

原 著

## Rifampicin の 人 体 内 代 謝 (第二報)

Rifampicin 代謝の初期変化, glucuronidation 及び胃液内酵素的酸化

中 川 英 雄

国立療養所東京病院

受付 昭和 62 年 4 月 24

METABOLISM OF RIFAMPICIN IN THE HUMAN BODY (2nd report)  
—INITIAL CHANGE OF THE RIFAMPICIN METABOLISM, ITS GLUCURONIDATION  
AND ITS ENZYMATIC OXIDATION IN THE STOMACH—

Hideo NAKAGAWA\*

(Received for publication April 24, 1987)

For the full understanding of rifampicin (RFP) as an excellent antituberculous drug, and for the prevention against of its adverse reactions, actual status of human RFP metabolism as investigated with special emphasis on its marked changes in the first week of daily administrations.

Pharmacokinetic observations of RFP metabolism were made by multiple determinations of RFP and its metabolites (desacetyl RFP, 3-formylrifamycin SV and water-soluble metabolite) in the urine after a single dose of oral administration of 450 mg RFP in a healthy person. Urinary RFP and its metabolites were selectively extracted in organic solvents respectively, and determined photometrically.

A good reproducibility of RFP metabolism was confirmed by repeated examinations in the same subject. The peak of free RFP excretion was always found in the second urine of hourly urinations, and its excretion diminished in a hyperbolic curve. Although the urinary excretion of desacetyl RFP was not so much as was expected, its peak was seen in conjunction with the intake of meal, and such a high peak after taking meal was observed only in the early stage, i. e. the 1st or 2nd administration of RFP, and thereafter, no such peak during its continued administration. This may be explained by the enterohepatic circulation of desacetyl RFP which developed in the rather early stage of its treatment. 3-Formylrifamycin SV was always detected even in fresh urine, and its amount was less than 6 mg in 24 hour urine in most cases examined. Apparent acceleration of RFP metabolism was observed in the first week of daily administrations of the drug. This acceleration was considered to be caused by the enzyme induction for the drug metabolism, however, unexpected result by the accelerated metabolism of RFP was characterized by much faster disappearance of desacetyl RFP rather than that of free RFP. A water-soluble RFP metabolite was separated from RFP urine through the secondary extraction with

\* From the Tokyo National Chest Hospital, 3-1-1 Takeoka, Kiyose, Tokyo 204 Japan.

benzylalcohol succeeding the isoamylalcohol extraction of all free RFP and desacetyl RFP. Its urinary excretion was also increased clearly after a meal intake as in case of desacetyl RFP, but the increase appeared after the increase of desacetyl RFP. The establishment of this water-soluble metabolite as glucuronide was confirmed in the present study, and it was demonstrated that this metabolite was markedly produced in the RFP metabolism after phenobarbital loading. Moreover, the salivary oxidase activated in acid condition of the stomach oxidized RFP into RFP quinone which is less absorbable in the intestine.

Pharmacokinetic investigations of the RFP metabolism in man through the multiple determination of its urinary excretions revealed that there was complicated and varied metabolic mechanisms, such as enzymatic oxidation of RFP in the stomach prior to its intestinal absorption, biliary excretion as desacetyl RFP and/or RFP glucuronide, and remarkable acceleration of RFP metabolism characterized as active treatment of desacetyl RFP, by the enzyme induction which was introduced in the first week of daily administration of RFP.

**Key words :** Rifampicin, Pharmacokinetics, Metabolites, Excretion, Glucuronidation, Oxidation

**キーワード :** リファンピシ、薬物動態、代謝産物、排泄、グルクロン酸抱合、酸化

Rifampicin (RFP) は isoniazid (INH) とともに結核菌に対する強力な bactericidal drug として、肺結核の治療に多大な実績をあげ、今日結核の医療に依存度の最も高い薬物とされている。

肺結核に対する RFP の顕著な治療効果は、その殺菌力の強さによることはいままでもないが<sup>1)27)</sup>、人生体におけるこの薬物の代謝動態を無視して評価し得るものではない<sup>2)~11)</sup>。また、RFP 投与に伴う副作用(さまざまな特異な反応症状)は既に多数報告されてきたが<sup>12)~23)</sup>、人体内でのこの薬物に対する処理の仕組みを知ることは、その成因はおろか、その発症に対する適切な対応にもとまどうものである。

人生体はこの異物 RFP をどう認識し、またどう処理しようとしているかは、必ずしも未だ十分理解されているとはいえない。

RFP の副作用の発症をみる場合その時期はさまざまだが、その投与開始の初期の例が多く<sup>24)~27)</sup>、また長期間連日投与した後、間歇投与に切り替えた際に発現するなどの症例報告にも注目され<sup>12)</sup>、この薬物を受け入れる人生体のとまどいと、その代謝の仕組みと対応の複雑さを強く示唆する<sup>28)29)</sup>。

主題の第一報<sup>5)</sup>に次ぐ今回の研究では、連日投与の初期約1週間にみるこの薬物代謝の著しい経時的変化に着目し、その代謝の実相を最も良く提示する尿中 RFP の分析を検索の主体として展開し、その結果に基づき、RFP の著効性の裏付けと副作用発症にかかわる問題に触れ、この薬物投与の問題点と、その対応の一助となり得る諸成績をここに報告する。

## 方 法

1) Rifampicin 及びその代謝物の定量法

a) 脂溶性総 RFP の定量法

a-1) 血清中の脂溶性総 RFP : 被検血清 1 ml を 10 ml 容量の有栓抽出管にとり、これに水 1 ml と M/15 磷酸緩衝液 [(1.45g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 2.28g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) / 400 ml 水, pH 7] 1 ml を加え、よく混和した後 isoamylalcohol 3 ml を重ね、約 2 分間 mixer にて激しく振盪する。この操作で血清は完全にゲル状化する。これを 3,000 r.p.m で 5 分間遠心すると、上層に isoamylalcohol が分離する。しかし時にゲル化の性質により isoamylalcohol の分離が不十分な場合があり、この際には硝子棒でその中間のゲル化層を丹念に砕き、再遠心を施して分離する。この isoamylalcohol に抽出される RFP を、この薬物の近紫外域での特異吸光波長 335 nm の吸光度を分光計で測定し、標準血清に RFP を加えた稀釈系で同様に操作して作成した検量線よりその濃度を求める。

血清中の脂溶性 RFP は free RFP と desacetyl RFP とからなり、前者が大部分を占める。両者は 335 nm に共通吸光極大を有し、mol 比も 1 : 0.95 と近似しており、測定誤差を考慮すると、この測定技法にまず支障はない。

なお、この血清の isoamylalcohol 抽出では、血清中に常在する可視吸光性の強いカロチンもよく抽出される。しかし、カロチンは幸い近紫外域での吸光性が弱く、特に 335 nm 付近ではその吸光性を殆ど欠くのを確認し、

この335 nm 吸光度測定による RFP の分光学的定量法の確立をみた。

また、更に RFP の入らない一般血清の isoamylalcohol 抽出を多くの検体で調べた結果、 $0.025 \pm 0.002$  の335 nm 吸光度がみられた。従って335 nm 吸光値からこの blank 吸光値0.025 を差し引く補正法の導入により、一応精度の高い定量値が提供できた。

a-2) 尿中の脂溶性総 RFP : 検尿2 ml (RFP 含量の多い場合は適量を取り水で2 ml とする) を10 ml 容量の有栓抽出管にとり、これに M/15 磷酸緩衝液 (pH7) 1 ml を加え、混和後 isoamylalcohol 2 ml を重ねて mixer で2分間激しく振盪して抽出する。RFP を抽出した isoamylalcohol を3,000 r.p.m で5分間遠心して分離し、RFP の可視吸光極大の475 nm 吸光度を測定し、標準尿に RFP を加えた稀釈系で同様に操作して作成した既製の検量線よりその濃度を求める。

#### b) 尿中 free RFP の定量法

尿中の脂溶性総 RFP 定量と全く同じ尿量を有栓抽出管にとり、水を加えて2 ml とする。同じ磷酸緩衝液1 ml を加え、benzene-hexane (1/1) の混合溶媒2 ml を重ね振盪抽出を行う。この抽出溶媒を遠心して分離するが、遠心処理でその分離界面上に尿成分による泡状層ができて、抽出溶媒の分離採取を困難にする場合がある。このときはその抽出管を軽く振って泡状層を崩し再遠心する。その分離溶媒液の475 nm 吸光度を測定し、既製の検量線よりその濃度を求める。この抽出溶媒は揮発性が高いので、操作を迅速に行うことが望ましい。

なお尿中に存在する free RFP がこの benzene-hexane 溶媒ですべて抽出される訳ではなく、その含有濃度に比例し、2層(尿層と溶媒層)間の一定分配則に従って抽出される性質を応用したものである。またこの混合溶媒の等量比(1/1)は、共存する desacetyl RFP の同時抽出を極力抑え、free RFP をある抽出度をもって選択抽出される条件として案出されたもので、desacetyl RFP の含有率が50%を超えない限り、その混入率は5%以下であった。

#### c) 尿中の3-formylrifamycin SV の定量法

検尿2 ml を10 ml 容量の有栓抽出管にとり、N-HCl 0.4 ml と1%  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  水溶液0.05 ml を加えよく混和し、直ちに ligroine 3 ml を重ね2分間 mixer で激しく振盪する。この振盪で尿と溶媒はゆるいゲル状化物となる。これを3,000 r.p.m で5分間遠心すると、綺麗な桃紫色を呈する ligroine 溶液が分離する。この ligroine 抽出色素の示す吸光極大波長495 nm の吸光度を測定し、既製の検量線よりその濃度を求める。

