

DL-8280 の体内動態

第2報 ^{14}C -DL-8280 の各種動物における吸収、分布、排泄

岡崎 治・倉田忠司・橋本浩一・須藤賢一・津村光義・立澤晴男

第一製薬株式会社中央研究所

DL-8280 の各種動物における体内動態を ^{14}C 標識 DL-8280 を用いて検討した。

^{14}C -DL-8280 の主要消化管吸収部位は、小腸であった。経口投与後急速かつ完全に吸収されて、ラット血中 ^{14}C 濃度は、用量に依存して上昇した。

全血液中 ^{14}C 濃度は、ラット、イヌ、サルで、それぞれ、20 mg/kg 経口投与後 2, 3, 2 hr で最高濃度 (C_{\max}) に達した。 C_{\max} は、ラット、イヌ、サルで、それぞれ、1.99, 12.72, 7.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、以後 4.79, 9.55, 4.70 hr の半減期で減衰した。

ラット組織内 ^{14}C 濃度は、中枢神経系を除く全身組織で血液より高く、組織移行性は良好であった。組織内濃度は、20 mg/kg 経口投与後 2 hr でピークに達し、腎 (13.96 $\mu\text{g}/\text{g}$) で最高であり、48 hr 後にはいずれも 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ 以下に低下し、全身オートラジオグラムからも蓄積性は認められなかった。

血清蛋白結合率はラットとイヌで約 50%、サルで約 30% であった。

主排泄経路は尿中であり、経口投与後 48 hr までにラット、イヌ、サルで、それぞれ、投与量の 54.3, 61.5, 77.0% が尿中へ排泄され、残りが胆汁経由で糞中へ排泄された。ラットでは胆汁中へ排泄された約 30% が再吸収され、腸肝循環した。

21 日間連続経口投与時のラットにおける全血液中 ^{14}C 濃度、組織内 ^{14}C 濃度、尿中糞中排泄率は、いずれも単回投与時のそれと概略同一であり、連投による体内への蓄積や排泄遅延は認められなかった。

DL-8280(\pm)-9-fluoro-2, 3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido[1, 2, 3-*de*][1, 4]benzoxazine-6-carboxylic acid) は、第一製薬株式会社に開発された新規合成経口抗菌剤であり、グラム陽性菌 および グラム陰性菌に対して優れた抗菌力を有することが明らかにされている¹⁾。前報²⁾においては、イヌおよびサルにおける吸収、排泄を bioassay 法と HPLC 法により比較検討し、DL-8280 が急速に経口吸収され、ほとんど代謝されずに未変化体として主に尿中へ排泄されることを報告した。今回、Fig. 1 に構造式を示す ^{14}C 標識 DL-8280 (^{14}C -DL-8280) を用いて各種動物における吸収、分布、排泄を詳細に検討したので、その結果を報告する。

実験材料および方法

1. 投与検体

^{14}C 標識 DL-8280 (以下 ^{14}C -DL-8280 と略す) を使用し、標識部位は、benzoxazine 環の 6 位であった (Fig. 1)。 ^{14}C -DL-8280 の比放射能は 26.9 mCi/m mole であり、放射化学的純度は 98% であった。

2. 実験動物および投与量

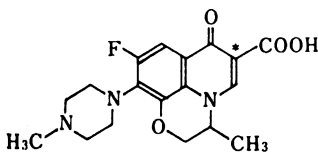
Slc-SD 系雄性ラット (8~11 週令) 1 群 4 匹計 216 匹 雄性ビーグル犬 (体重 11~14 kg) 4 頭および雌性カニクイザル (体重 2.5~3 kg) 4 頭を使用した。

ラットにおける経口および静脈内単回投与実験では、投与量は 20 mg/kg とした。また、ラットで用量相関を検討した際の投与量は、5, 20, 80, 320 mg/kg であった。ラット連続投与実験では、20 mg/kg を 1 日 1 回 21 日間連続経口投与した。また、吸収部位を検討した実験においては、20 mg/kg を結紮腸管ループ内に投与した。

イヌおよびサルにおける経口投与実験では、投与量は 20 mg/kg とした。

3. 投与液の調製および投与方法

経口投与には、 ^{14}C -DL-8280 に非放射性 DL-8280 を

Fig. 1 Chemical structure of ^{14}C -DL-8280

* Labeled position

加えて0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁した懸濁液を用いた。懸濁液の濃度は、20 mg/kg 単回投与した時のラット、イヌ、サルで、それぞれ、129.2 $\mu\text{Ci}/20\text{ mg}/5\text{ ml}$ 、16.8 $\mu\text{Ci}/20\text{ mg}/0.5\text{ ml}$ および48.8 $\mu\text{Ci}/20\text{ mg}/2\text{ ml}$ であった。

静脈内投与および消化管ループ内投与には、 ^{14}C -DL-8280に非放射性DL-8280を加えて水に懸濁後0.1N-HClで溶解し、0.1N-NaOHでpH6に調製した水溶液を用いた。水溶液の濃度は、53.9 $\mu\text{Ci}/20\text{ mg}/2\text{ ml}$ であった。

経口投与は、ラットでは経口ゾンデにより、イヌではゴム製カテーテルにより、サルでは小児用経鼻カテーテルにより胃内投与した。静脈内投与は、ラットの尾静脈より行った。

4. 生体試料の採取

1) 血液

ラットでは、 ^{14}C -DL-8280を1群4匹に単回投与後所定時間にエーテル麻酔下で頸動脈切断により放血致死させて血液を採取した。血液0.1~0.2 mlを濾紙に塗布し、全血液中 ^{14}C 濃度測定用試料とした。残りの血液を4°C 3,000 rpmで遠心分離して血清を採取した。胃腸管ループ内あるいは連続投与した際には、尾静脈より全血液0.1 mlを採取し濾紙へ塗布した。

イヌでは、 ^{14}C -DL-8280単回投与後所定時間前に肢静脈より血液を採取した。その0.2 mlを濾紙に塗布し全血液中 ^{14}C 濃度測定用試料とした。残りの全血液は、3,000 rpmで遠心分離し血清を得た。

サルでは、 ^{14}C -DL-8280単回投与後所定時間に下腿部伏在静脈より採血し、以後イヌの血液と同様に処理した。

濾紙に塗布した全血液を自動燃焼装置(Aloka ASC-112型)により燃焼処理後放射能を液体シンチレーションカウンター(以下液シンと略す)で測定することにより全血液中 ^{14}C 濃度を測定した。血清はアクアゾールシンチレーター(NEN社製)に溶解し液シンで測定し血清中 ^{14}C 濃度を求めた。

2) 組織

^{14}C -DL-8280投与後所定時間に放血致死させたラットから、組織としては、肝、腎、心、肺、脳、脾、膵、副腎、胸腺、甲状腺、気管、唾液腺、睪丸、前立腺、脂肪、皮膚、骨格筋、眼球、下垂体、脊髄、リンパ節、骨を摘出し、全重量とサンプル重量を精秤した。摘出した胃腸管は、胃、小腸、盲腸、大腸に分けて切開し、生理食塩水で洗浄して胃腸管内容物を採取した。また、吸収部位を検討した際には、投与後4時間にラットを放血致死させて胃腸管ループを摘出し、内容物を同様に採取した。

各組織試料は全血液と同様に燃焼処理し、組織中 ^{14}C 濃度を測定した。胃腸管内容物については、その一定量をアクアゾールシンチレーターに溶解し液シンで測定することにより胃腸管内容物中 ^{14}C 量を求めた。

3) 尿、糞

尿は、投与後2時間以後では、代謝ケージによりドライアイス冷却下で採取し、解剖時に得られた膀胱尿を合わせた。投与後1時間までの尿は、投与前にラットの陰茎を結紮して止尿し解剖時に膀胱より採取した。糞は所定時間に代謝ケージより採取した。

尿はアクアゾールシンチレーターに溶解後液シンで放射能を測定し、尿中排泄率を求めた。糞は蒸留水を加えてホモジネートにし、凍結乾燥後その一定量を精秤し全血液と同様に燃焼処理し、液シンで放射能を測定することにより糞中排泄率を測定した。

4) 胆汁

胆汁は、あらかじめ16時間絶食しエーテル麻酔下で総胆管へポリエチレン製カニューレを挿入したラットに ^{14}C -DL-8280を投与後固定し、経時的に採取した。腸肝循環を検討した際には、 ^{14}C -DL-8280を投与後採取した胆汁を別の胆管カニューレを施したラットの十二指腸内へ投与し、胆汁と尿を採取した。

胆汁の一定量をアクアゾールシンチレーターに溶解し、液シンで放射能を測定し、胆汁中排泄率を測定した。

5. 放射能測定法

放射能(^{14}C)は、液シン(Aloka LSC-652およびLSC-900型)で測定した。放射能のクエンチングの補正は、外部線源(^{137}Cs)チャンネルレシオ法により行った。

6. 全身オートラジオグラフィ

全身オートラジオグラムを松岡の方法³⁾に準じて作成した。すなわち、 ^{14}C -DL-8280投与後所定時間にラットをエーテル麻酔死させて、-70°Cのドライアイス-アセトン中で凍結し、クライオミクロトーム(PMV 400型、S.P.I.社製)により30 μm 厚の凍結全身切片を作成し、切片を凍結乾燥後暗箱中でオートラジオグラフィ用フィルムと密着し、全身オートラジオグラムを作成した。

7. 血球および血清蛋白結合率の測定

1) 血球結合率

^{14}C -DL-8280をラットに投与後所定時間に全血液および血清を採取し、全血液中 ^{14}C 濃度(B)、血清中 ^{14}C 濃度(S)およびヘマトクリット値(H)を測定し、次式より血球結合率を算出した。

$$\text{血球結合率}(\%) = [100(B-S) + S \cdot H] / B$$

2) 血清蛋白結合率

血清蛋白結合率は超遠心分離法⁴⁾により測定した。す

Table 1 Blood levels of radioactivity in the rat, dog and monkey after a single oral administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Species	Samples	Blood levels (μg -equivalent to DL-8280/ml)				
		Time (hr)				
		0.5	1	2	3	4
Rat	Whole blood	1.22 \pm 0.24	1.49 \pm 0.40	1.99 \pm 0.27	N.T. ^{a)}	1.49 \pm 0.28
	Serum	1.36 \pm 0.28	1.71 \pm 0.45	2.59 \pm 0.29	N.T.	1.64 \pm 0.29
Monkey	Whole blood	3.20 \pm 1.31	4.11 \pm 1.65	7.19 \pm 2.91	6.86 \pm 2.28	6.79 \pm 1.13
	Serum	3.19 \pm 1.22	4.19 \pm 1.60	7.89 \pm 2.72	7.19 \pm 2.35	6.96 \pm 1.11
Dog	Whole blood	4.70 \pm 2.84	7.14 \pm 2.90	12.20 \pm 1.81	12.72 \pm 1.22	11.39 \pm 1.33
	Serum	4.38 \pm 2.51	6.93 \pm 2.46	12.10 \pm 2.13	12.52 \pm 1.49	11.85 \pm 1.48

Species	Samples	Blood levels (μg -equivalent to DL-8280/ml)			
		Time (hr)			
		6	8	24	48
Rat	Whole blood	0.96 \pm 0.06	0.75 \pm 0.21	0.09 \pm 0.03	0.04 \pm 0.03
	Serum	1.03 \pm 0.07	0.87 \pm 0.25	0.11 \pm 0.03	0.02 \pm 0.00
Monkey	Whole blood	5.88 \pm 0.71	4.25 \pm 0.93	0.32 \pm 0.06	0.07 \pm 0.01
	Serum	6.15 \pm 0.84	4.42 \pm 0.96	0.33 \pm 0.04	0.09 \pm 0.02
Dog	Whole blood	9.57 \pm 1.27	7.75 \pm 1.15	1.56 \pm 0.43	0.53 \pm 0.15
	Serum	9.46 \pm 1.29	7.78 \pm 1.16	1.40 \pm 0.40	0.20 \pm 0.10

^{a)} Not tested.

