

Cinoxacin の吸収・分布・代謝・排泄

第1報 ラットにおける体内動態

栩野義博・菅野浩一・堤内正美・岡部博・乘鞍良・田中日出男
塩野義製薬株式会社研究所

ラットにおける Cinoxacin (CINX) の体内動態について検討を行なった。CINX の主要消化管吸収部位は小腸上部および中部で、経口投与後、速やかに、ほとんど完全に吸収された。

主排泄経路は尿中への排泄で、静注、経口投与後、投与量の大部分が高濃度で尿中へ移行し、他の排泄経路の寄与は小さかった。胆管カニュレーションラットにおいては、わずか 2% 程度の胆汁中排泄率が認められた。

経口投与後、血漿中濃度は 30 分以内にピーク値を示し、その後速やかに減少し、8 時間ではピーク値の 1/20、24 時間では検出限界以下であった。

ラット組織中濃度は、血液と同様に 30~60 分でピーク濃度を示し、その後速やかに減少した。腎臓に最も高濃度の分布がみられ、血液と同程度であった。他の組織では、血漿の 1/3 以下の濃度であった。妊娠ラットにおいても雄性ラットと同様の分布を示し、胎仔移行性は極めて低かった。

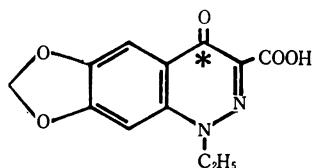
7 回あるいは 21 回反復投与後の CINX 血漿中濃度、尿中排泄率は 1 回投与のそれと大きく変わらず、反復投与によって、排泄の遅延や体内への蓄積などの著明な変化は認められなかった。

CINX および ¹⁴C-CINX を投与した時の比較、あるいは尿中代謝物の検討の結果より、ラットにおいては、CINX はほとんど代謝されることなく未変化体として存在することが明らかになった。

緒 言

Cinoxacin (CINX) は米国 Eli Lilly 社で開発された、尿路感染症に適用される経口用化学療法剤で、Fig. 1 にその構造式を示した。今回、この薬物のラットでの体内動態を調べるために、CINX および ¹⁴C 標識 CINX を用いて、吸収、分布、代謝、排泄について実験を行なったので、その結果を報告する。

Fig. 1 Structure and labeled position of CINX



* ¹⁴C Labeled position

実験方法

1. 投与検体

1-1. Cinoxacin

Cinoxacin (以下 CINX と略す) は、化学名、1-ethyl-1, 4-dihydro-4-oxo [1,3]dioxolo- [4,5-g] cinnoline-3-carboxylic acid (Fig. 1) で、分子量 262.22, pKa 4.5 の化合物である。実験には Lilly 社製品を使用した。

1-2. ¹⁴C 標識 Cinoxacin

¹⁴C 標識化合物は当研究所の渡 ¹⁾ らによって合成され、その標識位置は Fig. 1 に示した (以下 ¹⁴C-CINX と略す)。比放射能 13.0 μCi/mg, 放射化学的純度 99% 以上のものを使用した。

1-3. 投与検液の調製

CINX 投与検液は、M/15 リン酸緩衝液 pH 7.4 に溶解し 2.0 あるいは 2.5 mg/ml としたものを使用し

た。懸濁液とした時は、0.5% CMC に CINX を懸濁させ、濃度が 23.2 mg/ml、平均粒子径が約 11 μm のものを使用した。¹⁴C-CINX は必要量の CINX を加え、リン酸緩衝液で溶解して、2.0 mg/5 μCi/ml とし、全身オートラジオグラフィーには 2.0 mg/10 μCi/ml としたものを使用した。

2. 実験動物および投与量

JCL-Wistar 系雄性ラット（8～10 週齢）、同系の雌性ラット、および妊娠ラット（妊娠 11 日齢および 19 日齢あるいは 20 日齢）を用いた。

静脈内投与は尾静脈より、経口投与はゾンデを用いて胃内へ直接投与した。投与量は水溶液で 10, 16, 20 mg/kg、懸濁液では 59 mg/kg とした。

3. 分析試料の採取

3-1. 吸収部位の検討

CINX の消化管よりの吸収部位を *in situ* 結紮法により検討した。即ち、ラット消化管を、胃、小腸上、中、下部、盲腸、結・直腸の 6 部位に分け、ラット 1 匹についていすれか 1 部位のみを使用した。24 時間絶食したラットに 20% ウレタン水溶液を 0.75 ml/100 g の割合で背部皮下注射し、麻酔後、腹部正中線に沿って切開し、消化管を取り出し、使用部位の両端を縫合糸で結紮し、その部位の上部から CINX 1.0 mg/ml の検液 1.0 ml を注入した。その後消化管をもとの位置に戻して切開部位を縫合し、麻酔ラットの直腸温が 37°C になるように設定した保温板上に仰臥位に置き、予定時間経過後、頸部瀉血により屠殺した。速やかに腹部を切開して CINX を注入した結紮部位を取り出し、生理食塩液を加えて Ultra-Turrax で磨碎し、CINX 残存量を測定した。螢光測定のための標準としてラットを別に用意し、その消化管を各々の実験使用部位に応じて切り取り同様の測定操作を行なった。

一方、消化管内における CINX の分解の有無を調べる目的で *in vitro* で実験を行ない、CINX 残存量を求めた。上記の吸収実験と同様に消化管を 6 部位に区切り、各部位を切り出しその先端を結紮し、これを生理食塩液 10 ml を入れた遠沈管に移し、他方の端より検液 1.0 ml を注入し、ここも結紮して生理食塩液中に 37°C に保った。60 分後に消化管を細切し、Ultra-Turrax で磨碎し、CINX の定量を行なった。

3-2. 尿中排泄率の測定

静注および経口投与後の尿中排泄率を測定した。

静注実験では、ラットをボルマンケージに拘束し、尾静脈より CINX、あるいは ¹⁴C-CINX を投与し、所定時間毎にエーテルを吸入させ、強制的に排尿させて、その尿を集めめた。

経口投与実験では、ラットをボルマンケージに拘束し、CINX 水溶液および懸濁液、あるいは ¹⁴C-CINX を経口投与し、所定時間毎にエーテルを用いて採尿した。また、血漿中濃度、組織中濃度測定の際に投与後一定時間毎に採血屠殺したラットの尿も同時に集めた。

以上、静注および経口投与実験で得た尿はいずれも蒸留水で一定量に希釈し、CINX 投与の時は螢光法、¹⁴C-CINX 投与の時は放射活性測定法により、尿中排泄率を測定した。

3-3. 胆汁中排泄率の測定

エーテル麻酔下に開腹して、ラット総胆管にポリエチレン管 (Intramedic PE 10) を挿入して、切開部を縫合した後、ボルマンケージに拘束し、麻酔覚醒後、尾静脈より CINX を静注した。所定時間毎に胆汁および尿を集め、蒸留水で一定量に希釈し、螢光法により、その排泄率を測定した。

3-4. 粪中排泄率の測定

¹⁴C-CINX 経口投与後、屠殺されるまで個別代謝ケージで飼育されたラットの糞を集めた。24 時間以後は 24 時間毎に集めた。

3-5. 血中濃度の測定

CINX 静脈内投与後の全血中濃度、経口投与後の血漿中濃度および ¹⁴C-CINX 経口投与後の全血、血漿中濃度を測定した。

静脈内投与後、採血用キャピラールで右眼窩血管より 0.2 ml ずつ経時的に採血し、蒸留水で 5 ml に希釈した。

経口投与後、所定時間に腹部大動脈から採血屠殺し、血液は遠心分離後血漿を得た。¹⁴C-CINX 投与後の血液は一部を全血中濃度測定用に、残りは遠心分離し血漿を得た。

CINX 投与の時は螢光法、¹⁴C-CINX 投与の時は放射活性測定法により血中濃度を求めた。

3-6. 組織中濃度の測定

¹⁴C-CINX を経口投与したラットを、各々所定時間に採血屠殺し、その時間までの尿、糞および血液は前述のとおり処理した。これらのラット屍体を解剖して、脳、下垂体、頸部リンパ節、頸下腺、甲状腺、胸腺、気管、心臓、肺、肝臓、脾臓、胰臓、腎臓、副腎、前立腺、精巣、大腿筋、背部皮膚、脂肪、胃の 20 種の臓器、組織を摘出した。摘出した組織はその全量を精粹した。

