

## TE-031の体内動態(第4報) ラットおよびイヌにおける<sup>14</sup>C-TE-031の代謝

諏訪俊男・吉田英生・吉富幸代・亀井慶子  
大正製薬株式会社総合研究所

TE-031を経口投与後のイヌの尿中代謝物を分析した結果、未変化TE-031の他に5つの代謝物、N-demethyl TE-031(M-1)、N,N-didemethyl TE-031(M-2)、TE-031 N-oxide(M-3)、decladinosyl TE-031(M-4)、(14R)-14-hydroxy TE-031(M-5)が見出された。

イヌにおける血漿中TE-031の濃度推移はラットに比べ著明に高く、systemic availabilityはラットが20.8%、イヌが79.1%であった。

血漿および主要組織中はいずれも未変化体が最も多く、次いでM-1であった。未変化体の占める割合は肺が約70%で最も高く、血漿、肝では低かった。尿中はラット、イヌともに未変化体およびM-1がほぼ同量認められ、その他の代謝物は少量であった。一方、胆汁および糞中はM-1が主代謝物であった。

TE-031は新規の14員環マクロライド系抗生物質であり、エリスロマイシン(EM)のラクトン環6位のhydroxyl基をmethoxy基に変換した化学構造を有し、酸に対して極めて安定であることが明らかにされている<sup>1)</sup>。

TE-031の体内動態に関するこれまでの研究から<sup>2-4)</sup>、本薬物は経口投与したのち消化管から速やかに吸収され、肺をはじめとする多くの組織に活性体として良好に移行することが示された。このような体内動態における特徴は、TE-031の*in vitro*抗菌力がEMとほぼ同等であるにもかかわらず、呼吸器感染症やその他の感染症モデルに対し、EMに比べ顕著な防御効果を示す<sup>5)</sup>ことを裏付けるものと考えられた。

今回著者らは、ラットおよびイヌにおける血漿、組織および排泄物中の代謝物について検討を行ったので報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 生体試料

[6-O-methyl-<sup>14</sup>C]TE-031 5 mg/kgを投与したラットの血漿、組織、尿、糞、胆汁およびイヌに投与後の血漿、尿、糞は前報<sup>6)</sup>の実験において採取したものを試料として分析に供した。また、代謝物の化学構造を検討するため、イヌ(雄ビーグル犬、体重10~12 kg, Laboratory Research Enterprises Inc.)に非標識TE-031 500 mgを含有するカプセルを1日2回5日間経口投与し、投与後24時間毎の尿を採取した。各試料は分析に供するまで-20℃で凍結保存した。

#### 2. 標品化合物

代謝物の同定の際に用いた標準品は大正製薬(株)総合研

究所において調製されたものを使用した。すなわち、N-demethyl TE-031は渡辺ら<sup>6)</sup>の方法に従ってエリスロマイシンAから合成した。N,N-didemethyl TE-031はFREIBERGの方法<sup>7)</sup>に準拠し、N-demethyl TE-031に1:1ならびにsodium methoxideを作用させて得た。TE-031 N-oxideはTE-031のdimethyl amino基を常法に従いm-chloroperbenzoic acidを用い酸化して得た。decladinosyl TE-031はTE-031を塩酸で加水分解することにより調製した<sup>8)</sup>。(14R)-14-hydroxy TE-031は第一相試験<sup>9)</sup>の際にヒト尿中より抽出、単離したものを<sup>10)</sup>を用いた。

#### 3. 代謝物の構造解析

##### 1) 代謝物の分離、精製

イヌにTE-031を大量投与し、採取した尿にトレーサーとして<sup>14</sup>C-TE-031を投与したイヌの尿を添加し、Chart 1に示す方法により代謝物を分離、精製した。すなわち、尿をAmberlite XAD-2(Rohm and Haas Corp.)カラム(24 mm φ×360 mm)で処理したのちメタノール溶出液を減圧乾固し、残渣を蒸留水で溶解後10% NaHCO<sub>3</sub>でpH 9に調整し、酢酸エチルにて抽出をくり返した。得られた抽出液を減圧乾固し、少量のCH<sub>3</sub>CN:MeOH:0.4M acetate buffer, pH 6.5(50:10:40)に溶解して分取カラムクロマトグラフィーを行った結果、2つの放射性ピークが得られた。各々の画分について酢酸エチル抽出、濃縮後、高分解能薄層クロマトグラフィー(HPTLC, NH<sub>2</sub>F<sub>254</sub>S 0.2 mm厚, Merck社)を行った結果、一方の画分は単一成分(M-0)が、他方は5つの放射活性を有するバンド(M-1~M-5)が確認された。放射活性を有する領域のシリカゲルをかき取りメタノールにて抽出し、M-0、M-1およびM-3を単離したが、他の代謝物は

量的に少なく、機器分析に供する量を得るには至らなかった。

## 2) 代謝物の同定

分離した各代謝物について薄層クロマトグラフィー (TLC) を行い、標準品との照合を行った。使用したプレートおよび展開溶媒は次の通りである。

TLC (Silica Gel 60F<sub>254</sub>, 0.25 mm 厚, 20×20 cm, Merck 社)

Solvent : I CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (9:1:0.1)

: II THF/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (16:4:0.02)

HPTLC (Silica Gel NH<sub>2</sub> F<sub>254s</sub> 0.2 mm 厚, 10×10 mm, Merck 社)

Solvent : III CHCl<sub>3</sub>/MeOH (97:3)

