

**<sup>14</sup>C 標識 AT-2266 のモルモット耳鼻咽喉組織における分布に関する研究**

藤井敏彦・古川日出男・宮崎 亀・橋本昌久

清水富尚・村井兼孝\*・馬場駿吉\*

大日本製薬株式会社総合研究所

\*名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

1. 新規抗菌剤 [ethyl-1-<sup>14</sup>C]AT-2266 50 mg/kg をモルモットに経口投与し、耳鼻咽喉組織への移行、分布についてオートラジオグラフィにより検討した。また [ethyl-1-<sup>14</sup>C]norfloxacin と比較した。
2. [<sup>14</sup>C]AT-2266 および [<sup>14</sup>C]norfloxacin 投与後血中総放射活性濃度は、両薬物とも1時間後に最大に達した。しかし吸収の程度の差により [<sup>14</sup>C]AT-2266 放射活性濃度は [<sup>14</sup>C]norfloxacin と比較し約4倍高かった。
3. [<sup>14</sup>C]AT-2266 投与1時間後、鼻中隔軟骨、甲介骨および篩骨蜂巣骨には血中濃度より明らかに高い放射活性の移行が、これらの表層組織（鼻腔粘膜）には血中濃度と同程度の移行が認められた。
4. 聴器組織においては、岩様骨に血中濃度より高い放射活性が認められた。外耳道表層組織、鼓室粘膜には血中濃度と同程度、鼓膜には血中濃度より低い移行が認められた。蝸牛およびそのリンパ液への移行は、ほとんど認められないほど低かった。
5. 軟口蓋および咽頭組織には血中濃度よりはるかに高い放射活性が、舌には高い放射活性が認められた。
6. [<sup>14</sup>C]norfloxacin 放射活性濃度は極めて低く、精密な観察が困難な程であった。これは [<sup>14</sup>C]-norfloxacin の消化管からの吸収が低いためと考えられる。
7. 上記 [<sup>14</sup>C]AT-2266 放射活性の分布に基づいて、耳鼻咽喉科領域での本薬物の化学療法における有用性を考察した。

細菌感染症の化学療法において、抗菌物質の体内組織への移行、分布は極めて重要な治療的意義を有している。このような観点から、最近、2,3の合成化学療法剤について、その耳鼻咽喉科領域感染症への臨床応用に当たり、当該諸組織への移行がオートラジオグラフィにより評価されている<sup>1,2,3)</sup>。

AT-2266, すなわち 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid は化学療法剤として現在開発中の広い抗菌スペクトルを有する抗菌性物質であり<sup>4,5)</sup>、その消化管吸収は良好で、体内組織に良好に移行分布することはすでに明らかにされている<sup>6)</sup> ところである。今回はさらに本物質のモルモット耳鼻咽喉組織への移行、分布をオートラジオグラフィにより検討し、同系統薬剤である Norfloxacin と比較したので報告する。

**I. 実験方法****1. 標識化合物**

すでに報告<sup>7)</sup>した [ethyl-1-<sup>14</sup>C]AT-2266, [ethyl-1-<sup>14</sup>C]norfloxacin を用いた。両剤ともそれぞれ非標識化合物でほぼ同放射活性に希釈し、0.2%カルボキシメ

