[¹⁴C]Urea の体内動態(第2報); 非絶食ラットにおける 吸収, 分布, 代謝, 排泄

野村 成章, 松本 聡, 西村 由香, 笠井 英史, 南 博文
寺内 嘉章, 藤井 敏彦

Pharmacokinetic Studies of [¹⁴C]Urea (2); Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion after Administration of [¹⁴C]Urea in Non-Fasted Rats

Naruaki NOMURA, Satoshi MATSUMOTO, Yuka NISHIMURA, Hidefumi KASAI, Hirofumi MINAMI,
Yoshiaki TERAUCHI and Toshihiko FUJII

Department of Pharmacokinetics, Developmental Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka

Summary: Absorption, distribution, metabolism and excretion after a single intravenous and oral administration of [¹⁴C]urea at a main dose of 2 mg/kg were investigated in non-fasted rats. Comparison of the pharmacokinetics in rats between under non-fasted and fasted conditions was also investigated.

1. The radioactivity levels in plasma were decreased biphasically with $t_{1/2\alpha}$ of 2–3 hr and $t_{1/2\beta}$ of 6–11 hr, irrespective of administration routes and doses. After oral administration at doses of 2, 62.5, 250 and 1000 mg/kg, the $C_{\max}$ and $AUC_{0-\infty}$ were virtually proportional to the administered doses, suggesting linear-pharmacokinetics within the examined dose range.

2. The radioactivity levels in plasma and tissues reached $C_{\max}$ at 0.5–1 hr after oral administration. The concentration in the kidney, which was 2.4 times as high as that in plasma, was the highest in the examined tissues. The concentrations in other tissues were similar to, or lower than the plasma concentration. After the $C_{\max}$, the concentrations in most tissues decreased in almost parallel with the plasma concentration.

3. In plasma at 1 hr after oral administration, only the unchanged drug was observed in the plasma radioactivity. On the other hand, at 8 hr, about 70% and 30% of the plasma radioactivity were unchanged drug and unknown components, respectively. In urine for 24 hr after dosing, only the unchanged drug was also observed, irrespective of administration routes.

4. Within 96 hr, 73.1%, 1.6% and 20.1% of dosed radioactivity were excreted in urine, feces and expired air after intravenous administration, and 54.0%, 1.0% and 42.9% after oral administration, respectively. The bioavailability estimated from the ratio of urinary excretion of urea after oral administration to that after intravenous administration was 74%.

5. Feeding condition in rats enhanced metabolism/decomposition of urea and influenced its plasma concentration-time profiles and excretion profile.

Key words: Urea, Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection, Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Expired air, Non-fasted rats, Fasted rats

緒 言

Helicobacter pylori (*H. Pylori*)感染の診断法として,¹³Cまたは¹⁴C標識 urea(以下, [¹³C]または[¹⁴C]ureaと記載)を用いた呼吸試験(Urea Breath Test)が有用であることが見出され¹⁻³⁾, 我国においては, [¹³C]ureaが診断薬として開発されつつある。

CD-13([¹³C]urea)は当社において開発された *H.*

Pylori 感染診断薬である。本研究では urea の体内動態を明らかにすることを目的に, [¹⁴C]urea を用いてラットにおける吸収, 分布, 代謝, 排泄について検討した。本診断が経口投与された [¹³C]urea の胃内における代謝・分解に基づき実施されるという性質上, 食餌の影響を検討することは重要であるものと考えられることから, 絶食下および非絶食下における一連の体内動態試験を実施した。前報⁴⁾では絶食下のラットにおける [¹⁴C]

urea の体内動態について検討した結果、静脈内および経口投与後いずれも urea はほとんど代謝を受けず、速やかに尿中へ排泄されることを明らかにした。本報では非絶食下のラットに [^{14}C]urea を投与後の体内動態について検討し、絶食下での体内動態と比較することにより食餌の影響の観点から考察した。その結果、食餌により [^{14}C]urea の体内動態が変動する知見が得られたので報告する。

実験材料および方法

1. 標識化合物および化合物

市販の [^{14}C]urea (Code CFA. 41, Batch 117B; Amer-sham International plc, Bucks, U.K.) を使用した⁴⁾。本標識化合物の比放射能は 35.2 MBq/mg であり、放射化学的純度はエタノール: 蒸留水: 25%アンモニア水 = 20/4/1 (v/v/v) を展開溶媒とした薄層クロマトグラフィー (TLC plate; Silica gel 60F₂₅₄, No. 5715; E. Merck) による検定の結果、99%以上であった。なお実験には非標識 urea (Code No. 215-00611, Lot. No. SKN7132: 和光純薬株) で適宜希釈して用いた。その他の化学試薬および溶媒は全て市販特級品を用いた。