この検量線は、100  $\gamma$ /ml の3-formylrifamycin SV 標準水溶液(5 mg の3-formylrifamycin SV を1 ml の acetone で予め完全に溶解した後、水を徐々に振りながら加え50 ml とした)の稀釈系で同じく操作して作成した。

なお、この定量法は、3-formylrifamycin SV が強塩酸溶液中で  $\text{Cu}^{++}$  と反応し、495 nm に吸光極大を示す分光性 Cu-錯体を形成し、かつこれが ligroine

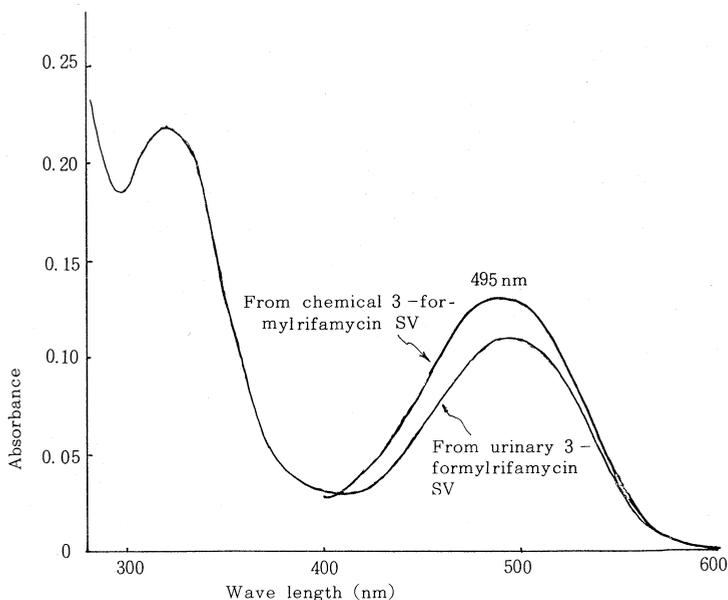


Fig. 1. Absorption Spectrum of the Cu-chelate of 3-formylrifamycin SV Extracted in Ligroine.

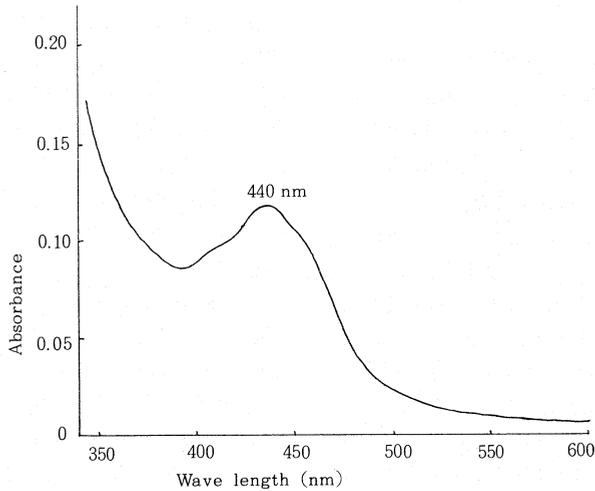


Fig. 2. Absorption Spectrum of the Urinary Water-soluble RFP Metabolite Extracted Benzylalcohol.

によって定量的に選択抽出されるのを基本原理とし考案された (Fig. 1)。

d) 尿中の desacetyl RFP の定量法

尿中の脂溶性総 RFP 値から free RFP 値の差し引きとして求め、考察に供した。

e) 尿中の親水性 RFP 代謝物の定量法

検尿 2 ml を 10 ml 容量の有栓抽出管にとり、pH 7 の磷酸緩衝液 1 ml を加え、isoamylalcohol 3 ml で脂溶性 RFP のすべてを完全に抽出し、遠心分離した isoamylalcohol 層を吸引して除去する。抽出処理後の下部尿層の 2.5 ml を注意深く採取し、別の有栓抽出管に移し、これに同量の benzylalcohol を加え mixer で 2 分間激しく振盪する。この振盪物を 3,000 r.p.m で 5 分間遠心すると、明度の高い黄色色素を抽出した benzylalcohol が下層に分離する。この抽出物は rifamycin SV に類似する分光性色素で、RFP 由来のいわゆる親水性代謝物とみなし、この可視極大吸光波長 440 nm の吸光度を測定し、この定量的考察に供した (Fig. 2)。

2) グルクロン酸の定量法

検体の 0.3 ml を 15 ml 容量の有栓試験管にとり、100  $\gamma$ /ml naphthoresorcinol 塩酸試薬 1.5 ml を加え、沸騰水浴中で 30 分間加熱する。これを流水中で冷却した後、ether 3 ml を注ぎ密栓をし mixer で激しく振盪し反応呈色物を抽出する。遠心処理した ether 抽出色素の可視吸光極大波長 560 nm の吸光度を測定し、既製の検量線からその濃度を求める。なお Fig. 3 は ether で抽出されたグルクロン酸反応色素の可視分光スペクトルと、グルクロン酸定量の検量線を示す。

3) 被検者と検体採取

人における RFP 代謝は個人差が著しいので、数多くで調べた成績の平均値の代謝に相当する健康な成人男子 1 人を選び、多岐にわたる詳細な試験観察を行った。その他の観察では、当病院の職員及び入院患者の協力を得た。

RFP, desacetyl RFP 及び RFP quinone などそれぞれ内服し、12 時間までは原則として 1 時間ごと、やむを得ない場合は 2 時間ごとにそれぞれ正確に採尿し、続く 24 時間までの排尿を蓄尿とした。採尿検体は直ちに量を測定し分析に入り、一部を凍結保存し再検その他の検索に供した。血清 RFP 濃度は 2 時間ごとに 6 または 8 時間まで採血して調べた。

4) Phenobarbital 負荷試験

Phenobarbital (10 倍散) 0.1 g を就床前に服用、この投与を 4 連夜続け、1 日休業した後、この酵素誘導薬剤の RFP 代謝に及ぼす影響性をみた。なお、この負荷試験では何の副作用も認めなかった。

5) Rifampicin 及び諸誘導体

分析用の試薬 RFP, desacetyl RFP, RFP quinone, 3-formylrifamycin SV 及び rifamycin SV-Na は、すべて第一製薬株式会社総合研究所より提供された。また内服した RFP も第一製薬株式会社製品 Rifadin<sup>®</sup>, 150 mg/capsule 製剤を用いて試験観察を行った。

成 績

1) 初回投与と継続投与時における RFP 代謝の差異  
朝食前 30 分に RFP 450 mg を内服した際のこの薬

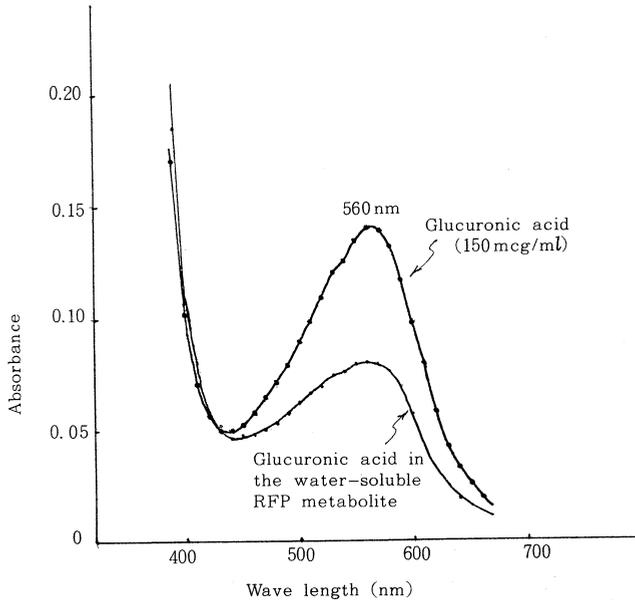


Fig. 3-1. Absorption Spectrum of the Ether Extracts of Glucuronic Acid Colored with Naphthoresorcinol HCl Reagent.

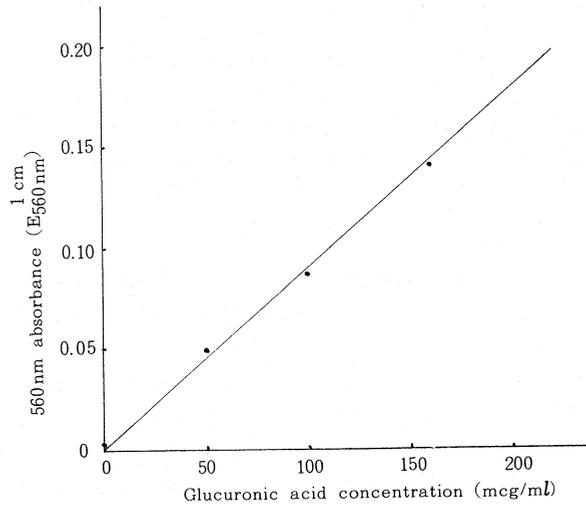


Fig. 3-2. Calibration Curve for the Determination of Glucuronic Acid.

