超短時間作用型 β_1 遮断剤 ONO-1101 の体内動態 (第2報): ラットに反復静脈内投与後の血中動態, 分布, 排泄 および薬物代謝酵素への影響

恒川 健, 今若 治夫, 夏井 潔, 藤本 博昭
石堂 雅恒, 柴川 公雄, 平工 誠治

Studies on the Metabolic Fate of Ultra Short Acting β_1 Blocker ONO-1101 (2): Plasma Concentration-Time Profile, Distribution, Excretion and Effects on Drug Metabolizing Enzyme Activities after Repeated Intravenous Administration to Rats

Ken TSUNEKAWA, Haruo IMAWAKA, Kiyoshi NATSUI, Hiroaki FUJIMOTO
Masatsune ISHIDO, Kimio SHIBAKAWA, Seiji HIRAKU

Minase Research Institute, ONO Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka

Summary: Plasma concentration-time profile, distribution and excretion of ONO-1101 after repeated intravenous administration were investigated in rats. Also the influence on the hepatic drug metabolizing enzyme activities was examined.

1. The radioactivity in plasma at 24 hr after each intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 at the dose of 1 mg/kg/day for 7 days was not detected or was around the detection limit. Repeated administration had no effect on plasma concentration-time profile.

2. Following repeated intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 to male rats at the dose of 1 mg/kg, the kidney, liver, lung, trachea contained high levels of radioactivity that declined to about or below detection limit in almost all tissues at 24 hr. Also in skin and carcass, a high degree of radioactivity were observed within 15 min then declined. Compared with a single administration, the elimination of radioactivity in kidney and liver was slightly delayed. But repeated intravenous administration was not associated with any accumulation of radioactivity in organ or tissue.

3. The daily excretion of radioactivity in urine and feces was constant since 4-th administration. After repeated intravenous administration, the excretion of radioactivity into urine and feces was respectively 89.7, 14.9%, for male, 86.5, 17.0% for female rats.

4. Repeated intravenous administration of ONO-1101 at the doses of 1, 10, 50 mg/kg/day for 7 days had no effect on microsomal protein content, liver weight and hepatic drug metabolizing enzyme activities.

Key words: ONO-1101, Ultra short acting β_1 -blocker, Rats, Repeated intravenous administration, Distribution, Excretion, Drug metabolizing enzyme

緒 言

ONO-1101 ((-)-[(S)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl]methyl 3-[4-[(S)-2-hydroxy-3-(2-morpholino-carbonylamino)ethylamino]propoxy]phenylpropionate monohydrochloride) は心臓選択性が高い超短時間作用型の β_1 遮断剤であり, その優れた調節性から心房細動・粗動頻脈の緊急処置や術中の不整脈管理において臨床

での有用性が期待される化合物であり¹⁾, 注射剤として開発中である. 本化合物をラットに単回静脈内投与時の体内動態についてはすでに報告した²⁾.

本報では, ^{14}C で標識した ONO-1101 (^{14}C -ONO-1101) を雌雄ラットに 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与後の血中動態, 分布, 排泄および肝薬物代謝酵素に与える影響について検討したので報告する.

実験材料および実験方法

1. 標識化合物および合成標品

実験に使用した ^{14}C -ONO-1101 は Amersham 社において合成した (Fig. 1). その比放射能は 3.62 MBq/mg であり, 薄層クロマトグラフィー (Kieselgel F254 ガラスプレート, 厚さ 0.25 mm; E. Merk, 展開溶媒; 酢酸エチル: エタノール: 水: アンモニア水 = 17: 10: 6: 3 あるいは 20: 10: 3: 3) により求めた放射化学的純度は 95% 以上であった. 非標識 ONO-1101 (lot. J0003) は当社で合成したものをを用いた.