2. 実験動物

実験には 7~9 週齢、体重 238~359 g の雄性 SD ラット (日本クレア株) を用いた。室温 20~26°C、湿度 40~70%、照明 12 時間明暗サイクルの条件下の部屋で予備飼育をした後、各試験に供した。試験期間中は個別のケージに収容し、同条件の部屋で試験を実施した。ラットは予備飼育および試験期間中を通して飼料 CE-2 (日本クレア株) および水を自由に摂取させた。

3. 投与薬液の調製および投与方法

静脈内および経口投与薬液の調製および投与方法は既報と同様に実施した⁴⁾。各試験における用量は、全身オートラジオグラフィー試験は 3.7~7.4 MBq/2 mg/mL/kg、その他の試験は 1.85 MBq/2~1000 mg/mL/kg で実施した。

4. 血漿中放射能濃度の測定

非絶食下、ラットに [^{14}C]urea を 2 mg/kg の用量で静脈内投与後および 2, 62.5, 250, 1000 mg/kg の用量で経口投与後、5*¹, 15, 30 分、1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, 72 時間 (* 静脈内投与群のみ) に採血した。血漿試料の調製および測定方法は既報と同様に実施した⁴⁾。

5. 臓器・組織中放射能濃度の測定

非絶食下、ラットに [^{14}C]urea を 2 mg/kg の用量で経口投与後、30 分、1, 4, 8, 24, 72 時間にエーテル麻酔

下、ヘパリン処理した注射器 (テルモ) で腹部大動脈より採血を行い脱血死させた後、脳、松果体、下垂体、甲状腺、副腎、心臓、大動脈 (胸部)、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、顎下腺、舌、肝臓、脾臓、胃、小腸、大腸、胃内容物、小腸内容物、大腸内容物、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊腺、眼球、ハーダー腺、筋肉 (大腿部)、脂肪、褐色脂肪、皮膚、骨 (大腿部)、骨髄を採取した。

採取した血液は一部を放射能測定用に供し、残りは遠心 (950 × g, 4°C, 10 分) して血漿と赤血球に分離した。血漿はその一定量を、消化管内容物は生理食塩水に懸濁、攪拌均質化した後その一定量をバイアルに採り、Aquasol-2 と直接混和した。血液および赤血球はその一定量をバイアルに採り、適量のエタノールおよび 30% 過酸化水素を加え脱色した後、組織溶解剤 Soluene-350 (Packard) を加え溶解し、シンチレータカクテル Omnifluor (Omnifluor 粉末 (Packard) を Toluene に溶解して調製) と混和した。骨、気管は自動燃焼装置 ASC-113 (Aloka Co., Ltd.) で燃焼し、発生した $^{14}\text{CO}_2$ ガスを吸収剤 Carbo-Sorb (Packard) で捕集し、シンチレータカクテル Permafluor E⁺ (Packard) と混和した。その他の組織は全量またはその一部を直接バイアルに採り、Soluene-350 を加え溶解し、Omnifluor と混和した。放射能の測定に供した残りの経口投与後 1 および 8 時間の血漿は代謝物組成の検討に供した。

6. 全身オートラジオグラムの作製

全身オートラジオグラムの作製は既報⁵⁾に準じて行った。すなわち、非絶食下、ラットに [^{14}C]urea を 2 mg/kg の用量で経口投与後、1, 4, 8, 24, 48 時間にエーテル吸入により麻酔死させ、直ちに被毛を刈り取りドライアイス-アセトン中で凍結した。凍結ラットをマイクロームステージ上に 4%カルボキシメチルセルロースナトリウム (Daicel Chemical Industries, Ltd.) のペーストで包埋し、ドライアイス-アセトン中で凍結して固定した。縦断面凍結切片 (厚さ 40 μm) を Cryo microtome 450 MP (Palmstiernas Mekaniska Verkstad AB., Sweden) を用いて作製した。凍結切片は凍結乾燥した後、保護膜で皮覆し、X 線フィルム Kodak SB (Eastman Kodak Co., USA) と 22 日間密着露出した後、X 線フィルムを現像し、全身オートラジオグラムを作成した。

7. 尿、糞および呼気中放射能排泄率の測定

非絶食下、ラットに [^{14}C]urea を 2 mg/kg の用量で静脈内および経口投与後の尿、糞および呼気中放射能排泄率を既報と同様の方法で測定した⁴⁾。

8. 血漿および尿中代謝物組成の検討

非絶食下, ラットに $[^{14}\text{C}]\text{urea}$ を 2 mg/kg の用量で経口投与後 1 および 8 時間の血漿および静脈内および経口投与後 24 時間までの尿中代謝物組成を既報⁴⁾と同様に, 薄層クロマトグラフィー法により検討した。

9. 放射能の測定

放射能の測定は液体シンチレーションカウンター, Tri-Carb 2000CA, 2200CA (Packard)で行った。なお, 計数効率は外部線源標準法で補正した。放射能の測定信頼限界は試料放射能の計数値 (cpm) の標準偏差が計数値の 5% に等しくなる場合とし, これを越える場合, 測定信頼限界未満とした。