3-7. 反復投与の実験

24 匹を 1 群として、2 群のラットを用意し、CINX を 1 日 1 回 20 mg/kg 経口投与し、1 群は 7 回目投与後 3 匹ずつ所定の時間に採血屠殺し、その時間までの尿と血漿を得た。他の 1 群は 21 回目投与後、同様の処置

を行ない、尿と血漿を得た。螢光法により尿中排泄率および血漿中濃度を求める、1回投与のそれと比較した。また、21回目投与後のラットから、肝臓、腎臓を摘出し、ホモジネートとして、螢光法により組織中濃度を求めた。

4. 螢光法による CINX の定量

4-1. 尿、胆汁、血漿中濃度の測定

それぞれ一定量に希釈した試料 0.5 ml に蒸留水 0.5 ml, 1N 塩酸 0.5 ml, クロロホルム 6 ml を加えて、15分間振とう抽出する。5分間の遠心分離(2,500 rpm)の後、クロロホルム層 5 ml を別の容器に移し、0.015 M ホウ酸緩衝液、pH 9.0, 5 ml を加えて、15分間振とうした後 5 分間遠心分離する。水層 4.0 ml を試験管にとり、1 N 硫酸 1 ml を加えて、日立螢光分光光度計 203 型で螢光強度を測定した。同時に対照用の試料に既知量の CINX を添加して、同様の操作を行ない、標準曲線を作成した。

4-2. 細胞中濃度の測定

吸収部位測定用の消化管または肝臓、腎臓約 1 g に生理食塩液 5 ml を加えてホモジネートにし、洗液共 20 ml に希釈した(消泡剤として n-オクタノール 1～2滴を加えた)。その 5 ml をとり 10% トリクロロ酢酸 5 ml を加え、10 分間振とう、5 分間遠心分離後、上清 1 ml を取り 0.3 N NaOH 1.1 ml で中和してから 1 N 塩酸 0.5 ml、クロロホルム 6 ml を加えた。以下前項と同様の操作を行なった。

4-3. 全血中濃度の測定

全血 0.2 ml を蒸留水で溶血させ、5 ml に希釈した後、その 4 ml に 15% トリクロロ酢酸 2 ml を加えて 5 分間振とう、5 分間遠心分離した。上清 5 ml に 1 N NaOH 1.55 ml を加えて中和し、1 N 塩酸 1 ml とクロロホルム 10 ml を加え、15 分間振とう、5 分間遠心分離した。クロロホルム層 8 ml を取り、0.1 M ホウ酸緩衝液、pH 10.0, 10 ml を加えて 15 分間振とう、5 分間遠心分離して、以下前項と同様の操作を行なった。

5. 放射活性測定法

5-1. 尿、胆汁中放射活性の測定

一定量に希釈した尿、胆汁の 100 μ l を、シンチレーションカクテル(150 ml BBS-3, 6 g PPO, 0.1 g POPOP をトルエンに溶解し、1 L としたもの) 10 ml に溶解し、その放射活性を液体シンチレーションカウンター(BECKMAN DPM-100)で測定した。

5-2. 血漿、全血中放射活性の測定

血漿、全血 100 μ l を試料燃焼装置(Packard 305)で燃焼し、その放射活性を液体シンチレーションカウン

ターで測定した。

5-3. 粪中放射活性の測定

糞全量をビーカーに入れ、適量の蒸留水を加えて、均一なペースト状に練り、その 100 mg を精秤し、試料燃焼装置で燃焼し、放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。

5-4. 細胞中放射活性の測定

摘出組織の一部を切り取り、100 mg を精秤し、燃焼後、その放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。

5-5. 尸体中放射活性の測定

解剖後の屍体を 5～6 部分に切断後、これを 1 L 三頭コルベットに入れ、6 N 塩酸 300 ml を加え、ジムロート冷却管を取り付け、マントルヒーターで約 2 時間加熱(105～107 °C)可溶化した(Carcass solution)。加熱中発生する可能性のある $^{14}\text{CO}_2$ をトラップする目的で、5% NaOH メタノール溶液を入れた洗気瓶を連結した。加熱可溶化後そのトラップ液中の放射活性を測定したが、全例バックグラウンドと同等であった。Carcass solution は冷却後、蒸留水で 600 ml に希釈し、その 200 μ l をバイアル瓶に入れ、水 100 μ l, 60% HClO₄ 200 μ l, 30% H₂O₂ 400 μ l を加えてゆるく栓をする。砂浴上で 70～80°C 2 時間加熱し、中程で密栓して振りませる。放冷後、アスコルビン酸飽和水溶液 2 滴を加え、エチレングリコールモノエチルエーテル 7 ml, 0.6% PPO トルエンカクテル 10 ml を加えて、その放射活性を測定した。同時に対照用の Carcass solution に投与検液の一定量を加え、同様の操作を行ない、標準試料とした。

6. 薄層クロマトグラフィー(TLC)

尿試料について、Silicagel 60 F₂₅₄ TLC プレート(Merck)を用いて(A)アセトン—クロロホルム—水—蟻酸(8:4:2:1)および(B)イソプロピルアルコール—水—蟻酸(7:2:1)の 2 種の溶媒系で展開した。

^{14}C -CINX 投与尿については、プレートをルミラー膜で覆い、X 線フィルム(富士、工業用 IX-150)と暗所で一定期間密着させ、常法通り現像して TLC-オートラジオグラム(TLC-ARG)を作成した。

7. 全身オートラジオグラフィー

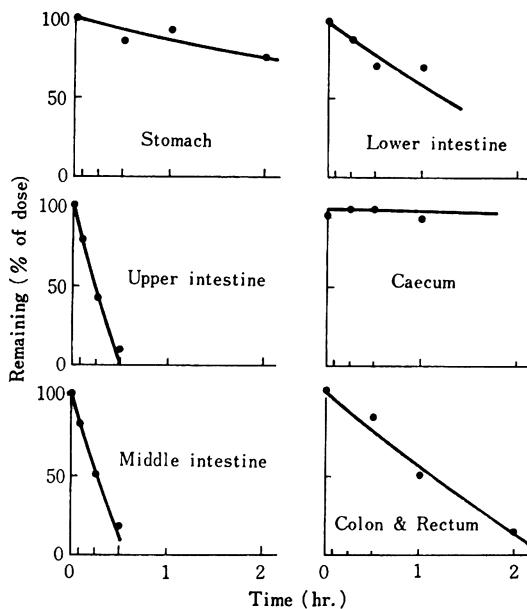
CINX 投与後、一定時間毎にラットをエーテルで麻酔、致死させ、液体窒素により凍結固定した。凍結したラットを Leitz 1300 型ミクロトーム載物台に固定し、クリオスタット中で凍結薄切し、得られた切片をサロテープ(久光製薬)に固定し、工業用 X 線フィルム(さくらタイプ N または MARG 小西六写真工業)と密着し、冷蔵または冷凍保存した。密着期間は冷蔵の場合 8

Table 1 Gastrointestinal absorption of CINX *in situ*

Gastrointestinal tract	Remaining percentage					
	0	5	15	30	60	120 min.
Stomach	102.7±5.8	—	—	86.6±2.1	94.1±6.3 (89.0±7.3)	77.1±7.4
Upper intestine	102.4±5.0	79.6±9.3	42.5±6.0	11.5±4.8	— (90.5±6.4)	—
Middle intestine	102.9±3.2	83.9±6.8	50.9±1.6	18.8±2.6	— (92.1±2.4)	—
Lower intestine	100.9±3.1	—	88.1±8.3	70.4±14	70.0±18 (98.6±1.9)	—
Caecum	96.2±7.4	—	100.9±2.3	100.8±14	94.8±6.6 (97.2±1.9)	—
Colon & Rectum	107.6±6.8	—	—	87.7±9.2	50.9±23 (101.4±3.5)	15.1±7.3

The data represent the mean ± S. D. of three rats.

The value in parenthesis represents the mean ± S. D. of remaining percentage after incubation for 60 min. with corresponding gastrointestinal tract segment *in vitro*.