2. 実験動物

実験には一週間以上予備飼育 (温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$) した 8 週齢の SD 系ラット (チャールズリバー) をを用いた. なお, ラットは別に記載する以外には固形飼料 (MM-5; ケアリー) および水を自由摂取させた. 血中動態, 糞・尿排泄試験は一群 4 匹で, 組織内濃度の測定は一群 3 匹, 肝薬物代謝酵素に与える影響の検討は一群 5 匹で実施した.

3. 投与薬液の調製および投与方法

^{14}C -ONO-1101 を非標識 ONO-1101 で希釈して生理食塩水に溶解し, 1 mg/1 ml/kg を尾静脈より静脈内急速投与した. 投与放射能は血中動態, 糞・尿排泄, 組織内濃度の測定では 1.086 MBq/kg, 全身オートラジオグラフィーでは 3.62 MBq/kg とし, 1 日 1 回 7 日間反復尾静脈内投与した. 本試験の反復投与量は, 血圧および心拍数に与える影響を考慮して選択した単回投与試験の

基本投与量を用いた. また, 肝薬物代謝酵素に与える影響の検討では非標識 ONO-1101 を生理食塩水に溶解し, 1, 10, 50 mg/kg の用量で, 対照群は生理食塩水をそれぞれ 1 ml/kg で 1 日 1 回 7 日間反復尾静脈内投与した. なお, 陽性対照群はフェノバルビタール・ナトリウムを生理食塩水に溶解し 80 mg/kg の用量で 2 ml/kg を 1 日 1 回 7 日間反復腹腔内投与した.

4. 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 (LSC-903; Aloka) で 1 分間計測することにより行った. 計数効率の補正は外部標準線源法により行った.

5. 血漿中放射能濃度の測定

雌雄ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した. 各回の投与後 24 時間および最終回投与後 1, 2, 5, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6, 24 時間にヘパリン処理したシリンジ (テルモ) で頸静脈より血液約 0.2 ml を採取し, 得られた血液を遠心分離 (12,000 rpm, 2 分) し血漿を得た. 血漿 50 μl にシンチレーター ACS-II (Amersham) 10 ml を加え, 放射能を測定し血漿中放射能濃度を求めた.

6. 組織内放射能濃度の測定

雄性ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与し, 最終回投与後, 5, 15 分, 1, 4 および 24 時間に頸静脈より採血後, 頸動脈より放血致死させ各組織を摘出した. 各組織は重量を測定後, 大きな組織では水を加えて均質攪拌後一部を採取し, 組織可溶化剤 Soluene-350 (Packard) 1 ml を加えた. 甲状腺, 副腎等の小さい組織については直接 Soluene-350 を加えた. これら試料は 40°C で一晩加温して溶解し, 必要に応じて 30% 過酸化水素水 0.3~0.5 ml で脱色した後, シンチレーター Hionic-Fluor (Packard) 10~15 ml を加えて放射能を測定し組織内放射能濃度を求めた.

7. 全身オートラジオグラフィー

雄性ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与し, 最終回投与後, 15 分, 1, 4 および 72 時間にエーテル麻醉死させた後, 直ちにドライアイス-ヘキサンで凍結し, 4% CMC に包埋し凍結ブロックを作製した. 凍結ブロックをクライオマクロカット (Leica) に固定し 40 μm の切片を作製し凍結乾燥後, 切片表面を保護膜で覆い X 線フィルム (LKB Ultrofilm) に一定期間密着させて露出した. ついで X 線フィルムを現像し全身オートラジオグラムを得た.

Specific radioactivity: 3.62 MBq/mg
Radiochemical purity: >95.0 %

Fig. 1 Chemical structure of ^{14}C -ONO-1101

8. 尿、糞中排泄率の測定

雌雄ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した。各回投与後、ラットは直ちに個別の代謝ケージに収め飼育し、自然排泄された糞および尿を 24 時間ごとに最終投与後 96 時間まで分別回収した。尿はケージ洗浄液を合わせ、容量を測定後その一定量に ACS-II 10 ml を加え放射能を測定し、累積尿中排泄率を求めた。糞は精製水を加え均質攪拌後、重量を測定しその一部をコンバストコーンに入れ、自然乾燥させた後に自動試料燃焼装置 (Tri-Carb306; Packard) で完全燃焼させ、燃焼により生じた二酸化炭素を Carbo-sorb (Packard) 8 ml でトラップし、シンチレーター Permafluor (Packard) 11 ml を加え放射能を測定した。得られた測定値から累積糞中排泄率を求めた。

