

【原著・基礎】

Garenoxacin の各種動物における体内動態

加藤 寛・早川 大善・福島 容子・門田 卓美・福本 博之・藤堂 洋三

富山化学工業株式会社総合研究所*

(平成 19 年 4 月 27 日受付・平成 19 年 7 月 18 日受理)

新規な des-fluoro (6)-quinolone 系抗菌薬である garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) の各種動物における体内動態について検討した。GRNX は経口投与後、すみやかに吸収され、大脳および脊髄等の中枢神経系の組織・器官を除く、大部分の組織・器官に広く分布した。ラットおよびサルに [¹⁴C] GRNX を投与した後の放射能の大部分は体外へ排泄され、残留性は低いと考えられた。また各種動物における曝露量は、今回検討した投与量の範囲 (ラット: 2~25 mg/kg, イヌ: 8~75 mg/kg, サル: 25~100 mg/kg) で、ほぼ線形であることが示唆された。マウス, ラット, イヌ, サルおよびヒトの *in vitro* 血清蛋白結合率は GRNX 濃度に依存せず、ほぼ一定であった (マウス: 66.7~71.9%, ラット: 86.5~89.0%, イヌ: 64.5~67.6%, サル: 71.2~74.5%, およびヒト: 78.3~84.0%)。GRNX の尿中排泄率は、ラットで投与量の増加により低下したが、イヌでは認められず、尿中排泄の種差が認められた。また、ラットの GRNX の曝露量は、雌性において雄性と比較して低く (雄性の AUC_{0-∞} の約 33%), 性差が認められた。ラットにおける胆汁中排泄および尿中排泄には性差は認められず、GRNX 曝露量の性差の原因の一つとして、代謝が考えられた。

Key words: garenoxacin, absorption, tissue penetration, protein binding, excretion

Garenoxacin mesilate hydrate (GRNX と略す, Fig. 1) は富山化学工業株式会社で創製された新規な des-fluoro (6)-quinolone 系抗菌薬である。GRNX は、従来のフルオロキノロン系抗菌薬に必須とされていた 6 位フッ素置換基がなく、既存薬とは異なった新規な化学構造を有している。また、GRNX はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して強い抗菌活性および幅広い抗菌スペクトルを示すことが明らかにされている^{1,2)}。GRNX の各種動物における体内動態の概略について、すでに別報³⁾で報告されているが、今回、GRNX の各種動物における体内動態をより詳細に検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬物および試薬

[¹⁴C] GRNX (Lot No. CP-2178 および CP-2178-2) ならびに非標識 GRNX は、それぞれ第一化学薬品 (株) および富山化学工業 (株) で合成されたものを使用した。標識化合物の比放射能は、3,799 MBq/mg (Lot No. CP-2178) および 785.6 kBq/mg (Lot No. CP-2178-2) であり、両ロットで放射化学的純度は 98% 以上であった。また非標識 GRNX の純度は、使用した全ロットで 99% 以上であった。アセトニトリル、メタノールおよび蒸留水は、関東化学 (株) 製の HPLC 用を使用した。その他の試薬は市販の特級品を使用した。

2. 実験動物

ラットを用いた検討には、日本エスエルシー (株) および日本チャールス・リバー (株) より購入した Wistar/ST 系および Crj: CD (SD) 系を使用した。血漿中濃度推移に関する検討、尿中排泄に関する検討および組織移行性に関する検討では、Wistar/ST 系を 8~9 週齢で使用した。また用量依存性に関する検討および性差に関する検討では、Crj: CD (SD) 系を 6 週齢で使用した。胎盤透過性の検討では、10 週齢で交配させた Crj: CD (SD) 系を妊娠 13 日目または妊娠 19 日目で使用し、乳汁中移行の検討では、10 週齢で交配させた後、出産哺育させた分娩 14 日目の動物を使用した。イヌを用いた検討には (株) CSK リサーチパークより購入したビーグル犬 (8~9 カ月齢) を、サルを用いた検討には、China National Scientific Instruments & Materials Import/Export Corporation (中国) より輸入、または日本クレアより購入したカニクイザル (3~5 歳齢) を使用した。各動物は、一定期間の予備飼育の後、異常の認められなかった個体を投与に使用した。なお、動物を用いた検討は各試験実施施設の実験動物倫理規定に従って実施した。

3. 薬物の投与および生体試料の採取

1) ラット

血漿中濃度推移に関する検討では、大腿動脈にポリエ

*富山県富山市下奥井 2-4-1

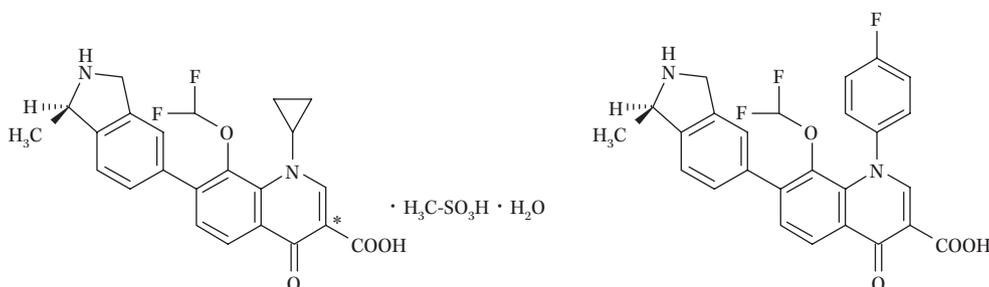


Fig. 1. Chemical structure of garenoxacin mesilate hydrate and its internal standard. Left: [¹⁴C]GRNX (*: labeled position), Right: Internal standard.

