新規抗潰瘍剤 T-593 の体内動態 (第 3 報): ラットにおける反復経口投与時の血液中濃度, 分布, 代謝, 排泄 および肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響

小野田 誠, 門田 卓美, 大山 進祐, 松谷 博子
酒井 広志, 今泉 弘之, 中島 良文

Metabolic Fate of a Novel Antiulcer Agent, T-593 (III): Blood Concentration, Distribution, Metabolism, Excretion and Effects on Hepatic Drug Metabolizing Enzyme System after Repeated Oral Administration to Rats

Makoto ONODA, Takumi KADOTA, Shinsuke OOHAMA, Hiroko MATSUTANI,
Hiroshi SAKAI, Hiroyuki IMAIZUMI and Yoshifumi NAKASHIMA

Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd., Toyama

Summary: Blood concentration, distribution, metabolism and excretion of ^{14}C -T-593 were investigated during and after repeated oral administration to male rats at a dose of 10 mg/kg for 21 days. In addition, the effects of T-593 on hepatic drug metabolizing enzyme system were also examined after repeated oral administration to male rats at the doses of 10, 30 and 100 mg/kg for 7 days.

1. The blood levels of radioactivity at 24 hr after daily dosing increased in parallel with the number of dosing. The blood level after the 21st dosing was 5.8 times higher than that after the 1st dosing.
2. The radioactivity levels in plasma and most tissues at 24 hr after the 1st, 7th, 14th and 21st dosing reached a steady state by the 14th dosing. The levels in the blood cells, hypophysis and testis after the 21st dosing decreased slowly compared with those after the 1st dosing.
3. Most of the radioactivity in the urine excreted within 24 hr after the 21st dosing consisted of the unchanged T-593 and the metabolic profile after the 21st dosing was similar to that after 1st dosing.
4. The cumulative excretion of radioactivity in the urine and feces within 24 hr after daily dosing was almost constant after the 2nd dosing. The cumulative excretion in the urine and feces within 96 hr after the 21st dosing was 1.09% and 96.35%, respectively.
5. Repeated dosing of T-593 had no effect on the drug metabolizing enzyme system in hepatic microsomes.

Key words: T-593, Antiulcer agent, Blood Concentration, Distribution, Metabolism, Excretion, Hepatic drug metabolizing enzyme, Repeated oral administration, Rats

緒 言

T-593, (±)-(E)-1-[2-hydroxy-2-(4-hydroxy-phenyl)ethyl]-3-[2-[[[5-(methylamino)methyl-2-furyl]methyl]thio]ethyl]-2-(methylsulfonyl)guanidine は, 富山化学工業株式会社において開発された新規抗潰瘍剤である。T-593 はヒスタミン H_2 受容体拮抗作用に基づく胃酸分泌抑制作用に加えて, 胃粘膜血流および粘液糖蛋白量の改善に基づく防御因子増強作用を有することが動物実験で確認されている¹⁻⁴⁾。

我々は前報においてラットに ^{14}C 標識化合物 (^{14}C -T-593) を単回経口投与した時の吸収, 分布, 代謝および排泄について報告した^{5,6)}。本報では ^{14}C -T-593 をラットに反復経口投与した時の血液中濃度, 分布, 代謝, 排泄および T-593 の肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響について検討した。

実験材料および方法

1. 標識化合物, 合成標品および試薬

^{14}C -T-593 は第一化学薬品(株)東海研究所で合成およ

*: ^{14}C -labeled position

Fig. 1 Chemical structure of ^{14}C -T-593

び精製したもの (Lot. CP-1739) を使用した。 ^{14}C -T-593 の比放射能は 1.77 MBq/mg であり, 液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した放射化学的純度は 97% 以上であった。 ^{14}C -T-593 の化学構造および標識位置を Fig. 1 に示した。非標識 T-593 および代謝物標品 (T-593M1, T-593M2 および T-593M3) は富山化学工業(株)総合研究所で合成したものを使用し, その他の試薬類は市販品を使用した。

2. 実験動物

Wistar/ST 系雄性ラット (日本エスエルシー(株)) を 1~2 週間予備飼育し, 7 週齢 (投与開始時の体重: 180~235 g) で使用した。飼育は温度 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 湿度 $50 \pm 10\%$ の条件下で行い, 水道水および固型飼料 (MF; オリエンタル酵母工業(株)) を自由摂取させた。また, いずれの投与に際しても投与前後の摂餌および飲水に制限を加えなかった。ラットの例数は全身オートラジオグラフィーでは 1 群 1 匹, 他の体内動態試験では 1 群 3~4 匹, 肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響の検討では 1 群 6 匹とした。

3. 投与液の調製および投与方法

(1) 体内動態試験

^{14}C -T-593 を等モルの 0.1 N 塩酸に溶解し, 塩酸塩とした。さらに, 生理食塩液および 0.1 N 水酸化ナトリウムを加えて pH を 5~6 に調整後, 2 mg/ml の濃度に調製した。尿および糞中排泄率の測定では ^{14}C -T-593 の放射能濃度が 1/10 になるように非標識 T-593 で希釈した。ラットに 10 mg/5 ml/kg の投与量で 1 日 1 回, 最高 21 日間, 経口ゾンデを用いて反復経口投与した。投与放射能は尿および糞中排泄率の測定では約 1.77 MBq/kg, その他の試験では約 17.7 MBq/kg とした。

