

¹⁴C 標識 AB-206 の各種実験動物における代謝

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・小松敏昭・山森 芬

住友化学工業株式会社医薬事業部研究開発センター

AB-206 (Fig.1) は広い抗菌スペクトルを有する新しい経口化学療法剤である¹⁾。著者らは前報^{2,3)}において、バイオアッセイおよび放射能の測定によって追跡したAB-206の各種実験動物における吸収、分布、排泄について報告した。しかし、両測定法による血中、組織内濃度および尿、糞中排泄率等の結果には相当な差違が見られた。これらの結果は抗菌力を持つAB-206が動物体内で代謝されて、抗菌力のない代謝物質に変換されていることを示唆しているものと推察された。したがって、AB-206の代謝を明確にすることはとくに重要な意味を有するものと考え、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代謝について詳細な検討を行なったので、その結果について報告する。なお、本報においては、AB-206の代謝経路、AB-206および代謝物質の生体内動態および種差について論じ、代謝物質の単離および構造決定についての詳細は、別の機会に報告する。

I. 実験材料および方法

1. 標識薬物および標準物質

¹⁴C-AB-206 は、既報⁴⁾の方法に従って7位の炭素を標識したものをを用いた。比放射能は2.00 mCi/mmoleであり、放射化学的および化学的純度は、ともに99%以上であることを薄層クロマトグラフィー (TLC) によ

て確認した。

代謝物質の同定のために用いた標準物質⁵⁾は AB-206, M-1, M-2 および M-3 であった (構造式を Fig.1 に示す)。

¹⁴C-M-1 は、別報⁵⁾の方法にしたがって、7位を標識したものをを用いた。¹⁴C-M-1 の比放射能は1.68 mCi/mmole であり、TLCにより放射化学的、化学的純度が99%以上であることが確認された。

2. 実験動物

各種とも雄性動物を用いた。ICR系マウス：5週齢、Sprague-Dawley系ラット：5～6週齢、ビーグル犬：約12kg、アカゲザル：約3kg (インド産)。

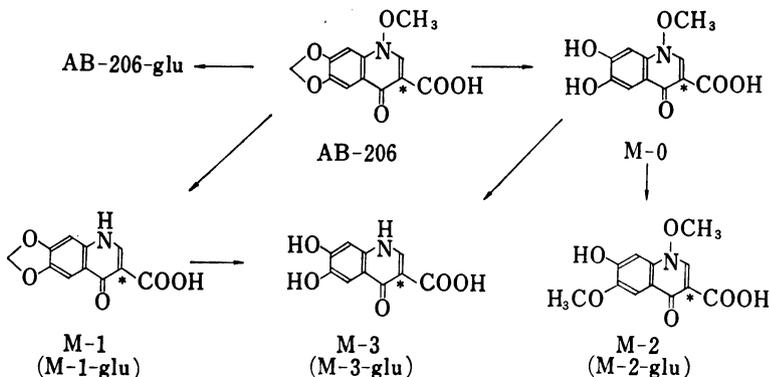
3. 投与量および投与方法⁶⁾

各種動物とも、50 mg/kg を1回経口投与した。動物はすべて投与前12時間、投与後4時間絶食させたが、水は自由摂取させた。¹⁴C-AB-206 および ¹⁴C-M-1 は、0.5% カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、胃内に強制的に投与した。

4. 生体試料の採取⁷⁾

血清はエーテル麻酔下、マウスでは頸動脈、ラットでは腹部大動脈から採取した血液を、イヌとサルではそれぞれ前腕部、下腿部の伏在静脈から採取した血液を凝固後、3,000 rpm で15分間遠心沈殿した上清を試料とし

Fig.1 Proposed metabolic pathway of AB-206 in animals

glu : glucuronide * : ¹⁴C-labelling position

た。

ラットの肝および腎臓はエーテル麻酔下採血致死させたラットから採取した。

尿および糞は、専用の代謝ケージを用い個々に採取した。サルの場合は固定イスに固定して採取した。

胆汁は、総胆管カニューレションを施したラットより採取した。

採取したすべての生体試料はただちに凍結して、暗所に保存した。

5. 代謝物質の分離

AB-206 は希薄溶液の状態では、光分解を受け、容易に M-1 に化学変換されることが知られている⁹⁾。したがって、生体試料の取り扱いや、代謝物質の分離、定量分析等は可能なかぎりの遮光条件下で実施した。