物代謝を、健康な同一者で各回とも一か月以上の期間をおいて繰り返し調べた場合 (Fig. 4) と、その同じ被検者で1週間連日投与した場合、及び週2回の間歇法で投与した場合の各経過で調べた結果 (Fig. 5, 6) につき比較考察を試みた。

a) 初回投与時の RFP の代謝

RFP 投与後の 24 時間尿より検出される RFP 及び代謝物の各測定値は各回ともほぼ一致し、人での RFP 代謝の再現性の良さをまず示す。だが 1 時間単位の経時的観察でみた場合、最初の 1 時間検出量に著差が目立つ。これについては、その立ち上がりの悪い (c) の場合、後続でそれを補う増量が観察されるので、これはおそらく

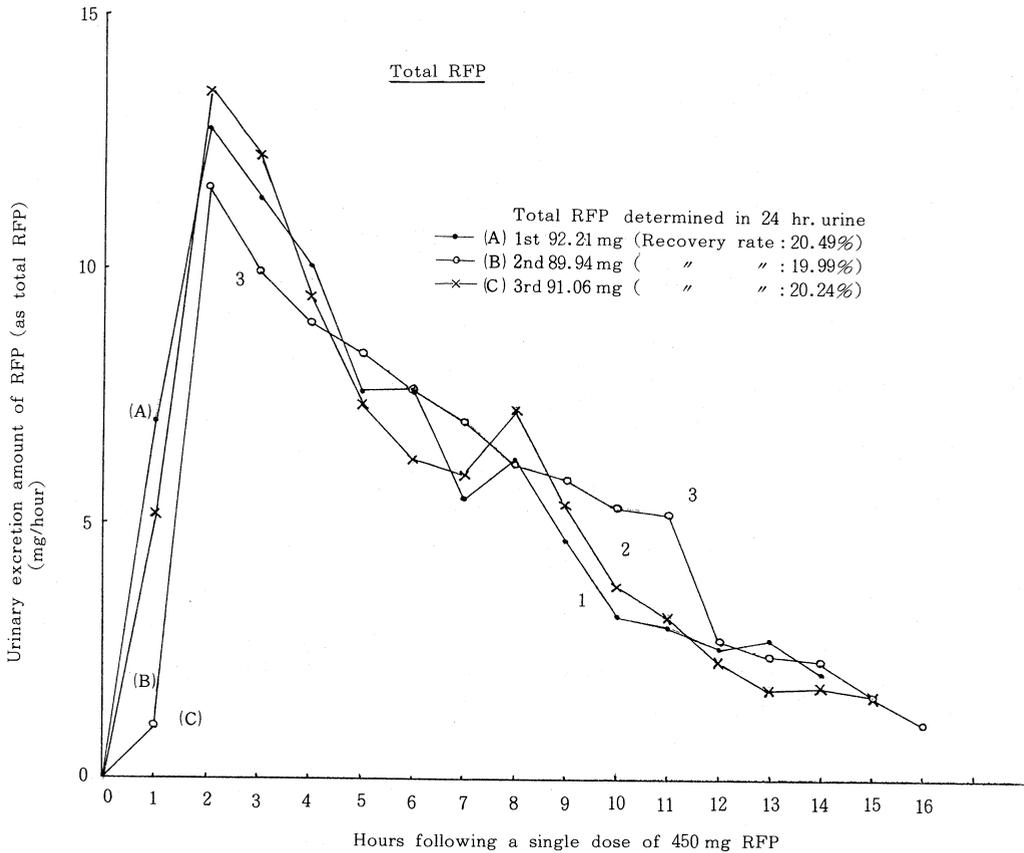


Fig. 4-1. Each Serial Excretion of REP and its Metabolites in Repeated Examinations of the REP Metabolism at Intervals of Prolongated Period.

胃からその吸収の場、即ち腸管への RFP の流れの遅延によって生じたものとみられる。

総 RFP 及び free RFP としての各排泄 peak は、ともにその立ち上がりの如何を問わず毎回とも 2 時間時に出現するが、その後の経時的排泄パターンで総 RFP において次の食事摂取による増量化の波動を示す。これに対し free RFP にはそのような変動傾向は殆ど見られず、毎回とも双曲線のカーブで綺麗に減衰するものようである。

Desacetyl RFP としての排泄では、3 時間以後に peak 排泄を認め、その遅延化はその立ち上がりの悪い (c) の場合でより顕著である。またこの経時的検出量は飲食物の摂取で明らかに増加するのを特徴とし、総 RFP 排泄での食事性増量は、この成分増加に由来するものとみられる。

なおこの観察では、RFP 内服後 24 時間尿より見出される RFP のうち、その前半の 12 時間排尿よりの検

出が、free RFP 及び総 RFP のそれぞれで約 90 % と高い割合を示し、RFP は順調に代謝され排泄されるものとみなされる。

#### b) 継続投与による RFP 代謝の促進

RFP を繰り返し投与してゆくと、Fig. 5 と 6 に示すようにその初期数日間にこの薬物代謝に著しく変化するのがみられる。即ち尿中に検出される RFP 及び代謝物のいずれもが経日的に明らかに減少し、特に desacetyl RFP としての排泄に意外な減少を認め、RFP の代謝の代謝促進を特徴づける所見とみられた。

Free RFP として排泄 peak は当初の 2 時間時より 2 ~ 3 時間時へと遅延し、排泄の立ち上がりの悪い場合で更に遅れるのが見られる。

Desacetyl RFP にみる排泄量の低下は著しく、その傾向は次の食事の影響が現われるまでの初期数時間において明瞭に表現され、それも 2 日単位で段階的に減少するような印象を与える。それに続く排泄パターンでは、

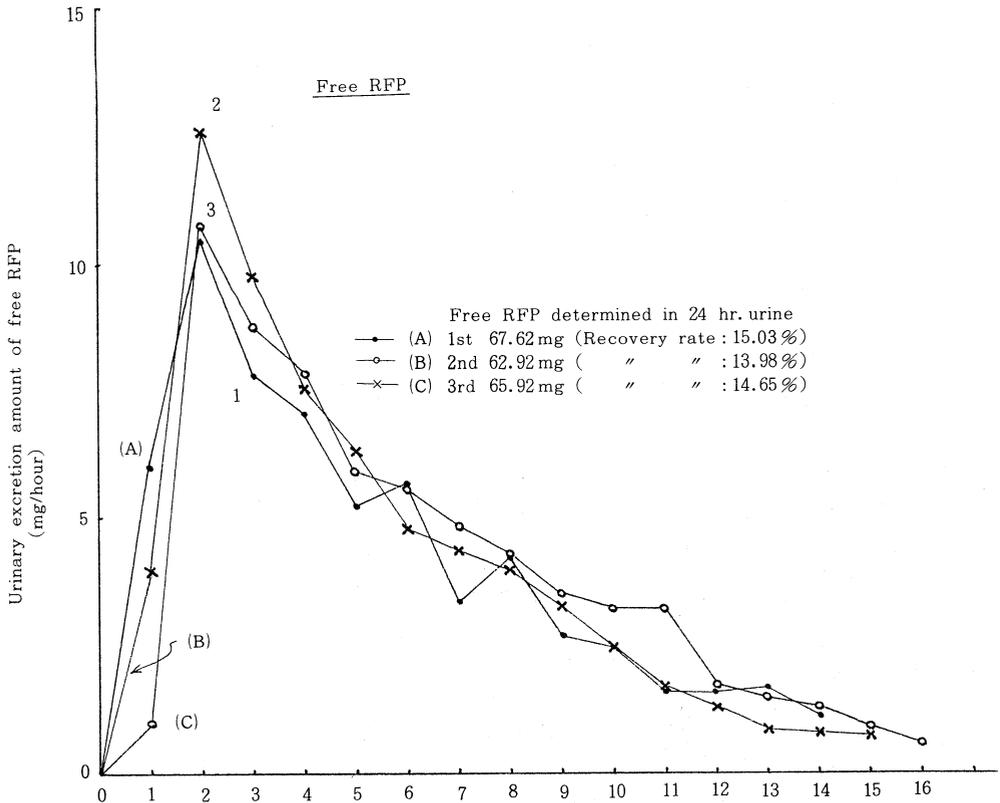


Fig. 4-2.

この産生の腸肝循環が加わりその変動は多彩である。

24時間排尿中の親水性代謝物の検出量にもまたRFPの繰り返し投与で減少するのが観測された。なお、この産物はdesacetyl RFPの修飾体とみられる可能性があり、従ってこの経時的排泄パターンは実に多彩である。

c) 間歇投与時のRFP代謝

RFPを初回投与後、週2回の間歇法で投与し、その初期1週間のRFP代謝を観察したのがFig. 7と8に示す成績である。間歇投与の場合でもRFP代謝に促進化の傾向を窺い得るとしてもその程度は僅かで、RFP代謝活性化は1回のみ投与では軽く、十分な誘導を促すためには少なくとも3、4回の連日投与が必要であることを示唆する。

2) 酵素誘導によるRFPのglucuronidationと代謝促進

RFPを繰り返し投与すると、血清RFP濃度及び尿中へのRFP排泄量に著しい減少のみられることは既に指摘した。このような変化は、RFPに対する生体の代謝調節的な酵素誘導機序に由来するものとの考えが通念

的である。

この酵素誘導に由来するRFP代謝の促進を、その実相究明の見地から酵素誘導性薬剤の一つphenobarbitalを負荷し、もたらされるRFP代謝の変調を詳細に観察したのがFig. 9と10に示す結果である。

まず、24時間尿中に排泄されるfree RFPとdesacetyl RFPの各量に、期待したほどの優位の減少を認め得なかったが、両者の経時的排泄パターンをみると、その排泄の立ち上がりの悪くないfree RFPの場合でも、そのpeak排泄が対照の2時間から3時間へと遅延化し、またdesacetyl RFPでは食事性の二次排泄量が、その一次排泄量を確実に上回るも、その総量としてはやはり有意の減少であり、RFP代謝の促進像を提示したものともみられる。