代謝物の検出は、展開後のプレートを工業用 X 線フィルム (No. 150, 富士写真フィルム) に密着露出させ、オートラジオグラムを作製し、代謝物の標準品は EtOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/p-anisaldehyde (9:1:1) を噴霧し、加熱、発色させることにより確認した。

単離、精製した M-0, M-1, M-3 について下記の条件で質量分析および核磁気共鳴スペクトルを測定した。

質量分析: 日立 M-80A マススペクトロメーター

Ionization : SIMS

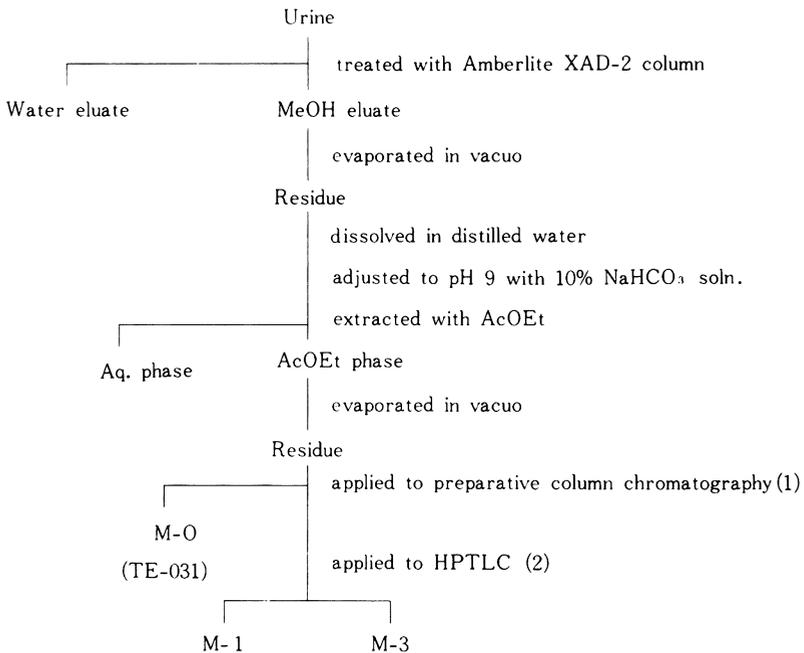
Matrix Gas : Xe

Accelerating voltage: 8KV (primary)

3KV (secondary)

Filament current : 3.7A

Chart 1 Procedure for isolation of metabolites



### (1) Preparative column chromatography

Column : 24mm  $\phi$  × 360mm

ODS-q3 35-50 $\mu$ m

Solvent : CH<sub>3</sub>CN/MeOH/0.4M Acetate buffer, pH 6.5 (50:10:40)

Pump : Model RP-SY Fluid Metering, Inc.

Flow rate: 10ml/min

### (2) HPTLC (NH<sub>2</sub>F<sub>254s</sub> Merck)

Solvent : CHCl<sub>3</sub>/MeOH (97:3)

核磁気共鳴：日立電子 JNM-GX 400 FT NMR スペクトロメーター

Internal Standard : Tetramethyl silane

Solvent : CDCl<sub>3</sub>

Temperature : 20°C

#### 4. 代謝物の定量

血漿、組織ホモジネートおよび糞ホモジネートは10% NaHCO<sub>3</sub>で pH 9.0としたのち酢酸エチルで3~5回抽出を行い、抽出液を減圧乾固後、再度少量の酢酸エチルに溶解し、HPTLCにより代謝物を分離した。尿および胆汁は直接プレートにスポットした。展開後、放射性スポットと同時に展開した標準品との照合を行ったのち、放射性領域のシリカゲルをかき取り放射能を測定することにより定量を行った。

#### 5. 放射能の測定

生体試料中の放射能はすべて前報<sup>2)</sup>に準じて行った。HPTLCのプレートからかき取ったシリカゲルは Carbo-Sil (Packard 社)を含むシンチレーター (Insta-Fluor, Packard 社) 10 ml を加え攪拌後、液体シンチレーションカウンター (460 CD, Packard 社) で放射能を測定した。

## II. 実験結果

### 1. 代謝物の化学構造

イヌの尿から分離した代謝物について、TLC、質量分析スペクトル (SIMS) および核磁気共鳴スペクトル (<sup>1</sup>H-NMR) により化学構造を検討した。

M-0: TLC 分析の結果、M-0は標準品 TE-031 と同一の挙動を示した。SIMS により測定した MS スペクトルはプロトン化分子イオン (MH<sup>+</sup>) が m/z 748 に認められ、さらに cladinose 部分が解離した m/z 590, desosamine 部分に基づく m/z 174 および 158, cladinose 部分から MeOH が解離した m/z 127 に特徴的なフラグメントイオンが観察された。これらのイオンピークおよび相対強度は標準品 TE-031 のそれと良く一致し、また、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルも TE-031 と完全に一致した。以上の結果、M-0は未変化の TE-031 と同定された。

M-1: MS スペクトルは (MH<sup>+</sup>) m/z 734 および cladinose 部分の解離したフラグメントイオン m/z 576 が TE-031 の場合に比べ 14 a.m.u. 少ない。また、desosamine 部分に由来するフラグメントイオン m/z 160 および m/z 144 も同様に、TE-031 のそれと比較して 14 a.m.u. 減少しているが、cladinose 部分に由来するイオン m/z 127 に変化はみられなかった。この結果は desosamine 部分からの CH<sub>3</sub> 基の脱離を示唆している。

<sup>1</sup>H-NMR スペクトルを TE-031 のそれと比較すると N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> に由来するピーク (2.28 ppm, 6H singlet) が消失

