

NY-198の体内動態 I

—Bioassay 法による各種動物における吸収, 分布および排泄—

桶崎 英一・大道 光一・小池 祥二・高橋 慶衛・牧野 栄一

北陸製薬株式会社 中央研究所

寺崎 哲也・辻 彰

金沢大学 薬学部 製剤学教室

新規ピリドンカルボン酸系抗菌剤 NY-198の吸収, 体内分布および排泄について bioassay 法を用いてマウス, ラットおよびイヌで検討し, 以下の成績を得た。

1. マウス, ラットおよびイヌに NY-198を 20mg/kg経口投与した時の平均最高血清中濃度は各々 5.30, 9.73および 9.64 μ g/mlでマウスが最も低い値を示し, ラットとイヌは同程度であった。ラット (20mg/kg) およびイヌ (5 mg/kg) における静脈内投与 (i.v.) と経口投与 (p.o.) の AUC 比 (p.o./i.v.) は 0.85および 0.92でいずれも優れた吸収性を示した。

2. ラットに 10, 20および 40mg/kg経口投与した時の平均最高血清中濃度は各々 5.90, 9.73および 22.46 μ g/ml, AUC (0~6h) は 11.4, 22.6および 55.1 μ g \cdot h/mlで用量依存的に増加した。

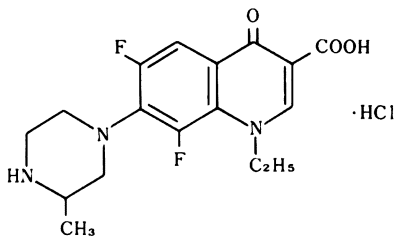
3. 尿中排泄率は, ラットでは 24時間で 69.9%, イヌでは 72時間で 53.8%と高い尿中排泄率を示した。

4. 肝, 腎, 肺, 前立腺および筋肉への移行は肺で血清よりやや低かったが, その他はいずれも高い値を示し, 組織への移行性は良好であった。

5. ラット, イヌおよびサルに 20mg/kg経口投与した時の尿中の抗菌活性物質を TLC を用いたバイオオートグラフィーで検討したところ, 尿中抗菌活性物質として NY-198未変化体が検出されたのみであった。

以上の結果から, NY-198は経口投与において吸収および組織移行が良好であり, また, 代謝的にも安定な薬剤であると考えられた。

NY-198は Fig. 1 に示す化学構造を有する新規ピリドンカルボン酸系抗菌剤で, グラム陽性菌および陰性菌に



(\pm)-1-ethyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid hydrochloride

Fig. 1. Chemical structure of NY-198

対して norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX) と同様に広範囲の抗菌スペクトルと強い抗菌力を有し, 特に *in vivo* においては NFLX, OFLX より優れた抗菌力を示すことを既に我々は報告¹⁾している。

今回, NY-198のマウス, ラットおよびイヌにおける吸収, 分布および排泄について bioassay 法を用いて検討したので報告する。

I 試験材料および方法

1. 使用薬剤

NY-198 (906 μ g 力価/mg) は北陸製薬中央研究所で合成されたものを用い, 蒸留水および生理食塩水に溶解, 又は 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て 1 回投与した。