(1) 排泄物中の代謝物質の分離

採取時間ごとにブールした尿および胆汁については、適当量の試料を取り、倍量の蒸留水を加え希釈した後、塩酸または炭酸ナトリウム水溶液にて pH 5~6 および pH 8~9 に調整し、両 pH において、それぞれ2倍量の酢酸エチルエステルで3回抽出した。抽出液を合し、水洗後芒硝によって乾燥した。糞は4倍量の0.5 M リン酸緩衝液(pH 7.4)を加えてホモジナイズした。ホモジネートについて尿と同様の抽出処理を行なった。抽出後、それぞれの抽出液と水溶液の放射能を測定して抽出率を算出した。尿および胆汁の水溶液は、減圧下で適当量まで濃縮した後、Amberlite XAD-2 (Rohm & Haas 社)のカラムクロマトグラフィーによって精製した。水により展開して無機塩類を除去した後、メタノールより溶出した溶出液を減圧によって濃縮乾固した。残渣を2.0 M 酢酸緩衝液 (pH 5.0) に溶解し、十分量のβ-グルクロニダーゼ (Type B-10, Bovine Liver, Sigma Chemicals 社)を加えて、37°C で8時間インキュベートした。次いで、2倍量の酢酸エチルエステルによって3回抽出した。抽出液は水洗・乾燥した。糞の水溶液については、不溶物質を遠心沈殿によって除去した後、前述と同様にβ-グルクロニダーゼ処理を行なった。それぞれのβ-グルクロニダーゼ処理後の抽出率を測定によって算出した。以上のようにして得たすべての抽出液は減圧下に濃縮し、TLC および高速液体クロマトグラフィー (HLC) 分析用試料とした。

(2) 血清中代謝物質の分離

適当量の血清を2倍量の蒸留水で希釈した後、前述と同様の方法で抽出した。水溶液については、不溶物質を遠心沈殿によって除去した後、同様の方法にしたがいβ-グルクロニダーゼ処理を行なった。それぞれの場合の抽出率を放射能測定によって算出後、抽出液を濃縮し

て、TLC および HLC 分析用試料を得た。

(3) 肝臓および腎臓中代謝物質の分離

ラットの肝および腎臓については、糞の場合と同様の処理を行なった。それぞれの抽出液を減圧濃縮して得た残渣には、多量の生体脂質成分が混入していたので、それらを除去するために、残渣をアセトニトリルに溶解し、これに *n*-ヘキサンを加え十分振とう後に分液した。アセトニトリル溶液を減圧濃縮して、TLC および HLC 分析用試料とした。

6. 放射能測定⁹⁾

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)を用いて行なった。シンチレーターはトルエン系 (*p*-terphenyl 2.5 g, POPOP 50 mg, トルエン 1*l* またはトルエン/エタノール=2/3 v/v 1*l*)を用いた。尿および胆汁試料、抽出液については、そのままシンチレーターに溶解させ測定したが、糞、臓器のホモジネートおよび血清試料については、NCS (Amersham-Seale 社)に溶解後シンチレーターを加えて測定した。

7. TLC 分析

TLC にはシリカゲルガラスプレート (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck 社)を用いた。展開溶媒は S-1: クロロホルム/メタノール/水 (7/3/1), S-2: エタノール/水 (7/3), S-3: クロロホルム/メタノール/酢酸 (20/2/1) および S-4: エタノール/28% アンモニア水溶液/水 (20/1/3)の4種類を用いた。これらの展開溶媒による標準物質の *R_f* 値を Table 1 に示した。TLC の展開は、暗所で行なった。標準物質のプレート上の位置は紫外線 254 および 360 nm によって検出した。代謝物質の放射能部位の検出および定量は TLC ラジオスカナー (202 B 型, Aloka 社)によって行なった。定量は各ピークの面積積算法によって行ない、さらに、各放射能スポットを TLC よりかき取り、シンチレーターに溶解し、液体シンチレーションスペクトロメーター測定によって確認した。