9. 肝薬物代謝酵素系に対する影響

雄性ラットに非標識 ONO-1101 を 1, 10, 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与後 24 時間絶食し、断頭放血致死させ、常法に従いミクロソーム画分を調製した。ミクロソーム画分の蛋白定量は Lowry らの方法³⁾、Glucose-6-phosphatase は Swanson らの方法⁴⁾、Aminopyrine N-demethylase は Nash らの方法⁵⁾、Aniline hydroxylase は Imai らの方法⁶⁾、NADPH cytochrome C reductase は Phillips らの方法⁷⁾、NADH fer-

ricyanide reductase は Mihara らの方法⁸⁾、Cytochrome P-450 含量は Omura らの方法⁹⁾に準じて行った。

10. データの表示と処理

血漿、血液、乳汁および組織中放射能濃度は ONO-1101 に換算して表示した。また糞尿および消化管内容物については投与量あたりの % (% of dose) で表示した。最終定量時間 (t) までの血中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-t}) は台形法により求め、それ以降の $\text{AUC}_{t-\infty}$ は消失相の傾きと最終定量時間の濃度を用いて算出し、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ はそれらを合することにより算出した。また、半減期は最終投与後 1~5 分および 15 分以後の消失相より最小二乗法により求めた。得られたデータは平均値 $\pm$ 標準偏差 (S.D.) で表示した。平均値の差の検定は Student の t-検定あるいは Bonferroni/Dunn の検定で行い、有意水準は両側 5 % とした。

実験結果

1. 血漿中放射能濃度の推移

雌雄ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与した時の各回投与後 24 時間の血漿中濃度は、検出限界以下あるいは検出限界付近のきわめて低い濃度であった (Fig. 2)。最終回投与後の血漿中放射能濃度推移は Fig. 3 に示すように単回投与時と同様に二相性の消失を示した。この時の薬物速度

Fig. 2 Plasma levels of radioactivity during and after 7-day period of daily intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 at the dose of 1 mg/kg to male and female rats. Plasma levels were determined at 24 hr after each administration. Each point represents the mean $\pm$ S.D. of 4 animals.

●; male ○; female ↓; administration

Fig. 3 Plasma levels of radioactivity after single and 7-day period of daily intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 at the dose of 1 mg/kg to male and female rats
Each point represents the mean $\pm$ S.D. of 4 animals.
●; single dose ○; 7th dose

Table I Pharmacokinetic parameters of radioactivity after single and 7-day period of daily intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 to male and female rats

Dose (mg/kg)	Sex	AUC _{0-∞} ($\mu\text{g eq} \cdot \text{hr/ml}$)	T _{1/2} (1-5 min) (min)	T _{1/2} (15-240 min) (min)
Single administration ^{a)}				
1	Male	1.97 $\pm$ 0.20	6.0 $\pm$ 1.5	32 $\pm$ 2
	Female	2.11 $\pm$ 0.27	5.0 $\pm$ 0.7	33 $\pm$ 4
Repeated administration				
1	Male	1.60 $\pm$ 0.18	4.4 $\pm$ 0.8	30 $\pm$ 2
	Female	1.75 $\pm$ 0.33	5.2 $\pm$ 0.8	28 $\pm$ 3

Results are expressed as the mean $\pm$ S.D. of 4 animals.

^{a)}: Cited from reference²⁾.

