6059-S のラット，イヌ，サルにおける体内挙動

菅野浩一・岡部　博・田中日出男・乗松　良
塩野義製薬株式会社研究所

ラット，イヌおよびサルにおける 6059-S の体内挙動について検討を行なった。

^{14}C-6059-S 静脈内投与ラットにおける放射活性排泄率は，尿中に約 75%，糞中に約 25% であった。胆管カニュレーションラットにおける排泄率も尿中に約 75%，胆汁中に約 25% であった。この排泄率は投与量（5，20，40 mg/kg）によって変化しなかった。呼気への排泄も腸肝循環の可能性もほとんどないと考えられる。

イヌおよびサルでは，6059-S のほとんど大部分が尿中に排泄され，胆汁中排泄率は 1～2% 程度にすぎなかった。

ラットにおける血中放射活性濃度は，静注後急速に減少し，2 時間後には投与 2 分後の約 1/20 の濃度になった。その後やや緩やかな減少を示した。血中濃度は投与量に比例し，5～40 mg/kg の範囲では線形性が認められた。また，放射活性のほとんどが血漿中に存在していた。血漿中の未変化体は二相性の減少パターンを示し，その生物学的半減期は 21 分，血漿クリアランスは 8.8 ml/kg/min であった。

イヌおよびサルにおいても血漿中未変化体は二相性の減少パターンを示した。しかし，生物学的半減期はイヌでは 66 分，サルでは 63 分，血漿クリアランスはイヌで 2.21 ml/kg/min，サルで 1.98 ml/kg/min であり，ラットと比較するとかなりの差が認められた。

^{14}C-6059-S 投与ラットにおける組織中放射活性濃度は，血液と同様に投与後急速に減少し，2 時間以後やや緩かに減少した。腎臓に最も高濃度の分布が見られたが，腎臓以外の組織中濃度は血漿よも低い値であった。それらの濃度の順位は腎臓＞血漿＞肺＞肝，皮膚，リンパ節，顎下腺，心臓，気管，膵臓，甲状腺，下垂体＞精巣，脾臓，前立腺，筋肉，胸腺＞脳，脂肪の順であり，すべての組織において特異な蓄積は観察されなかった。

ラットにおける血漿中未変化体，組織および尿中放射活性濃度は，抗菌活性測定法により得られた値とよく一致していた。

妊娠ラットにおける体内分布は，組織中濃度も，消失パターンも雄性ラットの場合と同様であった。胎仔組織中濃度は母獣の組織中濃度に比べて極めて低い値であった。

ラットにおいて ^{14}C-6059-S 20 mg/kg/day 7 日間の反復投与実験を行なった。24 時間毎の尿，糞中放射活性排泄率は 1 回投与の場合と同様で，反復投与中一定の値を示し，排泄の遅延は認められなかった。血漿中放射活性は，1 回投与の場合と同様のパターンで速かに消失した。未変化体濃度から算出した生物学的半減期は 21 分，血漿クリアランスは 9.4 ml/kg/min で，1 回投与の値と変らなかった。反復投与後の体内分布も 1 回投与の場合と比較して特に変化がなく，貯留を示すような組織は認められなかった。

代謝物について，TLC-バイオオートグラフィーあるいは TLC-オートラジオグラフィーにより検討を行なった。ラット，イヌ，サルの尿および胆汁中に抗菌活性を有する代謝物は検出されなかった。ラットについては，胆汁中に抗菌活性を持たない 6059-S よりも極性の高い代謝物の存在が示唆されたが，ラット，イヌ，サルいずれの動物種においても 6059-S の尿，胆汁中回収率が 90% 以上であることから，6059-S はそのほとんどが未変化のまま体外に排泄されると考えられる。

緒　　言

6059-S は当研究所において合成され[1]，優れた抗菌活性を有する[2]新しい β-ラクタム系抗生物質である。各種実験動物における 6059-S の吸収，分布，代謝，排泄については，抗菌活性による濃度測定を行ない，主として Cefazolin を対照薬として比較検討した結果を先に報告した[3]。

今回，我々は 6059-S の体内挙動を更に詳細に知る目的で，^{14}C-標識体を用いて，ラットにおける尿，糞，胆汁中排泄率，血中濃度，組織中濃度を測定し，抗菌活性測定と放射活性測定の結果を比較検討した。また，反復投与時の体内挙動，妊娠ラットの組織中濃度，胎仔移行性などについても検討を加えた。

更に，非標識体を投与したイヌ，サルの尿中排泄率，血中濃度については抗菌活性測定の他に，高速液体クロマトグラフィ

ーを用いて測定し，ラット，イヌ，サルにおける Pharmacokinetic parameter の比較検討を行なった。

また，尿，胆汁中代謝物については TLC-オートラジオグラフィーおよびバイオオートグラフィーにより検討を行なった。以下，これらの結果について報告する。

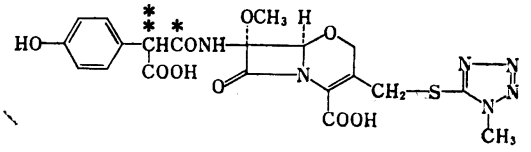
実験方法

1. 投与検体

(1—1) 標識化合物

^{14}C-標識化合物は当研究所で合成された (6R, 7R)-7-[1-^{14}C-2-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl) acetamido]-7-methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl-thio) methyl]-8-oxo-5-oxa-1-azabicyclo [4. 2. 0.] oct-2-ene-2-carboxylic acid, 比放射能 13.0 μCi/mg, 放射化学的純度 98% 以上のもの (1-^{14}C-6055) を主として用い，組織分布に関する一部の実験では，塩酸加熱処理による動物尿体可溶化の際に標識位置の炭素が脱離することを考慮して，(6R, 7R)-7-[2-^{14}C-2-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-7-methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl-thio) methyl]-8-oxo-5-oxa-1-azabicyclo [4. 2. 0.] oct-2-ene-2-carboxylic acid, 比放射能 17.7 μCi/mg, 放射化学的純度 98% 以上のもの (2-^{14}C-6055) を使用した (Fig. 1)。

Fig. 1 Structure and labeled position of ^{14}C-6055-S



* 1-^{14}C-6055-S

** 2-^{14}C-6055-S

(1-2) 非標識化合物

6059-S は分子式 $C_{20}H_{18}N_6O_9SNa_2$, 分子量 564.44 の化合物で，当研究所で合成された Lot No. SOO9N, SO17N, SO42N のものを使用した。

(1-3) 投与検体の調製

1-^{14}C-6055 (あるいは 2-^{14}C-6055) に重炭酸ナトリウムを加え，^{14}C-6059-S (^{14}C-6055 Na 塩) として使用した。^{14}C-6055 と重炭酸ナトリウムの混合モル比は 1:2 とし，必要量の重炭酸ナトリウムと非標識 6059-S を予じめ塩化ナトリウム水溶液に溶解し，それを ^{14}C-6055 に加えて所定の濃度になるようにした。塩化ナトリウム水溶液は，6059-S の浸透圧に相当する分を差し引いた濃度のものを使用し，投与検液が最終的に等張になるように調製した。下記の 3 種の投与量について，各々の投与液量を一定にするために 5 mg, 20 mg, 40 mg/2 ml の 3 種の濃度の ^{14}C-6059-S 投与検液を用意した。

非標識 6059-S を投与検体として用いる場合には，最終的に等張となるように塩化ナトリウム水溶液を加えて 40 mg/ml の 6059-S 投与検液を調製した。

2. 実験動物および投与量

(2-1) ラット

JCL-SD 系雄性ラット．体重 250～280 g (7～8 週令) および同系の雌性妊娠ラット (妊娠 18 日令) を用いた。

投与検体は ^{14}C-6059-S を用い，投与量は，排泄経路，血中濃度測定の実験では 5, 20, 40 mg/kg, 雄性ラットにおける組織分布では 20 および 40 mg/kg, 妊娠ラットと胎仔の組織分布，乳汁移行性，代謝物の検索の実験では 20 mg/kg とし，すべて尾静脈より静脈内投与を行なった。反復投与実験では 20 mg/kg を 1 日 1 回 7 日間静脈内に投与した。

(2-2) イヌ

雄性および雌性のビーグル犬，体重 8.8～11.9 kg を用いた。

投与検体は非標識 6059-S を用い，20 mg/kg を前肢静脈内に投与した。代謝物の検索の実験のみ 40 mg/kg を投与した。

(2-3) サル

雄性および雌性のアカゲザル，体重 5.8～9.8 kg を用いた。

イヌと同様に非標識 6059-S を用い，すべて 20 mg/kg を後肢伏在静脈内に投与した。

3. 投与および分析試料の採取

(3-1) 尿，糞中排泄率測定

ラットをボルマンケージに固定し，尾静脈より前記投与量の ^{14}C-6059-S を静注した。尿は投与後 30 分, 1, 2, 4, 6, 24, 48, 72 時間でエーテルを吸入させて強制的に排尿させ，蒸留水で一定量に希釈した。糞は投与後 24, 48, 72 時間で集めた。

イヌでは，6059-S を前肢静脈内に投与した後，30 分, 1, 2, 4, 6, 24 時間で膀胱カテーテルを用いて尿を採取した。

サルでは，後肢大伏在静脈内に投与した後，イヌの場合と同様に膀胱カテーテルを用いて採尿した。

(3-2) 尿，胆汁中排泄率測定

総胆管にポリエチレン管 (PE 10) を挿入したラットをボルマンケージに固定し，尾静脈より ^{14}C-6059-S を静注した。尿は投与後 30 分, 1, 2, 4, 6, 24 時間,

胆汁は投与後 15, 30 分, 1, 2, 4, 6, 24 時間で集め, 各々蒸留水で一定量に希釈した。

イヌはソムノペンチル（ペントバルビタール Pitman Moore）25 mg/kg 静注で麻酔した後, 開腹して胆のう頸部を結紮し, 総胆管にポリエチレン管（PE 90）を挿入した。麻酔下で 6059-S を静注し, 投与後 4 時間まで胆汁および尿を採取した。

サルはケタラール（塩酸ケタミン, 三共）15 mg/kg 筋注で麻酔し, イヌと同様に総胆管カニュレーション手術を施した。モンキーチェアーに拘束した状態で麻酔から充分覚醒した後に, 6059-S を静注し, 投与後 24 時間までの尿および胆汁を採取した。

(3-3) 血中濃度の測定

ラットに ^{14}C-6059-S を 3 水準の投与量で 1 回静注した。投与後 2, 5, 10, 20, 30 分, 1, 2, 4, 6 時間で, 40 mg/kg の時のみさらに 24 時間で, 各時点 3 匹ずつのラットを所定時間直前にエーテル麻酔し, 開腹後, 腹部大動脈から採血し, 屠殺した。

採取した血液は, 一部を全血中放射活性測定のための別の容器に移し, 残りは血漿を得るため遠心分離を行なった。得られた試料は測定まで凍結保存した。

イヌ, サルおよびラットに 6059-S を投与した実験では, 静注後 2, 5, 10, 20, 30, 45 分, 1, 2, 4 時間に, イヌは前肢静脈, サルは後肢大伏在静脈, ラットは UPTON の方法[4] に従って頸静脈より採血し, 直ちに遠心分離して血漿を得た。

(3-4) 組織中濃度の測定

^{14}C-6059-S 40 mg/kg 1 回静注後の血中濃度測定に用いた採血後のラット屍体を, 組織中濃度測定のために凍結保存した。投与後 5, 30 分, 2, 6, 24 時間に屠殺した各時点 3 匹, 計 15 匹のラット屍体を解剖し, 顎下腺, リンパ節, 甲状腺, 気管, 胸腺, 心臓, 肺, 肝臓, 脾臓, 膵臓, 腎臓, 副腎, 胃, 胃内容物, 小腸, 小腸内容物, 盲腸, 盲腸内容物, 結・直腸, 結・直腸内容物, 脂肪, 前立腺, 精巣, 大腿筋, 背部皮膚, 脳, 下垂体の 27 種を摘出した。摘出組織の決定は全身オートラジオグラムを参考にした。摘出した組織はその全量を精秤した。

(3-5) 妊娠ラット体内濃度および胎仔移行性の検討

^{14}C-6059-S の投与は尾静脈より行ない, 投与後ラットは屠殺まで代謝ケージで飼育し, 5, 30 分, 1, 4, 24 時間で各時点 3 匹, 計 15 匹を腹部大動脈からの採血により屠殺した。屍体は冷蔵庫に保存し, 24 時間以内に解剖し, 全血, 血漿, 顎下腺, リンパ節, 甲状腺, 肺, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 卵巣, 子宮, 乳腺, 脳, 下垂体, 大腿筋, 脂肪, 胎盤, 胎仔, 羊水, 胎仔組織（全血, 肺, 心臓, 肝臓, 腎臓, 脳）を摘出した。妊娠ラット 1 匹から 2 匹の胎仔を取り出し, 1 匹は全身をホモジネートに, 他の 1 匹は解剖して組織を摘出した。

(3-6) 乳汁移行性の検討

1 週令のラット乳仔 27 匹（体重 11±1 g）とその母獣 3 匹（体重 281±7 g）を用いた。母獣 1 匹と乳仔 9 匹を 1 組として, 3 組を用意し, 母獣の尾静脈より ^{14}C-6059-S を投与した後, 通常の飼育ケージ内で自由に授乳させた。投与後 3, 6, 9 時間経過した時点で, 各組とも 3 匹ずつの乳仔を母獣から離し, 母獣の尿, 唾液などによる体表面の汚染を除く目的で, ビーカー内で 3 回水洗した。その後全身をホモジネートにした。

(3-7) 反復投与実験

^{14}C-6059-S を 30 匹のラットに 1 日 1 回, 7 日間静注した。そのなかで, 10 匹は代謝ケージで飼育し, 24 時間毎投与直前に尿, 糞を採取した。残り 20 匹は飼育ケージに 5 匹ずつ入れ, 尿, 糞は採取しなかった。

7 日目投与後, 0, 2, 5, 10, 20, 30 分, 1, 2, 4, 24時間で前述の方法で採血した。血液は遠心分離し, 血漿を得た。尿, 糞, 血漿とも測定まで凍結保存した。

(3-8) 組織中の放射活性と抗菌活性の比較

^{14}C-6059-S をラット尾静脈内へ投与した後, 5, 30, 60 分で各時点で 3 匹, 計 9 匹を腹部大動脈から採血により屠殺した。血液を遠心分離して血漿を得, 一方, 屠殺したラットはすみやかに解剖に供して, 脳, 心臓, 肺, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 精巣, 大腿筋, 背部皮膚を摘出した。