8. HLC 分析

代謝物質の同定のため、TLC 分析とともに HLC による分析を行なった。装置は島津製 830 型を用い、カラム充填剤に強塩基性陰イオン交換樹脂 SAX (Du Pont 社)を用いた。0.01 M クエン酸-0.03 M 硝酸ナトリウム水溶液を 1 N 水酸化ナトリウム水溶液で pH 5.0 に調整した溶液を展開溶媒とした。カラム温度は 40°C として、溶出圧力は 70 kg/cm² とし、検出は紫外線吸収 (254 および 330 nm) によって行なった。試料は前述の抽出試料を 1% 炭酸ナトリウム水溶液に溶解した溶液を HLC 注入用試料とした。本測定条件下における標準

Table 1 R_f -values of AB-206 and metabolites on silica gel TLC

Solvent system	R_f value			
	AB-206	M-1	M-2	M-3
S-1	0.67	0.37	0.33	0.11
S-2	0.23	0.76	0.63	0.10
S-3	0.40	0.21	0.34	0.18
S-4	0.28	0.72	0.40	0.14

物質の保持時間は、AB-206 : 3.8分, M-1 : 9.3分, M-2 : 5.9分および M-3 : 25分であった。

II. 結果と考察

1. 尿中代謝物質

尿中には未変化体の AB-206 の他に、5種類の代謝物質 (M-1, M-2, M-3 およびグルクロン酸抱合体として AB-206 と M-1) が検出され、同定された⁵⁾。各種動物におけるこれらの物質の尿中排泄率(投与量に対する%)を Table 2 に示した。

ラットでは、未変化体の AB-206 が投与後 24 時間までに投与量の 2% 排泄された。主代謝物質は AB-206 のグルクロン酸抱合体で 17% (尿中放射能の 60% に相当する)に達した。M-1 は 3% 存在していたが、そのグルクロン酸抱合体は 1% であった。他の代謝物質として M-2 および M-3 が微量検出されたが、M-3 が尿中に検出されたのはラットだけであった。

イヌでは AB-206 が 3% 排泄されたが、本種での特徴は AB-206 のグルクロン酸抱合体が 7% (尿中放射能の約 30%) と比較的少ないのに対して、M-1 のグルクロン酸抱合体が 5% (尿中放射能の約 25%) と、他の動物に比較して多量に排泄されたことである。M-1 は 2% 排泄されたが、M-2 と M-3 は検出されなかった。

マウスでは尿中への放射能の排泄率がラットおよびイヌに比べて 2~3 倍高いこと³⁾ から予測されたことであるが、AB-206 の排泄率が、他の動物に比べて最も高く、約 7% であった。M-1 が 7%、M-2 が 2% 排泄されているが、主代謝物質は AB-206 のグルクロン酸抱合体であり、その排泄率は 32% に達した。

サルにおいては、放射能の尿、糞中への排泄率はマウス型で尿中排泄率が高いが³⁾、検出された代謝物質の種類は少なくイヌ型であった。AB-206 が 5%、M-1 が 4% とマウスに次いで多かったが、M-2 と M-3 は検出されなかった。AB-206 のグルクロン酸抱合体は、サルでも主代謝物質で 33% の排泄率であった。

以上のように、動物における未変化体 AB-206 の尿中排泄率は 2~7% と低い値を示し、主としてグルクロン酸抱合体として排泄されることが明らかになった。一方、

Table 3 に 0~24 時間尿中の未変化体 AB-206 の平均濃度を示しているが、表から明らかのように、ラット、マウス、イヌ、サルの順に濃度は高くなっており、その値は 20~80 $\mu\text{g/ml}$ であった。この濃度は、AB-206 の抗菌力¹⁾ の強さを考慮すれば十分な効力を発現する濃度であると考えられる。また、バイオアッセイによる尿中排泄率²⁾ と上述の AB-206 の排泄率は、後者の方がやや低い値を示しているが、概して一致しており、代謝物質には、ほとんど抗菌活性が見られないこと¹⁾ を勘案すれば、両者の結果は矛盾なく説明される。

