

Grepafloxacinの体内動態(III) —サルおよびイヌにおける $[^{14}\text{C}]$ Grepafloxacinの吸収, 排泄—

秋山 仁・小富正昭
大塚製薬株式会社徳島研究所*

Stewart F.P.・Hopkins R.
Hazleton UK

堀 勝行・市毛一美
第一化学薬品株式会社東海研究所

$[^{14}\text{C}]$ Grepafloxacinをサルおよびイヌに20mg/kgの用量で単回経口投与時の放射能の吸収および排泄について検討し, 以下の成績を得た。

1) サルにおける平均血漿中放射能濃度は, 投与後2時間に最高濃度 $3.29\mu\text{g eq./g}$ に達した後, 5.9時間の生物学的半減期で減少した。投与後48時間までのAUCは $39.6\mu\text{g eq. h/g}$ であった。血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度の0.8~1.3倍で推移した。

2) イヌにおける平均血漿中放射能濃度は, 投与後2時間に最高濃度 $4.80\mu\text{g eq./ml}$ に達した後, 3.8時間の生物学的半減期で減少した。投与後24時間までのAUCは $38.3\mu\text{g eq. h/ml}$ であった。血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度の0.9~1.2倍で推移した。

3) サルおよびイヌ血漿蛋白への*in vitro*における結合率は41~48%程度であり, 濃度依存性は認められなかった。またサルおよびイヌにおける*in vivo*での結合率は45.7~47.5%で, *in vitro*での結合率とよく一致した。

4) サルにおいて, 投与後120時間までの放射能の尿および糞中排泄率は, それぞれ投与量の13.1%および54.1%であった。

5) イヌにおいて, 投与後168時間までの放射能の尿および糞中排泄率は, それぞれ投与量の16.0%および80.3%であった。

Key words : $[^{14}\text{C}]$ grepafloxacin, 吸収, 排泄, サル, イヌ

Grepafloxacin (GPFX), (±)-1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-5-methyl-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid monohydrochloride, は, 大塚製薬で開発されたニューキノロン系の合成抗菌薬で, グラム陽性菌, グラム陰性菌および嫌気性菌に対して広範囲な抗菌スペクトラムと強い抗菌力を有することが明らかにされている^{1,2)}。

GPFXのラット, マウス, サル, イヌおよびウサギにおける吸収, 分布, 排泄, および ^{14}C 標識GPFX ($[^{14}\text{C}]$ GPFX)のラットにおける吸収, 分布, 排泄については既に報告した^{3,4)}。その結果GPFXの組織移行性は良好であり, 特に肺への移行性が高いことが明らかにされた。また体内動態には種差が認められ, その血漿中濃度はイヌおよびサルにおいて高く, ついでラットとマウスは同程度であり, ウサギでは他の動物に比べて低かった。

今回GPFXの体内動態をさらに詳細に検討するため,

$[^{14}\text{C}]$ GPFXをサルおよびイヌに経口投与し, 放射能の吸収および排泄を検討したので報告する。

なお本試験の一部はヘーゼルトンUK(UK)および第一化学薬品株式会社東海研究所(茨城)において実施された。

I. 実験材料および方法

1. 使用化合物, 試薬および溶媒

GPFXは, 大塚製薬において合成されたものを用いた。 $[^{14}\text{C}]$ GPFXはアマシャム社(UK)において合成され, 比放射能は3.40あるいは 3.29MBq/mg であった。これらは必要に応じて精製して用いた。放射化学的純度は, カラムにTSK ODS-80T_M(4.6mmφ×250mm, 東ソー), 移動相に20mM硫酸ナトリウム, 0.1%リン酸:アセトニトリル=7:3を用いるHPLCにより98%であった。他の試薬および溶媒等は市販の分析用あるいは液体クロマトグラフ用を用いた。

2. 使用動物

(1) サル

体重2.15～3.10kg(推定年齢2～3歳)の雄性カニクイザル(Shamrock Farms Ltd.)にビスケット(Spratts, Barking), 固形飼料(SQC Mazuri Primate Diet, Special Diet Service)および果物を与え, 温度18～25℃, 湿度40～80%の環境下で3週間以上予備飼育した。投与に際しては, 投与前14時間絶食し, 投与後6時間にビスケットを与えた。なお水は自由に摂取させた。