血漿および各組織の一部は, 常法通り放射活性の測定に供した。残りの一部は, 0.1 M リン酸緩衝液 pH 7.0 を加えてホモジネートとし, 3,000 r.p.m. 20 分間遠心分離して, ホモジネートおよび上清に含まれる放射活性を測定すると同時に, 上清については抗菌活性の測定を行なった。

(3-9) 代謝物

ラットは, 雄性ラットについて ^{14}C-6059-S 投与後 0.5, 2, 4 時間までの尿, 胆汁を採取した。

イヌは雌雄各 2 頭ずつ計 4 頭を用い, 6059-S 投与後 4 時間までの尿, 胆汁を採取した。

サルは雌雄各 1 頭ずつ計 2 頭を用い, 6059-S 投与後 1, 4, 12 時間までの尿, 胆汁を採取した。

各試料について, 薄層クロマトグラフィー（TLC）による代謝物の検索を行なった。

4. 放射活性測定法

(4-1) 尿, 胆汁中放射活性の測定

一定量に希釈した尿, 胆汁の 100 μl をゲルシンチレ

ーター AQUASOL-2 (NEN Co. 第一化学) 10 ml に溶解し，液体シンチレーションカウンターでその放射活性を測定した。

(4-2) 糞中放射活性の測定

糞は全量をビーカーに入れ，適当量の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た。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。

(4-3) 全血中放射活性の測定

全血 100 μl を試料燃焼装置で燃焼し，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。

(4-4) 血漿中放射活性の測定

血漿 100 μl を AQUASOL-2 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で測定した。

(4-5) 血漿中未変化体の測定

血漿 100～500 μl に 6N 塩酸 100 μl と水を加えて 1 ml とし (pH 1)，さらに非標識 6059-S 5 mg/ml 水溶液 50 μl (250 μg) と飽和量の塩化ナトリウムを加え，酢酸エチル 6 ml を加えて 15 分間振とう，5 分間遠心分離した。酢酸エチル層 5 ml を 37℃ 水浴中で減圧乾固した。その残渣を 150 μl の 1% 酢酸メタノール溶液に溶解し，50 μl を TLC プラスチックプレート (Merck Silicagel 60 without F_{254}) にスポットし，展開溶媒〔酢酸エチル：酢酸：水=3：1：1〕で展開した。乾燥後，0.15% フルオレセインナトリウム溶液をプレートにスプレーし，UV ランプ下で 6059-S の位置を確認し (Rf=0.25)，その部分を切り取ってバイアルへ移し，AQUASOL-2 15 ml を加えて，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。同時に，対照用の血漿に投与検液を 4 水準に希釈したものを加え，同様の操作を行なって検量線を作成した。

(4-6) 組織中放射活性の測定

組織の 1 部を切り取り，100 mg を精秤し，糞と同様の方法で測定した。

(4-7) 屍体中放射活性の測定

解剖後の屍体を 5～6 部分に切断し，これを 1 L 三径コルベンに移して 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℃) し，可溶化した (carcass solution)。加熱中に $^{14}CO_2$ が発生する可能性が考えられるため，それをトラップする目的でエタノールアミン：メタノール=1：1 の混合溶媒の入った洗気瓶を連結した。Carcass solution を冷却後，水で 1000 ml に希釈し，その 100 μl をバイアルへ入れ，Soluene-350 (Packard) 1 ml を加えて約 16 時間放置した後，Dimilume-30 (Packard) 10 ml を加えて，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. 全身オートラジオグラフィー

投与後，所定の時間にラットをエーテルクロロホルムで麻酔し，液体窒素中に浸漬して凍結した。PMV-450 MP クライオミクロトームのステージに CMC 溶液で凍結固定後，厚さ 40 μ の切片を作製した。凍結乾燥の後，切片をルミラー膜でカバーし，富士工業用 X 線フィルム (IX-150) と切片を密着させ，冷蔵庫 (0℃) で 1 回投与の場合は 12 日間，反復投与の場合は 78 日間の露出を行なった。現像はサクラ自動現像機 IX-17 を使用し，スーパードールで 27℃ 2 分の現像により，オートラジオグラムを得た。

6. 抗菌活性測定法

ラットの血漿，組織ホモジネート上清およびイヌ，サルの尿，胆汁について Agar-Well 法により抗菌活性測定を行なった[9]。

培地は Trypto-Soy Agar (栄研)，検定菌は *E. coli* 7437 を使用し，37℃ 孵卵器中で 18 時間培養した。同時に，対照用の各生体試料に ^{14}C-6059-S あるいは非標識 6059-S 投与検体を 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13 μg/ml の 6 水準の濃度になるように添加して標準液とし，検量線を作成した。

7. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

サル尿およびイヌ，サル，ラット血漿中 6059-S の定量を行なった。血漿は，その 0.5 ml にエタノール 0.7 ml，クロロホルム 1 ml を加え，撹拌後遠心分離した。その上清をメンブランフィルター (0.45 μm，ミリポア) で戸過し，その 5 μl を注入した。尿は適当に希釈し，メンブランフィルターで戸過し，その 5 ml を注入した。HPLC の条件は次に示した。

〔HPLC 条件〕

ポンプ	: Waters 6000-A
カラム	: Nucleosil 10 C_{18} φ4 mm×30 cm
プレカラム	: Nucleosil 10 C_{18} φ4mm×5 cm
溶離液	: 0.05 M 酢酸緩衝液，pH6：メタノール=11：1
流速	: 1 ml/min
検出	: UVIDEC 100, 270 nm 0.04～0.02 AUFS

8. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

(8-1) 展開方法

次のようなプレートおよび展開溶媒系を用いた。

(A) Merck Cellulose F　n-プロパノール：水=7：3

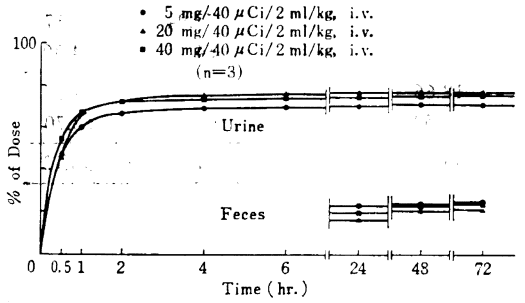
(B) Merck Silicagel 60 (without F) 酢酸エチル：酢酸：水=3：1：1

Table 1 Urinary and fecal excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity in rats

Dose		Cumulative recovery (% of Dose)							
		0~0.5 hr.	~1 hr.	~2 hr.	~4 hr.	~6 hr.	~24 hr.	~48 hr.	~72 hr.
5 mg/kg (n=3)	Urine	47.49 ±3.50	60.79 ±3.44	66.69 ±2.50	69.24 ±3.24	69.94 ±2.93	70.84 ±2.60	71.37 ±2.44	71.67 ±2.43
	Feces						22.68 ±2.69	23.72 ±2.88	23.90 ±2.87
	Total						93.52	95.09	95.57
20 mg/kg (n=3)	Urine	48.20 ±6.79	67.38 ±2.90	73.00 ±3.89	75.28 ±3.19	75.62 ±3.19	76.39 ±3.31	76.87 ±3.29	77.16 ±3.32
	Feces						16.68 ±0.77	20.71 ±1.12	21.75 ±1.51
	Total						93.07	97.58	98.91
40 mg/kg (n=3)	Urine	54.85 ±0.79	67.59 ±1.22	72.58 ±1.54	73.66 ±1.62	73.91 ±1.65	74.65 ±1.73	75.08 ±1.71	75.41 ±1.70
	Feces						19.34 ±1.19	23.11 ±1.99	24.22 ±2.43
	Total						93.99	98.19	99.63

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

Fig. 2 Urinary and fecal excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity in rats



(C) Merck Silicagel 60 (without F) 酢酸エチル：酢酸：水=2：1：1

(D) Merck Silicagel 60 (without F) クロロホルム：メタノール：水：酢酸=13：10：3：1

(E) Merck Silicagel 60 (without F) クロロホルム：メタノール：水：酢酸=13：13：5：1

ガラスプレート (20×20 cm) の上に，TLC プレートを 1.2×20 cm に切断したものを 14 枚等間隔に並べ，テープで固定して展開した。

(8-2) オートラジオグラフィー

展開後の TLC プレートを充分風乾した後，ルミラー膜で覆い，富士工業用 X 線フィルム (IX-150) に一定期間密着させた。その後，常法により現像を行ない，オートラジオグラム (TLC-ARG) を得た。

(8-3) バイオオートグラフィー

E. coli 7437 を接種した培地 (Trypto-Soy Agar (栄研)) に TLC プレート (1.2×20 cm) を密着させ，30 分間静置し，拡散させた。その後，TLC プレートを除去し，37℃ 孵卵器中で 18 時間培養してバイオオートグラム (TLC-BAG) を得た。

実験結果

1. 排泄経路

(1-1) 尿，糞中排泄率

ラットについて得られた結果を Table 1，Fig. 2 に示した。

5 mg/kg での尿中放射活性排泄率は，投与後 30 分で 47.49%，2 時間で 66.69%，24 時間で 70.84%，72 時間で 71.67% であり，20 mg/kg ではそれぞれ 48.20%，73.00%，76.39%，77.16%，40 mg/kg では

Table 2 Urinary and biliary excretion of 6059-S in dog and monkey (Dose : 20 mg/kg, i.v.)

Animal	Condition	Assay	Time	% of Dose		
				Urine	Bile	Total
Dog	Intact	Bioassay	4 hr.	91.2	–	–
	Fistula	Bioassay	4 hr.	102.2	1.4	104.1
Monkey	Intact	HPLC	24 hr.	97.5	–	–
	Fistula	Bioassay	24 hr.	98.1	1.4	99.5

The data represents the mean of two animals.

Table 3 Urinary and biliary excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity in rats

Dose		Cumulative recovery (% of Dose)						
		~0.25 hr.	~0.5 hr.	~1 hr.	~2 hr.	~4 hr.	~6 hr.	~24 hr.
5 mg/kg (n=3)	Urine		49.41 ±7.99	62.68 ±7.64	71.07 ±4.93	73.52 ±4.03	73.88 ±3.85	74.52 ±3.77
	Bile	9.39 ±2.51	16.39 ±2.57	22.24 ±3.64	25.19 ±4.42	25.87 ±4.70	25.94 ±4.75	26.04 ±4.77
	Total		65.80	84.92	96.26	99.39	99.82	100.56
20 mg/kg (n=3)	Urine		51.11 ±0.62	66.24 ±2.72	74.17 ±3.66	77.14 ±4.00	77.52 ±4.09	78.29 ±4.21
	Bile	5.88 ±2.42	11.90 ±3.25	17.29 ±3.82	20.40 ±4.14	21.29 ±4.14	21.39 ±4.14	21.51 ±4.16
	Total		63.01	83.53	94.57	98.43	98.91	99.80
40 mg/kg (n=3)	Urine		50.01 ±4.03	67.07 ±3.81	75.04 ±4.70	77.47 ±4.42	77.94 ±4.33	78.57 ±4.30
	Bile	5.80 ±1.04	10.92 ±1.73	15.82 ±2.14	18.66 ±2.54	19.37 ±2.68	19.46 ±2.70	19.55 ±2.70
	Total		60.93	82.99	93.70	96.84	97.40	98.12

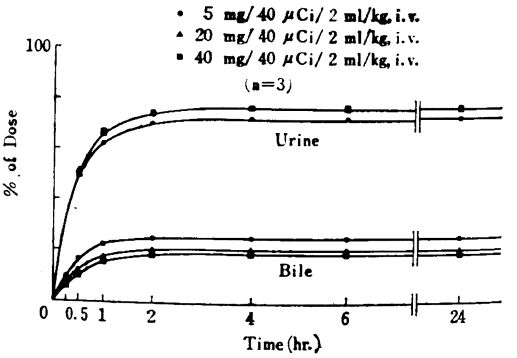
The data represents the mean ± S.D. of three rats.

それぞれ 54.85%, 72.58%, 74.65%, 75.41% であった。各投与量とも投与後 2 時間までに大部分が排泄された。糞中放射活性排泄率は，5 mg/kg で投与後 24 時間で 22.68%, 72 時間で 23.90% であり，20 mg/kg ではそれぞれ 16.68%, 21.75%, 40 mg/kg では 19.34%, 24.22% であった。5~40 mg/kg の間では，その放射活性の 75% 程度が尿へ，25% 程度が糞へ排泄され，両者を合わせるとほぼ 100% に近くなった。

イヌおよびサルの尿中排泄率を Table 2 に示した。

イヌでは 4 時間で 91.7%，サルでは 24 時間で 97.5% であった。両者ともその大部分が尿中に排泄され，他の排泄経路の寄与は小さいものと推定された。

Fig. 3 Urinary and biliary excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity in rats



(1-2) 尿，胆汁中排泄率

ラットについて得られた結果を Table 3, Fig. 3 に示した。

5 mg/kg での尿中放射活性排泄率は，投与後 30 分で 49.41%，2 時間で 71.07%，24 時間で 74.52% であり，20 mg/kg ではそれぞれ 51.11%，74.17%，78.29%，40 mg/kg ではそれぞれ 50.01%，75.04%，78.57% であった。胆汁中放射活性排泄率は，5 mg/kg で 30 分，2 時間，24 時間それぞれ 16.39%，25.19%，26.04%，20 mg/kg でそれぞれ 11.90%，20.40%，21.51%，40 mg/kg でそれぞれ 10.92%，18.66%，19.55% であった。24 時間での尿，胆汁中排泄率の合計はほぼ 100% であった。前項の結果と比較すると，尿中排泄率はともにその排泄速度も累積排泄率も非常によく似

Fig. 4 Excretion pattern in rat, dog, and monkey

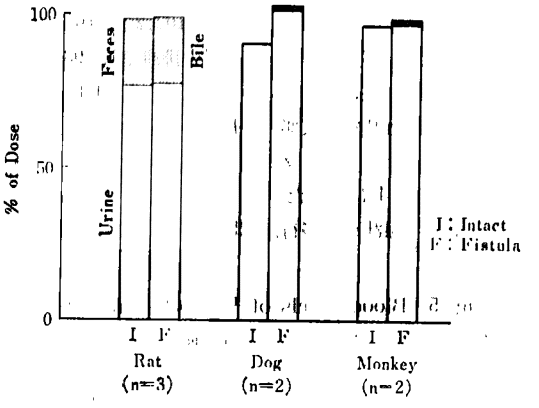


Table 4 Blood levels of ^{14}C-6059-S in rats (Dose : 5, 20, 40 mg/40 μCi/kg, i.v.)