(2) 肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響の検討

T-593 に蒸留水を加えて超音波照射し, 20, 6 および 2 mg/ml の濃度の懸濁液を調製した。ラットに 10, 30 および 100 mg/5 ml/kg の投与量で 1 日 1 回, 7 日間反復経口投与した。また, 陰性対照群として蒸留水 5 ml/kg を同様に反復経口投与した。一方, 肝薬物代謝酵素系に影響を及ぼす薬剤としてシメチジン (Sigma) およびフェノバルビタールナトリウム (和光純薬工業(株)) を陽性対照群に使用した。シメチジンは蒸留水に懸濁して

200 mg/5 ml/kg, フェノバルビタールナトリウムは蒸留水に溶解して 80 mg/5 ml/kg を同様に反復経口投与した。

4. 血液中放射能濃度の測定

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回, 21 日間反復経口投与し, 奇数回投与後 24 時間にヘパリン (ノボ・ヘパリン注 1000; ノボ・ノルディスク A/S) 処理を施した毛細管を用いて血液 100 μl を尾静脈より採取した。血液は自然乾燥後, 第 1 報⁵⁾に準じて放射能を測定した。

5. 組織内放射能濃度の測定

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回, 最高 21 日間反復経口投与し, 1 回投与後 2, 24, 96 時間, 7 回投与後 24 時間, 14 回投与後 24 時間および 21 回投与後 2, 24, 96 時間にエーテル麻酔下で開腹し, 腹部大動脈より採血致死させた。血液および血漿を採取後, 大脳, 小脳, 下垂体, 眼球, 甲状腺, 顎下腺, 舌下腺, 胸腺, 肺, 心臓, 肝臓, 副腎, 腎臓, 脾臓, 膵臓, 脊髄, 皮膚, 脂肪, 褐色脂肪, 前立腺, 精巣, 精巣上体, 筋肉, 骨, 骨髓, 胃, 小腸および大腸を摘出した。血液, 血漿および組織は第 1 報⁵⁾に準じて放射能を測定した。また, 血液については血球移行率を第 1 報⁵⁾に準じて算出した。

6. 全身オートラジオグラフィー

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回, 21 日間反復経口投与後 2, 24 および 96 時間にエーテル麻酔死させ, 全身オートラジオグラムを第 1 報⁵⁾に準じて作製した。

7. 尿中代謝物の分析

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回, 21 日間反復経口投与し, 初回および 21 回投与後 24 時間までの尿を採取し, 遠心分離して得られた上清を分析試料とした。尿中代謝物の放射能分析は第 1 報⁵⁾の Radio-HPLC 法に準じて行った。

8. 尿および糞中排泄率の測定

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回, 21 日間反復経口投与し, 21 回投与後 96 時間まで代謝ケージ (メタボリカ MC-ST 型; 杉山元医器工業(株)) 内で飼育した。尿および糞は自然排泄されたものを各回投与後 24 時間に, 21 回投与後は 24 時間ごとに 96 時間まで採取し, 第 1 報⁵⁾に準じて放射能を測定した。また, 21 回投与後 96 時間の尿および糞を採取後, 体内残存率を第 1 報⁵⁾に準じて求めた。

9. 肝薬物代謝酵素活性の測定

ラットに T-593 10, 30 および 100 mg/kg, また陰性対照として蒸留水 5 ml/kg を 1 日 1 回, 7 日間反復経口投与した。一方, 陽性対照としてシメチジン 200 mg/kg およびフェノバルビタールナトリウム 80 mg/kg を同様に反復経口投与した。ラットを最終投与後 24 時間絶食し, 断頭放血致死させた後, 常法に従ってミクロソーム試料を調製した。

ミクロソーム試料のタンパク含量は Lowry らの方法⁷⁾, Cytochrome P450 および Cytochrome b5 は Omura らの方法^{8,9)} に準じて測定した。Aniline P-hydroxylase 活性は Imai らの方法¹⁰⁾, Aminopyrine N-demethylase 活性は Cochin らの方法¹¹⁾, P-Nitroanisole O-demethylase 活性は McMahon らの方法¹²⁾, UDP-glucuronyltransferase 活性は P-Nitrophenol を基質として Yuasa の方法¹³⁾ に準じてそれぞれ測定した。これらの測定は自記分光光度計 (U-3210 型; Hitachi) で行った。

10. 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 2500TR; Packard) で行い, 計数効率の補正は外部標準線源法により行った。

11. 試験成績の表示

放射能の検出限界はバックグラウンド値+3 標準偏差とし, 検出限界未満 (N.D.) の場合は 0 として数値処理した。放射能濃度はいずれも T-593 に換算して表示した。試験成績は平均値±標準誤差で表示し, 肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響における平均値の差の検定は蒸留水投与群を対照として Student の t 検定または Aspin Welch の検定により行った。

実験結果

1. 血液中放射能濃度

ラットに ¹⁴C-T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回, 21 日間反復経口投与した時の奇数回投与後 24 時間の血液中放射能濃度を Fig. 2 に示した。各回投与後 24 時間の血液中放射能濃度は 1 回投与後に 0.9 ng eq./ml を示した後, 投与回数に伴って増加し, 21 回投与後の血液中放射能濃度 (5.2 ng eq./ml) は初回投与後の 5.8 倍であった。

2. 組織内放射能濃度

ラットに ¹⁴C-T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回, 最高 21 日間反復経口投与した時の組織内放射能濃度を Table I に, 組織内放射能濃度と血漿中放射能濃度との比 (T/P) を Table II に示した。

Fig. 2 Blood concentration of radioactivity at 24 hr after daily oral administration of ¹⁴C-T-593 (10 mg/kg/day) to male rats

Each point represents the mean ± S.E. of three rats.