(2) イヌ

体重8.88～10.26kgのビーグル犬(8ヶ月齢)(Hazleton-LRE)に固形飼料(DS-5, オリエンタル酵母)を与え, 温度23±2℃, 湿度55±15%の環境下で1ヶ月以上予備飼育した。投与に際しては, 前日の夕方に給餌器内に餌が残っていないことを確認し, 投与後4時間に給餌した。なお水は自由に摂取させた。

3. 投与量および投与方法

[¹⁴C]GPFXに非標識GPFXを加え蒸留水に溶解した。これをサルでは20mg/5.62MBq/2ml/kg, イヌでは20mg/1.48MBq/1ml/kgの用量でカテーテルを用いて単回経口投与した。

4. 血液中および血漿中放射能濃度の測定

(1) サル

経口投与後所定の時間に大腿静脈より2.5 ml採血し, 直ちに少量のヘパリン入チューブに移した。その0.1gをCOMBUSTO-CONE®(パッカード)に取り, サンプルオキシダイザー(Model 306, パッカード)で燃焼後, CO₂吸収剤(CARBO-SORB®, パッカード)8mlに¹⁴CO₂を吸収させ, シンチレーター(PERMA-FLUOR V®, パッカード)15mlを加え血液中濃度測定用試料とした。残りの血液は1800×g, 室温で10分間遠心分離(遠心分離機: J-6M/E, ベックマン, ローター: JS-4.2)して血漿を得, この0.1gにシンチレーター(EMULSIFIER-SAFE®, Fisons Scientific Apparatus Ltd.)10mlを加え血漿中濃度測定用試料とした。

(2) イヌ

経口投与後所定の時間に橈側皮静脈よりヘパリン処理した採血管で約3ml採血した。その100μlに組織溶解剤(SOLUENE-350®, パッカード)2mlを加えて溶解し, 過酸化ベンゾイル飽和のベンゼン溶液0.4mlを加えて脱色した後, シンチレーター(ECONOFLUOR®, Du Pont NEN Research Products)13mlを加え血液中濃度測定用試料とした。残りの血液は1800×g, 4℃で15分間遠心分離(遠心分離機: 日立05PR-22, ローター: 03)して血漿を得, その250μlに組織溶解剤(SOLUENE-350®)2mlを加えて溶解し, シンチレーター(ECONOFLUOR®)13mlを加え血漿中濃度測定用試料とした。

5. 血漿蛋白結合率の検討

(1) *In vitro*試験

[¹⁴C]GPFXの水溶液10μlを, サルおよびイヌコントロール血漿に0.1, 1.0および5.0μg/mlの濃度となる様に添加した。この血漿を37℃で15分間インキュベートし, その0.1 mlに蒸留水1.0mlおよびシンチレーター(ACS II®, アマシヤム)10mlを加え放射能を測定した。次いで血漿1.0mlを遠心型蛋白結合測定器(MPS-3, グレースジャパン)に apply し, 1500～1900×g, 4℃で10～20分間遠心濾過(遠心分離機: 日立20PR-52, ローター: RPR20-2)した。得られた濾液の放射能を同様に測定し, 下記の式により蛋白結合率を算出した。

$$\text{蛋白結合率(\%)} = \frac{\text{血漿中放射能濃度} - \text{濾液中放射能濃度}}{\text{血漿中放射能濃度}} \times 100$$

(2) *In vivo*試験

雄性サルに [¹⁴C]GPFXを20mg/kgの用量で経口投与後3, 6および12時間に得た血漿, 雄性イヌに20mg/kgの用量で経口投与後1, 6および12時間に得た血漿を用い(1)項と同様にして蛋白結合率を算出した。

6. 尿および糞中排泄の測定

(1) サル

経口投与後, 所定時間に自然排泄された尿および糞を採取した。得られた尿は, その0.2gにシンチレーター(EMULSIFIER-SAFE®)10mlを加え放射能測定用試料とした。糞は適量の水を加えてホモジナイズ後, その約0.2gをCOMBUSTO-CONE®に取り, 血液の場合と同様にして放射能測定用試料を調製した。