チレン製チューブをカニューレションした個体に、^[14C]GRNX 5% マンニトール溶液（静脈内投与）または ^[14C]GRNX 0.5% メチルセルロース溶液（経口投与）を 5 mg/kg の投与量で投与した。なお経口投与は絶食下で実施した。所定時間にカニューレより経時的に採取した血液から、常法によりヘパリン添加血漿を得た。また各時点における採血の後、採血量と同量のヘパリン添加血液を輸血した。用量依存性の検討では、GRNX 0.5% メチルセルロース溶液を 2~25 mg/kg の投与量で経口投与した後、血液を採取し（1 個体より 1 時点）、常法によりヘパリン添加血漿を得た。

組織移行性に関する検討では、^[14C]GRNX 0.5% メチルセルロース溶液を 5 mg/kg の投与量で、絶食下、経口投与した。所定時間に、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血・致死させ、組織および器官を採取した。採取した組織および器官は、生理食塩液を用いて洗浄し、測定試料とした。

非標識体 GRNX を用いた尿中排泄率に関する検討では、GRNX 5% マンニトール溶液を頸静脈または大腿静脈より 2~60 mg/kg の投与量で投与し、投与後 24 時間までの自然排泄尿を採取した。^[14C]GRNX を用いた胆汁中・尿中排泄試験では、総胆管にポリエチレン製チューブをカニューレションした個体に、^[14C]GRNX 0.5% メチルセルロース溶液を 25 mg/kg の投与量で経口投与した。カニューレより流出する胆汁および自然排泄尿を、投与後 48 時間まで採取した。

胎盤透過性および乳汁中移行に関する検討では、^[14C]GRNX 0.5% メチルセルロース溶液を 5 mg/kg の投与量で経口投与した。

なお、血漿中濃度推移の検討における経口投与群の個体および ^[14C]GRNX を用いた胆汁中・尿中排泄試験における個体は、ポールマンケージ（夏目製作所（株））に保定し、試料を採取した。

2) イヌ

GRNX の原末をゼラチンカプセル（No.000 号、ワナー・ランバート（株））に充填し、8~75 mg/kg の投与量で経口投与した。所定時間に前肢橈側皮静脈より採血

し、常法によりヘパリン添加血漿を得た。また投与後 24 時間までの自然排泄尿を採取し、試料とした。

3) サル

非標識 GRNX を用いた検討では、GRNX の原末をゼラチンカプセル（#2、シオノギクオリカプス）に充填し、25~100 mg/kg の投与量で経口投与した。所定時間に大腿静脈より採血し、常法により血漿（ヘパリン）を得た。^[14C]GRNX を用いた検討では、^[14C]GRNX 0.5% メチルセルロース溶液を 5 mg/kg の投与量で経口投与し、自然排泄尿および糞を採取し、試料とした。

4. 血清蛋白結合率

各種動物の *in vitro* 血清蛋白結合率の測定は、遠心限外ろ過法により行った。炭酸ガスにより pH7.4 に調整した各種動物の血清に ^[14C]GRNX を添加し、100 μg/mL の添加血清を調製した。この血清を、pH 調整された GRNX 未添加の血清で希釈し、各種濃度の添加血清を調製した。各種濃度の ^[14C]GRNX 添加血清を 37℃ で 1 時間インキュベーションした後、血清を限外ろ過キット（Microcon® または Amicon®, 分画分子量 10,000, ミリポア）に分注し、遠心限外ろ過（約 1,500×g, 10 分間、室温）した。なお、ろ液回収バイアルへの非特異的な吸着を防ぐため、あらかじめ、ろ液回収バイアルに既知量の血清を添加した。遠心限外ろ過後に得られたろ液と回収バイアルに添加した血清の混液の一部を採取し、組織可溶化剤（Soluen®-350, PerkinElmer）を加えた後、液体シンチレーター（Hionic-Fluor™, PerkinElmer）を加え、放射能を測定した。得られた放射能濃度から以下の式に従って、*in vitro* 血清蛋白結合率を算出した。

$$\text{血清蛋白結合率 (\%)} = \left[1 - \frac{\text{ろ液中放射能濃度}}{\text{血清中放射能濃度}} \right] \times 100$$

5. 分析方法

1) GRNX 濃度測定

GRNX 濃度測定には、すべての測定法で同一の内部標準物質を使用した（Fig. 1）。

血漿中 GRNX 濃度は、測定法がバリデートされた HPLC 法（ラット）または LC/MS/MS 法（イヌおよびサル）により測定した。HPLC 法では、血漿試料に内部標準

物質を添加した後、アセトニトリル/メタノール (1:1, v/v) を用いて除蛋白し、溶媒を留去した後の溶液を 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH6.0) で希釈した。この液を固相抽出カラム (Oasis HLB, Waters) にかき、20% メタノールおよび 10% アセトニトリルで洗浄した後、アセトニトリルで溶出し、溶出液の溶媒を留去した。残渣を移動相 (アセトニトリル/0.2 mol/L クエン酸水素二ナトリウム-塩酸 (pH3.5) /蒸留水=28:15:57, v/v) で溶解し、測定試料とした。分析カラムとして、Develosil ODS HG-5 (内径 4.6 mm×長さ 150 mm, 野村化学(株)) を用い、カラム温度 30°C, 流速 1.0 mL/min で送液し、検出は 280 nm (L-7400, (株) 日立製作所) で行った。本測定法による定量下限値は 0.03 $\mu\text{g/mL}$ であった。LC/MS/MS 法では、血漿試料に内部標準物質を添加した後、アセトニトリルで除蛋白し、溶媒を留去した後の残渣を移動相 (アセトニトリル/0.25 mol/L ぎ酸-ぎ酸アンモニウム (pH2.8) /蒸留水=350:200:450, v/v) で溶解し、測定試料とした。分析カラムとして Symmetry® C18 5 μm (内径 2.1 mm×長さ 150 mm, Waters) を用い、カラム温度が 40°C, 流速 0.2 mL/min で送液した。検出はエレクトロスプレーイオン化法によるポジティブイオンの選択反応検出 (GRNX: m/z 426.1 \rightarrow m/z 286, 内部標準物質: m/z 481.1 \rightarrow m/z 380) とした。なお質量分析計として TSQ-7000 (サーモフィッシャーサイエンティフィック) を使用した。本測定法による定量下限値は、イヌおよびサル の両動物種ともに 0.03 $\mu\text{g/mL}$ であった。

