

ラットにおける ^3H -HBK の生体内動態 (第1報)
 雄性ラットにおける筋肉内単回投与後の吸収, 分布, 代謝および排泄

小宮 泉・三富奈由・松元 隆・西尾元宏
 明治製菓株式会社・薬理安全性研究所

南保俊雄・大槻俊治・端 真也・横田喬枝・横島徹薫
 第一化学薬品株式会社・東海研究所

^3H -HBK を雄性ラットに筋肉内投与し, その吸収, 分布, 代謝および排泄について検討を行ない, 以下の結果を得た。

1. 血液中放射能濃度は 2 mg (力価)/kg 投与後 30 分に最高濃度 1.97 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (HBK 力価換算) を示し, 投与部位からの吸収は速やかであった。
2. 血液中放射能濃度は, 3 時間まで半減期 0.57 時間, 4 時間から 12 時間まで半減期 4.07 時間, 24 時間から 48 時間まで半減期 104 時間で消失した。
3. 尿および糞中への放射能の排泄率は, 投与後 120 時間までにそれぞれ投与量の 78.5% および 0.4% であった。同時に測定した微生物学的定量法による HBK の尿中排泄率は投与後 48 時間までに 72.1% であり, 放射能の排泄率とはほぼ同じであった。
4. 組織内放射能濃度は腎に顕著に高かった。
5. 投与後 24 時間までの尿中には未変化の HBK が大部分であり, 代謝物は認められなかった。

HBK は H. UMEZAWA ら¹⁾により合成されたアミノ配糖体抗生物質で, dibekacin (DKB) の 1 位アミノ基に aminohydroxybutyryl 基を導入した新規誘導体である。本剤はグラム陽性菌, グラム陰性菌に広く抗菌作用を示し, その抗菌作用は殺菌的で, 特にブドウ球菌にはすぐれた抗菌力を有する。

著者らは ^3H で標識した HBK を雄性ラットに筋肉内投与し, 投与後の薬物動態を詳細に検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 標識化合物

^3H -HBK は HBK の α -D-glucopyranosyl 環の 3', 4' 位をトリチウムで標識した化合物であり, 比放射能は 109.0 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ および 80.3 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ であった。放射化学的純度はシリカゲル 60 F₂₅₄ (ガラスプレート, 厚さ 0.25 mm, E. Merck) を用いた薄層クロマトグラフィー (展開溶媒, n-ブチルアルコール: エチルアルコール: 濃アンモニア水: クロロホルム=3:5:7:2, クロロホルム: メチルアルコール: 濃アンモニア水: エチルアルコール=4:6:7:1) で検討し, いずれも 92% 以上であった。

なお, 非標識 HBK は明治製菓株式会社で合成されたものを, またその他の試薬は市販特級品を用いた。

2. 実験動物

生後 7~8 週齢, 体重 200~250 g の Sprague-Dawley 系 SPF 雄性ラット (静岡県実験動物農業協同組合) を実験に使用した。購入後のラットには水および固型飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社, MF) を自由に摂取させ, 室温 23 \pm 1°C, 湿度 60 \pm 10% の条件下で 1 週間以上予備飼育したのち実験に供した。

3. 投与方法

^3H -HBK に非標識 HBK を加えて所定の比放射能にしたのち, 生理食塩液に溶解し, 2 mg (力価)/kg (以後投与量は力価換算で表示) の投与量で, 右大腿四頭筋に投与した。投与放射能量は, 血液中放射能濃度測定実験では 48.2 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$, 尿・糞中排泄率測定実験では 64.8 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$, 組織内濃度測定実験では 60.7 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ であった。また全身オートラジオグラフィー実験の場合には, 投与量 47 mg/kg で同様に右大腿四頭筋に投与した。なおこの時の投与放射能量は 5.1 mCi/kg であった。

4. 放射能の測定

各試料中の放射能は, 試料を適当なシンチレーターに溶解したのち, 液体シンチレーションカウンター (アロカ株式会社, LSC-903) で 2~5 分間計測した。また一部の試料は, 汚紙をつめた自動燃焼用紙カップに入れ, 電気乾燥機 (ヤマト科学株式会社, IC-61) で 40°C, 24 時間乾燥し, 自動燃焼装置 (アロカ, ASC-112) で燃焼させたのち, Oxifluor-H₂O (New England Nuclear,

