

原 著

## Rifampicin の 人 体 内 代 謝 (第 1 報)

中 川 英 雄・砂 原 茂 一

国 立 療 養 所 東 京 病 院

受 付 昭 和 48 年 1 月 22 日

METABOLISM OF RIFAMPICIN IN THE HUMAN  
BODY (1st report)\*

Hideo NAKAGAWA and Shigeichi SUNAHARA

(Received for Publication January 22, 1973)

The metabolism of Rifampicin after the oral administration to man is the subjects of interest. Biological assay is usually applied for the determination of Rifampicin, but the absolute values reported are considerably different, depending on the method used. The authors recently developed a reliable chemical method to determine serum and urinary Rifampicin, and had an opportunity to investigate the metabolism of the drug in man by using the chemical assay in place of unstable biological assay heretofore in use. The present paper discussed a number of remarkable findings obtained from observation of 13 patients with pulmonary tuberculosis during continuous administration of Rifampicin, 450 mg daily.

## Methods

Chemical determination of Rifampicin was done as follows:

## I) Serum Rifampicin

Serum	1 ml	
Water	1 ml	Extracted with 3 ml isoamylalcohol
Phosphate buffer (pH 7)	1 ml	

Measurement of 335 mu extinction

## II) Urinary Rifampicin

## 1) Total Rifampicin (Rifampicin and desacetyl-Rifampicin)

Original or diluted urine	2 ml	
Phosphate buffer (pH 7)	1 ml	Extracted with 2 ml isoamylalcohol

Measurement of 475 mu extinction

## 2) Rifampicin

Original or diluted urine	2 ml	Extracted with 1 ml benzene and 1 ml
Phosphate buffer (pH 7)	1 ml	hexane

Measurement of 475 mu extinction

## 3) Desacetyl-Rifampicin

Calculated as a difference between the values of 1) and 2)

## III) Rifampicin in feces

\* From the Tokyo National Chest Hospital, Takeoka 3-1-1, Kiyose-shi, Tokyo, 180-04, Japan.

24 hour feces                      Kept for 5 ~ 6 hours, agitating sometimes  
Water 1,000 ml

The same assay method as that for urinary total Rifampicin was applied to the supernatant.

TLC analysis of the urinary Rifampicin metabolites: Rifampicin and its derivatives Rifampicin and its derivatives extractable with a benzene-hexane (1 : 1) mixture solvent were analyzed by TLC techniques. Desacetyl-Rifampicin and its derivatives could scarcely be extracted in this solvent. Simultaneous use of the other antituberculous agents was allowed except the day of examination, once a month.

### Results

After the oral administration of 450 mg Rifampicin 30 minutes before breakfast, the average serum levels of 13 cases were 11.2 mcg/ml at 2 hours, 9.2 at 4 hours and 7.2 at 6 hours in the primary administration. The half-life of serum Rifampicin being estimated was 6.7 hours based on the average of 12 cases except one case showing an abnormal pattern in serum Rifampicin levels.

Rifampicin excreted in 24 hours' urine following the primary administration was 117.2 mg on the average of 12 cases, and its recovery corresponded to 26.0% of the dose. The renal excretion of Rifampicin observed in 2 hours' interval was maximum in 2 ~ 4 hour urine. The excretion patterns of Rifampicin were classified into three different types: namely, so called standard type showing one peak was found in 9 of 13 cases; fluctuation type showing two peaks was found in 3 cases; abnormal type, which showed a very low excretion pattern was found in only one case.

A considerable individual difference in the amount of Rifampicin excreted in 24 hours' urine was noted, especially, in the primary administration, ranging from 172.5 mg to 65.6 mg. In the renal clearance of Rifampicin calculated in 2 ~ 4 hours, too, a significant individual difference was found, and it was revealed that the renal clearance correlated considerably with the amount of Rifampicin excreted in 24 hours' urine. A good correlation was seen between the serum Rifampicin level, which summed tentatively the serum concentrations of Rifampicin at 2, 4 and 6 hours, and the amount of Rifampicin excreted in 24 hours' urine of each individual case observed after primary administration and one month continuous administration. However, a qualitative difference was found among different subjects. These results may suggest that there is a qualitative individual difference in the Rifampicin metabolism.

During continuous administration of Rifampicin, a significant decrease was found in the serum Rifampicin levels and the amount of urinary Rifampicin. As the decrease was observed only within one month, it was presumed that such a change should occur in an initial stage of the continuous administration. This phenomenon suggests that a change might occur in the metabolism of Rifampicin according to the repeated administration.

Upon investigation of the metabolites of Rifampicin in urine, existence of 3-formyl-Rifampicin SV was confirmed besides well known desacetyl-Rifampicin. This was proved by a TLC development of benzene-hexane (1 : 1) solvent extracts which contains all of Rifampicin and its metabolites except desacetyl-Rifampicin. The Rf of the urinary 3-formyl-Rifampicin SV developed with a chloroform-methanol (9 : 1) was 0.42, very similar to 0.44 of desacetyl-Rifampicin. Accordingly, TLC analysis with the chloroform or toluene extracts which contains also desacetyl-Rifampicin fail to detect the 3-formyl-

Rifamycin SV, if it is developed with the chloroform-methanol (9 : 1) solvent. It was further noted that the amount of 3-formyl-Rifamycin SV in urine competed with that of desacetyl-Rifampicin.

A little amount of Rifampicin-quinone was detected in urine. There is a question whether it is a physiological metabolite of Rifampicin or not, because Rifampicin may be oxidized naturally in the aqueous solution. However, we wish to point out here a remarkable fact that Rifampicin is promptly oxidized by a salivary oxidation catalyst into Rifampicin-quinone in the stomach juice after intake of meal.