チルセルロース (CMC) に懸濁して 50 mg/kg を動物に経口投与した。

**2. 実験動物**

体重約300gの Hartley 系雄性モルモットを使用した。

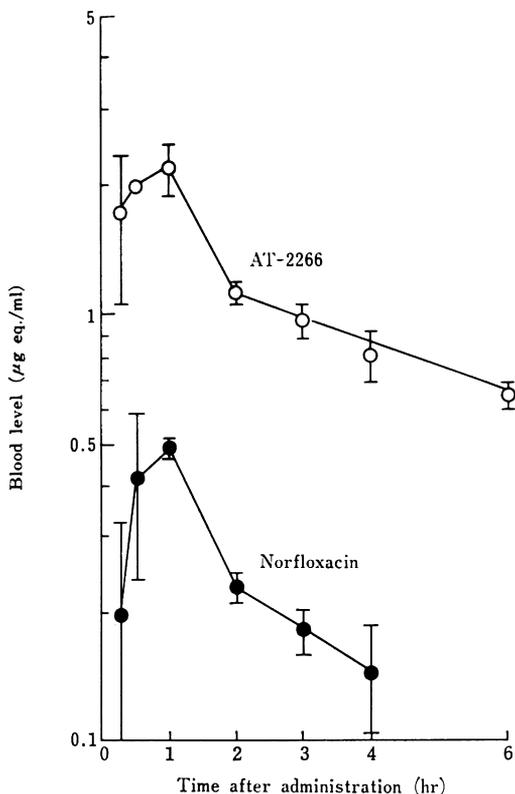
**3. 採血**

以下のような手順で採血を行った。すなわちエーテル麻酔下にモルモットの右側総頸動脈に三方分枝カニューレにて留置カテーテルを装着し、動脈血行を確保すると共に、採血用カニューレ端を皮下を経由して背部皮膚開口部に固定した。術後、動物が麻酔より覚醒後に標識薬物を投与し、三方コック操作により適時に採血を行った。採血カニューレ端部の抗凝血剤としてヘパリンを使用した。

**4. オートラジオグラフィ**

モルモットに標識薬物を投与し、血中濃度が最大となる1時間後にエーテル吸入により殺処分した。口腔、鼻腔、外耳道等の開口部に CMC ペーストを充填し<sup>8)</sup>、モルモット全身をドライアイス-アセトン (-78°C) により

Fig. 1 Blood levels of radioactivity after oral administration of [ $^{14}\text{C}$ ]AT-2266 (49.3  $\mu\text{Ci}/50\text{ mg}/\text{kg}$ ) or [ $^{14}\text{C}$ ]norfloxacin (101  $\mu\text{Ci}/50\text{ mg}/\text{kg}$ ) in guinea pigs



Each point is a mean of 3 animals  $\pm$  S. E.

凍結後、頸部で切断した。その後、頭部を CMC ペーストに包埋し、再び凍結後下顎骨底面を基準面<sup>2)</sup>とする凍結切片 (40  $\mu\text{m}$ 厚) を作成し、オートラジオグラフィ<sup>8)</sup>に供した。切片と X 線フィルム (Kodak SB film, Eastman Kodak 社, Rochester, NY) との密着期間は 55 日間とした。

#### 5. 血中放射活性の測定

血液は 20% 過酸化水素水で脱色後、Soluene 350T (Packard 社, Downers Grove, Ill) に溶解し<sup>9)</sup>、トルエン系シンチレーターを加え、Packard TriCarb 液体シンチレーションカウンター (Model 3380) により放射活性を計測した。計測値は投与薬物の比放射活性より未変化薬物量に換算した。

## II. 実験結果

### 1. 血中濃度

[ $^{14}\text{C}$ ]AT-2266, [ $^{14}\text{C}$ ]norfloxacin をモルモットにそ

れぞれ 50 mg/kg 経口投与後の血中総放射活性濃度の推移を Fig. 1 に示す。

[ $^{14}\text{C}$ ]AT-2266, [ $^{14}\text{C}$ ]norfloxacin 放射活性濃度は投与後 1 時間で最大となり、以後同様な推移で減少した。[ $^{14}\text{C}$ ]Norfloxacin 投与後の放射活性濃度は [ $^{14}\text{C}$ ]AT-2266 投与後と比較して低く、最大時で約 1/4 であった。これらの結果はモルモットにおいて両薬物の吸収速度、消失速度はほぼ同等であるが、吸収が AT-2266 で 4 倍程度良好であることを示唆している。このような両薬物の吸収の程度の差はラットでも認められている<sup>6)</sup>。

### 2. 耳鼻咽喉組織への移行

Fig. 2, 3 にそれぞれ [ $^{14}\text{C}$ ]AT-2266, [ $^{14}\text{C}$ ]norfloxacin 投与後 1 時間でのモルモット頭部のオートラジオグラムを示す。

[ $^{14}\text{C}$ ]AT-2266 放射活性の血中濃度は Fig. 2a の眼球近傍の血管中の血液に示されている。Fig. 2a において、鼻腔、副鼻腔を構成する鼻中隔軟骨、甲介骨、篩骨蜂巣骨には血中濃度より明らかに高い放射活性の移行が、またこれらの表層組織である鼻腔粘膜には血中濃度と同程度の移行が認められた。脳および眼球の水晶体、硝子体、前房には放射活性は認められず、角膜、毛様小体、網膜には血中濃度と同程度以下の放射活性の移行が認められた。