し、新たに 2.42 ppm (3H, singlet) 付近にピークが認められた。これら MS, NMR スペクトルおよび TLC による R<sub>f</sub> 値は別途合成した標品化合物、N-demethyl TE-031 と完全に一致したことから、M-1 を TE-031 の N-脱メチル体と同定した。

M-3: MS スペクトルからプロトン化分子イオンピーク (MH<sup>+</sup>) は m/z 764 で TE-031 より 16 a.m.u. 多い。フラグメントイオンは TE-031 に特徴的な m/z 590, 174, 158, 127 に観察されたが、desosamine 部分に由来するピークにはさらに 16 a.m.u. 多いフラグメントイオンピークが検出されたことから、desosamine 部分に酸素の導入が示唆された。また、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルを TE-031 と比較検討すると N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> に基づく 2.28 ppm のピークが低磁場 (3.20 ppm) へシフトし、さらに 3' H のケミカルシフト値が 2.43 ppm から 3.34 ppm へ、5' H および 5' CH<sub>3</sub> のケミカルシフト値も低磁場へシフトした。これらのスペクトルは合成標品の TE-031 N-oxide と良く一致し、TLC 的にも同一の挙動を示すことから、M-3は TE-031 N-oxide と同定した (Table 1~3)。

その他の代謝物: M-2, 4, 5 は量的に微量なため、分析機器による構造解析を実施するには至らなかった。そこで TLC により推定標品との同時クロマトグラフィーを行い、オートラジオグラムを作製することにより代謝物の位置を確認し、標品との照合を行った結果、M-2は N,N-didemethyl TE-031, M-4は decladinosyl TE-031, M-5は (14R)-14-hydroxy TE-031 と推定された。

### 2. 代謝物の定量

#### 1) 血漿中代謝物

ラットおよびイヌに <sup>14</sup>C-TE-031 5 mg/kg を経口または静脈内投与後の血漿中放射能濃度および TLC により分離定量した TE-031 の濃度推移を Fig. 1 に示す。

ラットに経口投与後 1 時間の血漿中放射能濃度は 0.35 μg eq./ml を示し、その後は消失半減期 (T<sub>1/2</sub>) 3.9 時間で低下した。TE-031 の濃度は投与後 1 時間で 0.12 μg eq./ml を示し、総放射能の 34% であったが、その後 T<sub>1/2</sub> = 2.5 時間で減少し、8 時間以降は検出されなかった。静脈内投与の場合は放射能濃度、TE-031 濃度のいずれも投与後急激に低下し、1 時間以後の T<sub>1/2</sub> はそれぞれ 2.8 時間および 1.6 時間であり、8 時間以降 TE-031 は検出されなかった。

一方、イヌの場合、経口投与後の放射能濃度はラットに比べ著明に高く、投与後 1 時間で最高濃度 3.33 μg eq./ml に達し、その後の消失も緩慢であった。TE-031 の濃度も放射能濃度の 50~60% でほぼ平行して推移した。また、静脈内投与後の放射能および TE-031 濃度も 1 時間以降、経口投与の場合と近似した推移を示した。

Table 1 Chromatographic properties of metabolites in dog urine after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -TE-031

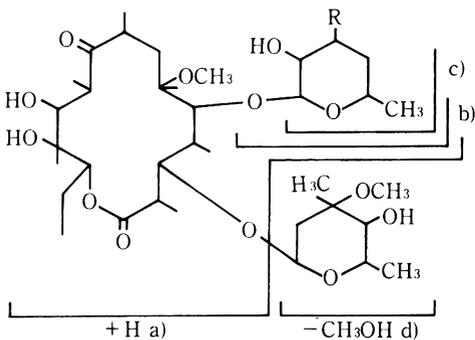
Metabolites	Solvent	Rf value		
		TLC		HPTLC
		I	II	III
$^{14}\text{C}$ -TE-031		0.36	0.39	0.89
M-0		0.36	0.39	0.89
M-1		0.19	0.23	0.40
M-2		0.19	0.23	0.33
M-3		0.08	0.09	0.28
M-4		0.26	0.35	0.65
M-5		0.30	0.35	0.49
Unknown-1		0.16	—	—
Unknown-2		0.06	—	0.18

Plate : TLC : Silicagel, 60 F<sub>254</sub>, 0.25mm thick, Merck  
 HPTLC : Silicagel, NH<sub>2</sub> F<sub>254s</sub>, 0.20mm thick, Merck  
 Solvent : I CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (9 : 1 : 0.1, v/v/v)  
 II : THF/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (16 : 4 : 0.02, v/v/v)  
 III CHCl<sub>3</sub>/MeOH (97 : 3, v/v)  
 Detection By autoradiogram

Table 2 Mass spectra of TE-031 and its metabolites in dog urine

Presumed fragmentation	m/z (Relative intensity)			
	TE-031	M-0	M-1	M-3
MH <sup>+</sup>	748( 3.6)	748( 4.4)	734( 2.4)	764( 10.6)
a)	{ 590( 0.7) —	{ 590( 0.7) —	{ 576( 0.3) —	{ 606( 4.8) 590( 0.9)
b)	{ 174( 8.1) —	{ 174( 8.6) —	{ 160( 4.6) —	{ 190( 9.4) 174( 22.6)
c)	{ 158(100.0) —	{ 158(100.0) —	{ 144(100.0) —	{ 158(100.0) 127( 60.5)
d)	127( 14.1)	127( 15.1)	127( 17.4)	127( 60.5)

a), b), c) and d) are shown in the following figure



Metabolite	R
M-0	—N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
M-1	—NHCH <sub>3</sub>
M-3	—N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ↓ O