Furthermore, an unknown yellow pigment with a high water-solubility was discovered. This pigment also may be considered as a physiological metabolite of Rifampicin, as it is detected in the urine only after the administration of Rifampicin.

抗菌スペクトルの広い Rifampicin (RFP と略) の臨床的効用はすでに数多く報告され<sup>1)2)</sup>, とりわけ結核菌に対する作用が注目され, 強力な抗結核剤として今や結核の臨床に画期的期待が寄せられている<sup>3)</sup>. しかしこの薬物の投与方法, 代謝および副作用等にはまだ不明な点が多い<sup>4)~8)</sup>. 抗結核剤として, 長期かつ大量に投与されることを考えるとき, これらの点はできるだけ明らかにされていることが望まれる。

他の多くの化学療法剤の代謝研究と同じく, この薬物についても諸検体中の濃度はほとんど生物学的測定法で検討されてきているので, 真の代謝をはたしてどれだけとらえているかも一応問題にする必要がある。

われわれは最近尿および血清中の RFP および尿中 desacetyl-RFP を化学的に定量化する信頼すべき方法を考案し, この代謝をより確かな定量値で再検討する機会を得た。

本報では入院中の肺結核患者に RFP を継続投与中の生体内代謝を中心に述べ, この薬物代謝にみるいくつかの問題点を指摘したい。

## 実験方法

### 1) 血清 RFP の定量

円底遠沈試験管に血清 1 ml をとり, 水 1 ml と phosphate buffer (40 ml, M/15  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ +60 ml, M/15  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; pH 7) 1 ml を加え, 混和後 isoamylalcohol 3 ml とともに激しく振盪 (mixer で約 1 分間) する。しかるのちこれを約 3,000 r.p.m. で 5 分間遠沈するが, 多くは血清蛋白の変性凝固によって isoamylalcohol 相の分離が容易でない。その場合にはその凝固物を硝子棒でよく潰し, 再遠沈を行う。分離した isoamylalcohol 抽出液の 335 m $\mu$  吸光度を抽出溶媒 (isoamylalcohol) を blank として分光光度計で読み, 既製の RFP 検量線よりその濃度を求める。なおこの検量線は健常な 5~10 人の空腹時血清を混じたものに RFP を加えて作製した。

### 2) 尿中総 RFP の定量

円底遠沈試験管に原尿, もしくは RFP 濃度を 100 mcg/ml 以下になるよう適宜に希釈した尿 2 ml をとり, これに phosphate buffer 1 ml を加え, 混和後これを isoamylalcohol 2 ml とともに十分振盪 (mixer で 1 分間) する。これを 3,000 r.p.m. で 3 分間遠沈し, 分離した isoamylalcohol 抽出液の 475 m $\mu$  吸光度を読み, 既製の検量線よりその濃度を求める。検量線作製にあつての溶媒は水を用いた。

### 3) 尿中 RFP の定量

尿中総 RFP と同じ希釈尿 2 ml を円底試験管にとり, phosphate buffer (pH 7) 1 ml を加えて混和し, benzene, hexane の等量混合溶媒 2 ml とともに十分振盪 (mixer で 1 分間) する。のち 3,000 r.p.m., 3 分間遠沈し, 分離した有機溶媒相の 475 m $\mu$  吸光度を抽出溶媒, もしくは hexane を blank として読み, 既製の検量線よりその濃度を求める。

溶媒が揮発性であるため, parafilm で cap を施し, 操作はできるだけ速やかに行うべきである。また抽出遠沈後, 有機溶媒層に絮状物を見, 分離を困難とするときは, 軽く振つて再遠沈することが望まれる。なお検量線作製にあつての溶媒は水を用いた。

### 4) 尿中 desacetyl-RFP の定量化

尿中総 RFP 濃度より RFP 濃度の差引きとして算出される。

### 5) 糞便中総 RFP の定量

1日の全糞便を水 1,000 ml で処理し, 水に抽出される RFP 量を尿中総 RFP の化学定量と同様に求めた。

### 6) 尿中 RFP 代謝物のクロマト分析

尿中の総 RFP を chloroform で抽出, また desacetyl-RFP 以外の RFP を benzene, hexane の等量混合溶媒で抽出し, それぞれ TLC aluminium sheet silica gel (Merck) に sampling し, chloroform : methanol (9 : 1) の混合溶媒で展開, 分析した。

### 7) RFP 投与方法と試料採取

国療東京病院に入院中の肺結核患者13例に1日450 mg の RFP を連日投与し, 数ヶ月にわたる RFP の血清濃

度および尿中排泄量の変化を1カ月単位で観察した。なお本研究に選ばれた患者の多くは比較的重症で、また RFP 単独使用は患者および主治医ともに好まず、したがって他の抗結核剤が、しかも各患者まちまちで併用されたことを明記しなければならない。ただし検査当日は RFP 単独投与で試料が採取された。また毎回一定条件として、午前7時にまず完全に排尿、直ちに RFP 450 mg を内服させ、約 30 分後に朝食をとることを基本づけた。内服後 2, 4, 6 時間でおのおの 4 ml 採血し、尿は1日の前半 12 時間までを2時間ごとに分別採取し、後半 12 時間を蓄尿とした。

実験成績

1) RFP 内服後のその血清濃度と半減期

多くは2時間値を最高とするが、その個人差は著しい (Fig. 1)。極端な低値を示す1例の例外を除く12例の平均3時点値は毎回とも直線上にきれいに乗り、代謝の円滑さが窺われる。

Fig. 1. Serum Rifampicin Levels after the Single Dose of 450 mg Rifampicin Administered 30 Minutes before Breakfast, in 13 Different Subjects