Each value represents the mean \pm S.E..

なわち、血清を 200,000 \times g 12 時間遠心分離し、上清中 ^{14}C 濃度を測定した。原血清中 ^{14}C 濃度 (A) と上清中 ^{14}C 濃度 (B) を用いて次式から蛋白結合率を求めた。

$$\text{蛋白結合率 (\%)} = (1 - B/A) \times 100$$

実験成績

1. ^{14}C -DL-8280 単回投与時の吸収、分布、排泄

1. 吸収

1) 各種動物における血中 ^{14}C 濃度比較

^{14}C -DL-8280 20 mg/kg をラット、イヌ、サルに投与した際の全血液および血清中 ^{14}C 濃度を DL-8280 換算値として、それぞれ、Fig. 2 および Fig. 3 ならびに Table 1 に示す。全血液中濃度は、いずれの動物においても投与後 0.5 hr で著明に上昇し、ラット、イヌ、サ

ルで、それぞれ、投与後 2, 3 および 2 hr に最高濃度 (C_{max}) に達した。 C_{max} は、ラット、イヌ、サルで、それぞれ、1.99, 12.72 および 7.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。最高濃度到達時間 (T_{max}) 以降、全血液中濃度は、ラット、イヌ、サルで、それぞれ、4.79, 9.55 および 4.70 hr の半減期 ($T_{1/2}$) で減衰し、投与後 24 hr には、いずれも低濃度に減衰した。血清中濃度は、いずれの動物においても全血液中濃度と同様に推移し、 C_{max} は、ラット、イヌ、サルでは、それぞれ、2.59, 12.52, 7.89 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

^{14}C -DL-8280 の経口吸収性を明らかにするために、20 mg/kg をラットに経口あるいは静脈内投与した際の全血液中 ^{14}C 濃度を比較した。その結果を Fig. 4 に示

Fig. 2 Whole blood levels of radioactivity after a single oral administration of 20 mg/kg of ^{14}C -DL-8280 to rats, monkey and dogs

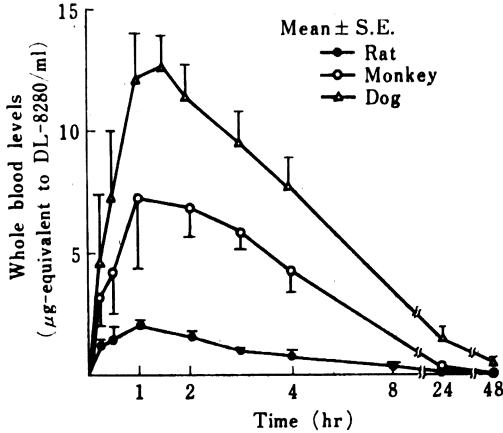
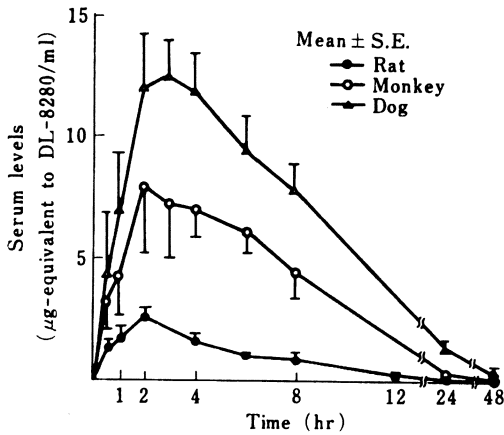


Fig. 3 Serum levels of radioactivity after a single oral administration of 20 mg/kg of ^{14}C -DL-8280 to rats, monkeys and dogs



す。静脈内投与後、全血液中濃度は、急速に減衰し、投与後 2 hr では 2.84 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、それ以後 4.17 hr の半減期で低下した。経口および静脈内投与後の全血液中濃度を比較すると、投与後 2 hr 以後概略一致しており、静脈内投与された ^{14}C -DL-8280 が急速に組織へ分布することが判明した。

2) 用量依存性

^{14}C -DL-8280 の投与量を変えて血中濃度に用量依存性が認められるか否かを検討した。Fig. 5 に示すように、5, 20, 80, 320 mg/kg を経口投与した際の全血液中 ^{14}C 濃度は、投与量に依存して上昇し、 C_{max} には明確な用

Fig. 4 Whole blood levels of radioactivity in the rat after a single oral or intravenous administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

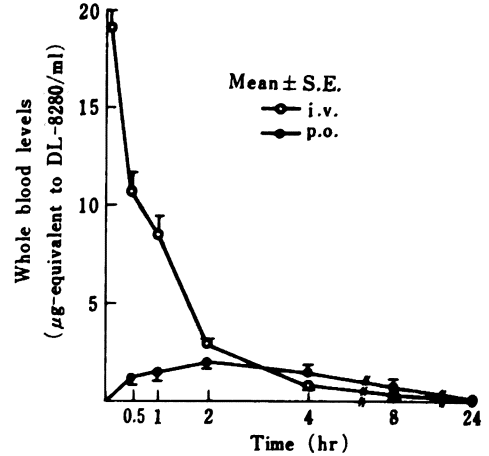
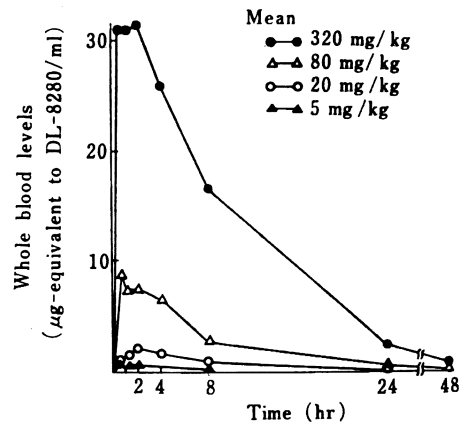


Fig. 5 Whole blood levels of radioactivity in the rat after a single oral administration of ^{14}C -DL-8280 at different doses



量依存性が認められた。また、全血液中濃度の濃度対時間曲線下面積 (AUC) には、5, 20, 80 mg/kg 投与時で用量依存性が認められ、320 mg/kg 投与時の AUC は投与量の増加以上に増加した。

3) 吸収部位の検討

ラット消化管各部位を結紮してループを作成し、ループ内に ^{14}C -DL-8280 20 mg/kg を投与し、全血液中 ^{14}C 濃度を経時的に測定するとともに、投与後 4 hr でループ内残存率を調べることにより、 ^{14}C -DL-8280 の吸収部位を検討した。その成績を Table 2 および Fig. 6 に示す。全血液中濃度は十二指腸および空腸では他の部位

Table 2 Gastrointestinal contents of radioactivity in the rat at 4 hours after injection of ^{14}C -DL-8280 to loops of the stomach and intestine at a dose of 20 mg/kg

Site	Gastrointestinal contents (% of dose)
Stomach	86.6 \pm 3.1
Duodenum	5.3 \pm 0.2
Jejunum	7.3 \pm 0.8
Ileum	37.3 \pm 3.5
Colon-rectum	70.4 \pm 3.4

Each value represents the mean \pm S.E..

に比較して著しく高く、 ^{14}C -DL-8280 が主として小腸上部～中部から吸収されることが明らかとなった。全血液中濃度は、回腸と大腸では低く、胃では極めて低濃度であった。従って、 ^{14}C -DL-8280 の吸収は、下部消化管では低く、胃ではほとんど起こらないと推定された。Table 2 に示すように、十二指腸および空腸ループ内の放射能残存率は、投与後 4 hr で、それぞれ、投与量の 5.3 および 7.3% であり、投与後 4 hr で約 90% 以上が吸収されていた。回腸、大腸、胃の放射能残存率は、それぞれ、37.3, 70.4 および 86.6% であった。以上の成績より、 ^{14}C -DL-8280 の主たる吸収部位が小腸上部であることが判明した。

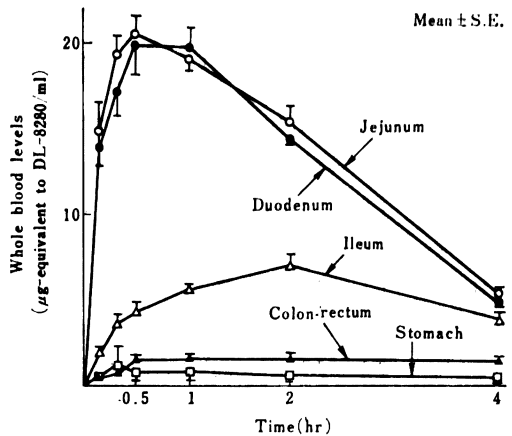
2. 分布

1) 組織内 ^{14}C 濃度

20 mg/kg 経口投与後のラット組織内 ^{14}C 濃度を Table 3 に示す。組織内濃度は投与後 0.5 hr で著明に上昇しており、最高濃度は大部分の組織で 2 hr 後に認められた。2 hr 後における組織内濃度は腎で最高であり、ついで肝、気管、脾、唾液腺、下垂体、膵、リンパ節、胸腺、骨格筋、心、前立腺、甲状腺、肺、副腎、皮膚、骨、血清、睪丸、全血液、眼球、脊髄、白色脂肪、脳の順で低下した。組織 / 全血液濃度比は、Table 4 に示すように、中枢神経系を除くほとんどの組織で 1 以上であり、 ^{14}C -DL-8280 の組織移行性が高いことが明らかになった。組織内濃度の減衰の推移は、ほとんどの組織で全血液中濃度推移に類似しており、投与後 48 hr にはほとんどの組織で 0.1 $\mu\text{g/g}$ 以下に低下しており、 ^{14}C -DL-8280 を高濃度に蓄積する組織は認められなかった。