論的パラメータを **Table I** に示した。最終回投与後1分から5分までの半減期は雄性ラット、雌性ラットでそれぞれ4.4, 5.2分であり、その後15分から4時間までの半減期は30, 28分と単回投与時と同様に速やかに消失した。反復投与の最終回投与後の AUC_{0-∞} および半減期は単回投与とはほぼ同じであった。

2. 組織内放射能濃度

雄性ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で1日1回7日間反復静脈内投与後の臓器・組織中放射能濃度を **Table II** に示した。最終回投与後5分では腎臓がもっとも高い放射能濃度を示し、ついで肝臓、肺、気管に高濃度に分布した。また、皮膚および各組織・臓器採取後の死骸の分布量も多かった。投与後15分におい

ても5分とはほぼ同様であったが、腎臓について膀胱がもっとも高濃度に分布した。投与後1, 4時間になると投与初期(5, 15分)に高濃度に分布した腎臓、肝臓、肺、気管の放射能濃度、および皮膚、各組織・臓器採取後の死骸への分布量は経時的に減少した。腸管内容物への放射能の分布量は投与後1時間より増加した。反復投与後4時間までは単回投与時²⁾と比較して組織中濃度およびその消失は大差なかったが、投与後24時間には腎臓、肝臓でそれぞれ 48.6, 30.5 ng eq/ml と単回投与時と比べてやや高い値を示した。

3. 全身オートラジオグラフィ

雄性ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で1日1回7日間反復静脈内投与し、最終回投与後15分、1, 4 および72時間の全身オートラジオグラムを **Fig. 4** に示した。

^{14}C -ONO-1101 最終投与15分後で腎臓、肝臓、膀胱、皮膚、肺に、投与1時間で肝臓、膀胱、腎臓、小腸内容物に、投与4時間で消化管内容物に高濃度の放射能の分布が観察された。投与後72時間では腸管内容物、腎臓にきわめてわずかな放射能が認められるにすぎなかった。中枢への放射能の移行は認められなかった。

4. 糞尿排泄

雌雄ラットに ^{14}C -ONO-1101 を 1 mg/kg の用量で1日1回7日間反復静脈内投与後96時間までの尿、糞への累積排泄率を **Table III** に示した。雌雄ラットとも反復投与4日目以降、尿、糞中排泄率はほぼ一定となり、

Table II Distribution of radioactivity after 7-day period of daily intravenous administration of ¹⁴C-ONO-1101 at the dose of 1 mg/kg to male rats