Fig. 2 Gastrointestinal absorption of CINX *in situ*

日間、冷凍の場合は 60 日間とした。現像はコニドール X により、20 °C、5 分間の条件で行なった。

実験結果

1. 吸收

消化管各部位における吸収実験の結果を、CINX 残存率として、Table 1 および Fig. 2 に示した。小腸上部と中部では 30 分後の値が 20% 以下であり、速やかに吸収されたと考えられる。小腸下部、結・直腸でも多少の吸収が認められたが、胃、盲腸では 60 分後でも 90% 以上が残存しており、吸収はわずかで、おないと考えられる。

消化管内の分解の有無をしらべた実験結果は Table 1 のとおりであった。胃、小腸上部、中部で 60 分間に 10% 程度減少したが、その他の部位ではほとんど変化が認められなかった。したがって、CINX の残存率減少は、大部分が吸収に基づくものと考えられた。

2. 排泄経路

2-1. 尿中排泄率

静注後の尿中排泄率を Table 2 に示した。投与後 CINX は速やかに尿中に排泄され、数時間以内に投与量のほぼ全量が回収された。螢光法で測定した CINX 累積尿中排泄率と、放射活性累積排泄率は一致した。

経口投与後の尿中排泄率を Table 3 に示した。いずれの実験においても、24 時間ないし 48 時間の累積排泄率は 90% あるいはそれ以上であり、吸収はほぼ完全で

Table 2 Urinary excretion of CINX after intravenous administration in rats

Experiment	Cumulative excretion (% of dose)										
	0.5	1	2	3	4	6	8	24	48	96	144 hr.
(1) CINX 16 mg/kg N=3	57.95 ± 5.16	82.49 ± 6.01	96.23 ± 4.10	—	100.13 —	100.72 ± 3.07	100.93 ± 3.02	—	—	—	—
(2) ¹⁴ C-CINX 20 mg/kg N=2	36.90 ± 18.55	62.76 ± 27.01	81.14 ± 20.12	87.55 ± 13.22	93.59 ± 5.20	97.89 ± 0.51	—	100.47 ± 4.00	100.58 ± 4.12	100.61 ± 4.14	100.61 ± 4.14

The data represent the mean ± S. D.

Table 3 Urinary excretion of CINX after oral administration in rats

Experiment	Cumulative excretion(% of dose)										
	0.5	1	2	3	4	6	8	24	48	96	144 hr
(1) CINX 10 mg/kg N=3	6.8 ± 0.5	14.1 ± 1.2	30.7 ± 4.8	—	55.5 ± 17.1	60.2 ± 4.4	65.5 ± 9.7	76.9 ± 8.9	95.2 ± 12.3	—	—
(2) CINX 20 mg/kg N=3	9.9 ± 2.1	17.7 ± 9.8	31.7 ± 6.5	—	63.4 ± 7.9	72.9 ± 7.7	89.0 ± 10.2	104.0 ± 1.6	105.3 ± 7.7	—	—
(3) CINX 20 mg/kg N=3	— —	31.5 ± 12.3	47.6 ± 18.9	66.2 ± 15.1	79.6 ± 3.7	82.9 ± 2.1	83.9 ± 2.4	85.3 ± 2.3	— —	— —	— —
(4) CINX 59 mg/kg Suspension N=2	— —	26.5 ± 17.0	53.1 ± 41.4	65.8 ± 38.1	87.4 ± 11.5	92.4 ± 5.5	94.5 ± 3.3	97.2 ± 0.7	— —	— —	— —
(5) ¹⁴ C-CINX 20 mg/kg N=3	— —	28.7 ± 14.5	53.3 ± 4.3	73.4 ± 6.1	82.7 ± 3.6	87.2 ± 2.3	89.3 ± 1.6	91.6 ± 1.2	92.0 ± 1.1	92.0 ± 1.5	92.0 ± 1.8
(6) ¹⁴ C-CINX 20 mg/kg N=3	5.6 ± 0.9	24.8 ± 15.8	42.4 ± 21.7	—	65.0 ± 17.0	—	85.8 ± 5.0	87.6 ± 5.9	90.1 ± 5.0	—	—

The data represent the mean ± S. D.

あった。投与後比較的速やかに吸収排泄され、2時間で30～50%，8時間で大部分が尿中へ移行した。ただし、いずれの実験においても投与後初期の排泄率については、その標準偏差が大きく、ラット個体差の大きいことが推測された。また、Table 3 に示された実験の投与量範囲において、尿中排泄率に大きな変動ではなく、懸濁液投与でも同じく変わらなかった。CINX あるいは¹⁴C-CINX 投与時の結果も大きな差はなく、尿中にはCINX 未変化体のみが存在すると考えられた。

2-2. 胆汁・尿中排泄率

胆管カニューレーションラットにおける静注後の結果をTable 4 に示した。投与後4時間での尿・胆汁中排泄率は各々 92.65%，1.81%であった。4時間以後胆汁に

は検出されなかった。

3. 血中濃度

3-1. 静脈内投与

静脈内投与後の全血中濃度をTable 5, Fig. 3 に示した。5例の平均値についてみると、投与後 CINX は血中から急速に減少し、30分後では2分値の約1/2, 3時間後では約1/20の濃度になった。また、一相性の減少パターンを示した。各々のラットについて、その濃度から生物学的半減期、分布容積を求め、Table 5 に示した。半減期は26～63分の範囲をもち、平均45分であった。この大きなバラツキは、消失速度のラット個体差がかなり大きなものであることを示唆している。分布容積は約300 ml/kgで、CINX は、組織移行性の低い化

Table 4 Biliary and urinary excretion of CINX after intravenous administration in rats (20 mg/kg)

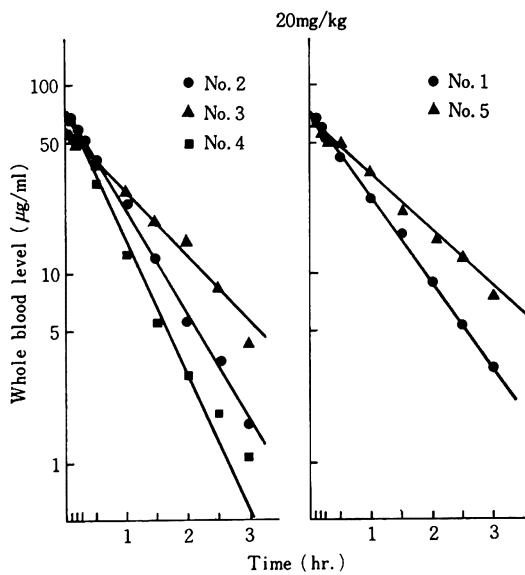
Route of excretion	Cumulative excretion (% of dose)			
	0~0.5	~1	~2	~4 hr
Bile	0.87 ± 0.24	1.32 ± 0.31	1.73 ± 0.70	1.81 ± 0.78
Urine	44.12 ± 12.03	66.15 ± 15.81	86.43 ± 5.83	92.65 ± 3.61

The data represent the mean ± S. D. of five rats.

Table 5 Whole blood levels of CINX after intravenous administration in rats (20 mg/kg)

Rat No.	Whole blood level ($\mu\text{g}/\text{ml}$)									T1/2	Vd
	2	5	15	30 min.	1	1.5	2	2.5	3 hr.	min.	ml/kg
1	66.9	60.2	52.1	41.3	24.9	15.6	8.9	5.4	3.2	42	296
2	68.6	59.6	52.6	38.5	23.5	11.6	5.6	3.4	1.7	38	292
3	56.5	47.6	—	37.5	26.8	18.4	14.9	8.4	4.3	57	368
4	64.3	52.9	—	29.8	12.9	5.6	2.9	1.8	1.1	26	310
5	65.0	54.5	50.5	49.7	34.2	22.0	15.9	12.2	7.9	63	319
Mean	64.2	54.9	51.7	39.3	24.4	14.6	9.6	6.2	3.6	45	317
S. D.	± 4.6	± 5.2	± 0.8	± 7.2	± 7.7	± 6.3	± 5.7	± 4.2	± 2.7	± 15	± 30

Fig. 3 Whole blood levels of CINX after intravenous injection in rats



合物であることが予想された。

3-2. 経口投与

経口投与後の血漿、全血中濃度を Table 6, Fig. 4, 5

に示した。10 mg/kg では、ピーク時間は 30 分以内にあり、30 分での濃度は 39.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、2 時間ではその 1/2、8 時間では約 1/20 に減少し、24 時間以後は検出限界以下であった。20 mg/kg でも、その傾向は変わらず、投与量に応じた血漿中濃度を示した。CINX あるいは ^{14}C -CINX いずれの投与でも、両者の血漿中濃度に大きな差はない、血漿中の放射活性は未変化 CINX に等しいことを示唆するデーターが得られた。 ^{14}C -CINX 投与後の試料について、血漿中および全血中濃度を測定したが、その全血/血漿の濃度比は 0.6 前後の値が得られた。したがって血液中の放射活性の大部分は血漿中に存在していると考えられた。