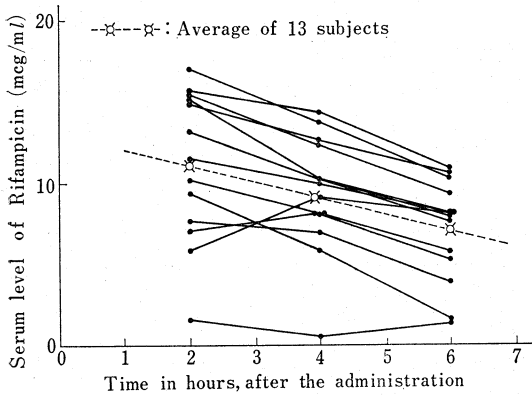
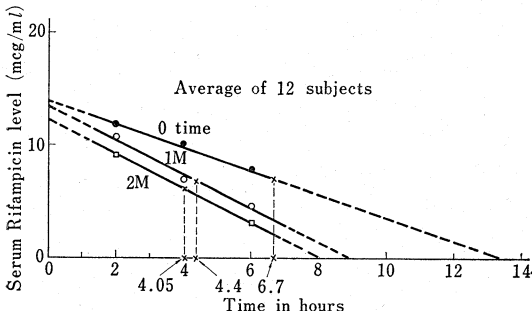


Fig. 2. Serial Change in the Half-life of Serum Rifampicin during Continuous Administration of Rifampicin



0 time : Primary administration.  
 1 M : After one month continuous administration  
 2 M : After two months continuous administration.

減衰直線より推定される人体内 RFP の半減期は、初期投与時には 6.7 時間であるのに、1 カ月後には 4.5 時間と有意に短縮し、以後はほぼ一定化する傾向を認め、初期における代謝の経時的变化が窺われる。(Fig. 2)

2) RFP の尿中排泄と個人差

1 例を除外する 12 例の平均で調べた、尿中への総 RFP 排泄パターンは4時間値を最高とする一峰性の山を描く (Fig. 3)。継続投与による変化は当初の2時間排 Fig. 3. Urinary Excretion Pattern of Rifampicin after the Single Dose of 450 mg Rifampicin, and Serial Change in its Urinary Excretion during Daily Continuous Administration

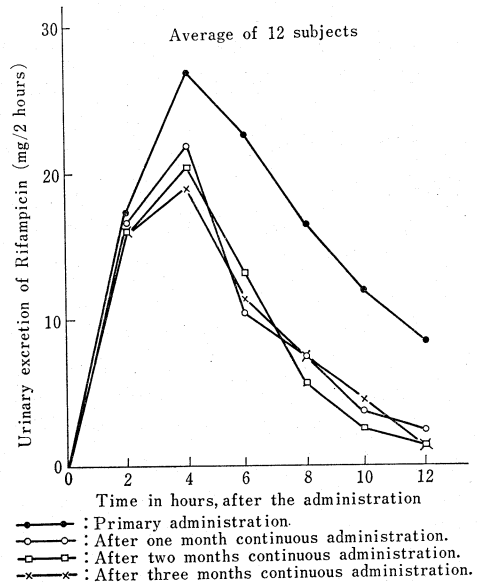


Fig. 4. Serial Change in the Urinary Excretion Amounts of Rifampicin during Continuous Administration, 450 mg Rifampicin per Day

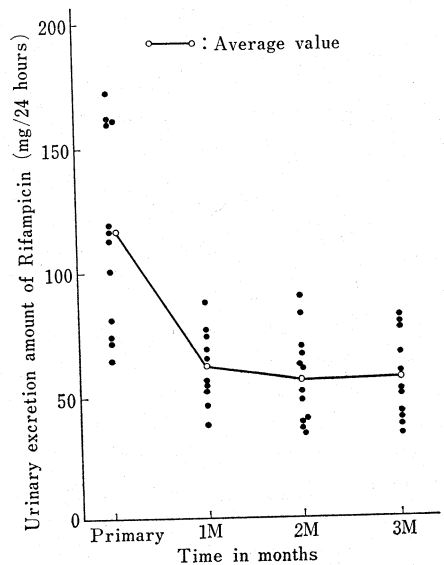
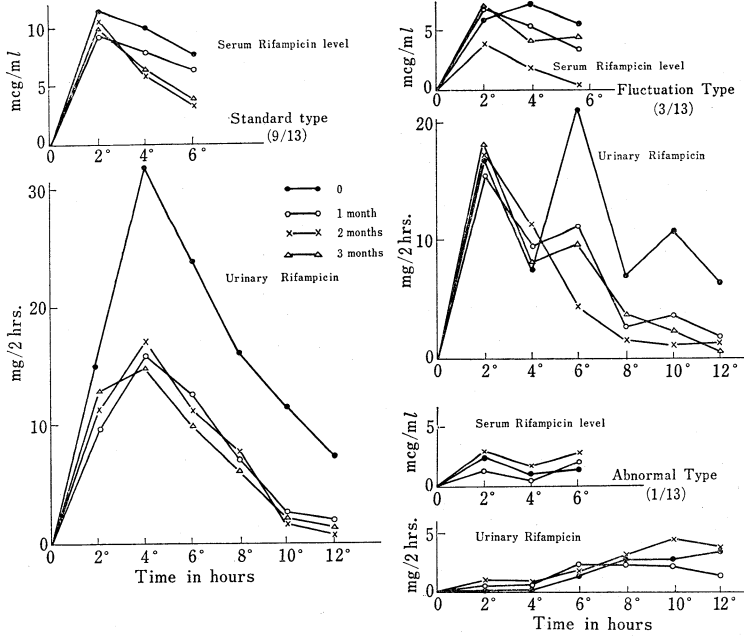
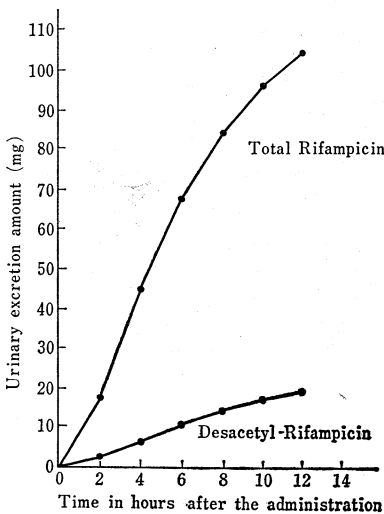


