H₂ 受容体拮抗薬, 塩酸ロキサチジンアセタートの体内動態 (第9報): 雄性ラットにおける単回静脈内投与後の血中濃度推移, 分布および排泄

植田 薫・落合 浩之・川辺 勝弘*・本間誠次郎・塚本 國雄

Metabolic Fate of Roxatidine Acetate Hydrochloride (9): Blood and Plasma Concentration, Tissue Distribution and Excretion in Male Rat after a Single Intravenous Administration

Kaoru UEDA, Hiroyuki OCHIAI, Yoshihiro KAWABE*, Seijiro HONMA, Kunio TSUKAMOTO

Pharmacokinetics Research Department and

**Research Planning Department, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd., Kawasaki, Kanagawa*

Summary

The pharmacokinetics, distribution, and excretion of radioactivity and the main metabolites, M-1, M-2 and M-3, were studied in male rat after a single intravenous administration of ¹⁴C-labeled roxatidine acetate hydrochloride (TZU) at a dose of 10 mg/kg. The concentrations of these three metabolites in plasma, tissues and urine were simultaneously quantified with LC/MS-SIM using corresponding deuterium-labeled compounds as internal standards.

1) The total radioactivity in the blood decreased with the half-lives of 0.38 and 3.82 hr in α -phase and β -phase, respectively. The plasma concentration of M-1, the active metabolite, decreased with the half-lives of 0.17 hr in α -phase and 0.77 hr in β -phase.

2) At 15 min after administration, a high radioactivity was found in the liver, kidney, stomach, small intestine, parotid and submaxillary glands. At 72 hr after administration, the radioactivity was less than 0.1% of the dose or below the detection limit in any tissues.

3) The metabolites in tissues were qualitatively analyzed by radio-HPLC. The radioactivity of the M-1 fraction was the highest in the brain, stomach, small intestine and kidney, then followed by that of the M-2 and M-3, the total radioactivity mainly consisted of those three fractions.

4) The concentrations of three metabolites were quantified with LC/MS-SIM in the brain, lung, stomach, small intestine, liver, kidney and testis. All these metabolites disappeared rapidly, the half-lives were below 3.4 hr, in every tissue except for the testis. Although the radioactivity in the testis slowly decreased with the half-life of 10.5 hr, it accounted for M-2 and M-3, because they disappeared similarly to the radioactivity.

5) In the target organs, stomach and small intestine, the concentration of M-1 was the highest, confirming that TZU has an advantage as an H₂-receptor antagonist.

6) Only in the liver, the level of the phenolic metabolite, M-3, was the highest

of the three metabolites. This finding indicated that the metabolite might be mainly produced through oxidative dealkylation in liver.

7) Approximately 87 and 8 % of the dosed radioactivity were excreted within 48 hr after administration in the urine and feces, respectively. The main metabolite in the urine was M-3, consisting of 29% of the dose, and about half of that was in the conjugated form. In feces, the excretion ratios of these three metabolites were almost equal, 0.3% of the dose.

8) About 20% of the dosed radioactivity was excreted into bile in biliary fistular rats. The radioactivities in the M-1 and M-2 fractions were each 0.3% of the dose. The M-3 fraction comprised about 8 %, almost all of which was in the conjugated form.

Key words : Roxatidine acetate hydrochloride, H_2 -receptor antagonist, Rat, Intravenous administration, Tissue distribution, Metabolism, Excretion

緒 言

塩酸ロキサチジンアセタート (2-acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl)phenoxy]propyl]acetamide hydrochloride; TZU) は、当社で開発されたアシルアミノ構造を有するヒスタミン H_2 受容体の特異的かつ競合的拮抗薬で、現在、消化性潰瘍治療薬として臨床で使用されている¹⁾。本薬物の経口投与時の生体内運命についてはすでにラット、イヌおよびヒトで詳細に検討されており、ラットにおける代謝物は M-3 (*m*-(1-piperidinylmethyl)phenol) が最も多く、ついで M-1 (2-hydroxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl)phenoxy]propyl]acetamide), M-2 (3-[*m*-(1-piperidinylmethyl)phenoxy]propionic acid) の順であることが知られている²⁻¹⁰⁾。他方、これら代謝物の中で M-1 は母化合物と同程度の薬理作用を有し、その血中濃度推移に種差が認められている¹⁾。しかし、薬効発現臓器、中枢および代謝臓器組織中の上記3種の主代謝物の量比および消失速度についてはほとんど検討されていない。そこで今回、本薬物を雄性ラットに単回静脈内投与したときの生体内分布、尿、糞および胆汁中排泄、さらに血中濃度推移について、総放射能および主代謝物の両面から詳細に検討し、薬効との関連について考察したので報告する。

実験材料および実験方法

1. 化合物

本研究に使用した標識および非標識化合物は当社で合成したものであり、化合物名、略名、純度および比放射能を次に示した。また、各化合物の構造式を Fig. 1 に示した。

Fig. 1 Chemical structures of [^{14}C] TZU, TZU, M-1, M-2 and M-3.

1) 非標識化合物

2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl)phenoxy]propyl]acetamide hydrochloride (TZU), 2-hydroxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl)phenoxy]propyl]acetamide oxalate (M-1 oxalate), 3-[*m*-(1-piperidinylmethyl)phenoxy]propionic acid hydrochloride (M-2 hydrochloride) および *m*-(1-piperidinylmethyl)phenol (M-3) は、いずれも当社で合成したものを用いた。

2) [¹⁴C] 標識化合物

2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl)[U-¹⁴C]-phenoxy]propyl]acetamide hydrochloride ([¹⁴C]TZU) は、当社で合成したものを用いた。このものの放射化学的純度および非放射能はそれぞれ98%, 199.4 MBq/mmol であった。

3) [²H] 標識化合物

2-Hydroxy-*N*-[3-*m*-([piperidinyl-²H₁₀]1-piperidinylmethyl)phenoxy]propyl]acetamide oxalate (M-1-d₁₀ oxalate), 3-*m*-([piperidinyl-²H₁₀]1-piperidinylmethyl)phenoxy]propionic acid hydrochloride (M-2-d₁₀ hydrochloride) および *m*-([piperidinyl-²H₁₀]1-piperidinylmethyl)phenol (M-3-d₁₀) は、当社で合成したものを用いた。これらの同位体純度は、いずれも [²H₁₀]:98%, [²H₀]:0% であり、高速液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリーを用いる selected ion monitoring 分析 (LC/MS-SIM) における内部標準物質 (I.S.) として使用した。

2. 試薬

β -glucuronidase および arylsulfatase は SIGMA 社製 (Type H-T) を、過酸化ベンゾイルはナカライテスク社製試薬特級を用いた。放射能の測定には、可溶化剤に SOLVABLE, シンチレーターに ATOMLIGHT (いずれも NEN Research Products 社製) または INSTA-GEL (PACKARD 社製) を使用した。

その他の試薬は、すべて試薬特級を用いた。

3. 実験動物

5週齢の雄性 Wistar 系ラット (日本エスエルシー) を2週間予備飼育し、実験に用いた (体重: 200~234 g)。予備飼育および実験期間中はラット、マウス用固型飼料 (MM-3, 船橋農場) および水道水を自由摂取させた。

4. 投与薬物の調製と投与方法

[¹⁴C] TZU に非標識 TZU を加え、1%グリシン-生理食塩水緩衝液 (pH 4.05) で 1.19 MBq/10 mg/ml となるように調製し、尾静脈内に投与した。