Dose	Time	2 min.	5 min.	10 min.	20 min.	30 min.	1 hr.	2 hr.	4 hr.	6 hr.	24 hr.
5 mg/kg	P	39.01 ±2.25	22.56 ±0.99	15.41 ±2.02	10.46 ±0.29	7.35 ±0.31	3.41 ±0.78	1.76 ±0.22	1.39 ±0.03	1.20 ±0.04	–
	W.B.	22.17 ±1.17	14.23 ±0.36	9.47 ±1.32	6.49 ±0.16	5.04 ±0.81	2.11 ±0.47	1.16 ±0.13	0.84 ±0.04	0.75 ±0.04	–
	W.B./P	0.57	0.63	0.62	0.62	0.69	0.62	0.66	0.60	0.63	–
	U	37.97 ±1.66	20.80 ±3.15	13.83 ±1.76	8.02 ±1.53	5.17 ±0.80	1.73 ±0.80	0.39 ±0.10	N.D.	N.D.	–
	U/P	0.97	0.92	0.90	0.77	0.70	0.51	0.22	–	–	–
20 mg/kg	P	131.2 ±12.0	88.55 ±3.21	66.90 ±6.90	41.18 ±2.52	32.27 ±8.00	14.00 ±2.38	6.80 ±0.53	5.47 ±0.56	4.88 ±0.41	–
	W.B.	83.17 ±10.23	55.78 ±2.47	43.42 ±0.11	26.03 ±1.06	20.00 ±4.53	8.86 ±1.01	4.34 ±0.02	3.50 ±0.27	3.18 ±0.25	–
	W.B./P	0.63	0.63	0.65	0.63	0.62	0.63	0.64	0.64	0.65	–
	U	122.32 ±13.33	74.59 ±12.68	53.79 ±6.49	32.22 ±1.93	25.34 ±8.26	9.22 ±1.93	3.55 ±0.10	N.D.	N.D.	–
	U/P	0.93	0.84	0.80	0.78	0.79	0.66	0.52	–	–	–
40 mg/kg	P	277.5 ±7.6	213.8 ±17.9	122.6 ±15.3	73.93 ±9.22	71.04 ±4.94	34.70 ±10.86	14.20 ±0.25	10.45 ±0.63	9.87 ±0.53	6.55 ±0.55
	W.B.	157.7 ±7.9	117.4 ±9.9	55.78 ±16.65	40.95 ±2.86	37.84 ±5.20	18.13 ±2.78	8.44 ±0.14	6.54 ±0.17	5.28 ±0.51	3.63 ±0.18
	W.B./P	0.57	0.55	0.46	0.55	0.53	0.52	0.59	0.63	0.54	0.55
	U	242.9 ±12.14	194.5 ±19.54	86.72 ±12.43	55.93 ±11.45	55.08 ±4.94	15.27 ±2.86	4.02 ±0.50	N.D.	N.D.	N.D.
	U/P	0.88	0.91	0.71	0.76	0.78	0.44	0.28	–	–	–

The data represents the mean ± S.D. of three rats.
P : Radioactivity in plasma, μg/ml, 6059-S equiv.
W.B.: Radioactivity in whole blood, μg/ml, 6059-S equiv.
U : Unchanged 6059-S in plasma, μg/ml
N.D.: Not detectable
– : Not determined

ており，糞と胆汁中排泄率もほぼ一致していた。

イヌおよびサルの尿中排泄率と胆汁中排泄率を Table 2 に示した。イヌでは尿中排泄率は 102.2%，胆汁中排泄率は 1.4% であり，サルでは尿中排泄率は 98.1%，胆汁中排泄率は 1.4% であった。両者とも胆汁へはごく僅かしか移行せず，大部分が尿中へ排泄されることが明らかになった。これをラットと比較するために，その排泄率を Fig. 4 に示した。

ラットでは胆汁への移行が 25% 程度になるのに対して，イヌ，サルでは 1～2% 程度であった。

2. 血中濃度

(2-1) 全血，血漿中の総放射活性濃度

ラットにおける 5, 20, 40 mg/kg 投与後の全血，血漿中放射活性および血漿中未変化体濃度を Table 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7 に示した。

血漿中放射活性は投与後急速に低下し，2 時間では 2 分値の約 1/20 程度に減少した。その後やや緩かな減少を示し，40 mg/kg の結果にみられるように 24 時間で

Fig. 5 Blood levels of ^{14}C-6059-S in rats

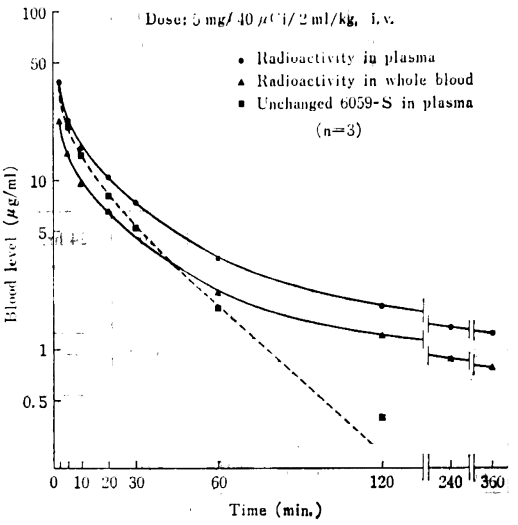


Fig. 6 Blood levels of ^{14}C-6059-S in rats

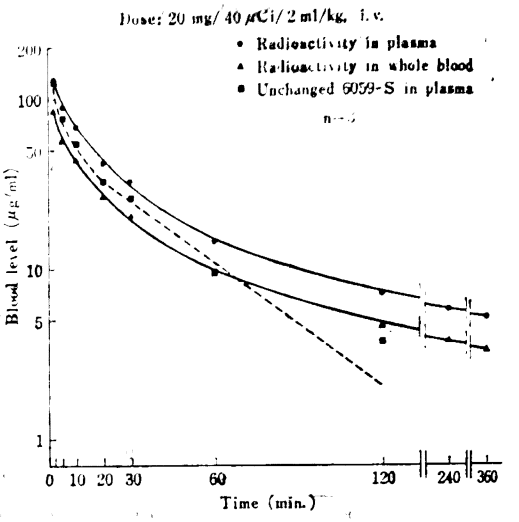


Table 5 Pharmacokinetic parameters of ^{14}C-6059-S in rats

Parameter		Single			Repetitive
		5 mg/kg	20 mg/kg	40 mg/kg	20 mg/kg
A	(μg/ml)	41	115	310	88
B	(μg/ml)	17	58	105	65
α	(hr^{-1})	18.1	16.8	15.9	25.8
β	(hr^{-1})	2.34	1.79	1.93	2.02
T½·β	(min.)	18	23	22	21
K_{21}	(hr^{-1})	6.97	6.82	5.46	12.1
K_{12}	(hr^{-1})	7.42	7.36	6.73	11.4
Kel	(hr^{-1})	6.09	4.41	5.62	4.31
V_1	(ml/kg)	86.2	115.6	96.4	130.7
V_2	(ml/kg)	91.8	124.7	118.8	122.8
Vd, area	(ml/kg)	224.3	284.8	280.7	278.1
AUC	(μg·hr/ml)	9.53	39.27	73.84	35.6
Clp	(ml/kg/min.)	8.75	8.49	9.03	9.38

Fig. 7 Blood levels of ^{14}C-6059-S in rats

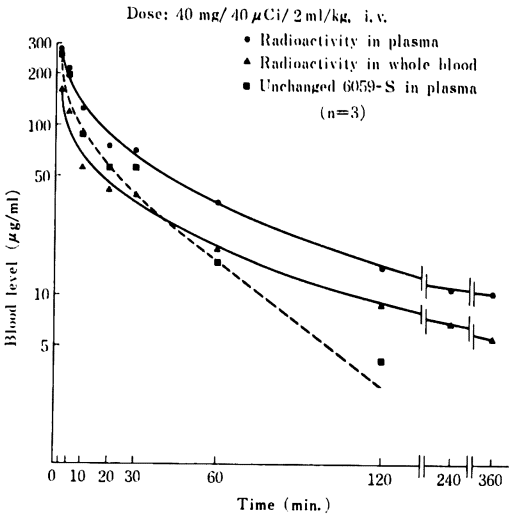


Fig. 8 Plasma levels of 6059-S

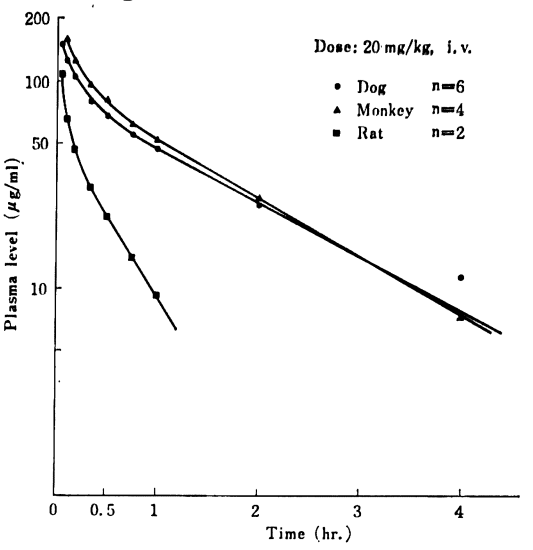


Table 6 Plasma levels of 6059-S in dog, monkey and rat (Dose : 20 mg/kg, i.v.)

Animal	Time (min.)								
	2	5	10	20	30	45	60	120	240
Dog (n=6)	149.6 ±18.4	124.5 ±11.2	103.6 ±11.6	78.9 ±8.8	66.9 ±6.2	54.4 ±5.3	46.8 ±4.4	25.9 ±4.7	11.2 ±3.8
Monkey (n=4)		157.8 ±28.5	124.3 ±22.8	95.7 ±11.4	80.7 ±11.2	60.8 ±11.1	51.2 ±7.6	26.5 ±8.2	7.1 ±4.4
Rat (n=4)	107.1 ±21.7	64.9 ±10.8	46.3 ±7.6	30.3 ±3.8	21.9 ±3.5	14.1 ±1.6	9.2 ±0.7	— —	— —

The data represents the mean ± S.D.

もわずかの値を示した。この減少パターンは投与量に関係なく同じであった。

全血中放射活性は血漿と同じパターンで減少するが，その濃度は血漿より低く，血漿に対する割合は，Table 4 にみられるように 5,20 mg/kg で 0.57～0.69，40 mg/kg で 0.46～0.63 であり，血液中の放射活性は大部分が血漿中に存在し，血球にはわずかしか存在しないと推測された。

(2-2) 血漿中未変化体の濃度

ラット血漿について，放射化学的方法により測定した未変化体濃度もまた急速に減少し，二相性の減少パターンを示した。投与直後では，血漿中放射活性の大部分が未変化体であるが，その割合は時間とともに徐々に低くなり，2 時間以後では未変化体は検出されなかった。この未変化体濃度から，Open two compartment model により，各投与量での pharmacokinetic parameter を算出した結果を Table 5 に示した。

計算はグラフからの近似計算で行なった。投与量が変っても parameter には大きな変化はなく，AUC も投与量とよく正比例していることから，5～40 mg/kg の範囲では線形性が成立しているといえる。したがって，投与量増加による体内挙動の変化は起っていないと考えられる。6059-S の生物学的半減期は平均 21 分，血漿クリアランスは 8.76 ml/kg/min であった。分布容積も小さく，組織中濃度は血漿より低いと予測された。

イヌ，サルおよびラットにおける 6059-S 静注後の HPLC 法で測定した血漿中濃度を Table 6, Fig. 8 に示した。3 者とも投与後急速に減少し，二相性の減少パ

Table 7 Pharmacokinetic parameters of 6059-S in rat, dog and monkey (Dose : 20 mg/kg, i.v.)

Parameter		Rat	Dog	Monkey
A	(μg/ml)	110	80	100
B	(μg/ml)	52.5	87.5	100
α	(hr^{-1})	19.89	7.013	5.627
β	(hr^{-1})	1.753	0.628	0.664
T½·β	(min.)	24	66	63
K_{21}	(hr^{-1})	7.613	3.963	3.146
K_{12}	(hr^{-1})	9.450	2.567	1.957
Kel	(hr^{-1})	4.580	1.111	1.188
V_1	(ml/kg)	123.1	119.4	100
V_2	(ml/kg)	152.8	77.3	62.2
Vd, area	(ml/kg)	321.6	171.1	178.9
AUC	(μg·hr/ml)	35.49	150.7	168.4
Clp	(ml/kg/min.)	9.39	2.21	1.98

Fig. 9 Autoradiogram of male rat at 5 min after administration of ^{14}C-6059-S (20mg/kg, i. v.)

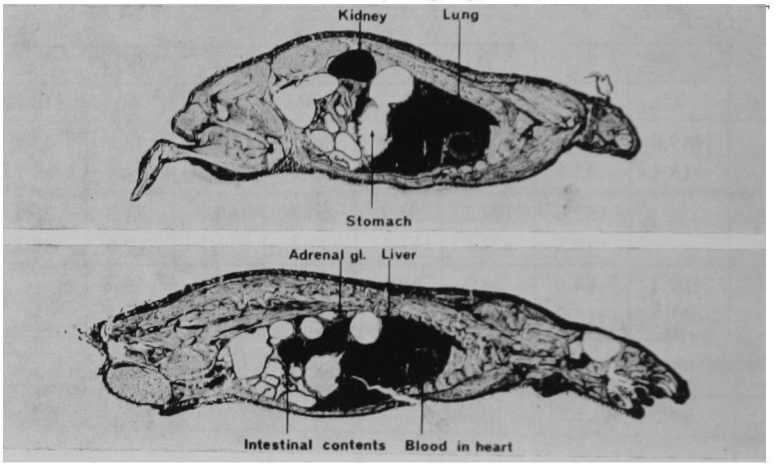


Fig. 10 Autoradiogram of male rat at 30 min after administration of ^{14}C-6059-S (20mg/kg, i. v.)

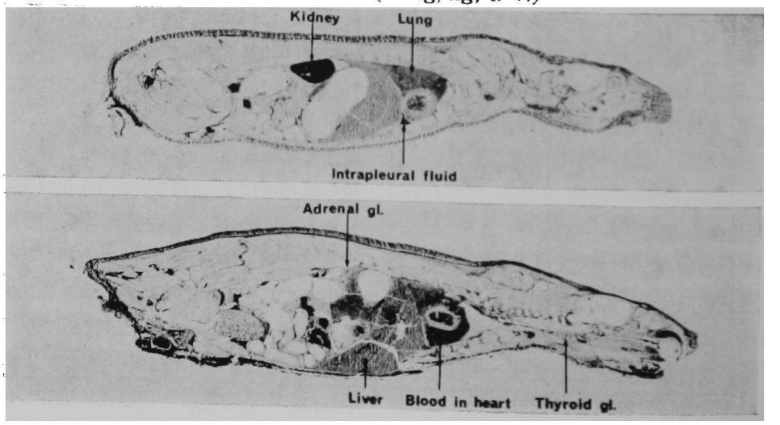


Fig. 11 Autoradiogram of male rat at 1 hr after administration of ^{14}C-6059-S (20mg/kg, i. v.)