4. 体内分布

^{14}C -CINX 経口投与後の各組織濃度を Table 7, Fig. 6 に示した。CINX は経口投与後速やかに吸収され、0.5~1 時間でピークに達し、その後急速に減少し、8 時間後にはほとんど消失した。24 時間後には大部分の組織で、もはや検出されなかった。この減少パターンは血液とよく一致しており、特異的な蓄積傾向を示した組織はなかった。各組織濃度は血漿に較べかなり低く、ピーク時でも、その 1/3 の濃度にも達しなかった。ただし、腎臓は血漿と同程度の濃度を示し、他の組織と異なって高い移行性を示した。すべての組織を濃度の順に並

Table 6 Blood levels of CINX after oral administration in rats

Dose		Blood level ($\mu\text{g}/\text{ml}$)							
		0.5	1	2	4	6	8	24	48 hr
CINX 10 mg/kg	plasma	39.2 \pm 5.5	22.8 \pm 10.9	19.1 \pm 7.5	4.0 \pm 2.3	2.6 \pm 1.7	2.1 \pm 1.4	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
CINX 20 mg/kg	plasma	65.8 \pm 18.2	58.1 \pm 13.1	35.8 \pm 5.6	28.5 \pm 12.7	10.4 \pm 8.2	3.0 \pm 0.8	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
$^{14}\text{C-CINX}$ 20 mg/kg	plasma	66.4 \pm 23.2	47.9 \pm 23.5	31.2 \pm 17.2	27.1 \pm 24.4	—	1.3 \pm 0.6	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.1
	whole blood	40.1 \pm 16.2	31.4 \pm 15.9	19.6 \pm 7.8	15.6 \pm 13.6	—	0.6 \pm 0.2	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
	whole blood/plasma	0.60	0.66	0.63	0.58	—	0.46		

The data represent the mean \pm S.D. of three rats.

Fig. 4 Plasma levels of CINX after oral administration in rats

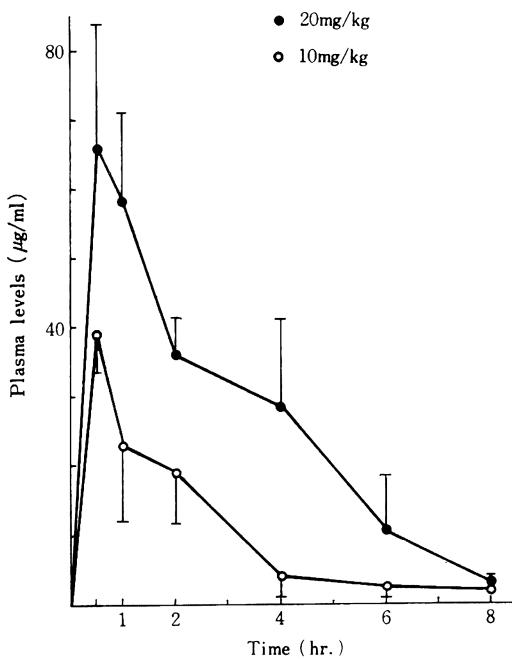
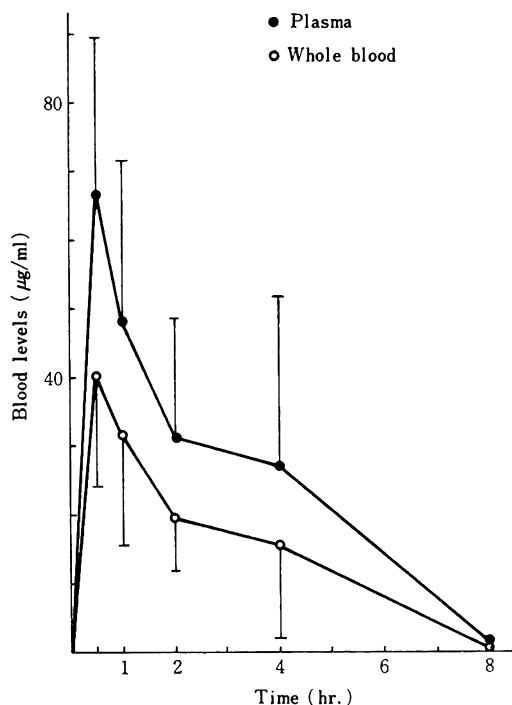


Fig. 5 Blood levels of $^{14}\text{C-CINX}$ after oral administration in rats (20 mg/kg)



べると、血漿 \geq 腎臓 $>$ 全血 $>$ 肺、肝臓、前立腺、心臓、脾臓、頸下腺、リンパ節 $>$ 気管、皮膚、副腎、脾臓、下垂体、甲状腺、筋肉、精巣 $>$ 脳、脂肪となった。同時に示した胃内残存率は投与後 30 分で 21.0 %と急速に減少しており、速い吸収が示唆された。

Table 8 には、この実験に使用したラット 21 例の個体別回収率を示した。平均総回収率は 95.43% であった。

5. 反復投与

20 mg/kg 1 日 1 回反復経口投与後の尿中排泄率および血漿中濃度を Table 9, 10 に示した。7 回目投与後の尿中排泄率は 30 分で 19.3%，2 時間で 42.8%，8 時間で 79.4%，24 時間で 84.5% になった。さらに 21 回目投与後では、それぞれ 18.3%，53.4%，68.5%，

Table 7 Tissue levels of CINX after oral administration in rats (20 mg/kg)

Tissue	Concentration ($\mu\text{g/g}$ or ml)						
	0.5	1	2	4	8	24	48 hr
Brain	4.4 ± 1.5	7.4 ± 8.9	2.0 ± 0.7	1.5 ± 1.5	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Hypophysis	8.5 ± 6.0	10.1 ± 9.5	1.7 ± 0.7	5.7 ± 5.6	1.1 ± 1.8	0.3 ± 0.3	0.0 ± 0.0
Lymph node	16.3 ± 10.6	13.8 ± 10.7	8.6 ± 6.7	5.8 ± 4.7	0.5 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1
Submaxillary g.	17.1 ± 10.5	15.3 ± 12.1	8.9 ± 6.8	6.3 ± 6.1	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Thyroid	9.4 ± 8.7	10.1 ± 8.7	6.1 ± 5.7	3.7 ± 3.1	0.6 ± 0.7	0.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0
Thymus	10.5 ± 5.2	4.4 ± 1.5	4.9 ± 2.5	3.0 ± 2.7	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Trachea	10.0 ± 9.3	13.6 ± 13.6	7.4 ± 5.5	5.2 ± 4.1	0.4 ± 0.4	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.1
Heart	19.8 ± 8.3	15.4 ± 10.5	9.6 ± 5.4	6.5 ± 6.0	0.4 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Lung	24.1 ± 10.8	25.1 ± 15.5	14.0 ± 10.3	8.6 ± 7.6	0.5 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Liver	22.5 ± 10.9	17.8 ± 10.6	10.2 ± 4.4	6.8 ± 5.6	0.5 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Spleen	11.5 ± 6.3	8.7 ± 5.6	5.5 ± 2.8	3.4 ± 2.4	0.2 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Pancreas	19.7 ± 10.8	13.8 ± 5.2	9.2 ± 2.7	5.7 ± 4.3	1.5 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Kidney	43.6 ± 25.5	51.0 ± 24.7	37.2 ± 25.1	31.3 ± 27.1	1.8 ± 1.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.1
Adrenal	12.9 ± 10.5	9.4 ± 7.2	5.7 ± 3.2	3.8 ± 3.2	0.3 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Prostate	20.0 ± 23.2	17.3 ± 11.4	15.2 ± 18.8	6.8 ± 4.8	0.5 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Muscle	8.2 ± 4.7	6.4 ± 4.7	5.0 ± 1.9	2.6 ± 2.3	0.2 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Skin	13.5 ± 6.1	12.5 ± 7.6	8.2 ± 5.4	5.3 ± 4.6	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Adipose tissue	3.2 ± 2.1	2.9 ± 1.0	3.5 ± 1.5	1.9 ± 1.2	1.3 ± 2.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Testis	7.0 ± 3.2	7.3 ± 4.0	5.4 ± 2.4	4.1 ± 3.2	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Whole blood	40.1 ± 16.3	31.4 ± 16.0	19.6 ± 7.8	15.6 ± 13.6	0.6 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Plasma	66.4 ± 23.3	47.9 ± 23.5	31.2 ± 17.2	27.1 ± 24.4	1.3 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Stomach a)	21.0 ± 19.9	1.0 ± 0.5	5.7 ± 7.8	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0

The data represent the mean ± S.D. of three rats.