Fig. 5. Different Types in the Renal Excretion Pattern of Rifampicin after the Single Dose of 450 mg Rifampicin Administered 30 Minutes before Breakfast



泄量には認めたいが、以後の排泄量で明らかとなり、血清値にみられたのと同様、1カ月以内に著しい低下を示し、以後恒常化する傾向がよりはつきりと窺われる。また内服後24時間の尿中より回収される総RFP量は、特に初回投与時において最高172.5 mg、最低65.6 mgとその差はきわめて大きく、個人差の著しさが窺われる (Fig. 4)。また経時的尿中排泄パターンにも明らかな

Fig. 6. Serial Accumulation Curve of Total Rifampicin and Desacetyl-Rifampicin, Excreted Renally after the Oral Administration of 450 mg Rifampicin



個人差が見られ、すなわち13例中8を占め最も標準的とみられるいわゆる一峰性標準型、3例のジグザグに排泄される動揺型、さらに1例にみられたむしろ例外的な、排泄量の異常に少ないいわゆる異常型の3型に分類されようである。以上の各代謝型は繰返し試験でよく再現され、識別は比較的容易である (Fig. 5)。

3) Desacetyl-RFPの尿中排泄

Fig. 6は初回投与時における12例平均の尿中排泄量を総RFPとdesacetyl-RFPにつきそれぞれ経時的に累積した曲線を示す。

12時間までのdesacetyl-RFPの排泄量は19.24 mgで、総RFP量108.93 mgの17.7%を占めるにとどまる。またdesacetyl-RFPの排泄パターンは、初回時には6時間値をピークとするが、

1カ月以後にはそれが4時間に移行しているのが注目される。継続投与により、このdesacetyl-RFPの尿中排泄量もまた減少し、のち恒常化する傾向が認められた。(Fig. 7)

4) RFPの血清濃度と尿中排泄量との相関

RFPの血清レベルと尿中排泄量との相関性を窺う一つの便宜的試みとして、2, 4, 6時間の各RFP血清値を個々に総和したものを血清側の指標とし、一方尿中排泄は24時間の総RFP量をとって調べてみた。Fig. 8に

Fig. 7. Serial Change in the Urinary Excretion of Desacetyl-Rifampicin during Daily Continuous Administration of Rifampicin

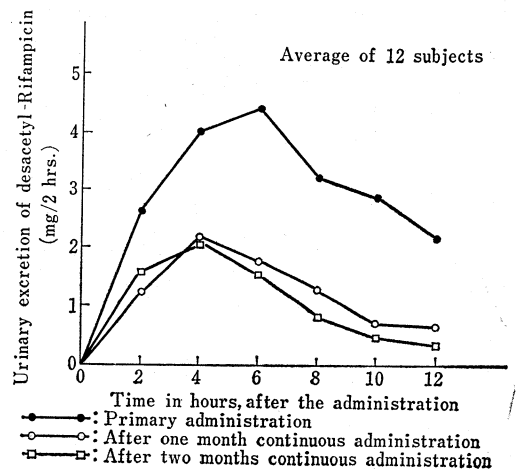
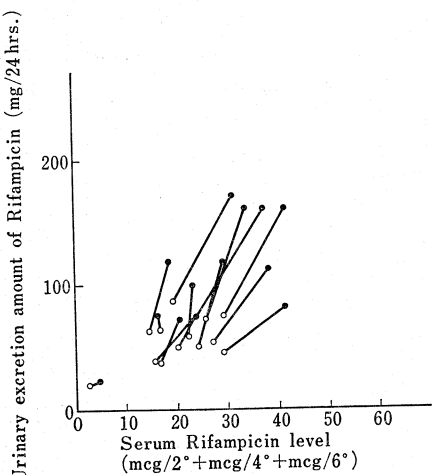


Fig. 8. Correlation between the Serum Rifampicin Level and the Urinary Excretion Amount of Rifampicin



2°, 4°, 6° : 2, 4, 6 hour after the administration of 450 mg Rifampicin  
 ● Primary administration  
 ○ After one month continuous administration, daily

見ると、血清値の個々の差による両者の間には有意の相関を認めたいが、初回時と1カ月連投後でみた個別ごとの2点を結ぶ相関勾配にはほぼ一定の傾向を認め、両者の相関性が一応立証できた。

5) RFP の腎 clearance 値

RFP 内服後の RFP 腎 clearance 値を次式に従い便宜的に算出してみた。

$$\text{Clearance (2~4)} = \frac{\left(\frac{U_2+U_4}{2}\right) \times V_{2-4}}{\frac{S_2+S_4}{2}} \text{ (ml/min)}$$

$$\text{Clearance (4~6)} = \frac{\left(\frac{U_4+U_6}{2}\right) \times V_{4-6}}{\frac{S_4+S_6}{2}} \text{ (ml/min)}$$

標記 2, 4, 6 は RFP 内服後の各時間。Clearance (2~4), Clearance (4~6) : 2~4, 4~6 時間の各時間腎 clearance 値。

S<sub>2</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>6</sub> : 2, 4, 6 の各時間血清の RFP 濃度 (mcg/ml)。

U<sub>2</sub>, U<sub>4</sub>, U<sub>6</sub> : 0~2, 2~4, 4~6 時間の各時間尿の RFP 濃度 (mcg/ml)。