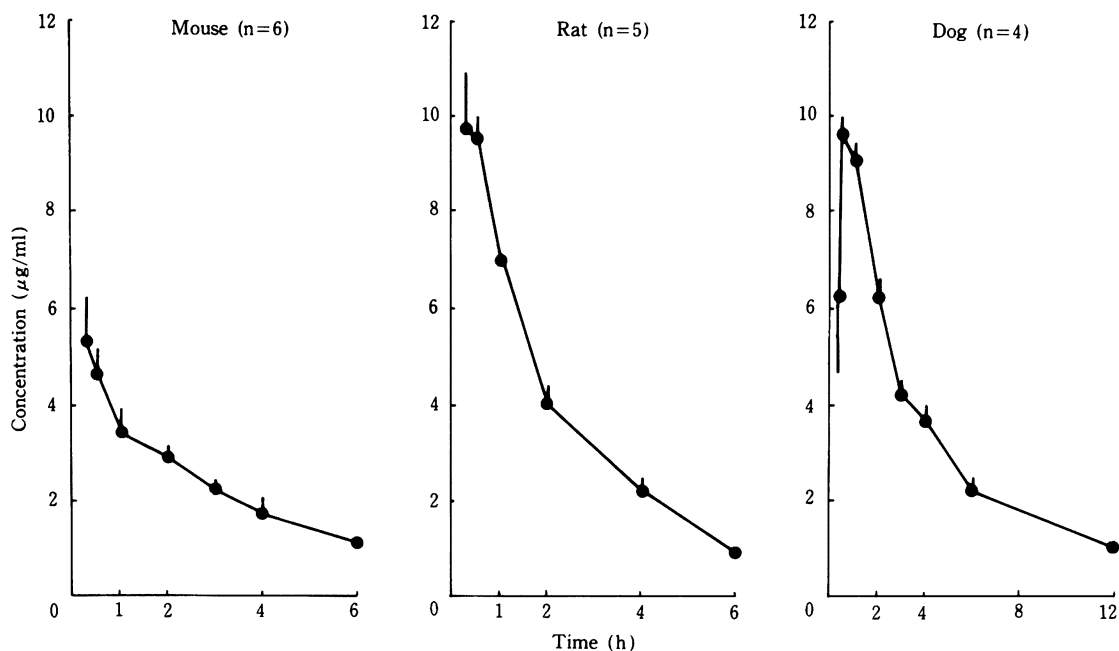


Fig. 2. Serum concentrations of NY-198 after oral administration to mice, rats and dogs at a dose of 20 mg/kg (mean \pm S. E.).

2. 使用動物および飼育条件

体重20~25g (5週令)のICR系雄性マウス, 体重200~230g (8週令)のSD系雄性ラット(日本クレア株)を18~20h絶食後使用した。尚、実験環境下(室温23~25°C, 湿度45~65%)で約1週間予備飼育し, 体重増加の順調な個体を選び実験に供した。食餌は薬剤投与後4hより再開した。予備飼育期間および非絶食期間中は固形飼料(MF:オリエンタル酵母工業株)を自由に摂取させた。

体重9~15kg(生後2~5年)の雌性ビーグル犬(三協ラボ株)を24h絶食後使用した。尚、実験環境下(室温22~27°C, 湿度35~75%)で約2週間予備飼育し, 健康状態の良好なものを選び実験に供した。食餌は薬剤投与後4hに摂取させた。予備飼育期間および非絶食期間中は固形飼料(CD-50:日本クレア株)約250gを1日1回摂取させた。

尚、水はマウス, ラット, イヌ共にすべての期間において自由に摂取させた。

3. 試料採取

マウス, ラットおよびイヌにNY-198を投与後所定の時間にマウスは眼静脈, ラットは腹部大動脈, イヌは前肢静脈より採血し, 遠心分離後血清を得た。ラットの肝, 腎, 肺, 前立腺および大腿部骨格筋は採血後摘出し, 秤量した後1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)を3~4倍量加えてホモジナイズし, 遠心分離後その上澄を測定用試料

とした。

ラットおよびイヌの尿は投与後, 一匹ずつ代謝ケージに入れ自然排せ尿を採取した。また, サルの尿は実験動物中央研究所においてNY-198 20mg/kgを1回経口投与した時の尿を使用した。

各々の試料は測定時まで-20°C以下で凍結保存した。

4. 体内濃度測定法

NY-198の濃度測定法はbioassay法²⁾を用いた。即ち, マウス血清の場合は*Escherichia coli* Kpを用いるペーパーディスク法, ラット, イヌの血清および組織抽出液の場合には*E. coli* NIHJ JC-2を用いる薄層カップ法, 尿の場合にはカップ法を用いた。

検量線は血清の場合には同種動物血清, 組織抽出液および尿の場合には1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)を希釈液として用い作成した。

AUCは台形法, $T_{1/2}$ は最少二乗法により算出した。

5. 尿中抗菌活性物質の検索

TLCバイオオートグラフィーにより尿中抗菌活性物質の検索を行なった。即ち, 各種動物尿とNY-198の標準品をDC-Alufolien Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck社製)のTLC-plate上にスポットし, ジオキサン:28%アンモニア水(3:2)の混合溶媒系で展開した。乾燥して溶媒除去後, *E. coli* NIHJ JC-2を接種したMueller-Hinton寒天(0.1% 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride含有)上にはりつけ, 室温に1時間放置した後静か