NEN) 12 ml を加え、同様に液体シンチレーションカウンターで計測した。なお、計数効率の補正は外部標準線源によるチャンネル比法によった。

5. 血液中放射能濃度の測定

^3H -HBK を筋肉内投与したラットの尾静脈から経時的に血液を採取した。採取した血液は乾燥し、燃焼させたのち放射能を測定した。

6. 尿、糞中排泄率および体内残存率の測定

^3H -HBK を筋肉内投与したのち、代謝ケージ(株式会社夏目製作所, KN-646 B)に収め、自然排泄させた尿および糞を採取した。採取した尿は 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.8) または水を加えて 50 ml に希釈し、その 0.5 ml にシンチレーター、Atomlight (NEN) 13 ml を加えて放射能を測定した。糞は水を加えて 500 ml にしたのち、攪拌均質化し、その 1 ml にエマルジョン系シンチレーター (トルエン 1 l, PPO 4 g, POPOP 0.1 g, ノニオン NS-210 500 ml) 10 ml を加えて放射能を測定した。また尿については凍結後水分を真空移動させ、その一部にエマルジョン系シンチレーターを加えて放射能を測定し、尿中 $^3\text{H}_2\text{O}$ の割合を求めた。

尿および糞中排泄率測定終了後(投与 120 時間後)、ラットをエーテル麻酔死させ、凍結後断頭器で適当な大きさに切断したのち、0.5 N 水酸化ナトリウム 400 ml およびトルエン 50 ml を加えて 48 時間還流して溶解した。溶解後水層を 1,000 ml に希釈し、その 0.5 ml に Atomlight 13 ml を加え、またトルエンは 100 ml に希釈し、その 1 ml にエマルジョン系シンチレーターを加えてそれぞれの放射能を測定した。

7. 全身オートラジオグラフィ

^3H -HBK を筋肉内投与したラットを所定時間にエーテル麻酔死させ、速やかに被毛を刈り取ったのち、鼻腔および肛門を 5% カルボキシメチルセルロース (CMC) でふさいで、 -70°C のドライアイス・アセトンにつけて凍結させた。5% CMC で包埋し、 -70°C のドライアイス・アセトンで再度凍結後クライオミクロトーム (Palmstiernas Mekaisha Verkstad, Cryo Microtome 450 MP) を使用して約 $35\ \mu\text{m}$ の全身切片を作製した。得られた凍結切片は -25°C 前後で 2 日間凍結乾燥し、切片表面を保護膜 ($4\ \mu\text{m}$, ダイアホール株式会社) で被い、X線フィルム (小西六写真株式会社, ^3H タイプ) と密着させ、 4°C で 40 日間露出したのち全身オートラジオグラムを作製した。

8. 組織内放射能濃度および分布率の測定

^3H -HBK をラットに筋肉内投与したのち、所定時間にエーテル麻酔下、頸動脈切断により放血させ各組織を摘出した。採取した血漿および血液はそれぞれ 0.4 ml

を乾燥し、燃焼させたのち放射能を測定した。それ以外の各組織はその湿重量を測定し、組織の一部もしくは全部を乾燥し、燃焼させたのち放射能を測定した。

9. 代謝物の分析

1) 薄層クロマトグラフィー (TLC) およびバイオオートグラフィー

^3H -HBK をラットに筋肉内投与し、投与 24 時間後までの自然排泄尿を 3 匹分合せ、TLC およびバイオオートグラフィーにより分析した。即ち、3 匹分の尿を凍結乾燥後少量の 0.1 N アンモニア水で溶解し、シリカゲルプレート、60 F₂₅₄ (厚さ 0.25 mm, E. Merck) に塗布した。n-ブチルアルコール: エチルアルコール: 濃アンモニア水: クロロホルム = 3:5:7:2 を用い、15 cm 展開した。展開後シリカゲルを削り取り、メチルアルコール 1 ml およびエマルジョン系シンチレーターを加えて放射能を測定した。また同様にして得られた TLC プレートを *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする平板の上に直接密着させ、5 分後 TLC プレートを除去して 37°C , 18 時間培養し、バイオオートグラムを作製した。

2) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

^3H -HBK をラットに筋肉内投与し、投与 6 時間後までの尿を HPLC により分析した。即ち、採取した尿を 3,000 回転で 5 分間遠心し、その上清 10 μl を HPLC に注入した。分離カラム通過後の溶離液を 30 秒間ずつ 30 分間分取し、Atomlight 12 ml を加え各分画の放射能を測定した。なお HPLC の条件は下記の通りである。

Fig. 1 Blood level of radioactivity after single intramuscular administration of ^3H -HBK in male rats (dose: 2 mg/kg) Each point represents the mean \pm S.E. of three animals.