5. 測定機器

1) LC/MS-SIM

HPLC に日立 L-6000 型を、カラムは YMC Gel AQ-312 (150 mm×6.0 mm i.d., 5 μ m; 山村化学) を用いた。移動相としてメタノール-30 mM 酢酸アンモニウム水溶液 (50:50) を用い、流速は 1.0 ml/min とした。質量分析計は日立 M-2000 型を大気圧化学イオン化法 (APCI) で用い、霧化温度: 260°C, 脱溶媒室温度: 400°C に設定した。測定質量数はいずれも [M+H]⁺ を用い、307.2 (M-1-d₀), 317.2 (M-1-d₁₀), 264.1 (M-2-d₀), 274.1 (M-2-d₁₀), 192.1 (M-3-d₀) および 202.1 (M-3-d₁₀) でそれぞれモニタリングした。

2) Radio HPLC

HPLC は Lambda-Max Model 481 型 UV 検出器付 Waters 600 型を、カラムは Capcell Pak C₁₈ SG120 (100 mm×6.0 mm i.d., 3 μ m; SHISEIDO) を 40°C の恒温下で用いた。移動相はメタノールおよび 0.5% トリエチルアミン (0.25% 酢酸含有, pH 5.2) を、各図に示すリニアグラジエントの条件で、流速は 1.5 ml/min, 検出波長は 275 nm を用いた。溶出液は 30 秒ごとに分画し、それぞれについて放射能を測定した。

3) 液体シンチレーションカウンター

アロカ LSC-3500 を用い、外部標準線源によるチャンネル比法で計数効率を補正した。

6. LC/MS-SIMによる主代謝物(M-1, M-2およびM-3)の定量法の精度, 正確度および前処理における回収率

無投与ラットの肝臓1.0 gのホモジネート, 血漿または尿1.0 mlに3種非標識体(d_0 体)の標品各2.5~250 ngおよびI.S.各50 ngを添加し, 定量値のバラツキから精度(C.V. 値)を, d_0 体の添加量と定量値から下式を用い正確度を算出した. また, d_0 体の標品各100 ngを無投与ラットの(脳, 肺, 胃, 小腸, 肝臓, 腎臓および精巣)1.0 gのホモジネート, 血漿および尿1.0 mlに添加, 前処理を行った後, 3種 d_{10} 体を各100 ng加え, そのピーク面積比(d_0/d_{10})を標品のみの場合と比較し, 回収率を算出した.

正確度(%) =

$$\{ |(\text{定量値}) - (\text{添加量}) | / (\text{添加量}) \} \times 100$$

7. 放射能の測定

血液, 血漿, 組織, 尿, 糞および胆汁中の放射能の測定はいずれも溶解法で行った. すなわち, 一定量のサンプルに可溶化剤SOLVABLE 1.0 mlを添加, 60°Cで1~2日インキュベート後, 過酸化ベンゾイル飽和トルエン0.5 mlを添加した. さらに1~2日間放置して脱色後, ATOMLIGHT 13 mlを混和した. これを7~10日間暗所に放置後, 放射能を測定した. HPLC溶出画分については直接INSTA-GEL 8 mlを混和したのち放射能を測定した.

8. 血漿中濃度の測定

1) 採血方法

1群3匹の雄性ラットに $[^{14}\text{C}]$ TZUを静脈内投与後, 所定時間にエーテル麻酔下, 腹部大動脈から採血した. 採取後の血液はベノジェクト真空採血管(テルモ)に移し, 一部を血液中放射能測定およびヘマトクリット測定用にサンプリングした後, 速やかに遠心分離(2000×g, 10 min)して血漿を得た.

2) 血液および血漿中放射能の測定

採取した血液および血漿はそれぞれ0.1 mlを

上記放射能の測定方法に準じ放射能を測定した.

3) 血漿中主代謝物(M-1, M-2およびM-3)のLC/MS-SIMによる定量分析

血漿0.1~1.0 mlに3種I.S.各50 ngおよび0.067 Mリン酸緩衝液(pH 7.0) 2.0 mlを加え混合し, あらかじめ2倍容のメタノールおよび蒸留水で洗浄したBond Elut C₁₈(Varian社製, 3.0 ml容)にチャージした. 水3.0 ml, ついでアセトニトリル-水(10:90) 0.5 mlを通導後, アセトニトリル-水(10:90) 2.0 mlで溶出しM-2画分を得た. さらにアセトニトリル-水(30:70) 3.0 mlで洗浄後, アセトニトリル-0.5%トリエチルアミン(30:70) 3.0 mlでM-1およびM-3を溶出した. 各々の画分について溶媒を減圧留去した後, M-2画分をメタノール-ベンゼン(15:85) 0.5 mlに再溶解, 同一溶媒であらかじめ調製したSephadex LH-20(60×7.0 mm i.d.)に付した. メタノール-ベンゼン(15:85) 1.5 mlで洗浄後, 同溶媒4.0 mlで目的のM-2画分を得た. M-1およびM-3の画分は少量のメタノールで再溶解後, M-2画分と合わせた. 溶媒を窒素気流下で留去, メタノール-30 mM酢酸アンモニウム水溶液(50:50)に再溶解後, LC/MS-SIM用サンプルとした.

検量線の作成は以下に行った. すなわち無投与のラット血漿各々1.0 mlに, 3種 d_0 体の標準希釈系列各2.5~1000 ngおよび3種I.S.各50 ngを添加し同様に操作, LC/MS-SIMによる一斉分析後, ピーク面積比を縦軸に d_0 体の添加量を横軸にプロットし, M-1, M-2およびM-3それぞれについて検量線を作成した.

4) 血漿中代謝物のradio-HPLCによる定性分析

血漿1.0 mlにメタノール5.0 mlを添加し室温で10分間振盪後, 遠心分離した(2000×g, 5 min). さらに沈渣について同様の操作を2回繰り返し, 合わせた上清を減圧乾固した後, メタノール-水(25:75) 200 μl (トレーサーとしての非標識M-1, M-2およびM-3を各16 μg 含有)に再溶解し, 半量をradio-HPLCに付した.

5) 血液および血漿中濃度の薬物速度論的解析
消失半減期 ($T_{1/2}$) の算出は、血液中総放射能および血漿中 M-1 について two-exponential 式に、血漿中 M-2 および M-3 について one-exponential 式にあてはめた。血中濃度曲線下面積 ($AUC_{(0-t)}$) は、測定時点 (t) までを台形法を用いて算出し、また $AUC_{(0-\infty)}$ は測定時点までの $AUC_{(0-t)}$ に、最終測定時点の濃度を代謝速度定数 ($K_e=0.693/T_{1/2}$) で割った値を加えて算出した。

9. 体内分布と主要組織中代謝物濃度

1) 組織の摘出

1 群 3 匹の雄性ラットに [¹⁴C] TZU を静脈内投与後、所定時間にエーテル麻酔下、腹部大動脈から全採血した後、脳、下垂体、副腎、顎下腺、ハーダー氏腺、耳下腺、甲状腺、胸腺、心臓、下行大動脈、骨髄、脾臓、肺、気管、横隔膜、胃、小腸、大腸、肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、精巣、精囊、前立腺、皮膚、眼球、筋肉、白色脂肪および褐色脂肪を摘出した。胃、小腸および大腸については少量の生理食塩水で洗浄し、各々対応する内容をサンプルとした。

2) 組織中放射能の測定

下垂体、副腎、甲状腺、骨髄、気管、横隔膜、脾臓、膀胱、精囊、前立腺、皮膚、眼球、筋肉および脂肪についてはそれぞれ直接、その他の組織は均質化した後、一部を精秤し、上記放射能の測定方法に準じて処理後、放射能を測定した。

