

各種動物における AM-715 の Bioassay による体内動態に関する研究

村山 哲・平井 敬二・伊藤 明・阿部 泰夫・入倉 勉

杏林製薬株式会社中央研究所

AM-715 の吸収、体内分布および排泄について、マウス、ラット、ウサギおよびイヌを用いて検討し、以下の成績を得た。

1. AM-715 の血清中濃度は経口投与後 0.5~1 時間で最高濃度に達した。その濃度は非絶食のマウス、ラットおよびウサギに 50 mg/kg 経口投与した場合、0.5~0.9 $\mu\text{g/ml}$ とほぼ一致したが、イヌでは 30 mg/kg 経口投与で 4.9 $\mu\text{g/ml}$ と他の動物に比べ高い濃度を示した。しかしながら絶食時に、50 mg/kg 経口投与した場合、マウスで 1 $\mu\text{g/ml}$ 、ラットで 3 $\mu\text{g/ml}$ といずれも非絶食時よりも 2~3 倍高い血清中濃度を示した。

2. マウス、ラットおよびウサギの尿中濃度は 50 mg/kg 経口投与した場合、投与後 6~24 時間尿で 20 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度を示し、イヌ (30 mg/kg 経口投与) では 48~72 時間尿でも 23 $\mu\text{g/ml}$ であった。排泄率は 24 時間までにマウス、ラットおよびウサギでは 3.5~6.1%、イヌでは 13.6% であった。

3. ラットの胆汁中排泄では 50 mg/kg 経口投与後 3 時間までの平均濃度は 31.0 $\mu\text{g/ml}$ を示し、24 時間までに投与量の 2.43% が排泄された。

4. 肺臓、肝臓、腎臓、前立腺、上顎洞粘膜および口蓋扁桃への移行は、いずれも血清中濃度と同程度またはそれより高い濃度を示した。マウスおよびラットの絶食時では非絶食時に比べ、臓器濃度は各々 1.7~10.0 倍、1.4~4.6 倍の値を示した。

AM-715 (1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid) は杏林製薬株式会社において開発した化学療法剤であり、グラム陽性菌および陰性菌に対して有効な、巾広い抗菌スペクトラムを有している。特に nalidixic acid 耐性菌および緑膿菌に強い抗菌活性を示している¹⁾。今回は、この薬剤の各種動物における吸収、分布および排泄を検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 薬 剤

AM-715 は杏林製薬株式会社で合成したものを、piperimidic acid (PPA) は公知の方法²⁾に基づいて合成したものをを用いた。Nalidixic acid (NA) は市販品より抽出精製したものをを用いた。

各薬剤は、0.5% Carboxymethyl cellulose 液に懸濁して経口投与した。

2. 動 物

マウス: ddY 系, 雄, 体重 25~32 g

ラット: Wistar 系, 雄, 体重 200~270 g

ウサギ: 日本白色在来種, 雄, 体重 2.9~3.5 kg (組織内濃度測定の場合は 2.0~2.5 kg)

イヌ: Beagle 種, 雄, 体重 12.0~12.5 kg.

3. 血清中濃度および体内分布

各種動物に AM-715 を経口投与 (投与量; マウス, ラットおよびウサギでは 50 mg/kg, イヌでは 30 mg/kg) 後, 所定の時間にマウスおよびラットでは断頭または股動脈切断により, ウサギおよびイヌの場合は静脈穿刺により採血した。マウス, ラットおよびウサギにおける臓器および組織は所定の時間に断頭または股動脈より放血致死させ, マウスでは肺, 腎, 肝, ラットでは肺, 腎, 肝および前立腺, ウサギでは口蓋扁桃および上顎洞粘膜を摘出した。摘出した臓器および組織を秤量し M/15 リン酸緩衝液 (pH 7.5) で洗浄後, 3~4 倍の同リン酸緩衝液を加え, Polytron (Kinematica 製) で homogenize し, 遠心分離 (3,000 r.p.m, 20分) 後, その上清を定量用試料とし, AM-715 の濃度を測定した。