投与後 2 時間では 21 回投与後の組織内放射能濃度は 1 回投与後と同様に大腸 (2410.5 ng eq./g) および胃 (1627.9 ng eq./g) が高く, ついで肝臓 (719.3 ng eq./g), 小腸 (347.5 ng eq./g), 脾臓 (235.4 ng eq./g), 腎臓 (145.0 ng eq./g), 下垂体 (43.4 ng eq./g) の順となり, 脳 (1.1 ng eq./g), 小脳 (0.6 ng eq./g) および脊髄 (0.5 ng eq./g) が低かった。21 回投与後の血漿および血液中放射能濃度はそれぞれ 15.6 ng eq./ml および 18.7 ng eq./ml であり, 1 回投与後 2 時間の放射能濃度 (血漿: 12.8 ng eq./ml, 血液: 12.4 ng eq./ml) の 1.2 倍および 1.5 倍であった。21 回投与後の各組織内放射能濃度は血漿と同様の増加傾向を示し, T/P 値が 1 回投与後とはほぼ同じであった。21 回投与後の精巣 (30.5 ng eq./g) および甲状腺 (18.9 ng eq./g) はそれぞれ 1 回投与後の放射能濃度 (精巣: 4.9 ng eq./g, 甲状腺: 5.2 ng eq./g) の 6.2 倍および 3.6 倍に増加したが, T/P 値はそれぞれ 2.0 および 1.2 であった。

投与後 24 時間では 1, 7, 14 および 21 回投与後の組織内放射能濃度は大腸 (378.8~1251.7 ng eq./g) がもっとも高く, 胃 (15.2~100.9 ng eq./g), 小腸 (19.6~80.0 ng eq./g), 肝臓 (25.7~62.9 ng eq./g) が高かった。血漿中放射能濃度はそれぞれ 0.6 ng eq./ml, 0.9 ng eq./ml, 1.3 ng eq./ml および 1.4 ng eq./ml であり, 14 回投与後ではほぼ一定値を示し, 1 回投与後の 2.2~2.3 倍であった。血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度よりも高い増加傾向を示し, 21 回投与後では 5.5 ng eq./ml であった。また, 大部分の組織は血漿中放射能濃度と同様に 14 回投与後で一定値を示し, 7, 14 および 21 回投与後の T/P 値が 1 回投与後とはほぼ同じであった。しかし, 下垂体の放射能濃度は 1 回投与後では検出されなかったが, 7, 14 および 21 回投与後ではそれぞれ 14.6 ng eq./g, 25.9 ng eq./g および 21.3 ng eq./g であり, T/P 値は 16.7~20.1 であった。また, 下垂体の放射能濃度は 7 および 14 回投与後では消化管, 肝臓について

Table I Tissue distribution of radioactivity after daily oral administration of ^{14}C -T-593 (10 mg/kg/day) to male rats