20 mg/kg 静脈内投与時のラット組織内 ^{14}C 濃度を Table 5 に示す。組織内濃度は、投与後 5 min から 1 hr までは、経口投与時の濃度より高濃度であるが、2 hr 後には概略経口投与時の濃度水準に低下した。静脈内投与時の濃度順位も経口投与時と同じであった。

Fig. 6 Whole blood levels of radioactivity in the rat after injection of ^{14}C -DL-8280 to loops of the stomach and intestine at a dose of 20 mg/kg



2) 組織内分布率

20 mg/kg 経口投与後のラット組織内分布率を Table 6 に示す。分布率は、投与後 2 hr で、肝および腎で、それぞれ、投与量の 1.6 および 0.5% であり、他のほとんどすべての組織で投与量の 0.1% 以下であった。胃腸管内容物中には、胃内で投与量の 50.1% が投与後 0.5 hr に分布し、経時的に減少するに伴い、腸内容物中 ^{14}C 量が増加し、投与後 2 hr で投与量の約 30% が小腸内に分布した。組織および消化管を摘出した残りの carcass 中には、投与後 0.5, 2, 24 hr で、それぞれ、投与量の 20.7, 18.6 および 1.9% が分布した。

3) 全身オートラジオグラムにおける分布傾向

20 mg/kg 単回経口投与した際のラットの全身オートラジオグラムを Photo. 1 および 2 に示す。投与後 2 hr では、胃、小腸、膀胱尿に最も高濃度の放射能が分布し、ついで腎髄質、腎皮質 > 軟骨、肝 > 唾液腺、皮膚 > 心、胸腺 > 筋肉、副腎、脾 > 肺、血液、睪丸 > 脳、脊髄、眼球の順で放射能濃度は低下した。投与後 24 hr では、放射能濃度は、ほとんどの組織で減衰し、腸管内容物、軟骨および皮膚に放射能による黒化が認められた。全身オートラジオグラムからは、 ^{14}C -DL-8280 が中枢神経系へほとんど分布しないことが判明した。

3. 血球および血清蛋白結合率

1) 血球結合率

20 mg/kg 単回経口あるいは静脈内投与時のラットにおける血球結合率を Table 7 に示す。血球結合率は、経口投与後 0.5~24 hr で約 45~60% であり、静脈内投与後 5 min~8 hr で約 34~45% であった。

2) 血清蛋白結合率

Table 3 Tissue levels of radioactivity in the rat after a single oral administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Tissue	Tissue levels (μg -equivalent to DL-8280/g or ml)							
	Time (hr)							
	0.5	1	2	4	8	12	24	48
Whole blood	1.22±0.24	1.49±0.40	1.99±0.27	1.49±0.28	0.75±0.21	0.29±0.02	0.09±0.03	0.04±0.03
Serum	1.36±0.28	1.71±0.45	2.59±0.29	1.64±0.29	0.87±0.24	0.32±0.02	0.11±0.03	0.02±0.00
Liver	6.98±1.66	5.98±1.12	8.17±1.05	6.57±1.48	3.38±0.72	1.24±0.06	0.38±0.12	0.07±0.01
Kidney	8.12±1.81	13.20±3.93	13.96±1.27	10.40±1.92	5.49±1.40	1.96±0.28	0.65±0.18	0.10±0.00
Heart	1.99±0.42	2.50±0.70	3.91±0.43	2.37±0.46	1.13±0.31	0.46±0.01	0.14±0.02	0.04±0.00
Lung	3.92±0.57	3.98±0.98	3.31±0.38	1.98±0.36	0.94±0.26	0.45±0.09	0.15±0.03	0.03±0.00
Brain	0.18±0.03	0.23±0.06	0.36±0.03	0.18±0.04	0.09±0.02	0.04±0.01	0.03±0.01	0.02±0.00
Spleen	2.32±0.53	3.06±0.86	5.29±0.65	2.22±0.88	1.77±0.36	0.66±0.03	0.24±0.04	0.06±0.01
Pancreas	2.48±0.63	3.15±0.96	4.52±0.60	2.89±0.43	1.43±0.35	0.59±0.04	0.11±0.02	0.05±0.00
Adrenals	1.66±0.37	2.57±0.75	3.25±0.34	2.01±0.34	1.05±0.32	0.37±0.02	0.12±0.02	0.08±0.01
Thymus	1.52±0.39	2.33±0.63	4.29±0.49	2.54±0.46	1.22±0.30	0.46±0.03	0.13±0.04	0.03±0.00
Thyroid	3.14±0.60	5.21±1.79	3.43±0.49	2.43±0.36	1.08±0.26	0.41±0.03	0.28±0.02	0.17±0.03
Salivary gland	4.32±1.27	4.04±0.91	5.17±0.22	4.36±0.70	1.62±0.45	0.76±0.09	0.52±0.37	0.06±0.02
Testis	0.47±0.10	0.69±0.19	2.42±0.31	1.70±0.16	0.91±0.09	0.31±0.05	0.10±0.02	0.03±0.00
Prostate	1.39±0.43	1.96±0.64	3.78±0.63	2.32±0.28	1.03±0.24	0.63±0.17	0.13±0.04	0.06±0.01
Fat	0.24±0.07	0.46±0.17	0.40±0.04	0.30±0.05	0.11±0.03	0.07±0.03	0.06±0.01	0.06±0.01
Skin	1.36±0.26	1.65±0.44	3.20±0.42	1.89±0.47	0.97±0.24	0.43±0.06	0.15±0.05	0.08±0.02
Skeletal muscle	1.33±0.26	2.15±0.59	4.16±0.59	2.48±0.41	1.13±0.23	0.44±0.04	0.13±0.03	0.03±0.00
Eyes	0.58±0.12	1.31±0.49	1.28±0.15	0.78±0.11	0.42±0.10	0.16±0.02	0.11±0.03	0.05±0.00
Pituitary gland	2.83±1.06	2.90±0.99	4.72±0.74	3.17±0.94	1.13±0.32	0.42±0.07	0.23±0.04	0.26±0.03
Spinal cord	0.75±0.52	0.70±0.35	0.45±0.08	0.29±0.07	0.17±0.03	0.08±0.02	0.18±0.10	0.09±0.01
Lymph node	1.48±0.39	1.97±0.57	4.32±0.59	2.10±0.36	1.11±0.37	0.40±0.06	0.14±0.03	0.11±0.02
Bone	1.23±0.42	1.41±0.40	2.77±0.38	1.29±0.25	0.65±0.06	0.32±0.03	0.35±0.18	0.15±0.02
Trachea	5.95±0.74	5.90±0.65	5.30±0.95	3.67±0.66	1.83±0.30	1.34±0.38	0.33±0.04	0.25±0.05

Each value represents the mean \pm S.E..

20 mg/kg 単回経口投与後のラット、イヌ、サルにおける血清蛋白結合率を Table 8 に示す。ラットにおける結合率は、投与後 0.5~12 hr で、約 45~53% の範囲にあり、経時的に概略一定していた。イヌにおいては、結合率はラットにおけると同様に経時的に概略一定しており、投与後 0.5~8 hr で約 46~52% であった。一方、サルにおける結合率は、ラット、イヌと比較して若干低く、投与後 0.5~8 hr で約 26~31% であった。

4. 排泄

1) 各種動物における尿中、糞中排泄の比較

20 mg/kg 単回経口投与後の尿中、糞中 ^{14}C 累積排泄率を Table 9 に示す。ラットにおいては、尿中排泄率は、投与後 2 および 24 hr で、それぞれ、投与量の 16.9 および 56.5% であり、糞中排泄率は、投与後 24 および 72 hr で、それぞれ、投与量の 24.6 および 46.9% であった。投与後 72 hr における総排泄率は 103.8% であった。

Table 4 Tissue/whole blood ratios of radioactivity concentration in the rat after a single oral administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Tissue	Tissue/whole blood ratios							
	Time (hr)							
	0.5	1	2	4	8	12	24	48
Serum	1.10±0.03	1.16±0.02	1.38±0.26	1.10±0.01	1.16±0.02	1.12±0.02	1.21±0.01	1.29±0.50
Liver	5.67±0.86	5.08±1.31	4.09±0.63	4.31±0.18	4.78±0.64	4.28±0.19	4.30±0.47	5.30±1.74
Kidney	6.53±0.29	8.09±1.00	7.37±0.64	6.99±0.20	7.50±0.64	6.73±0.79	7.61±0.22	7.84±2.52
Heart	1.64±0.07	1.64±0.07	2.09±0.38	1.58±0.03	1.53±0.03	1.60±0.07	1.76±0.21	2.69±0.82
Lung	1.29±0.04	7.13±5.54	1.72±0.37	1.33±0.02	1.26±0.04	1.52±0.25	1.75±0.18	2.67±1.01
Brain	0.16±0.03	0.17±0.02	0.19±0.02	0.12±0.01	0.13±0.01	0.13±0.02	0.40±0.12	1.72±0.54
Spleen	1.86±0.12	1.96±0.12	2.84±0.42	1.70±0.56	2.56±0.49	2.29±0.06	3.07±0.48	4.84±1.73
Pancreas	1.97±0.21	1.90±0.28	2.33±0.56	1.99±0.09	1.96±0.09	2.03±0.03	1.39±0.22	3.60±1.23
Adrenals	1.34±0.07	1.64±0.15	1.76±0.31	1.37±0.07	1.38±0.05	1.29±0.04	1.52±0.19	6.18±1.87
Thymus	1.22±0.12	1.55±0.03	2.31±0.41	1.71±0.03	1.67±0.06	1.58±0.06	1.48±0.14	2.20±0.67
Thyroid	1.01±0.05	10.44±8.62	1.94±0.42	1.69±0.15	1.50±0.12	1.44±0.09	3.81±0.73	14.85±4.95
Salivary gland	3.44±0.50	3.11±0.51	2.71±0.44	2.98±0.08	2.20±0.19	2.61±0.26	4.27±2.00	2.90±0.72
Testis	0.42±0.10	0.46±0.03	1.27±0.15	1.21±0.13	1.37±0.20	1.09±0.17	1.25±0.08	2.38±0.72
Prostate	1.08±0.18	1.33±0.21	2.05±0.20	1.68±0.33	1.43±0.07	2.24±0.71	1.49±0.25	4.33±1.66
Fat	0.19±0.02	0.30±0.07	0.22±0.02	0.21±0.04	0.15±0.01	0.24±0.10	0.82±0.27	4.86±1.59
Skin	1.17±0.12	1.12±0.04	1.62±0.23	1.22±0.10	1.36±0.23	1.49±0.23	1.70±0.25	6.39±2.63
Skeletal muscle	1.11±0.06	1.44±0.05	2.28±0.28	1.69±0.07	1.59±0.10	1.52±0.05	1.58±0.12	2.48±0.87
Eyes	0.51±0.10	2.70±2.26	0.66±0.06	0.54±0.07	0.58±0.02	0.56±0.04	1.31±0.22	3.52±1.15
Pituitary gland	2.07±0.54	2.20±0.49	2.45±0.47	2.06±0.47	1.51±0.06	1.41±0.14	3.51±1.09	20.96±7.96
Spinal cord	0.55±0.31	0.56±0.20	0.25±0.06	0.19±0.02	0.24±0.03	0.27±0.07	1.76±0.51	7.17±2.51
Lymph node	1.18±0.14	1.31±0.09	2.46±0.40	1.43±0.06	1.44±0.11	1.36±0.14	1.66±0.17	9.18±3.56
Bone	0.88±0.22	1.02±0.14	1.39±0.33	0.89±0.10	1.00±0.16	1.09±0.03	3.54±0.83	11.80±4.28
Trachea	2.01±0.23	2.09±0.15	2.79±0.22	2.51±0.31	2.65±0.30	4.61±1.21	4.62±1.14	20.10±8.27