10. データの処理

濃度および薬動学的パラメーターの算出, 試験成績の表示は既報と同様に実施した⁴⁾。

結 果

1. 血漿中放射能濃度

非絶食下, ラットに $[^{14}\text{C}]\text{urea}$ を 2 mg/kg の用量で静脈内投与後および 2, 62.5, 250, 1000 mg/kg の用量で経口投与後の血漿中放射能濃度推移を Fig. 1 に, それらより算出した薬動学的パラメーターを Table I に示す。2 mg/kg 静脈内投与後, 血漿中放射能濃度は二相性に

減少し, $t_{1/2}$ は α 相 1.7 時間 ($t_{1/2\alpha}$), β 相 6.2 時間 ($t_{1/2\beta}$) であった。同用量経口投与後, 血漿中放射能濃度は投与後 1 時間で $C_{\max}$ 1.10 $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$ に達し, $t_{1/2\alpha}$ 2.5 時間, $t_{1/2\beta}$ 7.5 時間と静脈内投与後とはほぼ同様に二相性に減少した。62.5, 250, 1000 mg/kg を経口投与後の血漿中放射能濃度は, 2 mg/kg 経口投与後とはほぼ同様の $t_{1/2}$ (α 相 1.9~2.1 時間, β 相 8.7~10.4 時間) で二相性に減少した。2~1000 mg/kg の用量範囲で $C_{\max}$ と $\text{AUC}_{0-\infty}$ は用量にほぼ比例して増加した。

2. 臓器・組織中放射能濃度

非絶食下, ラットに $[^{14}\text{C}]\text{urea}$ を 2 mg/kg の用量で経口投与後の組織中放射能濃度および組織/血漿中放射能濃度比をそれぞれ Table II に示す。血漿および各組織中濃度は投与後 30 分ないし 1 時間で最高濃度に達した。投与後 30 分では腎臓中濃度が最も高く, 血漿中濃度 1231 ng eq./mL の 2.4 倍であり, ついで投与部位である胃が血漿の 1.5 倍であった。膀胱, 肝臓, 脾臓, 血液および骨髓中濃度は血漿の 0.9~0.8 倍, 脾臓, 顎下腺, 下垂体, 胸腺, 腸間膜リンパ節, 肺, 顎下リンパ節, 前立腺, 副腎, 舌, 心臓, ハーダー腺, 精巣, 小腸, 筋肉, 皮膚, 精囊, 精巣上体, 甲状腺, 骨, 眼球, 褐色脂肪および気管中濃度は血漿の 0.8~0.3 倍であり, 血漿とはほぼ同程度かそれよりも低い放射能が認められた。脳, 大腸および脂肪中濃度は低く, 血漿の 0.2~

Fig. 1 Plasma radioactivity concentration after intravenous and oral administration of $[^{14}\text{C}]\text{urea}$ in non-fasted rats (Dose: 2-1000 mg/kg)

Each point represents the mean $\pm$ S.D. of 3 rats.

Open circle; 2 mg/kg, Closed circle; 62.5 mg/kg, Square; 250 mg/kg, Triangle; 1000 mg/kg

Table I Apparent pharmacokinetic parameters for plasma concentrations of radioactivity after administration of [¹⁴C]urea in non-fasted rats

Administration Route	Dose (mg/kg)	C _{max} (μg eq./mL)	T _{max} (hr)	t _{1/2}		AUC _{0-∞}
				α(hr)	β(hr)	(μg eq.·hr/mL)
Intravenous	2			1.7 (5 min–10 hr)	6.2 (10–24 hr)	7.00
Oral	2	1.10 ± 0.16	1	2.5 (1–10 hr)	7.5 (10–24 hr)	5.18
	62.5	32.1 ± 9.7	1	2.0 (2–10 hr)	10.7 (10–24 hr)	123
	250	100 ± 42	1	2.1 (2–10 hr)	9.0 (10–24 hr)	515
	1000	470 ± 53	2	1.9 (2–10 hr)	8.4 (10–24 hr)	2374

Values were calculated from the mean plasma concentrations of three animals, except for C_{max}.

The values of C_{max} are expressed as the mean ± S.D. of 3 rats.

The figures in parentheses show the time periods used for calculation of t_{1/2}.