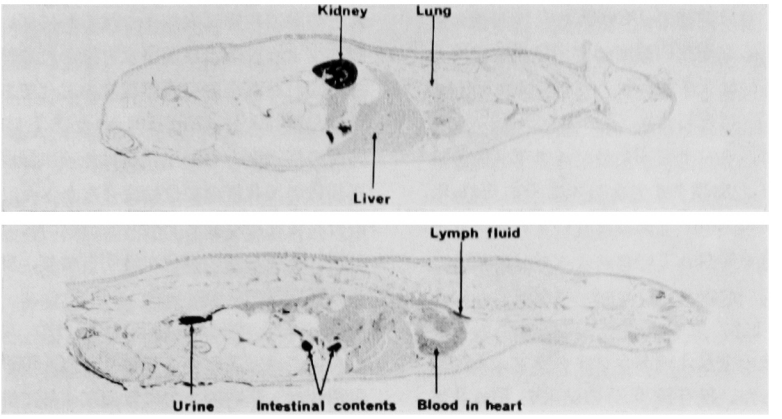


Fig. 12 Autoradiogram of male rat at 4 hr after administration of ^{14}C-6059-S (20mg/kg, i. v.)

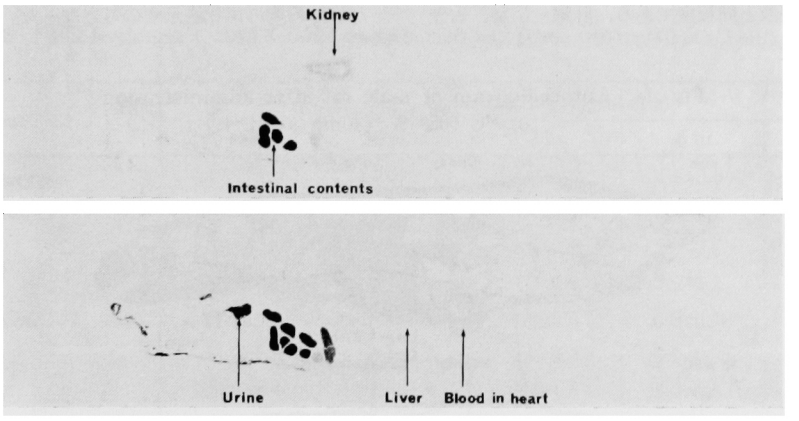
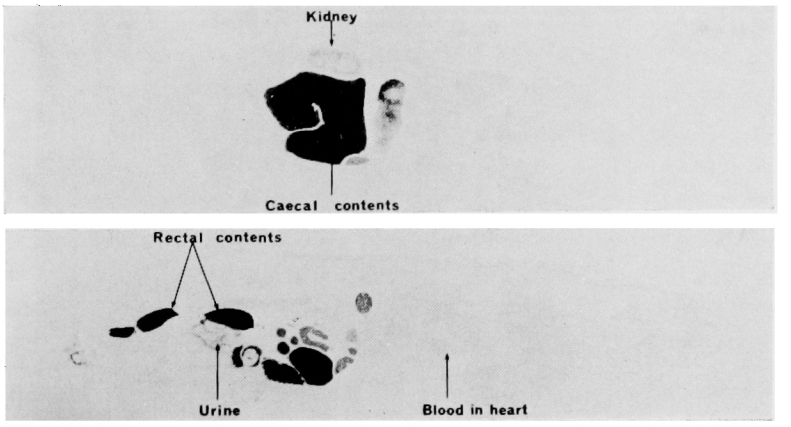


Fig. 13 Autoradiogram of male rat at 24 hr after administration of ^{14}C-6059-S (20mg/kg, i. v.)



ターンを示した。イヌとサルはその濃度も消失の速度もほぼ同じであるが，ラットは非常に速い消失を示した。また，ラットについては前述の ^{14}C-6059-S 投与後の放射化学的定量法による未変化体濃度の測定結果とよく一致していた。これらの結果を解析し，その parameters を算出して Table 7 に示した。

生物学的半減期は，ラットで 24 分，イヌで 66 分，サルで 63 分であり，血漿クリアランスはそれぞれ 9.39, 2.21, 1.98 ml/kg/min であった。いずれもラットがイヌ，サルと大きく異なっていた。

3. 組織分布

(3-1) 雄性ラット

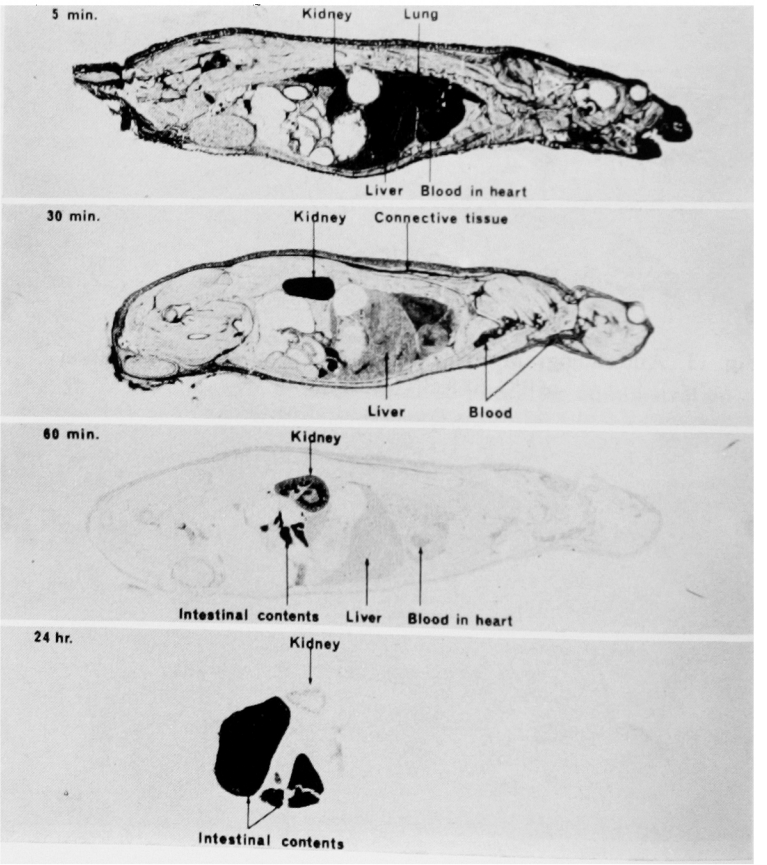
20 mg/kg 静注後の全身オートラジオグラフィーの結果は次のようであった。投与後 5 分の結果を Fig. 9 に示した。

腎臓が著明に強い黒化を示し，胆汁，膵液，小腸内容物および尿も強い黒化を示した。リンパ液および胸腔内組織間液が血液よりやや強い黒化を示す他は，肺，皮膚，結合組織が血液と同程度であり，肝臓，歯髄，舌先端部が血液よりやや弱い黒化を示した。骨格筋，唾液腺，副腎，脾臓，甲状腺，胸腺，脳下垂体，精巣などほとんどの臓器組織は血液よりはるかに弱い黒化を示した。眼のブドウ膜および前房水と思われる部位に弱い黒化が認められたが，脳は痕跡程度の黒化であった。

投与後 30 分 (Fig. 10) および 1 時間 (Fig. 11) と時間の経過とともに黒化度は急速に減弱していくが，臓器組織の黒化度の順位は変らなかった。ただし，腎臓内の分布像は投与後 5 分の例と異なり，皮髄境界部および腎錐体先端部の黒化が著明となり，皮質の黒化度は著しく減弱した。

投与後 2 時間，4 時間 (Fig. 12) および 6 時間の分布像には顕著な相違がなく，^{14}C-6059-S 投与後の放射活性は，1 時間までに急速に体外に排泄された後は比較的緩除に排泄されることが示唆された。腎臓の黒化度は 1 時間の例 (Fig. 11) と比較して著明に減弱し，血液の黒化度との差が小さくなっていた。胆汁の黒化も減弱し，骨格筋，脾臓，膵臓，甲状腺など多くの臓器組織が痕跡程度の黒化を示すのみとなった。

Fig. 14 Autoradiogram of male rat after administration of ^{14}C-6059-S (40mg/kg, i. v.)



投与後 24 時間 (Fig. 13) では腎臓，皮膚，結合組織，血液，肺に黒化が認められ，肝臓，精巣は痕跡程度であった。盲腸内容物および糞は著明な黒化を示し，尿には弱い黒化が認められた。

40 mg/kg 静注後の全身オートラジオグラフィーの結果は前述の 20 mg/kg の結果と同様であった (Fig. 14)。すなわち，投与後 5 分では腎臓が著明な黒化を示し，胆汁，膵液，小腸内容物および尿も強い黒化を示した。リンパ液および腹腔，胸腔内組織間液が，血液と同程度かやや強い黒化を示す他は，肺，皮膚，結合組織が血液と同程度であり，肝臓，副腎，舌先端部が血液よりやや弱い黒化を示した。脳下垂体，唾液腺，甲状腺，胸腺，副腎，膵臓，精巣，骨格筋などほとんどの臓器組織は血液よりはるかに弱い黒化を示した。眼のブドウ膜および前房水と思われる部位に弱い黒化が認められたが，脳脊髄では小脳に痕跡程度の黒化が認められるのみであった。

投与後時間経過とともに黒化度は急速に減弱していったが，臓器組織の黒化度の順位は変らなかった。腎臓内の分布像では，皮髄境界部の黒化が比較的長時間認められ，皮質の黒化は急速に減弱した。24 時間では，腎臓，皮膚，結合組織，肺，血液に黒化が認められ，肝臓，精巣は痕跡程度の黒化となり，前述の 20 mg/kg 投与例に比較して，40 mg/kg 投与の場合でも長時間体内に貯留されることはなかった。

以上の結果を参照して，40 mg/kg 静注後のラットを経時的に屠殺して解剖し，各臓器，組織中放射活性を測定した。その結果を Table 8, Fig. 15 に示した。

Table 9 には消化管内残存率および尿，糞中排泄率を示した。

^{14}C-6059-S は投与後すみやかに各組織へ移行するが，腎臓以外の組織での濃度は血漿よりかなり低かった。肺

Table 8 Tissue levels of ^{14}C-6059-S radioactivity in male rats (Dose : 40 mg/40 μCi/2 ml/kg, i.v.)

Tissue	Concentration (μg/ml or g)				
	5 min.	30 min.	2 hr.	6 hr.	24 hr.
Submaxillary gl.	47.7±4.0	17.0±1.8	2.7±0.2	1.8±0.3	1.7±0.0
Lymph node	43.9±12.0	14.1±1.4	2.4±0.2	1.7±0.1	1.6±0.4
Thyroid	30.5±11.0	9.8±1.7	1.7±0.1	2.0±0.6	1.9±0.6
Trachea	45.0±26.0	14.9±5.2	3.6±0.4	2.3±1.1	1.7±0.5
Thymus	22.0±5.5	6.4±0.7	1.0±0.2	0.8±0.1	0.7±0.1
Heart	45.2±2.9	14.4±1.3	2.9±0.3	2.0±0.2	1.5±0.3
Lung	108.8±8.6	37.5±1.9	7.2±1.5	5.0±0.6	3.4±0.3
Liver	64.2±17.0	28.0±9.0	2.3±0.5	1.1±0.2	0.7±0.1
Spleen	24.3±4.2	8.7±0.6	1.8±0.7	2.0±0.6	1.4±0.5
Pancreas	35.1±13.0	27.3±20.0	1.9±0.2	2.0±1.6	2.4±0.0
Kidney	344.1±82.0	185.5±17.0	19.1±3.4	8.5±0.7	7.1±0.6
Adrenal	36.3±7.9	13.4±2.1	2.7±1.3	1.4±0.3	1.4±0.4
Fat	6.9±3.5	2.2±0.5	0.6±0.2	1.9±1.1	0.5±0.3
Prostate	24.0±3.9	15.3±4.2	3.1*	1.6±0.6	1.3±0.6
Testis	18.9±4.9	9.7±2.4	1.8±0.2	1.3±0.1	0.9±0.1
Muscle	18.3±3.5	6.3±1.0	1.0±0.2	0.7±0.0	0.5±0.1
Skin	43.0±12.0	23.1±2.1	2.2±0.2	1.6±0.1	1.7±0.3
Brain	10.3±1.7	3.4±0.8	0.5±0.5	0.3±0.0	0.2±0.0
Hypophysis	32.4±10.0	10.7±0.5	2.5±0.4	2.7±1.2	2.0±1.0
Whole blood	117.7±9.9	37.8±5.2	8.4±0.1	5.3±0.5	3.6±0.2
Plasma	213.8±18.0	71.0±4.9	14.2±0.3	9.9±0.5	6.6±0.6

The data represents the mean ± S.D. of three rats. * : Mean of two rats

Fig. 15 Tissue levels of ^{14}C-6059-S in male rat

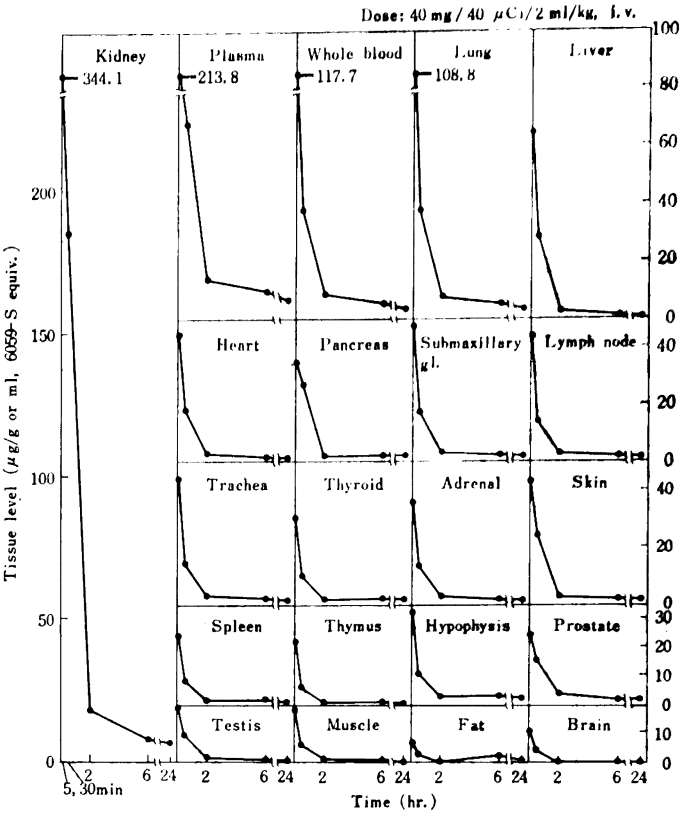


Table 9 Remaining percentage in gastrointestinal tract in male rats (Dose : 40 mg/40 μCi/2 ml/kg, i.v.)

