

¹⁴C 標識 AM-715 による代謝に関する研究

永津 芳雄・遠藤 恭平・入倉 勉

杏林製薬株式会社中央研究所

¹⁴C-AM-715 を用いてラット、イヌ、サルに経口投与した際の尿・糞 (0~24 hr) および胆汁 (ラット, 0~8 hr) 中代謝物の同定・定量を実施し、次の知見を得た。

1. 尿および糞中に最も多く排泄されたものは未変化体で、それぞれ排泄量の 74~85%, 83~91% を占め、動物間に差は認められなかった。

2. AM-715 は代謝のほとんどをピペラジン環に受け、共通の代謝物として 3-オキシ体、エチレンジアミン体、N-アセチル体、N-ホルミル体、アミノ体および未変化体の抱合体を同定した。また、ラットに特有の代謝物としてカルボン酸のメチルエステル体を検出した。

3. 各動物の糞およびイヌの尿中には特に量の多い代謝物は存在しないが、ラット、サルの尿中では 3-オキシ体が主代謝物で、それぞれ 12.4, 9.7% 存在した。

4. ラット胆汁中の主代謝物はメチルエステル体 (57.0%) で、尿中にも 3.5% 存在した。この代謝は他に報告を見ない新しい抱合形式であった。

前報¹⁾において著者らは ¹⁴C-AM-715 を用い、各種実験動物における吸収、分布、排泄について報告した。また bioassay による動物における吸収、分布、排泄も検討されている²⁾。両測定法における血中濃度、分布、尿中排泄率には大きな差異はないが、胆汁中への排泄率にはかなりの差が認められ、AM-715 が一部抗菌力のない代謝物に変換されていることが推察された。

本報では ¹⁴C-AM-715 を用いて各種動物の尿、糞、胆汁 (ラット) 中代謝物を同定すると共に定量を行ない、AM-715 の代謝経路と種差について検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 分析試料

前報で ¹⁴C-AM-715 を Wistar 系ラットに 50 mg/kg、ビーグル犬、カンクイザルにそれぞれ 25 mg/kg 経口投与した後得られた 0~24 hr の尿、糞、0~8 hr の胆汁 (ラット) を分析試料とした。採取した試料は分析に供するまで暗所に凍結保存した。AM-715 は散光下では一部光分解を受けるので、試料の取扱い、代謝物の分離精製、同定、定量は可能な限り遮光条件下で行なった。

2. 代謝物標品

代謝物標品として次の物質を当研究所で合成³⁾し、同定に用いた。(Fig. 1)

1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(3-oxo-1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid (M-1), 7-(2-aminoethylamino)-1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-2), 7-(2-acetylaminethylamino)-

1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-3), 7-(4-acetyl-1-piperazinyl)-1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-4 (1)), 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-formyl-1-piperazinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-4 (2)), 7-amino-1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-5) および methyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylate (M-6)。

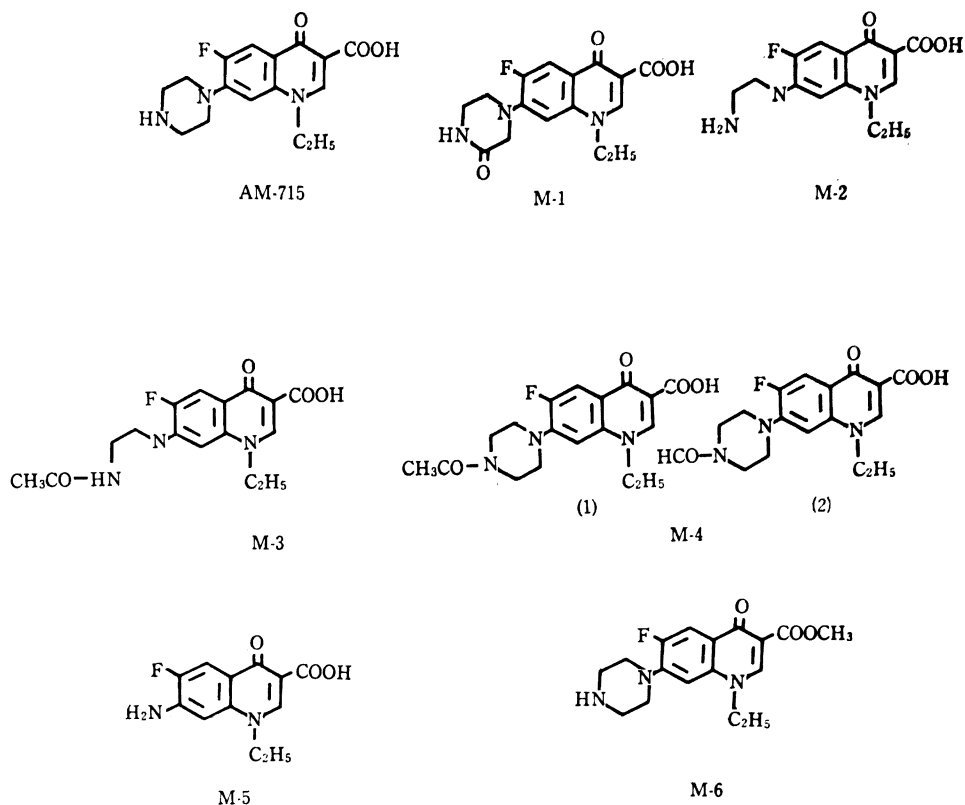
3. 薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析