またラットおよびイヌの尿中 GRNX 濃度は、測定法がバリデートされた HPLC 法により測定した。尿試料に内部標準物質を添加した後、0.02 mol/L リン酸緩衝液 (pH 6.0) で希釈した溶液を、陽イオン交換樹脂 (TSK gel CM-TOYOPEARL 650M, 東ソー(株)) を充填したカラムにかき、蒸留水および 20% アセトニトリルで洗浄した後、90% アセトニトリル/0.1 mol/L 酢酸で溶出した。溶出液の溶媒を留去した後、残渣を移動相 (HPLC による血漿中濃度測定法と同一) で溶解し、測定試料とした。分析条件は、血漿中濃度測定法と同条件を用いた。なお、本測定法の定量下限値は 0.5 $\mu\text{g/mL}$ であった。

2) 放射能濃度測定

血漿中放射能濃度 (ただし組織移行試験における血漿試料を除く) は、血漿を組織可溶化剤 (Soluen®-350) により可溶化した後、液体シンチレーター (Hionic-Fluor™) を加えて測定した。胆汁中および尿中放射能濃度は、胆汁および尿に、上記の液体シンチレーターを直接加えて測定した。組織内放射能濃度測定は、試料を風乾した後、サンプルオキシダイザー (306 型, Packard) を用いて燃焼し、生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集剤 (Carbo-Sorb E, PerkinElmer) に捕集し、液体シンチレーター (Permafluor E+, PerkinElmer) を加えて測定した。ただし、脂肪については、組織可溶化剤による可溶化の後、液体シンチレーター

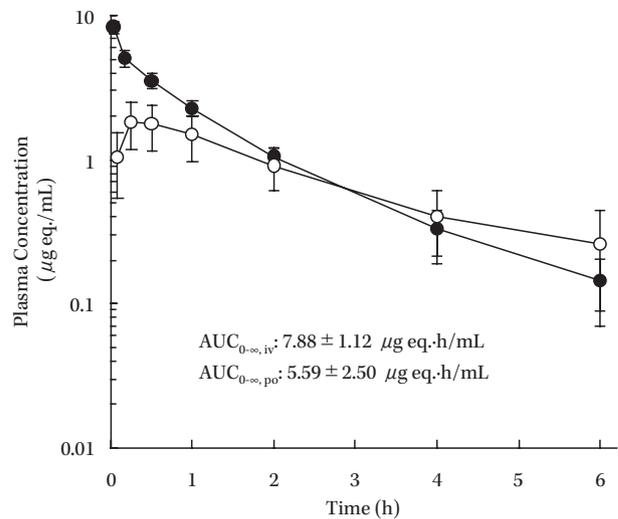


Fig. 2. Plasma concentration-time profiles of radioactivity after a single intravenous (●) and oral (○) administration of [^{14}C]GRNX at a dose of 5 mg/kg in male rats.

Each point represents the mean \pm SD for three rats. In oral administration, rats were fasted before administration.

(Hionic-Fluor™) を加えて測定した。

各試料中の放射能は、液体シンチレーションカウンター (Tri-carb 2500TR, PerkinElmer) を用いて測定した。計数効率の補正は外部標準線源法により行い、放射能の検出限界をバックグラウンド値にその標準偏差の3倍を加えた値とした。

6. 薬物速度論的解析

各種動物における血漿中 GRNX (または放射能) 濃度を用いて、モデル非依存的解析により薬物動態パラメータを算出した。

7. 統計学的解析

GRNX の各種動物における薬物動態パラメータ ($T_{1/2}$ および CL/F) について、Tukey の多重比較により、各投与量間の有意性を検討した。なお有意水準は、両側 5% ($p < 0.05$) とした。

II. 結 果

1. 血漿中濃度推移

雄性ラットに [^{14}C] GRNX 5 mg/kg を単回静脈内または単回経口投与した後の血漿中放射能濃度推移を Fig. 2 に示す。静脈内投与および経口投与時の放射能の $AUC_{0-\infty}$ は、それぞれ $7.88 \pm 1.12 \mu\text{g eq.} \cdot \text{h/mL}$ および $5.59 \pm 2.50 \mu\text{g eq.} \cdot \text{h/mL}$ であった。これらの数値から見積もられた放射能のバイオアベイラビリティは 70.9% であった。また経口投与後、放射能はすみやかに吸収され、 T_{\max} , C_{\max} および $T_{1/2}$ は、それぞれ $0.33 \pm 0.14 \text{ h}$, $1.82 \mu\text{g/mL}$ および $2.08 \pm 0.70 \text{ h}$ であった。

雌雄のラット、イヌおよびサルに GRNX を単回経口投与した後の血漿中濃度推移を Fig. 3 に示す。雌性ラットの血漿中濃度は、雄性と比較して低く、雄性の $AUC_{0-\infty}$ の

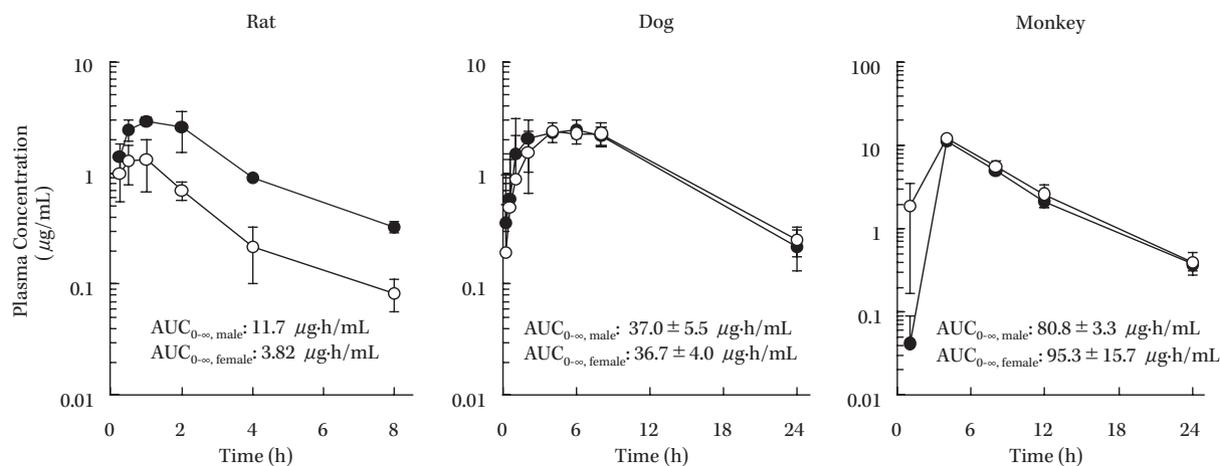


Fig. 3. Gender difference of plasma concentration-time profiles of GRNX after a single oral administration in rats, dogs, and monkeys. Plasma concentration-time profiles in male (●) and female (○) are shown. Each point represents the mean±SD for three animals. Dose in rats, dogs, and monkeys were 25, 8, and 25 mg/kg.