Each value represents the mean \pm S.E..

イヌにおいては、尿中排泄率は、投与後 24 および 72 hr で、それぞれ、投与量の 53.7 および 61.6% であり、糞中排泄率は、投与後 24 および 72 hr で、それぞれ、投与量の 23.0 および 36.4% であった。サルにおいては、尿中排泄率は、投与後 24 および 168 hr で、それぞれ、投与量の 71.9 および 79.6% であり、糞中排泄率は、投与後 24 および 168 hr で、それぞれ、投与量の 1.2 および 6.1% であった。すなわち、 ^{14}C -DL-8280 の主排泄経路は、いずれの動物においても尿中であり、尿中排泄率

は、サルにおいて最も大きく、ついでイヌ、ラットの順で低下することが分かった。また、いずれの動物においても、尿中、糞中への ^{14}C の回収が極めて良好であることが判明した。

2) 各種投与量における尿中、糞中排泄の比較

5, 20 および 80 mg/kg をラットに投与した際の尿中、糞中排泄率を Table 10 に示す。いずれの投与量においても投与量の約 50% が、それぞれ、尿中および糞中へ排泄され、投与量の増加による排泄パターンの変化は認

Table 5 Tissue levels of radioactivity in the rat after a single intravenous administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Tissue	Tissue levels (μg -equivalent to DL-8280/g or ml)							
	Time (hr)							
	1/12	1/2	1	2	4	8	24	48
Whole blood	19.06 \pm 0.91	10.72 \pm 0.49	8.44 \pm 0.62	2.84 \pm 0.04	0.83 \pm 0.02	0.26 \pm 0.03	0.05 \pm 0.00	0.05 \pm 0.00
Serum	19.14 \pm 0.74	11.16 \pm 0.56	9.02 \pm 0.68	2.89 \pm 0.08	0.92 \pm 0.02	0.34 \pm 0.04	0.05 \pm 0.00	0.04 \pm 0.00
Liver	62.25 \pm 4.22	33.24 \pm 1.72	25.21 \pm 1.99	8.43 \pm 0.21	3.01 \pm 0.14	1.22 \pm 0.13	0.15 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01
Kidney	139.10 \pm 8.09	66.82 \pm 2.31	56.71 \pm 4.51	14.60 \pm 1.15	5.59 \pm 0.52	1.87 \pm 0.20	0.23 \pm 0.01	0.25 \pm 0.03
Heart	45.40 \pm 3.15	20.84 \pm 0.84	17.07 \pm 1.82	4.88 \pm 0.26	1.53 \pm 0.07	0.68 \pm 0.29	0.03 \pm 0.00	0.04 \pm 0.01
Lung	36.16 \pm 1.94	17.61 \pm 0.77	13.04 \pm 1.00	4.67 \pm 0.30	1.29 \pm 0.05	0.36 \pm 0.05	0.05 \pm 0.00	0.04 \pm 0.02
Brain	2.14 \pm 0.18	1.90 \pm 0.12	5.09 \pm 3.38	0.82 \pm 0.04	0.25 \pm 0.02	0.06 \pm 0.04	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
Spleen	51.01 \pm 2.18	27.46 \pm 1.48	21.47 \pm 2.31	7.17 \pm 0.16	2.88 \pm 0.41	1.81 \pm 0.28	0.42 \pm 0.07	0.15 \pm 0.02
Pancreas	45.61 \pm 12.34	23.61 \pm 2.49	19.98 \pm 1.63	5.06 \pm 0.75	2.28 \pm 0.37	0.46 \pm 0.07	0.04 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01
Adrenals	40.98 \pm 2.00	17.86 \pm 1.56	14.03 \pm 0.86	4.98 \pm 0.11	1.53 \pm 0.26	0.34 \pm 0.06	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01
Thymus	25.42 \pm 1.20	24.17 \pm 0.97	18.18 \pm 1.50	6.16 \pm 0.22	1.47 \pm 0.16	0.42 \pm 0.06	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00
Thyroid	38.18 \pm 6.99	15.46 \pm 0.84	14.70 \pm 1.40	6.43 \pm 0.55	1.97 \pm 0.30	0.30 \pm 0.07	0.08 \pm 0.05	0.05 \pm 0.03
Salivary gland	44.72 \pm 9.49	32.38 \pm 3.91	15.28 \pm 1.64	4.13 \pm 1.38	1.82 \pm 0.18	0.60 \pm 0.15	0.05 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01
Testis	4.29 \pm 0.37	5.64 \pm 0.60	5.86 \pm 0.17	4.61 \pm 0.06	2.13 \pm 0.09	0.50 \pm 0.07	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
Prostate	17.69 \pm 0.92	16.77 \pm 2.02	15.33 \pm 1.10	8.34 \pm 3.00	2.77 \pm 0.59	0.50 \pm 0.10	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01
Fat	3.33 \pm 0.21	1.69 \pm 0.06	1.52 \pm 0.18	0.63 \pm 0.06	1.23 \pm 1.10	0.01 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00
Skin	14.82 \pm 1.85	16.50 \pm 2.14	15.02 \pm 1.35	6.97 \pm 0.63	2.99 \pm 0.46	0.27 \pm 0.08	0.08 \pm 0.05	0.12 \pm 0.11
Skeletal muscle	23.95 \pm 5.34	23.52 \pm 1.21	19.68 \pm 1.36	8.73 \pm 0.50	2.92 \pm 0.54	0.42 \pm 0.08	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01
Eyes	7.79 \pm 0.29	5.39 \pm 0.15	4.57 \pm 0.31	1.87 \pm 0.21	0.69 \pm 0.02	0.20 \pm 0.02	0.03 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01
Pituitary gland	52.99 \pm 8.19	23.88 \pm 5.66	15.43 \pm 3.30	5.14 \pm 0.88	1.34 \pm 0.28	0.30 \pm 0.09	0.04 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Spinal cord	2.20 \pm 0.23	1.98 \pm 0.15	1.56 \pm 0.08	0.81 \pm 0.09	0.24 \pm 0.01	0.06 \pm 0.02	0.03 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
Lymph node	31.43 \pm 4.10	20.15 \pm 1.15	16.53 \pm 1.06	5.07 \pm 0.96	1.78 \pm 0.25	0.43 \pm 0.10	0.03 \pm 0.02	0.02 \pm 0.02
Bone	19.95 \pm 0.69	12.27 \pm 0.67	11.60 \pm 4.32	4.75 \pm 1.26	1.49 \pm 0.29	0.47 \pm 0.13	0.19 \pm 0.06	0.06 \pm 0.02
Trachea	38.30 \pm 1.79	20.48 \pm 1.95	22.85 \pm 3.21	6.77 \pm 0.22	2.64 \pm 0.24	1.20 \pm 0.36	0.16 \pm 0.02	0.06 \pm 0.01

Each value represents the mean \pm S.E..

められなかった。また、いずれの投与量においても、投与後 24 hr で、尿中、糞中合計で投与量の約 90% 以上が回収され、投与後 48 hr には投与した ^{14}C -DL-8280 のほとんど全てが排泄された。

20 mg/kg 静脈内投与時のラット尿中、糞中排泄を経口投与時の排泄と比較すると、Table 10 に示すように、静脈内投与時の尿中排泄率は、投与後 48 hr で投与量の 67.5% であり、経口投与時より高かった。一方、静脈内

投与時の糞中排泄率は、投与後 48 hr で投与量の 33.7% であり、経口投与時より低かった。これらの成績より経口投与時の ^{14}C -DL-8280 の吸収は完全であり、経口投与後吸収された ^{14}C -DL-8280 の約 1/2 が胆汁経路で糞中へ排泄されることが推定された。また、このことは、後述する ^{14}C -DL-8280 投与後の胆汁中排泄の成績からも裏づけられた。

3) 胆汁中排泄

Table 6 Distribution percentages of radioactivity in tissues of the rat after a single oral administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Tissue	Distribution percentages (% of dose)							
	Time (hr)							
	0.5	1	2	4	8	12	24	48
Liver	1.42±0.33	1.24±0.23	1.62±0.20	1.34±0.28	0.59±0.12	0.22±0.02	0.07±0.02	0.01±0.00
Kidney	0.27±0.06	0.47±0.14	0.50±0.05	0.34±0.06	0.19±0.05	0.07±0.01	0.02±0.01	0.00±0.00
Heart	0.03±0.01	0.04±0.01	0.06±0.01	0.04±0.01	0.02±0.01	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Lung	0.08±0.01	0.07±0.02	0.06±0.01	0.04±0.01	0.02±0.01	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Brain	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Spleen	0.03±0.01	0.03±0.01	0.06±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Adrenals	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Thymus	0.01±0.00	0.02±0.01	0.04±0.01	0.02±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Thyroid	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Testis	0.02±0.00	0.03±0.01	0.12±0.02	0.08±0.01	0.05±0.01	0.02±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00
Eyes	0.00±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Pituitary gland	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Gastric contents	50.1±1.5	43.7±5.4	15.5±4.9	13.2±1.7	1.7±1.5	0.0±0.0	0.1±0.1	0.0±0.0
Small intestinal contents	5.9±0.8	8.2±2.1	29.9±1.4	22.6±4.0	6.6±1.1	2.4±0.4	0.7±0.3	0.0±0.0
Caecal contents	0.1±0.0	0.2±0.0	2.7±1.3	10.1±3.2	21.5±2.1	18.4±0.9	4.8±0.8	0.1±0.0
Large intestinal contents	0.0±0.0	0.0±0.0	0.2±0.0	1.0±0.3	5.1±2.0	10.3±0.5	3.6±0.7	0.1±0.0
Carcass	20.7±2.0	N.T. ^{a)}	18.6±2.1	N.T.	N.T.	N.T.	1.9±0.1	N.T.