a) : % of dose

77.8%となり、若干のバラツキは認められたが、投与回数による尿中排泄率の大きな変化はなかった。また、1回投与後の尿中排泄率とも大きな差ではなく、反復投与によって、排泄の遅延や蓄積などの著明な変化は起こらなかった。

7回目投与後の血漿中濃度は、30分でピークを過ぎ、その後減少して8時間でほぼ消失し、24時間では検出されなかった。21回目投与後の血漿中濃度も同じパターンで減少し、その濃度も同じ程度であった。また、投与時(0時間)には前日の投与によるCINXは検出されなかった。1回投与と比較して、その減少パターンや濃度に大きな変化はなかった。

21回目投与のラット肝臓、腎臓中のCINX濃度も1回投与のそれと変わらず、蓄積傾向は認められなかつた。

6. 尿中代謝物の検討

CINX投与後の尿試料のTLCを行ない、UV、螢光法で検討したところCINX未変化体のみ検出された。

また、¹⁴C-CINX投与尿のTLC-ARGでもCINXと同じRf値を持つ放射性スポットのみが認められ、代謝物は検出されなかった。これは、CINX投与後の未変化体尿中排泄率や血漿中濃度が¹⁴C-CINX投与後の放射活性排泄率および濃度とほぼ等しいところから予想されたことと一致した。

7. 全身オートラジオグラフィー

7-1. 静脈内投与後の体内分布

静脈内投与後の放射活性の分布は、雄雌の間には著しい差は認められなかった。Photo. 1に投与6分後の雄および、Photo. 2に未妊娠雌ラットのオートラジオグラムを示す。投与6分後では腎臓、尿、胆汁および小腸内容物に血液より高い放射活性が認められたが、その他の臓器、組織では血液より高い放射活性は認められなかった。気管、子宮、卵巢、肝臓、肺、リンパ液、胸腔内液、心筋などが血液について強い放射活性を示し、それらより若干弱い放射活性が、副腎、脾臓、唾液腺、皮膚筋膜、下垂体、甲状腺、脾臓、骨格筋、消化管壁、骨

Fig. 6 Tissue levels of CINX in rats

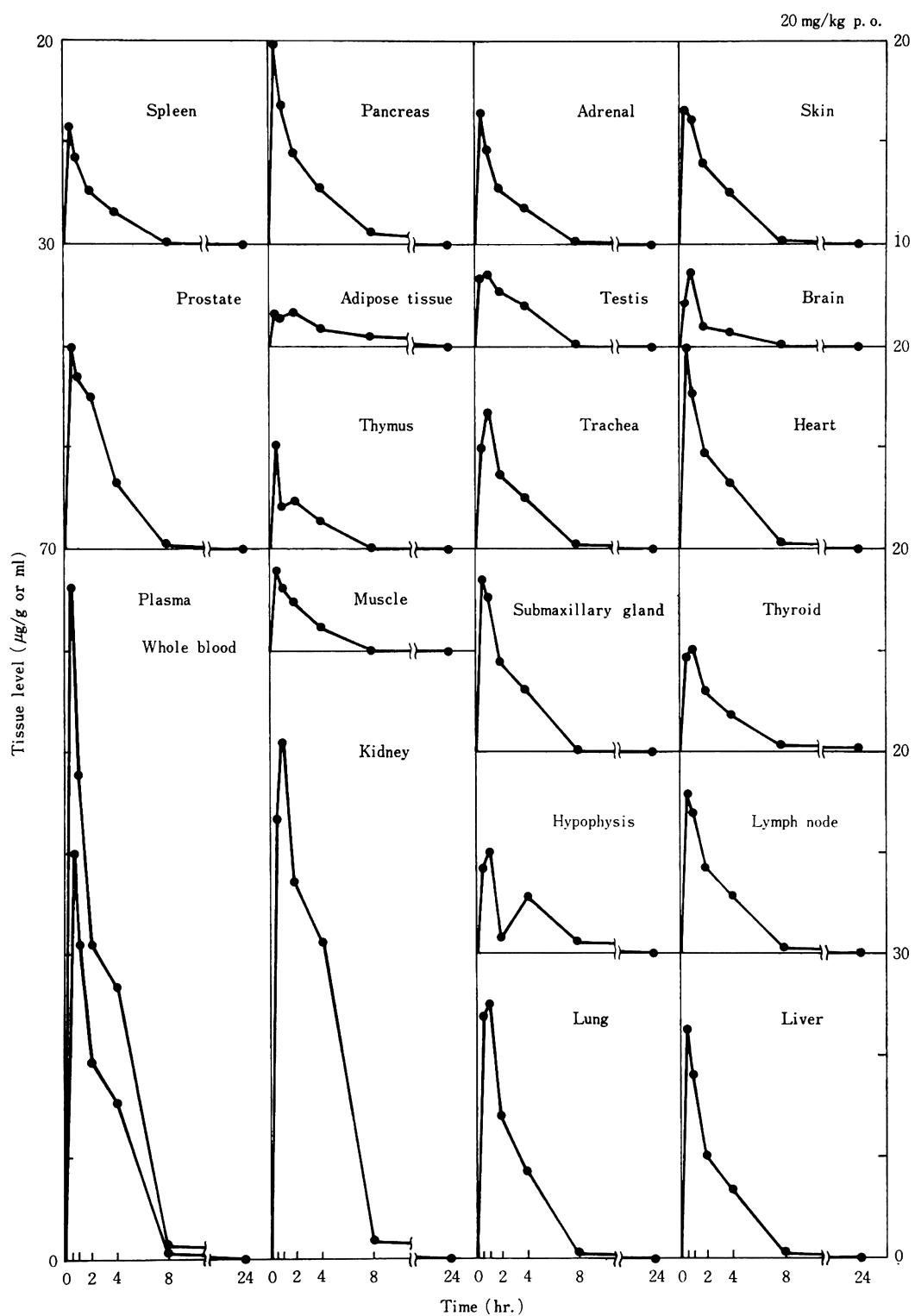


Table 8 Total recovery of CINX after oral administration in rats (20 mg/kg)

Rat No.	Hr.	% of dose						
		Urine	Feces	Tissue	Carcass	Blood	Total	
1	0.5	4.50	0.07	28.89	63.83	8.51	105.80	
2		6.25	0.00	11.97	68.33	8.12	94.67	
3		6.12	0.01	46.37	33.74	3.20	89.44	
4	1	11.55	0.03	11.36	73.89	7.50	104.33	
5		42.21	0.00	5.44	29.89	3.83	81.37	
6		20.55	0.00	7.28	61.69	4.72	94.24	
7	2	19.17	0.00	8.50	58.18	5.00	90.85	
8		46.00	0.01	6.05	30.96	3.45	86.47	
9		62.13	0.25	2.80	23.13	2.45	90.76	
10	4	56.28	0.00	5.31	40.55	4.48	106.62	
11		54.22	0.00	4.89	32.00	3.42	94.53	
12		84.64	0.00	0.34	6.52	0.21	91.71	
13	8	80.70	0.00	0.42	22.75	0.09	103.96	
14		90.81	0.02	0.11	13.14	0.04	104.12	
15		85.79	0.00	0.62	7.10	0.13	93.64	
16	24	86.12	2.05	0.10	0.55	0.00	88.82	
17		94.08	6.73	0.01	0.06	0.00	101.42	
18		82.67	4.91	0.06	0.61	0.00	88.25	
19	48	96.00	8.16	0.01	0.38	0.00	104.55	
20		87.21	6.68	0.06	0.36	0.00	94.31	
21		87.08	6.60	0.01	0.44	0.00	94.13	
						Mean	95.43	
						S. D.	±7.23	

Table 9 Urinary excretion of CINX after single and repetitive administration in rats

No. of dosing	Urinary excretion (% of dose)							
	0.5	1	2	4	6	8	24	48 hr
1	9.9 ± 2.1	17.7 ± 9.8	31.7 ± 6.5	63.4 ± 7.9	72.9 ± 7.7	89.0 ± 10.2	104.0 ± 1.6	105.3 ± 7.7
7	19.3 ± 10.0	25.1 ± 6.3	42.8 ± 7.1	64.8 ± 9.7	88.8 ± 6.5	79.4 ± 15.9	84.5 ± 7.3	84.0 ± 2.6
21	18.3 ± 4.9	34.2 ± 3.8	53.4 ± 2.7	58.7 ± 7.4	64.4 ± 4.9	68.5 ± 12.0	77.8 ± 5.6	83.2 ± 2.4

The data represent the mean ± S. D. of three rats.