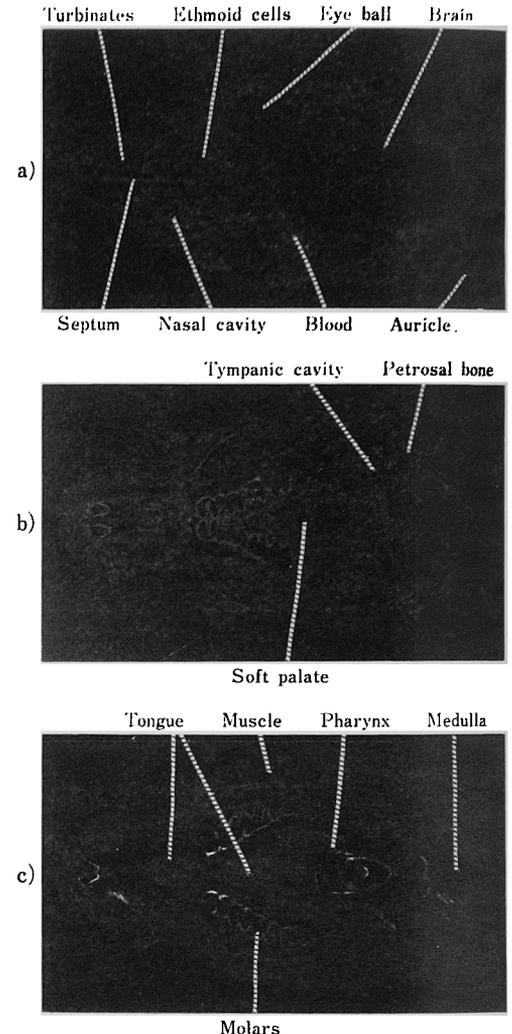
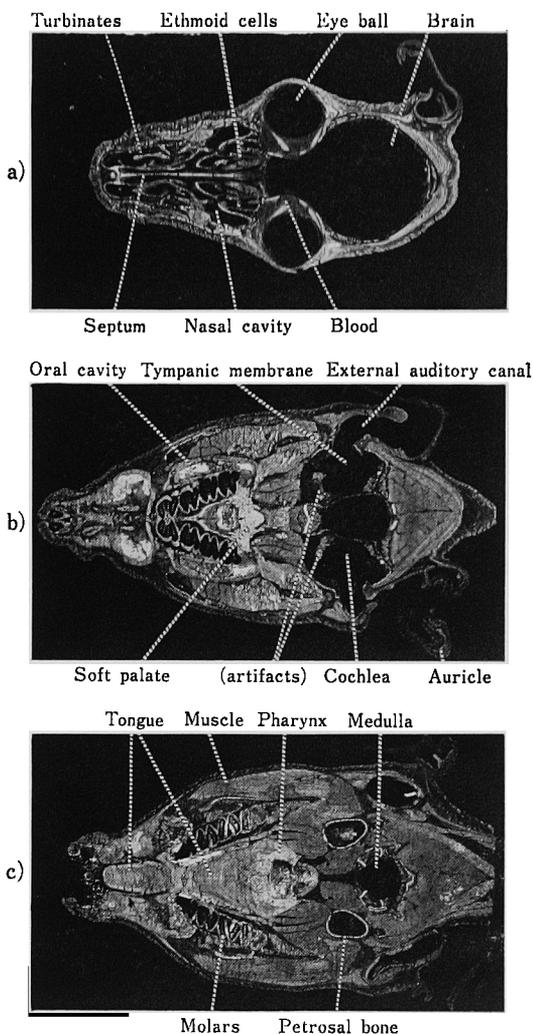
Fig. 2b においては耳介および岩様骨などの聴器組織が示されている。岩様骨には放射活性が著明であった。外耳道表層組織および鼓室粘膜は血中濃度と同程度、鼓膜へは血中濃度より低い移行が認められた。一方、蝸牛への移行は放射活性がほとんど認められないほど低く、リンパ液には放射活性は検出されなかった。鼓室内に一部強い放射活性が認められたが、この部位は切片標本上では出血斑様で、既報のとおり頭部凍結時に生じたものと考えられる<sup>1)</sup>。

Fig. 2b, c において軟口蓋、咽頭組織に強い放射活性の移行が認められ、また舌には血中濃度より高く、骨格筋と同程度の移行が認められた。また口腔内容物中には一部強い放射活性が認められたが、これは標識薬物の経口投与による汚染と考えられる。