シリカゲルプレート (Kieselgel 60 F₂₅₄ 0.25 mm Merck 社) を用いた。展開溶媒には A: CHCl₃-MeOH-28% NH₄OH (20:10:3 v/v), B: EtOH-AcOH-H₂O (3:1:1 v/v), C: MeOH-28% NH₄OH (10:1 v/v) を用いた。A 系ではその割合を変えた 4:4:1 v/v, 10:6:1 v/v も用いた。展開は暗所で行ない標品および代謝物のプレート上の位置は 254 nm, 365 nm の紫外線照射により検出した。プレート上の ¹⁴C の検出はラジオクロマトスキャンナー (7201 型 Packard 社) により行ない、その定量はプレートよりシリカゲルと共にかき取り、水に懸濁した後シンチレータ、Aquasol 2 (NEN 社) を加え ¹⁴C を測定した。

4. ¹⁴C の測定

¹⁴C の測定は液体シンチレーションスペクトルメータ (Tri-Carb 2425 型 Packard 社) を用い、外部標準線源法でクエンチングの補正を行ない、トータルカウント数からそれぞれの百分率を算出した。

Fig. 1 Chemical structures of AM-715 and its metabolites



5. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

機種は日立 635 A 型, カラムは内径 2.5 mm, 長さ 15 cm のステンレスカラム, 充填剤に Lichrosorb SI-100 (5 μ Merck 社) を用いた。移動相には D: CH₂Cl₂-CH₃CN-MeOH-28% NH₄OH (100: 150:20:10 v/v) を用いた。カラム温度は 35°C, 流速は 0.8~1.2 ml/min とし, 検出には蛍光分析器 (励起波長 300 nm, 蛍光波長: 420 nm) を用い, 保持時間によって標品と比較した。

6. 紫外線吸収スペクトル (UV) の測定

日立分光光度計 200 型を用い, 各試料は MeOH-28% NH₄OH (10:1 v/v) に溶解して測定した。

7. 質量分析 (MS)

日本電子 JMS-D 300 型を用い, 試料を直接導入して 70 eV で測定し, コンピュータにより積算した結果をリコタイプを通じて作図させ, 判断した。

8. 代謝物の分離

操作は Chart 1 に示したように, 尿, 胆汁はその適量を, 糞は 0.1 N 塩酸抽出液 (約 97%) および 0.1 N 水酸化ナトリウム抽出液 (約 3%) を Amberlite XAD-2 にかけ, 樹脂と等量の水で洗浄し脱塩した。吸着した ¹⁴C

