

¹⁴C 標識 AB-206 のラット連続投与時の吸収, 分布, 排泄および代謝

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

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 はグラム陰性菌および一部のグラム陽性菌に対し広い抗菌スペクトルを有する新規な合成抗菌剤である¹⁾。筆者らは ¹⁴C-AB-206 を各種実験動物に1回経口投与した時の本剤の生体内動態を明らかにしてきた²⁾³⁾。筆者らは、今回ラットについて、¹⁴C-AB-206 の3週間連続投与時における吸収, 分布, 排泄および代謝について検討したので、その結果をここに報告する。また、ラットにおいては、週齢によって薬物代謝能が変動する⁴⁾⁵⁾ことが知られているので、異なった週齢のラットに ¹⁴C-AB-206 を投与し、本剤に対する代謝能変動をしらべて連続投与実験で得られた結果と対比することによって興味ある知見を得たので、合わせて報告する。

I. 実験材料および方法**1. 標識薬物および標準物質**

7位を炭素-14 で標識した AB-206 を用いた⁶⁾。標識薬物は 3.00 mCi/g の比放射能を有し、薄層クロマトグラフィー (TLC) によって確認された放射化学的および化学的純度は 99% 以上であった。

代謝物質の分析のために標準物質として、M-1: 5,8-dihydro-8-oxo-2H-1,3-dioxolo [4,5-g] quinoline-7-carboxylic acid, M-2: 1,4-dihydro-7-hydroxy-1,6-dimethoxy-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid および M-3: 1,4-dihydro-6,7-dihydroxy-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid を用いた。

2. 実験動物

Sprague-Dawley 系雄性ラットを用いた。連続投与実験用には、第1日目投与時で7週齢 (体重 260~280 g)、週齢差実験用には、6, 7, 8 および 9 週齢ラットを用いた。ラット数は1群3匹とし、ラットはすべて実験中食餌および水を自由摂取させた。

3. 投与量および方法

¹⁴C-AB-206 の投与量は各実験群とも 50 および 200 mg/kg/日とし、連続投与は毎日一定時 (午前9時) に21日間行なった。週齢差実験群は上述の投与量で1回経口投与した。¹⁴C-AB-206 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

連続投与実験では、第1日目と21日目に、投与後1, 2, 4, 6, 24 時間に採血した。1回投与群も21日間連続投与群も、1, 2, 4, 6 時間は眼窩静脈より穿刺採血 (約 1 ml) し、24 時間はエーテル麻醉下腹部大動脈から採血した。組織として、24 時間血液を採取し終わったラットから肝、腎、肺、脳、脾、副腎、睪丸を採取した。尿および糞はラットを個別に代謝ケージに収容し、毎投与後 0~24 時間採取した。1群については最終投与後 24 時間ごとに144時間まで尿、糞を採取し、その後屠殺して上述の臓器を採取した。週齢差実験では投与後 0~24 時間尿を採取した。

5. 生体試料の放射能測定

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。液体シンチレーターは *p*-terphenyl と POPOP を含有するトルエン系⁷⁾を用いた。

血清と尿はそのまま測定試料とした。糞と組織は 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。血清とホモジネートは NCS (Amersham-Seale 社) に溶解した後液体シンチレーターに加えて測定した。尿は直接液体シンチレーターに加えて測定した。全血 (0.1 ml) は 2N KOH-メタノール溶液 (1 ml) とともに 50°C で溶解するまでインキュベートし、次いで数滴の 30% H₂O₂ 水溶液を加え脱色した後、2N 塩酸で中和した。本溶液に Insta Gel 15 ml (Packard 社) に加え測定した。

6. 代謝物質の分離

前報⁸⁾と同様に酢酸エチルエステル抽出分画と水溶性分画に分離し、後者についてはグルクロニダーゼ (Type B-10, Bovine Liver, Sigma Chemicals 社) によって加水分解を行ない、アグリコンを酢酸エチルエステル抽出した。各抽出分画は TLC 分析試料とした。

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。展開溶媒には、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) と

S-4: エタノール/28% アンモニア水溶液/水 (20/1/3) の4種を適宜用いた。展開は暗所で行ない、標準物質のプレート上の位置は 254 および 360 nm の紫外線によって検出した。放射性物質の検出および定量はラジオスキャナー (202B型, Aloka 社) によって行なった。