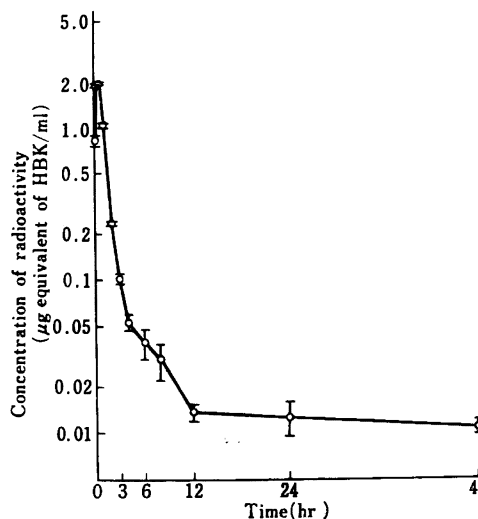


Fig. 2 Urinary and fecal excretions after single intramuscular administration of ^3H -HBK in male rats (dose : 2 mg/kg) Each point represents the mean \pm S.E. of three animals.

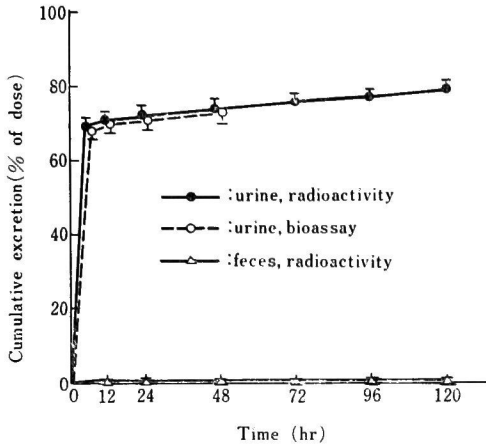
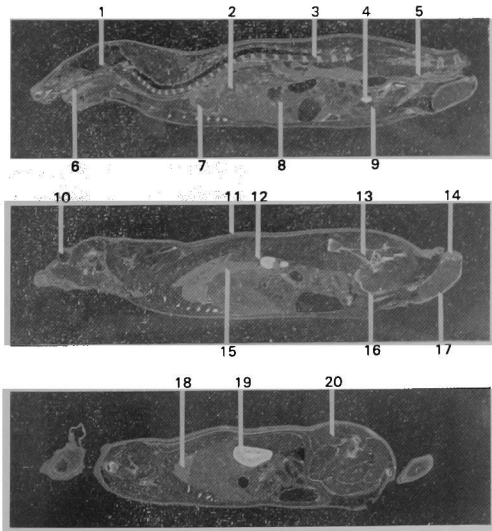


Fig. 3 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity at 0.5 hr after intramuscular administration of ^3H -HBK in male rat (dose : 47 mg/kg)

Legend ; 1. Hypophysis, 2. Liver, 3. Cartilage, 4. Urine in urinary bladder, 5. Rectum, 6. Tongue, 7. Heart, 8. Stomach wall, 9. Prostate, 10. Eye ball, 11. Hair, 12. Adrenal, 13. Femur, 14. Epididymis, 15. Blood, 16. Connective tissue, 17. Testis, 18. Lung, 19. Kidney, 20. Muscle

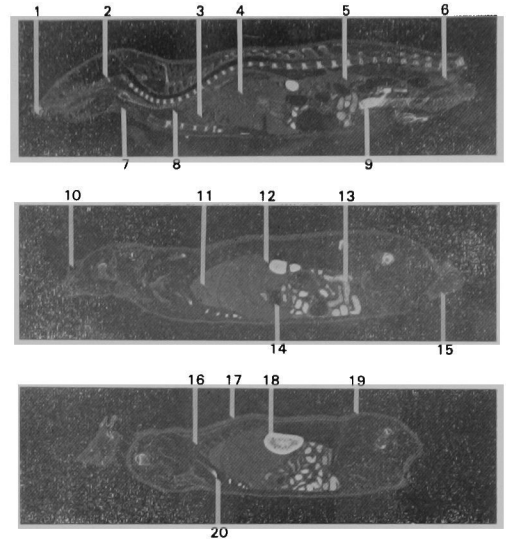


HPLC : Tri Rotar SR 2 (日本分光)

カラム : ODS 120 T, 10 μ (東洋曹達工業)

Fig. 4 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity at 2 hr after intramuscular administration of ^3H -HBK in male rat (dose : 47 mg/kg)

Legend ; 1. Nasal cavity, 2. Hypophysis, 3. Heart, 4. Liver, 5. Blood, 6. Rectum, 7. Salivary gland, 8. Thymus, 9. Urine in urinary bladder, 10. Eye ball, 11. Lung, 12. Adrenal, 13. Small intestinal contents, 14. Intestinal wall, 15. Testis, 16. Connective tissue, 17. Hair, 18. Kidney, 19. Skin, 20. Cartilage