V<sub>2-4</sub>, V<sub>4-6</sub> : 2~4, 4~6 時間の各時間尿量 (ml)。

この計算では体表面積因子を省略した。

Fig. 9 に示すごとくこの値にはかなりの個人差がみられる。2~4, 4~6 時間の両 clearance 値にやや差を認めるが、4~6 時間値を基準とした配列に2~4時間値がほぼ準じているので、正確に求めれば両時間値はかなり一致するもの

Fig. 9. Individual Difference in the Renal Clearance of Rifampicin after the Oral Administration of 450 mg Rifampicin

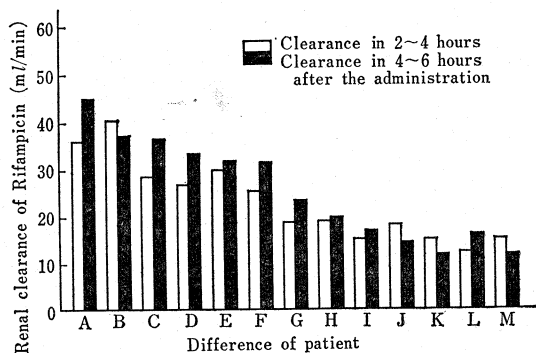
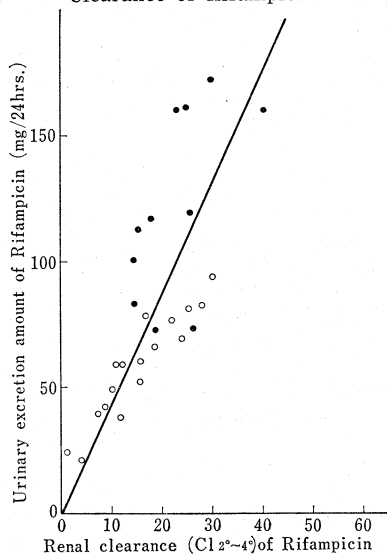


Fig. 10. Correlation between the Urinary Excretion Amount of Rifampicin and the Renal Clearance of Rifampicin



● : Primary administration.  
 ○ : Two and/or three month continuous administration.

と思われる。

またこの腎 clearance 値と RFP 尿中排泄量との間には有意の相関性がみられた (Fig. 10)。

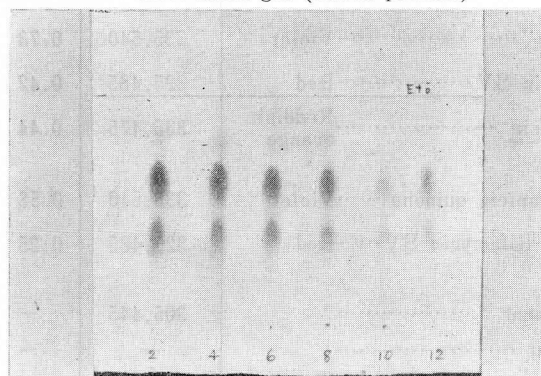
6) RFP の尿中排泄と糞便中排泄の量的関係

RFP の尿中排泄の少ない例では糞便中への排泄が逆

Table 1. Rifampicin Excreted into Urine and Feces after the Oral Administration of 450 mg Rifampicin

Material	Case	Patient-A	Patient-B
Total Rifampicin/24 hr. urine		59 mg	81 mg
Total Rifampicin/24 hr. feces		29 mg	73 mg
Sum		88 mg	154 mg
Ratio to the dose		19.5 %	34.2 %

Fig. 11. TLC Analysis of Urinary Rifampicin and its Metabolites which Were Extracted in a Benzene-Hexane (1:1) Mixture Solvent Developed with Chloroform-methanol(9:1) mixture solvent on TLC aluminium sheet silica gel (Merck product)



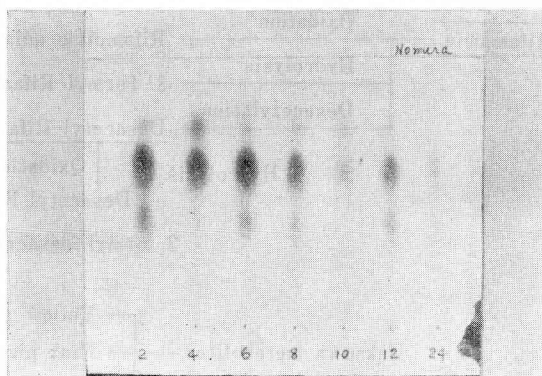
Time in hours, after the oral administration of Rifampicin  
Upper spot: Rifampicin-quinone (violet); Intermediate spot: Rifampicin (brown);  
Lower spot: 3-formyl-Rifamycin SV (pink).

に多いのではないかと憶測される。この点を別の2例で検討した。しかし表1に示すごとく、尿中への排泄の少ない例では糞便からの回収もまた少ないという結果を得た。このことは多分尿中排泄量にみる個人差は単に腸管吸収や、胆路系排泄等の差異によるものではないことを物語るようである。

#### 7) 尿中の RFP 代謝物

尿中には RFP 以外に desacetyl-RFP の存在が TLC 分析ですでに明らかにされている<sup>9)10)</sup>。この desacetyl-RFP は benzene, hexane の等量混合溶媒にはほとんど抽出されない。そこで、この溶媒で抽出される尿中 RFP を TLC で同じく展開してみた。Fig. 11 はその結果を示すが、まず第1に desacetyl-RFP に相当した位置で移動する、desacetyl 体とは明らかに異なるピンクの色素が新たに検出された。この色素は TLC 分析での Rf 値、分光学的性質およびアルカリ条件でより赤い色調に変化すること等の所見より piperazine の遊離した 3-formyl-Rifamycin SV と断定された。尿中総 RFP は従来 chloroform あるいは toluene 等で抽出され、これを chloroform : methanol (9:1) 溶媒で TLC 展開を行い、RFP に次ぐ大きなスポットを desacetyl-RFP とみなし定性かつ定量的に扱われているが<sup>9)</sup>、以上の分析法では 3-formyl-Rifamycin SV もまた desacetyl-RFP とほぼ同じ位置に展開されるので、そのスポットを desacetyl-RFP のみとみなすことは至当ではない。Fig. 11 に見るごとくその量もまた注目されたが、残念ながらこの 3-formyl 体を適切に定量化するには至っていない。