脳、骨膜、精巣などに認められた。脳、脊髄実質にはほとんど放射活性は認められなかったが、血液に由来すると考えられる局在した放射活性が松果体や脈絡叢の近くにみられた。

投与 30 分後のオートラジオグラムは Photo. 3 に示すとおり、投与 6 分後に比較して全般的に放射活性は低下していたが、ただ腎臓と尿および消化管内容物は依然として強い放射活性を示した。

Table 10 Plasma levels of CINX after single and repetitive administration in rats

No. of dosing	Plasma levels ($\mu\text{g}/\text{ml}$)							
	0	0.5	1	2	4	6	8	24 hr
1	—	65.8 \pm 18.2	58.1 \pm 13.1	35.8 \pm 5.6	28.5 \pm 12.7	10.4 \pm 8.2	3.0 \pm 0.8	0.0 \pm 0.0
7	0.0 \pm 0.0	55.1 \pm 2.3	44.1 \pm 21.1	38.6 \pm 0.6	13.6 \pm 8.8	3.2 \pm 2.9	1.1 \pm 0.1	0.0 \pm 0.0
21	0.0 \pm 0.0	60.9 \pm 5.3	34.1 \pm 4.1	20.2 \pm 4.6	16.5 \pm 10.6	6.1 \pm 4.2	1.7 \pm 0.8	0.0 \pm 0.0

The data represent the mean \pm S. D. of three rats.

投与 1 時間には、腎臓と消化管内容物の放射活性はあまり変化がなく、血液にもまだかなり強い放射活性が残存していたが、全般的には放射活性はさらに減弱した (Photo. 4)。肝臓、唾液腺、リンパ液、心筋、睪丸、皮膚、骨格筋膜などに弱い放射活性が認められ、骨格筋にはきわめて弱い放射活性が認められるのみであった。投与 2 時間後には、強い放射活性は消化管内容物に認められるのみで、腎臓の放射活性も著しく減弱した。血液、肝臓、肺にはきわめて弱い放射活性が認められた。

また投与 24 時間後には、消化管内容物に痕跡程度の放射活性が認められたのみであった。

妊娠ラット（妊娠 19 日目）に ^{14}C -CINX を静脈内投与した場合、母獣の体内分布は非妊娠ラットとほとんど同じであった。胎仔への放射活性の移行は、投与 6 分後すでに認められたが、放射活性はきわめて弱いものであった (Photo. 5)。胎仔の中でも血液と腎臓にはやや強い放射活性が認められ、脳にはほとんど放射活性が認められなかった (Photo. 6) ことは、母獣の場合とよく

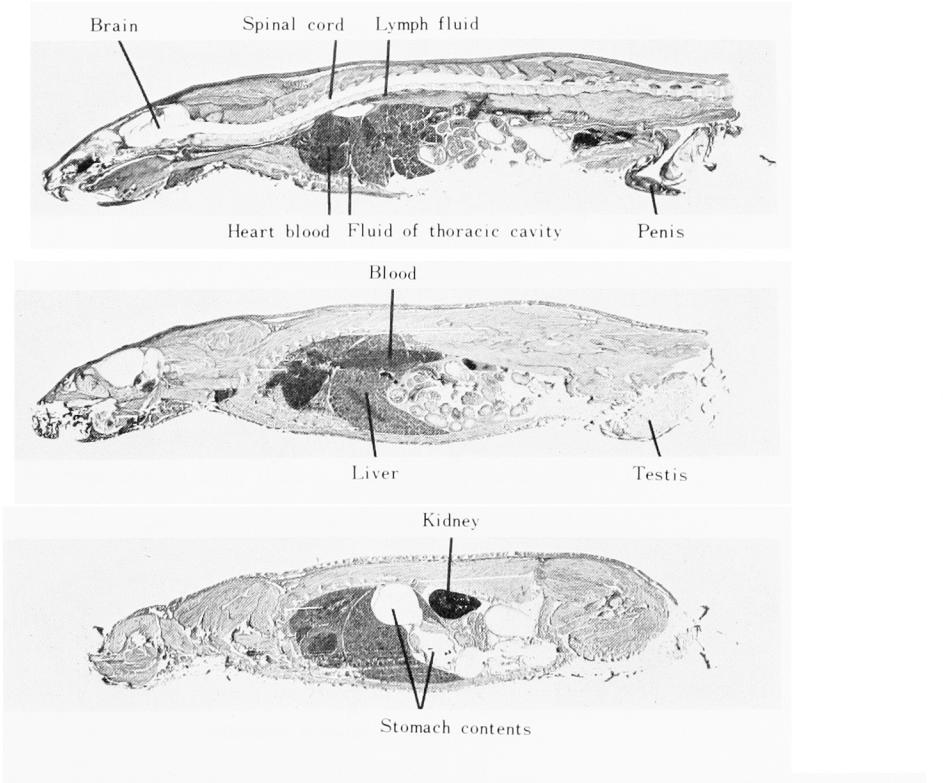
Photo. 1 Autoradiogram of male rat (Cinoxacin- ^{14}C i.v. 6 min.)

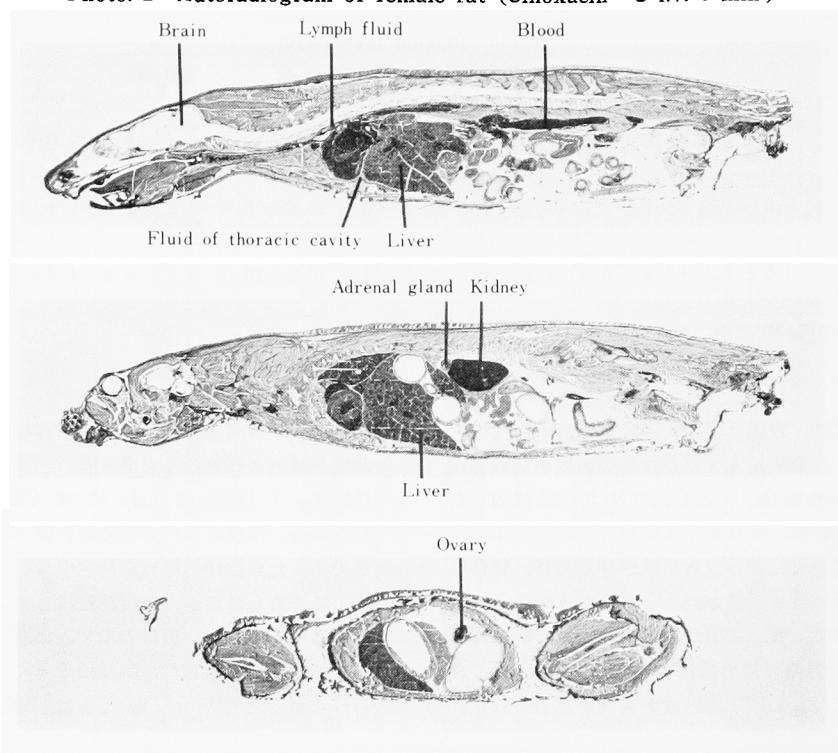
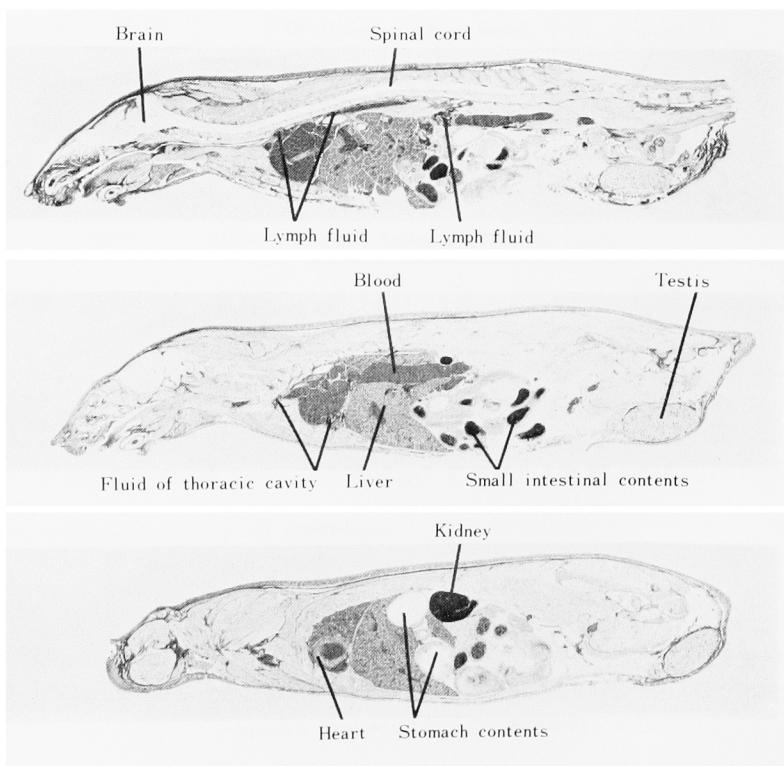
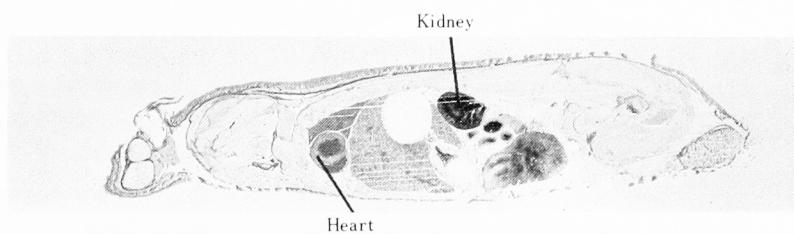
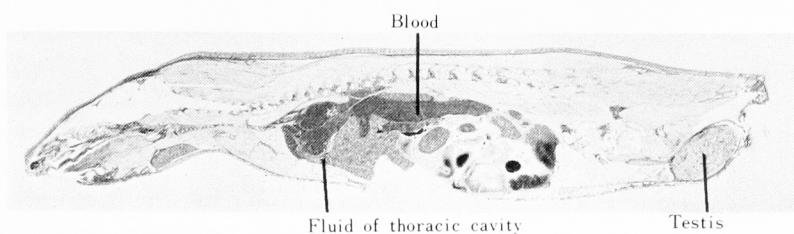
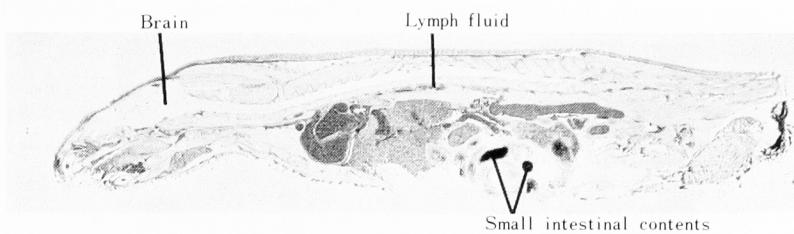
Photo. 2 Autoradiogram of female rat (Cinoxacin-¹⁴C i.v. 6 min.)Photo. 3 Autoradiogram of male rat (Cinoxacin-¹⁴C i.v. 30 min.)