2. 糞中および胆汁中代謝物質

糞中には代謝物質として M-1, M-2 およびこれらのグルクロン酸抱合体が検出された⁵⁾。これらの排泄率を Table 2 に示した。

ラットでは未変化の AB-206 は検出されず、主代謝物質として M-1 と M-2 が大量に存在していた。とくに M-1 として 22% 回収され、これは糞中放射能の約 40% に相当する。また、尿中にはほとんど見られなかった M-2 も多く、12% に達した。グルクロン酸抱合体は尿とは対照的に少なく、M-1, M-2 とともに数%に過ぎなかった。

マウスではラットと同様に AB-206 は検出されず、M-1, M-2 およびこれらのグルクロン酸抱合体が検出された。しかし、その排泄率はラットに比べてかなり低かった。

サルにおいては、ラットやマウスと様相が異なり、AB-206 が 1.8% とわずかながら排泄されていたが、M-2 は非抱合体としても抱合体としても検出されなかった。サルにおいても主代謝体は M-1 であり非抱合体および抱合体として排泄されていた。

以上のように、糞中の主代謝体は M-1 と M-2 であったが、Table 2 にラットの胆汁中代謝物質の測定結果を示したように、ラットの胆汁中には M-1 は抱合体としても非抱合体としても存在せず、M-2 および M-3 のグルクロン酸抱合体が主代謝物質として存在していた。したがって、少なくともラットでは糞中の M-1 は主として、腸管から吸収されなかった AB-206 が腸内細菌等で分解されて生じたものであり、一方、M-2 の方は胆汁からグルクロン酸抱合体として排泄されたものが、腸内のグルクロン酸抱合体によって、加水分解されて生じたものであらうと考えられる。ところが、胆汁中には M-3 のグルクロン酸抱合体が 7% 存在したのにもかかわらず、糞中には M-3 は検出されなかった。この事実を説明する根拠はないが、腸内でさらに分解され、これまでに検出同定されていない物質に変換されているものと推測している。ラットの胆汁中には尿中を上まわる AB-206 の排泄が見られたといえどもたかだか約 5% に過ぎなかった。前報²⁾ において、¹⁴C の腸肝循環が数%にとどまっていたこと

Table 2 Composition of radioactivity in excreta of rats, dogs, mice and monkeys after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206

Species	Excreta	Percentage of the dosed radioactivity as:								Others ^{d)}	Total radio-activity
		Unconjugates				Glucuronides					
		AB-206	M-1	M-2	M-3	AB-206	M-1	M-2	M-3		
Rat	Urine ^{a)}	1.9	2.9	0.1	0.1	17.4	1.2	0	0	5.6	29.2
	Feces ^{a)}	0	21.8	11.7	0	0	2.0	3.1	0	15.5	54.1
	Bile ^{b)}	5.4	0	0	0	0	0	12.0	7.2	10.1	34.7
Dog	Urine ^{a)}	3.4	2.0	0	0	6.6	5.1	0	0	3.6	20.7
Mouse	Urine ^{a)}	6.7	6.6	1.7	0	31.6	2.0	0	0	12.4	61.0
	Feces ^{c)}	0	6.2	4.2	0	0	1.4	3.3	0	7.9	23.0
Monkey	Urine ^{a)}	5.2	4.1	0	0	32.9	1.5	0	0	16.3	60.1
	Feces ^{a)}	1.8	2.8	0	0	0.1	6.0	0	0	11.4	22.1

a) : Pooled sample during 0 to 24 hr. period after administration.

b) : Pooled sample during 0 to 20 hr. period after administration.

c) : Pooled sample during 0 to 48 hr. period after administration.

d) : Unclassified metabolites.

Table 3 Urinary levels of ^{14}C -AB-206 after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to rats, dogs, mice and monkeys

Species	Urine (ml)	Level ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Rat ^{a)}	8.1	21.1
Dog ^{b)}	430	44.2
Mouse ^{c)}	3.2	22.3
Monkey ^{d)}	110	75.6

a) : Mean of 5 rats. b) : Mean of 2 dogs.

c) : Mean of 10 mice. d) : Mean of 3 monkeys.