(2) イヌ

経口投与後, 所定時間に自然排泄された尿および糞を採取した。得られた尿は水を加えて500mlに希釈し, その1mlにシンチレーター(ATOMLIGHT®, Du Pont NEN Research Products)10mlを加え放射能測定用試料とした。糞は水を加えて1000mlにした後ホモジナイズし, その100mlに水を加えて300mlに希釈して再びホモジナイズした。その0.5mlに組織溶解剤(SOLUENE-350®)2mlを加えて50℃で一夜振盪して溶解し, シンチレーター(ECONOFLUOR®)13mlを加え放射能測定用試料を調製した。

7. 放射能の測定

各試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター(LSC-903あるいは3500, アロカおよび Model 460あるいは4640, パッカード)で測定した。なお計数効率の補正は外部標準線源を用いたチャンネル比法で行った。

8. 薬動力学的解析

血液および血漿中濃度の半減期は最小二乗法により, AUCは台形法により算出した。

II. 結 果

1. 血液中および血漿中放射能濃度

(1) サル

サルに ^{14}C GPFXを20mg/kgの用量で単回経口投与後の血液中および血漿中放射能濃度推移をFig. 1に示した。

平均血液中濃度は投与後2時間に $3.20\mu\text{g eq./g}$ に達した後、投与後4時間には最高濃度の88%, 8時間には70%, 12時間には41%, 24時間には10%に減少した。また個別の血液中濃度から求めた T_{max} , C_{max} , $\text{AUC}_{0-48\text{h}}$ および $T_{1/2}$ の平均はそれぞれ3.7h, $3.43\mu\text{g eq./g}$, $43.3\mu\text{g eq. h/g}$ および6.6h(投与後2~24時間における $T_{1/2}$)であった。

平均血漿中濃度は投与後2時間に $3.29\mu\text{g eq./g}$ に達した後、投与後4時間には最高濃度の76%, 8時間には60%, 12時間には38%, 24時間には7%に減少した。また個別の血漿中濃度から求めた T_{max} , C_{max} , $\text{AUC}_{0-48\text{h}}$ および $T_{1/2}$ の平均はそれぞれ2.0h, $3.29\mu\text{g eq./g}$, $39.6\mu\text{g eq. h/g}$ および5.9h(投与後2~24時間における $T_{1/2}$)であった。

サルにおける血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度の0.8~1.3倍で推移した。

(2) イヌ

イヌに ^{14}C GPFXを20mg/kgの用量で単回経口投与後の血液中および血漿中放射能濃度推移をFig. 2に示した。

平均血液中濃度は投与後2時間に $5.33\mu\text{g eq./ml}$ に達した後、投与後4時間には最高濃度の78%, 8時間には37%, 12時間には17%, 24時間には6%に減少した。また個別の血液中濃度から求めた T_{max} , C_{max} , $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ および $T_{1/2}$ の平均はそれぞれ1.7h, $5.35\mu\text{g eq./ml}$, $42.8\mu\text{g eq. h/ml}$ および3.8h(投与後3~12時間における $T_{1/2}$)であった。

平均血漿中濃度は投与後2時間に $4.80\mu\text{g eq./ml}$ に達した後、投与後4時間には最高濃度の75%, 8時間には

36%, 12時間には18%, 24時間には7%に減少した。また個別の血漿中濃度から求めた T_{max} , C_{max} , $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ および $T_{1/2}$ の平均はそれぞれ1.3h, $5.03\mu\text{g eq./ml}$, $38.3\mu\text{g eq. h/ml}$ および3.8h(投与後3~12時間における $T_{1/2}$)であった。

イヌにおける血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度の0.9~1.2倍で推移した。

2. 蛋白結合率

サルおよびイヌ血漿における*in vitro*でのGPFXの血漿蛋白結合率をTable 1に示した。結合率はいずれの試料においても41~48%程度であり、濃度依存性は認められなかった。

サルおよびイヌ血漿における*in vivo*での血漿蛋白結合率をTable 2に示した。結合率はそれぞれ45.7~46.3%および46.5~47.5%であった。*In vivo*における血漿蛋白結合率は、いずれにおいても投与後の時間にかかわらずほぼ一定であり、また*in vitro*における結合率と同程度であった。