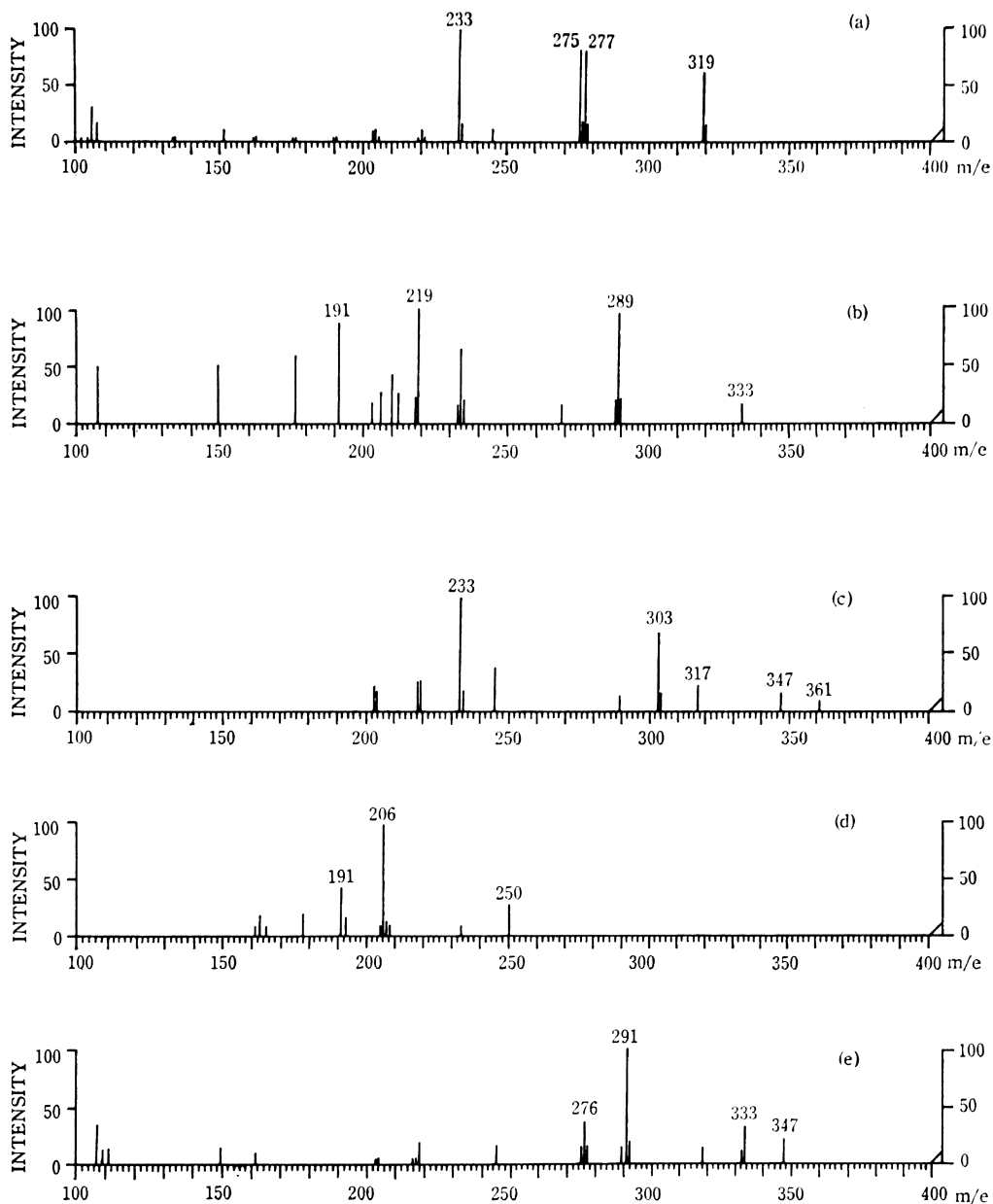
を MeOH-28% NH₄OH (10:1 v/v), MeOH, MeOH-HCOOH (50:1 v/v) で順次溶出した。溶出した ¹⁴C を別別に濃縮乾燥後 MeOH-H₂O (10:1 v/v) に懸濁して合わせ, あらかじめ, おなじ溶媒で充填したシリカゲルカラムで分離した。シリカゲルはワコーゲル C-200 を用い, 約 8 倍容の MeOH-H₂O (10:1 v/v) で溶出してこれを Fr. I とし, 次いで MeOH-28% NH₄OH (10:1 v/v) で溶出した ¹⁴C 分画を Fr. II とした。

Fr. I は濃縮後 1 N 塩酸に溶解してクロロホルム抽出し, TLC で酸性代謝物を分離した。

水層は 1 N 水酸化ナトリウム水溶液を加えて 90°, 1 hr 加水分解後, 無水酢酸でアセチル化し, クロロホルム抽出した。クロロホルム抽出されずに残った水層の ¹⁴C は Amberlite XAD-2 で脱塩後 MeOH-HCOOH (50:1 v/v) で溶出し, TLC で分離した。

Fr. II はその一部を直接, あるいは無水酢酸でアセチル化してクロロホルム抽出後, TLC で分離精製した。TLC のシリカゲルからの ¹⁴C の溶出は MeOH-28% NH₄OH (10:1 v/v) で行なった。