Table 1. Pharmacokinetic parameters of GRNX after a single oral administration in laboratory animals

Species (n)	Dose (mg/kg)	Pharmacokinetic parameters				
		T _{max} (h)	C _{max} (µg/mL)	T _{1/2} (h)	AUC _{0-∞} (µg·h/mL)	CL/F (L/h/kg)
Rat (3)	2	0.5	0.191	2.33	0.647	3.09
	5	0.5	0.679	1.74	2.02	2.47
	10	0.5	1.68	2.19	3.50	2.86
	25	1	2.93	2.12	11.7	2.14
Dog (3)	8	3.67 ± 2.52	2.90 ± 0.55	5.26 ± 0.12	37.0 ± 5.5	0.219 ± 0.034
	25	3.33 ± 1.16	7.94 ± 3.12	7.81 ± 2.85 ^{ns}	124 ± 31	0.209 ± 0.051 ^{ns}
	75	7.33 ± 1.16	29.2 ± 5.5	6.76 ± 0.55 ^{ns}	448 ± 73	0.170 ± 0.028 ^{ns}
Monkey (3 or 7 for 100 mg/kg)	25	4.00 ± 0.00	11.2 ± 1.2	4.14 ± 0.28	80.8 ± 3.3	0.310 ± 0.013
	50	4.00 ± 0.00	22.2 ± 2.4	4.41 ± 0.33 ^{ns}	197 ± 51	0.265 ± 0.063 ^{ns}
	100	4.57 ± 1.51	34.1 ± 12.3	5.29 ± 1.12 [*]	355 ± 148	0.381 ± 0.314 ^{ns}

Each value represents the mean ± SD. Pharmacokinetic parameters in rats were calculated from mean plasma concentration. ^{ns}: not significant (vs 8 mg/kg for dogs and 25 mg/kg for monkeys), * : p < 0.05 (vs 8 mg/kg for dogs and 25 mg/kg for monkeys, Tukey test).

約 33% であった。一方、イヌおよびサルは血漿中濃度は、雌雄でほぼ同様であり、性差は認められなかった。

2. 用量依存性

GRNX を雄性ラット、雄性イヌおよび雄性サルに各種投与量で単回経口投与した後の血漿中濃度推移から算出した薬物動態パラメータを Table 1 に示す。各動物種において、GRNX の C_{max} および AUC_{0-∞} は、投与量の増加にほぼ比例して増加した。見かけの全身クリアランス (CL/F) は、ラット、イヌおよびサルでそれぞれ 2.14~3.09, 0.170~0.219 および 0.265~0.381 L/h/kg と各投与量で同様の値であった。T_{1/2} は、ラット、イヌおよびサルでそれぞれ 1.74~2.33, 5.26~7.81 および 4.14~5.29 h であった。

3. 組織移行性

絶食下の雄性ラットに [¹⁴C] GRNX 5 mg/kg を単回経口投与した後の組織内濃度を Table 2 に示す。放射能は各組織および器官に広く移行し、投与後 15 分の放射能濃

度は、胃、小腸、肝臓、食道および腎臓では、血漿中濃度の 3.6~16 倍であった。また脾臓、顎下腺、副腎、舌下腺、脾臓、肺、心臓および骨髄では 1.0~1.9 倍であった。大脳および脊髄の放射能濃度は、他の組織および器官より低く、血漿中濃度の 0.02~0.04 倍であった。投与後 24 時間までの各組織および器官中濃度推移は、大動脈および皮膚等の一部を除き、血漿中濃度と平行に推移した。

4. 血清蛋白結合率

各種動物における GRNX の *in vitro* 血清蛋白結合率を Table 3 に示す。マウス、ラット、イヌおよびサルにおける血清蛋白結合率は GRNX 濃度に依存せず一定であり、マウスで 66.7~71.9%, ラットで 86.5~89.0%, イヌで 64.5~67.6% およびサルで 71.2~74.5% であった。また、ヒトにおける *in vitro* 血清蛋白結合率は 78.3~84.0% であった。

5. 尿中・糞中排泄率

雄性ラットおよびサルに [¹⁴C] GRNX 5 mg/kg を単回

Table 2. Tissue concentrations of radioactivity after a single oral administration of [¹⁴C]GRNX at a dose of 5 mg/kg in male rats