4. 尿中排泄

非絶食マウス, ラットおよびウサギに 50 mg/kg, 非絶食イヌに 30 mg/kg を経口投与後, 直ちに各個体を代謝ケージに入れ, 経時的に尿を採取した。

5. 胆汁中排泄

非絶食ラットをエーテル麻醉下に開腹し, 総胆管にポリエチレン製チューブを挿入したのち固定し, 覚醒後に 50 mg/kg の AM-715 を経口投与し, 経時的に胆汁を採取した。

6. 体内濃度測定

生体内試料中の AM-715 の定量は別に報告した方法³⁾を用いた。標準線は血清の場合には同種の動物血清、尿の場合は M/15 リン酸緩衝液 (pH 7.0), その他は M/15 リン酸緩衝液 (pH 7.5) を用いて作製した。NA および PPA も同様に操作した。

ウサギの口蓋扁桃および上顎洞粘膜中の濃度測定の場合は、寒天平板上に直径 3 mm の穴をあけ、試料 3 μ l を注入する方法⁴⁾を用いた。

II. 実験結果

1. 血清中濃度

非絶食および絶食 (18時間絶食) のマウスおよびラットに AM-715 を 50 mg/kg 経口投与した場合の血清中濃度推移を Fig. 1 および 2 に示した。最高濃度は投与後 30 分に見られ、その濃度は非絶食時の場合マウスでは 0.5 μ g/ml, ラットでは 0.9 μ g/ml であった。絶食させると、その濃度は非絶食時に比べ各々 2.0 倍および 3.3 倍高い濃度を示した。

ウサギおよびイヌに経口投与した場合の血清中濃度推移を Fig. 3 および 4 に示した。ウサギ (50 mg/kg) およびイヌ (30 mg/kg) の場合、最高濃度は投与後 1 時間に見られ、その濃度はウサギでは 0.6 μ g/ml であり、イヌでは投与量が少ないにもかかわらず 4.9 μ g/ml と高い濃度を示した。

Fig. 1 Serum levels of AM-715 after oral administration in mice (mean \pm SE, n=5) Dose: 50mg/kg

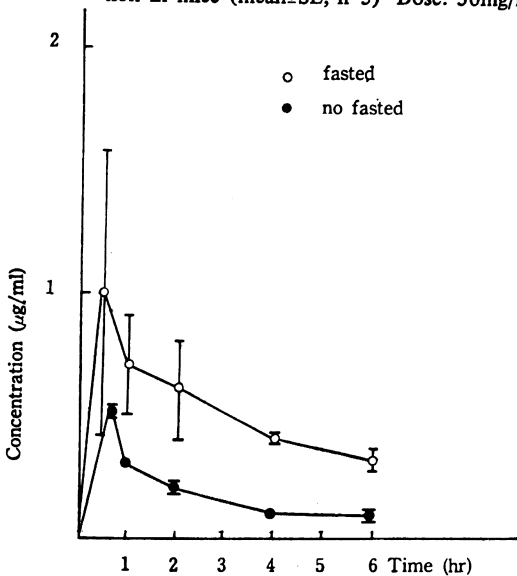


Fig. 2 Serum levels of AM-715 after oral administration in rats (mean \pm SE, n=6) Dose: 50mg/kg

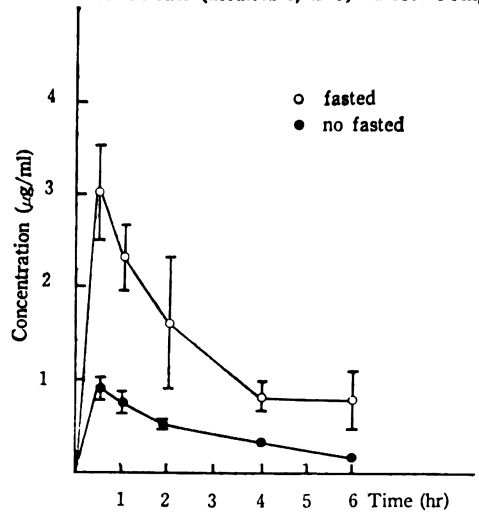


Fig. 3 Serum levels of AM-715 after oral administration in rabbits (mean \pm SE, n=5) Dose: 50mg/kg

