

## AT-2266 の生体内動態 II

## 動物における AT-2266 と代謝物の血漿中濃度および尿中排泄

山口俊和・鈴木玲子・関根 豊

大日本製薬株式会社総合研究所

マウス, ラット, ネコ, イヌ, サルに AT-2266 を 20 mg/kg で 1 回経口投与した後の血漿中濃度および尿中排泄量を測定し, 以下の知見を得た。

1. 検討したすべての動物の血漿中には, AT-2266 とともに oxo 体 (M-2) が検出されたが, その他の代謝物は検出されなかった。
2. AT-2266 の消化管吸収は速やかで, 血漿中未変化体濃度は, 投与後 0.5~2 時間で最高値に達した。その濃度はマウス, ラット, イヌ, サルでそれぞれ 0.8, 0.6, 4.2, 4.2  $\mu\text{g/ml}$  であり, 以後半減期 2.0, 2.8, 5.0, 4.2 時間で減衰した。血漿中 oxo 体濃度は, マウス, ラット, イヌでは 0.03  $\mu\text{g/ml}$  以下と低かったが, サルでは 2.5  $\mu\text{g/ml}$  と未変化体の 3/5 であった。
3. すべての動物の尿中には, 未変化体と oxo 体の他に, amino 体 (M-1), formyl 体 (M-3), acetyl 体 (M-4), ethylenediamino 体 (M-5) が排泄され, ラットでは AT-2266 のグルクロン酸抱合体も検出された。
4. 投与 24 時間後の尿中総排泄量は, マウスで投与量の 30.8%, ラット 19.4%, ネコ 43.0%, イヌ 28.9%, サル 55.9% であった。このうち未変化体が主排泄物であり, マウス, ネコ, イヌでは尿中総排泄量の 90% 以上を, ラットでは 65%, サルでは 76% を占めた。代謝物はサルの oxo 体 (12.0%), ラットのグルクロン酸抱合体 (6.2%) が多く, その他の代謝物は, いずれの動物でも少量 (投与量の 1.5% 以下) であった。
5. 投与 24 時間後のラット胆汁中には, 投与量の 25.3% が排泄され, 抱合体が主排泄物であった。
6. AT-2266 投与後の血漿中, 尿中には, 未変化体が大部分を占めるため, *in vivo* の抗菌活性は, 主として未変化体によるものと考えられる。

前報<sup>1)</sup>で AT-2266 [1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid] の代謝について検討し, イヌ, サル, ヒトの尿中には未変化体の他, 5 種の代謝物が, ラットではこの他に AT-2266 のグルクロン酸抱合体が排泄されることを報告した。

一方, 動物における AT-2266 の生体内動態に関しては, すでに bioassay<sup>2)</sup> および [<sup>14</sup>C] 標識 AT-2266<sup>3)</sup> を用いた検討がなされているが, 前者は抗菌活性の, 後者は放射活性の生体内動態をみたもので, 未変化体と代謝物の量的関係は明らかでない。今回, マウス, ラット, ネコ, イヌ, サルについて, AT-2266 経口投与後の未変化体および代謝物の血漿中濃度, 尿中および胆汁中 (ラットのみ) 排泄量を, 高速液体クロマトグラフィーを用いて測定したので, その結果を報告する。

## I. 実験材料および方法

## 1. 薬剤および試薬

AT-2266 (Lot No. T81008) およびその代謝物, amino 体 [M-1; 7-amino-1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid], oxo 体

[M-2; 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(3-oxo-1-piperazinyl)-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid], formyl 体 [M-3; 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-formyl-1-piperazinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid], acetyl 体 [M-4; 7-(4-acetyl-1-piperazinyl)-1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid], ethylenediamino 体 [M-5; 7-(2-aminoethylamino)-1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid] は, 大日本製薬総合研究所で合成された<sup>4)</sup>。

$\beta$ -glucuronidase (type H-1) は Sigma 社から, ethyl chloroformate は東京化成工業(株)から購入した。その他の試薬は市販特級品を用いた。

## 2. 実験動物

ICR 系雌性マウス (体重 35~39 g), SD 系雌性ラット (180~215 g), 雄性ネコ (2.3~3.1 kg), 雄性ビーグル犬 (11.9~15.2 kg) および雌性カニクイザル (2.7~3.8 kg) を使用した。

### 3. 薬物投与ならびに採血, 採尿

AT-2266 を0.5%トラガント液に懸濁し(10 mg/ml, マウスだけは4 mg/ml), 20 mg/kg で経口投与した。

AT-2266 を経口投与後, 所定の時間にマウス, ラットは心臓穿刺により, イヌ, サルは前肢静脈より採血した。血液は直ちに遠心分離し, 得られた血漿を分析時まで凍結保存した。