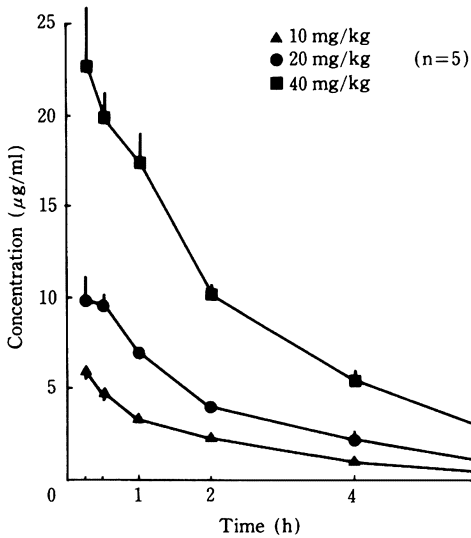


Fig. 3. Serum concentrations of NY-198 after oral administration to rats at different doses (mean \pm S. E.).

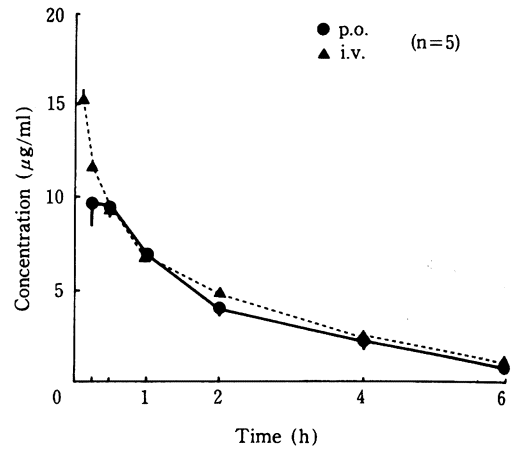


Fig. 4. Serum concentrations of NY-198 after oral and intravenous administration to rats at a dose of 20 mg/kg (mean \pm S. E.).

にはがし、37°C、一夜培養し、抗菌活性 spot の有無を観察した。

II 実験結果

1. 血清中濃度

NY-198をマウス、ラットおよびイヌに20mg/kg経口投与した時の血清中濃度推移をFig. 2に示した。平均最高血清中濃度はマウスおよびラットでは投与後15分、イヌでは1時間後ピークに達し、各々5.30, 9.73, 9.64 $\mu\text{g/ml}$ でラットとイヌは同程度であった。

ラットに10, 20, 40mg/kg経口投与した時の血清中濃度推移をFig. 3に示した。平均最高血清中濃度はいずれも投与後15分で、各々5.90, 9.73, 22.46 $\mu\text{g/ml}$ を示し、用量依存的に増加した。また、AUC (0~6h)も用量の増加につれ各々11.4, 22.6, 55.1 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ と増加した。

ラットに20mg/kg、イヌに5 mg/kgを各々経口投与 (p. o.) および静脈内投与 (i. v.) した時の血清中濃度推移の比較をFig. 4およびFig. 5に示した。ラットの場合、経口投与時および静脈内投与時のAUC (0~6h)は22.6および26.6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ でAUC比 (p. o./i. v.)は0.85、イヌの場合、AUC (0~8h)は各々15.2および16.6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ でAUC比 (p. o./i. v.)は0.92といずれも経口投与した時の吸収率が良いことを示していた。

2. 尿中排泄

ラットおよびイヌにNY-198を20mg/kg経口投与した時の48時間および72時間までの尿中濃度と累積排泄率をTable 1およびTable 2に示した。ラットの0~6、

6~12および12~24時間尿のNY-198の尿中濃度は609.8, 97.5および5.5 $\mu\text{g/ml}$ を示し、24時間までの総排泄率は69.9%で大部分が12時間までに排泄された。

イヌにおいてはラットに比べやや排泄は遅れたが、0~12, 12~24, 24~48および48~72時間尿の尿中濃度は231.7, 246.8, 75.1および2.4 $\mu\text{g/ml}$ でラットと同様高い尿中濃度を示し、総排泄率は72時間までに53.8%で大部分が48時間までに排泄された。