Fig. 2 Mass spectra of AM-715 (a) and its metabolites, M-1 (b), M-4(1) + M-4(2) (c), M-5 (d), M-6 (e)



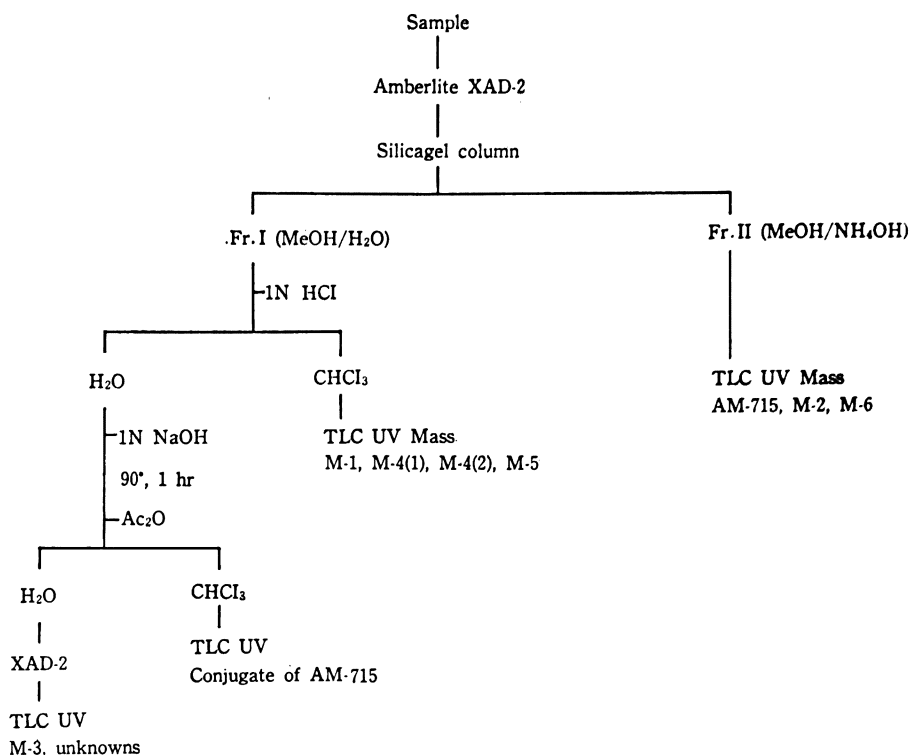
II. 実験結果

Chart 1 に示した代謝物の分画操作の Amberlite XAD-2 による脱塩は樹脂と等量の水で洗浄するか、再度新しい樹脂に吸着させることにより洗浄水への ^{14}C の流失を 1% 以下とすることができ、定量的に ^{14}C を回収した。

次のシリカゲルカラムからの ^{14}C の回収も定量的で ^{14}C の損失は認められなかった。

Fr. I の酸性下クロロホルム抽出液には TLC 上の ^{14}C ピークから 3 つの酸性代謝物を認め、水層の加水分解後アセチル化したクロロホルム抽出液に 1 つの ^{14}C ピークを検出した。クロロホルム抽出されずに残った水層から

Chart 1 Fractionation of AM-715 and its metabolites in urine, feces and bile



2つ以上の ^{14}C ピークを認めた。

一方、Fr. IIからは2つの ^{14}C ピーク（ラットの尿および胆汁では3つ）を検出した。

1. 未変化体

Chart 1 に示した操作により Fr. II から分離した AM-715 は Table 1 の Rf, Table 2 の UV および Fig. 2a の MS を示し、標品と一致した。また、無水酢酸でアセチル化すると標品の M-4 (1) に一致することから同定した。

この部分の ^{14}C によって定量した結果を Table 3 に示した。Fr. II に検出された未変化体が排泄物の中で最大で、ラット、イヌ、サル尿中にそれぞれ 74.3, 84.6, 81.5%, 糞中に 88.3, 83.2, 90.6% 存在した。

2. 抱合体

Fr. I の酸性下クロロホルム抽出後の水層を加水分解後、無水酢酸でアセチル化して得た ^{14}C 分画は、M-4(1)の標品と TLC, UV で一致し、AM-715 の抱合体に由来するものと判定した。この抱合体は Table 3 に示したように尿、糞中ともに 1.5% 以下で代謝物としては minor であった。

3. M-1

Chart 1 に示した方法で Fr. I の酸性下クロロホルム抽出液から TLC で分離された酸性代謝物の一つは MS (Fig. 2b), UV, TLC で M-1 と同定された。