0.1 倍であった。投与後 4 時間では、膀胱および腎臓に血漿中濃度 286 ng eq./mL のそれぞれ 4.3 倍および 2.5 倍の放射能が認められた。胃は血漿中濃度の 1.5 倍、その他の組織中濃度は血漿とほぼ同程度かあるいは低かった。最高濃度に達した後、各組織中濃度は血漿とほぼ平行に減少したのに対し、膀胱中濃度は投与後 1 時間以後 8 時間まで血漿の約 2~10 倍と高く推移した。投与後 24 時間では大腸、ハーダー腺、胃、骨髄、骨、肝臓等 18 の組織で放射能が認められたが、それらの濃度は最高濃度の 1/10 以下に減少した。投与後 72 時間では骨、胃および肝臓に最高濃度の約 1~4% と低濃度の放射能が認められたが、その他の組織では測定信頼限界未満に減少した。なお、松果体および大動脈は測定したいずれの時点においても測定信頼限界未満であった。

3. 全身オートラジオグラフィー

非絶食下、ラットに [¹⁴C]urea を 2 mg/kg の用量で経口投与後の全身オートラジオグラムを Fig. 2A~E に示す。投与後 1 時間において腎臓、膀胱・膀胱尿および投与部位である胃および胃内容物中に最も高い放射能濃度が認められた。その他の組織は血液と同程度か血液よりも低かった。以後、各組織中放射能濃度は経時的に減少し、投与後 4 時間では、投与後 1 時間と同様に腎臓、膀胱・膀胱尿および胃に高い放射能が認められ、大腸内容物に血液よりもやや高い放射能が認められた。その他の組織中放射能濃度は血液と同程度かそれよりも低かった。投与後 8 時間では放射能は腎臓および胃に認められ、膀胱および大腸内容物に低濃度認められたが、その他の組織中にはほとんど認められなかった。投与後 24 時間では放射能は胃に低濃度、腸管壁および膀胱・膀胱尿に極めて低濃度認められたが、他の組織にはほと

んど認められなかった。投与後 48 時間では胃に極めて低濃度認められたが、その他の組織からはほぼ完全に消失した。以上の所見は組織中放射能濃度の所見とほぼ一致した。

4. 代謝物組成

1) 血 漿

非絶食下、ラットに [¹⁴C]urea を 2 mg/kg の用量で経口投与後、1 時間および 8 時間における血漿のメタノール抽出成分のラジオクロマトグラムを Fig. 3 に示す。投与後の時間にかかわらず、各血漿のメタノール抽出成分中にはほぼ未変化体のみが認められた。なお、1 時間における血漿中放射能のメタノール抽出率はほぼ 100% であったが、8 時間では 70% 程度であった (Table III)。

2) 尿

非絶食下、ラットに [¹⁴C]urea を 2 mg/kg の用量で静脈内および経口投与後 24 時間までの尿のラジオクロマトグラムを Fig. 4 に示す。尿中には投与経路にかかわらず、ほぼ未変化体のみが認められた。

5. 尿、糞および呼気中放射能排泄

非絶食下、ラットに [¹⁴C]urea を 2 mg/kg の用量で静脈内および経口投与後の呼気、尿、糞中放射能排泄率および屍体中放射能残存率を Table IV に示す。投与後 96 時間までの放射能排泄率は静脈内投与後では尿中に投与量の 73.1%、糞中に 1.6%、呼気中に 20.9% であり、経口投与後ではそれぞれ 54.0%、1.0% および 42.9% であった。呼気中排泄はいずれの投与経路においても投与後 4 時間より認められた。投与後 96 時間における屍体中放射能残存率は静脈内投与で 1.2% であり、経口

Fig. 2 A : Autoradiograms showing the distribution of radioactivity 1 hr after oral administration of $[^{14}\text{C}]\text{urea}$ (6.99 MBq (189 μCi)/2 mg/kg) in the rat

B : Autoradiograms showing the distribution of radioactivity 4 hr after oral administration of $[^{14}\text{C}]\text{urea}$ (6.99 MBq (189 μCi)/2 mg/kg) in the rat

C : Autoradiograms showing the distribution of radioactivity 8 hr after oral administration of [¹⁴C]urea (6.99 MBq (189 μ Ci) /2 mg/kg) in the rat

D : Autoradiograms showing the distribution of radioactivity 24 hr after oral administration of [¹⁴C]urea (6.99 MBq (189 μ Ci) /2 mg/kg) in the rat

E : Autoradiograms showing the distribution of radioactivity 48 hr after oral administration of $[^{14}\text{C}]$ urea (6.99 MBq(189 μCi)/2 mg/kg) in the rat

Fig. 3 Thin layer radiochromatograms of plasma at 1 hr and 8 hr after oral administration of $[^{14}\text{C}]$ urea (2 mg/kg) in non-fasted rats
TLC plate, Silica gel 60F₂₅₄ (E.Merck)
Solvent system, Ethanol/Distilled water/25% Ammonia water = 20/4/1

投与では放射能は認められなかった。静脈内投与後 96 時間までの尿中放射能排泄率に対する経口投与後のそれの比より算出した経口吸収率は約 74% であった。

考 察

我々は *H. pylori* 診断薬としての urea の体内動態を明らかにすることを目的に、 $[^{14}\text{C}]$ urea を用いて絶食下および非絶食下のラットにおける一連の体内動態試験を実施した。前報⁴⁾では、絶食下における urea の体内動態について検討した結果、静脈内および経口投与後いずれも urea はほとんど代謝を受けず、速やかに尿中へ排泄されることを明らかにした。本報では非絶食下のラットに

