

抗菌性 Quinolone 誘導体の家兎における腎挙動

堀 了平・奥村勝彦・神谷 晃・赤木和由

広島大学医学部総合薬学科薬剤学教室

(昭和 54 年 1 月 25 日受付)

家兎を用い、抗菌性 quinolone 誘導体である nalidixic acid (NA), piromidic acid (PA), miloxacin (AB-206, MLX) の腎挙動について解析した結果、次のような点を明らかにすることができた。

- (1) NA, PA, MLX はいずれも尿細管において分泌および再吸収を受ける。
- (2) MLX の分泌は anion transport mechanism により行なわれていると考えられる。
- (3) MLX の主代謝物である AB-81 の場合、その分泌は MLX とほとんど変らなかった。一方、再吸収率が減少するため、AB-81 は尿中に排泄されやすい。

薬物の腎排泄は血液中濃度変化と密接な関連をもち、医薬品の有効性および安全性を決定する主要な因子の 1 つである。とくに薬物の注用、併用ならびに病態による薬物排泄の変動はその治療効果、副作用の発現等と直接関連するため¹⁻⁵⁾、十分な考慮が必要である。しかしこれらの詳細については未だ不明の点が多く、薬物腎排泄挙動の解明は臨床治療上重要な問題である。

そこで著者等は、腎クリアランス法を改良し、人にも適用し得る腎排泄機構の定量的解析法を確立すると共に、サルファ剤および ampicillin, cephalixin の腎挙動を明らかにした⁶⁻⁸⁾。さらに、本法の臨床応用を目指してこれら薬物の病態時における腎挙動の変動についても多角的にその解明を行なってきた。

本報では、抗菌性 quinolone 誘導体のうち nalidixic acid, piromidic acid, miloxacin (AB-206, 5, 8-dihydro-5-methoxy-8-oxo-1, 3-dioxo(4, 5-g)-quinoline-7-carboxylic acid) を選び、家兎における腎挙動を明らかにすると共に、その生体内動態との関連について考察を加えた。また、代謝物の排泄挙動の変化についても検討

した。

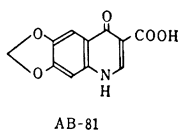
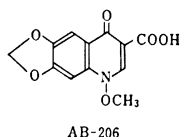
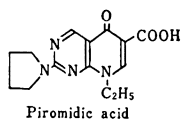
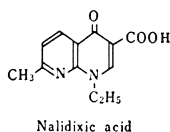
実験方法

1. 使用薬

Nalidixic acid (NA) および piromidic acid (PA) は市販製剤から抽出、精製したものを使用した。Miloxacin (MLX) およびその代謝物 AB-81 は大正製薬(株)から供与されたものを用いた。Inulin およびその他の試薬は市販特級品を用いた。

2. 腎クリアランス実験

実験は pentobarbital で麻酔した雄性家兎で行ない、尿管および股動脈にカテーテルを施し、尿および血液を採取した。クリアランス期間は 10 分とし、非定型的腎クリアランス実験の場合、薬物 1 回静注後 2~3 時間実験を行なった。糸球体濾過速度(GFR)の測定には inulin を用い、inulin の血液中濃度を一定に保つため持続注入を行なった。採取した尿は尿量、pH を測定した後、定量に供した。採血は尿中排泄の遅延時間を考慮してクリアランス期間の中間時の 1 分前に行ない^{6,9)}、採取した血液から血漿を分離して血漿中全薬物濃度(P)および血漿中遊離薬物濃度(P_f)を測定した。得られたデータは先に確立した方法を用いて解析した⁹⁾。すなわち、尿細管における能動分泌は MICHAELIS-MENTEN 式に従い、かつ血漿中遊離薬物濃度に依存、再吸収は受動輸送に従うものとし、再吸収率を R とすると、尿中排泄は(1)式のように表わすことができる。これをクリアランス式に変型すると(2)式となる。実験により得られた排泄比(excretion ratio)と P_f とのプロットについて、(2)式をモデル式としてデジタル計算機を用い最小二乗法により、V_{max}(最大分泌速度)、K_m(MICHAELIS 定数)、R を求めた。



$$U \cdot V = \left(GFR \cdot P_f + \frac{V_{max} \cdot P_f}{K_m + P_f} \right) (1-R) \quad (1)$$

$$ER = \frac{U \cdot V}{GFR \cdot P_f} = \left(1 + \frac{V_{max}}{(K_m + P_f) \cdot GFR} \right) (1-R) \quad (2)$$