MS は AM-715 より 14 質量数の多い 333 m/e (M^+) を示し、AM-715 系に共通の脱炭酸フラグメントイオン 289 m/e (M-44) が見られることから AM-715 の 2-オキソ体 (M-1) と考えられた。また、ジアゾメタンによりメチル化を行なうと UV λ_{max} 275 nm が 279 nm にシフトし、3 位カルボン酸メチルエステル 共通の 295 nm 付近の谷の消失を認めた。さらに、HPLC において標品と保持時間が一致したことから Fig. 1 に示した M-1 の構造が同定された。

尿、糞中の M-1 含有率は Table 3 に示したように、ラットおよびサルの尿中にそれぞれ 12.4, 9.7% であり、major な代謝物であったが、イヌの尿中には 0.8% しか含まれていなかった。糞には 0.4~0.8% 存在し、動物間に差は認められなかった。

Table 1 Rf-values on silicagel TLC and retention times (HPLC) of AM-715 and its metabolites

Metabolite	Rf-value			HPLC (min)
	A	B	C	D
AM-715	0.25	0.25	0.38	3.7
M-1	0.15	0.55	0.50	4.2
M-2	0.12	—	0.25	3.4
M-3	0.13	—	0.31	—
M-4 (1)	0.35	0.55	0.50	3.2
M-4 (2)	0.35	0.55	0.50	3.2
M-5	0.13	—	0.31	2.0
M-6	0.79	0.35	0.85	—

Solvent system A: CHCl_3 -MeOH-28% NH_4OH (20:10:3 v/v)

B: EtOH-AcOH- H_2O (3:1:1 v/v)

C: MeOH-28% NH_4OH (10:1 v/v)

D: $\text{CH}_2\text{Cl}-\text{CH}_3\text{CN}$ -MeOH-28% NH_4OH (100:150:20:10 v/v)

4. M-2, M-3

M-2は7位のピペラジン環が開環したエチレンジアミン体であり、M-3はM-2の末端アミノ基のアセチル体である。M-2はFr. IIからTLCで分離され、UVの λ_{max} が短波長側270 nmにシフトし、標品と一致したこと (Table 2) と、HPLCで標品の保持時間と一致したことにより同定した。また、M-2はピリジン中無水酢酸でアセチル化するとM-3の標品とTLC上一致した。

M-2は尿中には少なく、同定・定量できなかったが、糞中には1.1~3.7%存在した (Table 3)。M-3は尾崎ら⁴⁾によりヒト尿中に検討されているが、本報では量的に少なく、かつ夾雑物の影響で単離同定および定量には至らなかった。

5. M-4

Fr. Iの酸性代謝物の一つとして得られたM-4には2種の代謝物M-4 (1), M-4 (2) が混在し、Fig. 1に示したようにピペラジンN位のアチル体であって前者はアセチル体、後者はホルミル体である。この両者はChart 1の方法で分離しても、TLC, UV, HPLCにおいて同一挙動をとり分離不能であった。M-4の質量分析 (Fig. 2C) によると361, 347, 317, 303 m/eのイオンピークが認められた。標品M-4 (1) のMSには347, 303 m/eのピークは認められず、これらはM-4 (2) に由来した。従って

M-4はM-4 (1) とM-4 (2) の混合物と判定した。

TLCでM-4合計量として定量した結果はTable 3に示したようにminorな代謝物で、ラット、イヌ、サルの尿中にそれぞれ3.7, 0.4, 2.8%存在し、糞中にそれぞれ1.5, 1.7, 1.1%存在しており、動物間に差は見られなかった。

Table 2 UV absorption of AM-715 and its metabolites

Metabolite	λ_{max} (nm) ^a		
AM-715	276	325	337
M-1	275	325	338
M-2	270	323	336
M-3	270	323	336
M-4 (1)	276	325	338
M-4 (2)	276	325	338
M-5	267	323	335
M-6	282	320	334

a: Measured in MeOH-28% NH_4OH (10:1 v/v)

Table 3 Composition of ^{14}C in excreta of rats, dog and monkey after oral administration of ^{14}C -AM-715

Metabolite	Rats			Dog		Monkey	
	Urine ^a	Bile ^b	Feces ^a	Urine ^a	Feces ^a	Urine ^a	Feces ^a
AM-715	74.3	22.1	88.3	84.6	83.2	81.5	90.6
Conjugate of AM-715	1.3	1.1	1.4	1.5	1.1	—	0.3
M-1	12.4	1.7	0.8	0.8	0.7	9.7	0.4
M-2	—	1.1	2.3	—	3.7	—	1.1
M-4 (1), (2)	3.7	0.7	1.5	0.4	1.7	2.8	1.1
M-5	1.3	1.3	1.2	1.6	2.4	3.0	0.4
M-6	3.5	57.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Others ^c	3.5	15.0	4.5	11.1	7.2	3.0	6.1

Each value was percentage of ^{14}C in excreta. n.d.: Not detectable.