一方、上記 [ $^{14}\text{C}$ ]AT-2266 とほぼ同条件で得られた [ $^{14}\text{C}$ ]norfloxacin 投与後のオートラジオグラム (Fig. 3) では、放射活性は全対象組織で極めて低く、血中放射活性もほとんど検出されない程度であった (Fig. 3a)。しかし甲介骨、鼻中隔軟骨、篩骨蜂巣骨、岩様骨、咽頭、軟口蓋等には、弱いながら明らかな移行が認められた。なお、[ $^{14}\text{C}$ ]norfloxacin をウサギに静脈内投与後、これらの組織に血中濃度以上の移行が認められるとの報告

Fig. 2 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity 1 hr after oral administration of [<sup>14</sup>C]AT-2266 (204 μCi/50 mg/kg) in guinea pig head

Fig. 3 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity 1 hr after oral administration of [<sup>14</sup>C]norfloxacin (203 μCi/50 mg/kg) in guinea pig head



がなされている<sup>2)</sup>。したがって本報告のモルモットにおける耳鼻咽喉組織への低い移行は、先の血中濃度において示唆されたごとく、経口投与された Norfloxacin の吸収が AT-2266 に比較してはるかに低いことに主として起因しているものと考えられる。

III. 考 察

ピベミド酸をはじめとするナリジクス酸類似体のモルモットまたはウサギ耳鼻咽喉組織への移行に関する最近の知見<sup>1,2,3)</sup>をみると、Rosoxacin を例外として本系統の

物質はほぼ共通して軟口蓋、扁桃、鼻中隔軟骨、篩骨蜂巣、甲介骨、岩様骨等に血中濃度を越える移行を示すことが明らかにされてきている。また脳組織、内耳にはほとんど移行しないこと、中耳粘膜へは血中濃度と同程度移行することなども示されており、これらの性質は [<sup>14</sup>C]ピベミド酸、 [<sup>14</sup>C]norfloxacin でも共通している<sup>2)</sup>。しかしこの知見は静脈内投与により得られたものであり、現在のナリジクス酸類似体がすべて経口剤であることを考慮すると、経口投与による当該組織への移行を検索す

る必要性があるかと考えられる。そこで本報告では経口投与によるモルモットでのナリジクス酸類似体 AT-2266, Norfloxacin の耳鼻咽喉組織への移行を検討した次第である。

経口投与後 Norfloxacin に関して得られた結果は、上記のウサギで得られた静脈内投与による結果と本質的に類似していた。しかしラットの同様、モルモットにおいても本物質の消化管吸収が極めて低く、得られたオートラジオグラム像は黒化度が低く、精密な観察が困難なほどであった。一方、経口投与 AT-2266 に関しては、静脈内投与ピベミド酸, Norfloxacin のウサギで得られた結果<sup>6)</sup>および経口投与ピベミド酸で得られた結果<sup>1)</sup>と類似し、軟口蓋、咽頭、鼻中隔軟骨、甲介骨、篩骨蜂巣骨、岩様骨等に血中濃度を越える移行が認められた。また鼓室粘膜、外耳道表層組織、鼻腔粘膜等に血中濃度と同程度の移行が認められた。一方、脳、蝸牛には放射活性はほとんど検出されなかった。AT-2266 の血中濃度が約  $2 \mu\text{g eq/ml}$  (Fig. 1) であること、多くの細菌、特に緑膿菌、セラチアなどを含むグラム陰性菌に対する AT-2266, Norfloxacin の MIC が  $1 \mu\text{g/ml}$  以下であることを考慮すれば、粘膜組織を含むこれら耳鼻科領域組織への分布パターンは、本剤の耳鼻咽喉科領域における有用性を示唆するものである。なお AT-2266 の移行・存在様式に関しては、まだ不明な点が多く今後の検討、評価が必要であろう。

#### 謝 辞

本研究にあたり御助言を賜った東京大学家畜解剖学教室望月公子教授に深謝致します。

(実験実施期間1981年8月~10月)