^{a)} Not tested.

Each value represents the mean ± S.E..

Table 7 Erythrocyte binding of radioactivity in the rat after a single oral or intravenous administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Time (hr)	Erythrocyte binding rates (%)	
	p. o.	i. v.
0.5	45.1±1.8	39.9±1.6
1	46.6±3.0	45.4±1.9
2	48.0±1.4	41.6±1.6
8	58.7±6.9	33.5±0.9
24	60.3±9.2	N.T. ^{a)}

^{a)} Not tested.

Each value represents the mean ± S.E..

Table 8 Serum protein binding of radioactivity in the rat, monkey and dog after a single oral administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Time (hr)	Serum protein binding rates (%)		
	Rat	Monkey	Dog
0.5	47.3±2.5	27.8±1.6	51.6±3.4
1	44.9±1.8	29.7±0.9	50.8±2.9
2	45.7±1.8	28.1±0.5	45.8±4.6
4	45.5±0.5	26.4±3.7	48.6±1.4
8	50.0±2.7	31.4±3.2	47.5±2.2
12	52.9±4.2	N.T. ^{a)}	N.T.

^{a)} Not tested.

Each value represents the mean ± S.E..

Photo. 1 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in the rat at 2 hours after a single oral administration of ¹⁴C-DL-8280 at the dose of 20 mg/kg

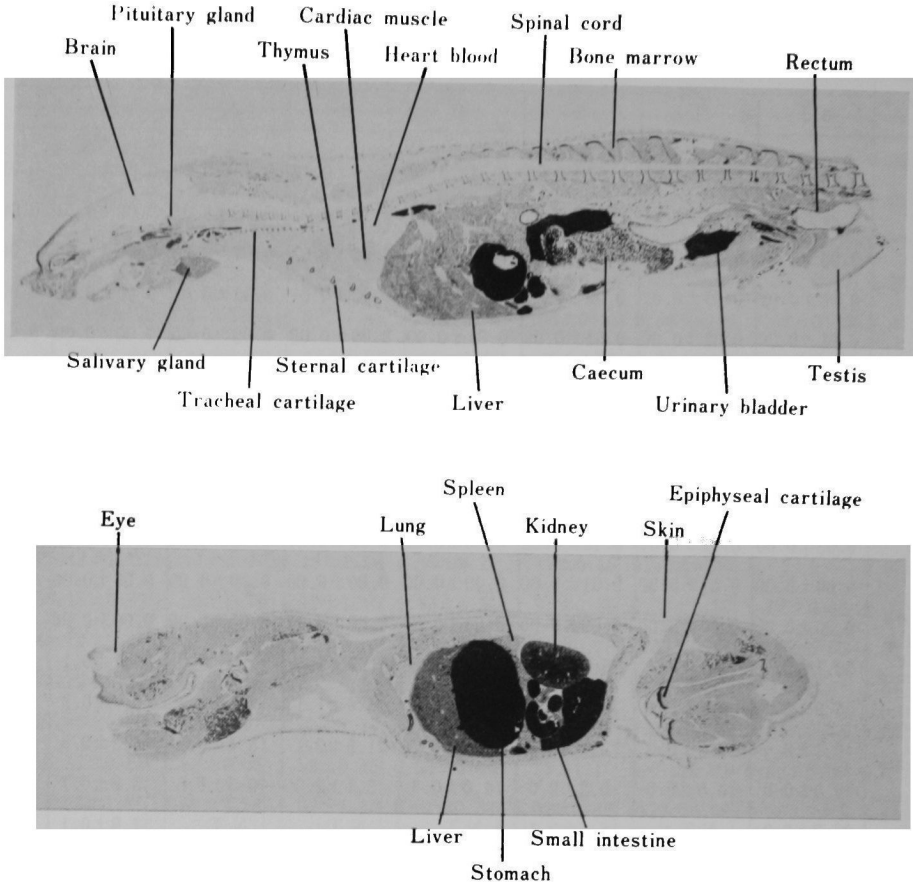
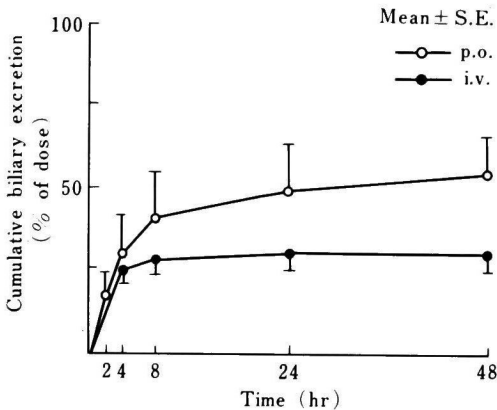


Fig. 7 Cumulative biliary excretion of radioactivity in the rat after a single oral or intravenous administration of ¹⁴C-DL-8280 at a dose of 20 mg/kg



20 mg/kg を経口あるいは静脈内投与時のラットにおける胆汁中 ¹⁴C 排泄率を Fig. 7 に示す。経口投与後、胆汁中排泄率は、4 hr 後で投与量の 30.6% に達し、48 hr 後には投与量の約 55% に増加し、ラットにおける ¹⁴C-DL-8280 の胆汁中排泄が大きいたことが分かった。前述したように、¹⁴C-DL-8280 の経口吸収が完全であることから、糞中へ排泄された放射能は未吸収のものではなく胆汁由来のものであることが判明した。静脈内投与後の胆汁中排泄率は、投与後 4 hr で投与量の 24.9% であり、48 hr 後には 29.9% に達し、経口投与後の排泄率より低かった。

4) 腸肝循環

胆管カニューレを施したラットの十二指腸内に、前もって ¹⁴C-DL-8280 を経口投与後採取した胆汁を投与し、胆汁中の放射能が再吸収されて胆汁および尿中へ排泄されるか否かを検討した。その結果を Table 11 に示す。

Photo. 2 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in the rat at 24 hours after a single oral administration of ^{14}C DL-8280 at the dose of 20 mg/kg

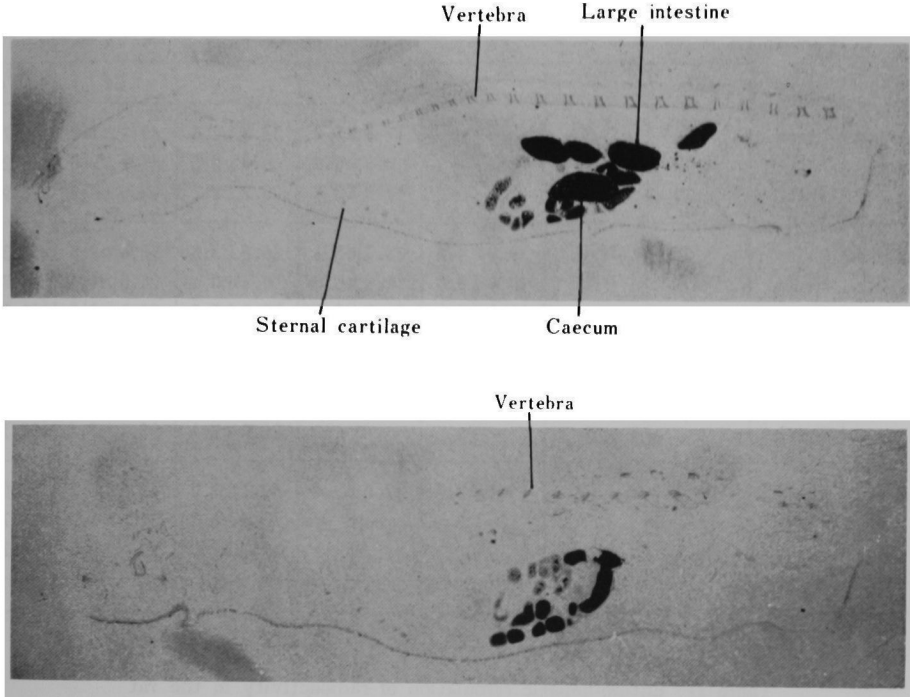


Table 9 Cumulative excretion of radioactivity in the rat, monkey and dog after a single oral administration of ^{14}C -DL-8280 at a dose of 20 mg/kg

Species	Excreta	Cumulative excretion (% of dose)						
		Time (hr)						
		2	4	8	24	48	72	168
Rat	Urine	16.9±4.1	24.3±3.1	36.8±3.6	56.5±3.3	54.3±1.3	56.9±3.2	N.T. ^{a)}
	Feces	N.D. ^{b)}	N.D.	0.3±0.1	24.6±4.3	46.7±1.2	46.9±3.3	N.T.
	Total	—	—	37.1±3.6	81.1±3.6	101.0±1.5	103.8±0.9	—
Monkey	Urine	N.T.	29.7±0.5	43.8±7.6	71.9±3.6	77.0±2.7	78.6±2.3	79.6±2.3
	Feces	N.T.	N.D.	0.3±0.3	1.2±0.9	1.5±1.0	3.2±2.6	6.1±3.1
	Total	—	—	44.1±7.7	73.1±3.7	78.5±2.7	81.8±3.4	85.7±4.6
Dog	Urine	7.6±2.0	14.8±1.3	28.9±1.4	53.7±3.0	61.5±4.2	61.6±4.2	N.T.
	Feces	N.T.	N.T.	N.T.	23.0±7.7	34.8±4.5	36.4±3.7	N.T.
	Total	—	—	—	76.7±5.8	96.3±0.6	97.9±0.9	—

a) Not tested. b) Not detected.

Each value represents the mean ± S.E..