3. 尿・糞中排泄

(1) サル

サルに ^{14}C GPFXを20mg/kgの用量で経口投与後の尿および糞中への放射能の排泄率をFig. 3に示した。尿中には投与後24時間までに8.4%, 120時間までに13.1%が排泄された。糞中には投与後24時間までに投与量の14.1%, 120時間までに54.1%が排泄された。投与後120時間までの尿および糞中総排泄率は投与量の67.2%であった。またこの時点のケージ洗浄液等には投与量の9.6%が認められた。

(2) イヌ

イヌに ^{14}C GPFXを20mg/kgの用量で経口投与後の尿および糞中への放射能の排泄率をFig. 4に示した。尿中には投与後24時間までに14.1%, 168時間までに16.0%

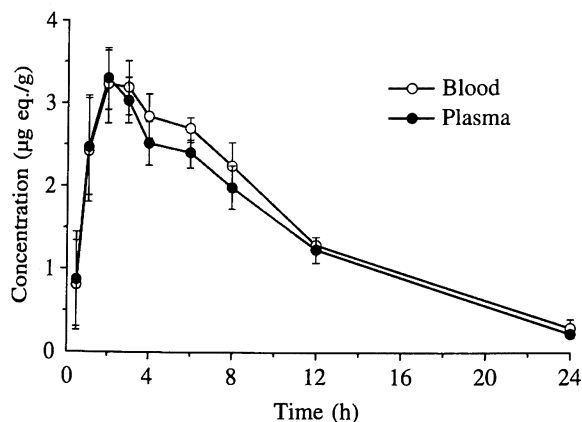


Fig. 1. Blood and plasma concentrations of radioactivity after a single oral administration of ^{14}C grepafloxacin at a dose of 20 mg/kg in monkeys (mean $\pm$ SE, n=3).

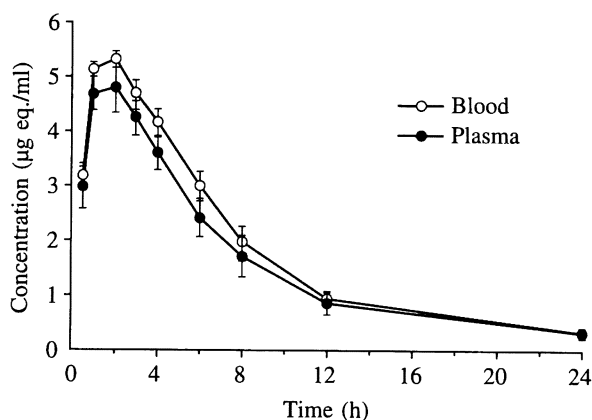


Fig. 2. Blood and plasma concentrations of radioactivity after a single oral administration of ^{14}C grepafloxacin at a dose of 20 mg/kg in dogs (mean $\pm$ SE, n=3).

が排泄された。糞中には投与後24時間までに投与量の57.4%, 168時間までに80.3%が排泄された。投与後168時間までの尿および糞中総排泄率は投与量の96.3%であった。またこの時点のケージ洗浄液中には投与量の0.2%が認められた。

以上いずれの場合においても投与した放射能は主に糞中に排泄された。

Ⅲ. 考 察

GPFXを各種動物に経口投与後の血漿中濃度については既に検討されており³⁾, サルでは5, 10および20mg/kgを単回経口投与後の濃度推移に用量依存性が認めら

れている。今回、サルにおける^[14C]GPFXの体内動態試験を実施するにあたり、それらの最高用量である20mg/kgを投与した。またイヌにおいてもサルと同じ用量を投与した。

^[14C]GPFXを20mg/kgの用量で単回経口投与後のサルおよびイヌにおける血液中放射能濃度は投与後2時間でそれぞれ最高濃度3.20 μ g eq./gおよび5.33 μ g eq./mlに達した。これらの濃度とラットにおける濃度(3.07 μ g eq./ml, 雄性ラット40mg/kgでの最高濃度)⁴⁾を比較すると、同じ用量における血液中放射能濃度の最高濃度はイヌで最も高く、次いでサルであり、ラットでは最も低い値と考えられた。他のニューキノロン薬の血液中放射能濃度においても同様の傾向が認められており、norfloxacin (NFLX)⁵⁾やofloxacin (OFLX)⁶⁾ではイヌで最も高く、次いでサル、ラットの順、levofloxacin (LVFX)⁷⁻⁹⁾ではサル、イヌ、ラットの順に血液中放射能濃度が低下することが明らかにされている。^[14C]GPFXの場合はNFLXやOFLXの場合と同様の傾向であった。