G.I. tract	Remaining (% of Dose)				
	5 min.	30 min.	2 hr.	6 hr.	24 hr.
Stomach	0.54±0.1	0.33±0.2	0.04±0.0	0.03±0.0	0.02±0.0
Small intestine	3.85±0.7	15.5±1.7	20.7±4.8	1.43±0.7	0.40±0.3
Caecum	0.53±0.0	0.26±0.1	1.64±1.5	17.0±0.9	3.88±1.5
Colon and rectum	0.76±0.1	0.83±0.6	0.25±0.1	3.31±1.3	1.53±0.8
(Urine)	0.00± 0.0	33.3±5.3	69.0±5.8	69.8±5.2	63.9±11.0
(Feces)	0.00± 0.0	0.07± 0.1	0.04±0.1	0.03±0.0	22.8±8.2

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

で血漿の約 1/2，その他では約 1/5 以下であった。各組織を濃度の順に並べると，腎臓≫血漿≫肺>肝臓，皮膚，リンパ節，顎下腺，心臓，気管，膵臓，副腎，甲状腺，下垂体>精巣，脾臓，前立腺，筋肉，胸腺>脳，脂肪の順となった。その濃度変化のパターンは各組織とも同じで，投与後急速に減少し，2 時間後ではかなり低くなり，その後やや緩やかに減少した。特異な蓄積を認めた組織はなかった。

消化管内残存率は小腸，盲腸，結・直腸で高かったが，その合計が糞中排泄率を越えることはなかった。胃内へごくわずかな分泌が認められた。

組織中放射活性と抗菌活性を比較検討した結果を Ta-

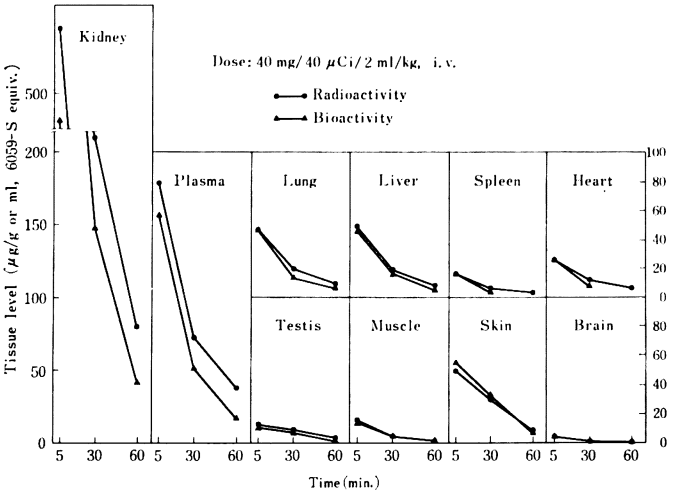
Table 10 Comparison of radioactivity and bioactivity in male rat tissue

(Dose : 40 mg/40 μCi/2 ml/kg, i.v.)

Tissue	Assay	Concentration (μg/ml or g)		
		5 min.	30 min.	60 min.
Plasma	R	178.12±12.18	72.68± 5.09	37.64± 2.61
	B	157.02± 4.35	50.96± 8.52	16.39±2.20
Kidney	R	544.58±29.69	209.61± 14.61	80.28± 14.68
	B	481.59±43.11	147.25± 16.70	42.55± 4.15
Lung	R	46.97± 2.70	20.23± 3.44	9.50± 0.30
	B	47.09± 8.29	13.74± 2.12	6.63± 0.81
Liver	R	49.09±13.87	19.56± 0.52	8.59± 1.04
	B	46.55±15.22	17.06± 1.69	5.39± 2.24
Spleen	R	16.09± 1.50	6.08± 1.19	3.31± 0.52
	B	17.12± 2.92	3.50± 0.70	1.5 *
Heart	R	25.65± 2.99	11.50± 2.11	5.92± 0.57
	B	27.06± 4.86	7.30± 1.99	1.5 *
Testis	R	11.96± 4.44	9.18± 1.96	4.00± 0.36
	B	10.69± 3.39	7.58± 0.19	1.76± 0.31
Muscle	R	15.77± 2.06	4.80± 0.31	2.15± 0.32
	B	14.77± 2.09	5.65± 0.42	1.5 *
Skin	R	49.43 *	29.15± 3.49	7.82± 1.46
	B	55.01 *	32.25± 3.29	6.06± 2.45
Brain	R	3.35± 0.11	1.20± 0.14	0.59± 0.13
	B	2.60± 0.09	N.D.	N.D.

The data represents the mean ± S.D. of three rats. * : Mean of two rats
R : Radioactivity B : Bioactivity N.D. : Not detectable

Fig. 16 Comparison of radioactivity and bioactivity in male rat tissue



ble 10, Fig. 16 に示した。

放射活性については，そのままの組織，ホモジネート，上清分画中に均等に分布していることが確認できたので，抗菌活性との比較はすべて上清の値を用いた。

投与後 5 分における ^{14}C-6059-S の組織への分布は，腎臓＞血漿＞肝臓≧肺≧皮膚＞心臓＞脾臓≧筋肉＞精巣＞脳の順に高かった。この傾向は，放射活性と抗菌活性の両方に共通して認められた。投与後各組織中濃度は，時間経過とともにすみやかに減少した。

放射活性と抗菌活性の値を比較してみると，腎臓と血漿以外の組織についてはよく一致していた。しかし，腎臓においては投与後 5 分の時点で，放射活性と抗菌活性の値に 10% 程度の差が認められ，30 分では 30%，60 分では 47% 程度と時間経過とともにその差が大きくなり，いずれも抗菌活性の値のほうが低かった。また，血漿中濃度を比較してみると，投与後 5 分で 10%，30 分で 30%，60 分では 56% と腎臓とほぼ同様の傾向を示した。

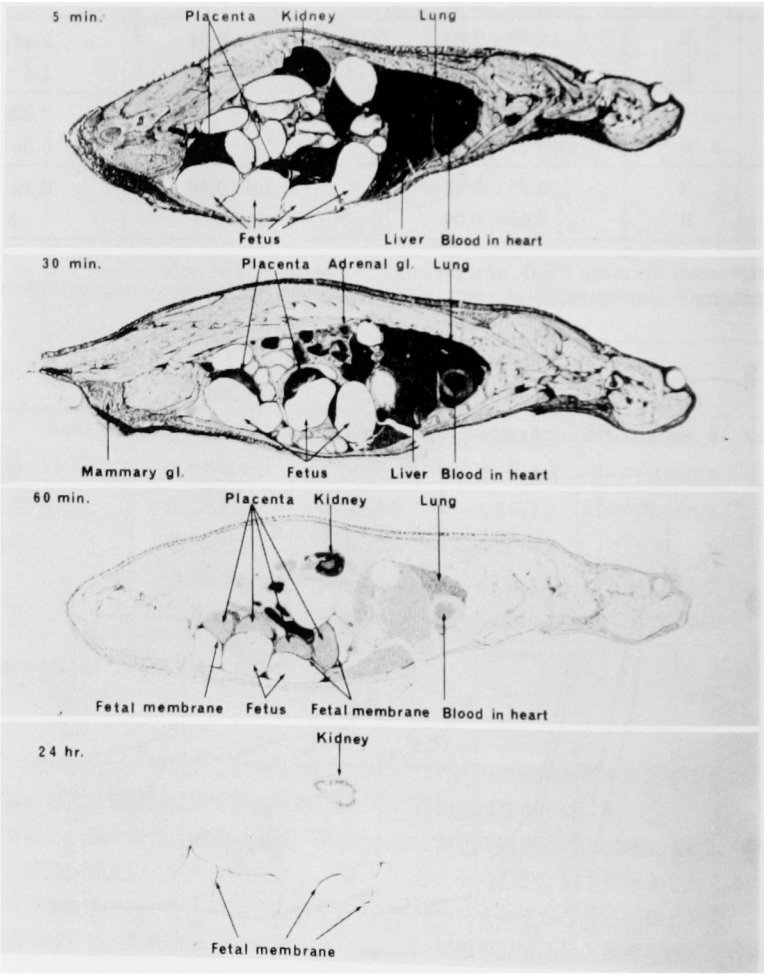
(3-2) 妊娠ラットおよび胎仔

妊娠ラットの全身オートラジオグラフィーでは，母体の分布像は雄性ラットの場合と特に差が認められなかった (Fig. 17)。

卵巣は弱い黒化であった。膣粘膜は消化管粘膜と異なり，血液と同程度の黒化を示した。胎盤は血液よりやや弱い黒化で，時間の経過とともに血液と同様に減弱していった。

胎仔は投与後 5 分から 4 時間まで痕跡程度の黒化を示し，24 時間後には消失した。しかし，4 時間後から 48 時間まで，胎仔腎臓または消化管内容物あるいはその両方に弱いながら明らかに判別できる程度の黒化を示

Fig. 17 Autoradiogram of pregnant rat after administration of ^{14}C-6059-S (20mg/kg, i. v.)



す胎仔例があった(半数以下)。同腹の胎仔でもそのような黒化を示す胎仔と，まったく認められない胎仔があった。胎膜は母体および胎盤の黒化が減弱する 1 時間後から著明な黒化を示すようになり，ほとんど減弱せずに 48 時間後まで持続した。

組織中放射活性濃度の測定結果を Table 11, Fig. 18 に示した。

各組織を濃度の順に並べると腎臓＞血漿 全血＞肺＞肝臓＞心臓，顎下腺，子宮＞リンパ節，副腎，下垂体，胎盤＞脾臓，卵巣，乳腺＞筋肉，甲状腺＞脳，脂肪＞羊水，胎仔血液＞胎仔組織（腎臓，心臓，肝臓，肺，脳）の順となった。子宮についてはやや異った減少パターンを示した。胎仔組織中濃度については，羊水，胎仔血液に投与後 1 時間にピークが認められたが，他の胎仔組織と同様にその濃度は低かった。特に子宮および胎盤の濃度に比べて，胎仔，胎仔組織濃度が極めて低いことから，6059-S の胎盤通過性は小さいものと考えられた。すべての組織は時間経過とともにすみやかに減少し，24 時間後で特異な蓄積は認められなかった。

Table 12, Fig. 19 には，雄性ラットと妊娠ラットにおける主要組織の濃度を F 値により比較した結果を示した。腎臓については，投与後 5 分で妊娠ラットのほ

Table 11 Tissue levels of ^{14}C-6059-S in pregnant rats (Dose : 20 mg/40 μCi/2 ml/kg, i.v.)

Tissue	Concentration (μg/ml or g)				
	5 min.	30 min.	1 hr.	4 hr.	24 hr.
Whole blood	77.53±3.81	26.23±2.68	15.01±0.96	5.34±1.07	1.41±0.13
Plasma	110.61±6.25	38.50±7.60	23.09±1.71	8.42±0.71	1.95±0.20
Kidney	296.98±48.91	129.52±53.25	46.30±10.28	7.75±0.60	4.88±0.70
Liver	31.19±4.58	13.50±2.08	5.46±0.70	1.20±0.22	0.51±0.08
Lung	58.80±6.55	23.35±5.51	17.55±1.35	5.64±0.28	1.16±0.32
Heart	17.78±2.44	7.38±1.71	4.88±1.43	1.44±0.12	0.43±0.05
Spleen	10.53±0.55	4.54±0.49	3.54±1.06	1.89±1.52	0.47±0.03
Brain	2.31±1.35	1.00±0.28	0.71±0.45	0.18±0.07	0.05±0.01
Submaxillary gl.	16.49±0.76	6.23±1.09	3.71±0.68	1.23±0.33	0.57±0.28
Lymph node	12.25±3.38	4.88±0.63	2.72±1.24	0.96±0.12	0.46±0.07
Hypophysis	13.95±1.37	5.20±1.09	2.95±0.68	1.32±0.33	0.37±0.28
Adrenal	12.14±0.71	5.00±0.71	3.92±0.78	1.34±0.11	0.44±0.01
Thyroid	6.42±3.49	3.40±0.99	3.44±1.34	1.15±0.19	0.76±0.09
Muscle	6.18±2.77	2.12±0.57	1.14±0.26	0.31±0.10	0.17±0.02
Fat	2.23±0.67	0.80±0.17	0.68±0.28	0.33±0.26	0.17±0.05
Mammary gl.	9.77±3.38	4.61±1.29	2.35±0.87	0.88±0.17	0.56±0.06
Ovary	10.30±2.52	5.78±1.32	3.99±1.14	1.60±0.32	0.57±0.08
Uterus	19.26±1.61	19.32±12.16	10.99±6.71	7.31±2.00	2.26±1.38
Placenta	15.10±2.70	7.26±0.62	4.76 *	2.72±0.18	1.77±0.71
Amniotic fluid	1.55±0.54	2.34±0.82	5.45 *	2.28±1.05	0.58±0.10
Fetus	0.56±0.08	0.59±0.19	0.42 *	0.36±0.02	0.24±0.04
Fetal-blood	1.47±0.29	1.28±0.41	3.54±1.69	1.01±0.45	0.55±0.21
Fetal-brain	0.16±0.07	0.14±0.06	0.20 *	0.12±0.02	0.05±0.01
Fetal-heart	0.34±0.30	0.26±0.28	0.45±0.33	0.12±0.14	0.04±0.04
Fetal-lung	0.21±0.05	0.24±0.15	0.36±0.03	0.17±0.08	0.09±0.01
Fetal-kidney	0.37±0.04	0.14±0.14	0.30±0.28	0.13±0.12	0.16±0.05
Fetal-liver	0.26±0.12	0.29±0.09	0.36±0.14	0.22±0.07	0.14±0.02

