-14で標識した AB-206 を用いた (Fig. 1)。標識薬物の比放射能は、2.01 mCi/mmmole であり、薄層クロマトグラフィーにより、放射化学的および化学的純度が 99% 以上であることを確認した。

Fig. 1 ¹⁴C-AB-206

* Labelling position

2. 実験動物

各種とも雄性的動物を用いた。マウスは ICR 系 (5週齢, 体重約 20g) を、ラットは Sprague-Dawley 系 (5~6週齢, 体重約 200g) を、イヌは体重約 12kg のビーグル犬を、サルは体重約 3kg のアカゲザル (インド産) を用いた。

3. 投与量および投与方法

各種動物とも投与量、投与方法を一定にした。投与量は ¹⁴C-AB-206 50 mg/kg とし、1回経口投与とした。¹⁴C-AB-206 は、標識していない AB-206 で適宜希釈した後、0.5% カルボキシメチルセルロース水溶液に懸

濁して投与した。マウス、ラットでは胃ゾンデを、イヌ、サルではカテーテルを用いて強制的に胃内に投与した。各動物とも、投与前は 12 時間絶食を行ない、投与後 4 時間までは水のみを摂取させ、以後はエサを自由摂取させた。

4. 生体試料の採取

(1) 血清: エーテル麻酔下、マウスでは頸動脈から、ラットでは腹部大動脈から血液を採取した。イヌでは前腕部伏在静脈から、サルでは下腿部伏在静脈から血液を採取した。採取した血液は凝固後 3,000 rpm で 15 分間遠心沈澱し血清を分離した。

(2) 組織: マウス、ラットでは ¹⁴C-AB-206 投与後、経時的に、エーテル麻酔下、マウスでは頸動脈から、ラットでは腹部大動脈から採血致死させた。マウスでは肝臓、腎臓、肺臓、脾臓、脳、副腎、睪丸、眼球、皮膚および筋肉を摘出し 10 匹分の各組織をプールした。ラットでは上記の組織の他に、脊髄、骨髄、心臓、甲状腺、胸腺を加え、3 匹分を合してプールした。

(3) 尿および糞: マウス、ラット、イヌはおのおの専用の代謝ケージに收容した。マウスでは、20 匹から経時的に採取した尿および糞をおのおの合してプールした。ラットおよびイヌはおのおの 5 匹および 2 頭から個々に採取した。3 頭のアカゲザルは、個々に専用の固定イスに固定し、尿と糞を別々の受皿に集めた。

(4) 胆汁: あらかじめ総胆管にカニューレを挿入した 3 匹のラットから、投与後経時的に個々に胆汁を採取し、同時に 0~48 時間の尿も採取した。

(5) 腸肝循環実験: 胆管カニューレ手術を施したラット 3 匹に、¹⁴C-AB-206 50 mg/kg を投与し、6 時間までの胆汁を採取し、その放射能濃度を測定した。一方で、総胆管に胆汁採取用カニューレを、さらに胃壁を通し十二指腸部に注入用カニューレを挿入したラット⁴⁾ 3 匹を用意した。これら二重にカニューレ手術を施したラットに 8 時間にわたって約 0.6 ml/hr. の速度で微量定量ポンプ (SJ-1200 NA 型, ミツミ) を用いて上述の採取した胆汁を十二指腸内に注入しつつ、胆汁、尿を 24 時間まで、糞を 48 時間まで採取した。8

時間以後は、薬物をまったく投与していないラットから得た胆汁を注入した。

5. 生体試料の放射能分析

生体試料のうち、血清、尿および胆汁は、そのまま測定試料としたが、組織および糞は4倍重量の0.5 M リン酸緩衝液とともにホモジナイズしたものを測定試料とした。

放射能測定は液体シンチレーションスペクトロメーター (Tri-Carb 3375 型, Packard 社) を用いた。液体シンチレーターは2.5g の *p*-terphenyl と 50 mg の POPOP を i) 1L のトルエンに溶解したもの、および ii) 1L のエチルアルコールトルエン (2:3 v/v) の混合溶媒に溶解したものの2種類を用いた。尿および胆汁試料は0.1 ml をサンプリングし、上述の ii) の系のシンチレーター 15 ml に直接溶解して測定した。血清および組織・糞のホモジネート各 0.1 ml は、NCS (Amersham-Seale 社) 1 ml に加え溶解するまで 50°C でインキュベートした後、上述の i) 系のシンチレーター 15 ml を加えて測定した。