Tissue	Concentration of radioactivity (ng eq./ml or g-tissue)							
	5 min		15 min		1 hr		4 hr	
Plasma	3999.4 ±	696.0	2879.1 ±	621.8	238.7 ±	21.7	18.5 ±	3.0
Blood	1785.0 ±	299.5	1513.9 ±	234.2	137.4 ±	3.8	15.1 ±	0.9
Cerebrum	78.1 ±	16.4	78.2 ±	15.2	8.5 ±	2.0	2.4 ±	4.1
Cerebellum	92.2 ±	14.4	84.5 ±	26.0	11.0 ±	0.7	2.5 ±	0.1
Medulla oblongata	153.8 ±	66.6	84.5 ±	12.8	13.1 ±	2.8	14.7 ±	20.5
Spinal cord	90.1 ±	11.3	104.2 ±	46.8	11.8 ±	1.1	3.9 ±	3.4
Pituitary	1107.0 ±	88.3	536.7 ±	286.7	93.8 ±	28.4	10.9 ±	16.7
Eye ball	401.0 ±	58.5	407.3 ±	61.9	55.1 ±	1.1	10.5 ±	1.6
Harderian gland	568.2 ±	36.4	487.4 ±	43.8	64.9 ±	23.1	19.3 ±	3.1
Salivary gland	763.4 ±	136.2	522.9 ±	102.8	82.6 ±	4.1	18.3 ±	7.3
Thyroid	1391.5 ±	212.3	1056.8 ±	381.1	120.5 ±	19.3	31.6 ±	12.2
Trachea	1424.4 ±	254.4	1402.4 ±	332.9	110.4 ±	15.9	18.8 ±	4.3
Esophagus	1100.8 ±	161.2	944.0 ±	244.4	129.5 ±	73.4	18.9 ±	7.6
Thymus	633.3 ±	128.3	610.4 ±	211.7	87.1 ±	7.7	10.4 ±	9.0
Lung	1789.3 ±	101.6	1560.9 ±	306.9	227.6 ±	36.7	36.3 ±	5.2
Heart	1015.9 ±	171.4	1015.2 ±	196.8	140.0 ±	14.9	21.7 ±	2.5
Liver	3461.6 ±	399.5	5179.4 ±	805.2	2163.5 ±	188.3	298.8 ±	121.9
Pancreas	757.4 ±	110.6	767.1 ±	62.5	451.7 ±	423.2	42.7 ±	8.6
Spleen	649.9 ±	72.8	501.7 ±	74.9	113.4 ±	14.8	33.4 ±	1.3
Kidney	11898.9 ±	2901.6	18183.6 ±	14392.4	6490.1 ±	8683.4	200.6 ±	24.6
Adrenal	965.7 ±	195.3	754.8 ±	192.3	125.6 ±	13.0	23.0 ±	2.1
Lymph-node mesentery	625.4 ±	101.4	555.0 ±	119.0	157.5 ±	84.9	23.9 ±	9.3
Urinary bladder	887.9 ±	269.9	11102.6 ±	18284.1	17447.4 ±	29161.3	116.6 ±	93.0
Seminal vesicle	411.0 ±	103.7	246.8 ±	14.3	75.9 ±	63.2	14.4 ±	1.5
Prostate	461.8 ±	82.3	463.9 ±	25.4	72.8 ±	21.7	16.5 ±	3.1
Epididymis	658.1 ±	174.5	720.3 ±	209.3	115.9 ±	41.4	15.3 ±	8.1
Testis	265.7 ±	64.8	403.3 ±	65.4	48.5 ±	2.0	10.2 ±	5.2
Muscle	380.5 ±	51.0	317.9 ±	46.7	50.1 ±	11.2	19.4 ±	5.1
White fat	216.5 ±	39.1	286.4 ±	98.0	45.2 ±	16.5	11.7 ±	4.4
Brown fat	751.1 ±	234.9	762.0 ±	169.7	79.1 ±	23.1	13.6 ±	23.5
Radioactivity (% of dose)								
Stomach	0.38 ±	0.04	0.33 ±	0.06	0.07 ±	0.02	0.01 ±	0.00
Stomach contents	0.20 ±	0.24	0.05 ±	0.04	0.16 ±	0.24	0.01 ±	0.01
Duodenum	0.16 ±	0.05	0.18 ±	0.05	0.08 ±	0.01	0.01 ±	0.00
Duodenum contents	0.44 ±	0.11	0.97 ±	0.53	0.40 ±	0.12	0.03 ±	0.02
Small intestine	1.03 ±	0.18	1.20 ±	0.06	0.62 ±	0.12	0.36 ±	0.31
S. intestinal contents	0.78 ±	0.32	1.32 ±	0.77	6.23 ±	0.81	3.89 ±	0.89
Cecum	0.39 ±	0.21	0.27 ±	0.05	0.10 ±	0.06	0.17 ±	0.08
Cecum contents	0.87 ±	0.63	0.31 ±	0.21	0.36 ±	0.18	5.56 ±	2.09
Large intestine	0.39 ±	0.06	0.32 ±	0.07	0.10 ±	0.07	0.03 ±	0.03
L. intestinal contents	0.29 ±	0.24	0.12 ±	0.09	0.17 ±	0.12	0.23 ±	0.38
Carcass	36.41 ±	3.88	30.37 ±	5.28	5.03 ±	1.15	1.67 ±	0.33
Skin	23.98 ±	8.64	26.43 ±	7.38	3.07 ±	0.14	0.31 ±	0.06
Radioactivity (% of dose)								
Feces	—		—		—		—	12.37 ± 2.61
Urine	—		—		64.63 ±	21.34	78.17 ±	1.70
Recovery	102.74 ±	11.27	107.83 ±	4.46	98.34 ±	10.53	91.76 ±	3.52

Each value represents mean ± S.D. of 3 animals.
N.D. : Not detected, — : Not excreted.