3) 主要組織中主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) の LC/MS-SIM による定量分析

前項で得られた所定時間の脳、肺、胃、小腸、肝臓、腎臓および精巣を秤量し、組織 1.0 g に対し 2.0 ml の蒸留水を加え、ウルトラタラックス (イカ・ジャパン) で均質化した。ホモジネート 0.3~3.0 g に、3 種 I.S. 各 50 または 125 ng および 2N-塩酸 0.5 ml を添加、60°C で 15 分間加温し遠心分離 (2000×g, 10 min) 後、上清を分離した。さらに沈澱に蒸留水 2.0 ml および 2N-塩酸 0.5 ml 添加後、同様の操作で得た上清を合わせ

25% アンモニア水で pH 6~8 となるよう調製、Bond Elut C₁₈ (6.0 ml 容) に付した。以下、血漿の前処理法に準じて M-2 画分および M-1, M-3 画分を処理し、メタノール-30 mM 酢酸アンモニウム水溶液 (50:50) に溶解後、LC/MS-SIM 用サンプルとした。

検量線は、無投与のラット肝臓各 1.0 g に、3 種 d₀ 体の標準希釈系列を各 2.5~1000 ng および 3 種 I.S. を各 50 ng 添加後、同様に操作し作成した。

4) 主要組織中代謝物の radio-HPLC による定性分析

前項で得られた所定時間の脳、胃、小腸、肝臓、腎臓および精巣を一定量秤量し、等量の蒸留水を加えて均質化した。ホモジネート 1.0 g に対し、メタノール 5.0 ml を添加、室温で 10 分間振盪後、遠心分離 (2000×g, 5 min) した。沈渣について同様の操作を 2 回繰り返す、合わせた上清を減圧乾固した。以下、血漿中代謝物の radio-HPLC による定性分析に準じて操作し、各分画ごとに放射能を測定した。

10. 尿・糞中排泄量の測定

1) 尿・糞中総放射能の測定

1 群 4 匹の雄性ラットに [¹⁴C] TZU を静脈内投与後、代謝ケージ内にて所定時間の尿および糞を分別採取した。尿は 0.1 ml を、糞は少量の蒸留水を加え均質化した後、一定量を上記放射能の測定方法に準じて処理し、それぞれ放射能を測定した。

2) 尿中主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) の LC/MS-SIM による定量分析

採取した尿 1.0 ml に 3 種 I.S. 各 50 ng および β -glucuronidase の 1 M 酢酸緩衝液溶液 (pH 5.0, β -glucuronidase: 10000 Units, sulfatase: 370 Units/ml) 1.0 ml を添加、37°C で 24 時間インキュベートした (水解尿)。そのうち 0.2 ml に 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) 2.8 ml を添加後、上記血漿の前処理法に準じて Bond Elut C₁₈ (3.0 ml 容) に付し、LC/MS-SIM 用サンプルとし

た。非水解尿については0.1 mlを等量の1 M 酢酸緩衝液 (pH 5.0) で希釈後、同様に処理した。検量線は無投与のラット非水解尿にそれぞれ、3 種 d_0 体の標準希釈系列各 2.5~1000 ng および 3 種 I.S. 各 50 ng を添加後、同様に操作し作成した。

3) 尿・糞中代謝物の radio-HPLC による定性分析

尿 (非水解および水解) 1.0 ml を等量の 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で希釈後、糞は等量の蒸留水を加えたホモジネート 1.0 g に、それぞれメタノール 5.0 ml を添加、室温で10分間振盪後、遠心分離 (2000×g, 5 min) した。沈渣について同様の操作を2回繰り返す、合わせた上清を減圧乾固した。以下血漿中代謝物の radio-HPLC による定性分析に準じて操作し、各分画ごとに放射能を測定した。

11. 胆汁中総排泄量の測定

1) 胆嚢ラットの作製

1 群 5 匹の雄性ラットに、ペントバルビタール (30 mg/kg) 腹腔内投与による麻酔下で胆管カニューレション (夏目製作所製ポリエチレンチューブ, SP-10) を施した。覚醒後 $[^{14}\text{C}]$ TZU を静脈内投与、ボールマンケージ (放医研型) に固定し、所定時間ごとに48時間まで胆汁を採取した。

2) 胆汁中総放射能の測定

採取した胆汁量を正確に測定後、0.1 ml を上記放射能の測定方法に準じて放射能を測定した。

3) 胆汁中代謝物の radio-HPLC による定性分析

胆汁の水解は上記水解尿の調製と同様に行った。胆汁 (非水解および水解) 1.0 ml にメタノール 5.0 ml を添加、室温で10分間振盪後、遠心分離 (2000×g, 5 min) した。沈渣について同様の操作を2回繰り返す、合わせた上清を減圧乾固した。以下血漿中代謝物の radio-HPLC による定性分析に準じて操作し、各分画ごとに放射能を測定した。

結 果

1. LC/MS-SIM による主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) の定量法

3 化合物の d_0 体および d_{10} 体の標品を各 50 ng 注入した際のクロマトグラムを Fig. 2 に、測定の精度および正確度を Table I に示した。

前処理における回収率は、3 化合物ともに、血漿、尿およびいずれの組織においても60~90% 程度であったが、M-2 については、胃および肝臓でのみ10~20%程度であった。

測定限界は、組織および血漿で、M-1: 2.5 ng/tube, M-2: 5 ng/tube, M-3: 2.5 ng/tube (M-2 は 5 ng/tube で精度は27.7%, 他の化合物の精度および正確度が20%以下)、尿では3 化合物ともに 5 ng/tube となった。

2. 血中濃度推移

$[^{14}\text{C}]$ TZU 10 mg/kg をラットに静脈内投与したときの、血漿中総放射能および LC/MS-SIM により測定した3 種の主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) の血漿中濃度推移を Fig. 3 に、血液中総放射能の推移を Fig. 4 に示した。さらに、消失半減期 ($T_{1/2}$) および AUC を Table II に示した。

血液中放射能および血漿中 M-1 濃度はいずれも2 相性に減少し、 α 相の $T_{1/2}$ はそれぞれ0.38, 0.17時間、 β 相で3.82, 0.77時間であった。血漿中の M-2 濃度は投与30分後で最高値に達した後、 $T_{1/2}$: 1.36時間で減少した。血漿中 M-3 濃度は投与15分後で最高値に達し、以降 $T_{1/2}$: 0.91時間で減少した。

さらに投与15分および3 時間後の血漿中代謝物の radio-HPLC 分析パターンを Fig. 5 に示した。血漿からのメタノール抽出率はほぼ定量的で、90%以上であった。15分後の血漿では主ピークは M-1 画分で、全体の約40%と最も高く、ついで M-3, M-2 画分の順であった。3 時間後では、相対保持時間 (t_R): 3~8 分付近の抱合体と推定される画分が、全体の約70%の総放射能を占め、

Fig. 2 LC/MS-SIM chromatogram of the three metabolites of TZU and their internal standards (each 50 ng/inj.).