II. 結果および考察

1. 吸収

^{14}C -AB-206 50 mg/kg を各種動物に1回経口投与したときの血清中放射能濃度の推移を Table 1 に示した。各種動物とも、速やかにピーク濃度に達し、マウスでは投与 30 分後、他の動物では1時間後に最高値を示した。サルは最も高いピーク濃度を示し、その値は AB-206 換算値として 69 $\mu\text{g/ml}$ であった。マウス、ラット、イヌは同レベルのピーク濃度 40~45 $\mu\text{g/ml}$ であった。ピー

Table 1 Serum levels of ^{14}C after single oral dose of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to mice, rats, Beagle dogs and Rhesus monkeys

Species	Serum level of ^{14}C ($\mu\text{g/ml}^a$)					
	Time after administration (hr.)					
	1/2	1	2	4	8	24
Mouse ^b	42.1	33.2	17.4	6.3	1.1	0.2
Rat ^c	30.3 ± 4.2	44.5 ± 5.8	31.2 ± 3.7	19.6 ± 2.5	4.0 ± 1.0	0.1 ± 0.1
Dog 1	39.4	47.5	36.0	17.8	2.9	0.5
2	33.0	35.4	30.5	17.1	4.2	0.5
Monkey ^d	— ^e	68.8 ± 8.8	42.5 ± 11.4	11.7 ± 3.4	6.1 ± 1.8 ^f	0.9 ± 0.2

a : Values given in terms of AB-206 equivalents

b : Mean of 10 mice

c : Mean of 3 rats ± S.E.

d : Mean of 3 monkeys ± S.E.

e : Not measured

f : The value obtained at 6 hr. after administration

クに達した後は漸減し、各種動物とも8時間後には数 $\mu\text{g/ml}$ に減少し、24時間後には 1 $\mu\text{g/ml}$ 以下となった。血清中放射能濃度の半減期を比較すると、マウスとサルは近似しており、両動物とも約 1.3 時間であった。それに対し、ラットとイヌでは、より長く約 2.2 時間であった。

一方、消化管中の放射活性の消長を知るために、マウスおよびラットで行なった実験結果を Fig. 2 に示した。両動物において、投与放射能の大部分は、30分後にすでに小腸内に移行し、それも1時間後には、減少傾向を示した。しかし血清中濃度のピーク時間を過ぎた2時間後には、小腸内放射能は再びやや増加し、とくにラットでは8時間後でも、10% 余りの放射能が残存していた。このことは後述の胆汁中排泄 (Table 5) と関連があることを示唆するものと考えられた。また、消化管からの AB-206 の吸収量を推計させるデータの1つとして、Table 5 に示した胆汁中排泄の結果がある。それによれば、ラットでは、胆汁および尿中への排泄量の総計は、投与後 48 時間までに投与放射能量に対し約 70% であった。すなわち、投与量の 70% 相当量の AB-206 が吸収されたこととなり、本薬剤の消化管吸収の良好さを示唆している。

以上の事実より AB-206 は消化管より速やかに吸収され、比較的高い血中濃度を与えるが、その体内からの排泄も、比較的速やかな薬剤であろうと推測された。

2. 分布

(1) マウスにおける分布

^{14}C -AB-206 50 mg/kg をマウスに1回経口投与した後の組織内放射能濃度の AB-206 換算値を Table 2 に示

Fig. 2 Distribution of ^{14}C in gastrointestinal tracts of rats and mice after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206

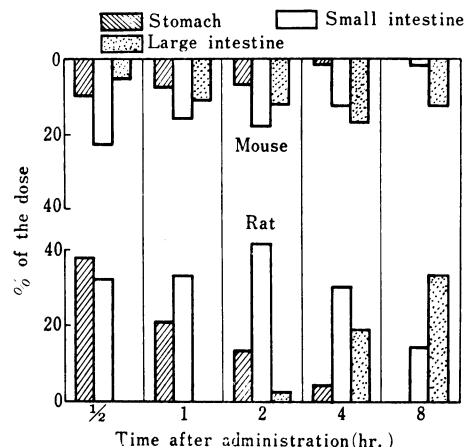


Table 2 Tissue distribution of ^{14}C after single oral dose of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to male ICR mice