さて、この観察の主体でもある親水性代謝物(glucuronideとみる)としての排泄をみると、Fig. 10に示すごとく予想以上の期待増を認めた。従って酵素誘導によるRFP代謝の促進は、acetylationの促進化もさることながら、glucuronidationによる対応処理がより

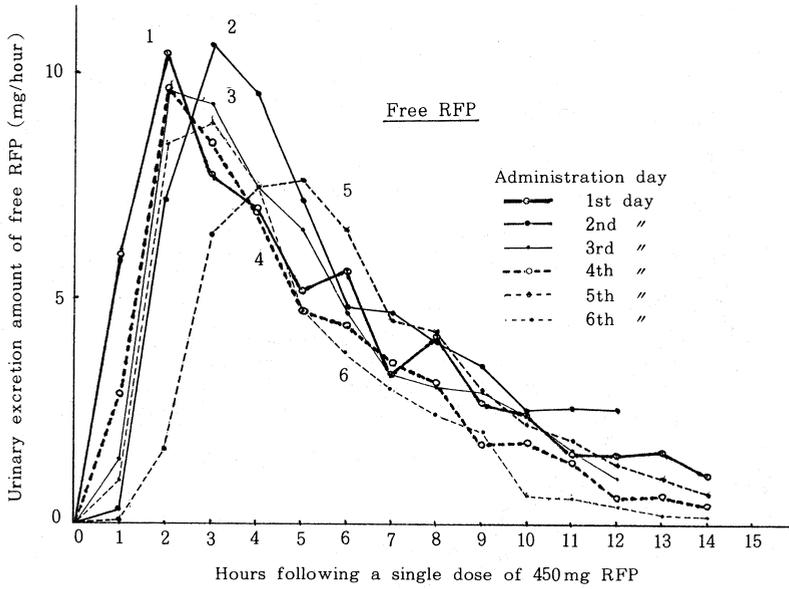


Fig. 4-3.

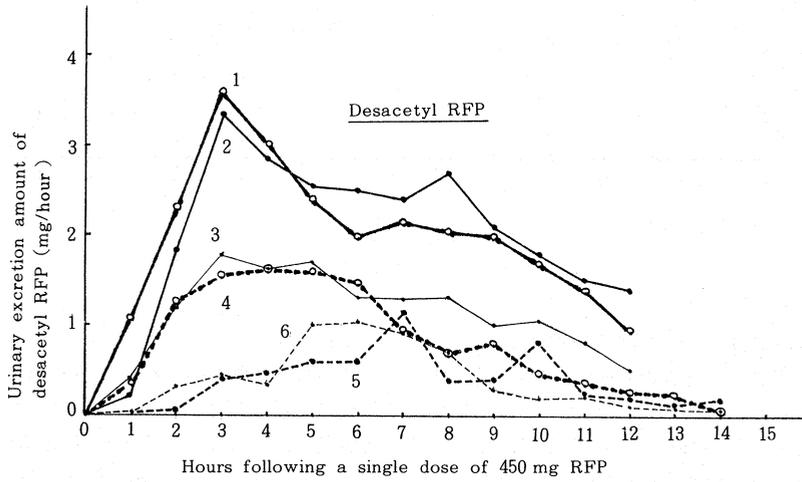


Fig. 4-4.

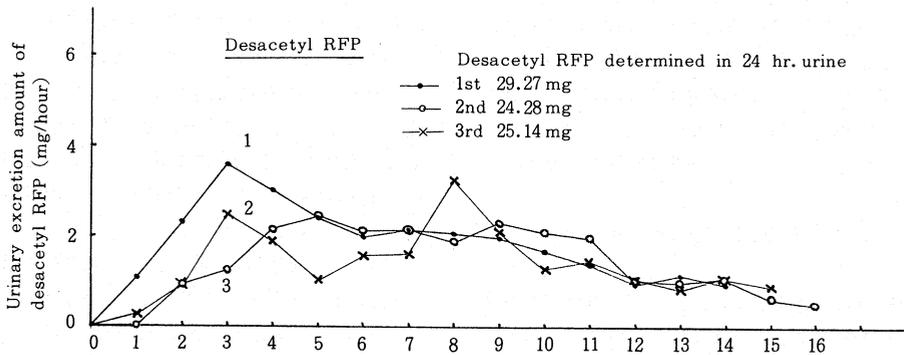


Fig. 4-5.

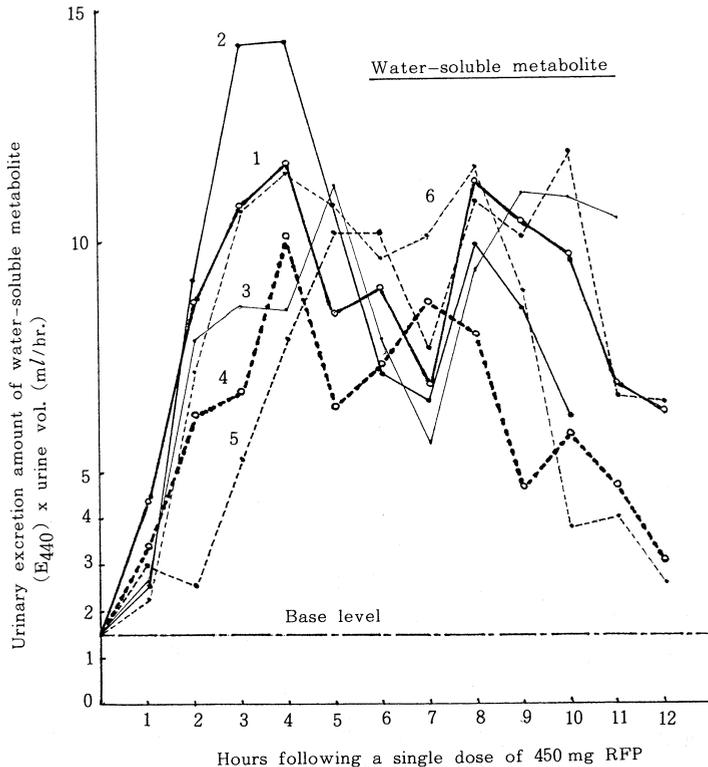


Fig. 5. Marked Decreases in each Urinary Excretion of RFP and its Metabolites in the First Week of Daily Administrations of 450 mg RFP.

優位に立って働くことを強く示唆する。

### 3) Formylrifamycin の尿中検出量

尿中に検出される 3-formylrifamycin SV は、比較的簡易に定量できる。Fig. 11 と 12 の成績は、RFP や desacetyl RFP の定量と同時にこの formyl 体を測定した結果を示す。まず Fig. 11 に示す成績は、RFP 450 mg 内服後の 24 時間尿より測定された 87 例の分布値である。多くの例で 6 mg 以下に分布するが、バラツキの大きさが目立つ。

なおこの定量は採尿後なるべく速やかに測定することを原則とし、室温で 2 日間も放置した検尿では、10 mg 以上の高値を示す場合もありその成因が問われる。

Fig. 12 は、この産物の経時的排泄パターンを示す。この排泄 peak は 2 時間時にみる場合もあるが、多くは 4 時間以後と遅れるようである。経時的排泄パターンからみてこの産物もまた食事性に増量する傾向がみられる。

### 4) 親水性 RFP 代謝物としての尿中排泄

RFP 内服後の尿中に検出される RFP と desacetyl RFP を isoamylalcohol で完全に抽出した後、更に

benzylalcohol でその尿を振ると、尿中常在の色素とは性質を異にする明るい黄色色素が抽出分離される。この分離色素は Fig. 2 に示すごとき rilamycin SV 類似の分光性を示す観点で、RFP 由来の親水性代謝産物と考えられた。

Fig. 13 は RFP を服用した場合におけるこの産物の尿中検出の量的動態を、その非服用時を対照に調べた結果を示す。この検出量は未だ便宜的指標ながら相当なもので、RFP 由来の産物であることを示唆する。

この経時的排泄パターンから食事性増量が認められ、かつ RFP 内服後しばらくの間ある高い排泄量を維持し続けるようである。この食事性増量は desacetyl RFP のそれに類似するが、その一次及び二次排泄 peak とともに desacetyl RFP の場合よりそれぞれ 1~2 時間ほど遅れる時差排泄と受け取れた。

RFP を服用しない対照尿からも、測定指標の 440 nm 吸光で 0.03~0.04 程度の読みがあり、これに尿量に乗じるので一応目立つ量となる。しかしこの抽出物には分光性が全くなく、この産物とは無関係な物質の混入と考

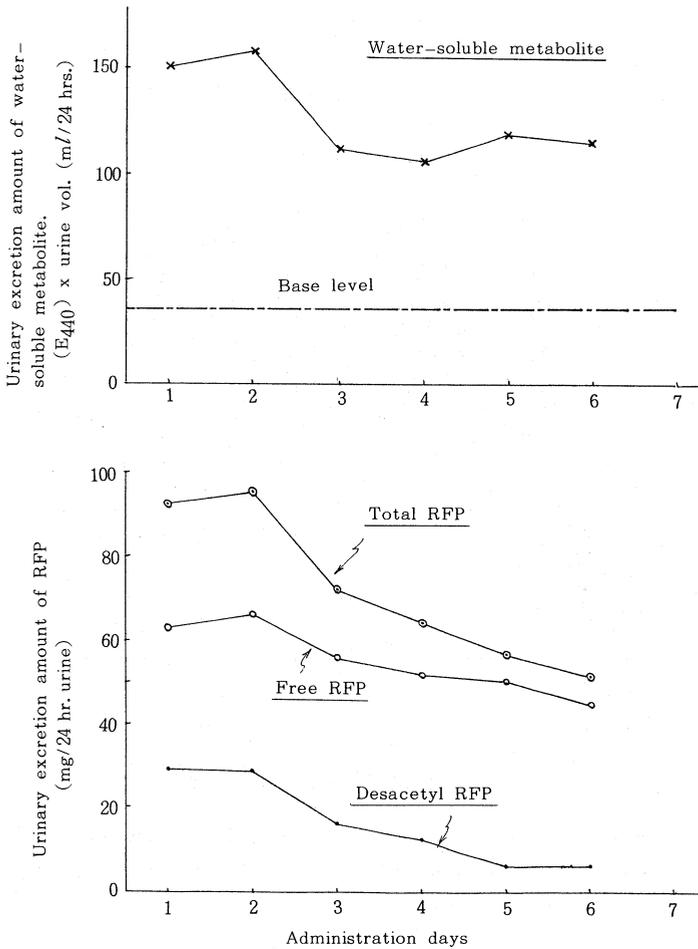


Fig. 6. Marked Acceleration of the RFP Metabolism in the First Week of Daily Administrations of 450 mg RFP.