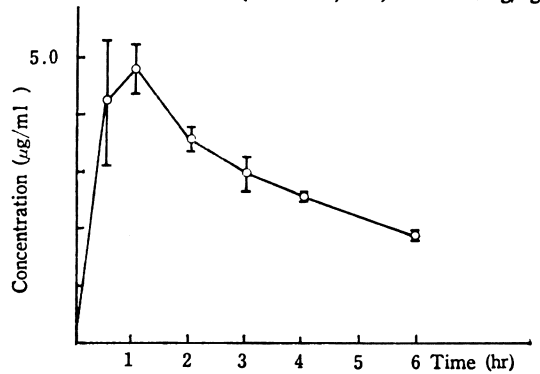
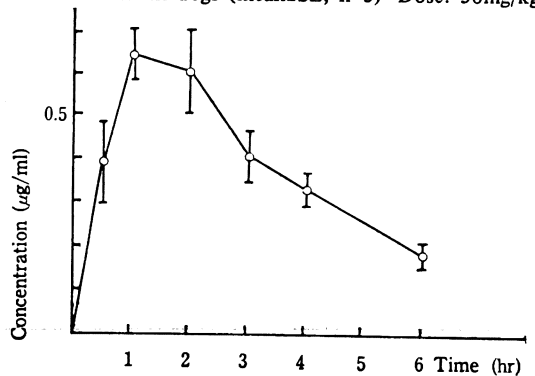


Fig. 4 Serum levels of AM-715 after oral administration in dogs (mean \pm SE, n=3) Dose: 30mg/kg



2. 体内分布

非絶食時に AM-715 を 50 mg/kg 経口投与した時の肺臓、肝臓および腎臓への分布はマウスの場合を Table 1 に、ラットの場合を Table 2 に示した。絶食時の場合のマウスの結果を Table 3 に、ラットの結果を Table 4 にそれぞれ示した。非絶食時の場合、マウス、ラット共に投与後 0.5~1 時間に最高濃度しに達し、その濃度はマウスで肝>腎>肺、ラットで腎>肝>肺の順であった。絶食の場合は投与後 0.5 時間に最高濃度に達し、その濃度はマウスで腎>肝≒肺、ラットでは肝>腎>肺の順であり、非絶食に比べマウスで 1.7~10.0 倍、ラットで 1.4~4.6 倍高い値を示した。いずれも血清中濃度と同程度もしくはそれ以上の濃度を示した。絶食ラットに

AM-715 を 50 mg/kg 経口投与した時の血清および前立腺中濃度の推移を Fig. 5 に示した。前立腺中濃度は投与後 1 時間で最高に達し、その濃度は 3.7 μg/ml であり、投与後 4 時間まで血清中濃度を上まわっていた。ウサギに AM-715 を 50 mg/kg 経口投与後の口蓋扁桃および上顎洞粘膜中濃度は Fig. 6 に示すように、投与後 3 時間に最高濃度を示し、その濃度は各々 10.5 μg/g および 3.8 μg/g で血清中濃度に比べ各々 3.3 倍、1.2 倍高い移行を示した。

3. 尿中排泄

マウス、ラット、ウサギおよびイヌに経口投与した場合の 24 または 72 時間までの尿中濃度を Table 5 に、尿中累積排泄率を Table 6 にそれぞれ示した。AM-715 を 50

Table 1 Tissue distribution of antibacterial activity after oral administration of AM-715, 50mg/kg, in no fasted mice (μg/g, μg/ml)