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

b: Pooled sample during 0 to 8 hr period after administration.

c: Unclassified metabolites.

6. M-5

M-5は7位ピペラジン環の脱ジェチルアミノ化が生じ、アミノ基となったものでFig. 1に示した構造を有する。Fr. Iの酸性代謝物の一つとしてTLCで分離精製され、そのRf値はTable 1のようであり、UV λ_{max} はAM-715より短波長側にシフトして267 nmを示した(Table 2)。さらに、ピリジン中無水酢酸でアセチル化すると長波長紫外線(365 nm)照射による蛍光が消失すること、HPLCの保持時間が標品と一致したことによって同定した。MSはFig. 2dに示したように $\text{M}^+ = 250 \text{ m/e}$ 、 $(\text{M}-44)^+ = 206 \text{ m/e}$ のフラグメントイオンが認められ、その構造が支持された。

このものはTable 3に示したように少量しか存在せず、ラット、イヌ、サル尿中にはそれぞれ1.3, 1.6, 3.0%、糞中にはそれぞれ1.2, 2.4, 0.4%であって動物間の差は認められなかった。

7. M-6

M-6は3位カルボン酸のメチルエステルで、Fig. 1にその構造を示した。Fr. IIからTLCで分離され、UV λ_{max} は282 nmで、295 nm付近の谷が消失した。こ

のものに1 N 水酸化ナトリウム水溶液を加え90°, 1 hr加水分解するとAM-715を生じ、さらに加水分解物を無水酢酸でアセチル化するとM-4 (1)を生じ、標品の性質と一致した。

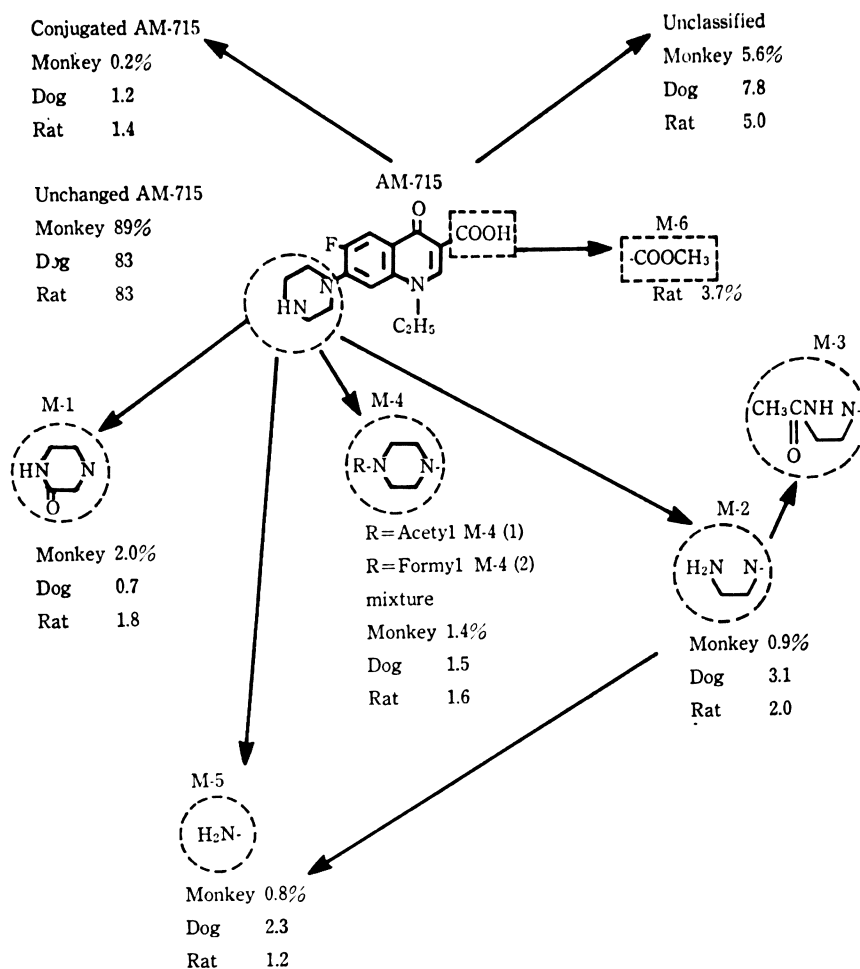
MSはFig. 2eに示したように347, 333, 291 m/eにフラグメントイオンを見た。 M^+ を347 m/eとすると $(\text{M}-42)^+$ に相当する305 m/eが認められない。そこで M^+ を333 m/eとすると $(\text{M}-42)^+$ は291 m/eとなり、 $(\text{M}+14)^+$ の347 m/eはメチル基の再配列と考えるとよく説明ができる。