投与した胆汁中放射能の14.0%が投与後48hr以内に胆汁中へ排泄され、胆汁中へ排泄された未変化体と代謝物が再吸収されて腸肝循環することが確認された。また

同時に測定した尿中排泄率は投与後48hrで投与量の15.6%であり、胆汁と尿を合計して、投与した胆汁中放射能の約30%が再吸収されることが明らかとなった。

Table 10 Cumulative excretion of radioactivity in the rat after a single administration of ^{14}C -DL-8280 at various doses and routes

Dose and route	Excrete	Cumulative excretion (% of dose)						
		Time (hr)						
		0.5	1	2	4	8	24	48
5 mg/kg, p.o.	Urine	N.T. ^{a)}	N.T.	N.T.	17.8±3.2	37.8±2.6	49.9±3.2	50.7±3.3
	Feces	N.T.	N.T.	N.T.	0.0±0.0	0.9±0.8	42.7±2.6	50.2±2.8
	Total	—	—	—	17.8±3.2	38.7±2.7	92.5±3.5	100.9±3.9
20mg/kg, p.o.	Urine	N.T.	N.T.	16.9±4.1	24.3±3.1	36.8±3.6	56.5±3.3	54.3±1.3
	Feces	N.T.	N.T.	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.1	24.6±4.3	46.7±1.2
	Total	—	—	16.9±4.1	24.3±3.1	37.1±3.6	81.1±3.6	101.0±1.5
80mg/kg, p.o.	Urine	N.T.	N.T.	N.T.	23.4±2.3	35.9±2.1	51.3±2.6	52.5±2.5
	Feces	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	0.1±0.0	47.1±2.4	53.5±2.1
	Total	—	—	—	—	36.0±2.1	98.4±3.4	106.1±3.7
20mg/kg, i.v.	Urine	6.0±2.4	5.7±3.7	29.1±2.3	47.2±3.4	49.1±2.0	63.2±1.2	67.5±2.1
	Feces	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	0.6±0.3	31.5±1.1	33.7±1.4
	Total	—	—	—	—	49.7±2.0	94.8±0.8	101.2±0.7

^{a)} Not tested.

Each value represents the mean ± S.E..

Table 11 Entero-hepatic circulation of radioactivity in the rat given an intraduodenal dose of bile containing ^{14}C -DL-8280 and its metabolites

Time (hr)	Cumulative excretion (% of dose)		
	Bile	Urine	Total
2	2.0±0.4	N.D. ^{a)}	2.0±0.4
4	3.5±0.8	N.D.	3.5±0.8
8	5.0±1.1	N.D.	5.0±1.1
24	9.8±2.5	12.0±1.8	21.8±3.1
48	14.0±4.6	15.6±1.0	29.5±4.0

^{a)} Not detected.

Each value represents the mean ± S.E..

II. ^{14}C -DL-8280 21日間連続投与時の吸収、分布、排泄

1. 吸収

^{14}C -DL-8280 20 mg/kg をラットに 21 日間連続経口投与した際の全血液中 ^{14}C 濃度を Fig. 8 に示す。投与後 2 hr の全血液中 ^{14}C 濃度は、いずれの時点においても、約 1.5~2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲にあり、それらの平均値は 2.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、単回投与後 2 hr 値 (1.99 $\mu\text{g}/\text{ml}$) に近似していた。また、連投時の全血液中濃度推移には経時的に上昇する傾向は認められなかった。投与前値 (投与後 24 hr 値) は、約 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲であり、

経時的に上昇する傾向は認められなかった。最終投与後 72 hr 以後全血液中濃度は極めて低濃度に減衰した。すなわち、 ^{14}C -DL-8280 を連続投与した際には、 ^{14}C -DL-8280 は単回投与時と同様に経口吸収されて血液中より消失することが確認された。

2. 分布

1) 組織内 ^{14}C 濃度

連続投与 3, 7, 14, 21 日目の投与後 2 hr ならびに最終投与後 72 および 168 hr のラット組織内 ^{14}C 濃度を Table 12 に示す。組織内濃度は、投与 2 hr 値と比較すると連投によりほとんど変化せず、蓄積傾向を示す組

Fig. 8 Whole blood levels of radioactivity in the rat during and after oral administration of ^{14}C -DL-8280 at multiple doses of 20 mg/kg once a day for 21 days

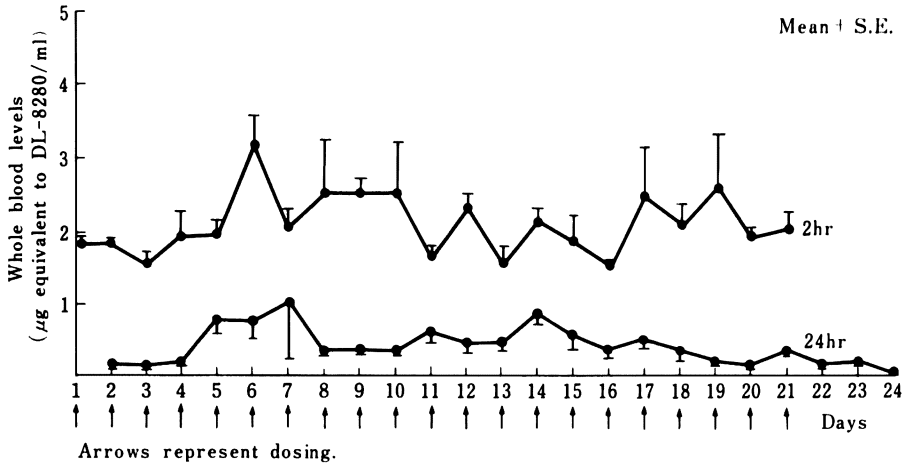
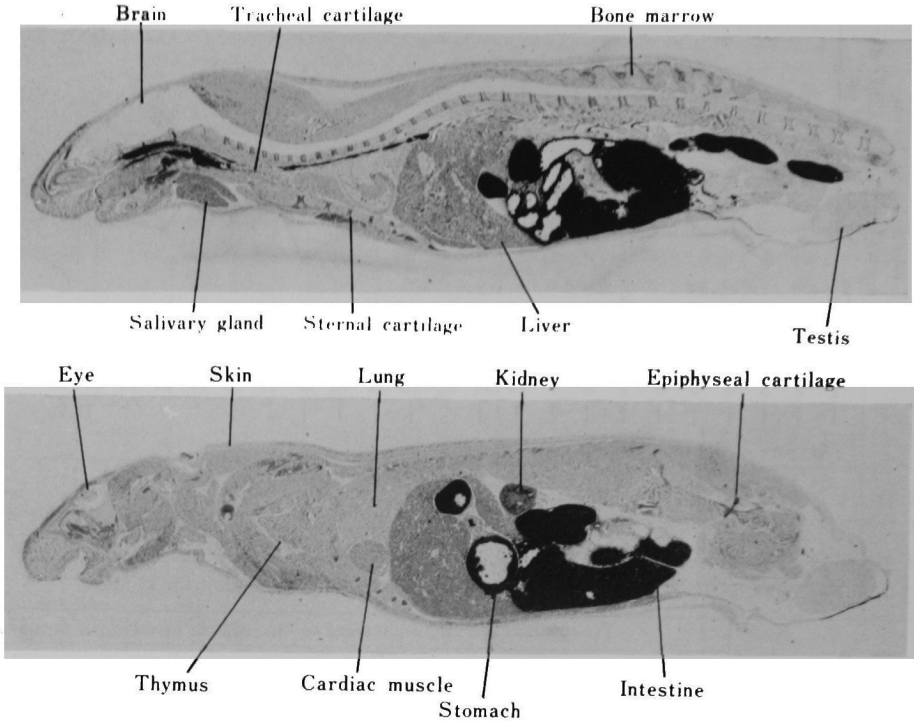


Table 12 Tissue levels of radioactivity in the rat during and after oral administration of ^{14}C -DL-8280 at multiple doses of 20 mg/kg once a day for 21 days

Tissue	Tissue levels (μg -equivalent to DL-8280/g or ml)					
	Days					
	3	7	14	21	24	28
Whole blood	2.45 \pm 0.46	2.00 \pm 0.01	1.63 \pm 0.14	2.82 \pm 0.74	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00
Serum	2.29 \pm 0.25	2.49 \pm 0.14	1.71 \pm 0.14	3.40 \pm 1.04	0.04 \pm 0.02	0.01 \pm 0.00
Liver	7.93 \pm 1.81	8.10 \pm 0.31	5.27 \pm 0.35	10.77 \pm 2.88	0.08 \pm 0.00	0.04 \pm 0.01
Kidney	9.70 \pm 1.54	10.78 \pm 0.36	9.44 \pm 0.74	18.85 \pm 3.98	0.31 \pm 0.03	0.19 \pm 0.03
Heart	3.78 \pm 0.50	3.18 \pm 0.02	2.48 \pm 0.26	4.92 \pm 1.13	0.02 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Lung	2.69 \pm 0.29	2.92 \pm 0.15	2.49 \pm 0.47	4.67 \pm 1.53	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00
Brain	0.30 \pm 0.03	0.34 \pm 0.04	0.29 \pm 0.02	0.47 \pm 0.10	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Spleen	4.10 \pm 0.53	4.28 \pm 0.08	3.60 \pm 0.40	7.27 \pm 1.79	0.11 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01
Pancreas	4.00 \pm 0.56	3.95 \pm 0.14	2.88 \pm 0.32	6.46 \pm 1.45	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
Adrenals	2.45 \pm 0.31	2.48 \pm 0.14	2.32 \pm 0.58	4.13 \pm 1.09	0.02 \pm 0.01	0.05 \pm 0.04
Thymus	3.28 \pm 0.31	3.47 \pm 0.08	2.60 \pm 0.29	5.40 \pm 1.51	0.02 \pm 0.02	0.01 \pm 0.00
Thyroid	3.46 \pm 0.65	4.16 \pm 0.83	2.56 \pm 0.35	5.85 \pm 0.79	0.08 \pm 0.01	0.03 \pm 0.02
Salivary gland	5.10 \pm 0.44	6.52 \pm 1.47	3.56 \pm 0.75	8.21 \pm 1.96	0.03 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01
Testis	2.08 \pm 0.17	2.01 \pm 0.17	1.86 \pm 0.09	3.28 \pm 0.68	0.02 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
Prostate	2.28 \pm 0.34	2.89 \pm 0.31	2.00 \pm 0.48	7.25 \pm 3.55	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
Fat	0.41 \pm 0.05	0.55 \pm 0.13	0.22 \pm 0.06	0.67 \pm 0.14	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Skin	2.81 \pm 0.32	2.46 \pm 0.19	2.63 \pm 0.41	3.67 \pm 0.98	0.27 \pm 0.04	0.52 \pm 0.29
Skeletal muscle	3.47 \pm 0.34	3.68 \pm 0.15	3.18 \pm 0.37	9.49 \pm 1.99	0.03 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01
Eyes	1.04 \pm 0.11	0.97 \pm 0.06	1.04 \pm 0.11	1.43 \pm 0.34	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00
Pituitary gland	4.17 \pm 0.78	3.87 \pm 0.48	2.47 \pm 0.22	4.55 \pm 0.74	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Spinal cord	0.38 \pm 0.06	0.38 \pm 0.06	0.29 \pm 0.04	0.53 \pm 0.09	0.01 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01
Lymph node	3.75 \pm 0.11	3.81 \pm 0.33	2.55 \pm 0.28	6.31 \pm 2.11	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
Bone	2.00 \pm 0.17	2.09 \pm 0.14	2.47 \pm 0.45	2.44 \pm 0.49	0.57 \pm 0.07	0.51 \pm 0.08
Trachea	5.28 \pm 0.79	6.09 \pm 2.95	6.24 \pm 1.32	6.44 \pm 1.36	0.78 \pm 0.18	0.84 \pm 0.15

Each value represents the mean \pm S.E..