Table 3 <sup>1</sup>H-NMR spectra of TE-031 and its metabolites in dog urine

		TE-031	M-0	M-1	M-3
Chemical shifts (ppm)	H2	2.89	2.89	2.87	2.90
	H3	n	n	n	3.76
	H4	1.91	1.91	1.94	1.92
	H5	3.66	3.66	3.67	3.69
	H8	2.58	2.58	2.58	2.58
	H10	3.00	3.01	3.00	3.00
	H11	3.76	3.76	3.76	3.74
	H13	5.05	5.05	5.06	5.04
	H1'	4.43	4.43	4.41	4.54
	H2'	3.18	3.18	3.12	n
	H3'	2.43	2.44	2.46	3.34
	H5'	3.49	3.49	3.55	3.60
	H1''	4.92	4.93	4.92	4.93
	H2''a	1.58	1.58	n	n
	H2''e	2.37	2.37	2.36	2.38
	H4''	2.99	2.99	2.98	3.00
	H5''	4.01	4.01	4.02	4.00
	6-O-CH <sub>3</sub>	3.03	3.04	3.04	3.04
	3'-O-CH <sub>3</sub>	3.33	3.33	3.32	3.37
	N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2.28	2.29	—	—
N-CH <sub>3</sub>	—	—	2.42	—	
N(O)-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	—	—	—	3.20	
2-CH <sub>3</sub>	1.20	1.20	1.19	1.20	
6-CH <sub>3</sub>	1.41	1.41	1.42	1.40	
14-CH <sub>3</sub>	0.85	0.84	0.85	0.84	
5'-CH <sub>3</sub>	1.23	1.23	1.22	1.28	
3''-CH <sub>3</sub>	1.25	1.25	1.26	1.26	
5''-CH <sub>3</sub>	1.30	1.30	1.30	1.30	
Coupling constants (Hz)	J2,3	9.0	8.7	9.0	9.7
	J3,4	~1	~1	~1	~1
	J4,5	7.5	7.3	7.0	7.0
	J13,14a	11.0	10.8	11.1	10.9
	J13,14e	2.3	2.0	2.0	2.0
	J14,15	7.4	7.2	7.5	7.5
	J1',2'	7.3	7.3	7.3	7.0
	J1'',2''a	4.5	4.8	4.8	4.5
	J1'',2''e	~1	~1	~1	~1
	J4'',5''	9.3	9.5	9.8	9.3

Resolution = 0.25Hz

n : Not determined due to complexity of spectrum

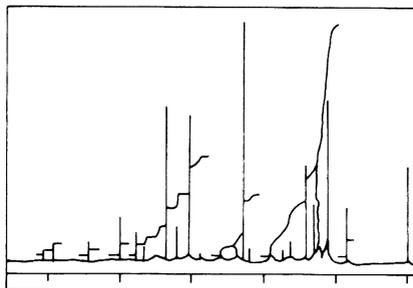
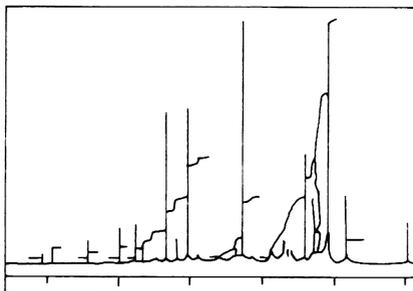
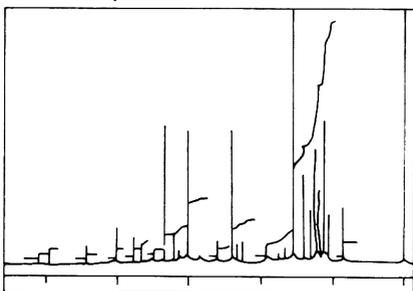
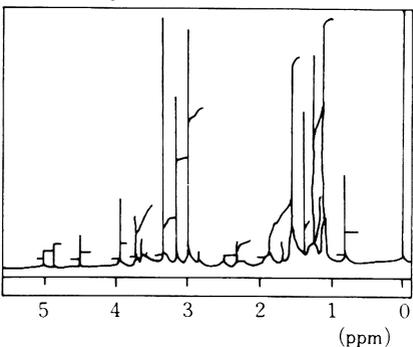
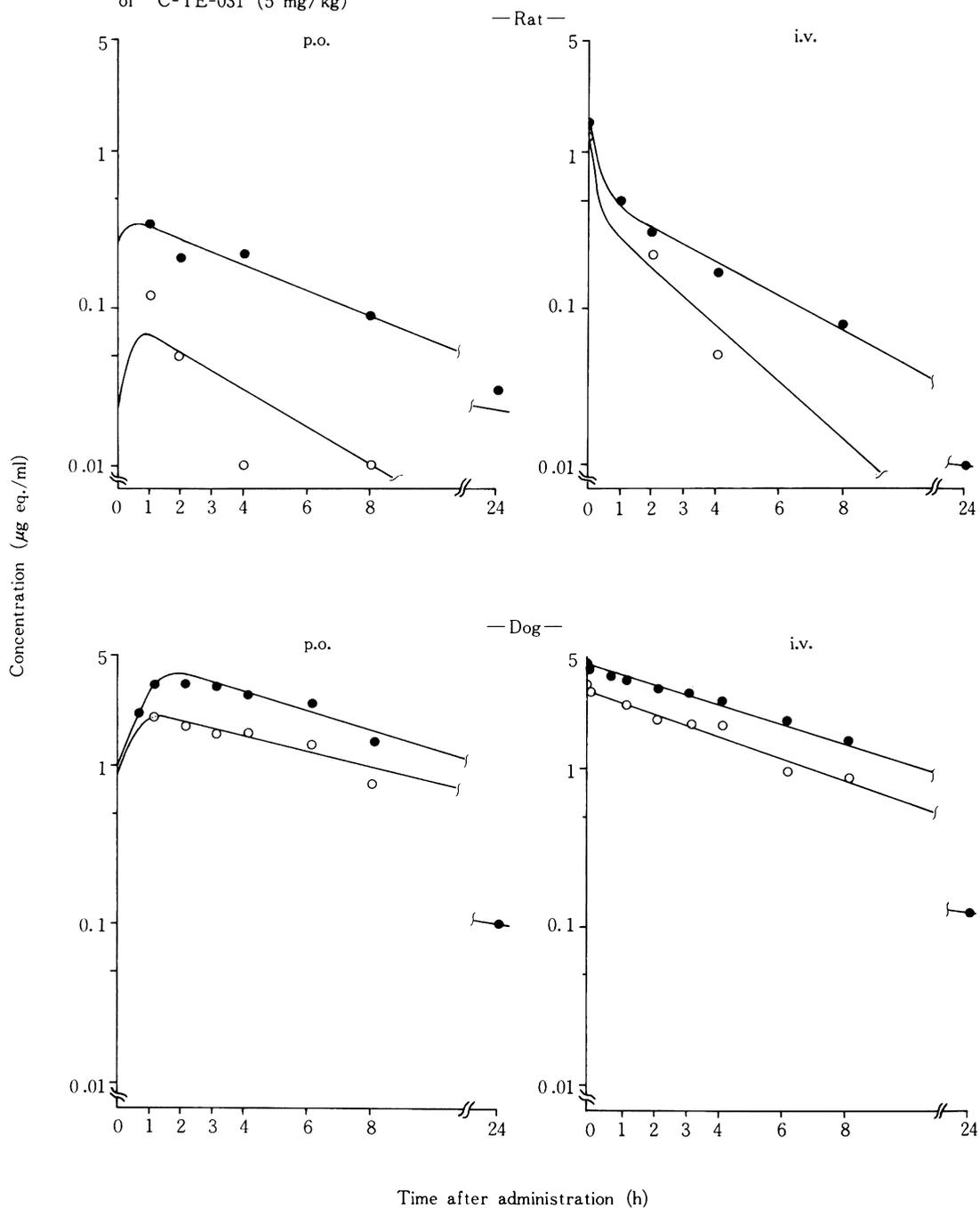
<sup>1</sup>H-NMR spectrum of TE-031<sup>1</sup>H-NMR spectrum of M-0<sup>1</sup>H-NMR spectrum of M-1<sup>1</sup>H-NMR spectrum of M-3