The data represents the mean ± S.D. of three rats. * : Mean of two rats

Fig. 18 Tissue levels of ^{14}C-6059-S in pregnant rat

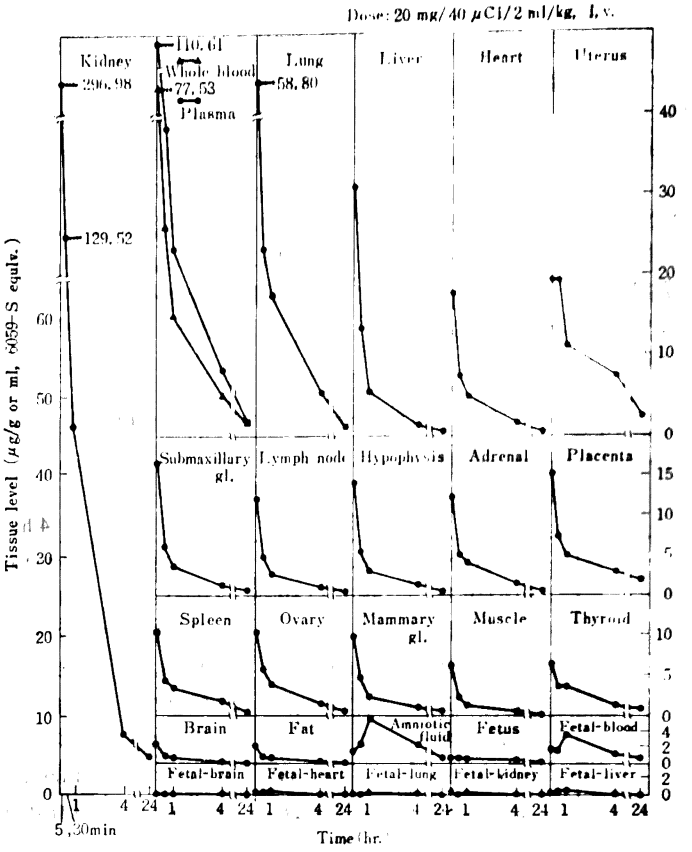


Fig. 19 Tissue levels of ^{14}C-6059-S in male and pregnant rat

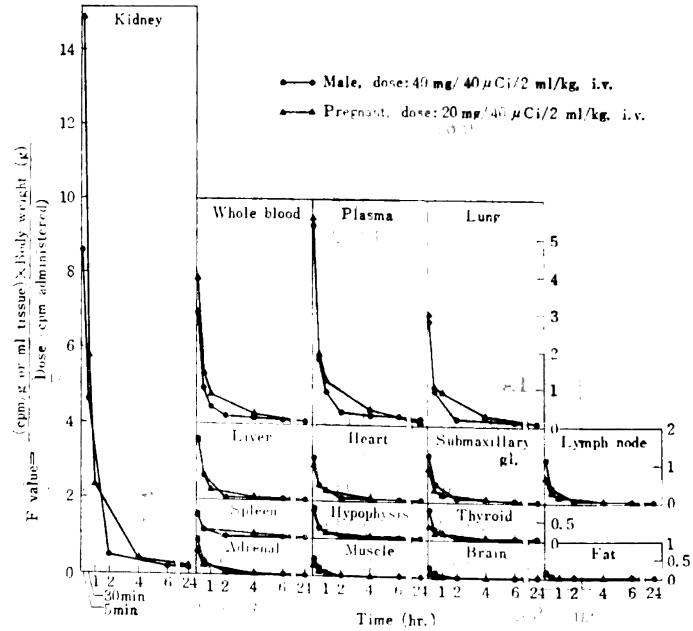


Table 12 Tissue levels of ^{14}C-6059-S in male and pregnant rats (Dose : 40 mg/kg for male and 20 mg/kg for pregnant, i.v.)

Tissue		F value[a)]						
		5 min.	30 min.	1 hr.	2 hr.	4 hr.	6 hr.	24 hr.
Whole blood	M	2.935±0.248	0.946±0.130	0.453±0.070	0.210±0.003	0.164±0.004	0.132±0.013	0.091±0.005
	P	3.885±0.178	1.308±0.132	0.749±0.041		0.265±0.054		0.071±0.007
Plasma	M	5.344±0.449	1.776±0.124	0.868±0.272	0.355±0.063	0.261±0.016	0.247±0.013	0.164±0.014
	P	5.543±0.364	1.921±0.382	1.153±0.075		0.418±0.037		0.098±0.011
Kidney	M	8.602±2.048	4.638±0.420		0.478±0.085		0.213±0.016	0.177±0.014
	P	14.889±2.510	5.762±1.437	2.309±0.492		0.384±0.029		0.245±0.033
Liver	M	1.604±0.435	0.700±0.225		0.058±0.013		0.028±0.004	0.017±0.002
	P	1.562±0.216	0.632±0.173	0.273±0.037		0.059±0.011		0.026±0.044
Lung	M	2.721±0.216	0.939±0.048		0.179±0.037		0.125±0.014	0.085±0.006
	P	2.947±0.336	1.066±0.221	0.876±0.063		0.280±0.013		0.058±0.016
Heart	M	1.131±0.073	0.361±0.032		0.073±0.008		0.050±0.004	0.036±0.008
	P	0.891±0.128	0.335±0.046	0.244±0.070		0.072±0.007		0.022±0.002
Spleen	M	0.609±0.105	0.219±0.016		0.045±0.017		0.049±0.014	0.035±0.011
	P	0.528±0.032	0.208±0.018	0.176±0.052		0.094±0.076		0.024±0.001
Brain	M	0.258±0.043	0.085±0.019		0.012±0.001		0.007±0.000	0.005±0.000
	P	0.116±0.067	0.050±0.014	0.036±0.022		0.009±0.004		0.003±0.001
Submaxillaly gl.	M	1.193±0.099	0.425±0.045		0.068±0.004		0.046±0.007	0.043±0.001
	P	0.826±0.039	0.285±0.041	0.185±0.040		0.061±0.002		0.029±0.003
Lymph node	M	1.097±0.292	0.351±0.035		0.059±0.006		0.042±0.004	0.040±0.010
	P	0.614±0.170	0.244±0.033	0.136±0.061		0.047±0.006		0.023±0.003
Adrenal	M	0.909±0.198	0.335±0.053		0.067±0.032		0.034±0.006	0.034±0.011
	P	0.609±0.039	0.250±0.036	0.196±0.037		0.067±0.006		0.022±0.000
Hypophysis	M	0.809±0.258	0.267±0.014		0.063±0.011		0.067±0.031	0.050±0.025
	P	0.699±0.074	0.260±0.054	0.147±0.033		0.065±0.016		0.019±0.002
Thyroid	M	0.762±0.285	0.246±0.043		0.043±0.002		0.049±0.014	0.047±0.014
	P	0.322±0.178	0.170±0.050	0.171±0.066		0.057±0.010		0.038±0.004
Muscle	M	0.458±0.088	0.157±0.026		0.024±0.005		0.017±0.001	0.013±0.002
	P	0.309±0.139	0.108±0.028	0.057±0.013		0.017±0.006		0.008±0.001
Fat	M	0.173±0.088	0.056±0.012		0.015±0.005		0.047±0.027	0.013±0.008
	P	0.112±0.034	0.040±0.009	0.034±0.014		0.016±0.013		0.009±0.003

The data represents the mean ± S.D. of three rats. a): F value = $\frac{\text{(cpm/g or ml tissue)} \times \text{Body weight (g)}}{\text{Dose (cpm administered)} \text{ Body weight (g)}}$ M : Male rat P : Pregnant rat

Table 13 Total recovery of ^{14}C-6059-S in pregnant rats

Rat No.	Time	Recovery (% of Dose)						
		Urine	Feces	Tissue	Blood	Fetus	Carcass	Total Recovery
1	5 min.	–	–	21.23	14.67	0.01	61.00	96.91
2	30 min.	35.10	–	6.82	4.00	0.01	52.78	98.71
3	1 hr.	36.77	–	3.79	2.45	0.01	58.07	101.09
4	4 hr.	62.73	0.08	0.76	0.92	0.01	39.81	104.31
5	24 hr.	56.86	13.14	0.27	0.25	0.01	29.85	100.38
6	5 min.	–	–	17.62	13.38	0.01	67.90	98.91
7	30 min.	36.73	–	8.46	4.50	0.01	52.19	101.89
8	1 hr.	47.24	–	3.51	2.09	0.05	45.91	98.80
9	4 hr.	70.38	0.24	0.69	0.63	0.01	28.95	100.90
10	24 hr.	52.52	23.14	0.29	0.23	0.01	24.10	100.29
11	5 min.	–	–	17.39	12.47	0.01	71.26	101.13
12	30 min.	41.90	–	8.18	3.97	0.01	50.56	104.62
13	1 hr.	44.26	–	2.95	2.14	0.01	49.68	99.04
14	4 hr.	53.91	–	0.74	0.89	0.01	40.26	95.81
15	24 hr.	63.41	20.83	0.30	0.17	0.01	13.42	98.14
							Mean	100.06
							S.D.	±2.43

うが雄性ラットよりもやや高い値を示したが，減少パターンおよび 24 時間での F 値には大きな差はなかった。

Table 13 には，妊娠ラット 15 例における ^{14}C-6059-S 放射活性の個体別回収率を示した。

平均総回収率は 100.06±2.43% であった。

(3-3) 乳汁移行性

母獣に ^{14}C-6059-S を静脈内投与した後，通常飼育により授乳させた乳仔の体内放射活性含有量を Table 14 に示した。

母獣への投与量に対して，乳仔 1 匹当りの含有率は，0～3 時間では 0.001～0.165%，0～6 時間では 0.002～0.085%，0～9 時間では 0.005～0.080% とかなり大きなバラツキがあった。乳仔の体表面の汚染除去も完全ではなく，また，乳仔体内からの排泄量も不明であるため，乳汁を介して乳仔に移行した量を正確に知ることは困難である。しかし，大約の移行量は極めて少ないと考えられる。

4. 反復投与実験

(4-1) 反復投与中の尿，糞中排泄率

放射活性排泄率を次の 2 種の計算法で表示することにした。

$$\text{排泄率(I)} = \frac{\text{n 回目投与後24時間の排泄量}}{\text{n 回目投与量}} \times 100(\%)$$

$$\text{排泄率(II)} = \frac{\text{1回目からn回目投与後24時間の累積排泄量}}{\text{1回目からn回目までの全投与量}} \times 100(\%)$$

排泄率 (I) は毎日の排泄状況を的確に反映するのに対して，排泄率 (II) は全体としての蓄積傾向を反映することになる。

排泄率 (I) を Table 15, Fig 20 に，排泄率 (II) を Table 16, Fig. 21 に示した。

Fig. 20 Excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity during repetitive dosing

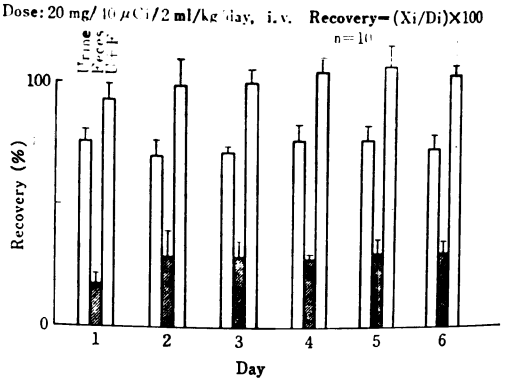


Table 14 Distribution of radioactivity in sucklings after intravenous administration of ^{14}C-6059-S to mother rats (Dose : 20 mg/kg, i.v.)

Time (hr.)	Radioactivity concentration			
	μg equivalent of 6059-S/body	Mean ± S.D.	% of Dose	Mean ± S.D.
0 ~ 3	0.008	0.234±0.303	0.0014	0.0399±0.0534
	0.118		0.0241	
	0.005		0.0010	
	0.090		0.0170	
	0.901		0.1645	
	0.040		0.0077	
	0.423		0.0646	
	0.064		0.0090	
	0.460		0.0702	
0 ~ 6	0.179	0.192±0.167	0.0340	0.0347±0.0305
	0.155		0.0271	
	0.138		0.0260	
	0.453		0.0846	
	0.009		0.0019	
	0.360		0.0706	
	0.036		0.0058	
	0.377		0.0595	
	0.018		0.0028	
0 ~ 9	0.035	0.202±0.181	0.0056	0.0345±0.0304
	0.436		0.0800	
	0.181		0.0343	
	0.023		0.0045	
	0.452		0.0762	
	0.129		0.0257	
	0.111		0.0171	
	0.413		0.0606	
	0.041		0.0063	

尿中排泄率 (I) は毎日 75% 前後で大きな変化はなく，糞中排泄率 (I) も 1 日目はやや低いが，2 日目以後 30% 付近で一定になっている。排泄率 (II) は投与期間中大きな変動はなく，一定の率が保たれていた。反復投与によって排泄の遅延も，体内への蓄積傾向も認められなかった。

(4-2) 反復投与後の血漿中濃度

7 回目投与後の血漿中放射活性，未変化体濃度 (6059 分画の放射活性濃度) および抗菌活性を Table 17, Fig. 22 に示した。

血漿中放射活性は，6 回目投与後 24 時間，すなわち，7 回目投与時にすでに 8 μg/ml の値をもち，それまでの投与に由来する放射活性が完全に消失していないことを示しているが，その濃度は高くなかった。7 回目投与後は 1 回投与後の値とよく一致し，すみやかに消失し，24 時間後には 7 回目投与時の値と同じ程度になった。

7 回目投与後の未変化体濃度と抗菌活性はよく一致し，血漿中抗菌活性は 6059-S 未変化体のみに関係している可能性を示している。放射活性と異って，7 回目投与時に未変化体は存在せず，投与後 2 時間以後も検出できなかった。投与後の消失は 1 回投与とよく一致し

Table 15 Excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity during repetitive dosing

Route of excretion	Recovery (%)					
	1 day	2 day	3 day	4 day	5 day	6 day
Urine	75.86 ±5.25	70.54 ±6.39	71.93 ±2.82	77.31 ±6.81	77.70 ±5.13	73.93 ±6.02
Feces	17.59 ±4.64	29.02 ±10.84	29.13 ±6.60	28.48 ±2.15	30.77 ±6.11	30.94 ±5.11
Total	93.45 ±6.40	99.56 ±10.71	101.06 ±5.23	105.79 ±5.72	108.47 ±8.50	104.87 ±3.84

The data represents the mean ± S.D. of ten rats.