Photo. 3 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in the rat at 2 hours on 7th day during oral administration of ^{14}C -DL-8280 at multiple doses of 20 mg/kg once a day for 21 days



織は認められなかった。投与後 21 日目の投与後 2 hr では、組織内濃度は、腎で最も高く、ついで肝、骨格筋、唾液腺、脾、前立腺、膵、リンパ節、気管、甲状腺、胸腺、心、肺、下垂体、副腎、皮膚、血清、睾丸、全血液、骨、眼球、脂肪、脊髄、脳の順で低下した。最終投与後 72 および 168 hr における組織内濃度の減衰は、骨、気管および皮膚を除くほとんどの組織で著明であり、最終投与後 72 hr で、 $0.1 \mu\text{g/g}$ 以下に低下した。この組織内濃度の減衰の時間的推移は、単回投与後のそれと完全に一致した。

2) 全身オートラジオグラムにおける分布傾向

連続投与時のラットの全身オートラジオグラムを Photo. 3~Photo. 5 に示す。連投 7 日目投与後 2 hr では、放射能濃度は消化管内容物、軟骨で高く、ついで腎、肝、唾液腺、心、胸腺、皮膚、肺、血液、眼球、睾丸、脳の順で低下した。この分布傾向は、定量的成績と一致しており、定量的に検索しなかった組織のうちでは、単回投与後と同様に軟骨組織への放射能の高濃度の分布が注目された。最終投与後 24 hr では、消化管内容物、軟骨、皮膚に放射能の分布が認められるにすぎず、単回投与後と同様に連続投与時においても、放射能は

急速に消失することが分かった。さらに、最終投与後 7 日目では、消化管内容物、軟骨、皮膚に低濃度の放射能の分布が認められ、他の組織では完全に減衰していた。

3. 排泄

連続投与時のラット尿中、糞中排泄率を Fig. 9 に示す。尿中 ^{14}C 排泄率は、実験期間を通じて概略一定しており、最終投与後 24 hr で累積投与量の 50.9% であり、これ以後放射能はほとんど尿中へ排泄されず、尿中排泄は最終投与後 24 hr で終了していた。糞中へは投与 21 および 22 日目（最終投与後 48 hr）で、それぞれ、累積投与量の 53.7 および 54.6% が排泄され、それ以降は、放射能の排泄は、ほとんど認められなかった。従って、尿中および糞中への ^{14}C の回収率は、全投与期間を通じて投与量の約 100% であり、 ^{14}C -DL-8280 連続投与時の排泄は、単回投与後と同様に速やかに起こることが判明した。

考 察

^{14}C -DL-8280 を用いて各種実験動物における体内動態を検討した。著者らは ^{14}C -DL-8280 投与後のラット、イス、サルにおける代謝物パターンを検討し、 ^{14}C -DL-

Photo. 4 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in the rat at 24 hours after the last oral administration of ^{14}C -DL-8280 at multiple doses of 20 mg/kg once a day for 21 days

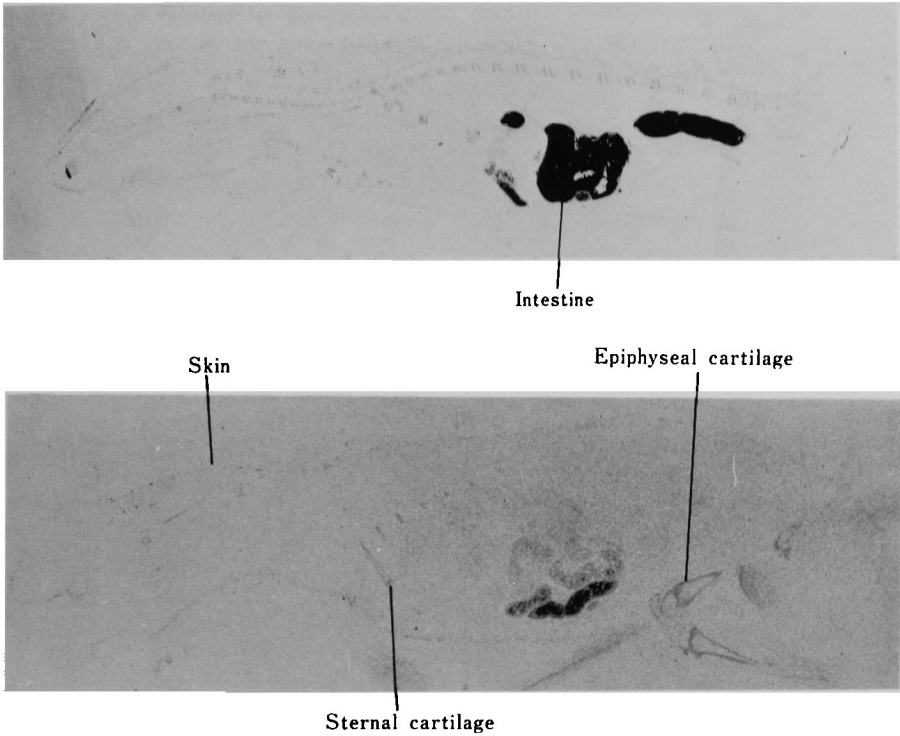
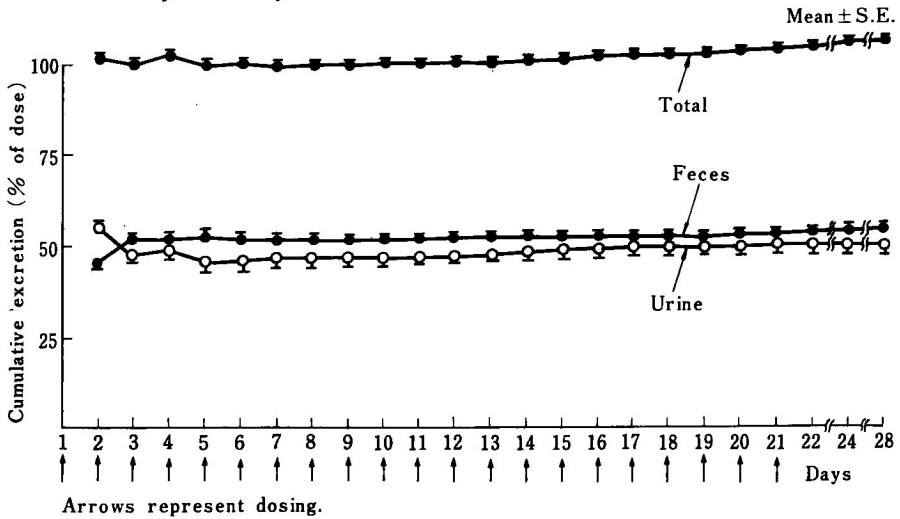


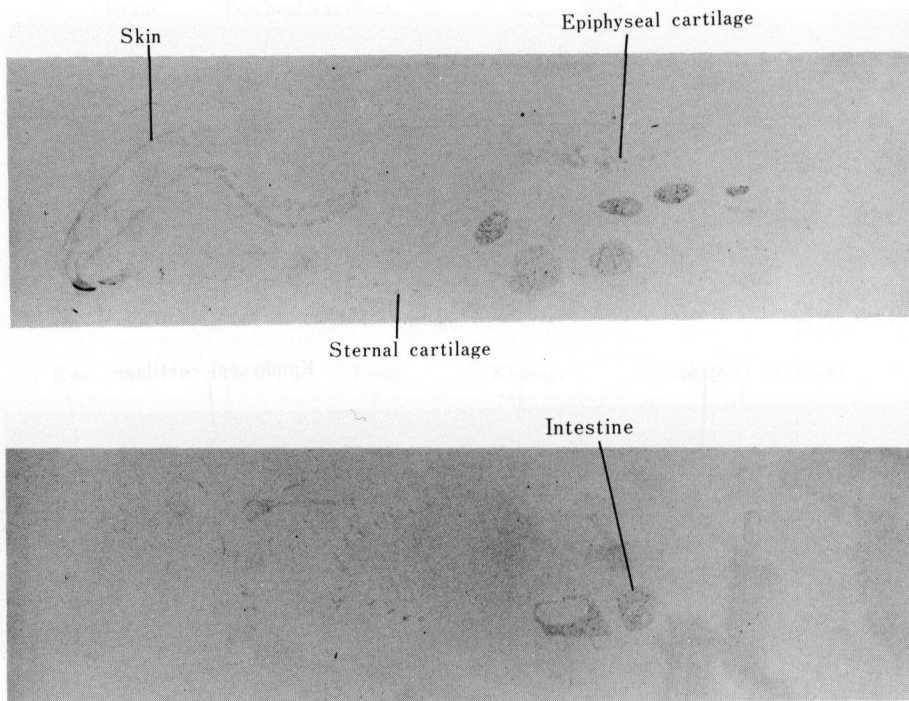
Fig. 9 Cumulative excretion of radioactivity in the rat during and after oral administration of ^{14}C -DL-8280 at multiple doses of 20 mg/kg once a day for 21 days



8280 が、動物体内で代謝を受けにくく主として未変化体として存在することを明らかにしている^{2,5)}。従って、本研究においては、生体試料中の放射能濃度を DL-8280

濃度に換算して示した。すなわち、生体試料中濃度は、概略 DL-8280 自身の濃度を表わしているといえる。
単回経口投与後、 ^{14}C -DL-8280 の吸収は、急速かつ良

Photo. 5 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in the rat at 7 days after the last oral administration of ^{14}C -DL-8280 at multiple doses of 20 mg/kg once a day for 21 days