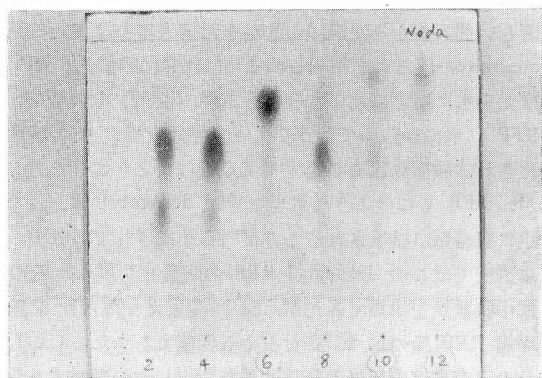
また RFP は quinone 体に酸化されやすいが、尿中からもこれが多少検出される。この含有量は desacetyl-RFP や 3-formyl-Rifamycin SV に比しはるかに少なくあまり問題にならないかもしれないが、この検出量には



個人差がみられ、また時にはある尿から検出される RFP がすべてこの形であつたということも付記したい。(Fig. 12)

さらに RFP 内服後の尿からは isoamylalcohol で抽出できない親水性黄色色素がかなりの量で検出される。この色素は、isoamylalcohol で抽出される RFP およびその既知誘導体をことごとく除去したあとの尿に、十分量の硫酸を加え、benzylalcohol で振盪するとき選択的に分離抽出された。この色素の分光性は 440 m $\mu$  に吸光極大を示し、RFP と同様 tungstate 試薬を還元したが、いかなる代謝物かまだ不明である。以上尿中に検出される RFP 代謝物は Table 2 のごとく総括できる。Desacetyl-RFP は RFP の主代謝物とみなして異存はないが、これもまた RFP と同様、一部 3-formyl 体にもまた quinone 体となり、人尿中にもわずかながら検出

Fig. 12. Thin-layer Chromatography of Urinary Rifampicin and its Metabolites which Were Extracted in a Benzene-Hexane (1:1) Mixture Solvent



Time in hours, after the administration  
Rifampicin was almost disappeared and marked increase of Rifampicin-quinone was noted in the 6 hour urine.

Table 2. Rifampicin Metabolites in Human Urine

Metabolites		Colour	Absorption maximum (mu)	Rf (TLC)
Rifampicin	Oxidation → Rifampicin-quinone	Violet	335,540	0.73
	Hydrolysis → 3-formyl-Rifamycin SV	Red	325,485	0.42
	Desacetylation → Desacetyl-Rifampicin	Reddish orange	335,475	0.44
		Hydrolysis → Desacetyl Rifampicin quinone	Violet	335,540
	Qxidation → 3-formyl-desacetyl-Rifamycin SV	Red	325,485	0.25
Unknown metabolites	Yellow pigment	.....	305,445	—
	Pink pigment	.....	—	—
	Colourless compounds	.....	—	—
Rifampicin		Reddish orange	335,475	0.60

されうることを指摘したい。

考 案

RFP を人に継続投与するとその代謝に変化をきたすといわれ、また内服した C<sup>14</sup>-labeled RFP が 24 時間の尿および糞便より回収される量は約 50% と見受けられ、その残りは以後数日を要し徐々に排泄されると報告されている<sup>12)</sup>。これらはこの薬物を使用するうえで最も重視すべき問題となろう。

本研究ではまず人におけるこの薬物の代謝をより適切な化学定量値で再検討することを目的としたが、その結果はこの代謝の複雑さをより明確なものにした感がある。

まずこの薬物代謝にはかなりの個人差が認められる。RFP 450 mg 内服後の 2 時間時血清 RFP 値は、初回投与時において、13 例平均 11.5 mcg/ml となつたが、その最高値は 17.0 mcg/ml、最低 2.6 mcg/ml とその開きは異常である。また尿中に排泄される総 RFP 量にも著しい個人差をみたが、これがまた個人差の著しい腎 clearance 値とよく相関したことは注目に値する。RFP は元來水に溶けにくいものであるが、代謝物 desacetyl-RFP は水にきわめて溶けやすい。生体内でより可溶性化される機構は代謝の過程でよくみられるところであるが、RFP もこのような処理を受け desacetyl 体として主に胆路系に排泄されることが明らかにされている<sup>11)</sup>。本研究ではこの desacetyl-RFP の定量化を試み、その尿中排泄量を求めてみたが、24 時間尿より得られる尿中総 RFP 量の約 20% を占める低値であつた。しかしその含有率は内服後の経時的観察で少しずつ漸増する傾向を認めた (Fig. 13)。Desacetyl-RFP については統報で改めて論ずる予定であるが、初回投与時で尿中排泄量

に著しい個人差のみられることが注目された。また個々の例で RFP の血清濃度と尿中排泄量との間に高い相関性をみたが、個体間の差を用いての検索ではその相関性を引き出すことはできなかつた。このことは、個人差の著しい RFP 腎 clearance から暗示されたように、多分代謝の仕組み等に多少質的な違いがあることを強く示唆する。

以上のような個体差の存在が判明してくると、尿中排泄型で分類が試みられたような、ある一定の、時にはそれぞれの代謝型でものを考えることも要望される。

RFP 血清濃度は臨床的意味づけを考えたか、一般には生物学的測定値で読まれている。しかしこの値は各測定法でかなり相違するもののように、真の値をどれだけ評価しているものかはなほ疑問である。本報での化学的定量法で求めた RFP 450 mg 内服後の血清値は、初