えられ、現段階での便宜的定量法ではこの程度の一部介入は避けられないことを示す。

更に Fig. 13 と 14 の成績は、この産物の便宜的定量値と、そのそれぞれから検出されるグルクロン酸定量値との相関性を調べた結果で、この分離色素は RFP に由来するグルクロン酸抱合の親水性代謝物としての確かさを証左する。

##### 5) Desacetyl RFP の代謝

RFP 450 mg 内服後の 24 時間尿から見出される desacetyl RFP 量は、入院患者 24 例での検索で平均  $19.45 \pm 11.85$  mg, これを RFP に換算すると  $20.42 \pm 11.29$  mg となる。これは RFP 投与 450 mg の僅か  $4.54 \pm 2.53$  % に過ぎない。

Free RFP の多くは尿路系に排泄されるのに鑑み、主代謝物と目される desacetyl RFP の尿中検出量が少なかったことは意外であり、RFP の胆路排泄

を容易にするために合目的に変質された産物との印象が強い。

Fig. 15 の成績は、試薬 desacetyl RFP 450 mg を一度に内服し、この代謝を調べた結果を示す。まずこの内服後の 24 時間尿に見出される総 RFP 量は 50.17 mg, その回収率は 11.15 % となるが、同一の被検者で RFP 450 mg 内服で約 91 mg, その回収率約 20 % と比較しその尿中検出量は著しく少ない。

また、この投与試験では、尿中検出物は当然 desacetyl RFP のみと予想されたが、総検出量の 13.59 % が RFP であるとの意外な事実が明らかにされ、desacetyl RFP は人体内にて一部 RFP (acetyl 化物) に変化されることを示唆する。

また尿中へのこの経時的排泄パターンの分析では、まず排泄 peak が早くも 2 時間時に見出され、RFP 同様に吸収されやすく、従ってその初期排泄量も多いこと、

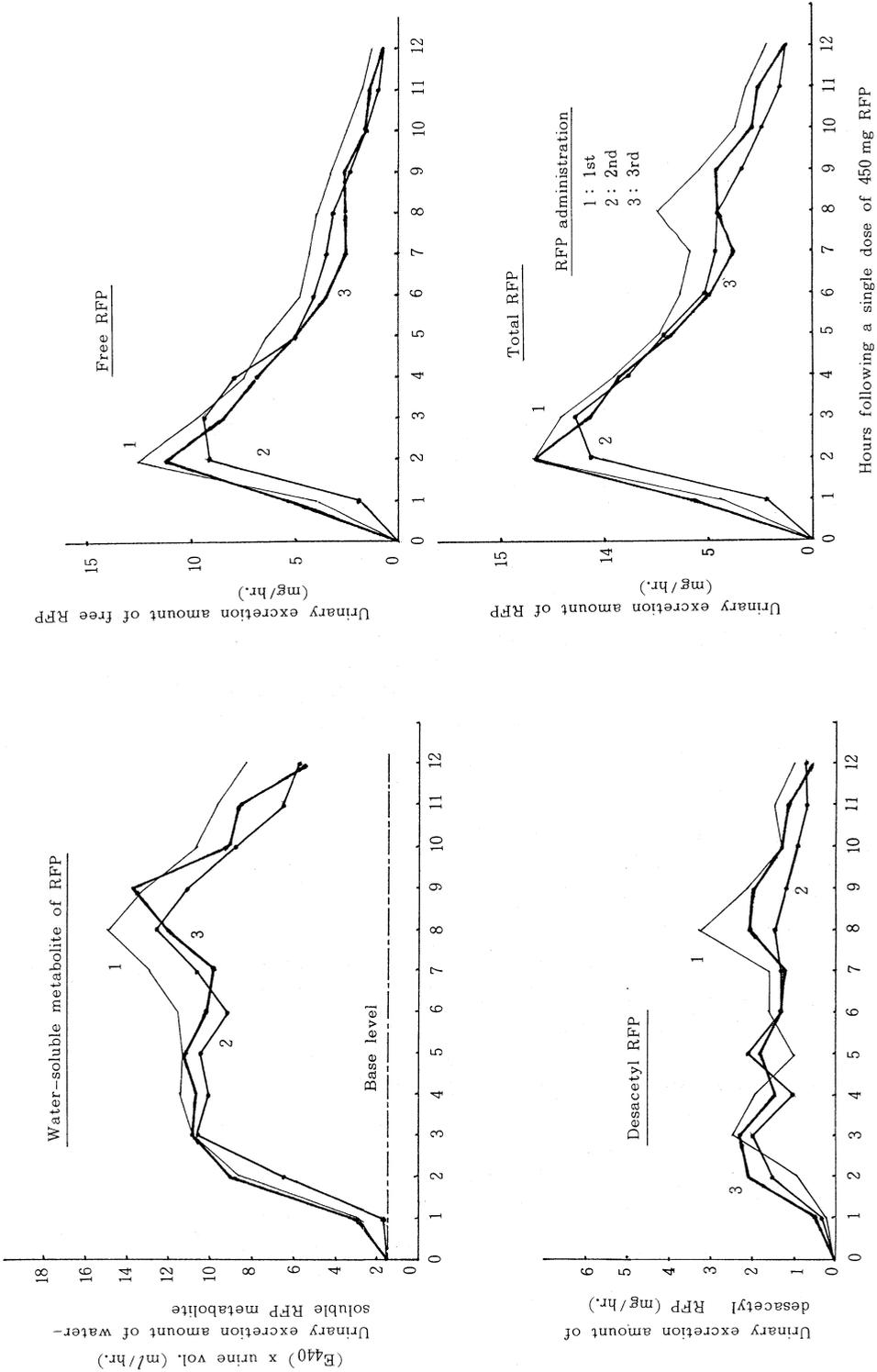


Fig. 7. Rifampicin Metabolisms in the Intermittent Administration of RFP (450 mg/day) at Intervals of 3 or 4 Days (Twice a Week).

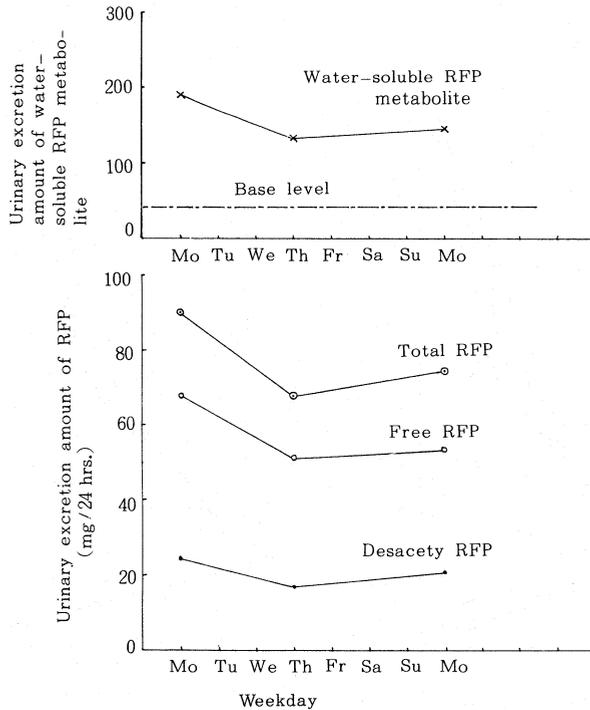


Fig. 8. Change in Each Urinary Excretion Amount of Free RFP, Desacetyl RFP, Total RFP and Water-Soluble RFP Metabolite in the First Week of the Intermittent Administrations (Twice a week) of 450 mg RFP.