*In vitro*での血漿蛋白結合率は、サルおよびイヌのいずれにおいても41~48%程度であり、これらはラット、

Table 1. Plasma protein binding of ^[14C] grepafloxacin *in vitro*

Concentration (μ g/ml)	Binding (%)	
	Monkey	Dog
0.1	43.6 $\pm$ 1.2	41.1 $\pm$ 1.8
1.0	45.6 $\pm$ 1.1	40.7 $\pm$ 0.7
5.0	47.6 $\pm$ 1.1	41.3 $\pm$ 1.2

Each value represents the mean $\pm$ SE for four samples.

Table 2. Plasma protein binding of radioactivity after a single oral administration of ^[14C] grepafloxacin in monkeys and dogs

Monkey ¹⁾			Dog ²⁾		
Time (h)	Concentration (μ g eq./g)	Binding (%)	Time (h)	Concentration (μ g eq./ml)	Binding (%)
3	3.03	46.3	1	4.69 $\pm$ 0.31	46.8 $\pm$ 1.8
6	2.39	45.8	6	2.43 $\pm$ 0.35	47.5 $\pm$ 2.9
12	1.24	45.7	12	0.84 $\pm$ 0.17	46.5 $\pm$ 1.8

1) 20 mg/kg, each value represents the mean value for three monkeys.

2) 20 mg/kg, each value represents the mean $\pm$ SE for three dogs.

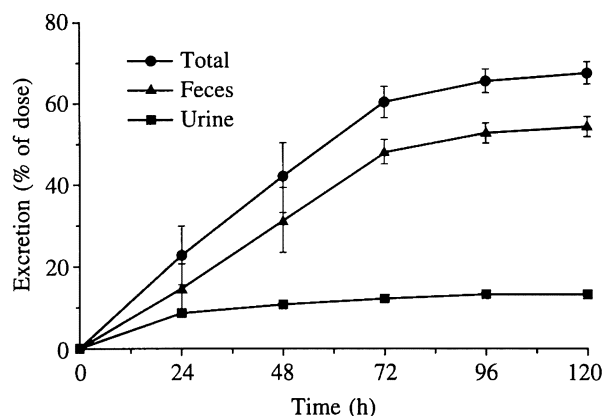


Fig. 3. Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces after a single oral administration of ^[14C] grepafloxacin at a dose of 20 mg/kg in monkeys (mean $\pm$ SE, n=3).

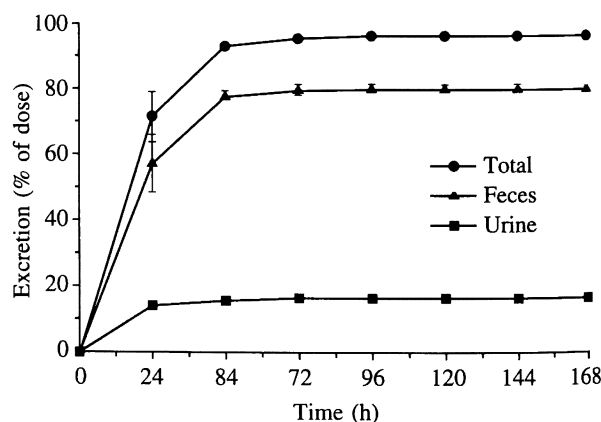


Fig. 4. Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces after a single oral administration of ^[14C] grepafloxacin at a dose of 20 mg/kg in dogs (mean $\pm$ SE, n=3).

ウサギおよびヒトにおける結合率(38~52%)⁴⁾と同程度であった。また*in vivo*における結合率もラットの場合(42~43%)⁴⁾と同程度であり、蛋白結合率における種差は認められなかった。

一方、投与した放射能はサルおよびイヌのいずれにおいても主に糞中に排泄された。ラットにおける放射能の主な排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であり⁴⁾、サルやイヌの場合もおそらく投与した放射能は主に胆汁を介して糞中に排泄されるものと推察される。また尿および糞中への総排泄率は、イヌでは良好であったがサルではやや低かった。この原因としては、代謝ケージの洗浄あるいは試料の回収が不十分であった等の可能性も推察された。