3. 組織内濃度

ラットにNY-198を20mg/kg経口投与した時の肝、腎、肺、前立腺および骨格筋への移行をFig. 6およびTable 3に示した。

組織内濃度のピークは血清と同様に投与後15~30分に達した。

組織内濃度は腎、肝、前立腺、骨格筋、肺の順に高く、肺でやや低かった以外は全て血清中濃度より高い値を示した。AUC (0~6h)も濃度と同様に、腎、肝、前立腺、骨格筋、血清、肺の順で高い値を示した。

4. 尿中抗菌活性物質

NY-198を投与したラット、イヌおよびサル尿のバイオオートグラムをFig. 7、使用した尿のbioassay法によるNY-198濃度をTable 4に示した。

NY-198を経口投与したラット、イヌおよびサルから得た各時間帯における尿からは、NY-198と同一のRf値を示す位置にのみ阻止帯がみられた。このことよりNY-198をラット、イヌおよびサルに経口投与した時に尿中に排泄される抗菌活性物質は大部分NY-198未変

Table 1. Urinary concentrations of NY-198 after oral administration at a dose of 20 mg/kg

Animal species	No. of animals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$), mean \pm S. E.				
		0 ~ 6 h	6 ~ 12 h	12 ~ 24 h	24 ~ 48 h	48 ~ 72 h
Rat	5	609.8 \pm 64.3	97.5 \pm 17.5	5.5 \pm 0.7	ND	ND
Dog	4	231.7 \pm 39.1		246.8 \pm 61.2	75.1 \pm 23.5	2.4 \pm 0.6

ND : not detected ($0.39 \mu\text{g/ml}$)

Table 2. Urinary excretion of NY-198 after oral administration at a dose of 20 mg/kg

Animal species	No. of animals	Cumulative recovery rate(%), mean \pm S. E.				
		0 ~ 6 h	0 ~ 12 h	0 ~ 24 h	0 ~ 48 h	0 ~ 72 h
Rat	5	59.5 \pm 2.7	68.9 \pm 3.9	69.9 \pm 3.9	69.9 \pm 3.9	69.9 \pm 3.9
Dog	4	NT	25.8 \pm 4.0	42.7 \pm 3.3	53.3 \pm 2.7	53.8 \pm 2.6

NT : not tested

Table 3. Tissue concentrations of NY-198 after oral administration to rats at a dose of 20 mg/kg

Tissue	Concentration ($\mu\text{g/ml}$ or $\mu\text{g/g}$), mean \pm S. E., n=5						AUC (0~6h) ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)
	0.25	0.5	1	2	4	6 h	
Serum	9.73 \pm 1.18	9.50 \pm 0.51	7.01 \pm 0.11	4.00 \pm 0.38	2.23 \pm 0.31	0.88 \pm 0.15	22.6
Kidney	24.15 \pm 3.06	25.28 \pm 2.22	24.10 \pm 1.72	11.23 \pm 1.34	9.93 \pm 0.88	5.65 \pm 0.99	76.0
Liver	18.96 \pm 1.95	16.52 \pm 1.60	15.06 \pm 1.07	8.44 \pm 0.96	3.89 \pm 0.39	1.91 \pm 0.40	44.6
Lung	6.79 \pm 1.00	6.76 \pm 0.58	4.59 \pm 0.13	2.60 \pm 0.40	1.06 \pm 0.16	0.46 \pm 0.03	14.2
Skeletal muscle	6.95 \pm 1.20	12.33 \pm 1.46	6.36 \pm 0.69	6.92 \pm 0.92	2.76 \pm 0.39	2.01 \pm 0.40	29.0
Prostate	6.82 \pm 0.52	14.59 \pm 1.09	8.05 \pm 0.95	5.90 \pm 1.11	3.27 \pm 0.56	1.88 \pm 0.80	30.5

AUC : area under the curve calculated by trapezoidal rule

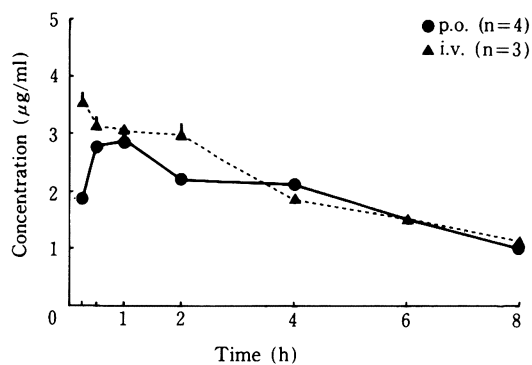


Fig. 5. Serum concentrations of NY-198 after oral and intravenous administration to dogs at a dose of 5 mg/kg (mean \pm S. E.).