II. 結果と考察

1. 血中および組織内濃度

1回投与後と21日間連続投与後の全血中¹⁴C濃度推移をTable 1に示した。50 mg/kg投与ラットの場合、連続投与後の血中濃度は1回投与後に比較して大きな差はなかったが、投与4時間後までやや高い傾向を示した。すなわち、ピーク濃度は、いずれも1時間後で約26 μg/mlであったが、2時間後の濃度が連続投与後では25 μg/mlで1回投与後の19 μg/mlよりわずかに高かった。しかし、その差は経時的に減少し、6時間以後は同レベルに推移した。それに比較して、200 mg/kg投与ラ

Table 1 Blood levels of ¹⁴C after single or consecutive daily administration of 50 or 200 mg/kg/day of ¹⁴C-AB-206 to male Sprague-Dawley rats

Dose (mg/kg)	Day	Concentration (μg/ml) ^a				
		1	2	4	6	24 hr.
		50	1	26.1 ± 0.3	18.8 ± 0.3	13.1 ± 0.2
	21	25.9 ± 2.3	24.9 ± 3.1	15.6 ± 1.4	9.9 ± 0.2	0.9 ± 0.0
200	1	26.5 ± 1.8	29.6 ± 3.2	33.8 ± 2.1	27.6 ± 1.4	10.5 ± 0.7
	21	38.4 ± 6.2	43.0 ± 7.9	42.5 ± 3.6	29.1 ± 1.3	4.7 ± 0.8

a: Mean of 3 rats ± S. E.

Values given in terms of AB-206 equivalents

ットの場合、その差は顕著で、投与後2時間では、連続投与の方が43 μg/mlと1回投与後の30 μg/mlよりかなり高かった。しかし、この場合でも、6時間以後は両者の間に差は認められなかった。200 mg/kg投与群では、24時間後でも、5~10 μg/mlと比較的高い濃度を維持していた。また、ピーク濃度が50 mg/kg投与群より遅延し、投与2時間後にみられた。これらの事実は、高投与量ではAB-206が非絶食状態において消化管中に滞留し、そのため、吸収が一過性ではなく持続的に行なわれていることを示唆している。橋本ら⁷⁾は、Pipemidic acidの連続経口投与において、投与回数増加に伴って薬物血中濃度が高くなったが、組織内に蓄積する傾向は

Table 2 Tissue levels of ¹⁴C at 24 hr. after single or consecutive daily doses of 50 or 200 mg/kg/day of ¹⁴C-AB-206 to rats

Tissue	Concentration (μg/g or ml) ^a			
	Dose: 50 mg/kg		Dose: 200 mg/kg	
	Day		Day	
	1	21	1	21
Blood	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.1	10.5 ± 0.7	4.7 ± 0.8
Serum	1.1 ± 0.2	0.8 ± 0.1	19.8 ± 0.6	8.4 ± 1.7
Liver	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2	15.9 ± 1.3	8.2 ± 1.4
Kidney	1.7 ± 0.2	1.4 ± 0.1	19.5 ± 0.8	12.2 ± 2.0
Lung	0.7	0.5	6.4	3.3
Brain	0.2	0.1	2.0	1.0
Spleen	0.6	0.3	4.8	2.4
Testis	0.3	0.2	2.6	2.2
Adrenal gland	0.5	0.5	7.2	3.2

a: Mean of 3 rats ± S. E.

Table 3 Excretion of ¹⁴C in urine and feces of rats after consecutive daily doses of 50 or 200 mg/kg/day of ¹⁴C-AB-206

Dose (mg/kg)	Excreta ^b	Excretion of ¹⁴ C (% of dose) ^a					
		Day					
		1	6	9	12	18	19
50	Urine	36.7 ± 1.8	33.7 ± 0.6	30.3 ± 1.2	28.8 ± 0.7	30.6 ± 2.1	27.3 ± 0.9
	Feces	49.3 ± 5.5	60.0 ± 1.4	60.8 ± 7.1	52.6 ± 1.1	62.0 ± 2.9	62.4 ± 1.7
	Total	86.0 ± 7.1	93.7 ± 1.9	91.1 ± 8.2	81.4 ± 1.0	92.6 ± 3.2	89.7 ± 2.5
200	Urine	26.4 ± 1.1	33.0 ± 3.2	30.0 ± 1.5	27.6 ± 3.5	26.0 ± 1.1	21.9 ± 2.6
	Feces	34.9 ± 1.1	57.7 ± 5.1	70.1 ± 4.3	63.6 ± 4.9	62.6 ± 1.9	64.1 ± 8.2
	Total	61.3 ± 2.1	90.7 ± 3.9	100.1 ± 3.4	91.2 ± 1.4	88.7 ± 2.8	86.0 ± 5.7

a: Mean of 3 rats ± S. E.