Tissue	Concentration ($\mu\text{g eq./mL or g}$)				
	15 min	2 h	6 h	24 h	72 h
Plasma	2.47 ± 0.52	0.98 ± 0.46	0.29 ± 0.08	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
Blood	1.85 ± 0.37	0.78 ± 0.37	0.22 ± 0.06	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
Cerebrum	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Eye ball	0.23 ± 0.04	0.21 ± 0.09	0.06 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Harderian gland	1.58 ± 0.41	1.64 ± 0.71	0.47 ± 0.07	0.06 ± 0.02	0.01 ± 0.00
Thyroid	2.32 ± 0.67	0.95 ± 0.52	0.40 ± 0.09	0.12 ± 0.06	0.06 ± 0.03
Sublingual gland	3.42 ± 0.67	2.23 ± 0.90	0.63 ± 0.13	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01
Submaxillary gland	3.81 ± 0.90	1.91 ± 1.00	0.52 ± 0.10	0.02 ± 0.02	0.02 ± 0.01
Lymph node	1.36 ± 0.32	1.16 ± 0.51	0.33 ± 0.08	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00
Thymus	0.88 ± 0.23	1.02 ± 0.43	0.25 ± 0.04	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
Lung	2.80 ± 0.60	1.67 ± 0.80	0.60 ± 0.19	0.08 ± 0.04	0.05 ± 0.00
Heart	2.68 ± 0.66	1.29 ± 0.61	0.35 ± 0.10	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
Pancreas	4.60 ± 0.51	2.30 ± 1.20	0.63 ± 0.09	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.00
Spleen	2.89 ± 0.54	1.51 ± 0.64	0.45 ± 0.05	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.00
Adrenal	3.68 ± 0.94	1.59 ± 0.68	0.47 ± 0.14	0.03 ± 0.02	0.01 ± 0.00
Kidney	8.83 ± 0.95	3.68 ± 1.79	1.18 ± 0.20	0.11 ± 0.06	0.04 ± 0.01
Liver	19.0 ± 3.89	6.23 ± 2.33	2.67 ± 0.57	0.17 ± 0.12	0.05 ± 0.01
Esophagus	9.10 ± 7.05	0.98 ± 0.46	0.45 ± 0.21	0.03 ± 0.03	0.01 ± 0.00
Stomach	39.3 ± 4.40	5.21 ± 3.11	1.48 ± 0.78	0.09 ± 0.09	0.02 ± 0.00
Small intestine	27.2 ± 16.8	3.42 ± 4.05	0.53 ± 0.27	0.10 ± 0.15	0.01 ± 0.00
Rectum	1.94 ± 1.02	1.38 ± 1.02	5.54 ± 3.08	0.56 ± 0.55	0.02 ± 0.01
Testis	0.12 ± 0.02	0.72 ± 0.28	0.63 ± 0.04	0.08 ± 0.04	0.00 ± 0.00
Epididymis	0.42 ± 0.11	0.91 ± 0.41	0.29 ± 0.03	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00
Seminal vesicle	0.69 ± 0.16	0.79 ± 0.34	0.34 ± 0.21	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00
Prostate gland	1.22 ± 0.35	1.45 ± 0.56	1.05 ± 0.29	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00
Bladder	0.83 ± 0.32	5.46 ± 5.47	1.14 ± 0.85	0.06 ± 0.05	0.02 ± 0.00
Skin	0.74 ± 0.31	0.68 ± 0.25	0.22 ± 0.05	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.00
Muscle	1.10 ± 0.40	1.08 ± 0.49	0.25 ± 0.03	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
Fat	0.21 ± 0.06	0.12 ± 0.06	0.05 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Aorta	0.71 ± 0.30	0.55 ± 0.37	0.21 ± 0.04	0.18 ± 0.09	0.13 ± 0.02
Spinal cord	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.04	0.02 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Bone	0.83 ± 0.16	0.52 ± 0.23	0.18 ± 0.03	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.00
Bone marrow	2.53 ± 0.52	1.42 ± 0.78	0.38 ± 0.09	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00
Cartilage	0.85 ± 0.10	0.82 ± 0.37	0.37 ± 0.07	0.09 ± 0.03	0.03 ± 0.00
Achilles tendon	0.27 ± 0.08	0.61 ± 0.33	0.28 ± 0.05	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00

Each value represents the mean ± SD for three rats. Rats were fasted before administration.

経口投与した後の、尿、糞および呼気中排泄率を Table 4 に示す。ラットにおいて、投与後 96 時間までの尿、糞および呼気中に、それぞれ投与した放射能の 13.0, 84.8 および 0.01% が排泄され、累積総排泄率は 97.8% であった。また投与後 96 時間での体内残存率は 0.35% であり、放射能の残留性は低かった。サルにおいては、投与後 168 時間までの尿および糞中にそれぞれ投与した放射能の 38.9 および 60.7% が排泄され、累積総排泄率は 99.6% であった。

GRNX を雄性ラットおよび雄性イヌに各種投与量で単回静脈内 (ラット) または単回経口投与 (イヌ) した後の投与後 24 時間までの尿中排泄率を Table 5 に示す。尿中排泄率は、ラットにおいて投与量の増加に伴い低下し、2 mg/kg 投与時と比較して 60 mg/kg では約 50% であった。一方、イヌにおける尿中排泄率は、9.61~10.6%

とラットと比較して低かったが、各投与量ではほぼ同様の値であった。

6. 胆汁中・尿中排泄

雌雄のラットに [¹⁴C]GRNX 25 mg/kg を単回経口投与した後の胆汁中および尿中の累積放射能排泄率を Fig. 4 に示す。投与後 48 時間までに胆汁中および尿中に、雄性で 65.7 および 16.7%, 雌性で 72.5 および 13.5% の放射能が排泄され、排泄率に性差は認められなかった。また投与後 48 時間までの総放射能排泄率は雄性で 82.4%, 雌性で 86.0% であり、両性でほぼ同様であった。

7. 胎盤透過性

器官形成期 (妊娠 13 日目) および妊娠末期 (妊娠 19 日目) の雌性ラットに、 [¹⁴C]GRNX 5 mg/kg を単回経口投与した後の母獣および胎仔の組織内濃度を Table 6 に示す。投与後 0.5 h の母獣の血漿中放射能濃度は、器官形

成期および妊娠末期でそれぞれ 0.28 および 0.24 $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$ であり、ほぼ同様であった。また、この時の胎仔中放射能濃度は、器官形成期および妊娠末期でそれぞれ 0.08 $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$ であり、放射能は胎盤を通過し胎仔に移行した。

8. 乳汁中移行

分娩後 14 日の授乳中の雌性ラットに [^{14}C] GRNX 5 mg/kg を単回経口投与した後の血漿および乳汁中濃度推移を Fig. 5 に示す。経口投与後、GRNX は乳汁に移行し、乳汁および血漿中放射能濃度は投与後 0.5 h で、それぞれ 0.69 および 0.32 $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$ であった。投与後 6 時間