Tissue	Time (hr)				
	0.5	1	2	4	6
Lung	0.2±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0	ND	ND
Kidney	0.4±0.1	0.5±0.0	0.2±0.1	0.2±0.0	0.2±0.0
Liver	1.0±0.1	0.7±0.1	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0
Serum	0.5±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0

(mean ± SE, n=5)

Table 2 Tissue distribution of antibacterial activity after oral administration of AM-715, 50mg/kg, in no fasted rats (μg/g, μg/ml)

Tissue	Time (hr)				
	0.5	1	2	4	6
Lung	0.7±0.2	0.9±0.2	0.5±0.8	0.2±0.0	ND
Kidney	7.4±1.4	6.8±1.2	4.4±0.6	1.9±0.1	1.0±0.1
Liver	4.1±0.9	3.7±0.6	2.5±0.5	1.2±0.2	0.7±0.1
Serum	0.9±0.1	0.8±0.1	0.5±0.1	0.2±0.0	0.1±0.0

(mean ± SE, n=6)

Table 3 Tissue distribution of antibacterial activity after oral administration of AM-715, 50mg/kg, in fasted mice ($\mu\text{g/g}$, $\mu\text{g/ml}$)

Tissue	Time (hr)				
	0.5	1	2	4	6
Lung	2.0 \pm 0.4	1.4 \pm 0.5	0.8 \pm 0.3	0.3 \pm 0.0	0.3 \pm 0.1
Kidney	2.8 \pm 0.7	1.6 \pm 0.2	1.2 \pm 0.2	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.2
Liver	1.7 \pm 0.6	0.7 \pm 0.2	0.4 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1
Serum	1.0 \pm 0.1	0.5 \pm 0.0	0.4 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	0.2 \pm 0.1

(mean \pm SE, n=5)**Table 4** Tissue distribution of antibacterial activity after oral administration of AM-715, 50mg/kg, in fasted rat ($\mu\text{g/g}$, $\mu\text{g/ml}$)

Tissue	Time (hr)				
	0.5	1	2	4	6
Lung	4.1 \pm 0.6	2.9 \pm 1.3	2.1 \pm 0.2	1.0 \pm 0.4	0.3 \pm 0.1
Kidney	10.5 \pm 1.0	8.3 \pm 0.6	4.7 \pm 0.3	1.7 \pm 0.3	1.6 \pm 0.5
Liver	13.6 \pm 1.1	8.5 \pm 0.7	5.5 \pm 0.7	1.6 \pm 0.2	1.1 \pm 0.3
Serum	3.0 \pm 0.5	2.3 \pm 0.4	1.6 \pm 0.7	0.8 \pm 0.2	0.8 \pm 0.3

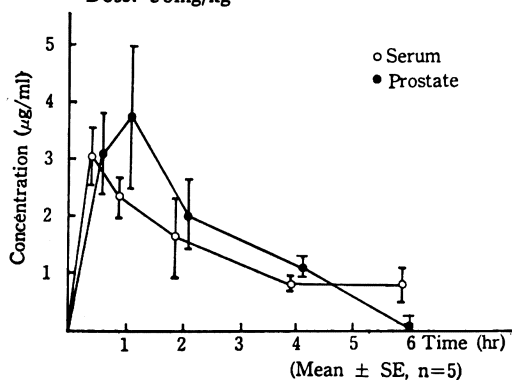
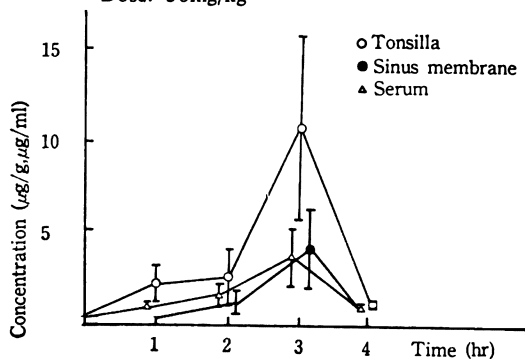
(mean \pm SE, n=5)**Fig. 5** Prostate and serum levels of AM-715 after oral administration in fasted rat (mean \pm SE, n=5)
Dose: 50mg/kg**Fig. 6** Tissue levels of AM-715 after oral administration in non fasted rabbits (mean \pm SE, n=5)
Dose: 50mg/kg