4 ϕ \times 50 mm + 4 ϕ \times 250mm

移動相 : 1 l 中に Na_2SO_4 28.41 g, PIC reagent B-7 (Waters Associates) 25 ml および pH 10.00 Titrissol buffer (E. Merck) 20 ml を含む水溶液

移動相流速 : 1 ml/min

10. 微生物学的定量法

Bacillus subtilis ATCC 6633 を検定菌とし、薄層ディスクを用いた標準曲線法により行なった。なお標準曲線は 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.8) を用いて作成し、また尿も同緩衝液で希釈して検定した。

II. 結果

1. 血液中濃度および尿糞中排泄

ラットに ^3H -HBK を 2 mg/kg 筋肉内投与した時の血液中濃度推移および尿、糞中排泄の結果を Fig. 1 および 2 に示した。血液中濃度は投与後 30 分に最高濃度 1.97 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (HBK 力価換算、以後同様に表示) を示し、3 時間までの半減期 0.57 時間、4 時間から 12 時間までの半減期 4.07 時間、24 時間から 48 時間までの半減期 104 時間で消失した。台形法により計算した投与後 48 時間までの AUC は 3.06 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ であった。

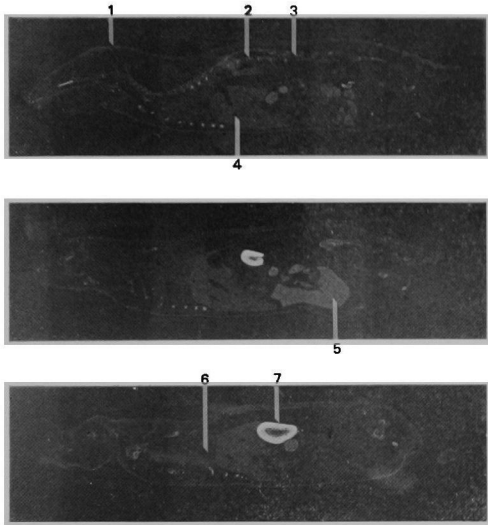
Table 1 Tissue concentration of radioactivity after single intramuscular administration of ³H-HBK in male rats (dose : 2 mg/kg).