化体であることが確認された。

III 考 察

優れた抗菌剤としての条件には *in vitro* での強い抗菌力とともに *in vivo* での効果も重要である。NFLX は *in vitro* で広範囲な抗菌スペクトルと強い抗菌力を示すが、経口吸収が劣る点が指摘されている。我々は NY-198 が *in vitro* では NFLX と同程度の抗菌力であっても、*in vivo* では NFLX より優れた効果を示すことを報告¹⁾した。この理由として NY-198 の経口投与での消化管吸収、組織移行性および尿中排泄が良好なことが考えられたので、今回、NY-198 をマウス、ラットおよびイヌに経口投与および静脈内投与した時の体内動態を bioassay 法を用いて検討した。

NY-198 をマウス、ラットおよびイヌに経口投与する

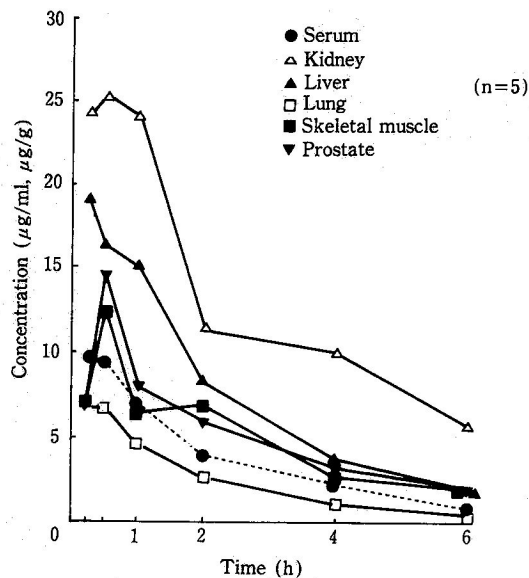


Fig. 6. Tissue concentrations of NY-198 after oral administration to rats at a dose of 20 mg/kg (mean).

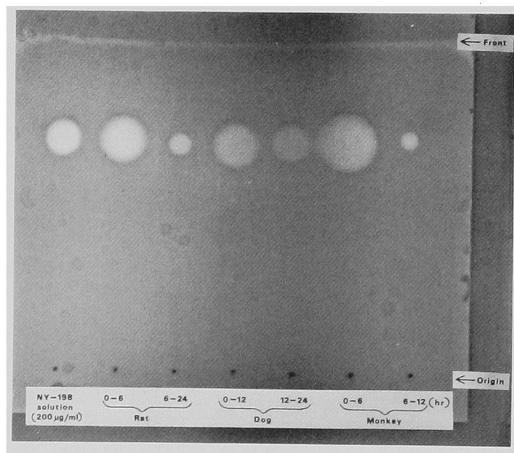


Fig. 7. TLC-bioautograms of urine collected after oral administration of NY-198 to rats, dogs and monkeys at a dose of 20 mg/kg.

Absorbent: DC-Alufolien Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck)

Sample amount: 1 µl

Test organism: *E. coli* NIHJ JC-2

Solvent: dioxane-28% ammonia water (3:2)

Table 4. Concentration of NY-198 in urine used for TLC-bioautography

Animal species	Time (h)	Concentration* (µg/ml)
Rat	0 ~ 6	505.4
	6 ~ 24	116.1
Dog	0 ~ 12	338.4
	12 ~ 24	259.5
Monkey	0 ~ 6	986.0
	6 ~ 12	73.7

*: determined by the bioassay

と血清中濃度はマウス、ラットでは投与後15分、イヌでは1時間にピークに達し、最高血清中濃度はラットとイヌが同程度でマウスが最も低い濃度を示し、約1/2であった。AUCはイヌが最も高く、続いてラット、マウスの順であった。