Table 5 Urinary levels of AM-715 after oral administration

Animal species	No. of animals	Dose (mg/kg)	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)				
			0~3	3~6	6~24	24~48	48~72 hr
Mouse	10	50	33.1 \pm 2.8	27.2 \pm 3.2	23.1 \pm 2.0		
Rat	10	50	89.3 \pm 19.5	99.2 \pm 15.9	32.2 \pm 0.1		
Rabbit	5	50	57.4 \pm 15.5	52.1 \pm 13.7	20.9 \pm 4.9	3.5 \pm 0.8	0.7 \pm 0.2
Dog	3	30		623 \pm 13		70.5 \pm 32.5	23.4 \pm 8.6

(mean \pm SE)

Table 6 Urinary excretion of AM-715 after oral administration

Animal species	No. of animals	Dose (mg/kg)	Recovery rate (%)				
			0~3	0~6	0~24	0~48	0~72 hr
Mouse	10	50	1.6 \pm 0.2	2.1 \pm 0.1	5.1 \pm 0.2		
Rat	10	50	1.8 \pm 0.4	3.3 \pm 0.4	6.1 \pm 0.6		
Rabbit	5	50	1.8 \pm 0.1	2.3 \pm 0.2	3.5 \pm 0.3	4.4 \pm 0.6	4.5 \pm 0.6
Dog	3	30			13.6 \pm 2.3	15.8 \pm 3.2	16.3 \pm 3.2

(mean \pm SE)

mg/kg 経口投与したマウス、ラットおよびウサギでは投与後 6~24 時間尿で 20 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度を示し、イヌでは 30 mg/kg 投与でも 48~72 時間尿で 23.4 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度を示した。投与後 24 時間までの排泄率はマウス、ラット、ウサギおよびイヌにおいてそれぞれ、5.1, 6.1, 3.5 および 13.6% であった。

4. 胆汁中排泄

ラットに AM-715, NA および PPA を 50 mg/kg 投与した時の胆汁中への排泄を Table 7 に示した。AM-715, PPA は投与後 0~3 時間で最高濃度に達し、各々 31.0 および 27.4 $\mu\text{g/ml}$ であった。NA は投与後 3~6 時間に最高濃度 18.6 $\mu\text{g/ml}$ を示した。6~24 時間での胆汁中濃度は NA, PPA では平均 10 $\mu\text{g/ml}$ 前後であったのに対し、AM-715 は 18.9 $\mu\text{g/ml}$ と 2 倍程度高い濃度を示した。投与後 24 時間までの排泄率は AM-715, PPA, NA で各々 2.43, 1.97, 1.33 (% of dose) であり、AM-715 は PPA の 1.2 倍、NA の 1.8 倍であった。

III. 考 察

AM-715 をマウス、ラット、ウサギおよびイヌの非絶食時に経口投与すると、血清中濃度は投与後 0.5~1 時間に最高濃度に達し、その濃度はマウス、ラットおよびウサギ (投与量 50 mg/kg) では 0.5~0.9 $\mu\text{g/ml}$ であった。本報で得たラットの血清中濃度は ^{14}C 標識 AM-715 を用いて得た値⁵⁾ と一致した。イヌでは投与量 (30 mg/kg) が少ないのにもかかわらずその最高濃度は 4.9 $\mu\text{g/ml}$ と高い値を示し、血清中濃度は動物種による相異が認められた。Miloxacin (MLX) はイヌ、マウスに比べラットでは低い血清中濃度であった⁶⁾ と報告されている。また、PPA はマウス、ラットに比べイヌでの血清中濃度が高い⁷⁾ との報告があり、AM-715 は PPA と同じ傾向を示した。生物学的半減期を最小二乗法で求めるとマウス、ラットおよびウサギでは 1.5~2.2 時間であり差がなかった。しかしイヌでは 4.3 時間と延長しておりこれはヒト⁸⁾ の