Table I Coefficients of variation and accuracies* of LC/MS-SIM analysis of TZU metabolites

Compound	Added (ng/tube)	Sample					
		Liver		Plasma		Urine	
		C.V.(%)	Accuracy(%)	C.V.(%)	Accuracy(%)	C.V.(%)	Accuracy(%)
M-1	2.5	11.29	9.53	1.79	9.04	—	—
	5	5.50*	5.48	1.75	4.57	2.64	2.13
	250	3.86	3.38	2.66	1.99	2.09	1.65
M-2	2.5	57.01	26.59	12.38	6.67	—	—
	5	27.74	19.67	5.08	4.04	10.07	7.72
	250	0.11	1.22	3.04	2.77	6.50	8.50
M-3	2.5	1.77	4.52	5.40	4.54	—	—
	5	1.87	2.47	3.98	3.30	10.90	8.44
	250	1.30	1.45	1.85	1.71	2.97	5.28

*: Each value was calculated from the results of 4 or 6 samples.

I.S.: each 50 ng/tube.

ついで M-2, M-3 画分の順となり, M-1 画分は最も低値を示した。

3. 体内分布

[¹⁴C] TZU 10 mg/kg をラットに静脈内投与したときの, 各時間における組織内総放射能について検討した。

組織単位重量あたりの濃度を Table III に, 各時点での血漿中総放射能に対する比率を Table IV に示した。投与15分後の放射能の取り込みは, 腎臓および肝臓で最も多く, ついで耳下腺, 顎下腺, 胃の順に減少し, それぞれ血漿中総放射能の16, 11, 10, 9 および7 倍となっ

Fig. 3 Plasma concentration of radioactivity and the three metabolites in male rat after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg).

—□— Plasma, —◇— M-1, —■— M-2 and —◆— M-3

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

Table II Pharmacokinetic parameters of radioactivity and the three metabolites after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg) in male rat

Parameter		Sample				
		Blood	Plasma			
		[^{14}C] TZU	[^{14}C] TZU	M-1	M-2	M-3
$T_{1/2}$ (hr)	α -phase	0.38	0.44	0.17	—	—
	β -phase	3.82*	3.43*	0.77*	1.36	0.91
AUC_{0-24} (ng eq. of TZU $\cdot$ hr/ml or ng $\cdot$ hr/ml)		9422.0	9417.0	1046.1	911.4	465.4
	(nmol eq. of TZU $\cdot$ hr/ml or nmol $\cdot$ hr/ml)	24.48	24.47	3.41	3.46	2.43
$\text{AUC}_{0-\infty}$ (ng eq. of TZU $\cdot$ hr/ml or ng $\cdot$ hr/ml)		9550.8	9490.9	1081.0	959.0	472.1
	(nmol eq. of TZU $\cdot$ hr/ml or nmol $\cdot$ hr/ml)	24.81	24.66	3.53	3.64	2.47

Each value represents the mean of 3 rats.

*: From 1 hr after administration.

Fig. 4 Blood concentration of radioactivity in male rat after a single intravenous administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg).

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

た。それに対し, 脳, 眼球, 精巣および白色脂肪では血漿中の濃度以下であった。

12時間後では下垂体, ハーダー氏腺, 耳下腺および肝臓で $1.4 \sim 1.8 \mu\text{g eq. of TZU/g tissue}$ となったが, 他の組織では $1.4 \mu\text{g eq. of TZU/g tissue}$ 以下であった。72時間後では肝臓の総放射能は投与量の0.15%と, 最高濃度の1/100以下となった。他の組織では投与量の0.1%以下あるいは検出限界以下となり, 消失の遅い組織はほとんどみられなかった。また, 静脈内投与であるにもかかわらず, 投与直後の15分から6時間頃にかけて小腸内容物の総放射能が顕著に高かった。

4. 代謝物の組織内構成比率

[¹⁴C] TZU 10 mg/kg をラットに静脈内投与し

たときの, 15分および3時間後の主要組織(脳, 胃, 小腸, 肝臓および腎臓)中のradio-HPLC分析パターンをFig. 6, 7に示した。ただし脳については, 3時間後の組織内総放射能が非常に低値であったため15分後のみとした。各組織からのメタノール抽出率はいずれもほぼ定量的で, 約90%またはそれ以上であった。

投与15分後では, 肝臓を除く4種すべての組織でM-1画分の放射能が最も高く, 全体の約50%を占め, M-2, M-3画分はそれぞれの組織で同程度の比率で存在していた。また, M-1, M-2およびM-3画分の放射能の合計は, 全体のほとんどを占めていた。肝臓における放射能は, t_R : 30分付近の未同定代謝物による画分が全体の30%と最も高く, ついでM-3, M-2, M-1画分の

Table III Tissue concentrations of radioactivity after a single intravenous

Tissue	Concentration			
	Time after			
	0.25	1	2	6
Blood	4.344±0.283	1.807±0.135	1.107±0.164	0.383±0.160
Plasma	3.822±0.395	1.812±0.170	1.154±0.120	0.403±0.107
Brain	2.737±0.120	0.844±0.226	0.225±0.048	0.076±0.040
Pituitary	23.975±2.984	16.418±3.454	10.331±1.668	2.503±0.519
Adrenal Gland	16.288±1.028	6.571±0.591	3.760±0.412	1.103±0.027
Submaxillary Gland	35.049±14.844	8.447±0.914	5.723±1.598	1.167±0.095
Harder's Gland	11.704±1.404	5.007±0.517	3.883±0.540	1.763±0.579
Parotid Gland	37.355±2.351	9.260±1.476	10.314±4.073	1.949±0.233
Thyroid	16.676±5.092	5.356±0.843	3.913±0.986	1.463±0.430
Thymus	7.569±0.654	3.905±0.039	2.562±0.231	1.083±0.069
Heart	7.350±0.423	2.254±0.445	0.399±0.083	0.231±0.143
Blood Vessel	3.697±0.676	1.400±0.246	0.867±0.148	0.280±0.080
Bone Marrow	15.887±1.408	5.662±0.676	3.229±0.863	1.271±0.108
Spleen	15.985±0.892	5.029±0.089	3.407±0.363	1.327±0.259
Lung	15.574±1.345	5.516±0.447	2.032±0.430	0.627±0.326
Trachea	8.824±0.427	3.042±0.364	1.851±0.854	0.418±0.199
Diaphragm	8.590±0.235	3.166±0.255	1.649±0.178	0.307±0.046
Stomach	26.798±21.413	10.772±6.344	2.631±0.477	0.349±0.205
Stomach Content*	15.265±9.303	12.242±9.010	2.838±0.846	12.908±22.357
Small Intestine	11.009±1.338	8.260±0.847	5.484±0.359	1.002±0.552
Small Int. Content*	148.429±32.404	317.071±21.143	309.328±26.653	42.915±9.945
Large Intestine	7.291±0.760	2.708±0.128	2.028±0.301	1.552±0.667
Large Int. Content*	23.440±3.858	28.354±4.306	100.142±19.177	168.506±32.442
Liver	41.267±1.211	30.697±3.447	20.620±4.284	3.971±2.638
Pancreas	14.892±1.922	5.389±0.759	3.357±0.179	0.595±0.523
Kidney	61.464±10.905	14.530±1.438	7.859±2.637	2.260±1.190
Bladder	12.625±6.717	23.170±19.596	7.400±2.027	3.016±1.573
Testis	2.412±0.237	3.015±0.168	3.402±0.548	1.338±0.655
Seminal Vesicle	7.826±1.110	6.821±1.323	4.016±0.582	1.146±0.407
Prostate	12.819±1.108	13.648±7.093	3.507±0.986	1.460±0.648
Skin	3.425±2.946	2.486±0.213	1.417±0.285	0.433±0.034
Eye Ball	2.696±0.178	1.329±0.108	0.808±0.061	0.255±0.24
Muscle	10.356±1.005	3.652±0.506	1.911±0.389	0.267±0.056
Fat	1.367±0.314	0.517±0.178	0.245±0.047	0.113±0.038
Brown Fat	5.624±0.314	2.630±0.237	1.601±0.394	0.471±0.059
Carcass	2.463±0.182	1.171±0.152	0.591±0.094	0.391±0.043

Each value represents mean±S.D. of 3 rats.

n.d.: Not detected (below 0.04 $\mu\text{g eq.}$).