Fig. 1 Plasma levels of total radioactivity (●) and TE-031 (○) in rats and dogs after administration of  $^{14}\text{C}$ -TE-031 (5 mg/kg)



Each point represents the mean of five or three(dog) animals  
 Each line shows the compartment model-fitted curve

Table 4に示すように、放射能濃度およびTE-031濃度推移から台形則によりAUCを求めた結果、イヌはラットに比べいずれの場合も著明に高かった。また、静脈内投与後の放射能濃度のAUCに対する経口投与後のAUCの比はラットが62.5%、イヌは94.7%であり、TE-031のsystemic availabilityもラットの20.8%に対し、イヌは79.1%と明らかに高値であった。

## 2) 組織中代謝物の定量

$^{14}\text{C}$ -TE-031 5 mg/kg をラットおよびイヌに経口投与後1時間における血漿あるいは組織中の代謝物濃度をTable 5に示す。

ラット血漿では未変化のTE-031が $0.12 \mu\text{g eq./ml}$ で最も多く、次いでN-脱メチル体(M-1)、脱クラジノース体(M-4)の順であり、他にN,N-ジ脱メチル体(M-2)、N-オキシド体(M-3)、14-水酸化体(M-5)が少量検出された。

ラットの主要臓器においてはいずれも未変化体が最も多く、次いでM-1であり、その他に肺でM-3が、肝で

M-2が比較的多く認められた以外はいずれも $0.5 \mu\text{g eq./g}$ 以下であった。TE-031の濃度は肺>肝>脾>腎>心の順で肺は血漿の68倍、心においても約6倍の濃度であり、全体に占める未変化体の割合は肺が約70%で最も高く、肝が27%で最も低かった。また、肝および腎において酢酸エチルで抽出されない代謝物が比較的多く認められた。

一方、イヌの血漿においても未変化体のTE-031が $2.03 \mu\text{g eq./ml}$ で最も多く、次いでM-1が $0.81 \mu\text{g eq./ml}$ 認められたが、他の代謝物は極めて少量であった。

## 3) 尿、糞および胆汁中代謝物の定量

$^{14}\text{C}$ -TE-031 5 mg/kg を経口投与後24時間までに採取したラットの尿、糞、胆汁およびイヌの尿、糞についてTLCにより代謝物を分析した。Table 6に示すように、投与後24時間までの尿中にラットは投与放射能の23.5%、イヌは26.0%が回収され、主代謝物はいずれも未変化体で、ラットは全体の30.3%、イヌは37.6%を占めた。次いでM-1が未変化体より若干低い割合で存在し、他に

Table 4 Pharmacokinetic parameters of total radioactivity and TE-031 in plasma after administration of  $^{14}\text{C}$ -TE-031 (5mg/kg) to rats and dogs