尿はAT-2266 を経口投与後, 動物を一匹ずつ代謝ケージに入れ, 24時間にわたって採取した。

### 4. 胆汁中排泄

常法にしたがいラットをエーテル麻酔下開腹し, 総胆管にポリエチレンチューブ(PE-10)を挿入したのち, 手術台に固定した。覚醒後AT-2266 を経口投与し, 24時間にわたって胆汁を採取した。

### 5. 血漿中, 尿中, 胆汁中AT-2266 および代謝物の定量

血漿中および尿中のAT-2266 と代謝物の定量は, 中村らの方法<sup>9)</sup>にしたがい, 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で行った。

すなわち, 血漿中, 尿中の未変化体, oxo体およびethylenediamino体は, 1% ethyl chloroformate 含有クロロホルムで抽出し, HPLCにより定量した。また, 尿中のamino体, formyl体およびacetyl体は, クロロホルムで抽出することにより行った。

ラット尿中のグルクロン酸抱合体は, 尿を $\beta$ -glucuronidaseで処理(2,000 units/ml, 37°, 16時間)し, 生成した未変化体を上記の方法で定量した。

なお, ラット胆汁中には, TLCラジオクロマトグラムの結果, 少なくとも2~3種の抱合体が存在する<sup>9)</sup>が, 塩酸酸性下80°で5時間加熱することにより, 抱合体が消失し, 未変化体を生成する。したがって, 胆汁中の抱合体の定量は, 酸加水分解後, 生成した未変化体を上述の方法で測定した。

本定量法の検出限界は, 試料1mlを使用することにより, AT-2266, 代謝物ともに血漿中で0.01  $\mu$ g/ml, 尿中で0.1  $\mu$ g/mlであった。

## II. 結果

### 1. 血漿中濃度

AT-2266 投与後の血漿中には, マウス, ラット, イヌ, サルともに, 未変化体とoxo体(M-2)が検出されたが, 他の代謝物は検出限界(0.01  $\mu$ g/ml)以下であった。Fig. 1には各動物にAT-2266 20 mg/kg 経口投与後の未変化体とoxo体の平均血漿中濃度推移を, Table 1には血漿中濃度から求めた薬動学的パラメーターを示す。

マウス 平均血漿中未変化体濃度は, 投与後1時間に

Table 1 Some pharmacokinetic parameters of AT-2266 in mice, rats, dogs and monkeys following single oral administration at a dose of 20 mg/kg of AT-2266

Species	*1	*2	*3	*4
	C <sub>max</sub>	t <sub>max</sub>	AUC	t <sub>1/2</sub>
Mouse	0.8	1	1.8	2.0
Rat	0.6	0.5	1.9	2.8
Dog	4.2	2	51.8	5.0
Monkey	4.2	2	32.0	4.2

\*1 peak plasma concentration ( $\mu$ g/ml)

\*2 time of peak plasma concentration (h)

\*3 area under the plasma concentration-time curve ( $\mu$ g·h·ml<sup>-1</sup>, 0-24h)

\*4 apparent terminal elimination half-life (h)

0.8  $\mu$ g/mlの最高値に達し, 以後すみやかに消失し, 12時間後には検出限界以下となった。血漿中からの消失は二相性を示し, 見かけの半減期は $\alpha$ 相で0.4時間,  $\beta$ 相で2.0時間であった。血漿中oxo体濃度は, 未変化体よりも低く, ピーク時においても0.03  $\mu$ g/mlで, 未変化体の1/25にすぎなかった。

ラット 平均血漿中未変化体濃度は, 投与後0.5時間に0.6  $\mu$ g/mlの最高値に達し, 以後半減期2.8時間で減少し, 24時間後には検出限界以下となった。血漿中oxo体濃度は, マウスと同様に低く, 0.5~2時間の投与初期に検出されただけであった。