Fig. 4-A : Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after 7-day period of daily intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 (1 mg/kg) to male rats
 A ; central axis aspect B ; left lateral aspect
 1 ; cecum contents 2 ; esophagus 3 ; heart 4 ; kidney 5 ; large intestinal contents 6 ; liver 7 ; lung 8 ; salivary gland 9 ; skin 10 ; small intestinal contents 11 ; stomach contents 12 ; urinary bladder

Fig. 4-B : Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after 7-day period of daily intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 (1 mg/kg) to male rats
 A ; central axis aspect B ; left lateral aspect
 1 ; cecum contents 2 ; esophagus 3 ; heart 4 ; kidney 5 ; large intestinal contents 6 ; liver 7 ; lung 8 ; salivary gland 9 ; skin 10 ; small intestinal contents 11 ; stomach contents 12 ; urinary bladder

Table III Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces during and after 7-day period of daily intravenous administration of ^{14}C -ONO-1101 (1 mg/kg/day)

Number of dosing	Cumulative excretion (% of dose)					
	Male			Female		
	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
1	87.5 $\pm$ 6.0	11.9 $\pm$ 2.3	99.4 $\pm$ 4.3	78.9 $\pm$ 4.1	12.0 $\pm$ 1.4	90.9 $\pm$ 4.3
2	88.5 $\pm$ 3.4	12.1 $\pm$ 1.9	100.6 $\pm$ 1.9	84.1 $\pm$ 1.5	12.8 $\pm$ 0.8	96.9 $\pm$ 1.0
3	90.1 $\pm$ 1.3	12.8 $\pm$ 1.8	102.8 $\pm$ 2.2	85.7 $\pm$ 3.6	14.2 $\pm$ 0.5	99.9 $\pm$ 3.1
4	89.5 $\pm$ 1.4	13.7 $\pm$ 1.5	103.2 $\pm$ 1.7	86.5 $\pm$ 2.2	15.3 $\pm$ 1.0	101.8 $\pm$ 1.6
5	89.4 $\pm$ 1.6	14.1 $\pm$ 1.5	103.5 $\pm$ 1.3	86.2 $\pm$ 1.6	15.6 $\pm$ 1.2	101.7 $\pm$ 0.6
6	89.3 $\pm$ 1.3	14.3 $\pm$ 1.5	103.6 $\pm$ 1.5	86.7 $\pm$ 1.5	15.3 $\pm$ 1.2	102.0 $\pm$ 0.6
7 24*	89.3 $\pm$ 1.7	14.6 $\pm$ 1.3	103.9 $\pm$ 1.6	86.1 $\pm$ 1.6	16.2 $\pm$ 1.8	102.3 $\pm$ 0.3
48*	89.5 $\pm$ 1.7	14.9 $\pm$ 1.3	104.3 $\pm$ 1.6	86.4 $\pm$ 1.5	16.9 $\pm$ 1.7	103.3 $\pm$ 0.3
72*	89.5 $\pm$ 1.7	14.9 $\pm$ 1.3	104.4 $\pm$ 1.6	86.5 $\pm$ 1.5	17.0 $\pm$ 1.7	103.5 $\pm$ 0.3
96*	89.7 $\pm$ 1.6	14.9 $\pm$ 1.3	104.6 $\pm$ 1.6	86.5 $\pm$ 1.5	17.0 $\pm$ 1.7	103.5 $\pm$ 0.3

Each value represents mean $\pm$ S.D. of 4 animals.