Tissue	Concentration of radioactivity (ng eq. of T-593/g or ml)							
	2 hr		24 hr				96 hr	
	1 dose	21 doses	1 dose	7 doses	14 doses	21 doses	1 dose	21 doses
Plasma	12.8±2.5	15.6±0.8	0.6±0.3	0.9±0.1	1.3±0.1	1.4±0.3	N.D.	0.1±0.1
Blood	12.4±1.9	18.7±0.1	0.9±0.2	4.9±3.0	4.1±0.0	5.5±0.3	N.D.	4.4±0.3
Cerebrum	0.7±0.1	1.1±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1	0.5±0.1	0.3±0.2	N.D.	N.D.
Cerebellum	0.3±0.2	0.6±0.1	0.1±0.1	N.D.	0.4±0.2	0.1±0.1	N.D.	0.1±0.1
Hypophysis	23.8±3.7	43.4±8.5	N.D.	14.6±0.2	25.9±1.6	21.3±0.4	N.D.	15.4±2.2
Eye ball	3.8±0.5	4.2±0.3	0.6±0.1	1.1±0.1	1.6±0.1	1.3±0.1	N.D.	0.3±0.2
Thyroid gland	5.2±3.0	18.9±2.7	N.D.	2.5±1.3	6.8±0.5	7.1±1.2	N.D.	3.8±2.0
Submaxillary gland	12.5±1.6	12.5±1.0	0.8±0.4	0.8±0.0	1.6±0.1	1.5±0.2	N.D.	0.6±0.0
Sublingual gland	7.5±1.0	8.8±1.0	1.6±0.4	1.2±0.2	1.4±0.7	1.1±0.7	N.D.	N.D.
Thymus	15.6±1.4	15.6±1.0	0.6±0.1	0.9±0.1	1.3±0.0	1.5±0.1	N.D.	0.5±0.1
Lung	17.2±2.4	22.4±0.1	3.2±0.4	3.6±0.3	6.2±1.0	6.9±1.4	N.D.	2.0±0.7
Heart	8.5±0.5	10.5±0.2	1.3±0.3	2.1±0.6	2.4±0.3	2.9±0.3	N.D.	0.7±0.1
Liver	555.1±32.9	719.3±26.4	25.7±5.1	32.8±4.7	51.6±5.3	62.9±13.0	1.9±0.3	12.0±0.5
Adrenal	11.1±1.1	17.0±2.2	1.0±0.5	2.7±0.3	3.4±0.7	9.2±5.3	N.D.	N.D.
Kidney	123.6±14.3	145.0±17.2	6.4±2.5	7.9±0.7	18.1±1.9	18.4±2.6	0.3±0.2	6.4±0.3
Spleen	31.2±5.5	39.1±3.4	1.9±0.4	2.5±0.4	6.3±2.0	5.4±0.9	N.D.	2.0±0.2
Pancreas	256.6±15.2	235.4±32.0	10.3±3.8	7.3±2.2	13.9±1.8	16.7±4.7	N.D.	0.9±0.1
Spinal cord	N.D.	0.5±0.5	N.D.	N.D.	0.1±0.1	0.1±0.1	N.D.	N.D.
Skin	11.8±1.7	12.8±0.2	1.0±0.2	1.6±0.2	2.8±0.2	3.4±0.2	N.D.	1.7±0.0
Fat	2.5±0.4	3.1±0.3	N.D.	0.9±0.5	1.3±0.1	1.1±0.1	N.D.	0.4±0.4
Brown fat	9.6±0.2	11.0±0.6	2.2±0.4	2.4±0.4	3.9±0.2	3.0±0.3	3.2±2.5	1.2±0.2
Prostate gland	10.0±5.2	18.1±1.5	0.4±0.4	0.7±0.2	1.2±0.0	1.6±0.1	N.D.	0.2±0.1
Testis	4.9±0.1	30.5±3.0	2.6±0.1	11.1±0.3	21.3±1.8	28.1±6.3	1.9±0.1	20.3±0.6
Epididymis	8.4±1.5	7.0±0.6	1.1±0.4	1.6±0.1	1.9±0.2	1.9±0.2	N.D.	0.6±0.1
Muscle	5.8±0.9	7.0±0.5	1.3±0.3	1.6±0.1	2.7±0.2	2.7±0.7	N.D.	0.6±0.1
Bone	6.5±0.7	8.6±0.5	0.5±0.1	1.2±0.1	1.8±0.1	1.8±0.1	N.D.	1.0±0.1
Bone marrow	10.3±1.7	14.0±1.4	0.4±0.4	1.4±0.1	1.9±0.3	2.0±0.1	N.D.	0.5±0.5
Stomach	1048.3±896.9	1627.9±625.1	44.8±39.5	15.2±8.0	19.0±2.4	100.9±79.0	N.D.	1.3±0.1
Small intestine	517.1±434.6	347.5±132.4	60.7±50.2	19.6±12.2	80.0±17.9	68.3±42.0	N.D.	0.9±0.2
Large intestine	1167.1±559.6	2410.5±884.0	800.5±483.3	783.6±453.2	1251.7±245.8	378.8±181.6	N.D.	1.3±0.1

Each value represents the mean±S.E. of three rats.

N.D. : Not detected

高かった。さらに、精巣の放射能濃度は 1, 7, 14 および 21 回投与後でそれぞれ 2.6 ng eq./g, 11.1 ng eq./g, 21.3 ng eq./g および 28.1 ng eq./g と投与回数に伴って増加し、21 回投与後では 1 回投与後の 10.8 倍であった。また、21 回投与後の T/P 値は 23.2 と消化管 (42.6~331.7)、肝臓 (46.1) について高かった。

投与後 96 時間では 1 回投与後の組織内放射能濃度はほとんどの組織で検出限界未満であったが、21 回投与後では精巣 (20.3 ng eq./g)、下垂体 (15.4 ng eq./g)、肝臓 (12.0 ng eq./g)、腎臓 (6.4 ng eq./g)、血液 (4.4 ng eq./ml)、甲状腺 (3.8 ng eq./g) などの多くの組織で放射能が認められた。21 回投与後 96 時間の組織内放射能濃度を 21 回投与後 2 時間と比較した場合、ほとんどの組織の放射能濃度は 17% 以下に、下垂体、血

液および甲状腺ではそれぞれ 35.5%, 23.5% および 20.1% に低下したものの、精巣は 66.6% と緩慢な消失傾向を示した。

1, 7, 14 および 21 回投与後の血球移行率を **Table III** に示した。血球移行率は 1, 7, 14 および 21 回投与後 24 時間ではそれぞれ 56.4%, 78.4%, 80.5% および 85.2% であり、投与回数に伴って増加した。

3. 全身オートラジオグラフィ

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回、21 日間反復経口投与後 2, 24 および 96 時間における全身オートラジオグラムを **Fig. 3** に示した。21 回投与後 2 時間では消化管内容物にもっとも高い放射能が認められ、ついで膀胱内尿、肝臓、腎臓、脾臓の順であった。また、

Table II Tissue to plasma concentration ratio of radioactivity after daily oral administration ^{14}C -T-593(10 mg/kg/day) to male rats