*: Total amount.

administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg) in male rat.

(μg eq. of TZU/g tissue or ml)

administration (hr)				T _{1/2} (hr)
12	24	72	168	
0.066±0.005	0.028±0.008	0.014±0.008	n.d.	3.82
0.065±0.003	0.018±0.001	0.008±0.005	n.d.	3.43
0.028±0.023	n.d.	n.d.	n.d.	1.25
1.397±0.379	2.540±0.588	1.299±0.341	0.035±0.007	1.80
0.485±0.251	0.465±0.005	0.143±0.150	n.d.	1.65
0.590±0.092	0.349±0.168	0.089±0.038	n.d.	1.35
1.458±0.227	0.711±0.291	0.162±0.057	n.d.	2.47
1.840±0.181	0.974±0.650	0.334±0.357	0.007±0.006	1.57
0.929±0.162	0.991±0.071	0.364±0.631	n.d.	1.94
0.768±0.036	0.480±0.019	0.041±0.035	n.d.	2.29
0.076±0.058	0.144±0.023	0.006±0.011	n.d.	1.32
0.181±0.033	0.125±0.217	n.d.	n.d.	1.75
0.643±0.338	0.861±0.074	0.333±0.576	n.d.	1.83
0.798±0.142	0.328±0.043	0.500±0.748	0.004±0.001	1.90
0.226±0.135	0.310±0.014	0.077±0.067	0.004±0.001	1.38
0.344±0.022	0.417±0.039	0.109±0.095	n.d.	1.46
0.091±0.003	0.100±0.010	0.023±0.021	n.d.	1.30
0.193±0.033	0.151±0.013	n.d.	n.d.	0.97
10.010±2.115	n.d.	n.d.	n.d.	—
0.432±0.063	0.302±0.046	n.d.	n.d.	1.65
10.098±1.281	3.582±0.865	n.d.	n.d.	—
0.319±0.025	0.215±0.055	n.d.	n.d.	3.40
41.954±13.720	16.457±6.918	2.318±4.015	n.d.	—
1.778±0.180	1.076±0.154	0.312±0.157	0.004±0.001	1.70
0.221±0.042	0.134±0.029	0.042±0.003	n.d.	1.35
0.393±0.294	0.412±0.028	0.065±0.067	0.016±0.002	1.41
0.463±0.090	0.174±0.031	0.078±0.098	n.d.	2.14
0.574±0.392	0.669±0.140	0.193±0.173	0.032±0.005	10.48
0.503±0.023	0.135±0.039	0.025±0.001	n.d.	2.04
0.401±0.181	0.166±0.036	0.023±0.020	n.d.	2.46
0.186±0.045	0.105±0.011	0.015±0.026	n.d.	1.97
0.144±0.030	0.147±0.010	n.d.	n.d.	1.84
0.061±0.008	0.079±0.011	0.018±0.016	n.d.	1.18
0.101±0.036	0.095±0.010	0.044±0.021	n.d.	1.85
0.354±0.027	0.239±0.044	0.054±0.047	n.d.	1.76
0.042±0.001	0.024±0.003	0.015±0.014	n.d.	2.54

Fig. 5 HPLC-radiochromatograms of plasma extracts at 15 min and 3 hr after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg) in male rat.

順となった。

3時間後では、M-1画分はいずれの組織においても、15分時の1/10程度に減少した。小腸、肝臓、腎臓では、 t_R : 3~8分までの抱合体と推定される画分の放射能が20~30%に増大し、M-2, M-3画分の全体に対する比率は、15分時と同等か多少増加する傾向を示した。また、肝臓における t_R : 30分付近の未同定画分は、約6%に減少した。

脳、肺、胃、小腸、肝臓、腎臓、精巣および血漿について、投与後の所定時間における3種の

主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) を LC/MS-SIM により定量した結果を **Table V** に示した。

最大濃度到達時間は、M-1 では精巣を除くすべての組織で投与15分後であり、M-2 および M-3 では投与後15分から1時間と組織間で差がみられた。最大濃度で比較すると、肝臓を除くすべての組織で M-1 が最も高く、ついで M-3, M-2 の順となった。一方、肝臓では M-3, M-2, M-1 の順となった。

各代謝物濃度を血漿中濃度と比較すると、3代謝物ともに、肺、腎臓において血漿中よりも高

Table IV The tissue-to-plasma concentration ratios after a single intravenous administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg) in male rat.

Tissue	Time after administration (hr)						
	0.25	1	2	6	12	24	72
Blood	1.14	1.00	0.96	0.95	1.02	1.56	1.75
Plasma	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Brain	0.72	0.47	0.19	0.19	0.43	n.d.	n.d.
Pituitary	6.27	9.06	8.95	6.21	21.49	141.11	162.38
Adrenal Gland	4.26	3.63	3.26	2.74	7.46	25.83	17.88
Submaxillary Gland	9.17	4.66	4.96	2.90	9.08	19.39	11.13
Harder's Gland	3.06	2.76	3.36	4.37	22.43	39.50	20.25
Parotid	9.77	5.11	8.94	4.84	28.31	54.11	41.75
Thyroid	4.36	2.96	3.39	3.63	14.29	55.06	45.50
Thymus	1.98	2.16	2.22	2.69	11.82	26.67	5.13
Heart	1.92	1.24	0.35	0.57	1.17	8.00	0.75
Blood Vessel	0.97	0.77	0.75	0.69	2.78	6.94	n.d.
Bone Marrow	4.16	3.12	2.80	3.15	9.89	47.83	41.63
Spleen	4.18	2.78	2.95	3.29	12.28	18.22	62.50
Lung	4.07	3.04	1.76	1.56	3.48	17.22	9.63
Trachea	2.31	1.68	1.60	1.04	5.29	23.17	13.63
Diaphragm	2.25	1.75	1.43	0.76	1.40	5.56	2.88
Stomach	7.01	5.94	2.28	0.87	2.97	8.39	n.d.
Small Intestine	2.88	4.56	4.75	2.49	6.65	16.78	n.d.
Large Intestine	1.91	1.49	1.76	3.85	4.91	11.94	n.d.
Liver	10.80	16.94	17.87	9.85	27.35	59.78	39.00
Pancreas	3.90	2.97	2.91	1.48	3.40	7.44	5.25
Kidney	16.08	8.02	6.81	5.61	6.05	22.89	8.13
Bladder	3.30	12.79	6.41	7.48	7.12	9.67	9.75
Testis	0.63	1.66	2.95	3.32	8.83	37.17	24.13
Seminal Vesicle	2.05	3.76	3.48	2.84	7.74	7.50	3.13
Prostate	3.35	7.53	3.04	3.62	6.17	9.22	2.88
Skin	0.90	1.37	1.23	1.07	2.86	8.83	1.88
Eye Ball	0.71	0.73	0.70	0.63	2.22	8.17	n.d.
Muscle	2.71	2.02	1.66	0.66	0.94	4.39	2.25
Fat	0.36	0.29	0.21	0.28	1.55	5.28	5.50
Brown Fat	1.47	1.45	1.39	1.17	5.45	13.28	6.75
Carcass	0.64	0.65	0.51	0.97	0.65	1.33	1.88

n.d.: Not detected.