を報告したが、胆汁中への AB-206 の排泄量の低いこと、および代謝物質 (M-2, M-3) の腸管吸収率の低いことを考慮すれば、この事実は矛盾なく説明される。

3. 血清中代謝物質

血清中の AB-206 および代謝物質の濃度推移を Table 4 に示した。血清中の AB-206 の濃度は高く、ピーク時間において、28~45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、サル、マウス、イヌ、ラットの順に高かった。しかし、サルとマウスではラットとイヌに比較し AB-206 の減少する速度が速く、4~6 時間で 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下となった。血清中濃度のピーク時で AB-206 の占める割合は大きく、65~90% であった。主代謝物質は、各動物とも AB-206 のグルコナイドであり、血清中放射能濃度の 10~30% を占めていた。他の代謝物質は、ラット、イヌおよびマウスでは検出されなかったが、サルにのみ微量の M-1 が検出された。

血清中の AB-206 濃度が高いにもかかわらず、尿中へ

の排泄率が低いこと、逆に血清中の AB-206 のグルコナイド濃度が低く、また M-1 が検出されないにもかかわらず、尿中には多量の AB-206 のグルコナイドや相当量の M-1 が排泄されているという事実から、AB-206 は腎尿細管で再吸収され尿中への排泄がおさえられるのに対して、グルコナイドや M-1 はほとんど再吸収されずに尿中へ排泄されるのであろうと推測された。このような推測は、堀らによって行なわれた AB-206 の腎内挙動に関する研究⁶⁾ によって裏付けられた。

4. 肝および腎臓中代謝物質

肝および腎臓中の AB-206 と代謝物質の経時的な濃度推移をラットを用いて調べた結果を、Table 5 および Table 6 に示した。

肝臓中には AB-206 が放射能濃度の 40% 前後、すなわち、ピーク時で 17 $\mu\text{g}/\text{g}$ の濃度で存在していた。代謝物質としては、ラットの尿や胆汁に排泄されていたほとんどすべての代謝物質が検出された (M-3 は検出感度以下)。特徴的なことは、いずれの代謝物質も非抱合体の割合がグルクロン酸抱合体より大きいことであったが、このことは抱合体の排泄速度が優っていることに起因するものと考えられる。

腎臓中には AB-206 と M-1 およびこれらのグルコナイドが検出された。いずれも尿中排泄されている物質であるが、AB-206 の濃度が比較的高く、AB-206 の尿細管再吸収率の高さを推測させるものであった。M-2 および M-3 は検出感度以下で検出されなかった。

5. 代謝経路

Table 4 Composition of radioactivity in sera of rats, dogs, mice and monkeys after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206

Animal	Time after dose (hr.)	Serum level ($\mu\text{g}/\text{ml}$)					
		Unconjugates		Glucuronides		Others ^{a)}	Total ^{b)}
		AB-206	M-1	AB-206	M-1		
Rat ^{c)}	0.5	18.0	0	10.2	0	2.1	30.3
	1	28.4	0	13.4	0	2.4	44.5
	2	20.1	0	9.0	0	2.1	31.2
	4	11.8	0	4.2	0	3.0	19.6
Dog	0.5	30.3	0	8.6	0	0.5	39.4
	1	35.1	0	10.8	0	1.6	47.5
	2	26.8	0	7.6	0	1.6	36.0
	4	11.4	0	5.1	0	1.3	17.8
Mouse ^{d)}	0.5	37.2	0	4.6	0	0.3	42.1
	1	28.4	0	4.2	0	0.6	33.2
	2	14.5	0	2.6	0	0.3	17.4
	4	3.8	0	2.1	0	0.4	6.3
Monkey ^{e)}	1	45.4	1.8	18.2	0	3.4	68.8
	2	24.8	3.9	12.8	0	1.0	42.5
	4	6.1	1.0	4.4	0	0.2	11.7
	6	2.8	0.7	2.0	0	0.6	6.1

a) : Unidentified metabolites. M-2 and M-3 were not detected in both conjugated and unconjugated metabolites.

b) : Values given in terms of AB-206 equivalents.

c) : Mean of 3 rats.

d) : Mean of 10 mice.

e) : Mean of 3 monkeys.