Tissue	Tissue to plasma concentration ratio(T/P)					
	2 hr		24 hr			
	1 dose	21 doses	1 dose	7 doses	14 doses	21 doses
Plasma	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Blood	1.00±0.08	1.21±0.06	1.64±0.37	6.00±3.77	3.19±0.12	4.38±0.90
Cerebrum	0.06±0.02	0.07±0.00	0.36±0.22	0.35±0.19	0.35±0.08	0.21±0.10
Cerebellum	0.02±0.01	0.04±0.01	0.11±0.11	N.D.	0.30±0.15	0.11±0.11
Hypophysis	2.12±0.74	2.83±0.60	N.D.	17.41±2.05	20.14±2.14	16.71±2.87
Eye ball	0.31±0.03	0.27±0.03	1.33±0.55	1.33±0.21	1.24±0.12	1.02±0.24
Thyroid gland	0.42±0.21	1.23±0.21	N.D.	3.30±1.71	5.25±0.28	5.42±1.07
Submaxillary gland	1.01±0.08	0.81±0.09	1.22±0.27	0.92±0.12	1.26±0.04	1.13±0.09
Sublingual gland	0.61±0.05	0.58±0.09	3.03±0.70	1.49±0.35	1.07±0.54	1.01±0.56
Thymus	1.28±0.17	1.01±0.12	1.20±0.29	1.01±0.12	0.98±0.02	1.17±0.14
Lung	1.38±0.09	1.45±0.08	6.61±1.81	4.23±0.51	4.85±0.96	5.73±2.01
Heart	0.71±0.11	0.68±0.05	2.44±0.78	2.51±0.85	1.81±0.17	2.26±0.42
Liver	48.23±12.94	46.35±2.06	53.33±19.67	37.83±0.52	40.22±5.76	46.13±5.55
Adrenal	0.91±0.10	1.08±0.09	2.97±1.49	3.33±0.67	2.63±0.55	8.42±5.71
Kidney	10.05±1.01	9.25±0.63	10.92±1.71	9.22±0.60	13.85±0.86	14.16±2.67
Spleen	2.59±0.56	2.55±0.34	3.94±1.54	3.01±0.64	4.97±1.76	4.09±0.77
Pancreas	21.77±4.65	15.40±2.83	21.44±12.05	8.12±1.95	10.79±1.68	11.84±0.98
Spinal cord	N.D.	0.03±0.03	N.D.	N.D.	0.08±0.08	0.10±0.10
Skin	0.97±0.14	0.83±0.05	2.00±0.52	1.88±0.01	2.15±0.25	2.66±0.39
Fat	0.20±0.01	0.20±0.02	N.D.	1.04±0.62	0.98±0.10	0.84±0.13
Brown fat	0.82±0.17	0.71±0.07	5.03±2.21	2.77±0.07	3.04±0.23	2.25±0.26
Prostate gland	0.73±0.26	1.16±0.04	0.31±0.31	0.92±0.28	0.95±0.07	1.27±0.26
Testis	0.42±0.08	1.99±0.27	5.83±1.96	13.36±1.86	16.46±1.48	23.16±7.17
Epididymis	0.67±0.06	0.46±0.06	1.97±0.36	1.87±0.27	1.44±0.13	1.47±0.29
Muscle	0.47±0.04	0.46±0.06	2.39±0.46	1.87±0.28	2.12±0.25	1.93±0.13
Bone	0.53±0.05	0.55±0.02	1.05±0.24	1.47±0.20	1.40±0.05	1.44±0.26
Bone marrow	0.85±0.16	0.91±0.13	0.36±0.36	1.61±0.21	1.47±0.20	1.58±0.22
Stomach	79.06±66.50	101.10±34.63	45.61±29.32	18.11±10.28	14.55±1.47	59.65±38.97
Small intestine	39.05±32.19	21.63±7.18	67.19±35.85	19.71±10.35	62.99±16.77	42.55±18.78
Large intestine	81.64±39.40	154.73±56.40	1250.61±638.16	799.10±387.31	957.16±175.82	331.71±159.30

Each value represents the mean±S.E. of three rats.

N.D. : Not detected

Table III Distribution of radioactivity in blood cells after daily oral administration of ^{14}C -T-593(10 mg/kg/day) to male rats

Time (hr)	Dose number	Heamatocrit value(%)	Distribution ratio in blood cells(%)
2	1	34.3±0.3	33.3±5.2
	21	42.0±0.6	51.7±2.3
24	1	35.0±0.6	56.4±8.9
	7	37.7±0.3	78.4±9.8
	14	38.0±0.6	80.5±0.6
	21	41.7±0.3	85.2±3.6
96	1	39.0±0.6	N.D.
	21	41.3±0.3	N.D.

Each value represents the mean±S.E. of three rats

N.D. : Not detected

肺, 下垂体および精巣に放射能が僅かに認められた (**Fig. 3A**). 投与後 24 時間では, 盲腸から直腸の内容物に高い放射能が認められ, 下垂体, 肝臓および精巣に僅かな放射能が認められた. 投与後 2 時間のオートラジオグラムと比較した場合, 大部分の組織で放射能は減少したが, 下垂体および精巣では減少がほとんど認められなかった (**Fig. 3B**). 投与後 96 時間では腸管内容物および精巣にのみ痕跡程度の放射能が認められた (**Fig. 3C**).