$[^{14}\text{C}]$ urea を投与後の体内動態を明らかにし、絶食下における体内動態との比較より、食餌の影響について検討を加えた。

非絶食下、ラットに $[^{14}\text{C}]$ urea を 2 mg/kg の用量で投与後、血漿中放射能濃度は静脈内および経口いずれの投与経路においても、 $t_{1/2\alpha}$ 約 2 時間、 $t_{1/2\beta}$ 約 7 時間で二相性に減少した。また、2~1000 mg/kg を経口投与後の $C_{\max}$ および $\text{AUC}_{0-\infty}$ は用量にはほぼ比例して増加し、広い用量範囲で線形性が示唆された。絶食下投与時⁴⁾における血漿中濃度と比較して (Fig. 5, Table V), 非絶食下投与では経口投与後の $C_{\max}$ および $\text{AUC}_{0-\infty}$ がそれぞれ 44% および 30% 低く、静脈内投与後の

Table II Tissue concentrations of radioactivity after oral administration of [¹⁴C]urea (2 mg/kg) in non-fasted rats

Tissue	Concentration (ng eq./mL or g) (T/P)					
	30 min	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr
Plasma	1231±319 (1.0)	800±252 (1.0)	286±30 (1.0)	88±5 (1.0)	— (—)	— (—)
Blood	1026±292 (0.8)	677±220 (0.8)	239±23 (0.8)	72±8 (0.8)	— (—)	— (—)
Red blood cells	836±258 (0.7)	547±209 (0.7)	167±14 (0.6)	49±7 (0.6)	— (—)	— (—)
Brain	210±44 (0.2)	259±75 (0.3)	229±24 (0.8)	110±19 (1.3)	— (—)	— (—)
Pineal body	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
Hypophysis	925±204 (0.8)	648±197 (0.8)	245±36 (0.9)	— (—)	— (—)	— (—)
Thyroid	594±170 (0.5)	465±211 (0.6)	152±35 (0.8)	— (—)	— (—)	— (—)
Adrenal	833±240 (0.7)	558±261 (0.7)	217±22 (0.8)	81±1 (0.9)	— (—)	— (—)
Heart	826±202 (0.7)	577±207 (0.7)	192±27 (0.7)	55±5 (0.6)	— (—)	— (—)
Aorta	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
Spleen	970±265 (0.8)	652±238 (0.8)	252±32 (0.9)	84±1 (1.0)	— (—)	— (—)
Thymus	900±208 (0.7)	661±252 (0.8)	227±17 (0.8)	73±1 (0.8)	24±7 (—)	— (—)
Mesenteric lymph node	915±275 (0.7)	558±250 (0.7)	220±25 (0.8)	69±3 (0.8)	15±5 (—)	— (—)
Submaxillary lymph node	876±235 (0.7)	603±206 (0.7)	206±10 (0.7)	70±2 (0.8)	19±6 (—)	— (—)
Submaxillary gland	969±234 (0.8)	703±204 (0.9)	372±50 (1.3)	112±6 (1.3)	17±5 (—)	— (—)
Tongue	833±220 (0.7)	626±227 (0.8)	224±19 (0.8)	70±3 (0.8)	17±4 (—)	— (—)
Liver	1080±305 (0.9)	736±238 (0.9)	291±42 (1.0)	104±4 (1.2)	32±12(—)	15±4 (—)
Pancreas	1014±179 (0.8)	768±188 (1.0)	370±39 (1.3)	83±8 (0.9)	15±5 (—)	— (—)
Stomach	1912±873 (1.5)	1065±400 (1.3)	416±31 (1.5)	201±86 (2.3)	78±61(—)	43±32(—)
Small intestine	805±348 (0.6)	406±163 (0.5)	194±25 (0.7)	73±5 (0.8)	29±9 (—)	— (—)
Large intestine	177±36 (0.2)	277±106 (0.3)	165±30 (0.6)	68±8 (0.8)	26±8 (—)	— (—)
Trachea	330±47 (0.3)	350±179 (0.4)	128±24 (0.4)	— (—)	— (—)	— (—)
Lung	916±271 (0.7)	622±219 (0.8)	220±19 (0.8)	72±4 (0.8)	16±4 (—)	— (—)
Kidney	2930±526 (2.4)	2154±635 (2.8)	709±57 (2.5)	295±42 (3.4)	24±6 (—)	— (—)
Urinary bladder	1159±614 (0.9)	1369±324 (1.8)	1286±1349 (4.3)	934±732 (10.4)	— (—)	— (—)
Testicle	772±188 (0.6)	688±231 (0.9)	245±29 (0.9)	68±9 (0.8)	— (—)	— (—)
Epididymis	676±84 (0.6)	531±160 (0.7)	203±30 (0.7)	65±2 (0.7)	— (—)	— (—)
Prostate	847±179 (0.7)	729±331 (0.9)	262±38 (0.9)	86±11 (1.0)	24±10(—)	— (—)
Seminal vesicle	703±136 (0.6)	619±236 (0.8)	241±30 (0.8)	73±18 (0.8)	19±6 (—)	— (—)
Eye ball	452±97 (0.4)	477±160 (0.6)	236±32 (0.8)	76±15 (0.9)	— (—)	— (—)
Harderian gland	783±208 (0.6)	626±265 (0.8)	389±49 (1.4)	185±30 (2.1)	96±32(—)	— (—)
Muscle	766±230 (0.6)	581±197 (0.7)	183±20 (0.6)	48±8 (0.6)	— (—)	— (—)
Fat	70±23 (0.1)	58±31 (0.1)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
Brown fat	421±45 (0.4)	304±123 (0.4)	119±25 (0.4)	52±5 (0.6)	— (—)	— (—)
Skin	748±172 (0.6)	447±182 (0.5)	168±24 (0.6)	53±3 (0.6)	14±5 (—)	— (—)
Bone	464±81 (0.4)	395±48 (0.5)	203±7 (0.7)	83±21 (0.9)	38±14(—)	20±4 (—)
Bone marrow	997±244 (0.8)	679±206 (0.8)	298±29 (1.0)	117±11 (1.3)	42±14(—)	— (—)