また食事性増量を認め得るもその程度は軽いことなどから、desacetyl RFP は RFP 以上に代謝されやすい物質であることを示唆する。

更にこの試験でのその血中濃度の測定では、その尿中への排泄量と対比して意外なほどの低値を示し、またその経時的減衰の緩徐さからみて、desacetyl RFP は胆路系を主体に排泄され、再び速やかに吸収され腸肝循環を繰り返す物質であることを物語る。

#### 6) 酸性胃液中での RFP の酵素的酸化

人唾液中には polyphenol 化合物を基質とする salivary oxidase が見出され、これは 4 以下の強酸性 pH で活性化する点で胃液中にて働く酵素と考えられる。Naphthol を母核とする RFP はこの酵素によって、Fig. 16 に示すように、的確に酸化され RFP-quinone となるので、腸管吸収に先駆ける胃液中での RFP の酵素的酸化は必至で、この薬物代謝上で無視できない問題となり得る。

そこで RFP が胃液中で問題の唾液 oxidase によって完全に酸化された場合を想定する RFP-quinone の

内服試験を行ってみた。Fig. 17 に示す成績は、試薬 RFP-quinone の 450 mg を一度に内服して調べたこの物質代謝の様相である。

これによると、その尿中検出物は内服した RFP-quinone ではなく、その殆どが RFP と desacetyl RFP への還元物で、またその両者の共存比も RFP を内服した場合とほぼ同様であるとの所見が得られ、また尿中検出量が RFP の同量投与時と較べ約 1/4 と極めて少なかったことも特筆された。

なお RFP-quinone は 530 nm に可視吸光極大を示し、RFP の定量に使用する 475 nm の吸光はその吸光スペクトル上で谷値になるとの観点から、検体にビタミン C を添加しすべて還元化して測定し直してみたが、期待の増量はほんの僅かで、その程度は RFP 内服時の場合と殆ど同じとみられた。

内服する RFP は酸性胃液中で上記のような酵素的酸化を受けることは必至であり、その産物 RFP-quinone に対する人生体の反応は以上のようなものとの観点に立ち、RFP の薬効上の臨床的見地から、RFP の胃液内

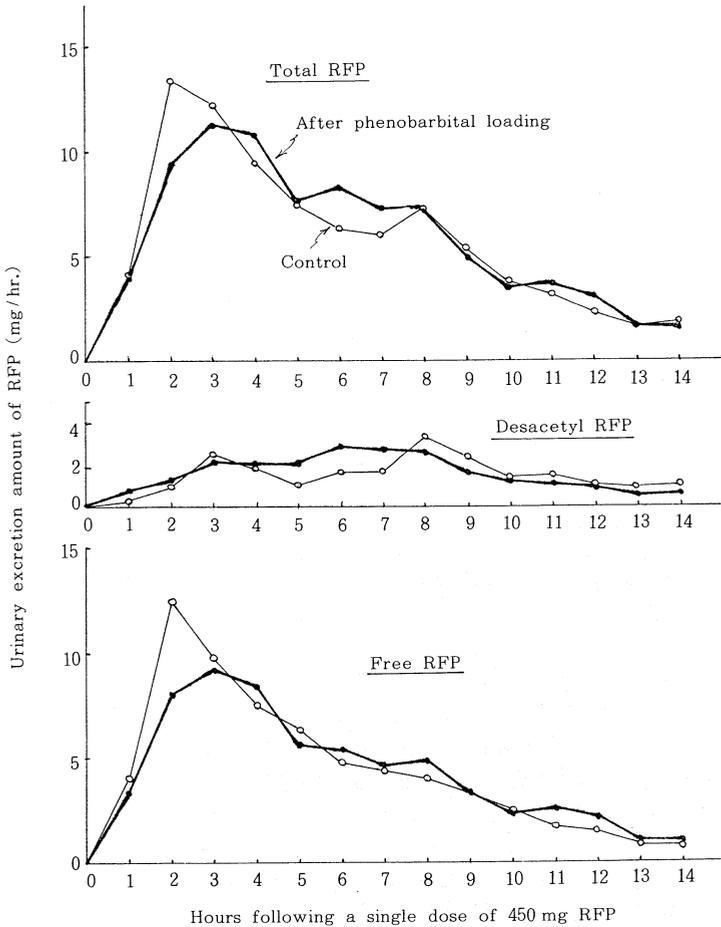


Fig. 9. Influence of the phenobarbital Loading on the RFP Metabolism.

Phenobarbital loading: 0.1 g phenobarbital. was given daily for 4 days before investigation of the RFP metabolism.

酸化を踏まえた、この投与方法の問題が提起される。

#### 総括並びに考案

水溶液中の RFP は化学的にかなり不安定で、これを単に放置するだけでも赤紅色の不溶性物を生じ、酸性溶液中ではその産物がより顕著化する。この産物は 3-formylrifamycin SV である。また RFP 水溶液をアルカリ性にして観察すると、RFP は酸化されやすく暗紫色の RFP-quinone となる。

RFP は内服薬として開発された薬剤であるため、この服用でまず酸性胃液に触れる。次いで腸管に移行するとアルカリ性腸液にも浸るため、腸管吸収に先駆ける上記の化学的変化を受けることが当然予想される。

RFP の人における主代謝系は desacetylation とみ

られ、その産物 desacetyl RFP は胆路系に移行しやすく、このまま便とともに排泄されるとの考え方が定説化している<sup>2)4)8)</sup>。RFP の C<sub>25</sub> 位の脱酢化で生ずる 25-desacetyl-RFP は、RFP が不安定な薬物とはいえ、そう簡単に産生されるものではないので、生体内で合目的代謝機序のもとで産生されるものであることに異論はない。だがこれを RFP の終局的代謝物とみなすことには以下の観点から疑念が残る。即ち、①desacetyl RFP は親水性をおびたとはいえ、なお脂溶性を兼備し、また結核菌に対する強い抗菌活性を維持する<sup>2)</sup>。②この産物は胆汁中に分泌され、従って腸管に排泄されるとはいえ、再び吸収され循環血流にも移行し、RFP の腸肝循環性の主役を演ずる<sup>1)</sup>。③RFP 450 mg を内服した際の尿便よりの desacetyl RFP 検出量は、尿中よりの検出量

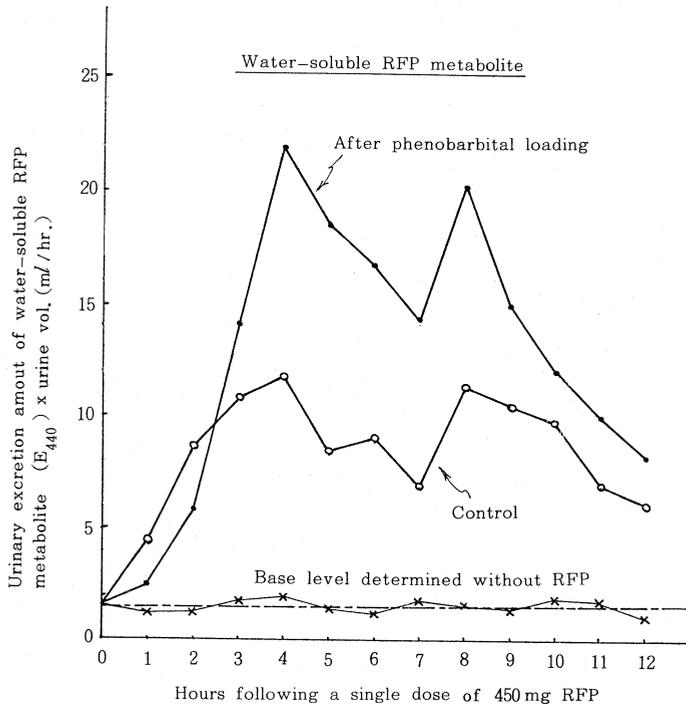


Fig. 10. Remarkable Increase in the Urinary Excretion of Water-Soluble RFP Metabolite in the RFP Metabolism under Phenobarbital Loading.

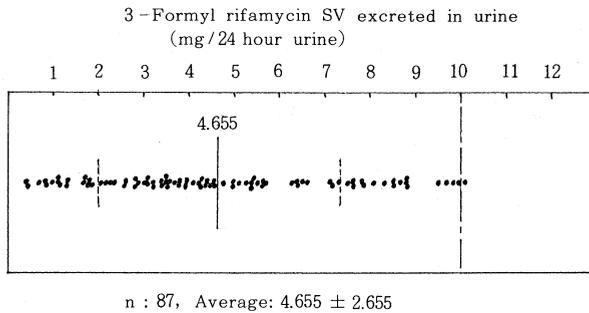


Fig. 11. Urinary Excretion Amounts of 3-Formyl-rifamycin SV in 24 Hour Urine after a Single Dose of 450 mg RFP in Fasting Morning.

の約5倍で、胆路系排泄の産物であることを立証するも、尿尿の両者からの desacetyl RFP の検出量はなお 100 mg 程度に過ぎず、また無変化の RFP 約 100 mg の回収分と併せても約 200 mg 程度で、RFP 投与量の約 45 %にとどまる。

RFP は naphtholfuran の母核に長い橋状側鎖環のつく複雑な化合物で、分子量も 823 と大きく、methyl-

piperazine の附加にて僅かに水になじみやすくされた薬物と受け取れる<sup>30)31)</sup>。

RFP を受け入れた人生体は、まず C<sub>25</sub> 位の脱酢化により親水性 25-desacetyl RFP とするが、胆汁中に見出される RFP の大部分 (95%以上) が desacetyl 体であると報告されるように<sup>4)</sup>、かような薬物を胆路系に排泄するためには、親水化処理の必須であることを物語

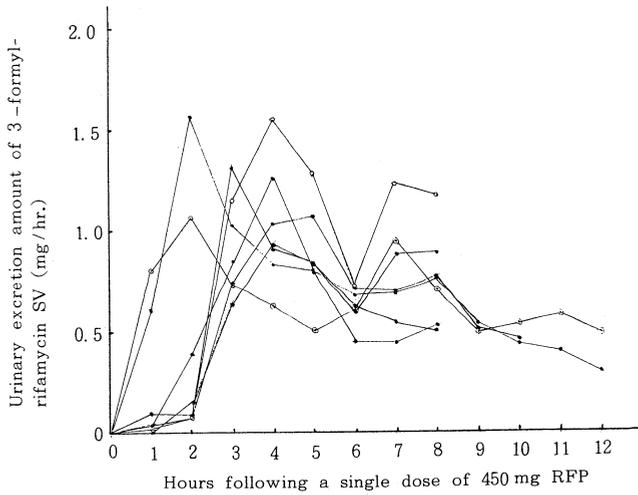


Fig. 12. Serial Excretion of 3-Formylrifamycin SV into the Urines Following a Single Dose of RFP.