Fig. 13. Serial Increase in the Urinary Excretion of Desacetyl-Rifampicin after the Single Dose of 450 mg Rifampicin, and its Change during Daily Continuous Administration

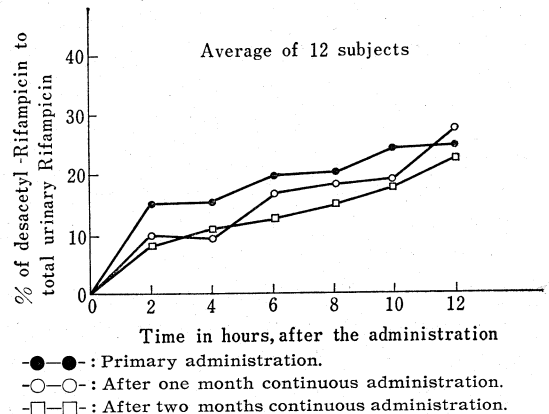
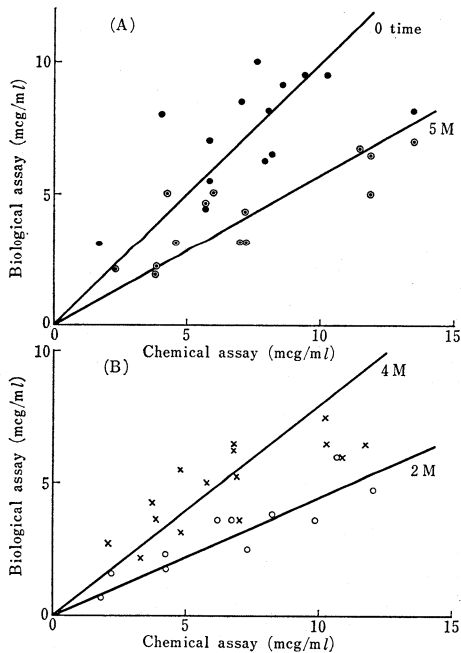




Fig. 14. Correlation between Chemical and Biological Assay Values of Serum Rifampicin



0 time: Primary administration.

2 M, 4 M, 5 M: 2, 4, 5 months continuous administration.

Chemical assay: The present method in text.

Biological assay: Kudo's method<sup>13)</sup>, with  $H_{97}R_v$  and Kirchner agar culture medium.

回投与時で 13 例平均: 11.2/2°, 9.2/4°, 7.2/6° mcg/ml という成績を得た。これは Riess ら<sup>12)</sup> がわれわれとほぼ同条件で調べた生物学的測定値: 9.6/2°, 7.7/3°, 6.5/4°, 5.6/5° mcg/ml と比べやや高目の傾向である。Fig. 14 は同一検体につき、本報の chemical assay と biological assay (Kirchner 寒天培地,  $H_{97}R_v$  菌を用い直立拡散法で求める工藤の方法)<sup>13)</sup> で血清 RFP 値を求め、初回投与時 (0 time) と 5 カ月 (5 M) 継続投与した各時点値を比べた結果を示す。この成績では、各回ごとの相関性はまずまずとみられるが、(A) の初回時と 5 M 時の比較、また (B) の 2 M 時と 4 M 時の比較に示すような、両者の相関係数に異常な違いをきたしていることが注目される。このような食違いは不安定な生物学的測定値に基づくものとみなされたが、Riess らとの絶対値にみる差異もおそらくこれに類似したものと思われる。

本研究ではまたこの RFP の血清値および尿中排泄量が継続投与 1 カ月以内にかなり低下することを明確にした<sup>14)</sup>。このような現象がどうして起るかまだ明確にされていないが、多分酵素誘導による代謝変化と考えるべきであろう。継続投与でぜひ知っておくべき所見であり、臨床上の立場からも今後この問題の解明により積極的かつ多角的研究が期待される。

RFP 450 mg 経口投与後、尿中より回収される RFP 量は、12 例の初回投与時で平均: 117.2 mg, 投与量の 26.0% に相当する。糞便への RFP 排泄は尿へのそれにほぼ準ずるので、総回収率は 50~60% と推定されるが、もしこれを事実とすれば残る 40~50% はなお体内に残存することになる。同位元素を用いての Riess らの検索ではいずれ数日中にほぼ完全に回収されるという成績であるが<sup>12)</sup>、実際臨床に用いる場合には連日投与方法が適用されているので問題が伴う。しかし初回投与と 2 回連日投与時の比較で後者の値が有意に高いという報告はない。Riess ら<sup>12)</sup> の血清濃度の検索からもそのような傾向は全く窺われず、また本研究でも 1 カ月連投後の血清値および尿中排泄量は初回投与時に比しむしろかなり低いという成績である。しかしこの問題は単なる従来の慣用方式、すなわち bioassay, 溶媒抽出法, また radioisotope 等で得られた値のみで論じることは危険であり、複雑な構造をもちむしろ不安定な RFP を考えるとき、今後のより進んだ知見を待つて改めて問われるべきであろう。そして今考えられることは RFP の人体内代謝は案外活発で、おそらく多岐にわたる代謝系によつて速やかにいろいろな形に処理されるに違いないということである。

そこでまず尿中の RFP 代謝物について検索を進めてみた。すでに明らかな desacetyl-RFP は容易に検出されるが、このほかにまだあまり注目されていない 3-formyl-Rifamycin SV<sup>10)</sup> がかなり含まれていることが明らかにされた<sup>14)</sup>。3-formyl 体とは RFP から piperazine が水解で遊離したものであるが、RFP の piperazine 基は特に酸性溶液中ではずれやすいので、弱酸性を示す尿中で二次的に産生されるのではないかという懸念もある。RFP 尿を強酸性にすると確かに 3-formyl 体への変化が観察される。しかし一般的な尿の酸度 pH 5~6 程度の尿中ではこのような変化は全く認められなかった。そしてまたいうまでもなく、この 3-formyl 体はごく新鮮な尿からも常に検出されるので、まぎれもなくこれは体内で産生され尿中に排泄されたものとみなすべきであろう。