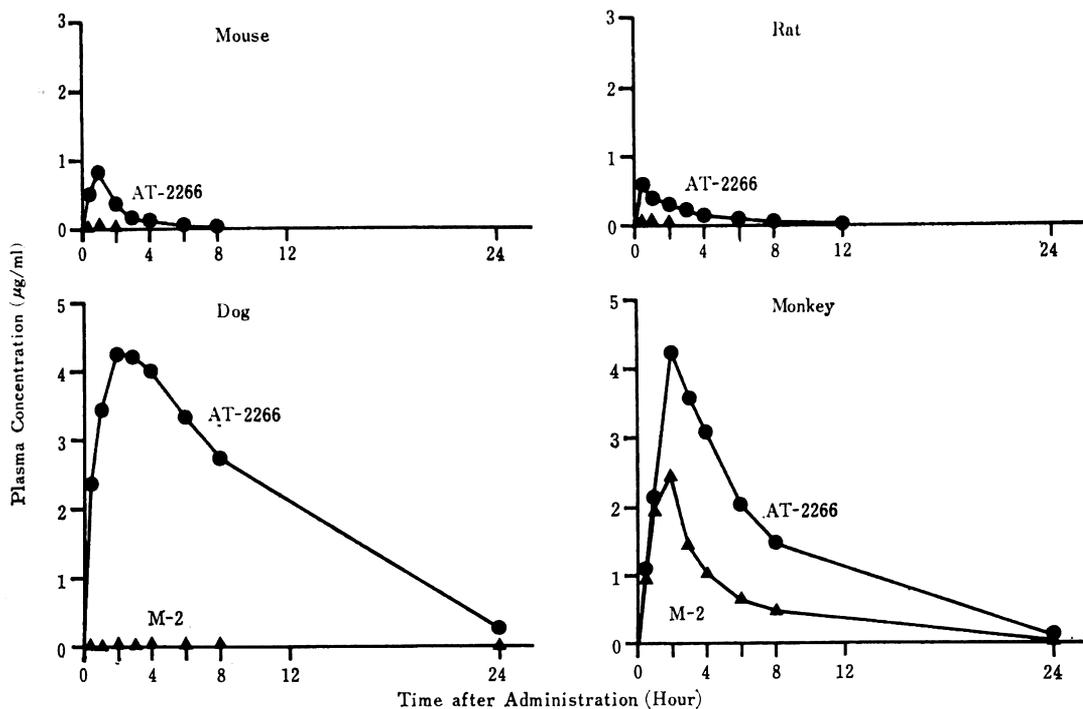
イヌ 平均血漿中未変化体濃度の最高値は, 投与後2時間に4.2  $\mu$ g/mlに達し, マウス, ラットよりも5~7倍高濃度であった。以後半減期5.0時間と, マウス, ラットよりも緩慢に減衰し, 24時間後にはピーク時の1/15となった。血漿中oxo体濃度は, ピーク時でも未変化体の1/100以下(0.03  $\mu$ g/ml)と低濃度であった。

サル 平均血漿中未変化体濃度は, 投与後2時間に4.2  $\mu$ g/mlの最高値に達し, イヌのレベルとほぼ等しかった。以後半減期4.2時間で減衰し, 24時間後にはピーク時の約1/40となった。平均血漿中oxo体濃度は, 投与2時間後に2.5  $\mu$ g/mlの最高値を示したが, これは他の動物と異なり, 未変化体の3/5と高濃度であった。見かけの消失半減期は, 5.4時間と未変化体よりも若干長かった。

### 2. 尿中排泄

マウス, ラット, ネコ, イヌおよびサルにAT-2266 20mg/kgを1回経口投与後24時間の尿中排泄をTable 2に示す。

Fig. 1 Plasma levels of AT-2266 and its metabolite, M-2, in mice, rats, dogs and monkeys following single oral administration at a dose of 20 mg/kg of AT-2266



Plottings are mean values from 5 animals.

Table 2 24-Hour urinary excretion of AT-2266 and its metabolites in mice, rats, cats, dogs and monkeys following single oral administration of 20 mg/kg of AT-2266

Species	Urinary excretion (% of dose, mean $\pm$ S. E.)							Total
	AT-2266	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	AT-2266 Glucuronide	
Mouse	28.4 $\pm$ 1.5	0.3 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.2	0	30.8 $\pm$ 1.4
Rat	12.6 $\pm$ 1.4	0.1 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	trace*	6.2 $\pm$ 0.9	19.4 $\pm$ 2.3
Cat	41.8 $\pm$ 4.4	trace	0.2 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.3	trace	0.5 $\pm$ 0.1	0	43.0 $\pm$ 4.6
Dog	27.2 $\pm$ 5.4	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	trace	1.5 $\pm$ 0.2	0	28.9 $\pm$ 5.6
Monkey	42.4 $\pm$ 3.2	0.1 $\pm$ 0.0	12.0 $\pm$ 1.4	0.1 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0	55.9 $\pm$ 4.6

\*  $<0.05\%$  of the dose

Five male ICR mice (35-39g), 5 male SD rats (180-215g), 2 male cats (2.3, 3.1kg), 5 male beagle dogs (11.9-15.2kg) and 5 cynomolgus monkeys (3 male and 2 female, 2.7-3.8kg) were used without fasting.