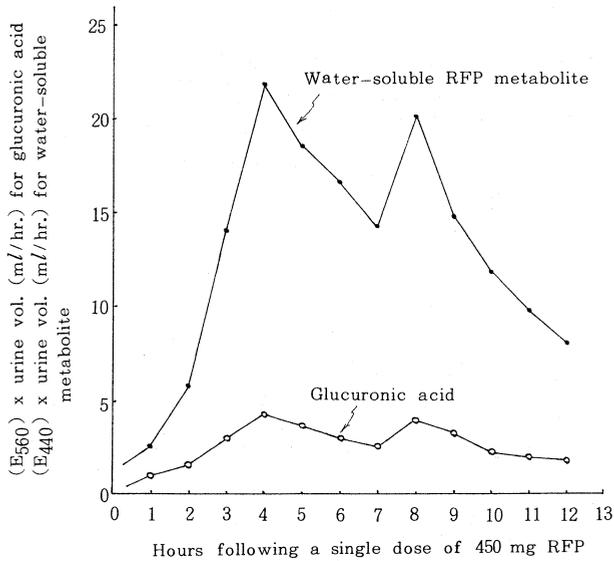


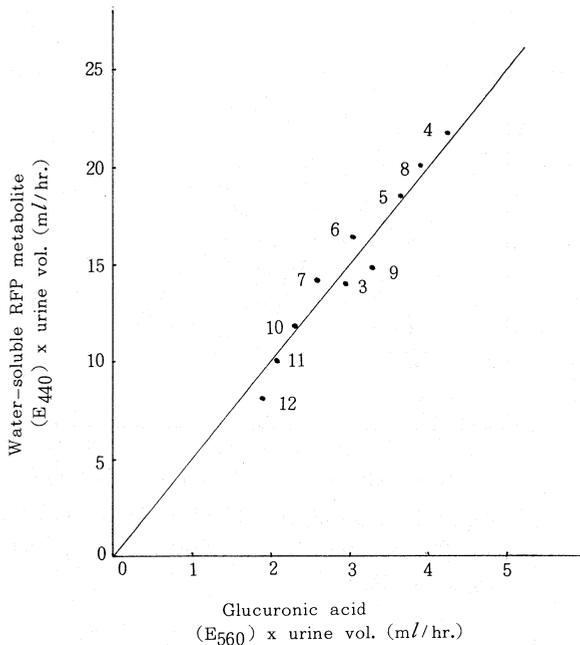
Fig. 13. Urinary Excretion Amount of Water-Soluble RFP Metabolite and Glucuronic Acid as its Glucuronide.

る。

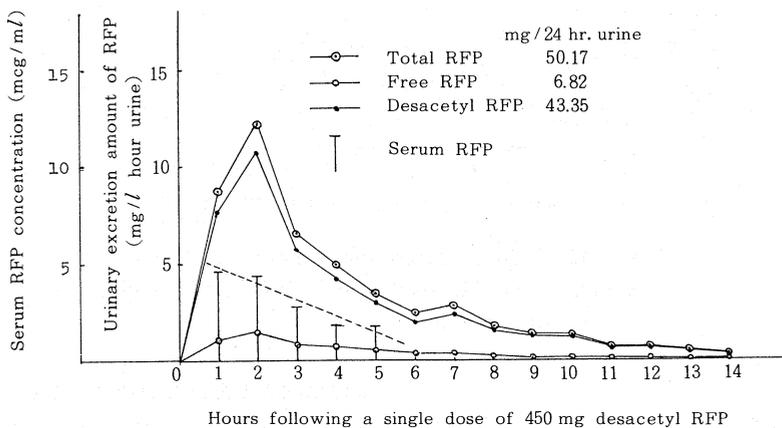
だがこの産物は本研究でも確かめ得たごとく、腸管より良く吸収されるし、また尿中へも排泄される性格のものであることを知るべきである。従ってより生理的解毒代謝の見地からすれば、RFPの母核 naphthol に対する glucuronidationこそ最も理にかなった処理法のように思える。事実これを裏付けるように、RFPの酵素

誘導に関する最近の研究で、この薬物投与で尿中に glucaric acid や saccharic acid が増量するとの報告がある<sup>32) 33)</sup>。

Isoamylalcohol は諸検体中の脂溶性 RFP (即ち RFP と desacetyl RFP) を選択的によく抽出する。だが、その抽出後の検体中にはなお RFP 由来の黄色色素の残存が観察される。この両者をほぼ完全に抽出する



**Fig. 14.** Correlationship between Amounts of Water-Soluble RFP Metabolite and Glucuronic Acid in Each Hourly Benzylalcohol Extracts.  
Indicated Number Shows Each Kind of Hourly Urines Sampled Serially.



**Fig. 15.** Urinary Excretion of Desacetyl RFP and its Metabolites, and Serum RFP Levels after a Single Dose of 450 mg Desacetyl RFP before Breakfast.

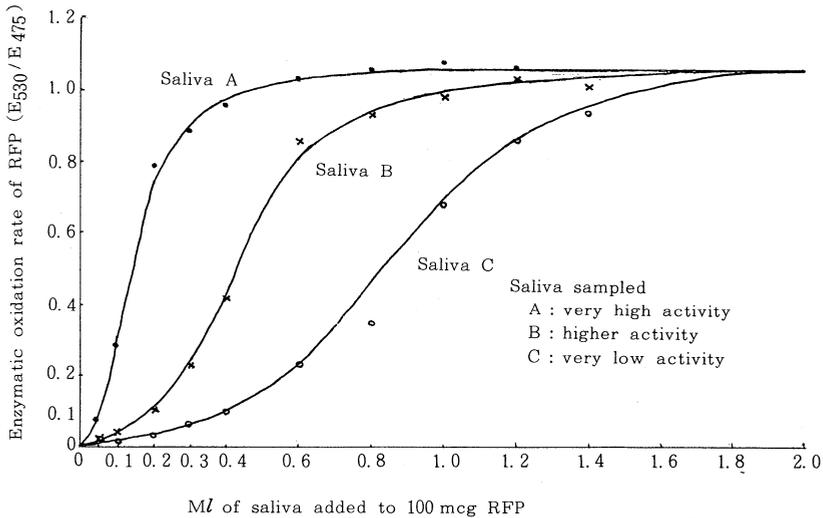


Fig. 16. Enzymatic Oxidation of RFP by Human Salivary Oxidase in Stomach Acid.

100 mcg RFP was treated with 0.05–1.4 ml of human saliva in stomach acid below pH 2, at 37°C for 15 min., then was extracted in isoamylalcohol at pH 7, and both absorbances at 530 and 475 nm of the isoamylalcohol extracts were measured for the determination of the enzymatic oxidation of RFP.

のに benzylalcohol がある。従って isoamylalcohol で一次抽出を行った後、この benzylalcohol で二次抽出を行うと、この問題のいわゆる親水性黄色産物の分離抽出が可能となる。この色素は rifamycin SV に類似する分光性を有し、glucuronic acid 陽性の物質であるとの確認から、これを RFP の真の親水性代謝物とみなし、RFP–glucuronide として即ち報告した<sup>11)</sup>。

この親水性代謝物の尿中排泄には食事性増量が観測される。だが desacetyl RFP の場合のように即腸肝循環をするものとはいえない。そこで考えられることは、尿中排泄にみるこの食事性増量が同じく増量する desacetyl RFP のそれよりも常にやや遅い時差で動向することに注目し、RFP に対する glucuronidation はおそらく RFP に直接作用するというより、RFP をまず desacetyl 体となし、むしろこの中間体を介して進められるとみる仮説である。

RFP の酵素誘導性については既にさまざまな見地からこの確認が数多く報告されている<sup>28) 29) 34)</sup>。本研究でもまた phenobarbital 負荷による酵素誘導で、RFP の親水性 glucuronide が尿中に多量に排泄されるのが実証され、RFP は glucuronidation を活発に受ける薬物であるとの確認を得た。だが一方、この試験観察か

らは期待された RFP に対する desacetylation の促進化を明示する所見は残念ながら得られなかった。

また、本研究では RFP を 1 週間連日投与する過程で、RFP 代謝の初期変化を詳細に観察し、その結果 RFP の代謝促進にみる主たる変化は、RFP の減少としてよりも、むしろその代謝物 desacetyl RFP の著しい減少に特徴づけられるとの結論を得た。

以上のような諸事実に鑑み、RFP の人での代謝はまず desacetylation がこの処理の前提として先行するが、この産物の二次的処理は必須となり、酵素誘導による生理解毒処理の活性化により、その一つ glucuronidation が優位に立つものと考えられた。そして、もしこの二次的解毒処理が円滑に進展し得ない場合には、desacetyl RFP は蓄積し、ひいては代謝を遅滞せしめ、これによる副作用（発熱や情緒不安等）を誘発する恐れのあることは既に報告したとおりである<sup>19)</sup>。

RFP の人での代謝では更にまた、強酸性胃液中での化学的変化と、その強酸性で活性化する唾液 oxidase による酵素的酸化を無視することはできない<sup>35) 36)</sup>。酸性下で産生する 3-formyl 体は水不溶性であるが、蛋白結合性が強く心配である。この産物もまたその酸性胃液中で唾液 oxidase で酸化されることを確かめ得るも、