Table 7 Bile excretion of antibacterial activity following an oral administration of AM-715, 50mg/kg, in no fasted rats

Time (hr)	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			Recovery rate (%)		
	AM-715	PPA	NA	AM-715	PPA	NA
0~3	31.0 \pm 3.5	27.4 \pm 2.6	14.7 \pm 1.5	0.60 \pm 0.1	0.60 \pm 0.1	0.29 \pm 0.0
3~6	26.4 \pm 3.2	22.6 \pm 1.7	16.6 \pm 2.4	1.02 \pm 0.1	1.01 \pm 0.1	0.56 \pm 0.1
6~24	18.9 \pm 1.6	10.2 \pm 1.2	9.3 \pm 1.7	2.43 \pm 0.2	1.97 \pm 0.1	1.33 \pm 0.1
24~27	6.7 \pm 0.9	ND*	ND	2.50 \pm 0.2	1.97 \pm 0.1	1.33 \pm 0.1

*: $<2\mu\text{g/ml}$ (mean \pm SE, n=AM-715, 12, PPA, 10 and NA, 10)

場合と似た値であった。マウス、ラットおよびウサギは経口投与後2~4時間まで0.2 $\mu\text{g/ml}$ 以上の血清中濃度を維持していた。AM-715はグラム陰性菌の多くに0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以下のMICを示し⁹⁾、*in vitro*の実験ではMIC以上のAM-715を添加すると2~4時間で菌は検出限界以下となり¹⁰⁾、体内では代謝をほとんど受けず不活化されないこと¹¹⁾、さらに血中でも血清蛋白との結合が少なく遊離型で存在する⁹⁾ことを考えると、この濃度で菌の増殖を阻害できるように思われる。

マウス、ラットにおける絶食時および非絶食時における血清中濃度下面積(AUC)を比較すると有意差があり、絶食時の方が吸収性が高かった。臓器内濃度は血清中濃度が最高である時間にほぼ最高値となり、絶食時には非絶食時に比べ臓器内濃度は高かった。絶食時には血清中濃度が高いことから臓器内濃度も高くなったと考えられる。

AM-715の尿中排泄はMLX⁶⁾と比べ、マウス、ラットでは同程度、イヌでは高い値を示した。PPA⁷⁾に比べるとマウス、ラットおよびイヌで低い値を示した。しかしAM-715の尿中濃度は投与後6~24時間まで約20 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度が維持された。*in vitro*の実験ではAM-715をMIC濃度以上添加すると殺菌作用があり24時間後でも菌の再増殖は認められない¹⁰⁾。このことより、MLX、PPAより尿中排泄が低くとも充分な抗菌力を発揮すると思われる。

ラットにおける胆汁中排泄の実験によると投与量50 mg/kgでAM-715はどの時間においてもNA、PPAに比べ、高い胆汁中濃度を示した。AM-715は投与24時間以降でも平均6.7 $\mu\text{g/ml}$ の胆汁中濃度が認められた。胆汁中濃度は¹⁴C標識AM-715を用いた実験の未変化体濃度¹¹⁾とよく一致していた。