Photo. 4 Autoradiogram of male rat (Cinoxacin-¹⁴C i.v. 60 min.)Photo. 5 Autoradiogram of pregnant rat (19 days of gestation) (Cinoxacin-¹⁴C i.v.)

6 min.

Heart blood Placenta Fetal kidney
Placenta Fetal heart blood

30 min.

Placenta Fetus Placenta

Photo. 6 Enlarged autoradiogram of pregnant rat shown in Photo. 5
(Cinoxacin-¹⁴C i.v. 6 min)

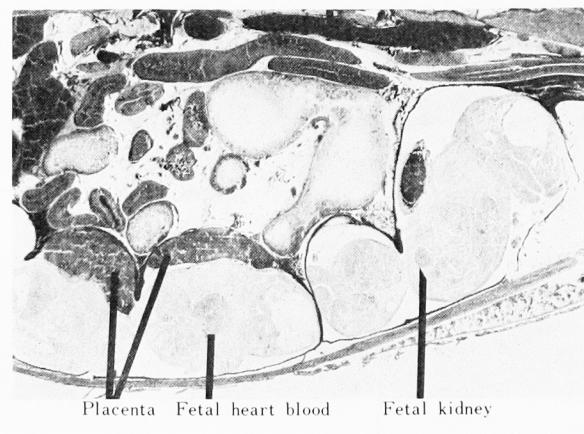
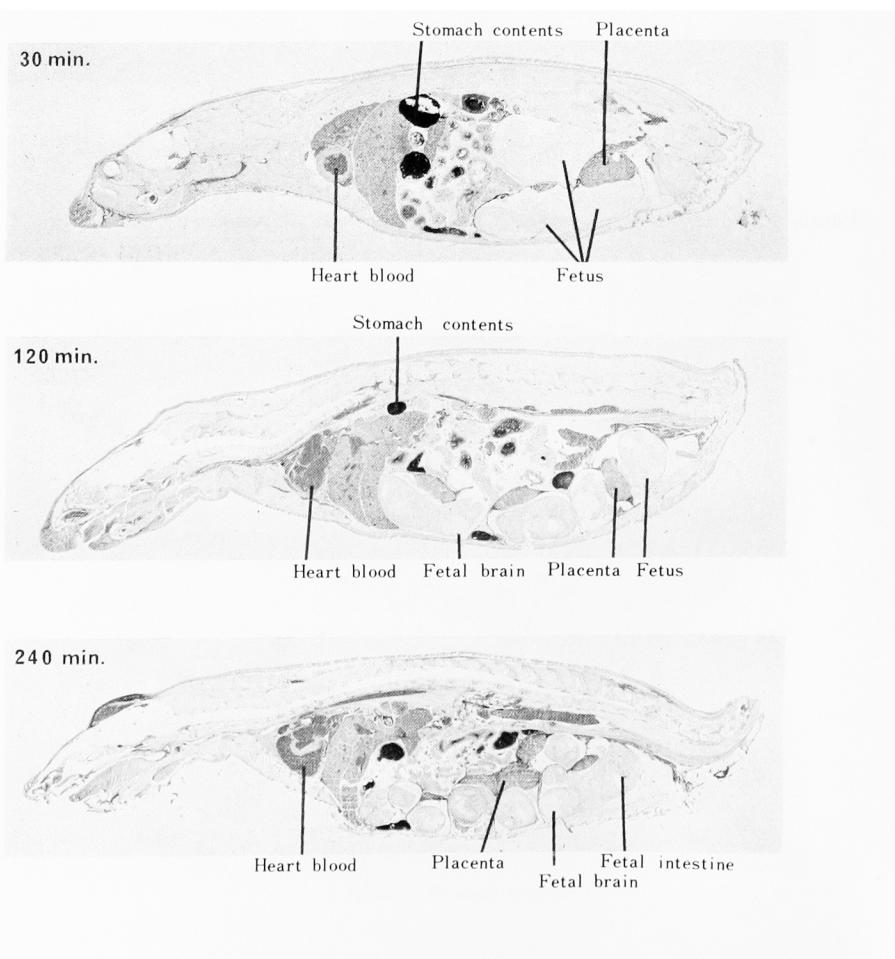


Photo. 7 Autoradiogram of pregnant rat (20 days of gestation)
(Cinoxacin-¹⁴C p.o.)



似ていた。投与 30 分後には、母獣の腎臓および血液を除く諸臓器組織中の放射活性は、全般に著しく減弱したにもかかわらず、胎仔の放射活性は投与 6 分後とほとんど変わらないか、またはわずかに減弱した程度であった。したがって胎仔中の放射活性の減弱は、母獣に比べるとわずかに遅いといえる。

7-2. 経口投与後の体内分布

経口投与後の ^{14}C -CINX は速やかに吸収され、投与 15 分後には腎臓および血液に強い放射活性が認められた。ただこの場合も投与経路である胃、十二指腸腔内に極めて強い放射活性が残存しているが、静脈内投与の場合と同じく、腎臓以外には血液より強い放射活性を示す臓器組織は見出せなかった。投与 30 分後には腎臓および血液が極めて強い放射活性を示し、そのほか、肝臓、肺、気管、心筋、子宮、胎盤、リンパ液などが比較的強い放射活性を示し、唾液腺、皮膚、副腎、脾臓、骨髄、骨格筋、下垂体などが中等度ないし弱い放射活性を示し、脳・脊髄にはほとんど放射活性は認められなかつた。このように消化管内容物以外の体内分布は、静脈内投与の場合とほとんど差違がなかつた。

投与 2 時間後では胃内容物には依然として極めて強い放射活性が認められるとともに、強い放射活性の小腸への移行が著明となつた。腎臓では投与 30 分後と同等か、またはやや強い放射活性がみられたが、それ以外の臓器組織ではいずれも放射活性はやや減弱していた。投与 4 時間後には強い放射活性をもつた消化管内容物はさらに下部に移行したが、胃腔内にもなお強い放射活性が残存していた。消化管内容物の他には、腎臓に強い放射活性と、肝臓、肺、血液、皮膚、筋膜などに弱い放射活性が認められた。投与 8 時間後には胃および腸管内容物の放射活性もかなり減弱し、腎臓に弱い放射活性と、血液と肺に極めて弱い放射活性が認められるのみとなつた。投与 24 時間後には、下部腸管内容物に極めて弱い放射活性が認められるのみであった。