好であり、最高血中濃度はイヌで最も高く、これに次いでサルおよびラットの順で低下した。この点に関して、Norfloxacin (NFLX)⁶⁾ および Pipemidic acid (PPA)⁷⁾ の血中濃度の動物種間の比較においても同様の傾向が報告されている。本研究において ^{14}C -DL-8280 の吸収部位と用量依存性をラットで検討した結果、 ^{14}C -DL-8280 は主に小腸より急速かつ完全に吸収されること、血中濃度は用量に依存して上昇することが確認された。それにもかかわらず、ラットに 20 mg/kg 経口投与後の全血液中濃度の C_{\max} が約 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とイヌ、サルより低かったが、これは、 ^{14}C -DL-8280 の経口吸収が悪いためではなく、ラットでは ^{14}C -DL-8280 の組織移行性が高いことおよび肝腎による体外排泄が急速に起こることに起因していると考えられる。事実、本研究において、ラットに静脈内投与後 24 hr 以内に投与量の約 95% が体外へ排泄されることが確認されている。

抗菌剤の臨床適用を考える上では、組織内分布の特性を把握することが重要である。DL-8280 の抗菌活性については、DL-8280 が、感受性菌の大部分の菌株に対して 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の濃度で発育を阻止することが明らかにされている¹⁾。本研究におけるラット組織内濃度は、20 mg/kg 経口投与後 4 hr までは、脳、脊髄、眼球およ

び脂肪以外のほとんどすべての組織で 1.56 $\mu\text{g}/\text{g}$ 以上の濃度であり、DL-8280 の組織移行性が良好であることが判明した。従って、DL-8280 は、中枢神経系を除く全身の感染症に対して十分な効果を示すことが期待される。

Nalidixic acid 関連化合物の副作用として中枢神経症状が指摘されているが、DL-8280 の中枢神経系への移行は低く、中枢神経系の副作用を発現する可能性は低いと考えられる。一般に、薬剤が高濃度に分布する組織では蓄積に関連した毒性が発現する可能性があるが、本研究で最高濃度が認められた腎では、投与後 48 hr には 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ 以下に減衰しており、 ^{14}C -DL-8280 が高濃度に分布した組織からの減衰は急速であり、蓄積性は示唆されなかった。一方、骨および気管等の軟骨では、全血液と比較して濃度の減衰が若干遅延していることが判明した。この傾向は、他の合成抗菌剤である NFLX⁶⁾、PPA⁷⁾、Oxolinic acid⁸⁾ においても報告されており、幼若動物においては軟骨組織への薬物移行と関節毒性との間の関連性が示唆されている。

血清蛋白結合率は、いずれの動物においても中程度であり経時的に一定していることから、血清蛋白結合は可逆的であると推察される。血清蛋白と薬剤の結合は、一般に糸球体濾過あるいは尿細管分泌を抑制し、薬剤の尿

中排泄を遅延させると言われている⁹⁾が、¹⁴C-DL-8280の尿中排泄が速やかなことから、その結合は弱くかつ可逆的であると考えられる。

¹⁴C-DL-8280 経口投与後の主排泄経路は、いずれの動物においても尿中であり、投与後 48 hr 以内に投与量の 50% 以上が尿中へ、残りが胆汁を経由して糞中へ排泄された。¹⁴C-DL-8280 のラット胆汁中排泄率は、経口投与後投与量の約 55% であり、NFLX (約 6%)⁶⁾、PPA (約 10%)⁷⁾、Oxolinic acid (約 9%)⁸⁾、Miloxacin (約 40%)¹⁰⁾ に比較して最高であった。また胆汁中へ排泄された未変化体と代謝物が部分的に再吸収されて腸肝循環することが確認された。

¹⁴C-DL-8280 の経口吸収性が優れていることは、排泄率からも立証された。ラットにおいては、20 mg/kg 経口投与後の尿中排泄率と胆汁を介した糞中排泄率の合計が投与量の概略 100% に達しており、経口吸収が完全であることが裏付けられた。さらに、イヌおよびサル尿中排泄率はラットより大きく、投与後 72 hr で、それぞれ、投与量の約 62 および 79% であり、これらの動物における吸収率も高いことが明らかとなった。第一相臨床試験¹¹⁾で一原らが明らかにしたヒトにおける DL-8280 の尿中排泄率は、100~600 mg のいずれの投与量においても、投与後 48 hr 以内に投与量の 90% 以上に達しており、ヒトを始めとする検討した動物種のいずれにおいても DL-8280 の経口吸収性が極めて良好であることが、尿中排泄率より確認された。

21 日間連続経口投与した際の全血液中濃度推移は、単回投与時の推移と同じであり、連続投与による血中濃度における上積みは認められなかった。従って、連続投与時の DL-8280 の経口吸収は、単回投与時のそれと同様であることが判明した。連続投与時の組織内濃度は、投与の繰返しにより経時的に上昇することはなく、最終投与後の組織内濃度の減衰も単回投与後の減衰と同様に速やかであった。すなわち、¹⁴C-DL-8280 の連続投与により蓄積傾向を示す組織は認められなかった。このことは、全身オートラジオグラムの所見からも確認された。さらに、連続投与時の尿中、糞中排泄率も連続期間中単回投与後の排泄率とほとんど同じであり、連続投与による排泄への影響は認め

られなかった。

¹⁴C-DL-8280 の実験動物における体内動態を検討した結果、¹⁴C-DL-8280 は完全に経口吸収され、高い血中濃度と良好な組織移行性を示し、組織へ蓄積することなく尿中あるいは胆汁を介して糞中へ排泄される抗菌剤であることが明らかとなった。

なお、本研究は昭和 56 年 6 月から昭和 58 年 2 月に実施した。

文 献

- 1) SATO, K.; Y. MATSUURA, M. INOUE, T. UNE, Y. OSADA, H. OGAWA & S. MITSUHASHI: *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 22: 548~553, 1982
- 2) 津村光義, 佐藤敬喜, 采 孟, 立澤晴男: DL-8280 の体内動態と代謝, 第 1 報 bioassay 法と HPLC 法によるイヌとサルにおける吸収, 排泄の比較. *Chemotherapy* 32 (S-1): 1179~1184, 1984
- 3) 松岡 理: 生体試料におけるオートラジオグラフィ(II), マクロオートラジオグラフィ-凍結全身オートラジオグラフィを中心に (1). *Radioisotopes* 18: 75~84, 1969
- 4) 五味二郎, 青柳昭雄, 小穴正治, 満野嘉造, 河合 健, 山田淑儿, 山田幸寛: Flucloxacillin の血清蛋白との結合についての研究. *Chemotherapy* 17: 1363~1366, 1969
- 5) 須藤賢一, 橋本浩一, 倉田忠司, 岡崎 治, 津村光義, 立澤晴男: DL-8280 の体内動態, 第 3 報 ¹⁴C-DL-8280 の各種動物における代謝. *Chemotherapy* 32(S-1): 1203~1210, 1984
- 6) 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
- 7) 橋本昌久, 森野直宜, 宮崎 亀, 景本 昭: ¹⁴C 標識 Pipemidic acid のラット, マウスにおける吸収, 分布, 排泄および代謝. *Chemotherapy* 23: 2693~2706, 1975
- 8) 大塚巖三, 内藤一秋, 佐藤善重: ¹⁴C 標識 Oxolinic acid の生体内動態に関する研究(第一報), ラットにおける吸収, 分布および排泄について. *応用薬理* 9: 849~859, 1975
- 9) LA DU, B.N.; H.G. MANDEL & E.L. WAY: *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition* (C. DAVISON, Ed.) pp. 63~75, 1972
- 10) 吉武 彬, 川原一夫, 庄野文章, 井沢昭雄, 山森 芬, 小松敏昭: ¹⁴C 標識 AB-206 の各種実験動物における吸収, 分布, 排泄. *Chemotherapy* 26 (S-4): 77~82, 1978
- 11) 一原規方, 立澤晴男, 津村光義, 采 孟, 佐藤敬喜: DL-8280 の第一相臨床試験. *Chemotherapy* 32(S-1): 118~149, 1984

METABOLIC DISPOSITION OF DL-8280
THE SECOND REPORT: ABSORPTION, DISTRIBUTION AND
EXCRETION OF ^{14}C -DL-8280 IN VARIOUS ANIMAL SPECIES

OSAMU OKAZAKI, TADASHI KURATA, KOICHI HASHIMOTO,
KENICHI SUDO, MITSUYOSHI TSUMURA and HARUO TACHIZAWA
Research Institute, Daiichi Seiyaku Co., Ltd.

Absorption, distribution and excretion of ^{14}C -DL-8280 were studied in the rat, dog and monkey. ^{14}C -DL-8280 was absorbed mainly in the upper and middle parts of the rat small intestine. After a single oral administration, ^{14}C -DL-8280 was absorbed rapidly and completely from the small intestine, and whole blood levels of ^{14}C in the rat were increased in a dose-related manner.

Whole blood levels of ^{14}C in the rat, dog and monkey reached a peak at 2, 3 and 2 hr after a single oral administration of the drug of 20 mg/kg, respectively. The peak concentrations in the rat, dog and monkey were 1.99, 12.7 and 7.19 μg -equivalents/ml, respectively, and declined at half-lives of 4.79, 9.55 and 4.70 hr, respectively.

Tissue concentrations of ^{14}C in the rat after an oral dosing of 20 mg/kg were much higher in all the tissues except for the central nervous system than in the blood. The tissue concentration was the highest in the kidney (13.96 μg -equivalents/g), reached a peak at 2 hr later declined to less than 0.1 μg -equivalents/g at 48 hr post-medication. No accumulation of radioactivity was also found in whole body autoradiograms of rats administered orally with ^{14}C -DL-8280. Serum protein binding rates of ^{14}C were approximately 50% in the rat and dog, and approximately 30% in the monkey after an oral dosing.

When ^{14}C -DL-8280 was administered orally to the three animal species, most of the dose was mainly excreted in the urine. Within 48 hr after a single oral dosing of 20 mg/kg, 54.3, 61.5 and 77.0% of the dose were excreted in the urine of the rat, dog and monkey, respectively, and residues were excreted in the feces of the respective animals via the bile. Approximately 100% of the dose was recovered in the urine and feces of the rat and dog within 48 hr post-medication. In the rat, approximately 30% of radioactivity excreted in the bile was reabsorbed from the intestine, and circulated entero-hepatically.

Whole blood and tissue levels of ^{14}C , and urinary and fecal excretion rates of ^{14}C in the rat after repeated oral doses of 20 mg/kg of ^{14}C -DL-8280 once daily for 21 days were similar to those in the animals after a single oral dosing. Thus, no accumulation of the drug in the tissue nor delay of excretion was found after repeated oral administration.