く，脳および精巣では低値であった。胃および小腸においてはM-1，M-3は血漿より高値であったが，M-2のみが若干低値を示した。

精巣を除くすべての組織において，M-1およびM-3のT_{1/2}は2時間以下，M-2は3.4時間以下であり，3代謝物ともに非常に速やかに消失した。それに対し精巣では，M-2およびM-3の

T_{1/2}はともに約8.7時間と，消失は緩やかであった。

また，総放射能に対する3代謝物の濃度の合計の比率は，小腸および肝臓では血漿と同様に経時的に減少傾向を示した。

Fig. 6 HPLC-radiochromatograms of tissue extracts at 15 min after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg) in male rat.

5. 尿および糞中への排泄

[^{14}C] TZU 10 mg/kg をラットに静脈内投与したときの、尿および糞中への放射能の排泄を **Table VI** に示した。投与後 7 日までに、投与した放射能の約 88% が尿中に、9% が糞中に排泄された。尿、糞中ともに投与 24 時間後までに、そのほとんどが排泄された。

投与 24 時間後までの尿および糞中代謝物の radio-HPLC 分析パターンを **Fig. 8** に、糞中の 3 種代謝物 (M-1, M-2 および M-3) 画分の投与量に対する比率を **Table VII** にそれぞれ示した。メタノール抽出率は尿で約 100%, 糞で約 60% であった。非水解尿では M-1, M-2 および M-3 画

分の放射能はいずれもほぼ同程度であったが、酵素水解後、 t_R : 約 5 分の極性の高い画分が減少し、M-3 画分のみが 2 倍程度に増加し、総排泄放射能のうち 90% は M-1, M-2 および M-3 であった。糞においては M-1, M-2, M-3 画分の放射能はいずれも投与量の約 0.3% であったが、 t_R : 30 分付近に、未同定代謝物の画分が 1.3% 確認された。その他の放射能 (投与量の約 5%) はすでに化学構造が判明したマイナーな代謝物および未同定の代謝物である。

投与 72 時間後までの尿中主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) の LC/MS-SIM による定量結果を **Table VIII** に示した。非水解尿では M-1, M-2

Fig. 6

および M-3 の排泄率はそれぞれ投与量の23, 16 および14%であった。水解後、M-1 および M-2 の量に変化はみられないが、M-3 のみが29%に増加し、3代謝物中で最も多く排泄された。

6. 胆汁中排泄

[¹⁴C] TZU 10 mg/kg を胆嚢ラットに静脈内投与したときの、胆汁中への放射能の排泄を Fig. 9 に示した。投与48時間後までに、投与した放射能の約20%が胆汁中に排泄された。このときの排泄速度定数は 0.125 hr^{-1} であった。

投与24時間後までの胆汁中代謝物の radio-HPLC 分析パターンおよび主代謝物 (M-1, M-2

および M-3) 画分の構成比率をそれぞれ、Fig. 10 および Table IX に示した。胆汁からのメタノール抽出率は約100%と定量的であった。M-1, M-2 画分の放射能はいずれも投与量の0.3%, M-3 画分は約0.9%であったが、糞にも認められた t_R : 30分付近の未同定代謝物と推定される画分が1.3%認められた。酵素水解後、 t_R : 約5分の抱合体と推定される画分が減少し、逆に M-3 画分のみが増加し、その割合は投与量の約8%であった。その他の放射能 (投与量の約10%) は、すでに構造決定されたマイナーな代謝物および未知代謝物が含まれる。

Fig. 7 HPLC-radiochromatograms of tissue extracts at 3 hr after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg) in male rat.

考 察

[^{14}C] TZU 10 mg/kg をラットに静脈内投与したとき、血液中総放射能および血漿中 M-1 濃度はいずれも 2 相性で減少し、 α 相の $T_{1/2}$ はそれぞれ 0.38, 0.17 時間、 β 相は 3.82, 0.77 時間であった。血漿中 M-2 および M-3 濃度の $T_{1/2}$ はそれぞれ 1.36, 0.91 時間であった。総放射能とこれら主代謝物の消失を比較すると後者の方が速やかであることから、投与後の TZU は血中および肝で

速やかに脱アセチル化され M-1 となった後、肝で M-3 およびその抱合体へと迅速に代謝されることが判明した。

雄性ラットにおける静脈内投与後の [^{14}C] TZU の体内分布では、肝臓、腎臓のような代謝および排泄組織、あるいは耳下腺、顎下腺などの分泌組織に総放射能が高いが、いずれの組織においてもその消失は速やかであった。また、静脈内投与であるにもかかわらず投与直後より胃、小腸およびそれら内容物に高い総放射能が認められた

Fig. 7

が、これは胆汁からの排泄のみならず、本薬物の作用組織である胃および小腸へ多量に分布したためと推察される。この点については先の全身オートラジオグラフィーによる検討²⁾で、静脈内投与5分後の胃壁および胃、腸管内容物の黒化度が非常に高かったことから強く示唆された。また、脳への移行が非常に少ないことは、本化合物の代謝物(M-1, M-2 および M-3)の脂溶性が低く、脳一血液関門を通過しにくいと考えられる。

TZUの生体内運命についてはすでに、ラット、イスおよびヒトで詳細に検討され、構造が判明した代謝物は各動物でそれぞれ約12種確認されている。ラットでは尿中主代謝物はM-3で、ついでM-1, M-2の順に多いが、ヒトではM-1が60%と最も多く、ついでM-2でM-3は5%程度であった。他方、イスではヒトとほぼ同じ動態を示し、ラットと明らかに代謝が異なり、種差が認められたと報告されている²⁻¹⁰⁾。しかしながら、主要組織中のこれら3種の主代謝物の量比および消失速度等についてはほとんど検討されていない。したがって今回、主要組織におけるM-

1, M-2 および M-3 について、radio-HPLC および LC/MS-SIM を用い、量的および質的側面から検討を加えた。

LC/MS-SIM による3種代謝物の測定は、回収率、精度、正確度ともに、満足し得る値を示した。本法は、従来のガスクロマトグラフィー/マススペクトロメトリー等による測定法に比べ、誘導体化が不要であること、3化合物を同時に定量するため、分析に要する時間が短いなど種々の利点を有している。

主要組織のradio-HPLC分析パターンから、投与15分後の脳、胃、小腸および腎臓では、M-1画分の放射能が最も高く、ついでM-3, M-2画分の順であった。これら3種は、総放射能の大部分を占めることから、TZUの主要代謝物であり、なかでもM-1が組織中の主代謝物であるが、経時的にさらに酸化的代謝あるいは抱合を受けた極性の高い画分も存在することが判明した。一方、代謝組織である肝臓では、他の組織とは異なり投与15分後に未知代謝物の画分が主に存在した。また、この画分は胆汁および糞中でもわず

Table V Tissue concentrations of the three metabolites after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg) in male rat