まで、乳汁中放射能濃度は血漿中放射能濃度の約 2.3~2.8 倍で推移した。

III. 考 察

雄性ラットに [^{14}C] GRNX を経口投与した後、放射能はすみやかに吸収され、放射能のバイオアベイラビリティは 70.9% であった (Fig. 2)。これまでに非標識 GRNX を静脈内投与および経口投与した時の血漿中には、大部分が未変化体として存在し、バイオアベイラビリティが 77.2% であることが報告されている³⁾。そのため、本検討で得られた血漿中放射能濃度の大部分は未変化体濃度を反映していると考えられ、バイオアベイラビリティもほぼ一致していることから、GRNX の良好な吸収が確認された。また、この GRNX の良好な吸収は、ラットに [^{14}C] GRNX を経口投与した後の胆汁中および尿中の総放射能排泄率が 80% 以上 (Fig. 4) であったことから裏づけられた。なおキノロン系抗菌薬であるガチフロキサシンおよびモキシフロキサシンのラットにおけるバイオアベイラビリティは、それぞれ 93%⁴⁾ および 78%⁵⁾ であった。またラット以外の動物種については、イヌおよびサルにおけるバイオアベイラビリティがそれぞれ 71.6% および 75.7% であったことから³⁾、動物種に関係なく GRNX は良好な吸収性を示すと考えられた。

ラット、イヌおよびサルにおける経口投与後の血漿中 GRNX の C_{max} および $\text{AUC}_{0-\infty}$ は、各動物種ともに投与量の増加に伴って増加し、 CL/F は投与量に関係なく各動物種でほぼ一定であった (Table 1)。この結果から、これら動物種における血漿中 GRNX 濃度は、検討した投与量の範囲で線形性を示すことが示唆された。また、本検討ではラットにおける GRNX の尿中排泄率が投与量の増加に伴って低下した (Table 5)。これまでに、GRNX の蛋白非結合型分率で補正した腎クリアランスが、ラットでは糸球体ろ過速度よりも高く、GRNX の尿中排泄に糸球体ろ過に加えて尿細管分泌が関与することが示唆されている³⁾。そのため、この尿中排泄率の低下は、尿細管分泌の阻害による可能性が高いと考えられた。一方、イヌ

Table 3. *In vitro* serum protein binding of GRNX in laboratory animals and humans

Species	GRNX Concentration in serum ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Protein binding (%)
Mouse	0.5	71.9 \pm 0.9
	2	71.4 \pm 0.3
	10	70.1 \pm 0.4
	100	66.7 \pm 2.1
Rat	0.5	88.6 \pm 0.5
	2	89.0 \pm 0.4
	10	88.0 \pm 0.4
	100	86.5 \pm 0.1
Dog	0.5	66.0 \pm 2.6
	2	66.7 \pm 2.4
	10	64.5 \pm 2.5
	100	67.6 \pm 2.7
Monkey	0.5	74.5 \pm 1.2
	2	72.9 \pm 1.6
	10	71.6 \pm 0.5
	100	71.2 \pm 2.4
Human	0.5	84.0 \pm 0.3
	2	82.7 \pm 0.9
	10	83.9 \pm 0.5
	100	78.3 \pm 0.9

Each value represents the mean \pm SD (n = 3). Strains and gender: mouse (ICR, male), rat (Crlj; CD (SD), male), dog (beagle, male), and monkey (cynomolgus, male).

Table 4. Cumulative recovery of radioactivity in urine, feces, and expired air after a single oral administration of [^{14}C]GRNX at a dose of 5 mg/kg in male rats and monkeys

Species	Time (h)	Cumulative recovery (% of dose)			
		Urine	Feces	Expired air	Total
Rats	0-6	9.58 \pm 1.66	Not tested.	Not tested.	Not applicable.
	0-24	12.8 \pm 2.2	83.7 \pm 1.1	0.00 \pm 0.00	96.5 \pm 1.9
	0-48	12.9 \pm 2.3	84.6 \pm 1.3	0.00 \pm 0.00	97.5 \pm 2.7
	0-72	13.0 \pm 2.4	84.7 \pm 1.4	0.00 \pm 0.00	97.7 \pm 2.9
	0-96	13.0 \pm 2.4	84.8 \pm 1.4	0.01 \pm 0.00	97.8 \pm 2.9
Monkeys	0-24	35.9 \pm 10.7	30.3 \pm 15.6	Not tested.	Not applicable.
	0-48	37.9 \pm 9.5	57.7 \pm 8.0		Not applicable.
	0-96	38.5 \pm 9.3	60.2 \pm 9.0		Not applicable.
	0-168	38.9 \pm 9.2	60.7 \pm 9.2		99.6 \pm 0.3

Residual radioactivity in the rat carcass at 96 h was 0.35 \pm 0.05% of the dose. Each value represents the mean \pm SD of three rats. Rats were fasted before administration.

では腎クリアランスが糸球体ろ過速度よりも低く、尿細管再吸収の関与が示唆されていることから³⁾、イヌの尿中排泄率がラットより低かった原因として、尿細管再吸収の影響が考えられた。また、ヒトではラットと同様、投与量の増加に伴って低下していることから⁶⁾、ヒトにおいても尿細管分泌が関与していることが考えられた。

ラットを用いた組織移行試験では、大脳および脊髄などの組織を除く、各組織および器官に広く移行した (Table 2)。ラットにおける GRNX の分布容積の数値として、既報において 0.88 L/kg が得られている³⁾。この値は全体液容積 (0.6 L/kg) より大きく、GRNX が良好な組織移行を示す結果と一致する。また、ヒトに GRNX を投与した後の気管支粘膜、気管支粘膜内層液および肺胞マクロファージ中の GRNX 濃度は、血漿中濃度と同等またはそ

れ以上であること⁷⁾、ならびに副鼻腔粘膜、中耳粘膜および口蓋扁桃組織等の耳鼻科領域組織への移行性が良好であったことから (未発表データ)、本検討での結果はヒトにおける GRNX の良好な組織移行性を裏づける結果と考えられた。なおラットにおいて、大動脈および皮膚等からの放射能の消失が、他の組織・器官と比較して緩慢であった (Table 2)。これら組織は、イヌおよびサルを用いた反復経口投与毒性試験において、長期間投与することにより赤紫色または紫色の組織着色が認められている。しかしながら、着色に関連すると考えられる病理組織学的な変化は認められておらず、また休薬により回復性を示す (未発表データ)。また本検討において、ラットおよびサルに [¹⁴C] GRNX を投与した後、放射能の大部分が体外に排泄されたことから (Table 4)、きわめて微量の物質が着色に関連していると考えられた。また GRNX は、胎盤を透過し胎仔へ移行すること、ならびに乳汁中へも移行することから、妊娠中および授乳中の患者への投与は、患者への利益を考慮して慎重に行う必要があると思われた。