Tissue	Radioactivity (μg equivalent of HBK/g or ml)			
	0.5 hr	2 hr	24 hr	120 hr
Plasma	2.93 \pm 0.02 (1.00)	0.23 \pm 0.03 (1.00)	0.02 \pm 0.00 (1.00)	0.01 \pm 0.00 (1.00)
Blood	1.81 \pm 0.04 (0.62)	0.14 \pm 0.02 (0.61)	0.03 \pm 0.00 (1.50)	0.01 \pm 0.00 (1.00)
Cerebrum	0.06 \pm 0.01 (0.02)	0.01 \pm 0.00 (0.04)	N.D.	N.D.
Cerebellum	0.06 \pm 0.01 (0.02)	0.01 \pm 0.00 (0.04)	N.D.	N.D.
Medulla oblongata	0.05 \pm 0.01 (0.02)	0.01 \pm 0.00 (0.04)	N.D.	N.D.
Hypophysis	0.30 \pm 0.07 (0.10)	0.11 \pm 0.08 (0.48)	N.D.	N.D.
Submaxillary gland	0.70 \pm 0.03 (0.24)	0.11 \pm 0.02 (0.48)	0.04 \pm 0.00 (2.00)	0.03 \pm 0.00 (3.00)
Eye ball	0.44 \pm 0.03 (0.15)	0.11 \pm 0.01 (0.48)	0.01 \pm 0.00 (0.50)	0.01 \pm 0.00 (1.00)
Harder's gland	0.59 \pm 0.03 (0.20)	0.07 \pm 0.01 (0.30)	0.03 \pm 0.00 (1.50)	0.02 \pm 0.00 (2.00)
Thyroid	0.62 \pm 0.12 (0.21)	0.24 \pm 0.08 (1.04)	N.D.	N.D.
Thymus	0.32 \pm 0.03 (0.11)	0.06 \pm 0.01 (0.26)	0.03 \pm 0.00 (1.50)	0.02 \pm 0.00 (2.00)
Heart	0.69 \pm 0.03 (0.24)	0.09 \pm 0.02 (0.39)	0.02 \pm 0.00 (1.00)	0.01 \pm 0.00 (1.00)
Lung	1.15 \pm 0.02 (0.39)	0.25 \pm 0.02 (1.09)	0.07 \pm 0.01 (3.50)	0.07 \pm 0.00 (7.00)
Liver	0.45 \pm 0.03 (0.15)	0.16 \pm 0.01 (0.70)	0.18 \pm 0.09 (9.00)	0.07 \pm 0.00 (7.00)
Kidney	30.47 \pm 0.74 (10.40)	57.78 \pm 5.56 (251.22)	72.06 \pm 4.19 (3603.00)	61.35 \pm 4.96 (6135.00)
Kidney (Cortex)	30.55 \pm 6.16 (10.43)	75.71 \pm 10.25 (329.17)	130.85 \pm 5.64 (6542.50)	101.22 \pm 2.53 (10122.00)
Kidney (Medulla)	17.71 \pm 1.72 (6.04)	22.27 \pm 0.83 (96.83)	29.62 \pm 1.72 (1481.00)	20.73 \pm 2.16 (2073.00)
Adrenal	2.18 \pm 0.47 (0.74)	1.64 \pm 0.28 (7.13)	1.75 \pm 0.12 (87.50)	1.71 \pm 0.29 (171.00)
Spleen	0.58 \pm 0.05 (0.20)	0.28 \pm 0.02 (1.22)	0.28 \pm 0.02 (14.00)	0.26 \pm 0.02 (26.00)
Pancreas	0.56 \pm 0.02 (0.19)	0.16 \pm 0.01 (0.70)	0.16 \pm 0.02 (8.00)	0.13 \pm 0.01 (13.00)
Stomach	0.85 \pm 0.04 (0.29)	0.15 \pm 0.02 (0.65)	0.14 \pm 0.01 (7.00)	0.08 \pm 0.01 (8.00)
Muscle	0.42 \pm 0.08 (0.14)	0.08 \pm 0.02 (0.35)	0.04 \pm 0.01 (2.00)	0.03 \pm 0.01 (3.00)
Fat	0.23 \pm 0.02 (0.08)	0.12 \pm 0.02 (0.52)	0.06 \pm 0.01 (3.00)	0.05 \pm 0.01 (5.00)
Skin	1.30 \pm 0.07 (0.44)	0.21 \pm 0.03 (0.91)	0.11 \pm 0.02 (5.50)	0.07 \pm 0.02 (7.00)
Testis	0.42 \pm 0.01 (0.14)	0.06 \pm 0.01 (0.26)	0.03 \pm 0.00 (1.50)	0.02 \pm 0.00 (2.00)
Epididymis	0.95 \pm 0.03 (0.32)	0.15 \pm 0.02 (0.65)	0.07 \pm 0.01 (3.50)	0.05 \pm 0.01 (5.00)
Prostate	0.52 \pm 0.05 (0.18)	0.30 \pm 0.22 (1.30)	0.04 \pm 0.00 (2.00)	0.02 \pm 0.00 (2.00)
Bone marrow	0.56 \pm 0.03 (0.19)	0.19 \pm 0.03 (0.83)	0.07 \pm 0.00 (3.50)	N.D.
Femur	1.89 \pm 0.23 (0.65)	0.63 \pm 0.00 (2.74)	0.16 \pm 0.05 (8.00)	0.08 \pm 0.02 (8.00)
Small intestine	0.38 \pm 0.04 (0.13)	0.11 \pm 0.00 (0.48)	0.06 \pm 0.01 (3.00)	0.03 \pm 0.00 (3.00)
Large intestine	0.56 \pm 0.09 (0.20)	0.10 \pm 0.01 (0.43)	0.07 \pm 0.01 (3.50)	0.04 \pm 0.01 (4.00)

Figures in parentheses denote the ratio of tissue concentration to plasma concentration. The data represent the mean \pm S.E. of three animals. N.D. : not detected

Fig. 5 Autoradiograms showing the distribution of radioactivity at 24 hr after intramuscular administration of ^3H -HBK in a male rat (dose: 47 mg/kg)

Legend; 1. Hair, 2. Cartilage, 3. Bone marrow, 4. Liver, 5. Caecum contents, 6. Lung, 7. Kidney