さらに RFP 酸化物, RFP-quinone の存在であるが、RFP は元来比較的酸化されやすい化合物とみられているので、これを代謝物とみなしにくいという見方もある。しかしわれわれは唾液中に胃液酸度で RFP を速やかにかつ完全に quinone 体に酸化するある酸化酵素様物質の存在することをすでに明らかにした<sup>15)16)</sup>。ここにこの酵素の生理的存在意義を十分述べることはできないが、吸収以前にこのような RFP 酸化が起りうることも無視するわけにはいかない。この問題もまた今後重視すべき研究課題となるであろう。

このほかに有機溶媒に抽出されない RFP 由来の黄色

色素が検出される。この色素は多分 RFP の glucuronides とみなされるが、まだ最終的な同定には至っていない。この色素はまた生物学的活性を欠くので、bioassay でもとらえられない。この代謝物の定量が可能となれば、人体での RFP の収支はかなり合うのではないかと期待される。

以上述べたごとく RFP の人体内代謝にはまだ不明な点がたくさんあり、今後より一層の多角的研究が待たれる。

### 結 論

13 例に RFP 450 mg を継続投与した場合の人体内代謝を RFP の新たな化学的定量法で再検討し、いくつかの問題点を明らかにした。RFP を朝食前 30 分に投与し、2 時間ごとに調べた RFP 血清値は 2 時間値を最高とし、直線勾配で漸減する。1 カ月ごとの血清値観察では継続投与 1 カ月以内に著しく低下し、のち一定化する。

内服後 24 時間尿より回収される RFP 量は、12 例の初回投与時で最高 172.5 mg、最低 65.6 mg となり、その個人差は著明である。尿中排泄量もまた継続投与で著しく低下し、1 カ月以後同様一定化する。

RFP の経時的尿中排泄パターンには明らかな型の違いがみられ、13 例中 9 に円滑な排泄を示すいわゆる標準型、3 例に波動性排泄を示す動揺型、および 1 例にみた血清値、尿中排泄量ともにきわめて低い異常型の 3 型に分類される。

RFP の腎 clearance 値にも著しい個人差がみられた。この値は RFP の尿中排泄量と有意に相関する。

RFP 450 mg 内服後 24 時間尿より得られる desacetyl-RFP は 12 例平均 19.24 mg、尿中総 RFP 108.93 mg の 17.7% であつた。

糞便中より回収される RFP 量は尿中よりのそれに準じ、尿中排泄の少ない例では糞便への排泄もまた少ない。

尿中の RFP 代謝物は desacetyl-RFP のみではなく、RFP の 3-formyl 体や quinone 体、さらにまた有機溶媒で抽出しにくい親水性黄色色素等も検出された。

### 謝 辞

本稿を結ぶに当り、本研究にご協力をいただいた国立療養所東京病院の諸先生方、ことに生物学的測定値の利用を許された工藤禎博士に感謝いたします。また研究用

として大量の RFP 提供とご協力をいただいた第一製薬株式会社に深甚の謝意を表します。

本研究は第 45 回日本結核病学会総会 (仙台)<sup>17)</sup> および第 18 回日本化学療法学会総会<sup>18)19)</sup> で報告された。

### 文 献

- 1) Sensi, P., Maggi, N., Furesz, S., Maffii, G.: Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 699, 1966.
- 2) 特集“新抗生物質 Rifampicin について”臨床診療, p. 928, 1970.
- 3) Symposium “Rifampicin in the Treatment of Pulmonary Tuberculosis”: Chest, 61:517, 1972.
- 4) Keberle, H., Schmid, K. and Meyer-Brunot, H.G.: A Symposium on Rimactane, CIBA, Basel, 20, 1968.
- 5) Dettli, L.: A Symposium on Rimactane, CIBA, Basel, 28, 1968.
- 6) Spring, P.: A Symposium on Rimactane, CIBA, Basel, 32, 1968.
- 7) Acocella, G., Nicolis, F.B. and Lamarina, A.: Vth International Congress of Chemotherapy, Wien, 5:87, 1967.
- 8) 特集“新抗生物質 Rifampicin について”基礎診療, p. 1025, 1970.
- 9) Maggi, N., Furesz, S., Pallanza, P. and Pelizza, G.: Arzneim.-Forsch., 19(4):651, 1969.
- 10) 佐野光司・伯水英夫: Japanese J. Antibiotics, 23:4, 1970.
- 11) Schiatti, P., Maggi, N., Sensi, P. and Maffii, G.: Chemotherapia (Basel), 12:155, 1967.
- 12) Riess, W.: A Symposium on Rimactane, CIBA, Basel, 36, 1968.
- 13) 工藤禎・工藤祐是: 結核, 44:296, 1969.
- 14) Sunahara, S. and Nakagawa, H.: Chest, 61:526, 1972.
- 15) 中川英雄・町田雅子・砂原茂一: Proceedings of the Symposium on Chemical Physiology and Pathology, 10:196, 1970.
- 16) 中川英雄: Proc. Symp. on Chemical Physiology and Pathology, 11:227, 1971.
- 17) 中川英雄・砂原茂一: 結核, 45:454, 1970.
- 18) 砂原茂一: Chemotherapy (日本化学療法学会雑誌), 19:9, 1971.
- 19) 中川英雄・砂原茂一: Chemotherapy (日本化学療法学会雑誌), 19:93, 1971.