(U:尿中薬物濃度, V:尿量, ER:排泄比)

定型的腎クリアランス実験では、薬物の血液中濃度を一定に保つため持続注入を行ないコントロール期のクリアランスを求めた後、iodopyracet の負荷を行ない分泌阻害時のクリアランスを求めた¹⁰⁾。その他は非定型的腎クリアランス実験の場合と同様に行なった。

3. 蛋白結合

血漿蛋白への薬物の結合は cellulose tubing (Visking Company) を用い、遠心限外濾過法により測定した。

4. 分配係数

見かけの分配係数は、水層として pH 7.4 リン酸緩衝液、有機層としてクロロホルムおよび酢酸エチルを用いて、室温で測定した。

5. 定量法

血液および尿中の NA, PA, MLX, AB-81 は酸性にして酢酸エチルに抽出し、酢酸エチルを evaporate した後、1%炭酸ナトリウム溶液に溶解し固定相として陰イオン交換樹脂、移動相として 25% 酢酸を用い、高速液体クロマトグラフィーにより定量した。Inulin は SOMOGYI の方法¹¹⁾ により除蛋白した後、DISHE の方法¹²⁾ を改良して定量した。

結 果

NA, PA および MLX の非定型的腎クリアランス実験の結果を Fig. 1 に示した。いずれの薬物においても、血漿中遊離薬物濃度の変化に伴ない排泄比が変化する尿細管分泌関与のパターンを示した。また、排泄比が 1.0

Fig.1 Renal clearance of nalidixic acid, piromidic acid, and miloxacin in rabbits

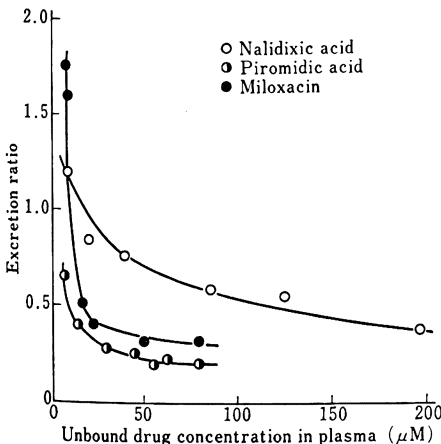


Table 1 Renal tubular secretion and reabsorption of nalidixic acid, piromidic acid, and miloxacin in rabbits

Drug	V_{max} ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	K_m (μM)	R
Nalidixic acid	0.53 ± 0.04	112 ± 11	0.64 ± 0.01
Piromidic acid	0.29 ± 0.03	60 ± 5	0.82 ± 0.02
Miloxacin	0.65 ± 0.05	51 ± 4	0.70 ± 0.02

Each value represents the mean ± S.E. from three animals.

Fig. 2 Effect of iodopyracet on renal clearance of miloxacin in the rabbit

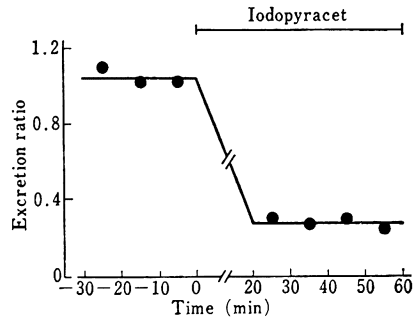
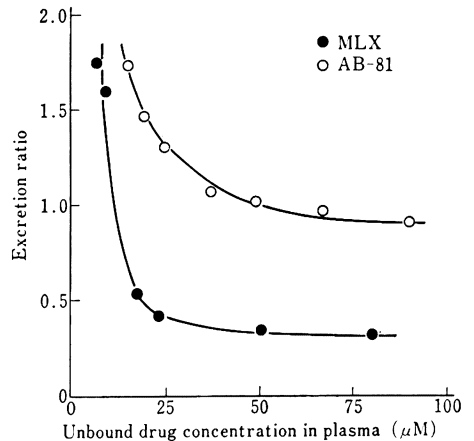


Fig. 3 Renal clearance of miloxacin and AB-81 in rabbits



よりも小さな値を示し、尿細管再吸収も同時に関与するパターンが得られた。

これらのデータについて先に確立した方法により解析した結果を Table 1 に示した。非定型的腎クリアランス実験値から予測されたとおり、分泌、再吸収が観察され、最大分泌速度 V_{max} の大きさは $MLX > NA > PA$ の順位であった。また、再吸収率はいずれもかなり大きな値を示し、 $PA > MLX > NA$ の順であった。