M-6はラットにのみ出現し、尿、胆汁中にそれぞれ3.5, 57%存在し、胆汁中のmajorな代謝物であるにもかかわらず糞中には見い出せなかった(Table 3)。

8. 未同定代謝物

Amberlite XAD-2の洗浄水への流れ込んだ分画および抽出操作での水層へ移行した極性の高い代謝物を含む未同定代謝物は、イヌの尿中に11.1%、糞中に7.2%と比較的多く存在し、ラットおよびサルでは尿中にそれぞれ3.5, 3.0%、糞中に4.5, 6.1%存在した(Table 3)。

Chart 2 Metabolic map of AM-715, each value were percent of dose



III. 考 察

AM-715 をラット、イヌおよびサルに経口的に与えた場合、排泄物中に最も多く、大部分を占めるものは未変化体であって、投与量に対する%に換算するとラット、イヌ、サルでそれぞれ 83, 83, 89% で動物間でほぼ同一であった。AM-715 の代謝は主としてピペラジン環の変換であり (Chart 2), M-1, M-4 (1), M-4 (2) への 2-オキソ化, N-アセチル化, N-ホルミル化は PPA⁵⁾, 4-morpholino-2-piperazino-thieno [3, 2-d] pyrimidine⁶⁾ でも認められ、既知化合物と類似の経路であった。

Minor な代謝物である ピペラジン環の開環した M-2 (エチレンジアミン体), M-5 (アミノ体) のような代謝経路は PPA では認められていないが, PA⁷⁾, perphenazine^{8,9)}, chlorcyclizine¹⁰⁾ ではその生成が認められている。

M-6 (3 位カルボン酸のメチルエステル) の質量分析上におけるメチル基の再配列は珍しい例であるが, voacamine¹¹⁾ に認められ、熱による分子間転位であることが重水素体を用いて証明されている。これにはメチルエステルとメチル基受容体の二級アミンが必須であり、M-6 と構造的に類似している。このラットのみに生じたカルボン酸のメチルエステル抱合は胆汁中に極めて多く存在することから肝臓中の酵素的抱合であると思われる、他に例を見ない新規の経路である。さらに、この代謝物がラットの糞中に検出されなかったことは腸内細菌群で脱エステル化され、AM-715 に戻ることが推察される。

ヒトの尿中代謝物は尾崎ら⁴⁾ によって検討されている。これを本報の結果と比較すると、いずれの動物種でも未変化体の割合が最も多く、尿中排泄物の約 80% を占め、ヒト、サル、ラットでは共に M-1 が尿中主代謝物とみ

なされた。ヒトの代謝パターンに最も似ていた種はサルであり、ラットも特有のメチル抱合が余分に行なわれる以外の代謝はヒトに類似し、また量的に特に多い代謝物の存在しないイヌでもヒトの行なう代謝を同様に行なっていた。代謝パターンがヒトと同様な動物における毒性試験結果は一層信頼できるものとなろう。

放射活性によるラットの胆汁中排泄率は、bioassayのそれと比べるとかなりの差があり、この差は、検定菌として用いた *E. coli* NIHJ JC-2 に対する代謝物 M-1, M-2, M-4 (1), M-4 (2), M-5, M-6 の抗菌活性がそれぞれ AM-715 の 1/7.8, 1/125, 1/31.2, 1/7.8, 1/250 である¹²⁾ ことによるのであろう。