Tissue	Tissue level of ^{14}C ($\mu\text{g/g}^a$)					
	Time after administration(hr.)					
	1/2	1	2	4	8	24
Liver	78.0	51.2	28.0	13.0	2.8	0.6
Kidney	49.8	35.8	20.8	7.9	2.3	0.4
Brain	16.6	11.9	6.2	2.1	0.3	0.2
Lung	36.9	28.7	14.4	4.5	1.0	0.2
Spleen	23.7	18.5	10.2	3.1	0.6	0.3
Adrenal gland	45.3	17.3	15.5	5.0	0.8	0.1
Testis	18.9	16.3	8.2	3.2	0.7	0.2
Eye	34.2	19.2	9.7	3.8	0.8	0.1
Skin	14.5	17.6	9.7	2.9	2.0	1.1
Muscle	26.1	24.7	10.4	4.0	0.7	0.2

a : Values given in terms of AB-206 equivalents and means of 10 mice

した。放射能濃度は血清中濃度と同じく、すべての組織で 30 分後に極大となり、その後、比較的速やかに減少し 8 時間後には数 $\mu\text{g/g}$ 、24 時間後には $1 \mu\text{g/g}$ 以下に低下した。ピーク時間において、血清中濃度 ($42 \mu\text{g/ml}$) より高い濃度を示した臓器は、肝臓、腎臓および副腎であり、それぞれ 78, 50 および $45 \mu\text{g/g}$ であった。肺臓、眼球への移行は血清中濃度に比較し、やや少なかった。他の組織への移行はさらに少量であって、脳濃度は $17 \mu\text{g/g}$ と最も低かった。

以上のように、 ^{14}C -AB-206 に由来する放射能はマウスの体内に広く分布するが、血清中濃度に伴って低下し、とくに高い残留性を示す組織は見られなかった。

(2) ラットにおける分布

Table 3 にマウスの場合と同様の実験によって得られた結果を示した。各組織中の最高放射能濃度は、すべて 1 時間後に示された。極大に達した後は漸減し、24 時間後には、甲状腺の $1.8 \mu\text{g/g}$ を除いては、すべて $1 \mu\text{g/g}$ 以下となり、とくに高い残留性を示す組織はなかった。しかし、その減少速度は血清中濃度の場合と同様に、ラットではマウスに比べて遅い傾向を示した。ピーク時間において、血清中濃度 ($45 \mu\text{g/ml}$) より高い濃度を示した組織は、ラットでは腎臓 (約 $60 \mu\text{g/g}$) のみであった。肝臓中濃度は $40 \mu\text{g/g}$ であり、血清中濃度とはほぼ同レベルに推移した。他の組織では、甲状腺、皮膚、副腎、心臓、肺臓の順に高い濃度を示した。また、ラットの場合もマウスと同様に、脳、脊髄への放射能の移行はもっとも少なかった。これらピーク時間における各組織中濃度は、全体的にマウスの場合より低かった。

Table 3 Tissue distribution of ^{14}C after single oral dose of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to male Sprague-Dawley rats

Tissue	Tissue level of ^{14}C ($\mu\text{g/g}^a$)					
	Time after administration(hr.)					
	1/2	1	2	4	8	24
Liver	32.8	40.1	30.1	17.0	4.1	0.4
Kidney	46.7	58.6	34.7	21.3	5.8	0.3
Brain	4.6	10.5	5.2	3.5	0.72	0.2
Spinal cord	4.7	9.4	5.7	3.5	1.0	0.3
Lung	11.4	19.6	13.3	10.4	2.5	0.3
Heart	12.9	22.7	15.6	8.2	2.0	0.3
Spleen	9.7	16.9	11.1	7.0	1.6	0.2
Bone marrow	9.6	16.8	12.5	8.8	2.6	0.3
Adrenal gland	12.3	24.7	18.1	9.1	2.2	0.8
Thyroid gland	14.7	31.8	19.9	13.4	7.8	1.8
Testis	6.4	12.8	9.0	5.8	1.3	0.2
Thymus	9.4	15.4	10.6	6.4	1.4	0.2
Eye	5.7	10.6	— ^b	5.7	1.8	0.3
Skin	9.4	27.7	9.7	5.6	1.4	0.3
Muscle	9.5	17.2	9.3	7.0	1.6	0.3

a : Values given in terms of AB-206 equivalents and as means of 3 rats

b : Not measured

3. 排泄

(1) 尿および糞中排泄

各種動物に ^{14}C -AB-206 50 mg/kg を 1 回経口投与した後の尿・糞中への放射能の累積排泄率を Table 4 に示した。Table 4 から明らかなように、排泄パターンを種別に比較してみると、マウス-サル型とラット-イヌ型に大別することができた。マウスとサルにおいては、放射能の尿中への排泄率が糞中への排泄率に比較して 2 倍強高く、また排泄速度が速やかであった。すなわち、尿中排泄率は 8 時間までにマウスでは 56%、サルでは 51% となり、72 時間までにはそれぞれ 60% 強に達した。それに対し、糞中排泄率は 72 時間までに両種とも 25% に過ぎなかった。一方、ラットとイヌでは尿中排泄率は低く 24 時間までに前者で 29%、後者で 20% であったのに対し、糞中排泄率は高く 72 時間までに両種とも約 70% に達した。ラットの場合、高い糞中排泄率は AB-206 の消化管吸収率の良好さを考慮すれば、胆汁中に代謝物質として排泄された ^{14}C がそのまま糞に移行した結果であろうと推定された。