次にこの分泌および再吸収の存在を確かめるため、MLX について定型的腎クリアランス実験に分泌阻害を

Table 2 Renal tubular secretion and reabsorption and apparent partition coefficient of miloxacin and AB-81

Drug	$V_{max}^{a)}$ ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	$K_m^{a)}$ (μM)	$R^{b)}$	P. C. ^{b)} Ethyl acetate	Chloroform
Miloxacin	0.65 ± 0.05	51 ± 4	0.70 ± 0.02	1.67	10.4
AB-81	0.62 ± 0.06	63 ± 6	0.39 ± 0.01	1.33	0.05

a) Each value represents the mean ± S. E. from three animals.

b) Apparent partition coefficient between ethyl acetate or chloroform and aqueous phosphate buffer, pH 7.4.

組合せた実験を行なった。結果は Fig. 2 に示すように、iodopyracet の負荷により、MLX の分泌が阻害され、排泄比が著しく低下した。また、分泌阻害時の排泄比から求めた再吸収率は 0.72 となり、非定型的腎クリアランス値から求めた解析値とよく符号した。

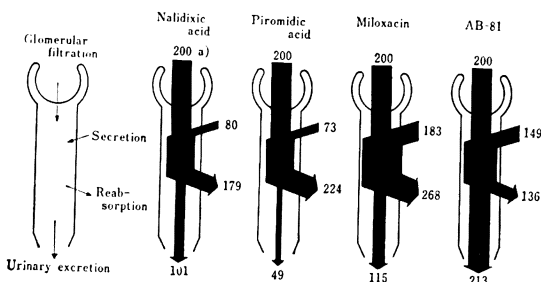
さらに、MLX の代謝物である AB-81 の非定型的腎クリアランス実験を Fig. 3 に示した。AB-81 も分泌のあるパターンを示した。また、MLX に比較し、高い排泄比を示した。この AB-81 の解析値を pH 7.4 における分配係数とともに Table 2 に示した。分泌の V_{max} および K_m は MLX とほぼ同様の値であったが、再吸収率は AB-81 で著しく小さな値となった。これは分配係数の変化とも相関した。

考 察

主としてグラム陰性菌に対して著効を示す NA, PA および MLX はいずれも腎に高濃度に分布することが知られている¹³⁻¹⁴⁾。しかし、その腎挙動の詳細については未だ不明のため、これらの抗菌剤の家兎における尿細管挙動について非定型的腎クリアランス実験値を用いる解析法により検討した。その結果、NA, PA, MLX のいずれにおいても尿細管分泌および再吸収が共に関与する複雑な挙動を示すことが明らかとなった。

Fig. 4 Schematic representation of renal tubular transports of nalidixic acid, piromidic acid, miloxacin and AB-81

a) glomerular filtration rate = 10 ml/min, unbound drug concn. in plasma = 20 μM . Each value is in nmol/min.



一方、定型的腎クリアランス実験において分泌阻害のため用いた iodopyracet は、anion transport mechanism により血液の中から尿細管中へ能動的に分泌されることが知られている。従って MLX の分泌が iodopyracet の大量負荷により阻害されたことから、MLX も anion transport mechanism により分泌されるものと考えられる。また、NA, PA, AB-81 も MLX と構造が類似しており、これらの薬物も同様の機序により分泌されることが推察される。さらに、分泌阻害時の排泄比から求めた再吸収率は、本解析法により得られた値とよく符号し、解析値の妥当性を支持するものと考えられた。

これら薬物の腎挙動を模式的に表わし、血漿中遊離薬物濃度を 20 μM としたときの各移行量を示したのが Fig. 4 である。NA, MLX では尿中排泄量が多く、PA では少ない。これは、NA では再吸収が少なく、PA では再吸収が多いためと考えられる。一方、MLX では分泌は大きい再吸収率も NA に比較して大きいため、尿中排泄は NA とほぼ同じになる。また、代謝物は多くのばあい水溶性となり、排泄されやすい構造となるが、AB-81 の場合も MLX に比較し分配係数が小さな値となり、脂溶性が減少している。そのため再吸収率が著しく低下し、尿中に排泄されやすくなっている (Fig. 4)。しかし、AB-81 の分泌に関するパラメータ V_{max} , K_m が MLX のそれとほとんど変わらないことは、能動分泌の carrier の性質を考えるうえで興味ある事実と考えられる。さらに、これらの薬物は胃の感染症の治療に使用されるが、本法による解析の結果、いずれも尿細管分泌および再吸収をうけ、尿細管細胞内および管腔内を高濃度に移行することが明らかとなった (Fig. 4)。従ってこれらの移行と細胞内および管腔内の感染菌に対する抗菌作用との関係について解明することは実際治療上意義あることと考えられる。