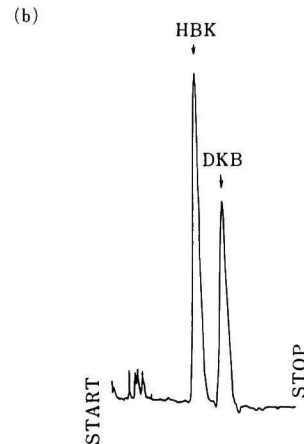
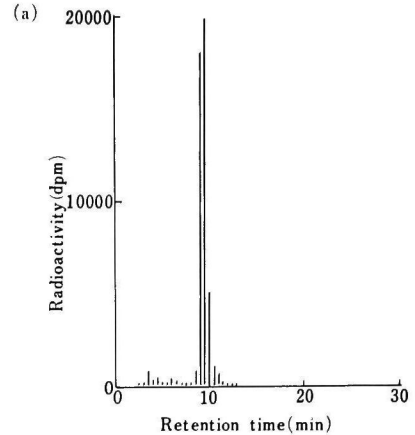
一方尿中には投与後 120 時間までに投与量の 78.5% が、また糞中には投与量の 0.4% が排泄された。なお尿中に排泄されたもののうち $^3\text{H}_2\text{O}$ と考えられるものは、投与量の 0.1% に過ぎなかった。放射能測定による尿中排泄率と微生物学的検定法による尿中排泄率とは良く一致した。

2. 全身オートラジオグラフィ

ラットに ^3H -HBK を 47 mg/kg 筋肉内投与した時の全身オートラジオグラムを Fig. 3 (投与 30 分後), 4 (2 時間後), 5 (24 時間後) に示した。投与後 30 分では腎皮質、骨髄質、膀胱内貯尿、気管、軟骨および結合組織が最も高い放射活性を示し、ついで副腎、大腿骨および副睾丸に高い放射活性が認められた。肺、被毛、皮膚、顎下腺、直腸および胃壁には血液とほぼ同程度の放射活性が認められた。一方、心、前立腺、眼球、睾丸、肝および筋肉は血液より低い放射活性を示し、中枢神経系の放射活性は最も低かった。投与後 2 時間では全体の放射活性は低下したものの、腎、気管、軟骨、副腎、消化管内容物および膀胱内貯尿に最も高い放射活性が認められ、ついで皮膚、被毛、腸壁、結合組織、睾丸、副睾丸および鼻腔が高い放射活性を示した。他の組織はいずれも血液に比較して低い放射活性であった。投与後 24 時間では全体の放射活性はさらに低下した。一方、腎皮質の放射活性は投与後 30 分のそれとほぼ同様であった。

Fig. 6 Radio-HPLC analysis for urinary metabolites of HBK in rats

- (a) radio-HPLC chromatogram of a urine sample (0-6 hr) after intramuscular administration of ^3H -HBK to a male rat (dose: 3.4 mg/kg)
 (b) HPLC chromatogram of authentic HBK and DKB by a post-column derivatization with *o*-phthalaldehyde⁹⁾



被毛、皮膚、軟骨、消化管内容物、骨髄、肺および肝には低い放射活性が認められた。

3. 組織内濃度および分布率

ラットに ^3H -HBK を 2 mg/kg 筋肉内投与した時の各組織内濃度および分布率を Table 1 および 2 に示した。投与後 30 分では腎皮質および腎髄質に高い濃度が認められ、それぞれ血漿中放射能濃度 2.93 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の 10.4 倍、6.0 倍を示した。ついで血液、骨および副腎に高く、血漿中放射能濃度の 62~74% を示した。甲状腺、顎下腺、心、胃、副睾丸、肺および皮膚は血漿中放射能濃度の 21~44% であった。大脳、小脳、延髄、脂肪、下垂体、胸腺、小腸、睾丸、筋肉、肝および眼球は最も低く

Table 2 Percent distribution of radioactivity in tissue after single intramuscular administration of ^3H -HBK in male rats (dose: 2 mg/kg).

Tissue	Tissue content (% of dose)			
	0.5 hr	2 hr	24 hr	120 hr
Blood	5.79±0.12	0.44±0.05	0.08±0.01	0.02±0.00
Cerebrum	0.02±0.01	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Cerebellum	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Medulla oblongata	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Hypophysis	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Submaxillary gland	0.07±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Eye ball	0.03±0.00	0.01±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
Thymus	0.03±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Heart	0.11±0.00	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Lung	0.26±0.02	0.05±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00
Liver	0.94±0.02	0.37±0.02	0.44±0.20	0.16±0.01
Kidney	12.09±0.13	20.42±2.33	26.18±2.02	24.75±1.79
Adrenal	0.02±0.00	0.01±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00
Spleen	0.07±0.01	0.03±0.00	0.03±0.00	0.03±0.00
Pancreas	0.06±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00
Stomach	0.20±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.02±0.00
Muscle	8.45±1.52	1.52±0.36	0.79±0.12	0.53±0.12
Fat	0.58±0.04	0.29±0.05	0.15±0.02	0.13±0.02
Skin	14.35±0.78	2.26±0.36	1.20±0.26	0.72±0.23
Testis	0.22±0.01	0.04±0.01	0.02±0.00	0.01±0.00
Epididymis	0.08±0.01	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
Prostate	0.01±0.00	0.01±0.01	0.00±0.00	0.00±0.00

The data represent the mean \pm S.E. of three animals.