4. 尿中代謝物

ラットの尿ならびに胆汁中代謝物として T-593M1 (M1), T-593M2 (M2), T-593M3 (M3) および T-593M5 (M5) が同定されている (未発表). また T-

2hr

Fig. 3 A : Whole-body autoradiograms showing the distribution of radioactivity at 2 hr after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -T-593 (10 mg/kg/day) to male rat
 1; Blood, 2; Brain, 3; Hypophysis, 4; Eye ball., 5; Esophagus, 6; Lung, 7; Liver, 8; Kidney, 9; Spleen, 10; Pancreas, 11; Testis, 12; Urinary bladder, 13; Stomach, 14; Intestinal contents

24hr

B : Whole-body autoradiograms showing the distribution of radioactivity at 24 hr after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -T-593 (10 mg/kg/day) to male rat
 1; Blood, 2; Brain, 3; Hypophysis, 4; Eye ball., 5; Esophagus, 6; Lung, 7; Liver, 8; Kidney, 9; Spleen, 10; Pancreas, 11; Testis, 12; Urinary bladder, 13; Stomach, 14; Intestinal contents

96hr

11

14

11

C : Whole-body autoradiograms showing the distribution of radioactivity at 96 hr after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -T-593 (10 mg/kg/day) to male rat
 1; Blood, 2; Brain, 3; Hypophysis, 4; Eye ball., 5; Esophagus, 6; Lung, 7; Liver, 8; Kidney, 9; Spleen, 10; Pancreas, 11; Testis, 12; Urinary bladder, 13; Stomach, 14; Intestinal contents

Fig. 4 Proposed main metabolic pathway of T-593 in rats

Fig. 5 Typical HPLC radiochromatograms of metabolites in urine after daily oral administration of ^{14}C -T-593 (10 mg/kg/day) to male rats

593M4 (M4) は M2 に至る中間体としてその存在を推察し、代謝経路を Fig. 4 に示した。ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 21 日間反復経口投与した時の初回および 21 回投与後の尿中代謝物を Radio-HPLC で分析したクロマトグラムを Fig. 5 に示した。初回投与後 24 時間までの尿では未変化体が 77.6% ともっとも多く、M3 と M5 は合わせて 13.3%, M1 および M2 はほとんど検出されなかった。一方、21 回投与後 24 時間までの尿では初回投与後と同様に未変化体が 68.9% ともっとも多く、M3 と M5 は合わせて 17.7%, M1 および M2 はほとんど検出されず、代謝物の組成比は初回投与後とほぼ同様であった。

5. 尿および糞中排泄

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回、21 日間反復経口投与した時の尿および糞中への累積排泄率を

Table IV Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces during and after daily oral administration of ^{14}C -T-593 (10 mg/kg/day) to male rats

Dose number	Excretion of radioactivity (% of cumulative dose)		
	Urine	Feces	Total
1	1.23±0.21	88.40±2.19	89.63±2.11
2	1.18±0.18	94.73±1.05	95.90±1.12
3	1.16±0.12	95.24±0.47	96.40±0.53
4	1.15±0.11	96.07±0.66	97.22±0.69
5	1.14±0.09	96.01±0.70	97.15±0.72
6	1.13±0.08	95.62±0.82	96.75±0.83
7	1.13±0.07	95.68±0.92	96.81±0.92
8	1.13±0.08	95.28±0.72	96.41±0.71
9	1.14±0.08	95.33±0.44	96.47±0.40
10	1.14±0.07	95.51±0.30	96.65±0.32
11	1.13±0.07	95.24±0.23	96.36±0.19
12	1.12±0.07	95.25±0.45	96.37±0.43
13	1.14±0.07	95.53±0.29	96.67±0.30
14	1.13±0.07	95.45±0.25	96.57±0.23
15	1.12±0.07	95.47±0.34	96.59±0.29
16	1.11±0.07	95.74±0.49	96.85±0.43
17	1.11±0.07	96.06±0.36	97.17±0.31
18	1.10±0.06	96.11±0.33	97.21±0.28
19	1.09±0.06	95.82±0.41	96.91±0.36
20	1.09±0.06	96.05±0.37	97.13±0.32
21 24 hr*	1.08±0.06	95.91±0.36	96.99±0.31
48 hr*	1.08±0.06	96.32±0.29	97.40±0.26
72 hr*	1.09±0.06	96.35±0.29	97.44±0.25
96 hr*	1.09±0.06	96.35±0.29	97.44±0.25

Residual radioactivity in carcass at 96 hr after the final dose : 0.01±0.00% of cumulative dose.

* : Hour after the final dose

All samples were collected for a 24 hr period after daily dose and every 24 hr after the final dose.

Each value represents the mean±S.E. of four rats.

Table IV に示した。各回投与後 24 時間までの累積投与量に対する尿および糞中排泄率は 1 回投与後では尿中に 1.23%, 糞中に 88.40% であった。2 回投与以降では尿中排泄率は 1.08~1.18%, 糞中排泄率は 94.73~96.11% と一定値を示し、21 回投与後 96 時間までの尿中に累積投与量の 1.09%, 糞中に 96.35% が排泄された。また、21 回投与後 96 時間での体内放射能残存率は累積投与量の 0.01% であった。

6. 肝薬物代謝酵素活性

ラットに T-593 (10, 30, 100 mg/kg), シメチジン (200 mg/kg), フェノバルビタール (80 mg/kg) および陰性対照として蒸留水を 1 日 1 回、7 日間反復経口投与し、最終投与後 24 時間の体重、肝重量、肝ミクロソーム蛋白含量、Cytochrome 含量および肝薬物代謝酵素活性を **Table V** に示した。

T-593 投与においては 30 mg/kg 投与群の Aniline P-hydroxylase 活性に有意な増加が認められた以外、体重、肝重量、ミクロソーム蛋白含量、Cytochrome P450 含量、Cytochrome b5 含量、Aminopyrine N-demethylase 活性、P-Nitroanisole O-demethylase 活性および UDP-glucuronyltransferase 活性に有意差は認められなかった。