^{14}C -AB-206 を4種の動物に経口投与して得られた生体試料中の代謝物質を検索した結果、上述のような事実が明らかとなったが、これらの事実から、AB-206の代謝経路はFig.1に示すようなものであると考えられる。すなわち、AB-206は3種類の代謝反応によって代謝される。まず、AB-206はグルクロン酸抱合されグルクロン酸抱合になるが、種によっては、その量は投与量の30%以上に達する。グルクロン酸抱合はM-1、M-2およびM-3に対しても行なわれる。第2の経路はN-メトキシ基の還元的脱離⁷⁾によるM-1への変換である。この反応はAB-206がenaminone構造をもつことから予測されるように、カルボニル酸素の電子の励起をうながす因子と水素イオンまたはラジカル源が存在すれば化学的にも酵素的にも容易に進行し得るものである。第3の経路はメチレンジオキシ基の酸化開裂によるカテコール型代謝物質M-0への変換と、それに続くS-アデノシルメチオニンによるメチル化によって生成されると考えられるM-2への変換を含むものである。この経路は

DICARLO ら^{8,9)}および藤原ら¹⁰⁾によって報告されているOxolinic acidの場合と類似している。M-0に関しては、その存在が確認されていないが、カテコール型代謝物質としてM-3が検出されていることから、AB-206のメチレンジオキシ基も開裂を受けM-0に変換されていると考えてはば誤りはないと推定される。

6. ^{14}C -M-1の吸収、分布および排泄

主代謝物質であるM-1について、 ^{14}C 標識体をラットに経口投与(50mg/kg)して、体内挙動を調べた。Table 7に血中および肝・腎臓中の ^{14}C 濃度変化を示した。血中濃度は非常に低く1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であった。肝・腎臓への分布も微量で24時間後には1 $\mu\text{g}/\text{g}$ 程度であった。尿、糞中排泄率をTable 8に示したが、0~48時間において、 ^{14}C は尿中へわずかに投与量の3%しか排泄されず、その80%は糞中に排泄された。また、Table 9に投与 ^{14}C の48時間後の回収率を示したように、体内残存率は極めて低く、消化管中に10%残存していたほかは0.1%以下であった。以上の事実より、 ^{14}C -M-1

Table 5 Concentrations of ^{14}C -AB-206 and metabolites in liver after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to rats

Metabolite		Concentration ($\mu\text{g/g}$) ^{a)}		
		Time after administration (hr.)		
		1	2	4
Unconjugates	AB-206	16.6	10.4	8.0
	M-1	12.4	8.1	4.7
	M-2	3.9	1.0	0
	M-3	0	0	0
Glucuronides	AB-206	0.6	1.1	0.3
	M-1	3.5	4.1	2.1
	M-2	0.8	1.4	0.5
	M-3	0	0	0
Others ^{b)}		2.3	4.0	1.4
Total ^{14}C level		40.1	30.1	17.0

a) : Mean of 3 rats.

b) : Unclassified metabolites.

Table 6 Concentrations of ^{14}C -AB-206 and metabolites in kidney after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -AB-206 to rats

Metabolite		Concentration ($\mu\text{g/g}$) ^{a)}		
		Time after administration (hr.)		
		1	2	4
Unconjugates	AB-206	28.8	15.2	8.8
	M-1	4.8	2.3	2.0
	M-2	0	0	0
	M-3	0	0	0
Glucuronides	AB-206	12.1	8.2	9.6
	M-1	6.8	4.5	6.0
	M-2	0	0	0
	M-3	0	0	0
Others ^{b)}		6.1	4.5	5.6
Total ^{14}C level		58.6	34.7	21.3

a) : Mean of 3 rats.

b) : Unclassified metabolites.