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Excretion in 24 hr. after N-th dosing}}{\text{N-th dose}}$$

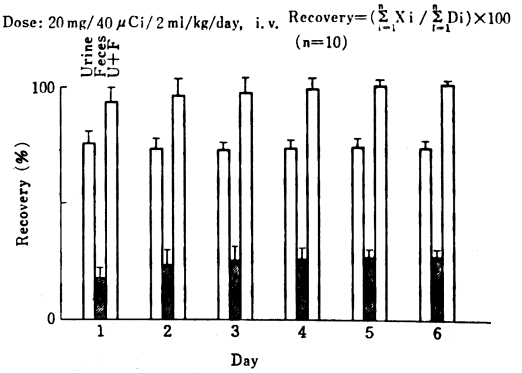
Table 16 Excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity during repetitive dosing

Route of excretion	Recovery (%)					
	1 day	2 day	3 day	4 day	5 day	6 day
Urine	75.86 ±5.25	73.21 ±4.65	72.76 ±3.52	73.88 ±3.73	74.65 ±3.68	74.58 ±3.22
Feces	17.59 ±4.64	23.18 ±6.78	25.16 ±6.60	25.98 ±5.30	26.94 ±3.74	27.64 ±3.34
Total	93.44 ±6.40	96.39 ±7.60	97.92 ±6.58	99.86 ±4.68	101.62 ±2.41	102.16 ±1.66

The data represents the mean ± S.D. of ten rats.

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Cumulative excretion from first to 24 hr. after N-th dosing}}{\text{Cumulative dose from first to N-th dosing}}$$

Fig. 21 Excretion of ^{14}C-6059-S radioactivity during repetitive dosing



ており，反復投与によって体内挙動の変化は認められなかった。この 7 回目投与後の未変化体濃度を用いて pharmacokinetic parameters を算出し，1 回投与のそれと比較した（Table 5)。

7 回目投与時には未変化体は存在しないので，計算は 1 回投与の方法に準じて行なった。1 回投与の値に比べて，α，K_{12}，K_{21} が大きくなっているが，その他は変らなかった。生物学的半減期は，1 回投与が 23 分，反復投与は 21 分であり，血漿クリアランスはそれぞれ 8.49，9.38 ml/kg/min であった。

(4-3) 反復投与後の組織分布

反復投与後の全身オートラジオグラフィーの結果を Fig. 23 に示した。

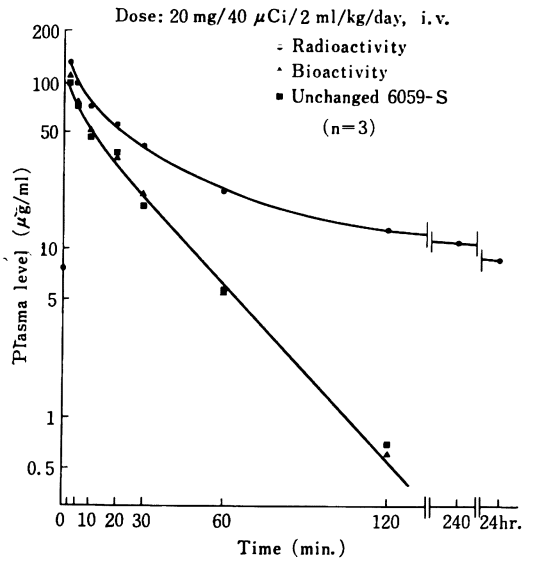
投与後 5 分では腎臓が最も著明な黒化を示し，次いで結合組織，皮膚，血液の順となり，肝臓，肺は血液と

Table 17 Plasma levels after repetitive dosing of ^{14}C-6059-S in rats (Dose : 20 mg/40 μCi/kg/day for 7 days)

Dosing \ Time		0	2 min.	5 min.	10 min.	20 min.	30 min.	1 hr.	2 hr.	4 hr.	24 hr.
Repetitive dosing	P	7.63 ±0.47	131.0 ±23.4	95.15 ±5.61	69.22 ±5.48	52.73 ±4.22	38.69 ±6.05	20.47 ±0.87	11.97 ±1.04	10.04 ±0.17	7.94 ±0.55
	B.A.	N.D.	105.9 ±15.1	72.87 ±9.67	48.80 ±8.34	33.18 ±1.42	19.99 ±3.41	5.07 ±1.56	0.56 ±0.11	N.D.	N.D.
	U	N.D.	94.83 ±19.28	68.70 ±14.21	44.85 ±10.92	36.03 ±12.25	16.74 ±7.73	5.32 ±0.28	0.64 ±0.16	N.D.	N.D.
Single dosing	P	–	131.2 ±2.0	88.55 ±3.21	66.90 ±6.90	41.18 ±2.52	32.27 ±8.00	14.00 ±2.38	6.80 ±0.53	5.47 ±0.56	–
	U	–	122.3 ±13.3	74.59 ±12.68	53.79 ±6.49	32.22 ±1.93	25.34 ±8.26	9.22 ±1.92	3.55 ±0.10	N.D.	–

The data represents the mean ± S.D. of three rats.
P : Radioactivity in plasma, μg/ml, 6059-S equiv.
B.A.: Bioactivity in plasma, μg/ml
U : Unchanged 6059-S in plasma, μg/ml
N.D.: Not detectable
– : Not determined

Fig. 22 Plasma levels after repetitive dosing



程度かやや弱い黒化であった。甲状腺，副腎，膵臓，脾臓，胸腺，唾液腺，下垂体，松果体，精巣，胃，腸および骨格筋など，ほとんどの組織が血液より弱い黒化を示した。リンパ液，胸腔内液および腹腔内液にも黒化が認められた。

時間の経過とともにすみやかに黒化度は減少していくが，尿および胆汁，腸管内容物の黒化はやや長時間持続した。24時間後には腎臓の特に皮髄境界部に著明な黒化同が残存していた。次いで結合組織，皮膚，血液の順となり，肺は血液と同程度かやや弱い黒化であった。その他，肝臓，甲状腺，唾液腺，精巣にも黒化が認められたが，骨格筋，脾臓，膵臓，胸腺などは識別できなかった。盲腸内容物は 7 回目投与直後から黒化を示していたが，24 時間後では，1 回投与 24 時間後の黒化度よりも弱くなっていた。

これらの結果から，反復投与後のオートラジオグラムは各時点とも 1 回投与の場合とほぼ同様の分布像を示し，特に貯留像を示すような臓器はないことが明らかになった。

5. 代謝物の検討

(5-1) ラット

ラットの尿，胆汁試料について得られた TLC-BAG の代表例を Fig. 24, Fig. 25 に，TLC-ARG のそれを Fig. 26, Fig. 27 に示した。

TLC-BAG では，尿，胆汁とも未変化の ^{14}C-6059-S と，その原末に含まれていた微量の 6059-S の脱カルボキシル体に相当するもの以外に阻止像は認められなかった。

TLC-ARG では，尿試料には ^{14}C-6059-S の単一スポットのみが検出されたが，胆汁試料中にはそれ以外に原点付近にも放射活性を示すスポットが検出される例が検討例数の半数以下にみられた。TLC-BAG では，原点付近に阻止像が認められないことから抗菌力を持たない代謝物と考えられる。TLC からのかき取りによる放射活性を検討した結果，その未知代謝物の胆汁中排泄率

Fig. 23 Autoradiogram of male rat after repetitive dosing for 7 days of ^{14}C 6059-S (20mg/kg/day)

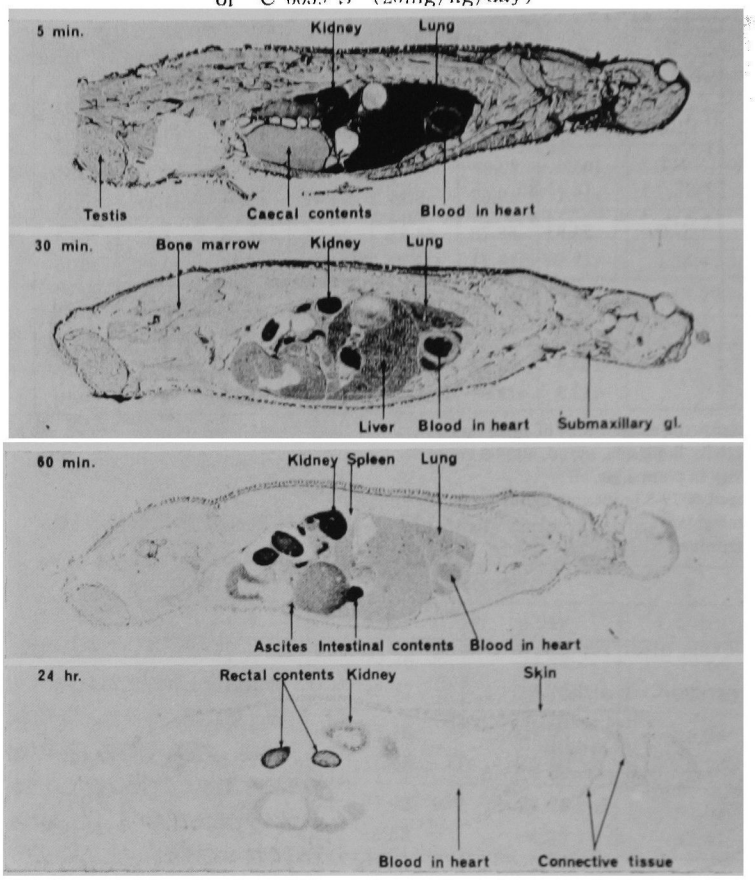
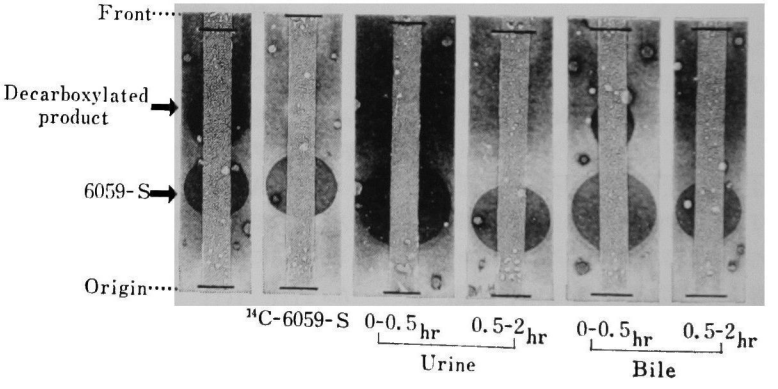


Fig. 24 TLC-Bioautogram of rat urine and bile
Solvent system : n-PrOH:H_2O=7:3
Plate : Cellulose F_{254} (Merck)
Organism : *E. coli* 7437



は最も多い場合でも投与量に対して約 10% 程度であった。しかしながら，この物質の生成については，ラットによる個体差が認められ，全く検出されない例のほうが多く，その本質を解明するには至らなかった。

Table 18 に数種の TLC による 6059-S および代謝，分解物として予想される 3 種の化合物 (Fig. 28, I, II III) を別途合成し，それらについて測定した Rf 値を示したが，ラット尿，胆汁試料中にはそれらの存在は認

Fig. 25 TLC-Bioautogram of rat urine and bile
Solvent system : AcOEt:AcOH:H_2O=3:1:1
Plate : Silicagal 60 without F_{254} (Merck)
Organism : *E. coli* 7437

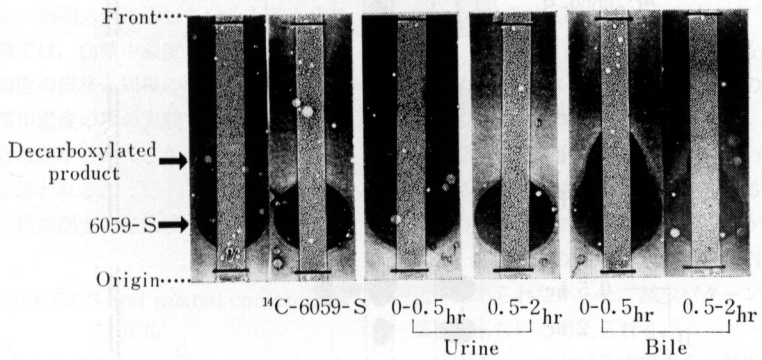
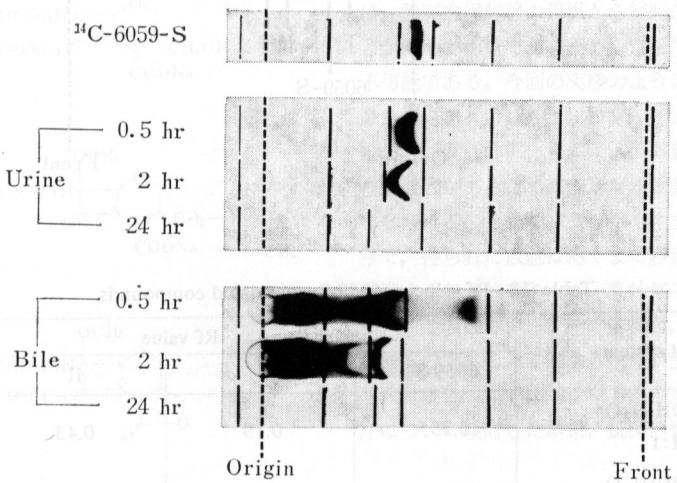


Fig. 26 TLC-Autoradiogram of rat urine and bile
Solvent system : n-PrOH:H_2O=7:3
Plate : Cellulose F_{254} (Merck)



められなかった。なお，溶媒系（B）では，ラット胆汁試料の TLC-ARG で 6059-S 以外に化合物 III の近傍に微量（投与量の 1% 程度）の放射性スポットが検出される例があった（Fig. 27）が，他の溶媒系では，化合物 III の Rf 値とは一致しなかった。

(5-2) イヌおよびサル

イヌの尿，胆汁試料の TLC-BAG 例を Fig. 29 に，サルの例を Fig. 30 に示した。

いずれも未変化 6059-S と原末由来の脱カルボキシル体に相当するスポットのみが検出された。また，イヌ，サルともに雌雄による差は認められなかった。イヌの尿，胆汁試料については，脱カルボシキル体の定量を行なったが，その排泄量は投与に使用した 6059-S 原末中の脱カルボキシル体含有量と一致していた。

考　　察

^{14}C-6059-S のラットにおける排泄の主経路は，尿に約 75%，糞に約 25% であることが明らかになった。両者の合計がほぼ 100% であることから，呼気への排泄はほとんどないものと考えられる。非標識 6059-S を投与したイヌおよびサルでは，ほとんど大部分が尿中に回収された。正常ラットと胆管カニュレーションラットの尿中排泄率が，5～40 mg/kg の間では投与量にかかわらず同程度であり，糞中排泄率と胆汁中排泄率が一致

Fig. 27 TLC-Autoradiogram of rat urine and bile
Solvent system : AcOEt:AcOH:H_2O=3:1:1
Plale : Silicagel 60 without F_{254} (Merck)