これらの結果と血清中濃度推移の間には、深い関連があると推定された。すなわち、マウスとサルの血清中 ^{14}C の半減期はラットとイヌの場合より短い、それは吸収

Table 4 Cumulative excretion of ^{14}C in urine and feces after single oral dose of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to mice, rats, Beagle dogs and Rhesus monkeys

Species	Excreta	Cumulative excretion of ^{14}C (% of dose)				
		Time after administration (hr.)				
		4	8	24	48	72
Mouse ^a	Urine	47.2	55.7	61.0	64.9	66.5
	Feces	0	0.4	10.2	23.0	25.3
	Total	47.2	56.1	71.2	87.9	91.8
Rat ^b	Urine	— ^d	23.5±1.8	29.2±2.3	29.7±2.4	29.7±2.4
	Feces	—	1.2±1.1	54.1±6.7	66.9±1.8	67.2±1.7
	Total	—	24.7	83.3	96.6	96.9
Dog-1	Urine	—	0	20.7	21.3	21.3
	Feces	—	0	33.3	59.2	68.3
	Total	—	0	54.0	80.5	89.6
Dog-2	Urine	—	11.0	19.9	20.5	20.5
	Feces	—	0	51.5	63.2	70.9
	Total	—	11.0	71.4	83.7	91.4
Monkey ^c	Urine	34.5±3.6	50.6±5.9	60.1±6.6	61.7±6.6	62.2±6.6
	Feces	0	1.4±1.2	10.9±5.7	20.1±4.8	25.1±4.5
	Total	34.5	52.0	71.0	81.8	87.3

a : Mean of 20 mice

b : Mean of 5 rats±S. E.

c : Mean of 3 monkeys±S. E.

d : Not measured

速度と関係すると同時に尿中排泄が前者において多量でかつ速やかであることに起因していると考えられた。

(2) 胆汁中排泄および腸肝循環

前述のように、ラットとイヌでは、胆汁中への投与と放射能の排泄率が高いと予測されたので、総胆管カニューレーションを施したラットを用いて胆汁中排泄率を測定した。その結果は Table 5 に示したように、ラットでは胆汁中排泄率が高く6時間までに31%、24時間までに40%に達することが明らかとなった。

さらに、これら胆汁中に排泄された放射能が腸管から再吸収されるか否かをしらべるために、二重カニューレーションを施したラット⁴⁾を用いて行なった実験結果を Table 6 に示した。総胆管カニューレーションを行なったラットに ^{14}C -AB-206 を 50 mg/kg 投与後6時間までに得られた胆汁中排泄率は平均28%であったが、その胆汁を二重カニューレーションを施したラットの十二指腸内に連続的に注入し、それらのラットの胆汁、尿、糞を採取し放射能を測定したところ、それぞれ平均1.7、1.4、22.9%となった。この事実は、胆汁中に排泄された放射能のうち、10%程度しか腸管から再吸収されていないことを意味している。したがって、ラットでは、腸肝循環はほとんど行なわれず、その原因として、胆汁中へ排泄された放射能は ^{14}C -AB-206 そのものに由来するの

Table 5 Cumulative excretion of ^{14}C in bile and urine after single oral dose of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to SD-rats

Excreta	Time (hr.)	Cumulative excretion of ^{14}C (% of dose ^a)
Bile	2	12.9±2.5
	4	24.4±1.4
	6	30.6±0.7
	24	40.4±3.4
	48	43.2±5.2
Urine	0~48	27.2±1.4
Total	0~48	70.4

a : Mean of 3 rats±S. E.

ではなく、大部分は腸管吸収されにくい代謝物質の ^{14}C に由来するものであろうことが推測された。

これらの事実は、前述のラットでの尿糞中排泄率の結果をうらづけるものであり、胆汁中排泄が糞中排泄率に大きく寄与していることを示唆している。したがって、ラットでは AB-206 は、体内に吸収され代謝された後、代謝物質の多くは、肝臓から胆汁中へと排泄されると考えられた。