Blood, muscle, fat and skin weight were assumed to be 6.4, 40, 5, 22% of body weight, respectively.

血漿中放射能濃度の2~15%であった。投与後2時間では腎皮質および腎髄質に最も高い濃度が認められ、それぞれ血漿中放射能濃度0.23 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の329倍、96.8倍を示した。ついで骨および副腎に高く血漿中放射能濃度の2.7倍、7.1倍を示した。皮膚、甲状腺、肺、脾および前立腺には血漿とほぼ同程度の濃度が認められ、大腸、眼球、顎下腺、下垂体、小腸、脂肪、血液、胃、副睾丸、肝、脾および骨髄は血漿中放射能濃度の43~83%であった。大脳、小脳および延髄は最も低く血漿中放射能濃度の5%以下であった。投与後24時間では血漿中放射能濃度は0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に減少したが、腎皮質および腎髄質中濃度はそれぞれ131, 29.6 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。投与後120時間では腎髄質、腎皮質および副腎にそれぞれ最高濃度の70, 77, 78%, 肝、脂肪、脾および脾に16~45%が認められた。その他の組織はいずれも最高濃度の10%以下に減少した。

組織内分布率は投与後30分では皮膚14.4%, 腎12.1%, 筋肉8.45%, 血液5.79%, 肝0.94%, 脂肪0.58%, 肺、睾丸、胃、心に0.1~0.3%であり、他の組織はいずれも0.1%以下であった。投与後2時間では

腎20.4%, 皮膚2.26%, 筋肉1.52%, 血液、肝、脂肪に0.29~0.44%であり、他の組織はいずれも0.1%以下であった。投与後24時間では腎26.2%, 皮膚1.20%, 筋肉0.79%, 肝0.44%, 脂肪0.15%であり、他の組織はいずれも0.1%以下であった。投与後120時間では腎に24.8%と最も多く、ついで皮膚0.72%, 筋肉0.53%, 肝0.16%, 脂肪0.13%であり、他の組織はいずれも0.1%以下であった。

4. 代謝物の検索

筋肉内投与後(2 mg/kg) 0~24時間までの尿をTLCで分析した所、尿中排泄されたもののうち90%以上が未変化体として存在することが確認された。また同時に行なったバイオオートグラフィーでは未変化のHBKの位置のみ抗菌活性が認められた。

筋肉内投与後(3.4 mg/kg) 0~6時間の尿をラジオHPLCで分析した結果をFig. 6に示した。HBKの保持時間の所にもみ放射活性を認めた(溶出した放射能量のうちの92%)。なお同図中、保持時間3.6分近辺の小ピークは投与液にも認められ、体内での代謝物ではないと考えられる。

III. 考 察

HBK の生体内運命を調べるため、HBK の 3', 4' 位を ^3H で標識した標識化合物を用いた。本実験に際して調整直後の投与液あるいは筋肉内投与後 48 時間までの尿について $^3\text{H}_2\text{O}$ を測定した結果、それぞれ 0.36%、0.1% であった。したがって、 ^3H は生体内で基本骨格から脱離することなく、今回のデータは薬物基本骨格の動態についての情報を与えるものと考えられた。

^3H -HBK をラットに筋肉内投与した時の血液中放射能濃度は投与後 30 分に最高濃度を示し、以後 12 時間まで半減期 0.57 時間および 4.07 時間で速やかに消失した。また主排泄経路である尿中への排泄も速やかであり、投与後 6 時間までにほぼ終了した。一方、投与後 48 時間までに排泄された尿中放射性物質に対する抗菌活性物質の比 (BA/RA) は 0.98 であった。また TLC および HPLC の分析結果より、尿中排泄物の 90% 以上が未変化の HBK であった。以上の結果より、HBK は他のアミノ配糖体抗生物質同様²⁻⁵⁾、投与部位より速やかに血流に入り、その後大部分が未変化の HBK として 6 時間までに尿中に排泄されることが明らかとなった。