#### 文 献

- 1) 森野直宜, 宮崎 亀, 橋本昌久: モルモット聴器における  $^{14}\text{C}$ -pipemidic acid の分布. *Radioisotopes* 27: 135~138, 1978
- 2) 村井兼孝:  $^{14}\text{C}$  標識抗菌剤の耳鼻咽喉科領域組織内移行分布に関する実験的研究. *名市大医誌* 32: 327~347, 1981
- 3) MURAI, K. & S. BABA: Studies on distribution of two nalidixic acid analogues in otorhinolaryngological field. *Auris. Nasus. Larynx* 9: 45~52, 1982
- 4) SHIMIZU, M.; Y. TAKASE, S. NAKAMURA, H. KATAE, S. INOUE, A. MINAMI, K. NAKATA & Y. SAKAGUCHI: AT-2266, A new oral antipseudomonal agent. *Current Chemotherapy and Infectious Disease*: 451~454, 1980
- 5) MATSUMOTO, J.; T. MIYAMOTO, A. MINAMIDA, Y. NISHIMURA, H. EGAWA & H. NISHIMURA: Structure-activity relationships of 4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylic acids including AT-2266, a new oral antipseudomonal agent. *Current Chemotherapy and Infectious Disease*: 454~456, 1980
- 6) 藤井敏彦, 古川日出男, 吉田耕治, 宮崎 亀, 橋本昌久:  $^{14}\text{C}$  標識 AT-2266 のラットにおける体内動態 第1報 1回投与試験. *Chemotherapy* 32(S-3): 117~135, 1984
- 7) 景本 昭, 根来利行, 中尾全志, 関根 豊, 橋本昌久. [Ethyl- $^{14}\text{C}$ ] AT-2266 およびその関連化合物の合成. *Chemotherapy* 32(S-3): 147~153, 1984
- 8) 松岡 理, 鹿島正俊: 凍結マクロオートラジオグラフィ法とその応用. *Radioisotopes* 15: 195~207, 1966
- 9) HASHIMOTO, H.; H. MIYAZAKI, T. FUJII, K. NAMBU & K. TANAKA: Studies on disposition and metabolism of tolmetin, a new anti-inflammatory agent, in rats and mice. 1. Absorption, distribution, and excretion of [ $^{14}\text{C}$ ]tolmetin radioactivity. *Drug Metab. Dispos.* 7: 14~19, 1979

## DISTRIBUTION OF [<sup>14</sup>C]AT-2266 RADIOACTIVITY IN OTORHINOLARYNGOLOGICAL TISSUES OF GUINEA PIGS AFTER ORAL ADMINISTRATION

TOSHIHIKO FUJII, HIDEO FURUKAWA, HISASHI MIYAZAKI, MASAHISA HASHIMOTO  
MASANAO SHIMIZU, KANETAKA MURAI\* and SHUNKICHI BABA\*

Research Laboratory, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.

\*Department of Otorhinolaryngology, School of Medicine, Nagoya City University

1. [Ethyl-1-<sup>14</sup>C]AT-2266, a novel antimicrobial agent, was orally administered in guinea pigs at a dose of 50mg/kg and distribution of radioactivity was investigated in otorhinolaryngological tissues by autoradiography. [Ethyl-1-<sup>14</sup>C]norfloxacin was also studied for comparison.
2. Blood levels of both [<sup>14</sup>C]AT-2266 and [<sup>14</sup>C]norfloxacin radioactivity reached maximum at 1 hr, but the level of the former was about 4 times as high as that of the latter due to the difference of absorption.
3. At 1 hr after administration, [<sup>14</sup>C]AT-2266 radioactivity was far more significant in the septum cartilage, turbinates and ethmoid cells than in blood. Their surface tissues (nasal mucosa) contained the similar level of radioactivity to blood level. No appreciable radioactivity was seen in the brain and most of optic tissues.
4. Petrosal bone contained higher level of radioactivity than blood level, to which levels in outer surface of external auditory canal and mucosa of tympanic cavity were similar. Level of radioactivity in the tympanic membrane was lower. Radioactivity was extremely low or not appreciable in cochlea and its lymph fluid.
5. Soft palate and pharynx levels of radioactivity were most significant, and tongue level, more significant relative to blood level.
6. In contrast, levels of [<sup>14</sup>C]norfloxacin radioactivity were so low that the exact distribution was hardly observable. This was thought to be due to its poor absorption from digestive tracts.
7. Based on the distribution of [<sup>14</sup>C]AT-2266 radioactivity observed above, the usefulness of the agent was discussed in relation to its promising application for chemotherapy in otorhinolaryngological field.