* : Hours after the 7 th dose

Table IV Effects on liver weight, microsomal protein concentration and drug metabolizing enzyme activities in liver microsomes at 24 hr after 7-day period of daily intravenous administration of ONO-1101 to male rats

	Control	ONO-1101			Phenobarbital
	(i.v.) Saline	1 mg/kg	(i.v.) 10 mg/kg	50 mg/kg	(i.p.) 80 mg/kg
Body weight (g)	282.5 $\pm$ 11.4	287.3 $\pm$ 6.1	288.3 $\pm$ 2.3	286.6 $\pm$ 4.5	289.1 $\pm$ 12.0
Liver weight (g/100 g-body weight)	2.88 $\pm$ 0.09	2.87 $\pm$ 0.10	2.84 $\pm$ 0.10	2.86 $\pm$ 0.12	3.83 $\pm$ 0.17*
Microsomal protein (mg/g-Liver)	24.9 $\pm$ 3.6	27.5 $\pm$ 3.5	27.6 $\pm$ 1.8	27.0 $\pm$ 2.4	41.3 $\pm$ 3.2*
Cyt. P-450 (nmol/mg-prot.)	0.78 $\pm$ 0.10	0.76 $\pm$ 0.09	0.66 $\pm$ 0.05	0.77 $\pm$ 0.08	1.86 $\pm$ 0.21*
G-6-Pase (μ mol/mg-prot./min)	0.54 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.04	0.52 $\pm$ 0.04	0.50 $\pm$ 0.03	0.33 $\pm$ 0.04*
Aminopyrine N-demethylase (nmol/mg-prot./min)	5.89 $\pm$ 1.27	5.51 $\pm$ 0.60	5.26 $\pm$ 0.65	6.02 $\pm$ 0.65	15.38 $\pm$ 1.23*
Aniline hydroxylase (nmol/mg-prot./min)	0.82 $\pm$ 0.08	0.81 $\pm$ 0.11	0.75 $\pm$ 0.05	0.84 $\pm$ 0.11	0.91 $\pm$ 0.07
NADPH cyt. C reductase (nmol/mg-prot./min)	237.49 $\pm$ 29.50	243.24 $\pm$ 29.68	253.29 $\pm$ 23.80	244.66 $\pm$ 33.60	413.37 $\pm$ 73.07*
NADH ferricyanide reductase (μ mol/mg-prot./min)	5.44 $\pm$ 0.36	6.11 $\pm$ 0.53	5.30 $\pm$ 0.54	5.75 $\pm$ 0.48	5.67 $\pm$ 0.76

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of 5 animals.

Difference in significant compared to control, *: $p < 0.01$ (Bonferroni/Dunn's test)

最終回投与後96時間までにそれぞれ雄性で89.7%, 14.9%, 雌性で86.5%, 17.0%排泄された。

5. 肝薬物代謝酵素活性に対する影響

雄性ラットに ONO-1101 を 1, 10, 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与し, 最終回投与後 24 時間の相対肝重量, ミクロソーム蛋白量, Cytochrome P-450, Glucose-6-phosphatase, Aminopyrine N-demethylase, Aniline hydroxylase, NADPH cytochrome C reductase, NADH ferricyanide reductase 活性を **Table IV** に示した。陽性対照として用いたフェノバルビタール投与群では生理食塩水投与群と比較して相対肝重量, ミクロソーム蛋白量の増加が認められ, Cytochrome P-

450, Glucose-6-phosphatase, Aminopyrine N-demethylase, NADH ferricyanide の薬物代謝酵素活性の上昇が認められた。ONO-1101投与群においてはいずれの投与量においても有意な薬物代謝酵素の変動は認められなかった。

考 察

本化合物の反復投与において各回の投与後24時間の血漿中濃度は検出限界以下, あるいは検出限界付近のきわめて低い濃度であり, 最終回投与後の血漿中濃度推移は雌雄ラットとも単回投与時とほぼ同じであり, 反復投与による血中動態への影響はないものと考えられた。

反復投与後96時間までの雌雄ラットの尿および糞中

への排泄率は、雌雄いずれも単回投与時²⁾と大差なく、反復投与期間中の糞尿排泄率は投与4日目以降からはほぼ一定に推移することから反復投与による排泄動態への影響はほとんどないものと考えられた。