体内分布は腎への局在分布が顕著であり、特に腎皮質は投与後 120 時間まで高濃度が持続した。このことは量的な差異はあるもののアミノ配糖体抗生物質に共通の現象である⁶⁻⁸⁾。HBK の母体化合物である DKB をラットに筋肉内投与した時の腎臓内残留物質は DKB そのものであった⁸⁾ ことから、HBK についても HBK そのものとして残留しているものと推察される。また、投与後 120 時間の腎には投与放射能の 25% が残留していたが、この残留率は 120 時間における投与放射能に対する屍体中残存率 (21%) とほぼ一致していた。したがって、屍体中残存放射能は投与部位への残留によるものではなく、腎への残留によるものと考えられた。

文 献

- 1) KONDO, S.; K. IINUMA, H. YAMAMOTO, K. MAEDA & H. UMEZAWA: Syntheses of 1-N-[(S)-4-amino-2-hydroxybutyryl]-kanamycin B and -3',4'-dideoxykanamycin B active against kanamycin-resistant bacteria. *J. Antibiotics* 26: 412~415, 1973
- 2) 井上顕信, 奥村修造, 出口隆志, 丸茂博夫: KW-1070 標識体の生体内動態。Chemotherapy 29 (S-2): 182~188, 1981
- 3) 中山一誠, 秋枝洋三, 田島華陽, 川村弘志, 川口広, 石山俊次: 外科領域における Netilmicin の抗菌力, 吸収, 排泄, 代謝, 臓器移行性および臨床応用。Chemotherapy 29 (S-3): 327~338, 1981
- 4) 山田秀雄, 市橋輝久, 木下春樹: Tobramycin の吸収, 排泄, 分布, 代謝 第 2 報 ^{14}C -標識 Tobramycin による検討。Chemotherapy 23: 900~907, 1975
- 5) 小宮 泉, 早坂洋司, 村田信二郎, 駒井知好, 梅村甲子郎: 3', 4'-Dideoxykanamycin B の吸収, 排泄, 分布および代謝 第 1 報 ラットにおける吸収, 排泄, 分布, 代謝について。Jap. J. Antibiotics 26: 49~54, 1973
- 6) LUFT, F. C. & S. A. KLEIT: Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside antibiotics in rats. *J. Infect. Dis.* 130: 656~659, 1974
- 7) FABRE, J.; M. RUDHARDT, P. BLANCHARD & C. REGAMEY: Persistence of sisomicin and gentamicin in renal cortex and medulla compared with other organs and serum of rats. *Kidney Int.* 10: 444~449, 1976
- 8) KOMIYA, I.; K. UMEMURA, M. FUJITA, A. KAMIYA, K. OKUMURA & R. HORI: Mechanism of renal distribution of aminoglycoside antibiotics. *J. Pharm. Dyn.* 3: 299~308, 1980
- 9) 小宮 泉, 三富奈由, 西尾元宏: HBK の体液内濃度測定法: II. 高速液体クロマトグラフ法。Chemotherapy

ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM AND
EXCRETION OF ^3H -HBK IN RATS I.
ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM, AND
EXCRETION AFTER SINGLE INTRAMUSCULAR
ADMINISTRATION IN MALE RATS

IZUMI KOMIYA, NAYU MITOMI, TAKASHI MATSUMOTO and MOTOHIRO NISHIO
Pharmacology & Toxicology laboratories, meiji Seika kaisha, Ltd.

TOSHIO NANBO, TOSHIHARU OHTSUKI, SHINYA HANAWA
TAKASHI YOKOTA and TETSUYOSHI YOKOSHIMA
Tokai Laboratories, Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd.

The absorption, distribution, metabolism and excretion of ^3H -HBK were studied in male rats after intramuscular administration of ^3H -HBK.

1. ^3H -HBK was rapidly absorbed from the muscle injected, and the maximal blood concentration was 1.97 μg equivalent of HBK/ml 0.5 hr after intramuscular administration of ^3H -HBK at the dose of 2 mg potency/kg.

2. The biological half-lives obtained from the blood concentration-time curve were 0.57 hr for the data in the first 3 hr, 4.07 hr for the data from 4 to 12 hr, and 104 hr for the data from 24 to 48 hr after the intramuscular administration of ^3H -HBK.

3. The cumulative urinary and fecal excretions of the radioactivity were 78.5% and 0.4% of the dose, respectively, within 120 hr after the intramuscular administration of ^3H -HBK. The cumulative urinary excretion determined by the microbiological assay was 72.1% of the dose within 48 hr after the intramuscular administration of ^3H -HBK, which was coincided with the cumulative urinary excretion of radioactivity.

4. ^3H -HBK was highly distributed in the kidneys.

5. The great majority of the radioactivity excreted into urine until 24 hr after intramuscular administration of ^3H -HBK was HBK itself and no metabolite was found in the urine.