b: Collected each day during 24 hr. period after each administration

認めなかったと報告している。AB-206 の場合も、これと類似した結果を与えた。

Table 2 に 1 回投与群および 21 日間連続投与群の投与 24 時間後の主要組織内の ^{14}C 濃度を示した。連続投与群の組織内濃度は、両 dose 群とも、1 回投与群よりむしろ低かった。対血中濃度比を考慮しても、連続投与によって ^{14}C が蓄積したと認められる組織はなかった。

2. 尿および糞中排泄

放射活性の尿、糞中への投与量に対する排泄率を Table 3 に示した。尿、糞中 ^{14}C 排泄率は、第 1 日目を除き連続投与期間を通して、ほぼ一定で、50 mg/kg 投与群では尿に約 31%、糞に約 60%、200 mg/kg 投与群では尿に約 28%、糞に約 64% 前後であった。第 1 日目の排泄率は両投与群とも、糞中排泄率が低いために他の日に比較して低かったが、1 回投与実験例で見られたように²⁾、残余分は順次、糞中に排泄されたものと推定される。

Table 4 に 21 日間連続投与の最終投与後 144 時間までの尿、糞中 ^{14}C 排泄率を示した。144 時間までの排泄率は、両投与群とも尿糞合せて 120% 前後であったが、その大部分は 48 時間までに排泄された。100% を超える排泄率は、連続投与中に主として消化管内に滞留していた ^{14}C が排泄されたことによるものと考えられる。

3. 連続投与後の ^{14}C 体内残留

最終投与 144 時間後における主要組織内の ^{14}C 濃度を Table 5 に示した。前述の 24 時間後の組織内濃度および尿糞中排泄率より予測されたように、144 時間後には消化管を除き体内に残存する ^{14}C は僅少であって、両投与群とも 1.5 $\mu\text{g/g}$ を超える濃度を示した組織はなかった。とくに、親和性が高いと予想された肝と腎臓の濃度も血中濃度を上まわっておらず両臓器とも ^{14}C の蓄積は

Table 4 Excretion of ^{14}C in excreta of rats after 21 consecutive daily doses of 50 or 200 mg/kg/day of ^{14}C -AB-206

Dose (mg/kg)	Excreta	Excretion of ^{14}C (% of dose) ^a					
		Time after the last dosing (hr.)					Total
		24	48	72	120	144	
50	Urine	38.6	0.5	0.3	0.3	0.6	40.3
	Feces	71.1	6.4	0.5	0.6	0.3	78.9
	Total	109.7	6.9	0.8	0.9	0.9	119.2
200	Urine	32.3	1.3	0.3	0.1	0.1	34.1
	Feces	68.1	17.5	3.4	0.6	0.2	89.8
	Total	100.4	18.8	3.7	0.7	0.3	123.9

a: Mean of 3 rats

Table 5 Tissue levels of ^{14}C at 144 hr. after 21 consecutive daily doses of 50 or 200 mg/kg/day of ^{14}C -AB-206 to rats

Tissue	Concentration ($\mu\text{g/ml}$ or g) ^a	
	Dose (mg/kg)	
	50	200
Blood	0.5	1.5
Serum	0.3	0.9
Liver	0.7	1.0
Kidney	0.9	1.1
Lung	0.4	1.0
Brain	0.1	0.5
Spleen	0.3	1.4
Testis	0.2	0.4
Adrenal gland	0.4	1.1
Stomach ^b	14	17
S. intestine ^b	5	5
L. intestine ^b	12	11