シメチジン投与ではミクロソーム蛋白含量、Cytochrome P450 含量、Cytochrome b5 含量、Aniline P-hydroxylase 活性および UDP-glucuronyltransferase 活性に有意な増加が認められた。また、フェノバルビタール投与では、体重を除くすべての項目に有意な増加が認められた。

考 察

ラットに ^{14}C -T-593 10 mg/kg を 1 日 1 回、最高 21 日間反復経口投与した時の血液中濃度、分布、代謝および排泄について検討した。また T-593 10, 30 および 100 mg/kg を 1 日 1 回、7 日間反復経口投与した時の肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響についても検討した。

21 回投与後 2 時間の血漿中放射能濃度は 1 回投与後 2 時間値の 1.2 倍とほとんど変わらず、また多くの組織内放射能濃度が 1 回投与後の 0.7~1.3 倍であったことから、反復投与による吸収および組織移行性への影響はないものと考えられた。一方、投与後 24 時間の血漿中放射能濃度は 14 回投与後で定常状態に達し、1 回投与後の 2.2 倍であった。また、各回投与後 24 時間の血液中放射能濃度は投与回数に伴って増加し、21 回投与後の血液中放射能濃度は初回投与後の 5.8 倍であり、血球移行率も 56.4% から 85.2% と増加した。このように血球に蓄積傾向が認められたが、この蓄積性が未変化体によるものか、代謝物によるものかは明らかとなつて

Table V Effects of T-593 on hepatic drug metabolizing enzyme system at 24 hr after repeated oral administration for 7 days to male rats

Parameter	Control(Water) 5 ml/kg	T-593 10 mg/kg	T-593 30 mg/kg	T-593 100 mg/kg	Cimetidine 200 mg/kg	Phenobarbital 80 mg/kg
Body weight (g)	220±6	213±4	218±4	221±4	215±6	213±5
Liver weight (g)	7.71±0.35	7.40±0.24	7.35±0.15	7.74±0.20	7.88±0.42	10.75±0.40***
Liver weight/body weight (%)	3.50±0.07	3.47±0.07	3.38±0.03	3.51±0.06	3.65±0.10	5.07±0.22***
Microsomal protein contents (mg/g liver)	10.8±0.5	11.4±0.6	12.2±0.4	11.4±0.8	14.0±0.4***	22.4±1.5***
(mg/liver)	82.4±4.3	84.3±4.0	88.9±2.6	88.8±7.2	110±7**	243±21***
Cytochrome P450 contents (nmol/g liver)	8.37±0.47	8.66±0.54	9.04±0.78	7.64±0.75	14.3±1.3**	56.2±5.9***
Cytochrome b5 contents (nmol/g liver)	3.47±0.16	3.73±0.26	3.74±0.27	3.38±0.35	4.96±0.38**	12.0±0.9***
Aniline P-hydroxylase (nmol/min/g liver)	13.2±0.6	13.4±0.9	15.8±0.8*	13.1±1.2	16.5±0.9**	32.9±1.4***
Aminopyrine N-demethylase (nmol/min/g liver)	39.5±2.2	40.3±2.5	39.4±2.7	34.5±3.9	35.4±2.5	184±12***
P-Nitroanisole O-demethylase (nmol/min/g liver)	46.5±2.2	43.2±2.6	49.9±0.8	42.5±2.8	45.4±2.8	169±13***
P-Nitrophenol UDP-glucronyltransferase (nmol/min/g liver)	433±13	415±41	464±46	386±28	588±43*	1960±141***

Each value represents the mean±S.E. of six rats.

Significant difference from control, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ (Student's t or Aspin Welch test).

いない。また血球中に移行した放射能の消失について、血球中放射能濃度 (Cbc) を血液中放射能濃度 (Cb)、血漿中放射能濃度 (Cp) および Ht 値から $Cbc = (Cb \times 100 - Cp \times (100 - Ht)) / Ht$ の式で算出した。その結果、21 回投与後 24 および 96 時間の血球中放射能濃度はそれぞれ 11.2 ng eq./ml および 10.5 ng eq./ml となり、血球からの消失は著しく遅いものと思われた。また、投与後 24 時間の大部分の組織内放射能濃度は血漿と同様に 14 回投与後で定常状態に達し、1 回投与後の 2~4 倍であったことから蓄積性は小さいものと考えられた。しかし、下垂体の放射能濃度は 1 回投与後で検出されなかったものの、7 および 14 回投与後では消化管、肝臓について高かった。また、精巣の放射能濃度は投与回数に伴って増加し、21 回投与後では 1 回投与後の 10.8 倍であり、消化管、肝臓について高かった。このように下垂体および精巣に蓄積傾向が認められ、21 回投与後の下垂体および精巣の放射能濃度は投与後 96 時間では投与後 24 時間値のそれぞれ 72.3% および 72.2% に相当し、投与後 24 時間以降の消失半減期 ($T_{1/2}$) は 153~154 時間であった。また、21 回投与後の全身オートラジオグラムにおいても下垂体および精巣の放射能はやや緩慢な消失傾向を示した。このように ^{14}C -T-593 で認められた下垂体および精巣への分布およびその消失について類薬と比較するため、報告されている類薬の組織内放射能濃度の結果¹⁴⁻¹⁶⁾をもとに 21 回投与後 24 時間での T/P 値、21 回投与後 24 時間値に対する割合または 21 回投与後 24 時間以降の $T_{1/2}$ を算出