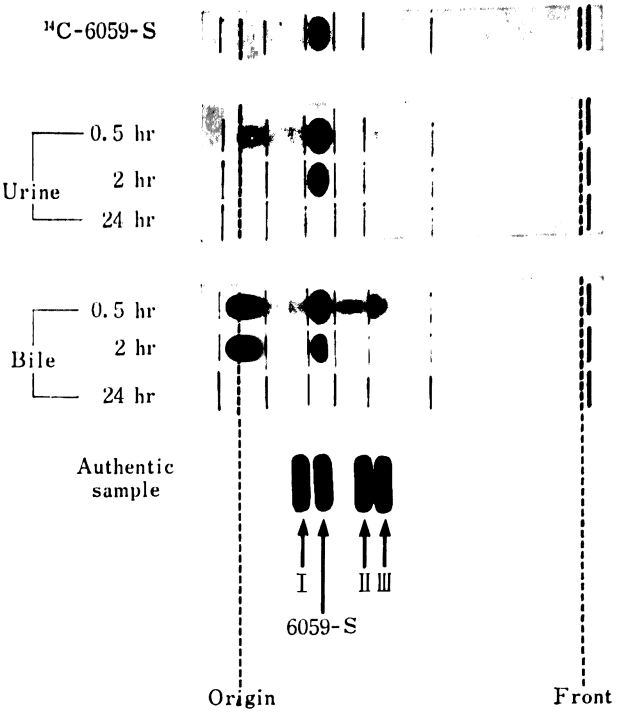


Table 18 Rf value of 6059-S and related compounds

TLC solvent system	Rf value			
	6059-S	I	II	III
(B) AcOEt:AcOH:H_2O = 3:1:1	0.25	0.19	0.43	0.47
(C) AcOEt:AcOH:H_2O = 2:1:1	0.48	0.40	0.63	0.62
(D) $CHCl_3$:MeOH:H_2O:AcOH = 13:10:3:1	0.26	0.18	0.45	0.35
(E) $CHCl_3$:MeOH:H_2O:AcOH = 13:13:5:1	0.38	0.27	0.57	0.50

TLC plate: Merck silicagel 60 (without fluorescence)

していることから，正常ラットにおいて胆汁に排泄される放射活性は腸管で吸収をうけずにそのまま糞中へ排泄されると考えられる。

血漿中未変化体は二相性の消失パターンを示して減少し，5～40 mg/kg の範囲で線形性が認められた。生物学的半減期はラットで 21 分であった。イヌ，サルでは約 3 倍の値であったが，これらの結果は吉田らの実験結果[3]ともよく一致していた。

組織分布については，ラットの全身オートラジオグラフィー，主要臓器組織中の放射活性測定および抗菌活性

測定などにより検討を行なった。投与後の各組織中濃度は時間の経過とともに速かに減少した。腎臓に高濃度の分布がみられたが，6059-S の主排泄経路が腎経由尿への排泄であることを一層明らかに示していると考えられる。腎臓以外の組織では，血漿中濃度よりもかなり低い値を示し，血漿中濃度の推移と同様の挙動を示して減少した。これは，血漿中濃度の項の実験で Table 5 に示したように，分布容積が小さいことから予測したこととよく一致していると思われる。

放射活性と抗菌活性の測定値を比較すると，投与後時間が経過すると腎臓および血漿では，抗菌活性による測定結果がやや低い値を示す傾向が認められた（Table 10, Fig. 16）。これは，血漿中の放射活性濃度に対して，未変化体分画の放射活性が若干低い値を示した（Fig. 5, 6, 7）のと同様の傾向であった。この結果は，抗菌力を持たない ^{14}C-6059-S 由来の代謝物あるいは分解物の存在を示唆するものであるが，尿，胆汁中への排泄が 30 分で 65～70% と極めて速いので，量的には極めて微量しか存在しないと考えられる。

反復投与実験の結果と 1 回投与の結果を比較してみると，6059-S のラットにおける体内挙動には大きな変化は認められなかった。減少パターンの変化も体内での蓄積性もないと考えられる。

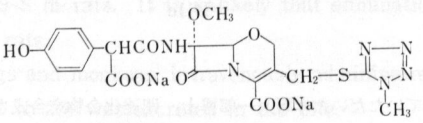
妊娠ラットにおける実験から，雌性ラットにおいても特に蓄積性を示す組織は認められなかった。胎仔への移行性も極めて低いと考えられる。

乳汁中への移行は，今回の実験結果では極めて微量であると考えられる。ラットにおける乳汁移行性の実験は，静脈内投与後の母獣から経時的に乳汁を採取することが極めて困難であるため，定量的な取扱いはほとんど不可能である。今回の実験のように，乳仔に自然授乳させた場合には，12 個もある乳首からのそれぞれの分泌量の差，乳仔の個体差による摂取量，排泄量の差など複雑な要因があるために，単なる例数重ねだけでは解決できないほどの大きなバラツキを生ずる結果になった。従って，得られた数値はあくまで移行が多いか少ないかを推測する参考値であって，乳汁移行率とすることはできない。この種のデーターの解釈は，実験方法自体に問題があるので，それに対する配慮が必要である。

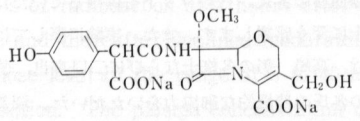
代謝物については，ラット，イヌ，サルの尿および胆汁について検討した結果，抗菌活性を有する代謝物の生

Fig. 28 Structure of 6059-S and related compounds

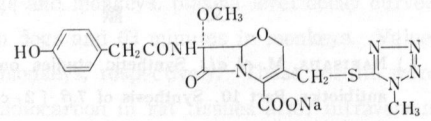
6059-S



Ⅰ



Ⅱ



Ⅲ

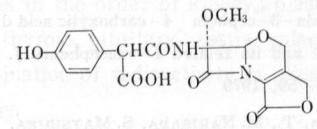


Fig. 29 TLC-Bioautogram of dog urine and bile
Solvent system : n-PrOH:H_2O=7:3
Plate : Cellulose F_{254} (Merck)
Organism : *E. coli* 7437

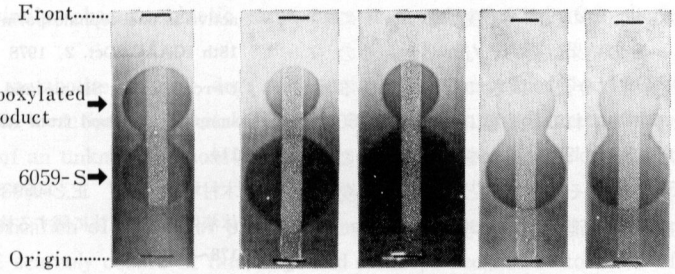
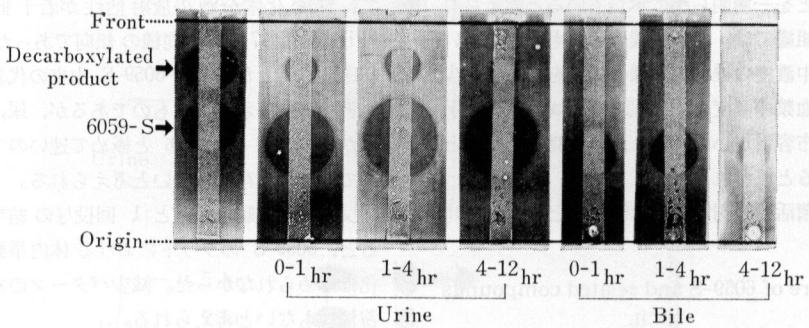


Fig. 30 TLC-Bioautogram of monkey urine and bile
Solvent system : n-PrOH:H_2O=7:3
Plate : Cellulose F_{254}(Merck)
Organism : *E. coli* 7437



成は認められなかった。

尿，胆汁試料の TLC-BAG に，6059-S の脱カルボキシル体のスポットが認められたが，これはすべて原末由来のものであると考えられる。本実験に使用した ^{14}C-6059-S および非標識 6059-S は脱カルボキシル体をそれぞれ 0.8% および 1.2% 含有しており，イヌの尿，胆汁中排泄量を定量した結果，投与検体中に含まれていた脱カルボキシル体の量と一致した。また，尿，胆汁中へのその排泄が，ラット，イヌ，サルともに投与後間もない早い時間帯に比較的多く，時間の経過にともなって 6059-S に対する比が小さくなる傾向が認められた (Fig. 24, 25, 30) が，これは脱カルボキシル体の生物学的半減期が 6059-S のそれよりも明らかに短い[6] ためと考えられる。これらの結果から，尿，胆汁中に検出された脱カルボキシル体は原末由来のものであり，体内での変換によるものではないと考えられる。

ラット胆汁中に，抗菌力を持たず 6059-S よりも極性の高い代謝物の存在が示唆されたが，6059-S の胆汁への移行が，イヌ，サルでは 1～2% 程度であるのに対して，ラットではその 10 倍以上であることと考え合わせると，それはラットにのみ見られる特異な代謝物ではないかと思われる。しかも，この代謝物の生成はラットにより個体差があり，一定の結果は得られなかった。この未知代謝物の本質の解明は今後に残された課題であるが，ラット，イヌ，サルいずれの動物種においても 6059-S の尿，胆汁中回収率が 90% 以上を占めていることから，明らかに 6059-S はそのほとんどが生体内で変換をうけることなく体外に排泄されると考えられる。

謝　辞

本研究の実施にあたり，適切な御助言と御協力をいただいた当研究所の栩野義博，吉田　正の両博士，標識化合物を提供していただいた米野太一郎博士，関連化合物を合成された吉岡美鶴博士，サルの実験に際し御協力いただいた沢井守治，山下武夫，武藤通彦の各氏，妊娠ラットを供与していただいた長谷川靖彦博士に深く感謝します。また，実験に際しては川本敬子，中野正行，高嶋　彰の各修士ならびに二口真也，竹内正治，稲沢和博の各氏の積極的な御協力をいただいた。深甚の謝意を表します。

文　献

1) Narisada, M. *et al.*: Synthetic studies on β-lactam antibiotics. Part 10. Synthesis of 7β-[2-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl) acetamido]-7α-methoxy-3-[[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl) thio]-methyl]-1-oxa-1-dethia-3-cephem-4-carboxylic acid disodium salt (6059-S) and its related 1-oxacephems. J. Med. Chem. 22: 757～759, 1979

2) Yoshida, T., M. Narisada, S. Matsuura, W. Nagata & S. Kuwahara: 6059-S, a new parenterally active 1-oxa-cephalosporin (1) Microbiological studies. 18 th ICAAC, Oct. 2, 1978 (Atlanta)

3) Matsuura, S, T. Yoshida, K. Sugeno, Y. Harada, M. Harada & S. Kuwahara: 6059-S, a new parenterally active 1-oxa-cephalosporin (2) Pharmacological studies. 18th ICAAC, Oct. 2, 1978 (Atlanta)

4) Upton, R. A.: Simple and reliable method for serial sampling of blood from rats. J. Pharm. Sci. 64: 112～114, 1975

5) 木村靖雄，吉田　正：6059-S の微生物学的定量法による体液内濃度測定法に関する検討。Chemotherapy 28 (S-7): 178～188, 1980

6) 吉田　正，木村靖雄，栩野義博：Oxacephem 系抗生物質 6059-S の各種動物における体内動態。Chemotherapy 28 (S-7): 194～206, 1980

DISPOSITION OF 6059-S IN RATS, DOGS AND MONKEYS

KOICHI SUGENO, HIROSHI OKABE, HIDEO TANAKA and RYO NORIKURA
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

The distribution, elimination and metabolic fate of 6059-S have been examined in rats, dogs and monkeys.

After intravenous administration of ^{14}C-6059-S to rats, 75% of the radioactivity was excreted in the urine and 25% in the feces. In rats having cannulated bile ducts, 75% of the label was excreted in the urine and 25% in the bile. The excretion pattern was not influenced by doses ranging from 5 to 40 mg/kg of ^{14}C-6059-S in rats. It is unlikely that elimination by exhalation and enterohepatic circulation of the drug occurs in rats.

In dogs and monkeys, intravenously administered 6059-S was almost completely recovered in the urine and only 1 to 2% was excreted in the bile.

The radioactivity in rat blood after intravenous administration of ^{14}C-6059-S decreased rapidly. The blood levels of radiocarbon at 2 hours after administration was approximately one-twentieth of the value at 2 minutes, and thereafter declined moderately. There was a linear relationship between blood concentration and dose level in the range of 5 to 40 mg/kg. Most of the radioactivity in rat blood was found in the plasma fraction. The plasma concentration of unchanged ^{14}C-6059-S declined in a biphasic manner. The biological half-life of 6059-S was estimated as 21 minutes and plasma clearance was 8.8 ml/kg/min in rats.

In dogs and monkeys, plasma level decay curves of 6059-S were also biexponential. Half-lives were 66 minutes in dogs and 63 minutes in monkeys. Values for plasma clearance were 2.21 and 1.98 ml/kg/min in dogs and monkeys, respectively. These results were considerably different from those obtained in rats.

The radiocarbon in rat tissues after intravenous administration of ^{14}C-6059-S disappeared in a similar manner to that observed in the blood. The highest radioactivity was found in the kidney. Tissue concentration was in the order of kidney≫plasma≫lung>liver, skin, lymph node, submaxillary gland, heart, trachea, pancreas, thyroid, pituitary>testis, spleen, prostate, muscle, thymus>brain and fat. The results obtained by determination of radioactivity in plasma, tissues and excreta correlated well with the findings obtained by bioassay.

In pregnant female rats, the distribution and elimination of radioactivity after intravenous administration of ^{14}C-6059-S were similar to those found in male rats. In the fetus, tissue levels were much lower than in the maternal body.

Repetitive administration of ^{14}C-6059-S to rats at 20 mg/kg/day for 7 days did not affect the urinary and fecal excretion and plasma elimination rates. No accumulation in tissues was observed by whole body autoradiography. Very similar pharmacokinetic parameters to those estimated after single dosing were obtained.

Urinary and biliary metabolite in rats, dogs and monkeys were examined by TLC-bioautography and TLC-autoradiography. No bioactive new metabolite was detected in any specimen, although a sample of rat bile had small amounts of an unknown radioactive product which showed no biological activity and a more polar property than ^{14}C-6059-S.

Though the characterization of the minor product remains to be investigated, it is apparent that biotransformation of 6059-S scarcely occurs in rats, dogs and monkeys because 90 to 100% of the administered 6059-S was excreted solely in urine and bile as the unchanged drug.