		Oral		Intravenous	
		T <sub>1/2</sub> <sup>a)</sup> (hr)	AUC <sub>0-24h</sub> <sup>b)</sup> ( $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ )	T <sub>1/2</sub> (hr)	AUC <sub>0-24h</sub> ( $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ )
Rat	Radioactivity	3.9	1.5	2.8	2.4
	TE-031	2.5	0.25	1.6	1.2
Dog	Radioactivity	5.0	28.5	4.8	30.1
	TE-031	5.9	17.8	4.6	22.5

a) : Elimination half-life was calculated by the nonlinear least-square program NONLIN

b) : Area under the concentration versus-time curve was calculated by the trapezoidal rule

Table 5 Composition of metabolites in plasma and tissues after oral administration of  $^{14}\text{C}$ -TE-031 (5mg/kg) in rats and dogs

		Concentration ( $\mu\text{g eq./g}$ or ml)							Unextractable
		TE-031	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	Others	
Rat	Plasma	0.12	0.06	0.01	0.01	0.04	0.01	0.08	—
	Lung	8.16	1.42	0.25	1.01	0.45	0.20	0.25	—
	Liver	4.56	4.53	1.58	0.52	0.38	0.29	0.59	4.64
	Kidney	2.42	1.02	0.24	0.24	0.33	0.16	0.35	0.52
	Heart <sup>a)</sup>	0.68	0.64	0.16	<0.01	<0.01	<0.01	0.24	—
	Spleen	3.46	1.96	0.40	0.22	0.44	0.20	0.22	—
Dog	Plasma <sup>a)</sup>	2.03	0.81	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.49	—

1 hour post-administration

Each value represents the mean of five or three(a) animals

ラットの場合 M-4が10.2%認められたが、その他の代謝物はいずれも少量であった。

一方、糞中へは24時間までにラットが投与量の54.0%、イヌが32.5%排泄され、分析の結果、未変化体は極めて少なく、主代謝物はいずれも M-1であった。さらにラットでは M-2が、イヌは M-3が約10%認められたが、他の代謝物は少なく、また未同定の代謝物がラットは56.5%、イヌは40.0%存在した。

ラットの胆汁には投与量の42.2%が回収されたが、主代謝物は糞と同様 M-1であり、全体の23.9%を占め、他の代謝物は1.5~8.6%であった。さらに未同定のものが約50%を占めた。

### Ⅲ. 考 察

TE-031はエリスロマイシン(EM)のラクトン環6位のhydroxyl基がmethoxy基に変換された化学構造を有し、EMに比べ耐酸性の極めて高いことが明らかにされている<sup>1)</sup>。

今回、イヌにTE-031を経口投与した尿中から、未変化TE-031の他に5種の代謝物、すなわちN-demethyl TE-031(M-1)、N,N-didemethyl TE-031(M-2)、TE-031 N-oxide(M-3)、decladinosyl TE-031(M-4)および(14R)-14-hydroxy TE-031(M-5)を見出した(Fig. 2)。

LEE<sup>10)</sup>らはラットおよびイヌに[N-methyl-<sup>14</sup>C]EMを投与後の胆汁中に、N-demethyl EMを見出しており、さらに呼気中に回収された放射能とこの代謝物が量的にほぼ等しいことから、N-脱メチル化反応は主に一方のメチル基のみが受けると報告している。しかし、今回[6-O-methyl-<sup>14</sup>C]TE-031を投与後ラットの尿、糞、胆汁およびイヌの尿、糞中に、量的には少ないもののN,N-ジ脱メチル体がTLC的に検出された。従って、TE-031はラット、イヌの体内においてEMの場合と同様、desosamine 3'位のN-methyl基が酸化され、多くはN-

脱メチル体になるが、一部はさらに酸化を受けてN,N-ジ脱メチル体へ代謝されることが示された。N-demethyl TE-031はラット肝に高濃度に認められ、また尿よりも胆汁および糞に多く認められたことから、肝で代謝を受けたのち、多くは胆汁を經由して糞中へ排泄されると考えられた。

脱メチル体以外の代謝物としてN-オキシド体が同定され、イヌの糞中に比較的多く見出された。従って、前述のM-1の生成はimipramine<sup>11)</sup>等の例にみられるように、直接TE-031がN-脱メチル化される経路に加えN-oxideを經由する経路も推察された。さらに量的には少量であるが、脱クラジノース体がラット、イヌともに認められた。EMにおけるcladinoseの脱離はLAZAVEVSKI<sup>12)</sup>らにより明らかにされており、まず酸によりラクトン環の9位carbonyl基と6位hydroxyl基が関与し容易に分子内enol etherを形成し、次いでspiroketalを経て3位のglycoside結合が加水分解され、erythrolosamineおよびcladinoseが生成すると報告されている。TE-031は6位がmethoxy基のため、これら一連の反応が抑制され、酸に対し極めて高い安定性を有するが、pH 1.4の塩酸溶液中に37℃で1時間インキュベートすると直接cladinoseが解離することが明らかにされている<sup>1)</sup>。これらのことから、M-4の生成は経口投与したのち胃酸によって一部分解された結果生じたものと推察された。

NAGATE<sup>9)</sup>らはTE-031を投与したヒトの尿から、未変化のTE-031とともに(14R)-14-hydroxy TE-031を主代謝物として単離したが、このものにはTE-031にはほぼ匹敵する抗菌活性が見出されている<sup>9)</sup>。ラットおよびイヌの排泄物中にもTLC的にM-5と一致する代謝物が検出されたが、生成量は極めて少なく、活性代謝物M-5の生成には著しい種差のあることが示された。