Tissue	Time (hr)	Concentration (nmol/g tissue or ml) and half life (hr)						Sum (M-1+2+3)- to radioactivity ratio (% of [¹⁴ C] TZU)
		M-1		M-2		M-3		
		mean±S.D.	T _{1/2}	mean±S.D.	T _{1/2}	mean±S.D.	T _{1/2}	
Brain	0.25	4.73±0.67	0.63	0.03±0.02	—	0.44±0.20	1.60	73.23
	1	0.99±0.22		0.11±0.02		0.63±0.17		78.98
	2	0.15±0.04		0.06±0.01		0.33±0.06		93.08
	6	0.01±0.01		n.d.		0.06±0.03		33.50
	12	n.d.		n.d.		n.d.		0.00
	24	n.d.		n.d.		n.d.		0.00
	72	n.d.		n.d.		n.d.		0.00
Lung	0.25	20.91±2.45	0.65	5.66±0.26	2.31	7.67±1.22	1.15	84.61
	1	3.53±0.83		3.70±0.42		4.57±0.34		82.31
	2	1.28±0.34		2.93±0.43		2.59±0.65		128.94
	6	0.03±0.01		0.93±0.16		0.26±0.06		75.03
	12	n.d.		0.48±0.07		0.03±0.03		87.42
	24	n.d.		0.16±0.04		n.d.		19.29
	72	n.d.		n.d.		n.d.		0.00
Stomach	0.25	31.45±1.75	0.67	0.67±0.16	1.71	3.50±0.89	1.60	51.16
	1	5.56±3.42		0.89±0.24		4.48±2.54		39.06
	2	1.27±0.29		0.62±0.12		3.70±0.86		81.83
	6	0.05±0.02		0.12±0.05		0.31±0.13		53.74
	12	0.04±0.00		n.d.		0.04±0.00		16.98
	24	0.03±0.01		n.d.		n.d.		8.57
	72	n.d.		n.d.		n.d.		0.00
Small Intestine	0.25	19.09±2.10	0.69	0.67±0.13	3.36	3.24±0.56	1.79	80.40
	1	4.42±1.06		0.89±0.07		3.99±1.11		43.34
	2	1.72±0.09		0.53±0.07		3.69±0.87		41.66
	6	0.04±0.02		0.20±0.03		0.38±0.13		24.07
	12	0.01±0.00		0.08±0.01		0.07±0.01		14.65
	24	0.01±0.00		0.04±0.01		0.03±0.01		9.13
	72	0.01±0.00		0.02±0.00		n.d.		0.00
Liver	0.25	7.97±0.85	0.72	11.10±0.86	1.28	40.87±4.10	1.17	55.90
	1	0.84±0.24		7.66±0.74		20.59±2.23		36.49
	2	0.27±0.04		3.98±0.46		11.18±2.32		28.81
	6	0.02±0.00		0.49±0.02		1.21±0.58		16.63
	12	0.00±0.01		0.10±0.01		0.27±0.01		8.13
	24	n.d.		0.05±0.01		0.15±0.01		8.95
	72	n.d.		n.d.		0.06±0.01		7.05
Testis	0.25	4.21±0.38	1.53	0.22±0.03	8.63	0.17±0.15	8.75	73.39
	1	4.07±0.15		0.74±0.12		1.30±0.13		78.10
	2	4.62±1.15		0.73±0.10		1.30±0.28		75.27
	6	2.19±0.19		0.42±0.03		0.78±0.04		97.31
	12	1.03±0.08		0.32±0.02		0.57±0.10		129.26
	24	0.28±0.08		0.29±0.02		0.51±0.06		61.99
	72	0.01±0.01		0.23±0.04		0.12±0.02		70.32
Kidney	0.25	88.72±11.90	0.60	7.60±1.63	1.90	26.72±5.38	1.15	77.05
	1	8.74±1.17		7.86±1.14		7.55±0.55		63.98
	2	4.49±1.08		6.26±2.19		6.11±1.77		82.54
	6	0.06±0.02		0.91±0.25		0.60±0.20		26.81
	12	0.02±0.00		0.16±0.01		0.05±0.01		22.22
	24	0.01±0.01		0.03±0.03		n.d.		3.91
	72	n.d.		n.d.		n.d.		0.00
Plasma	0.083	7.84±0.57	α -phase 0.17 β -phase 0.77*	0.66±0.04	1.36	1.18±0.11	0.91	79.81
	0.25	4.45±0.71		0.97±0.16		2.04±0.38		75.12
	0.5	1.95±0.43		1.50±0.14		1.47±.019		62.49
	1	0.71±0.09		1.31±0.22		0.77±0.14		59.22
	2	0.22±0.04		0.76±0.13		0.40±0.11		46.02
	3	0.03±0.01		0.36±0.09		0.15±0.04		22.31
	6	0.01±0.00		0.10±0.02		0.02±0.01		11.65
	12	n.d.		n.d.		n.d.		0.00
	24	n.d.		n.d.		n.d.		0.00

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

n.d.: Not detected.

*: From 1 hr after administration.

Table VI Cumulative excretion % of radioactivity in urine and feces after a single intravenous administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg) in male rat

Time (hr)	Excreted radioactivity (% of dose)		
	Urine	Feces	Total
0- 24	86.18±0.71	8.39±2.08	94.56±1.57
0- 48	87.10±0.69	8.76±2.17	95.86±1.91
0- 72	87.31±0.70	8.87±2.21	96.18±1.96
0- 96	87.40±0.72	8.93±2.22	96.33±1.95
0-120	87.49±0.76	8.97±2.22	96.47±1.93
0-144	87.56±0.76	8.99±2.22	96.55±1.95
0-168	87.60±0.78	9.01±2.22	96.61±1.95

Each value represents the mean±S.D. of 4 rats.

Table VII Excretion % of the three metabolites into feces during the first 24 hr after a single intravenous administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg) in male rat

Time (hr)	Excretion (% of dose)			
	M-1	M-2	M-3	Sum (M-1+2+3)
0-24	0.32	0.32	0.38	1.02

かながら観察された。このものの構造その他については現在検討中であるが、この画分は抽出、精製など操作の途中で容易にその一部が M-3 に変換することから、M-3 の前駆体であると推察される。

TZU の主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) の

酸分泌抑制作用は M-1 が未変化体と同等の作用を有していたが、M-2 および M-3 についてはその作用はほとんどないことが知られている¹⁾。これら 3 種の主代謝物 (M-1, M-2 および M-3) の濃度を LC/MS-SIM により定量し、作用部位および代謝部位での動態を検討した結果、以下のことが判明した。TZU の薬効の標的組織である胃および小腸では、薬理活性を有する代謝物の 1 つである M-1 が最も高濃度で分布していることから、すぐれた H₂ 拮抗薬としての特徴が認められた。肝臓においては、他の組織とは異なり M-3 の濃度が非常に高いことから、酸化的脱アルキル化によるフェノール体 (M-3) の生成は主として肝臓で行われることが確認された。また、精巣においてのみ総放射能の T_{1/2} が 10.5 時間と比較的長く、これは M-2, M-3 とともに T_{1/2} が約 8.7 時間であることから、両者に基づくものと判明した。しかしながら TZU は、発ガン性試験を含む長期毒性試験において、精巣に対して影響を与えないことが確認されている。

[¹⁴C] TZU 10 mg/kg 静脈内投与 48 時間後までに、投与した放射能の約 87% が尿中に、約 9% が糞中にそれぞれ排泄された。M-1, M-2 および M-3 の投与量に対する排泄率は、尿中でそれぞれ 25, 16 および 29% と M-3 が主代謝物であった。酵素水解の結果から、M-3 のうち約半分がグルクロン酸あるいは硫酸抱合体であることが判明した。M-1 および M-2 の量は酵素水解後も変化し

Table VIII Cumulative excretion % of the three metabolites into urine after a single intravenous administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg) in male rat

Sample	Time (hr)	Excretion (% of dose)			
		M-1	M-2	M-3	Sum (M-1+2+3)
Non-Hydrolyzed	0-24	22.66±2.31	14.75±0.22	13.63±2.31	51.04±4.79
	0-48	22.95±2.34	15.34±0.22	13.79±2.34	52.08±4.87
	0-72	23.05±2.34	15.66±0.18	13.84±2.37	52.55±4.86
Hydrolyzed	0-24	24.25±2.50	14.82±1.61	28.23±0.93	67.30±1.98
	0-48	24.54±2.65	15.43±1.60	28.55±1.03	68.53±2.25
	0-72	24.65±2.68	15.75±1.59	28.67±1.03	69.07±2.23

Each value represents the mean±S.D. of 3 rats.