a: Mean of 3 rats. Values given in terms of AB-206 equivalents

b: Contained contents

ないことが明らかとなった。

4. 代謝

連続投与期間中 1, 6, 9, 12, 19 日目に採取した尿中の AB-206 および代謝物質について定量した。尿中の代謝物質の種類は連続投与期間中変化は認められず、1 回投与実験の結果³⁾と同様であった。すなわち、代謝物質として M-1, M-2, M-3 および AB-206 と M-1 の両グルクロナイドが存在していた。これらのうち M-2, M-3 および M-1 のグルクロナイドは minor 代謝物質であって、それぞれ尿中 ^{14}C 排泄量の数%以下を占めるにすぎなかった。Fig. 1 および Fig. 2 に AB-206, M-1 および AB-206 のグルクロナイドの各日における存在比を尿中全 ^{14}C 量に対するパーセントとして図示した。両図から明らかなように、AB-206 の存在比は日を経るに従って増大した。すなわち、50 mg/kg 投与例では、第 1 日目 30% であったのが 19 日目では 53% となっており、200 mg/kg 投与例では第 1 日目 16% であったのが 19 日目では 42% となった。これに反し、AB-206 のグルクロナイドおよび M-1 は、ともに減少傾向を示し、50 mg/kg 投与例では、M-1 は第 1 日目 20% から 19 日目 11% に、また、AB-206 のグルクロナイドは 27% から 21% に減少した。200 mg/kg 投与例でも、同様であった。

加藤ら⁴⁾⁵⁾はラットの週齢差による薬物代謝能の変動について詳細な研究を行っており、その結果ラットで

はある週齢をピークとしてその後は代謝能が低下することを明らかにしている。そこで、AB-206の代謝に対して、週齢差がどのような影響を及ぼすかを明らかにして前述の結果と比較しようと試みた。そのために、6～9週齢の各ラットを用い、それぞれに50および200 mg/kgのAB-206を1回経口投与した後採取した尿中の代謝物質を定量した。その結果をFig. 1と2に示した。両投与群とも、週齢がAB-206の代謝に影響を及ぼしていると考えられる結果を与えた。すなわち、週齢の増加に伴ってAB-206の尿中存在率が增大し、逆に、AB-206のグルクロナイドとM-1の比率が減少傾向に

Fig. 1 Composition of radioactivity in urine of either consecutively dosed rats or different aged-rats receiving 50 mg/kg/day of ^{14}C -AB-206

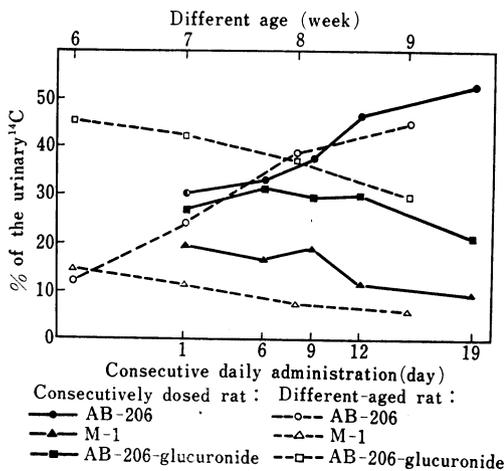
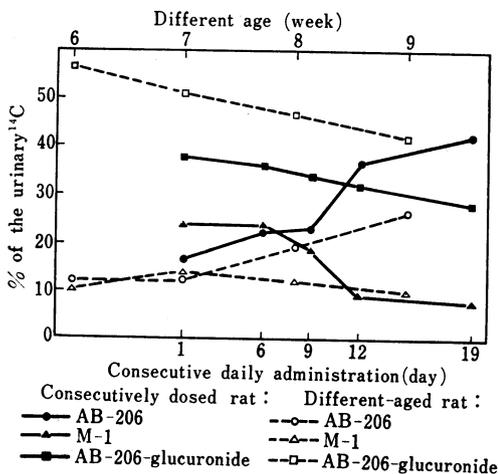


Fig. 2 Composition of radioactivity in urine of either consecutively dosed rats or different aged-rats receiving 200 mg/kg/day of ^{14}C -AB-206



あることが明らかとなった。この傾向は図から明らかのように、連続投与群(第1日目投与時に7週齢であった)の場合と類似していた。したがって、連続投与群が示したAB-206と代謝物質の量的変動の主要な要因として連続投与期間中の週齢差が関与していることが考えられた。

III. 総 括

ラットを用いて ^{14}C -AB-206 50 および 200 mg/kg を連続経口投与(1回/日, 21日間)した時の吸収, 分布, 排泄および代謝について検討した。また, 6～9週齢の各ラットに ^{14}C -AB-206 同 dose を1回経口投与した時の尿中 AB-206 と代謝物質の定量を行ない AB-206 の代謝に対する週齢の影響を調べた。その結果以下の結論を得た。

1. 21日目の血中 ^{14}C 濃度は, 1日目に比較して, 投与後2～6時間の間で高くなっていった。この傾向は200 mg/kg 投与群で著しかった。しかし, 6時間以後は1日目と同レベルに推移した。21日目の血中最高濃度は50 mg/kg 投与群で26 $\mu\text{gEq/ml}$, 200 mg/kg 投与群で43 $\mu\text{gEq/ml}$ であった。