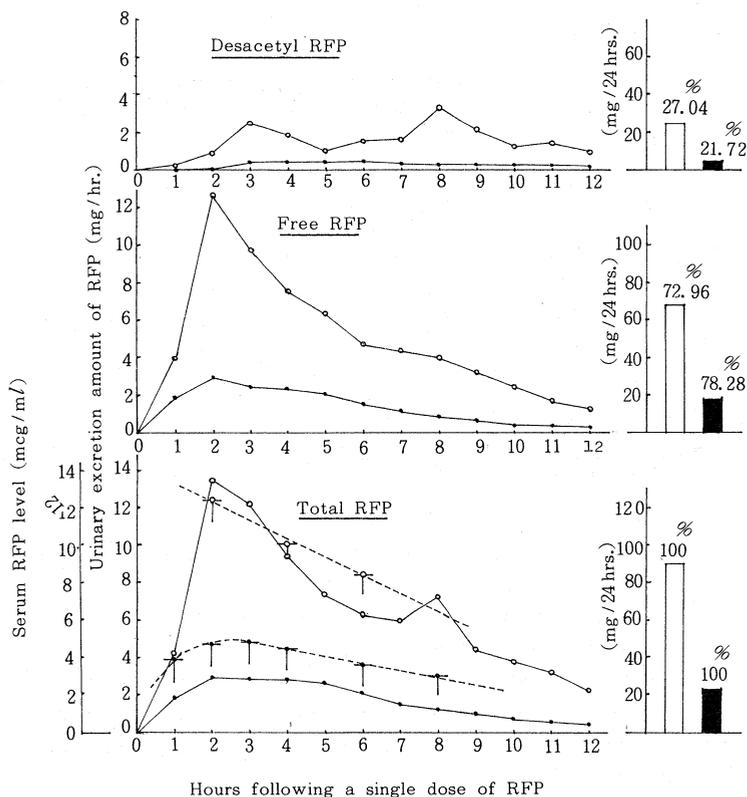


Fig. 17. Urinary Excretion Amount of RFP and Desacetyl RFP, and Serum RFP Levels after a Single Dose of 450 mg RFP or 450 mg RFP-quinone.

○—○ serum RFP level, —○— mg/hr. and □ mg/24 hrs. after a single dose of 450 mg RFP.  
 ▲—▲ serum RFP level, —●— mg/hr. and ■ mg/24 hrs. after a single dose of 450 mg RFP quinone.

その酸化体の性格と運命については定かではない。またこの 3-formyl 体は尿中にも検出されるが、酸性胃液中で産生されたものが尿中に排泄されるとは考えられず、その成因が問われる。唾液 oxidase による RFP-quinone への消化管内酸化については、この産物の腸管吸収の悪さからみて、RFP の吸収に先駆けるかような変質は臨床的観点からは好ましいこととはいえない。そして胃切除例では対照例より RFP の血中濃度が高くなるとの報告<sup>37)</sup> と無関係ではないとも考えられる。

早朝空腹時に服用することを基準づけている RFP 投薬法は、この薬物が使用され始めた当初からの処方である。しかしこの投薬法の根拠となる論理的記載は未だない。

早朝空腹時の胃液は一般には酸性であってもおそらく pH 4 以上であり、多くは中性に近いであろう。このような胃液中では人の唾液 oxidase は賦活化されないの

で、この時期に投与される RFP にはこの酵素的酸化は起こり得ない。従っておそらく唾液 oxidase による RFP の酸化的変質をできるだけ抑え得る早朝空腹時の投与が、その血中濃度を最も高くし得るとの論理を背景とする、経験的事実に基づく処方と考えられなくもない。更にまた RFP を capsule に封入し、かつその 1 日量を一度に内服する処方も、その酸化をより少なくする点で効果的であると言えそうである。

以上のごとく RFP の人体内代謝は予想を超えた複雑さであり、単に RFP の血中濃度の測定のみで理解し得るようなものではなく、特にその副作用の発症に際しては、その代謝の仕組みの認識を踏まえた綿密な成因検索が望まれる。ちなみに、以上の RFP 代謝を理解しやすく図式化すると Fig. 18 のように表現されよう。



- 8) Acocella, G. et al. : Multicompartmental analysis of serum, urine and bile concentration of rifampicin and desacetylation in subjects treated for one week, *Pharmacol. Res. Commus.*, 10 : 271-288, 1978.
- 9) Mouin, G. et al. : Pharmacokinetics of rifampicin and desacetyl-rifampicin in tuberculous patients after different rates of infusion, *Ther. Drug Monit.*, 5 : 67-72, 1983.
- 10) 佐野光司他 : Rifampicin の尿中代謝産物, *The Japanese J. of antibiotics*, 23 : 416-420, 1970.
- 11) Nakagawa, H. et al. : Rifampicin-glucuronide in human urine, *Excepta Medica "Rifampicin"*, 90-94, 1973.
- 12) Hanngren, A. et al. : Proceedings of the workshop on intermittent drug therapy and immunological implications in antituberculous treatment with rifampicin, Oct. 2-3, 1972, Munksgaard, Copenhagen, Denmark *Scand. J. Resp. Disea. Supple*, 1973.
- 13) Anson, K. M. et al. : Experience of adverse reactions associated with rifampicin in the treatment of tuberculosis, *Symposium on Rimactane*, Kyoto, Japan, 1-18, 1973.
- 14) Bansal, V. K. et al. : Prolonged renal failure after rifampicin, *Amer Rev Respir Dis*, 116 : 137-140, 1977.
- 15) Buffington, G. A. : *J. Amer Med Asc*, 236 : 1958-1960, 1976.
- 16) Girling, D. J. : Adverse reactions to rifampicin in antituberculosis regimens, *J Antimicrobial Chemotherapy*, 3 : 115-132, 1977.
- 17) Madee, B. et al. : Adverse reactions to rifampicin in patients with tuberculosis and nonspecific disease of lung, *Probl. Tuberk.*, 58 : 27-29, 1980.
- 18) Oberdisse, E. et al. : Results of a controlled clinical trial of the effect of rifampicin on lipid metabolism, *Prax. Klin. Pneumol.*, 35 : 1059-1061, 1981.
- 19) 中川英雄他 : Rifampicin の高 desacetylation と副作用について, *結核*, 56 : 577-586, 1981.
- 20) Davison, A. G. et al. : Acute renal failure following reintroduction of rifampicin after a prolonged interval, *J. Dis. Chest*, 75 : 103-104, 1981.
- 21) Polasa, K. et al. : Rifampicin kinetics in undernutrition, *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, 17 : 481-484, 1984.
- 22) Skakun, N. P. et al. : Potentiation of isoniazid hepatotoxicity by rifampicin, *Antibiot. Med, Biotechnol.*, 30 : 185-189, 1985.
- 23) Winsel, K. et al. : On the pharmacokinetics of rifampicin in the intermittent treatment of patients suffering from tuberculosis of the lungs, Part I Rifampicin secretion in urine, *Pharmazie*, 40 : 253-256, 1985.
- 24) Takasu, N. et al. : Rifampicin-induced early phase hyperglycemia in humans, *Amer Rev Respir Dis*, 125 : 23-27, 1983.
- 25) Perret, G. et al. : Change in serum-glutamyl transferase activity induced by rifampicin during treatment of human tuberculosis, *Ircs. Med. Sci.*, 11 : 548-549, 1983.
- 26) Dutt, A. K. et al. : Underdesirable side effects of isoniazid and rifampicin in largely twice-weekly short course chemotherapy for tuberculosis, *Amer Rev Respir Dis*, 128 : 419-424, 1983.
- 27) Cluzel, R. A. et al. : Rifampicin in the treatment of osteoarticular infections due to staphylococci, *J Antimicrob Chemother*, 13 : Suppl C 23-29, 1984.
- 28) Adachi, Y. et al. : Induction of rat liver bilirubin-conjugation enzymes and glutathione-S-transferase by rifampicin, *Gastroenterology*, 20 : 104-110, 1985.
- 29) Pirious, A. et al. : Enzyme induction with high doses of rifampicin in wister rats, *Toxicol. Latt.*, 17 : 301-306, 1983.
- 30) Seydel, J. K. : Physio-chemical studies on rifampicin, *Antibiotica et Chemotherpia*, 16 : 1-12, 1970.
- 31) Petrenko, V. M. : Direct action of rifampicin on the acid-forming and motorfunction of the stomach in tuberculous patients, *Probl. Tuberk.*, 57 : 47-50, 1979.
- 32) Perry, W. et al. : Urinary d-glucuronic acid excretion during rifampicin, isoniazid and anticonvalent enzyme induction, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 35 : 710-715, 1984.
- 33) Ohailleux, E. et al. : Study of enzyme induction by rifampicin and acetylation rate for isoniazid in 2 patients treated for tuberculosis, *Res. Fr. Mal. Respir.*, 8 : 219-224, 1980.
- 34) Perry, W. : Isoniazid inhibition of rifampicin

- mediated enzyme induction Saudi. Med. J., 2 : 65-71, 1981.
- 35) 中川英雄他 : 人の唾液の naphthohydroquinone dehydrogenase, Proceedings of the Symposium on Chemical Physiology and Pathology, 10 : 196-204, 1970.
- 36) 中川英雄 : 人唾液中の rifampicin oxidation catalyst, Proceedings of the Symposium on Chemical Physiology and Pathology, 11 : 227-234, 1971
- 37) Biehl, Th. et al. : Pharmacokinetics of rifampicin in gastrectomized persons, Prax. Klin. Pneumol., 32 : 584-592, 1978.