Fig. 8 HPLC-radiochromatograms of extracts of urine and feces collected during the first 24 hr after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg) in male rat.

Fig. 9 Cumulative excretion of radioactivity into bile after a single intravenous administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg) in male rat. Each point represents the mean $\pm$ S.D. of 5 rats.

Fig. 10 HPLC-radiochromatograms of bile extracts collected during the first 24 hr after a single intravenous administration of [¹⁴C] TZU (10 mg/kg) in male rat.

Table IX Excretion % of the three metabolites into bile during the first 24 hr after a single intravenous administration of [^{14}C] TZU (10 mg/kg) in male rat

Sample	Excretion (% of dose)			
	M-1	M-2	M-3	Sum (M-1+2+3)
Non-Hydrolyzed	0.34	0.30	0.93	1.57
Hydrolyzed	0.32	0.36	7.92	8.60

ないことから、ヒトと同様に非抱合型で排泄されることが明らかとなった。糞中では3代謝物の排泄量はいずれも投与量の約0.3%であった。

一方、胆嚢ラットにおいて48時間までに投与した放射能の20%が胆汁中に排泄され、そのうち約2%は腸肝循環すると報告されている²⁾。M-1, M-2 画分の放射能はいずれも投与量の0.3%と少なかったが、M-3 画分は約8%であり、そのほとんどは抱合体であった。このことから、TZUはM-3に代謝された後、グルクロン酸あるいは硫酸抱合体として分子量および極性を増し、胆汁中へ排泄されたと推測される。

要 約

[^{14}C] TZU 10 mg/kg をラットに静脈内投与し、生体内分布、尿、糞および胆汁中排泄、さらに血中推移について総放射能および主代謝物の両面から詳細に検討し、以下の結論を得た。

1. 主代謝物である M-1, M-2 および M-3 の定量に LC/MS-SIM を用いることにより、従来の GC/MS 等による測定に比べ、3 化合物の定量を精度よく短時間に、かつ同時に行うことが可能となった。

2. 血液中総放射能および血漿中 M-1 濃度はいずれも 2 相性に減少し、 α 相の $T_{1/2}$ はそれぞれ 0.38, 0.17 時間、 β 相で 3.82, 0.77 時間であった。血漿中 M-2 および M-3 濃度の $T_{1/2}$ はそれぞれ 1.36, 0.91 時間であった。

3. [^{14}C] TZU の体内分布では、肝臓、腎臓のような代謝および排泄組織、胃および小腸のような作用組織、あるいは耳下腺、顎下腺などの分泌

組織において総放射能が高いが、ほとんどの組織においてその消失は速やかであり、72 時間後までに投与量の 0.1% 以下あるいは検出限界以下となった。

4. 主要組織の radio-HPLC 分析パターンより、投与 15 分後では、肝臓を除く 4 種の組織（脳、胃、小腸および腎臓）で、放射能が M-1, M-3, M-2 画分の順で高く、それらの合計は総放射能の大半を占めていた。よってこれら 3 種が TZU の主代謝物であり、時間の経過に伴い酸化的代謝あるいは抱合を受けて極性の高い画分へ移行することが判明した。

5. 主要 7 組織について、ラット尿中における 3 種の主代謝物（M-1, M-2 および M-3）濃度を LC/MS-SIM により定量した結果、3 代謝物ともに、精巣を除くすべての組織で $T_{1/2}$ が 3.4 時間以下と速やかな消失を示した。

6. 精巣での総放射能の $T_{1/2}$ は 10.5 時間と比較的長く、これは M-2 および M-3 に基づくものと判明した。

7. TZU の薬効の標的組織である胃および小腸では、薬理活性を有する代謝物である M-1 が最も高濃度であり、すぐれた H_2 拮抗薬としての特徴が認められた。

8. 肝臓においては M-3 の濃度が非常に高いことから、酸化的脱アルキル化でフェノール体（M-3）が、主として肝臓で生成することが確認された。

9. 投与 48 時間後までに投与した放射能の約 87% が尿中に、約 8% が糞中にそれぞれ排泄された。尿中の主代謝物は M-3 であり、その約半分は抱合体であった。糞中ではこれら 3 代謝物の排泄比率は投与量の 0.3% とほぼ同等であった。

10. 胆嚢ラットでは投与後 48 時間までに投与した放射能の 20% が胆汁に排泄された。M-1, M-2 画分の放射能はいずれも投与量の 0.3% であるのに対し、M-3 画分は約 8% と最も高く、そのほとんどが抱合体であった。

文 献

- 1) Tarutani, M., Sakuma, H., Shiratsuchi, K. and Mieda, M.: Histamine H₂-receptor antagonistic action of 2-acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460), *Arzneim. Forsch.*, **35**: 703-706 (1985).
- 2) 岩村 敏, 本間誠次郎, 坪 玲子, 川辺勝弘, 塚本國雄: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第1報) ラットにおける吸収, 分布および排泄, 応用薬理, **30**: 299-320 (1985).
- 3) 坪 玲子, 岩村 敏, 本間誠次郎, 塚本國雄, 川辺勝弘: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第2報) 連続投与によるラット血中濃度, 排泄および体内分布, 薬理と治療, **13**: 1435-1443 (1985).
- 4) 岩村 敏, 本間誠次郎, 坪 玲子, 塚本國雄: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第3報) イヌにおける吸収および排泄, 応用薬理, **30**: 321-328 (1985).
- 5) 本間誠次郎, 坪 玲子, 岩村 敏, 川辺勝弘, 塚本國雄: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第4報) ラットおよびイヌでの代謝, 応用薬理, **30**: 329-346 (1985).
- 6) 本間誠次郎, 坪 玲子, 岩村 敏, 塚本國雄: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第5報) *in vitro* における血清および肝臓での代謝, 応用薬理, **30**: 347-355 (1985).
- 7) 本間誠次郎, 坪 玲子, 神戸川明, 岩村 敏, 塚本國雄: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第6報) 肝薬物代謝酵素に及ぼす影響, 応用薬理, **30**: 357-366 (1985).
- 8) 本間誠次郎, 佐久間秀樹, 白土賢治, 岩村 敏, 坪 玲子, 神戸川明, 塚本國雄: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第7報) イヌにおける Pharmacokinetics と Pharmacodynamics, 応用薬理, **30**: 545-554 (1985).
- 9) 本間誠次郎, 坪 玲子, 岩村 敏, 川辺勝弘, 塚本國雄: H₂ 受容体拮抗薬, 2-Acetoxy-*N*-[3-[*m*-(1-piperidinylmethyl) phenoxy] propyl] acetamide hydrochloride (TZU-0460) の体内動態 (第8報) ヒトにおける代謝, 応用薬理, **30**: 555-563 (1985).
- 10) Honma, S., Iwamura, S., Kobayashi, R., Kawabe, Y. and Shibata, K.: The metabolism of roxatidine acetate hydrochloride, Liberation of deuterium from the piperidine ring during hydroxylation, *Drug Metab. Disp.*, **15**: 551-559 (1987).