GRNX の *in vitro* 血清蛋白結合率は、各種動物で濃度によらず一定であり、血清蛋白との結合について線形性が保たれていると考えられた (Table 3)。また、ヒト *ex vivo* 血清蛋白結合率は、投与後 3 時間で 75~79% であり⁸⁾、*in vitro* 血清蛋白結合率とほぼ同様の値であったことから、血液中に存在する代謝物が GRNX の蛋白結合率に及ぼす影響は低いと考えられた。

ラットの GRNX の曝露量は、雌性において雄性と比較して低く (雄性の $AUC_{0-\infty}$ の約 33%)、性差が認められた

Table 5. Dose dependence of urinary recovery of GRNX after a single intravenous (rats) or oral (dogs) administration in male rats and male dogs

Species	Route	Dose (mg/kg)	n	Urinary recovery (%)
Rat	iv	2	4	21.0 ± 5.79
		5	6	16.4 ± 6.11
		10	4	14.5 ± 4.35
		30	4	13.3 ± 1.25
		60	5	10.4 ± 1.83
Dog	po	8	3	10.6 ± 1.33
		25	5	9.61 ± 2.97
		75	5	9.66 ± 3.86

Each value represents the mean ± SD. Urinary recovery from time zero to 24 h was shown.

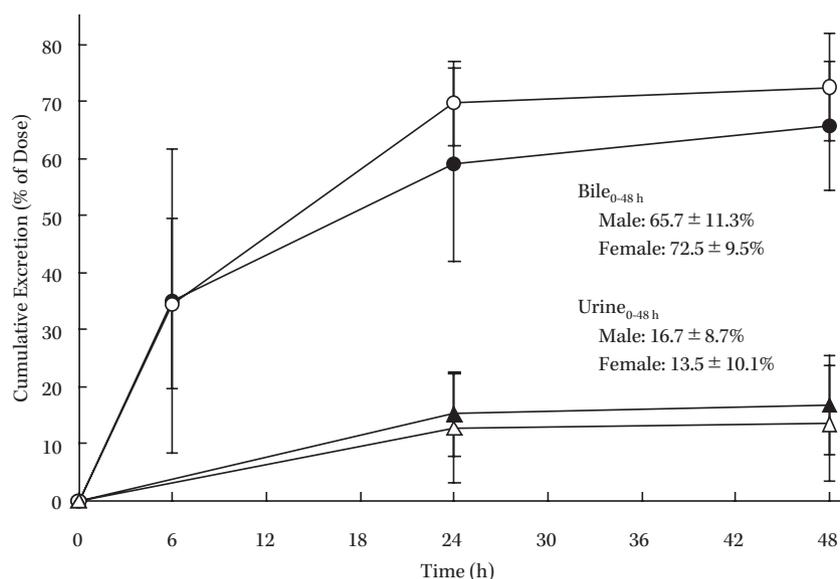


Fig. 4. Biliary (○ and ●) and urinary (△ and ▲) excretion of radioactivity after a single oral administration of [¹⁴C]GRNX at a dose of 25 mg/kg in male and female rats.

Closed and open symbols are results from male and female rats. Each point represents the mean ± SD for three rats. Rats were fasted before administration.

Table 6. Tissue concentration of radioactivity after a single oral administration of [¹⁴C]GRNX at a dose of 5 mg/kg in pregnant rats

Tissue		Concentration ($\mu\text{g eq./mL or g}$)					
		Gestation 13 days			Gestation 19 days		
		0.5 h	6 h	24 h	0.5 h	6 h	24 h
Maternal	Plasma	0.28 \pm 0.08	0.02 \pm 0.01	Not detected.	0.24 \pm 0.05	0.04 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	Blood	0.22 \pm 0.07	0.02 \pm 0.01	Not detected.	0.20 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	Kidney	0.99 \pm 0.38	0.10 \pm 0.06	0.00 \pm 0.00	1.13 \pm 0.22	0.20 \pm 0.06	0.01 \pm 0.00
	Liver	2.35 \pm 0.71	0.29 \pm 0.19	0.01 \pm 0.00	2.48 \pm 0.38	0.67 \pm 0.25	0.01 \pm 0.01
	Heart	0.40 \pm 0.13	0.03 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00	0.40 \pm 0.08	0.07 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
	Lung	0.45 \pm 0.15	0.04 \pm 0.02	0.01 \pm 0.00	0.42 \pm 0.09	0.10 \pm 0.03	0.01 \pm 0.00
	Cerebrum	0.01 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	Not detected.	0.01 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	Not detected.
	Muscle	0.21 \pm 0.05	0.02 \pm 0.01	Not detected.	0.18 \pm 0.05	0.05 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	Mammary gland	0.19 \pm 0.10	0.02 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00	0.31 \pm 0.05	0.06 \pm 0.03	0.01 \pm 0.00
	Ovary	0.24 \pm 0.10	0.03 \pm 0.01	Not detected.	0.37 \pm 0.26	0.06 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00
	Uterus	0.26 \pm 0.08	0.03 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00	0.22 \pm 0.10	0.04 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00
	Placenta	0.26 \pm 0.08	0.04 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00	0.21 \pm 0.05	0.06 \pm 0.02	0.01 \pm 0.01
	Amnion	0.36 \pm 0.11	0.05 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00	0.48 \pm 0.09	0.28 \pm 0.09	0.03 \pm 0.02
Amniotic fluid	0.03 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00	Not detected.	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	
Fetal	Fetus	0.08 \pm 0.03	0.01 \pm 0.00	Not detected.	0.08 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	Blood				0.05 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	Kidney				0.09 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	Liver				0.17 \pm 0.04	0.06 \pm 0.02	0.00 \pm 0.00
	Heart		Not tested.		0.08 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01	Not detected.
	Lung				0.08 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
	Brain				0.04 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	Not detected.
	Muscle				0.07 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
Gastrointestinal tract				0.11 \pm 0.03	0.06 \pm 0.01	0.03 \pm 0.02	

Each value represents the mean \pm SD of three rats.