また、静脈内投与との比較ではAUC比(p.o./i.v.)はラットで0.85、イヌで0.94と経口吸収が非常に優れていることが示唆された。

組織への移行性についても、ラットでは血清と同様に経口投与後15~30分でピークに達した。各組織の最高濃度およびAUC(0~6h)は血清のそれと比較して、肺で0.70倍および0.63倍とやや低かった他は各々1.26~2.60倍および1.29~3.36倍高く、組織移行性に優れた結果を示した。中でも腎が最も高い値を示し、尿中排泄においても、ラットで69.9%、イヌで53.8%とNFLX、OFLXに比べ高い値を示した³⁾。

また、尿のバイオオートグラムより、ラット、イヌおよびサルいずれにおいても尿中には未変化体のNY-198以外に抗菌活性を有する代謝物がなく、生体内中で抗菌活性を示している物質は大部分が未変化体であることが明らかとなった。

なお、既に我々はヒトにおいても同様のことを報告⁴⁾している。

以上の結果より、NY-198が*in vitro*抗菌力においてはNFLXおよびOFLXと同程度でも、種々の実験的感染モデルに対して経口投与で優れた効果を示す理由として、経口吸収が良好なこと、組織移行性に優れていること、代謝されにくいことが示唆され、経口剤として優れた治療効果が期待できる化合物であると考えられた。

本試験は昭和59年8月から昭和62年1月の期間に実施した。

文 献

- 1) 桶崎英一, 大道光一, 小池祥二, 高橋慶衛, 牧野栄一 : NY-198の細菌学的評価—*in vitro* および *in vivo* 抗菌作用—. *Chemotherapy* 36 (S-2) : 99~111, 1988
- 2) 桶崎英一, 大道光一, 小坂ひとみ, 牧野栄一 : NY-198の微生物学的定量法の検討 (その1, その2) : 北陸製薬社内資料
- 3) 桶崎英一, 大道光一, 小池祥二, 高橋慶衛, 牧野栄一, 寺崎哲也, 辻 彰 : NY-198と Norfloxacin および Ofloxacin の Bioassay 法による体内動態比較. *Chemotherapy* 36 (S-2) : 188~194, 1988
- 4) 中島光好, 植松俊彦, 滝口祥令, 水野淳宏, 金丸光隆, 久保信治, 高原義男, 桶崎英一, 永田 治 : NY-198の第I相臨床試験. *Chemotherapy* 36 : (S-2) 201~239, 1988

DISPOSITION AND METABOLISM OF NY-198
I. BIOASSAY STUDY OF ABSORPTION, DISTRIBUTION
AND EXCRETION IN VARIOUS ANIMALS

EIICHI OKEZAKI, KOHICHI OHMICH, SHOJI KOIKE, YOSHIE TAKAHASHI and EIICHI MAKINO

Central Research Laboratory, Hokuriku Seiyaku Co., Ltd., Fukui

TETSUYA TERASAKI, AKIRA TSUJI

Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, Kanazawa

Absorption, distribution and excretion of NY-198, a new pyridonecarboxylic acid derivative, were examined by bioassay in mice, rats and dogs after a single oral and intravenous administration.

1. The peak serum concentration (C_{max}) of NY-198 after oral administration to mice, rats and dogs at a dose of 20 mg/kg were 5.30, 9.73 and 9.64 μg/ml, namely, C_{max} in mice was lower than in rats and dogs.

Ratios of area under the curve (AUC) of oral to intravenous administration (p.o./i.v.) to rats (20 mg/kg) and dogs (5 mg/kg) were 0.85 and 0.92. NY-198 showed excellent oral absorbability in rats and dogs.

2. C_{max} of NY-198 after oral administration to rats at a dose of 10, 20 and 40 mg/kg was 5.90, 9.73 and 22.46 μg/ml. Their AUC's were 11.4, 22.6 and 55.1 μg/ml, respectively. C_{max} and AUC increased dose-dependently.

3. The urinary excretion rate of NY-198 after oral administration of 20 mg/kg was 69.9% within 24 h in rats and 53.8% within 72 h in dogs. Urinary recovery of NY-198 was excellent.

4. After oral administration to rats, NY-198 was distributed in kidney, liver, prostate and skeletal muscle at higher than serum levels, but in lung it was slightly lower.

5. Antibacterial metabolites in urine of rat, dog and monkey after oral administration were examined by TLC-bioautography and no active metabolites were detected.

These results indicate that NY-198 is excellently absorbed after oral administration, distributed in most tissues of the body at high concentrations and that it is not metabolized, but excreted unchanged mainly into urine.