反復投与後の組織内分布を検討した結果、投与初期(5, 15分)に腎臓、血漿、肝臓、肺、気管で高濃度に分布し、皮膚、各組織・臓器採取後の死骸に分布量が多かったが、それ以降は経時的に減少した。最終回投与後24時間における組織内濃度は代謝、排泄臓器である肝臓および腎臓でそれぞれ30.5および48.6 ng eq/gと単回投与時²⁾と比べ高い値を示したが、全体的に低い濃度であり分布像に大きな変化は認められず、組織への蓄積性は少ないものと考えられた。また、反復投与72時間後ではほとんど放射能が認められていないことから反復による残留性はないものと考えられた。

反復投与による肝薬物代謝酵素に対する影響を検討した結果、肝重量、ミクロゾーム蛋白量および酵素活性のいずれも変動が認められず影響ないものと考えられた。

要 約

ONO-1101を反復静脈内投与時の血中動態、分布、糞尿排泄および肝薬物代謝酵素に対する影響について検討した。

1. 雌雄ラットに¹⁴C-ONO-1101を1 mg/kgの用量で1日1回7日間反復投与した時、各回投与後24時間の血漿中放射能濃度は検出限界以下、あるいは検出限界付近のきわめて低い濃度であり、最終回投与後の血漿中濃度推移は雌雄ラットとも単回投与時とほぼ同じであった。

2. 雄性ラットに¹⁴C-ONO-1101を1 mg/kgの用量で1日1回7日間反復投与した時の最終回投与後の各組織中放射能濃度は、投与初期(5, 15分)には腎臓、肝臓、肺、気管において高濃度であり、皮膚、各組織・臓器採取後の死骸に分布量が多かったが、それ以降は経時的に減少した。代謝、排泄臓器である肝臓、腎臓では単回投与時と比べてわずかに高い値を示したが、特定の

組織・臓器への放射能の残留は認められなかった。

3. 雌雄ラットにONO-1101を1 mg/kgの用量で1日1回7日間反復投与後の尿および糞中への累積排泄率は4日目以降からはほぼ一定の値となり、最終回投与後96時間まででそれぞれ雄性で89.7, 14.9%, 雌性で86.5, 17.0%であった。

4. 雄性ラットにONO-1101を1, 10, 50 mg/kgの用量で1日1回7日間反復投与した時の肝薬物代謝酵素に対する影響は認められなかった。

文 献

- 1) Iguchi, S., Iwamura, H., Nishizaki, M., Hayashi, A., Senokuchi, K., Kobayashi, K., Sakaki, K., Hachiya, K., Ichioka, Y. and Kawamura, M.: Development of a highly cardioselective ultra short-acting β -blocker, ONO-1101. *Chem. Pharm. Bull.*, **40** (6): 1462-1469 (1992).
- 2) 恒川 健, 今若治夫, 藤本博昭, 石堂雅恒, 柴川公雄, 平工誠治: 超短時間作用型 β_1 遮断剤 ONO-1101 の体内動態 (第1報): ラットに単回静脈内投与後の血中動態, 分布および排泄. 薬物動態, **12**: 5-21 (1997).
- 3) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275 (1951).
- 4) Swanson, M. A.: Phosphatases of liver. *J. Biol. Chem.*, **184**: 647-659 (1950).
- 5) Nash, T.: The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem. J.*, **55**: 416-421 (1953).
- 6) Imai, Y., Ito, A., Sato, R.: Evidence for biochemically different types of vesicles in the hepatic microsomal fraction. *J. Biochem.*, **60**: 417-428 (1966).
- 7) Phillips, A. H., Langdon, R. G.: Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome C reductase: Isolation, characterization, and kinetic studies. *J. Biol. Chem.*, **237**: 2652-2660 (1962).
- 8) Mihara, K., Sato, R.: Partial purification of NADH-cytochrome b₅ reductase from rabbit liver microsomes with detergents and its properties. *J. Biochem.*, **71**: 725-735 (1972).
- 9) Omura, T., Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, **239**: 2370-2378 (1964).