2. 21日間連続投与後24時間目の主要組織内 ^{14}C 濃度は1日目に比較して高くはなかった。また, 最終投与後144時間までに ^{14}C 濃度はさらに減衰し, 両投与群において, 1 $\mu\text{gEq/g}$ を超えた濃度を有した組織は消化管を除いて他には認められなかった。

3. 連続投与期間中の尿, 糞中 ^{14}C 排泄率は両投与群とも, ほぼ一定に推移した。すなわち, 尿中に投与量の約30%, 糞中に約60%であった。最終投与後144時間までの尿, 糞中排泄率は最終投与量に対し約120%であった。

4. 連続投与期間中に採取した尿中 AB-206 と代謝物質を定量した結果, 両投与群とも経日的に AB-206 の存在比が増大し, 逆に, 主代謝物質である AB-206 のグルクロナイドと M-1 の存在比が減少したことが明らかとなった。一方, 各週齢のラットにおいても, 週齢の増加に伴って同様の傾向が現われることが明らかとなった。したがって, 連続投与群で見られた現象は連続投与期間中の週齢の増加が大きな要因となって生じたものと考えられた。

(本研究期間は昭和51年10月から52年6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, 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) 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
- 3) 吉武 彬, 川原一夫, 庄野文章, 井沢昭雄, 小松敏昭, 山森 芬: ^{14}C 標識 AB-206 の各種実験動物における代謝。Chemotherapy 26(Suppl. 4) : 83~90, 1978
 - 4) KATO, R.; P. VASSANELLI, G. FRONTINO & E. CHIESARA : Variation in the activity of liver microsomal drug-metabolizing enzymes in rats in relation to the age. Biochem. Pharmacol. 13 : 1037~1051, 1964
 - 5) KATO, R. & A. TAKANAKA : Effect of phenobarbital on electron transport system, oxidation and reduction of drugs in liver microsomes of rats of different age. J. Biochem. 63 : 406~408, 1968
 - 6) 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- ^{14}C acid (AB-206- ^{14}C). J. Labelled Compds. 10 : 589~598, 1974
 - 7) 橋本昌久, 森野直宜, 宮崎 亀, 景本 昭: ^{14}C 標識 Pipemidic acid のラット, マウスにおける吸収, 分布, 排泄および代謝。Chemotherapy 23 : 2693~2706, 1975

ABSORPTION, DISTRIBUTION, EXCRETION AND METABOLISM OF ^{14}C -AB-206 IN RATS AFTER MULTIPLE ORAL ADMINISTRATION

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

AKIO IZAWA and TOSHIKI KOMATSU
Research and Development Center, Pharmaceuticals Division,
Sumitomo Chemical Co., Ltd.

Absorption, distribution, excretion and 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, were examined in rats after multiple oral administration of 50 and 200 mg/kg/day of ^{14}C -labelled AB-206 for 21 days, and the effect of age on the metabolism of AB-206 was also examined in different-aged rats. The results are summarized as follows.

1. The blood levels of ^{14}C during 2 to 6 hr periods after daily doses for 21 consecutive days were higher than those of single administration but thereafter decreased as low as the latter; the peak levels being 26 $\mu\text{gEq/ml}$ (50 mg/kg) and 43 $\mu\text{gEq/ml}$ (200 mg/kg).

2. With both dosages, the concentrations of ^{14}C in the tissues examined at 24 hr. after 21 consecutive doses showed the values not higher than those of single administration. By 144 hr. postadministration only traces of ^{14}C (below 1 $\mu\text{gEq/g}$) remained in all of the examined tissues except gastrointestinal tracts.

3. During the consecutive dosing with both dosages of 50 and 200 mg/kg, the rats excreted ^{14}C into urine and feces in almost constant recovery rates: 30% of the dose in urine and 60% in feces. The total recovery rate of ^{14}C in urine and feces reached 120% of the last dose by 144 hr. postadministration.

4. The urine samples were analysed by TLC and HPLC, and intact AB-206, 5,8-dihydro-8-oxo-2H-1,3-dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid (M-1) and the glucuronide of AB-206 were detected. It was observed with both dosages that the ratio of intact AB-206 in the urinary ^{14}C increased according to multiple dosings while those of M-1 and the glucuronide of AB-206 decreased. When ^{14}C -AB-206 was administered to the different-aged rats, the similar tendency was observed with increasing of age (6 to 9 weeks-old).