ト、ネコ、イヌでは2% (投与量の0.7%) 以下と少量であった。amino体, formyl体, acetyl体および ethylene-diamino体は、いずれの動物でも高々投与量の1%以下と少量であった。

検討した動物の中で、ラットだけが代謝パターンを異にしており、AT-2266のグルクロン酸抱合体が排泄された。その割合は尿中総排泄量の32% (投与量の6.2%) であり、ラットではグルクロン酸抱合能が高い<sup>1)</sup>。

ラットの尿中総排泄量は、投与量の19.4%ともっとも少なかったが、胆汁中に25.3%が排泄された。これは藤井らの<sup>14</sup>C標識AT-2266を用いたラットでの結果(尿中27.7%, 胆汁中26.3%)<sup>2)</sup>とほぼ対応している。

以上の結果から、AT-2266投与後の血漿中、尿中には未変化体が大部分を占めるため、*in vivo*の抗菌活性は、主として未変化体によるものと考えられる。

類似の化学構造式を有するNorfloxacinの尿中排泄は、<sup>14</sup>C標識体を用いて検討され、マウスで投与量の6.1%、ラットで8.4%、イヌで16.6%、サルで17.0%と報告されており<sup>3)</sup>、AT-2266の尿中排泄より少なく、AT-2266の消化管吸収は、Norfloxacinに比較して良好であることが推測される。

(実験期間：昭和56年9月～昭和57年3月, 昭和57年8月)

## 文 献

- 1) 関根 豊, 山口俊和, 宮本美枝, 鈴木玲子, 吉田耕治, 南 明, 中村信一, 橋本昌久: AT-2266の生体内動態I, ラット, イヌ, サル, ヒトにおける代謝。Chemotherapy 32(S-3): 95~102, 1984
- 2) 中村信一, 黒部暢之, 柏本茂樹, 大植富夫, 高瀬幹行, 清水當尚: AT-2266の実験動物における吸収, 分布, 排泄および代謝。Chemotherapy 32(S-3): 86~94, 1984
- 3) 藤井敏彦, 古川日出男, 吉田耕治, 宮崎 亀, 橋本昌久: <sup>14</sup>C標識AT-2266のラットにおける体内動態, 第一報一回投与試験。Chemotherapy 32(S-3): 117~135, 1984
- 4) MATSUMOTO, J.; T. MIYAMOTO, A. MINAMIDA, Y. NISHIMURA, H. EGAWA & H. NISHIMURA: Pyridone-carboxylic acid as antibacterial agents. 3. J. Med. Chem. 27: 292~301, 1984
- 5) NAKAMURA, R.; T. YAMAGUCHI, Y. SEKINE & M. HASHIMOTO: Determination of a new antibacterial agent (AT-2266) and its metabolites in plasma and urine by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 278: 321~328, (1983)
- 6) 永津芳雄, 遠藤恭平, 入倉 勉: <sup>14</sup>C標識AM-715による体内動態に関する研究。Chemotherapy 29(S-4): 105-118, 1981

PHARMACOKINETICS OF A NEW ANTIBACTERIAL AGENT AT-2266 II  
PLASMA LEVELS AND URINARY EXCRETION OF AT-2266  
AND ITS METABOLITES IN MICE, RATS, CATS, DOGS  
AND MONKEYS

TOSHIKAZU YAMAGUCHI, REIKO SUZUKI and YUTAKA SEKINE  
Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.

Plasma levels and urinary excretion of AT-2266 and its metabolites in mice, rats, cats, dogs and monkeys following single oral administration of 20 mg/kg of AT-2266 were determined by high-performance liquid chromatography with the following results.

1. The unchanged AT-2266 and its metabolite M-2 were found in plasma of all animals examined, but other metabolites were not detected.

2. AT-2266 was rapidly absorbed, and mean plasma levels were maximal 0.5-2 h after dosing with levels of 0.8, 0.6, 4.2 and 4.2  $\mu\text{g/ml}$  in mice, rats, dogs and monkeys, respectively, and declined with apparent half-lives of 2.0, 2.8, 5.0 and 4.2 h, respectively. Mean plasma levels of M-2 in mice, rats and dogs were less than 0.03  $\mu\text{g/ml}$ , but was 2.5  $\mu\text{g/ml}$  in monkeys (about 60 % of the unchanged drug).

3. Other 4 metabolites M-1, M-3, M-4 and M-5 were excreted together with the unchanged drug and M-2 in urine of all animals. In addition, the glucuronide of the unchanged drug was also detected in rat urine.

4. Mean urinary excretion in mice, rats, cats, dogs and monkeys for 24 h after dosing were found to be 30.8, 19.4, 43.0, 28.9 and 55.9% of the dose, respectively. A large portion of the urinary excretion was the unchanged drug (>90 % in mice, cats and dogs, 76% in monkeys and 65 % in rats). Urinary excretion of the metabolites were less than 1.5% of the dose except for M-2 in monkeys (12.0%) and the glucuronide in rats (6.2%).

5. Mean biliary excretion in rats for 24 h after dosing was accounted for 25.3% of the dose, and the major excreta was the conjugates of the unchanged drug.

6. The results suggest that the antibacterial activity after oral administration of AT-2266 is mainly due to the unchanged drug.