Table 7 Tissue distribution of ^{14}C after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -M-1 to male SD-rats

Tissue	Concentration ($\mu\text{g/ml}$ or g) ^{a)}					
	Time after administration (hr.)					
	1	2	4	6	24	48
Blood	0.59 ± 0.00	0.48 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.64 ± 0.02	0.42 ± 0.03	0.24 ± 0.01
Serum	— ^{b)}	—	—	—	0.24 ± 0.02	0.21 ± 0.01
Liver	—	—	—	—	0.98 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Kidney	—	—	—	—	1.19 ± 0.19	1.04 ± 0.02

a) : Mean of 3 rats ± S.E. Values given in terms of M-1 equivalents.

b) : Not measured.

Table 8 Excretion of ^{14}C in urine and feces after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -M-1 to male SD-rats

Hour	% of the dosed ^{14}C ^{a)}		
	Urine	Feces	Total
0~8	0.63 ± 0.03 (45.4 ± 3.7) ^{b)}	0	0.63 ± 0.0
8~24	1.57 ± 0.15 (26.2 ± 1.5)	71.7 ± 6.3	73.3 ± 6.5
24~48	0.53 ± 0.15 (6.0 ± 1.6)	8.4 ± 2.2	8.9 ± 2.3
Cumulative	2.73 ± 0.20	80.1 ± 6.1	82.9 ± 6.2

a) : Mean of 3 rats ± S.E.

b) : Values in brackets given as $\mu\text{g/ml}$.

Table 9 Recoveries of ^{14}C in rats at 48 hr. after single oral administration of 50 mg/kg of ^{14}C -M-1

Fraction	% of the dosed ^{14}C
Urine	3.1
Feces	82.5
Blood	0.04
Liver	0.08
Kidney	0.01
Gastrointestinal tracts	10.2
Total	95.9

III. 総 括

^{14}C -AB-206 をマウス、ラット、イヌおよびサルに経口投与し、血清、尿、糞、胆汁、肝臓および腎臓を採取して、それぞれに含まれる放射性代謝物質を TLC およ

は消化管よりほとんど吸収されないこと、吸収された ^{14}C は肝臓および腎臓にとくに蓄積される傾向が認められないこと、さらに吸収された ^{14}C は尿中にも排泄されることが明らかとなった。

び HLC によって分析した。また、 ^{14}C -M-1 のラットでの体内挙動を調べた。その結果次のような結論を得た。

1. AB-206 は実験動物によって少なくとも7種の代謝物質 (M-1, M-2, M-3 および AB-206, M-1, M-2, M-3 の各グルクロナイド) に代謝されることが明らかとなった。したがって、Fig. 1 に示すような代謝経路が考えられた。

2. 未変化の AB-206 は尿中に投与量の約 2~7%、胆汁中に約 5% 排泄されたが、糞中にはサルにおいてのみ約 2% 排泄された。

3. 血清中の AB-206 の濃度は高く、ピーク時において、28~45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。ラットの肝および腎臓中の AB-206 の濃度は、ピーク時において、それぞれ 16 および 29 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

4. 尿中に最も多く存在していた代謝物質は、AB-206 のグルクロナイドで投与量の 7~33% に達した。M-1 が次いで多く 3~7% であった。M-1 のグルクロナイドは数% であった。他に微量の M-2 (マウスとラット) および M-3 (ラット) が存在していた。

5. 糞中の主代謝物質は M-1 と M-2 (サルでは検出されない) であった。また、M-1 と M-2 のグルクロナイドが少量存在していた。

6. ラットの胆汁中には M-2 のグルクロナイドが投与量の 12% および M-3 のグルクロナイドが 7% 存在していた。後者はラット以外の動物では検出されなかった。