Values are expressed as the mean±S.D. of 3 rats.

Dashes show that data were below the reliable limit of measurement.

The values in parentheses show the ratios of radioactivity concentration in tissue relative to that in plasma(T/P).

Table III Composition ratio of urea in plasma after oral administration of [¹⁴C]urea (2 mg/kg) in non-fasted rats

Time after dose	Recovery of extraction by methanol (% of specimens)	Urea (% of total radioactivity in plasma)
1 hr	97.1±5.5	92.8±6.5
8 hr	70.0±3.7	68.7±5.0

Values are expressed as the mean±S.D. of 3 rats.

AUC_{0-∞} は13%低く, t_{1/2β} はいずれの投与経路においても約2倍程度大きかった。また, 非絶食下における尿中排泄は経口および静脈内投与後, 絶食下に比べそれぞれ投与量の41%および18%低く, それにはほぼ対応して呼気中排泄がそれぞれ39%および16%高かった。UreaはCO₂へ代謝・分解され呼気中へ排泄されることから, 呼気中排泄の増加はureaの代謝・分解が亢進したことを示すものである。このことから, 投与経路にかかわらずureaの代謝・分解は食餌により亢進し, その

Fig. 4 Thin layer radiochromatograms of 24 hr-urine after intravenous and oral administration of $[^{14}\text{C}]$ urea (2 mg/kg) in non-fasted rats
TLC plate, Silica gel 60F₂₅₄ (E.Merck)
Solvent system, Ethanol/Distilled water/25% Ammonia water=20/4/1

Table IV Excretion of radioactivity in urine, feces and expired air after administration of $[^{14}\text{C}]$ urea (2 mg/kg) in non-fasted rats

Administration route	Time period (hr)	Recovery of radioactivity (% of dose)			
		Urine	Feces	Expired air	Carcass ^{*1}
Intravenous	0-4			10.5 ± 1.0	
	4-8			5.4 ± 1.5	
	8-24			4.7 ± 2.6	
	0-24	72.6 ± 5.3	1.6 ± 0.4	20.5 ± 2.7	
	24-48	0.3 ± 0.1	—	0.3 ± 0.2	
	48-72	0.2 ± 0.1	—	—	
	72-96	0.1 ± 0.0	—	—	
	Washing ^{*2}	0.0 ± 0.0			
	0-96	73.1 ± 5.5	1.6 ± 0.4	20.9 ± 2.8	1.2 ± 0.6
Oral	0-4			33.7 ± 11.2	
	4-8			5.3 ± 0.7	
	8-24			3.8 ± 4.0	
	0-24	53.8 ± 9.5	1.0 ± 0.1	42.7 ± 8.1	
	24-48	0.1 ± 0.0	—	0.2 ± 0.1	
	48-72	—	—	—	
	72-96	—	—	—	
	Washing ^{*2}	—			
	0-96	54.0 ± 9.6	1.0 ± 0.1	42.9 ± 8.0	—

Values are expressed as the mean ± S.D. of 3 rats.

Dashes shown that data were below the reliable limit of measurement. Empty columns show "not examined".

^{*1}: Recovery at 96 hr after administration.

^{*2}: Metabolism cage was washed by distilled water at 96 hr after administration.

結果, urea の血漿中動態および排泄動態が変動したものと推察される. 一方, 各組織/血漿中濃度比は, 絶食および非絶食下投与間ではほぼ等しく, 組織分布挙動自体に摂餌状態の影響はないものと考えられる.