III. 総括

^{14}C -AB-206 を 50 mg/kg マウス、ラット、イヌおよ

Table 6 Entero-hepatic circulation of ^{14}C in doubly cannulated SD-rats

Amount of ^{14}C injected (% of dose ^a)	Excretion of ^{14}C (% of dose ^b)		
	Excreta		
	Bile ^c	Urine ^c	Feces ^d
26.8	0.5	1.7	23.5
25.2	2.1	1.1	20.0
32.9	2.6	1.5	25.1
Mean \pm S. E.	1.7 \pm 0.6	1.4 \pm 0.2	22.9 \pm 1.5

a : Values expressed as recovery % of ^{14}C in bile collected during 0 to 6 hr. period after single oral dose of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to single cannulated SD-rats

b : The dose, 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206, given to the single cannulated rats

c : Collected during 0 to 24 hr. period

d : Collected during 0 to 48 hr. period

びサルに1回経口投与し、その放射能の体内動態を追跡して次の結果を得た。

1. 吸収は速やかで、良好であった。
2. 血清中放射能濃度はマウスで30分後、他の種で1時間後に最高に達した。最高値はサル 69 μg Eq/ml, ラット 45 μg Eq/ml, マウス 42 μg Eq/ml, イヌ 41 μg Eq/ml であった。
3. 血清中放射能濃度の半減期はマウスとサルで約1.3時間、ラットとイヌで約2.2時間であった。
4. 摘出したすべての組織の放射能濃度は血清中濃度

と同時間に最高に達し、以後は漸減した。24時間後には1 μg Eq/g 以下となった。マウス、ラットとも放射能移行の著明なのは腎臓、肝臓であり、一方、脳と脊髄への移行はもっとも少なかった。

5. 尿、糞中への放射能の排泄パターンには2種類あり、マウスとサルでは尿中排泄率(24時間までに60%)の方が比較的高く、ラットとイヌでは逆に糞中排泄率(72時間までに70%)の方が高かった。

6. ラットでの胆汁中放射能排泄率は高く24時間までに40%に達した。しかし、胆汁中放射能の腸肝循環は微量認められるに過ぎなかった。

(本研究期間は昭和48年3月から52年11月である。)

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, 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, 甲田 彰, 山森 芬, 小松敏昭, 吉武 彬: 諸動物における新化学療法剤 AB-206 の吸収・分布・排泄 (Bioassay による検討). *Chemotherapy* 26 (Suppl. 4) : 71~76, 1978
- 3) YOSHITAKE, A. ; Y. MAKARI & M. ENDO : Synthesis of carbon-14 labelled antimicrobial agents. I. Synthesis of 1,4-dihydro-1-methoxy-6,7-methylenedioxy-4-oxoquinoline-3-carboxylic-3- ^{14}C acid (AB-206-3- ^{14}C). *J. Labelled Compds.* 10 : 589~598, 1974
- 4) ERIKSSON, H. : Absorption and enterohepatic circulation of neutral steroids in the rat. *Eur. J. Biochem.* 19 : 416~423, 1971

ABSORPTION, DISTRIBUTION AND EXCRETION OF ^{14}C -AB-206 IN ANIMALS

AKIRA YOSHITAKE, KAZUO KAWAHARA and FUMIYAKI SHONO
Institute for Biological Science, Sumitomo Chemical Co., Ltd.

AKIO IZAWA, KAORU YAMAMORI and TOSHIYAKI KOMATSU
Research and Development Center, Pharmaceuticals Division,
Sumitomo Chemical Co., Ltd.

Absorption, distribution and excretion of 5,8-dihydro-5-methoxy-2H-8-oxo-1,3-dioxolo [4,5-g] quinoline-7-carboxylic acid (AB-206), a new synthetic antimicrobial agent, were examined in mice, rats, dogs and monkeys after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -labelled AB-206.

In rats, dogs and monkeys, the peak serum levels of ^{14}C existed at 1 hr. after administration were 45, 41 and 69 μg equivalents of AB-206 per ml, respectively, while in mice the peak level existed at 0.5 hr. was 42 μg Eq/ml. The half-life of the serum levels was about 1.3 hr. in mice and monkeys, and about 2.2 hr. in rats and dogs.

In tissues examined, the maximum levels of ^{14}C were found at 0.5 hr. in mice and at 1 hr. in rats. The levels rapidly declined and were negligible by 24 hr. In both species, liver and kidney showed relatively high concentrations of ^{14}C while brain showed much low concentrations.

The excretion of ^{14}C in rats and dogs showed a similar pattern. In both species the fecal ^{14}C (60~70% of the dose during 48 hr. period) was higher than the urinary ^{14}C (20~30%). In contrast, mice and monkeys excreted more ^{14}C in urine (60~65%) than in feces (20~25%). In rats, the biliary excretion of ^{14}C was 40% of the dose within 24 hr. period, but the enterohepatic circulation of ^{14}C was scarcely observed.