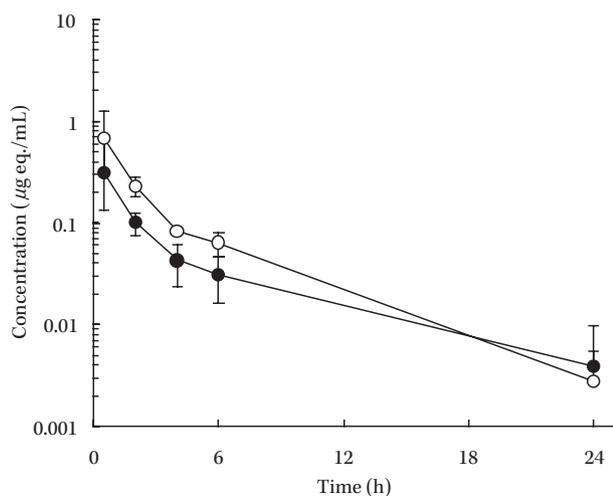


Fig. 5. Radioactivity concentrations in milk (○) and plasma (●) after a single oral administration of [¹⁴C]GRNX at a dose of 5 mg/kg in lactating rats.

Each point represents the mean \pm SD of four or five rats.

が(Fig. 3), 放射能の胆汁中および尿中の排泄率は雌雄で同様の値であった (Fig. 4)。このことから, GRNX の曝露量の性差は吸収ではなく代謝の性差に起因すると考えられた。GRNX の代謝は第一相反応をほとんど受けず, 主に第二相反応を受けて GRNX の硫酸抱合体 (M1) およびグルクロン酸抱合体 (M6) を生成する³⁾。硫酸抱合体の

生成に関与する硫酸転移酵素のなかにはラットにおいて雌で有意な分子種があることから⁹⁾, M1 生成活性が雌で高い可能性が考えられた。これらのことから, ラットで認められた GRNX 曝露量の性差の原因の一つとして, 代謝反応の性差が考えられた。

謝 辞

本検討におけるサルを用いた検討は, 株式会社新日本化学安全性研究所または株式会社生体科学研究所において実施されたものであり, 試験責任者角崎英志氏および奥山光伸氏をはじめとする試験従事者諸氏に対し, ここに謹んで感謝いたします。

文 献

- 1) Takahata M, Mitsuyama J, Yamashiro Y, Yonezawa M, Araki H, Todo Y, et al: *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of T-3811 ME, a novel des-F(6)-quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1077-84
- 2) Fung-Tomc J C, Minassian B, Kolek B, Huczko E, Aleksunes L, Stickle T, et al: Antibacterial spectrum of a novel des-fluoro(6) quinolone, BMS-284756. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3351-6
- 3) Hayakawa H, Fukushima Y, Kato H, Fukumoto H, Kadota T, Yamamoto H, et al: Metabolism and disposition of novel des-fluoro quinolone Garenoxacin in experimental animals and an interspecies scaling of pharmacokinetic parameters. *Drug Metab Dispos*

- 2003; 31: 1409-18
- 4) 大家 毅, 石川紅美, 町田正明, 草嶋久生, 石田了三, 内田 広: 新キノロン系抗菌薬 gatifloxacin およびその光学異性体の体内動態, I. 各種実験動物における体内動態。日化療会誌 1999; 47(Suppl 2): 112-23
 - 5) Siefert H M, Domdey-Bette A, Henninger K, Hucke F, Kohlsdorfer C, Stass H H: Pharmacokinetics of the 8-methoxyquinolone, moxifloxacin: a comparison in humans and other mammalian species. J Antimicrob Chemother 1999; 43(Suppl B): 69-76
 - 6) Gajjar D A, Bello A, Ge Z, Christopher L, Grasela D M: Multiple-dose safety and pharmacokinetics of oral garenoxacin in healthy subjects. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 2256-63
 - 7) Andrews J, Honeybourne D, Jevons G, Boyce M, Wise R, Bello A, et al: Concentrations of garenoxacin in plasma, bronchial mucosa, alveolar macrophages and epithelial lining fluid following a single oral 600 mg dose in healthy adult subjects. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 727-30
 - 8) Bello A, Hollenbauch D, Gajjar D, Christopher L, Grasela D. *Ex vivo* serum protein binding of BMS-284756: Impact on the unbound AUC/MIC ratio for *Streptococcus pneumoniae*. Abstr 41st Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother in Chicago. September 2001; p. 8, A-45
 - 9) Liu L, Klaassen C D: Ontogeny and hormonal basis of female-dominant rat hepatic sulfotransferases. J Pharmacol Exp Ther 1996; 279: 386-91

Pharmacokinetics of garenoxacin in laboratory animal species

Hiroshi Kato, Hiroyoshi Hayakawa, Yoko Fukushima,
Takumi Kadota, Hiroyuki Fukumoto and Yozo Todo

Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd., 2-4-1, Shimookui, Toyama, Japan

The pharmacokinetics of a novel des-fluoro(6)-quinolone antibacterial agent, garenoxacin mesilate hydrate (GRNX), was investigated using several laboratory animal species. GRNX was rapidly absorbed and widely distributed into most tissues/organs except the cerebrum and spinal cord. Radioactivity was completely excreted from the body after the administration of [¹⁴C] GRNX in rats and monkeys, suggesting low persistence of GRNX. The linearity of systemic exposure on laboratory animal species was suggested among the dose range tested in this study (rats: 2 to 25 mg/kg, dogs: 8 to 75 mg/kg, and monkeys: 25 to 100 mg/kg). The *in vitro* serum protein binding of GRNX was consistent in GRNX concentrations tested on mice, rats, dogs, monkeys, and humans (mice: 66.7 to 71.9%, rats: 86.5 to 89.0%, dogs: 64.5 to 67.6%, monkeys: 71.2 to 74.5%, and humans: 78.3 to 84.0%). The urinary recovery of GRNX in rats decreased with increasing dose. However, that in dogs was consistent at each dose; species difference was observed in the urinary excretion of GRNX. Systemic exposure of GRNX in female rats was lower than that in male rats (about 33% of AUC_{0-∞} in male), the gender difference was observed. No gender difference was observed in biliary and urinary excretion of radioactivity. One of the reasons for the gender difference in systemic exposure of GRNX is GRNX metabolism.