妊娠動物での胎仔への移行は、妊娠 11 日目と妊娠 20 日目の動物について検討した。妊娠 11 日目の場合には胎仔を包む子宮壁、羊膜などには母体血液の放射活性の推移にはほぼ平行して、やや強い放射活性が認められたが、胎仔への明確な放射活性の移行は認められなかつた。妊娠 20 日目の場合には、Photo. 7 に示すように、投与 30 分後に弱い放射活性が胎仔に認められ、投与 2 時間後および 4 時間後では明確な放射活性が認められた。胎仔内では、脳にほとんど放射活性はなく、腎臓と消化管にやや強い放射活性が認められ、他はほとんど一様であった。したがって胎仔内での放射活性の分布は静脈内投与の場合と同じであった。胎仔に移行した放射活

性の消失も、静注の場合と同様に、母獣の主要臓器に比べやや遅く、投与 4 時間の放射活性は 2 時間後のそれとほとんど同じか、またはやや弱い程度であった。しかしその後の胎仔の放射活性の消失は、母獣血液とほぼ平行し、投与 8 時間後には痕跡程度になり、24 時間後にはほぼ完全に消失していた。

考 察

CINX は経口投与後、速やかに吸収され、短時間に血中濃度のピークを形成した。 ^{14}C -CINX を投与した時の胃内残存率が 30 分で 20%、1 時間で数%であること、および、*in situ* 吸収実験の結果から、CINX は経口投与後、速やかに胃から腸へ排出され、主として小腸上部即ち十二指腸から吸収されると考えられた。

ラットにおいては、その主排泄経路は腎臓経由尿中への排泄で、静注後も経口投与後も、投与量のほとんどすべてが 24 時間以内に回収された。したがって、経口投与後の吸収率は良好であると思われた。投与量が 10 mg/kg から 59 mg/kg の範囲では尿中排泄率に変化が認められなかつた。また、投与剤型が水溶液から懸濁液に変わっても、排泄速度、排泄率は共に変わらず、平均粒子径 11 μm に調製した懸濁液では、吸収過程において、CINX の水への溶解度が極めて低いにもかかわらず、水に対する溶解性が CINX 消化管吸収の律速過程になつてゐないことが明らかになつた。

胆管カニューレーションラットにおける静注後、4 時間までの胆汁中排泄率は 2% 弱であり、少量ではあるが胆汁排泄の存在が示唆されたが、4 時間以後は胆汁には検出されず、腸肝循環はあるとしてもきわめて微量であると考えられた。

静注後の全血中濃度から求めた生物学的半減期は平均 45 分であったが、ラット個体によって変動した。経口投与後の血漿中濃度は、投与後 30 分以内にピーク値に達し、その後急速に消失した。また、全血中濃度との比較から CINX の血球への移行は少なかつた。

組織分布については、全身オートラジオグラフィー、組織中濃度の測定により検討した。経口投与後 30 分前後で、各組織ともピーク値を示し、時間の経過とともに速やかに減少した。その減少パターンは血液と同じであった。腎臓では血液と同程度の値を示したが CINX の主排泄経路が腎経由尿中への排泄であることとよく一致していた。腎臓以外の組織では、血漿中濃度よりもかなり低く、CINX のラット血漿蛋白結合率が 90%²⁾ 以上であり、血漿中非結合型濃度の低いことからも、組織移行性の小さいことが裏づけられた。静注後の組織分布も、経口投与のそれと変わらず、長時間、特定の組織に

貯留するような傾向は示さなかった。妊娠ラットにおいては、母獣の組織分布は、非妊娠ラットの場合と同じであった。胎仔および胎仔組織への移行は極めて低かったが、その中では腎臓や血液に他の組織よりもやや高い分布が認められ、その消失は母獣にくらべやや遅かったが、投与後24時間以内には消失した。したがってCINXの胎仔移行性は極めて低いことが明らかになった。

反復投与後の尿中排泄率、血漿中濃度を1回投与のそれと比較すると、大きな差は認められず、その体内動態は反復投与によって大きな変化を受けなかった。

CINXおよび¹⁴C-CINX投与後の尿中排泄率、血中濃度について、螢光法による未変化体測定値と放射活性測定法の値は良く一致した。また、¹⁴C-CINX投与後採取した尿のTLC-ARGからも放射活性のすべては、CINX未変化体に相当することが明らかになった。ラットでは家兔や他の動物³⁾と異なって代謝されずに未変化体のまま、すべて尿中へ排泄された。

QUAY⁴⁾らは、イヌにおいて、尿のpHがCINXの尿中排泄に大きな影響を与えると報告した。ラットにおいてもまた同じことが考えられ、今回の実験のように尿pHを意識的にコントロールしていない状態では、尿pHはかなり変動すると思われる。この変動がCINXの体内動態に影響をおよぼし、結果的に、本実験でみら

れたようなバラツキの比較的大きい、つまり、比較的大きな標準偏差をもつ値となったと推測される。

謝 辞

本研究の実施にあたり、多大の御協力を得た、野村総合研究所、生体科学研究所に対して感謝の意を表します。また、当研究所において標識化合物を合成された、渋 均博士、妊娠ラットを提供していただいた長谷川靖彦博士、ならびに実験に際し、積極的な御協力をいただいた、仲川ひろみ、中西真智子両氏に対して、深く感謝いたします。

文 献

- 1) NAGASAKI T. ; Y. KATSUYAMA & H. MINATO ; Syntheses of radioactive and stable isotope-labelled 1-ethyl 1-6, 7-methylenedioxy-4 (1H)-oxocinnoline-3-carboxylic acid (Cinoxacin). J. Labelled Compd. Radiopharm. 12 : 409, 1976
- 2) 翠野義博他；未発表データ
- 3) 菅野浩一、岡部 博、乘鞍 良、小池正博、川本敬子：Cinoxacin の吸収・分布・代謝・排泄 第2報 各種動物における体内動態。Chemotherapy 28 (S-4) : 90~103, 1980
- 4) QUAY J. F. ; R. F. CHILDERS, D. W. JOHNSON, J. F. NASH, & J. F. STUCKY : Cinoxacin in female mongrel dogs : effect of urine pH on urinary drug excretion and correlation of *in vitro* characteristics of oral dosage forms with bioavailability. J. Pharm. Sci. 68(2) : 227~232, 1979

ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM AND EXCRETION OF CINOXACIN

THE FIRST REPORT : ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM AND EXCRETION OF CINOXACIN IN RAT

YOSHIHIRO TOCHINO, KOICHI SUGENO, MASAMI DOTEUCHI, HIROSHI OKABE,
RYO NORIKURA and HIDEO TANAKA

Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

Cinoxacin (CINX) was rapidly and almost completely absorbed by rats after oral administration. The absorption occurred chiefly in the upper and middle parts of the small intestine in *in situ* experiments.

After oral as well as intravenous dosing, approximately 100% of the CINX was excreted in the urine as unchanged drug. In rats having cannulated bile ducts, only 2% of the CINX was excreted in the bile after intravenous administration.

The biological half-life of CINX, estimated from whole blood levels after intravenous administration, ranged from 26 to 63 minutes with a mean of 45 minutes. There was significant variability among rats in the elimination rate. Most of the CINX in rat blood was found in the plasma fraction.

After oral administration, the plasma level of CINX reached maximum within 30 minutes and thereafter declined rapidly. The plasma concentration of CINX at 8 hours after oral dosing was about one-twentieth of the maximum level and at 24 hours no CINX was detected.

The peak tissue level was observed at 30~60 minutes after oral administration. In most tissues, the CINX concentration was lower than the plasma level and decreased in a similar manner to that in plasma. Tissue distribution was in the order of plasma \geq kidney > whole blood \gg lung, liver, prostate, heart, pancreas, submaxillary gland, lymph node > trachea, skin, adrenal, spleen, pituitary, thyroid, muscle, testis > brain, fat.

In pregnant rats, the distribution and elimination of CINX were similar to those found in male rats. The distribution of CINX in the fetus was very low.

No accumulation in tissues nor delay of excretion was observed after repeated oral administration.

Survey of urinary excreta by TLC after administration of CINX and ^{14}C -CINX indicated that biotransformation of CINX scarcely occurred in rats.