以上の他に、尿、糞、胆汁いずれにおいても同定には至らない多くの代謝物が存在した。さらに前報<sup>1)</sup>で、ラ

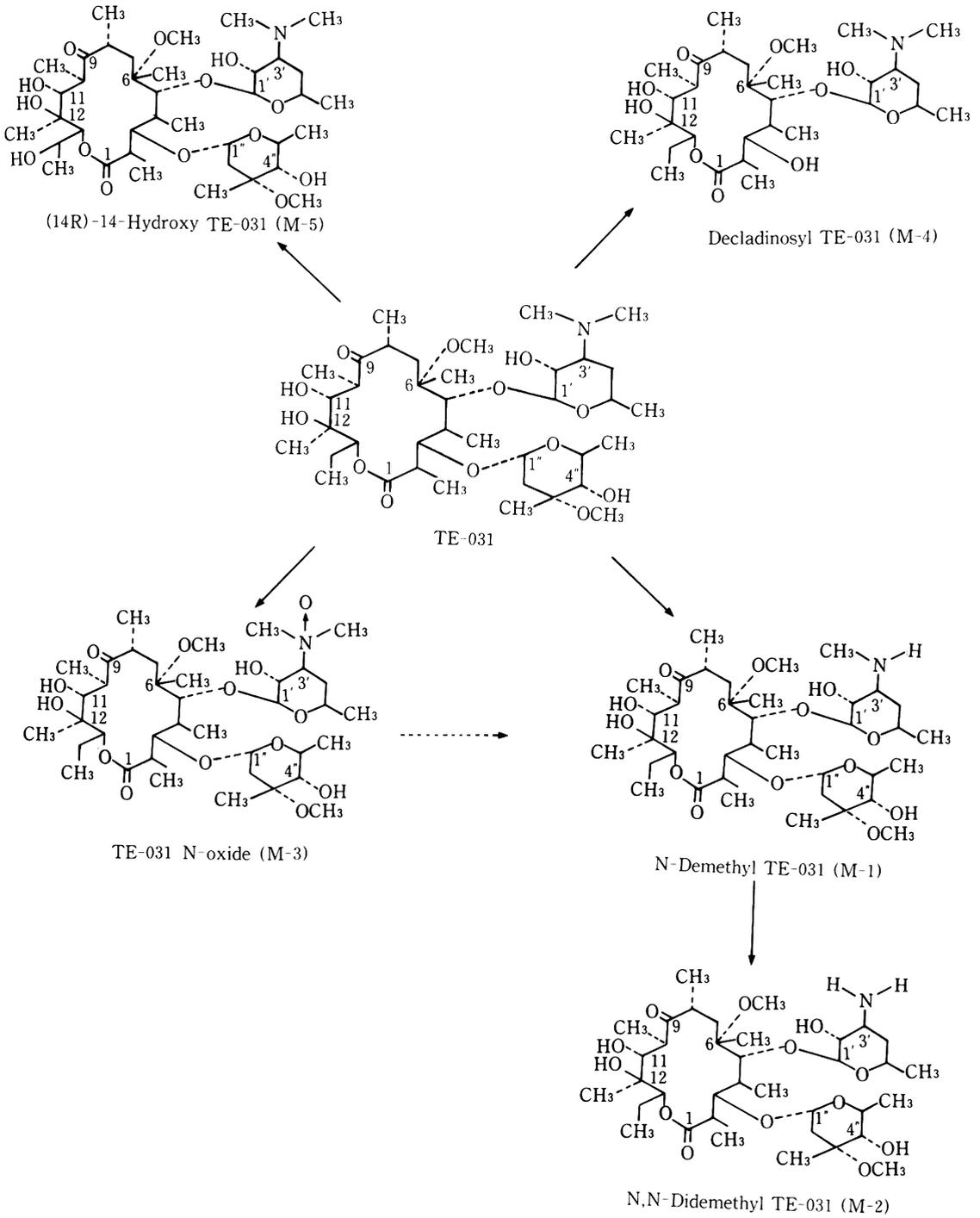
Table 6 Composition of metabolites in excreta after oral administration of <sup>14</sup>C-TE-031 (5mg/kg) to rats and dogs

		Composition (%)							Total (% of dose)
		TE-031	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	Others	
Urine	Rat	30.3	28.3	6.4	3.9	10.2	4.1	16.8	23.5
	Dog	37.6	34.9	3.4	4.1	6.3	0.6	13.1	26.0
Feces	Rat	1.8	21.5	9.2	5.5	2.4	3.1	56.5	54.0
	Dog	3.1	41.0	1.5	11.3	3.0	n.d.	40.0	32.5
Bile	Rat	4.9	23.9	4.0	8.6	7.6	1.5	49.5	42.2

0~24 hours after administration

Each value represents the mean of three animals

Fig. 2 Possible metabolic pathways of TE-031



ットおよびマウスに[6-O-methyl-<sup>14</sup>C]TE-031経口投与後の呼気中に投与放射能の3.5~7.2%が回収されたことから、ラクトン環のO-脱メチル化も一部起こるものと推察された。

血漿中放射能濃度およびTE-031の濃度推移から求めたAUCはいずれもイヌに比べラットは低かった。静脈内投与時に対する経口投与時のAUCの比もイヌの94.7%に対しラットは62.5%であり、systemic availabilityもイヌの79.1%に対しラットは20.8%に過ぎなかった。しかし、代謝物を分析した結果、ラットの糞中に未変化体はほとんど検出されなかったこと、また、先の消化管吸収実験<sup>4)</sup>でTE-031の良好な吸収性が確認されていることから、この差異は吸収性によるものではなく、ラットはイヌに比べ肝におけるトラップ、代謝速度、胆汁排泄、すなわち肝初回通過効果を強く受けるために生じたものと考えられた。