7. TLC および HLC によって分析定量した AB-206 値と生物活性によって得た活性体値とは概略一致した。

8. ラットにおいて主代謝物質 M-1 は消化管よりほとんど吸収されず、糞中に排泄されることが明らかとなった。

(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: 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) 吉武 彬, 川原一夫, 庄野文章, 井沢昭雄, 山森芬, 小松敏昭: ^{14}C 標識 AB-206 の各種実験動物における吸収, 分布, 排泄。Chemotherapy 26 (Suppl. 4) : 77~82, 1978
- 4) 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
- 5) 吉武 彬, 安喰英雄, 川原一夫, 鎌田 健, 井沢昭雄: 新合成抗菌剤 AB-206 の代謝物質の構造と合成。未発表
- 6) 堀了 平, 奥村勝彦, 神谷 昇, 赤木和由: AB-206 の腎排泄挙動について。第 24 回日本化学療法学会東日本支部総会 (札幌) : 誌上発表, p. 39, 1977
- 7) 吉武 彬, 井沢昭雄, 川原一夫, 庄野文章, 小松敏昭: 新合成抗菌剤 AB-206 の *in vitro* における代謝。未発表。
- 8) DICARLO, F. J.; M. C. CREW, M. D. MELGAR, S. ROEMER, S. M. RINGEL, L. J. HAYNES & M. WILSON: Oxolinic acid metabolism by man. Arch. Int. Pharmacodyn. 174 : 413~427, 1968
- 9) DICARLO, F. J.; M. C. CREW & R. C. GREENOUGH: Biotransformation of the methylenedioxy moiety of oxolinic acid in man. Arch. Biochem. Biophys. 127 : 503~511, 1968
- 10) 藤原充雄, 大塚峯三, 佐藤善重: ^{14}C -標識 Oxolinic Acid の体内運命に関する研究 (第 3 報) ラットにおける尿中代謝物について。Radioisotopes 24 : 22~27, 1975

METABOLISM OF ^{14}C -AB-206 IN ANIMALS

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

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

The metabolism of 5,8-dihydro-5-methoxy-8-oxo-2H-1,3-dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid (AB-206), a new antimicrobial agent, in mice, rats, dogs and monkeys was studied by using ^{14}C -AB-206, which was administered orally to the animals in a dosage of 50mg/kg. The radioactive metabolites in serum, urine, feces, bile (rat), liver (rat) and kidney (rat) were analysed by TLC and HLC. The results are summarized as follows.

1. AB-206 was biotransformed by the animals to at least seven identified metabolites; 5,8-dihydro-8-oxo-2H-1,3-dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid (M-1), 1,4-dihydro-7-hydroxy-1,6-dimethoxy-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid (M-2), 1,4-dihydro-6,7-dihydroxy-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid (M-3), and the glucuronides of AB-206, M-1, M-2 and M-3.

2. In the serum, the peak concentrations of intact AB-206 in rats, dogs, mice and monkeys were 28, 35, 37 and 45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectively; the major metabolite was the glucuronide of AB-206 (5~18 $\mu\text{g}/\text{ml}$ at the peak) and M-1 was found only in monkeys as a minor metabolite.

3. The recovery rates of intact AB-206 were 2~7% of the dose in the urine (0~24 hr.), 5% in the bile of rats (0~20 hr.) and 2% in the feces of monkeys (0~24 hr.). The major metabolite in the urine (0~24 hr.) was the glucuronide of AB-206 as shown in the recovery rates of 17% in rats, 7% in dogs, 32% in mice and 33% in monkeys. M-1 (3~7%), M-2, M-3 and the glucuronide of M-1 were found in the urine as minor metabolites. In the feces, M-1 and M-2 (not detected in monkeys) were found as the major metabolites and their glucuronides as the minors. The main metabolites in the bile of rats consisted of the glucuronides of M-2 (12% of the dose) and M-3 (7%).

4. The peak concentrations of intact AB-206 in the liver and the kidney of rats were 16 and 29 $\mu\text{g}/\text{g}$ respectively, and M-1, M-2 and the glucuronides of AB-206, M-1 and M-2 were found as metabolites.

Absorption, distribution and excretion of ^{14}C -labelled M-1 in rats were examined after oral administration at 50 mg/kg of the dose. It was found that M-1 was scarcely absorbed orally and excreted into the feces. The blood level of ^{14}C was 0.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ at the peak. The urinary ^{14}C recovered during 48 hr. was only 2.7% of the dose while the fecal ^{14}C was 80%.