文 献

- 1) 大黒絹枝, 他: Grepafloxacinの*in vitro*, *in vivo*抗菌作用。日化療会誌43(S-1): 74~90, 1995
- 2) Ohmori H, Kuramoto M, Mukai F, Tamaoka H, Kikuchi M: OPC-17116, A novel broad-spectrum 5-methyl quinolone derivative. Therapeutic effects against various infections in animals. 31st ICAAC, abstract no. 1475, Chicago, October, 1991
- 3) 秋山 仁, 阿部佳史, 小池正己, 急式和代, 藤尾直希, 小富正昭, 向井典江, 大森和則: Grepafloxacinの体内動態(I) - HPLC法による各種動物における吸収, 分布, 排泄 -。日化療会誌43(S-1): 99~106, 1995
- 4) 秋山 仁, 阿部佳史, 楠本直俊, 小富正昭, Stewart F P, Hopkins R, 田野倉吉則, Thonoor M C: Grepafloxacinの体内動態(II) - ラットにおける $[^{14}\text{C}]$ Grepafloxacinの吸収, 分布, 排泄 -。日化療会誌43(S-1): 107~124, 1995
- 5) 永津芳雄, 遠藤恭平, 入倉 勉: ^{14}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
- 6) 岡崎 治, 倉田忠司, 橋本浩一, 須藤賢一, 津村光義, 立澤晴男: DL-8280の体内動態, 第2報 ^{14}C -DL-8280の各種動物における吸収, 分布, 排泄。Chemotherapy 32(S-1): 1185~1202, 1984
- 7) 青木浩之, 岡崎 治, 倉田忠司, 新谷尚三, 立澤晴男, 伯水英夫: DR-3355の体内動態(第1報), ラットにおける単回経口投与時の吸収, 分布および排泄。薬物動態 6(5): 793~803, 1991
- 8) 青木浩之, 岡崎 治, 伯水英夫, 江角凱夫, 三次孝一, 片見好春, 渡辺勇夫, 大部裕子, 岡田みのり: DR-3355の体内動態(第3報), イヌにおける単回経口投与時の吸収および排泄。薬物動態 6(5): 817~822, 1991
- 9) 倉田忠司, 他: DR-3355の体内動態(第4報), サルにおける単回経口投与時の吸収, 分布および排泄。薬物動態 6(5): 823~832, 1991

Pharmacokinetics of Grepafloxacin (III) — Absorption and excretion after an oral administration of [¹⁴C]grepafloxacin in monkeys and dogs —

Hitoshi Akiyama and Masaaki Odomi

Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

463-10 Kagasuno, Kawauchi-cho, Tokushima 771-01, Japan

F.P. Stewart and R. Hopkins

Hazleton UK

Katsuyuki Hori and Kazumi Ichige

Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd.

The absorption and excretion of radioactivity after a single oral administration of [¹⁴C]grepafloxacin (GPFX) at 20 mg/kg were investigated in monkeys and dogs.

1. The mean plasma concentration of radioactivity reached a maximum of 3.29 μg eq./g at 2 hours in monkeys, and declined thereafter with a biological half-life of 5.9 hours. The AUC during the period of 0 ~ 48 hours was 39.6 μg eq. h/g. The blood concentration was higher than 0.8 ~ 1.3 times the plasma concentration.

2. The mean plasma concentration of radioactivity reached a maximum of 4.80 μg eq./ml at 2 hours in dogs, and declined thereafter with a biological half-life of 3.8 hours. The AUC during the period of 0 ~ 24 hours was 38.3 μg eq. h/ml. The blood concentration was higher than 0.9 ~ 1.2 times the plasma concentration.

3. The *in vitro* binding rates of [¹⁴C]GPFX to monkey and dog plasma were 41% ~ 48%, with no concentration-dependency. The *in vivo* binding rates of GPFX to monkey and dog plasma were 45.7% ~ 47.5%, similar to the *in vitro* rates.

4. The urinary and fecal excretion rates of radioactivity during the period of 0 ~ 120 hours in monkeys were 13.1% and 54.1%, respectively, of the administered dose.

5. In dogs, the urinary and fecal excretion rates of radioactivity during the period of 0 ~ 168 hours were 16.0% and 80.3%, respectively, of the administered dose.