文 献

- 1) 永津芳雄, 遠藤恭平, 入倉 勉: ¹⁴C 標識 AM-715 による体内動態に関する研究。Chemotherapy 29 (S-4): 105~118, 1981
- 2) 村山 哲, 平井敬二, 伊藤 明, 阿部泰夫, 入倉 勉: AM-715 の bioassay による体内動態に関する研究。Chemotherapy 29 (S-4): 98~104, 1981
- 3) KOGA, H.; A. ITO, S. MURAYAMA, S. SUZUE & T. IRIKURA: Structure-activity relationships of antibacterial 6,7- and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acids. J. Med. Chem. 23: 1358—1363, 1980
- 4) 尾崎敏夫, 内田 広, 入倉 勉: AM-715 のヒトにおける代謝に関する研究——高速液体クロマトグラフィーによる——。Chemotherapy 29 (S-4): 128~135, 1981
- 5) KUROBE, N.; S. NAKAMURA & M. SHIMIZU: Metabolites of pipemidic acid in human urine. Xenobiotica 10: 37~46, 1980
- 6) PROX, A.; A. ZIMMER & H. MACHLEIDT: Rapid structure elucidation of drug metabolites by use of stable isotopes. Xenobiotica 3: 103~112, 1973
- 7) SEKINE, Y.; M. MIYAMOTO, M. HASHIMOTO & K. NAKAMURA: Metabolism of piromidic acid, a new antibacterial agent. III. Determination of piromidic acid and its metabolites in blood, urine and bile of rats and humans. Chem. Pharm. Bull. 24: 1433~1438, 1976
- 8) JAHNS, I. & U. BREYER: The rat brain as a "Deep compartment" in the kinetics of a common metabolite of prochlorperazine and perphenazine. Drug. Metab. Dispos. 4: 522~529, 1976
- 9) BREYER, U.; A. PROX, R. BERTELE & H.J. GAERTNER: Tissue metabolites of trifluoperazine, fluphenazine, prochlorperazine and perphenazine in the rat. Identification and synthesis. J. Pharm. Sci. 13: 1812~1848, 1974.
- 10) GAERTNER, H.J.; U. BREYER & G. LIOMIN: Chronic administration of chlorcyclizine and meclizine to rats. Accumulation of a metabolite formed by piperazine cleavage. J. Pharmacol. Exp. Ther. 185: 195~201, 1973
- 11) THOMAS, D.W. & K. BIEMANN: Thermal transfer. The mass spectrum of voacamine-d₃. J. Am. Chem. Soc. 87: 5447~5452, 1965
- 12) 大森康男, 村山 哲, 阿部泰夫, 入倉 勉: Bioassay による AM-715 の体液濃度測定法に関する研究。Chemotherapy 29 (S-4) 91~97, 1981

STUDIES ON THE METABOLISM OF ^{14}C -LABELLED AM-715

YOSHIO NAGATSU, KYOHEI ENDO and TSUTOMU IRIKURA

Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

The metabolism of 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid (AM-715) was studied in rats, a dog and monkeys following an oral administration of ^{14}C -AM-715, respectively. The radioactive metabolites in the 0~24 hr urine and feces, and in the 0~8 hr bile (rats only) were analyzed by TLC, UV, mass spectrometry and HPLC.

1. Most of AM-715 orally administered was excreted in the urine and feces without receiving drug-metabolism. The portion of unchanged AM-715 was 74~85% of the excreted compounds in the urine and 83~91% of those in the feces, irrespective of the animal species.

2. Seven metabolites were identified in the present study: 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(3-oxo-1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid (M-1); 7-(2-aminoethylamino)-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-2); 7-(4-acetyl-1-piperazinyl)-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-4(1)); 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-formyl-1-piperazinyl)-1, 4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-4 (2)); 7-amino-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (M-5); methyl 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylate (M-6); and the conjugate of AM-715.

3. AM-715 was metabolized mostly at the piperazine ring. The following metabolites were common to all of the animals: M-1, M-2, M-4 (1), M-4 (2), M-5 and the conjugate of AM-715. A metabolite unique to the rats was M-6.

4. The dog's urine and all of the animals' feces contained none of the metabolites in large quantities. The main metabolite in the rats' urine and monkeys' urine was M-1, which accounted for 12.4% and 9.7% of the excreted compounds in these urine, respectively.

5. The primary metabolite in the rats' bile was the methyl ester conjugate of carboxylic acid (M-6), which accounted for 57.0% of the label detected. M-6 was also found to account for 3.5% of the label in the urine of rats. This conjugation represents a novel metabolic pathway.