組織中代謝物を分析した結果、いずれも未変化体の濃度が最も高く、また、全体に占める未変化体の割合は肺が約70%で最も高かったが、血漿は36%、肝は27%と低く、多くの代謝物が含まれていた。TE-031が特に肺へ高濃度に分布することに関して、著者らは単離肺細胞を用いた実験から、TE-031が肺細胞内へ主にenergy dependentの機構により速やかに取り込まれることを明らかとした<sup>13)</sup>。

このようにTE-031は耐酸性が高いことに加え、肺をはじめとする各組織へ主に未変化体として移行することが示されたが、このことは本薬物が*in vivo*感染防御試験において優れた効果を発揮すること<sup>5)</sup>を裏付けるものと考えられた。

なお、M-5には未変化体に匹敵する抗菌活性が見出された<sup>9)</sup>が、その生成は少なく、M-1~M-4の活性は未変化体の1/4~1/256<sup>9)</sup>であることから、ラットやイヌの場合、本薬物の効果はほとんどが未変化体に基づくものと考えられた。

## 文 献

- MORIMOTO S., T. ADACHI, Y. TAKAHASHI, T. ASAKA, M. KASHIMURA, Y. WATANABE, S. OMURA & K. SOTA : A new macrolide antibiotic, TE-031. Synthesis and biological properties. Abstracts of papers of 26th Intersci. conf. on Antimicrob. Agents Chemother. No. 409, New orleans, La., 1986
- 諏訪俊男, 吉田英生, 福島清実, 長手尊俊 : TE-031の体内動態(第1報)ラットおよびマウスにおけるTE-031とエリスロマイシン ステアラートの比較. Chemotherapy 投稿中
- 諏訪俊男, 河野喜郎, 吉田英生, 福島清実 : TE-031の体内動態(第2報)ラットにおけるN-methyl-<sup>14</sup>C 標識体を用いたTE-031とエリスロマイシンの比較. Chemotherapy 投稿中
- 諏訪俊男, 吉田英生, 河野喜郎, 吉富幸代, 太田勝次 : TE-031の体内動態(第3報)マウス, ラットおよびイヌにおける<sup>14</sup>C-TE-031の吸収・分布・排泄. Chemotherapy 投稿中
- MITSUHASHI, S.; T. ONO, T. NAGATE, K. SUGITA & S. OMURA : A new macrolide antibiotic, TE-031, *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities. Abstracts of papers of 26th Intersci. conf. on Antimicrob. Agents Chemother. No. 412, New orleans, La., 1986
- 渡辺慶昭, 森本繁夫, 大村貞文 : 日特開, 昭61-52839, 1986
- FREIBERG L. A. : 日特開, 昭47-9129, 1972
- 第35回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム, TE-031, 盛岡, 1987
- NAGATE T., T. ADACHI, T. Otake, H. YOSHIDA, J. MIYAJI, E. SEKIGUCHI, S. MORIMOTO & S. OMURA : A new macrolide antibiotic, TE-031. Structures and activity of metabolites. Abstracts of papers of 26th Intersci. conf. on Antimicrob. Agents Chemother. No. 410, New orleans, La., 1986
- LEE, C. C. ; R. C. ANDERSON & K. K. CHEN : Distribution and Excretion of Radioactivity in Rats Receiving N-methyl-<sup>14</sup>C-Erythromycin. Pharmacol. Exp. Ther. 117 : 265~273, 1956
- FISH, M. S. ; C. C. SWEeley, N. M. JOHNSON, E. P. LAWRENCE & E. C. HORNING : Chemical and Enzymic Rearrangements of N,N-dimethyl amino acid oxides. Biochim. Biophys. Acta 21 : 196~197, 1956
- LAZAREVSKI, T. ; G. RADOBJA & S. DJOKIC : Erythromycin VI : Kinetics of Acid-Catalyzed Hydrolysis of Erythromycin Oxime and Erythromyclamine. J. Pharm. Sci. 67 : 1031~1033, 1978
- 河野喜郎, 吉田英生, 吉富幸代, 諏訪俊男 : TE-031の体内動態(第7報)肺への移行性について. Chemotherapy 投稿中

METABOLIC FATE OF TE-031(A-56268)(IV)  
METABOLISM OF <sup>14</sup>C-TE-031 IN RATS AND DOGS

TOSHIO SUWA, HIDEO YOSHIDA, SACHIYO YOSHITOMI & KEIKO KAMEI  
Research Center, Taisho Pharmaceutical Co. Ltd., Saitama

Five metabolites, N-demethyl TE-031(M-1), N,N-didemethyl TE-031(M-2), TE-031 N-oxide(M-3), dechlorinosyl TE-031(M-4) and (14 R)-14-hydroxy TE-031(M-5) as well as unchanged TE-031 were found in urine after oral administration to dogs. The concentration of TE-031 in plasma was considerably higher in rats than in dogs, and systemic availability in rats and dogs was 20.8% and 79.1%. Both plasma and principal tissues contained mainly unchanged TE-031, followed by M-1.

The ratio of unchanged TE-031 to the total radioactivity was highest in lung, namely c. 70%, but was low in plasma and liver. In urine, roughly equal amounts of unchanged TE-031 and M-1 were found, and small amounts of other metabolites were also detected in both species. On the other hand, M-1 was the main metabolite both in bile and feces.