以上のように, 食餌により urea の体内動態が変動す

ることが明らかとなったが, その影響は経口投与時により顕著であった. 非絶食下投与時における尿中の放射能成分は, 投与経路によらず未変化体のみであったことから, 経口/静脈内投与後の尿中放射能排泄率の比は生物学的利用率(BA)に相当すると考えられる. したがって非絶食下における BA は約 74% と見積られ, 投与量の約 26% が初回通過効果を受けることが示唆された. Urea の分子量は約 60 と小さく, 小腸からの吸収は $t_{1/2}$ 約 5 分と極めて速やかで良好であり⁶⁾, 胃からの吸収は小腸に比べ小さい⁷⁾ことが報告されている. このことから, 経口投与後 urea は主として小腸より吸収され, 経口投与された urea が未吸収のまま大腸に至る可能性は小さいと考えられる. また本検討において, 投与後 4 時間までの呼気中排泄率は静脈内投与では投与量の 10.5% で呼気中総排泄量の 50% に達し, 経口投与では 33.7% で呼気中総排泄量の 79% に達し, とともに早期より呼気中排泄が認められたが, 経口投与後の方がより速やかであった. 以上より, urea は小腸で吸収される前に初回通過代謝・分解を受けるものと推察される.

食餌により血漿中濃度の $t_{1/2\beta}$ の延長が認められたが, この原因については, 経口投与後 8 時間の血漿中において絶食下では未変化体以外の代謝物の存在は認められなかったのに対して, 非絶食下では抽出不可能な放射能成分(血漿中放射能の約 30%)が認められた事実との関連より, 以下のように推測される. 内因性 urea は消化管において腸内細菌由来の urease により代謝・分解され, 生成した NH_4^+ は再吸収され, 主として肝臓で再び urea やアミノ酸あるいはピリミジンの生合成に利用されることが報告されている⁸⁾. また, 同時に生じた HCO_3^- も再吸収され, CO_2 となって呼気中へ排泄されるとともに, 一部は生体内で炭酸固定によりオキザロ酢酸⁹⁾, 脂肪酸¹⁰⁾あるいはピリミジン¹¹⁾の生合成に利用

Fig. 5 Plasma radioactivity concentration after intravenous and oral administration of [¹⁴C]urea in non-fasted and fasted rats (Dose: 2 mg/kg)
Each point represents the mean $\pm$ S.D. of 3 rats.
Closed circle; Non-fasted rats, Open circle; Fasted rats⁴⁾

Table V Comparison between fasted⁴⁾ and non-fasted rats for pharmacokinetic parameters of plasma radioactivity concentration and expiratory and urinary excretion of radioactivity after intravenous and oral administration of [¹⁴C]urea (2 mg/kg)

Parameters	Intravenous administration			Oral administration		
	Fasted	Non-fasted	$\Delta(\%)$ ^{#3}	Fasted	Non-fasted	$\Delta(\%)$ ^{#3}
C _{max} (µg eq./mL)				1.96	1.10	-44 ↓
AUC _{0-∞} (µg eq.·hr/mL)	8.06	7.00	-13 ↓	7.43	5.18	-30 ↓
t _{1/2β} (hr)	3.5	6.2	77 ↑	3.4	7.5	121 ↑
Expiratory excretion ^{#1} (% of dose)	4.7	20.9	16 ↑	3.5	42.9	39 ↑
Urinary excretion ^{#1} (% of dose)	91.1	73.1	-18 ↓	95.1	54.0	-41 ↓
Oral absorption ^{#2} (% of dose) (bioavailability)				104	74.0	-30 ↓

^{#1} : Excretion rate for 96 hr after administration of [¹⁴C]urea.

^{#2} : Calculated from ratio of urinary excretion rate after oral administration to intravenous administration.

^{#3} : Calculated from “(Non-fasted – Fasted)/Fasted $\times$ 100(%)” for C_{max}, AUC_{0-∞} and t_{1/2} and “Non-fasted (%) – Fasted (%)” for expiratory and urinary excretion and oral absorption (bioavailability).

され、さらに生体高分子に組み込まれることが知られている。非絶食下のラット血漿中に抽出不可能な放射能成分が認められたのは、[¹⁴C]urea の分解により生じた H¹⁴CO₃⁻ が上記の生体成分の生合成に再利用され生体高分子に組み込まれたことを示唆している。このように、urea の代謝・分解が亢進している非絶食下のラットにおいては、H¹⁴CO₃⁻ の再利用による放射性代謝物が、ある程度の時間経過後より出現するために、絶食下よりも血漿中放射能濃度の t_{1/2β} が長くなったものと推察される。

以上のように、前報⁴⁾での urea の絶食下ラットにおける体内動態の結果と本報での非絶食下ラットにおける結果の比較より、投与経路にかかわらず食餌により urea の血漿中動態および排泄動態が変動することが明らかとなった。この変動は食餌による urea の代謝・分解活性の亢進に起因するものと推察され、その影響は経口投与時により顕著に現れた。前述のように、内因性 urea は消化管において代謝・分解を受けることが報告されているが⁸⁾、urea を経口投与後の初回通過代謝・分解部位および静脈内投与後または吸収後全身循環血中に