文 献

- 1) ITO, A.; K. HIRAI, M. INOUE, H. KOGA, S. SUZUE, T. IRIKURA & S. MITSUHASHI: In vitro antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 17: 103~108, 1980
- 2) MATSUMOTO, J. & S. MINAMI: Pyrido [2,3-d] pyrimidine antibacterial agents. 3. 8-Alkyl- and 8-vinyl-5,8-dihydro-5-oxo-2-(1-piperazinyl)-pyrido [2,3-d] pyrimidine-6-carboxylic acids and their derivatives. *J. Med. Chem.* 18: 74~79, 1975
- 3) 大森康男, 村山 哲, 阿部泰夫, 入倉 勉: BioassayによるAM-715の体液内濃度測定法に関する研究。 *Chemotherapy* 20 (S-4): 91~97, 1981
- 4) 和田健二: 抗生物質の組織移行濃度測定法に関する基礎研究。名古屋市立大学医学会雑誌 29: 491~511, 1979
- 5) 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* 20 (S-4): 105~118, 1981
- 6) 井沢昭雄, 木崎容子, 甲田 彰, 山森 芬, 小松敏昭, 吉武 彬: 諸動物における新化学療法剤AB-206の吸収, 体内分布および排泄。 *Chemotherapy* 26 (S-4): 71~76, 1978
- 7) 清水当尚, 中村信一, 黒部暢之, 高瀬善行: Pipemidic acidの吸収, 分布および排泄。 *Chemotherapy* 23: 2724~2729, 1975
- 8) 安彦トヨ, 石浜淳美, 小川暢也, 内田 広, 村山 哲, 平井敬二, 大森康男, 阿部泰夫, 入倉 勉: AM-715の臨床第一相試験。 *Chemotherapy* 29 (S-4): 136~145, 1981
- 9) 伊藤 明, 村山 哲, 平井敬二, 阿部泰夫, 入倉 勉: 新しいキノロン誘導体AM-715の細菌学的研究。 *Chemotherapy* 29 (S-4): 66~82, 1981
- 10) 伊藤 明, 平井敬二, 井上松久, 三橋 進: AM-715に関する細菌学的検討。 *Chemotherapy* 29 (S-4): 1~11, 1981
- 11) 永津芳雄, 遠藤恭平, 入倉 勉: ¹⁴C標識AM-715

による代謝に関する研究。Chemotherapy 29 (S-4):
119~127, 1981

STUDIES ON ABSORPTION, DISTRIBUTION AND EXCRETION OF AM-715 IN ANIMALS BY BIOASSAY METHOD

SATOSHI MURAYAMA, KEIJI HIRAI, AKIRA ITO, YASUO ABE and TSUTOMU IRIKURA
Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

Absorption, distribution and excretion of AM-715, a new synthetic antimicrobial agent, were examined in mice, rats, rabbits and dogs after oral administration.

1. The peak of serum levels of AM-715 appeared 0.5 to 1 hour after oral administration. The peak serum levels were 0.5 to 0.9 $\mu\text{g/ml}$ in no fasted mice, rats and rabbits at a dose of 50 mg/kg, and 4.9 $\mu\text{g/ml}$ in dogs at a dose of 30 mg/kg. While, the peak serum levels in fasted mice and rats were 1 $\mu\text{g/ml}$ and 3 $\mu\text{g/ml}$ corresponding 2 to 3 times higher than those in no fasted, respectively.

2. The urinary levels of AM-715 were more than 20 $\mu\text{g/ml}$ in 6~24 hour urine in no fasted mice, rats and rabbits at a dose of 50 mg/kg, while in dogs these were 23 $\mu\text{g/ml}$ at a dose of 30 mg/kg in 48~72 hour urine. 3.5 to 6.1% of the dose were excreted in urine in no fasted mice, rats and rabbits, and 13.6 % in dogs for 24 hours.

3. The peak of biliary levels of AM-715 in no fasted rats at a dose of 50 mg/kg was detected within 3 hours after oral administration, and its levels reached at 31.0 $\mu\text{g/ml}$. 2.43% of the dose were excreted in bile for 24 hours.

4. AM-715 was distributed in such tissues as lung, liver, kidney, prostate, tonsilla and sinus membrane at the same or higher than serum levels. These tissue levels in fasted mice and rats were 1.7 to 10 times and 1.4 to 4.6 times higher, respectively, than those in no fasted.