文 献

- GUGLER, R. & D. L. AZAMOFF: Drug protein binding and the nephrotic syndrome. *Clinical Pharmacokinetics* 1: 25-35, 1976
- JACKSON, E. A. & D. C. MCLEOD: Pharmacokinetics and dosing of antimicrobial agents in

- renal impairment, part i. Amer. J. Hosp. Pharm. 31 : 36~52, 1974
- 3) JACKSON, E. A. & D. C. MCLEOD : Pharmacokinetics and dosing of antimicrobial agents in renal impairment, part ii. Amer. J. Hosp. Pharm. 31 : 137~148, 1974
 - 4) TAKADA, M.; S. AKUZU, A. MISAWA, R. HORI & T. ARITA : Transformation and excretion of drugs in biological systems. VIII. Interactions between 5-n-butyl-1-cyclohexyl-2, 4, 6-trioxoperhydropyrimidine and sulfonamides in dogs. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 22 : 542~550, 1974
 - 5) TAKADA, M.; A. MISAWA, K. FUJIMOTO, R. HORI & T. ARITA : Transformation and excretion of drugs in biological systems. IX. Interactions between sulfapyrazone and sulfonamides, and between oxyphenbutazone and sulfonamides in dogs. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 22 : 551~559, 1974
 - 6) HORI, R.; K. SUNAYASHIKI & A. KAMIYA : Pharmacokinetic analysis of renal handling of sulfamethizole. J. Pharm. Sci. 65 : 463~465, 1976
 - 7) HORI, R.; K. SUNAYASHIKI & A. KAMIYA : Tissue distribution and metabolism of drugs. I. Quantitative investigation on renal handling of phenolsulfonphthalein and sulfonamides in rabbits. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 26 : 740~745, 1978
 - 8) 神谷 晃, 上木純一, 奥村勝彦, 堀了平, 中野博, 仁平寛己 : 腎機能障害と Cephalexin の排泄挙動. 臨床薬理 9 : 40~42, 1978
 - 9) SMITH, H. W.; W. GOLDRING & H. CHASIS : The measurement of the tubular excretory mass, effective blood flow, and filtration rate in the normal human kidney. J. Clin. Invest. 17 : 263~278, 1938
 - 10) ARITA, T.; R. HORI, E. OWADA & K. TAKAHASHI : Transformation and excretion of drugs in biological systems. I. Renal excretion mechanisms of sulfonamides in rabbits. (1). Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 17 : 2526~2532, 1969
 - 11) SOMOGYI, M.: A method for the preparation of blood filtrates for the determination of sugar. J. Biol. Chem. 86 : 655~663, 1930
 - 12) DISCHE, Z. & F. BORENFREUND : A new spectrophotometric method for the detection and determination of keto sugars and trioses. J. Biol. Chem. 192 : 583~587, 1951
 - 13) 北本 治, 深谷一太, 輪島豊子 : 抗微生物剤の生体内動態に関する研究。Nalidixic acid について。Chemotherapy 14 : 337~339, 1966
 - 14) 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

RENAL HANDLING OF QUINOLONE ANTIMICROBIAL AGENTS IN RABBITS

RYOHEI HORI, KATSUHIKO OKUMURA, AKIRA KAMIYA
and KAZUYOSHI AKAGI

Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University School of Medicine

Quantitative investigation on renal handling of nalidixic acid, piromidic acid, and miloxacin was performed in rabbits. Renal clearance method based on computer analysis after bolus injection of drug was used for measuring the renal handling of these drugs. Both tubular secretion and reabsorption were observed for these three drugs. Owing to the inhibition experiments using iodopyracet, it was demonstrated that the tubular secretion of miloxacin was dependent upon anion transport mechanism. AB-81, a major metabolite of miloxacin, was also secreted and reabsorbed in the nephron, and the renal tubular reabsorption of AB-81 was relatively smaller than that of miloxacin.