入った urea の代謝・分解部位についてはいずれも未確認である。 [^{13}C]Urea を用いる *H. pylori* 診断において、食餌の影響を考慮することの重要性から、今後、urea の代謝・分解機構についてさらに詳細に検討する必要があるものと考えられる。

要 約

非絶食下, [^{14}C]urea を主として 2 mg/kg の用量でラットに単回静脈内および経口投与後の吸収, 分布, 代謝, 排泄について検討した。また, 本体内動態を絶食下における体内動態と比較検討した。

1. 血漿中放射能濃度は, 投与経路および用量にかかわらず $t_{1/2\alpha}$ 2~3 時間, $t_{1/2\beta}$ 6~11 時間で二相性に減少した。2~1000 mg/kg 経口投与後の $C_{\max}$ および $\text{AUC}_{0-\infty}$ は用量にほぼ比例しており, 本用量範囲で線形性が示唆された。

2. 血漿および各組織中放射能濃度は経口投与後 30 分ないし 1 時間で最高濃度に達し, 腎臓中濃度が最も高く血漿中濃度の 2.4 倍であり, その他の組織中濃度は血漿とほぼ同程度かそれよりも低かった。以後, 大部分の組織中濃度は血漿中濃度とほぼ平行して減少した。

3. 経口投与後 1 時間における血漿中には未変化体のみが認められた。8 時間では血漿中放射能の約 70% が未変化体であったが, それ以外に抽出不可能な未知代謝物の存在が認められた。また, 尿中には投与経路にかかわらず未変化体のみが認められた。

4. 投与後 96 時間までの放射能排泄率は静脈内投与後では尿中に投与量の 73.1%, 糞中に 1.6%, 呼気中に 20.9% であり, 経口投与後ではそれぞれ 54.0%, 1.0% および 42.9% であった。経口/静脈内投与後の尿中未変化体排泄率の比より BA は約 74% と推定された。

5. 絶食下と非絶食下で比較した結果, 食餌により urea の代謝・分解が亢進し, 血漿中動態および排泄動態が変動することが示唆された。

文 献

- 1) Pathak, C. M., Bhasin, D. K., Panigrahi, D. and Goel, R. C.: Evaluation of ^{14}C -urinary excretion and its comparison with $^{14}\text{CO}_2$ in breath after ^{14}C -urea administration in *Helicobacter pylori* infection. *Am. J. Gastroenterology*, **89** (5): 734-738 (1994).
- 2) Thijs, W. J., Thijs, J. C., Kleibeuker, J. H., Elzinga, H. and Stelaard, F.: Evaluation of clinical and home performance of the ^{13}C -urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **7**(7): 603-607 (1995).
- 3) Munster, D. J., Chapman, B. A., Burt, M. J., Dobbs, B. R., Allardyce, R. A., Bagshaw, P. F., Troughton, W. D. and Cook, H. B.: The fate of ingested ^{14}C -urea in the urea breath test for *Helicobacter pylori* infection. *Scand. J. Gastroenterol.*, **28**: 661-666 (1993).
- 4) 野村成章, 松本 聡, 西村由香, 寺内嘉章, 藤井敏彦, 関英昌, 市毛一美, 佐久間智子: [^{14}C]Urea の体内動態(第 1 報); 絶食ラットにおける吸収, 分布, 代謝, 排泄。薬物動態, **16**(6): 000-000 (2001).
- 5) Miyazaki, H., Matsunaga, Y., Nambu, K., Oh-e, Y., Yoshida, K. and Hashimoto, M.: Disposition and metabolism of [^{14}C]haloperidol in rats. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **36** (1), 3: 443-452 (1986).
- 6) Yuasa, H., Iga, T., Hanano, M. and Watanabe, J.: Relationship between *in vivo* first-order intestinal absorption rate constant and the membrane permeability clearance. *Journal of Pharmaceutical Science*, **78**(11): 922-924 (1989).
- 7) Brandell, R. A., Scaletscky, R. and Koch, M. O.: Urinary solute transport by gastric mucosa: A comparison with ileum using a rat model. *Urology*, **44**(3): 343-347 (1994).
- 8) Ejiri, K.: Studies on entero hepatic circulation of urea nitrogen in pregnant rat. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, **32**(5): 601-610 (1980).
- 9) 千葉英雄, 佐々木隆造: 糖代謝とその制御, 蛋白質核酸酵素(臨時増刊), **22**(14): 1699-1711 (1977).
- 10) Wakil, S. J.: A malonic acid derivative as an intermediate in fatty acid synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, **80**: 6465 (1958).
- 11) 日本生化学会(編): 細胞機能と代謝マップ I. 細胞の代謝・物質の動態。東京化学同人: 188-191 (1997).