した。その結果、 ^{14}C -ラニチジンを雄性ラットに 21 回反復経口投与した場合、21 回投与後 24 時間の下垂体の放射能濃度は血漿中放射能濃度の 13 倍に増加した。また、 ^{14}C -TZU-0460 (ロキサチジンアセタート) を雄性ラットに 21 回反復経口投与した場合、21 回投与後 96 時間の下垂体および精巣の放射能濃度はそれぞれ 21 回投与後 24 時間値の 51% ($T_{1/2}$ 74 時間) および 60% ($T_{1/2}$ 99 時間) であった。さらに、 ^{14}C -ニザチジンを雄性ラットに 21 回反復経口投与した場合、21 回投与後 72 時間での精巣の放射能濃度は 21 回投与後 24 時間値の 51% ($T_{1/2}$ 49 時間) であり、72 時間以降 480 時間までの $T_{1/2}$ は 249 時間であった。このようにラニチジン、ロキサチジンアセタート、ニザチジンなどにおいても反復経口投与により下垂体および精巣の放射能濃度の増加および消失の遅延がみられ、 ^{14}C -T-593 で認められた下垂体および精巣での分布はヒスタミン H_2 受容体拮抗剤に共通した傾向であるものと考えられた。なお、T-593 のラットおよびイスを用いた 12 ヶ月間反復経口投与毒性試験^{17,18)}において、いずれも下垂体および精巣の肉眼所見、臓器重量、病理組織学的検査などに異常は認められていないことから、下垂体および精巣での分布は毒性学的には問題がないものと考えられた。

排泄については ^{14}C -T-593 を単回経口投与した場合、投与量の 90% 以上は吸収されずに糞に排泄された⁵⁾。反復経口投与した場合、尿および糞中排泄は 2 回投与以降ではほぼ定常状態に達し、21 回投与後 96 時間までの尿中に累積投与量の 1.09%、糞中に 96.35% が排泄され

た。反復投与期間中の尿および糞中排泄率に差はほとんどなく、反復投与による排泄への影響はないものと考えられた。また、血球、下垂体および精巣がやや緩慢な消失傾向を示したものの、体内放射能残存率が0.01%であったことから、体全体として残存する放射能は僅かと考えられた。

代謝については初回投与後24時間および21回反復投与後24時間までの尿中代謝物を比較した場合、代謝物組成比に差はほとんど認められず、反復投与による代謝への影響はないものと考えられた。

T-593の肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響については、30 mg/kg投与群のAniline P-hydroxylase活性が対照群に比べやや増加したものの、10および100 mg/kg投与群の酵素活性は変わらず、また他の酵素活性などにも差がなかったことから、T-593は肝薬物代謝酵素系に影響を及ぼさないものと考えられた。

以上の検討から、ラットに反復経口投与した時のT-593は単回投与時に比べ血球、下垂体および精巣から緩慢に消失するが、その他の体内動態については単回投与時と同様な動態を示し、肝薬物代謝酵素系にも影響を及ぼさないことが示唆された。

要 約

ラットに ^{14}C -T-593を反復経口投与した時の血液中濃度、分布、代謝、排泄およびT-593の肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響について検討した。

1. ^{14}C -T-593 10 mg/kgを1日1回、21日間反復経口投与した時、投与後24時間の血液中放射能濃度は投与回数に伴って増加し、21回投与後では初回投与後の5.8倍であった。

2. ^{14}C -T-593 10 mg/kgを1日1回、21日間反復経口投与した時、投与後24時間の血漿中濃度および大部分の組織内濃度は14回投与後で定常状態に達した。21回投与後では血球、下垂体および精巣は1回投与後に比べ緩慢な消失傾向を示した。

3. ^{14}C -T-593 10 mg/kgを21回反復経口投与後24時間までの尿中には未変化体が多量に存在し、代謝物組成は初回投与後とほぼ同様であった。

4. ^{14}C -T-593 10 mg/kgを1日1回、21日間反復経口投与した時、尿および糞中排泄率は投与2回以降ではほぼ定常状態に達し、21回投与後96時間までにそれぞれ1.09%および96.35%が排泄された。

5. T-593 10, 30 および 100 mg/kgを1日1回、7日間反復経口投与した時、肝薬物代謝酵素系に及ぼす影響は認められなかった。

文 献

- 1) Arai, H., Nakagawa, M., Tanada, K., Yamaguchi, H. and Hirai, S.: Histamine H_2 -receptor antagonism of T-593: Studies on positive chronotropic responses in guinea pig atria. *Jpn. J. Pharmacol.*, **64**: 251-256 (1994).
- 2) Mori, Y., Nakagawa, M., Arai, H., Hashiba, K., Tanada, K., Muroda, H., Inatani, N. and Hirai, S.: Effects of T-593, a novel H_2 -blocker, on gastric acid secretion and acute gastro-duodenal ulcers in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **61**(Suppl I): 105P (1993).
- 3) 荒井博敏, 中川昌也, 丸淵茂樹, 能登政彦, 浦田紀子, 森由起夫: 胃粘膜血流低下に対するT-593の効果とNOの関与について. 実験薬理, **22**(2): 274-277 (1995).
- 4) 酒井辰彦, 石原和彦, 市川尊文, 西元寺克禮, 堀田恭子: ラット塩酸アスピリン潰瘍における胃粘液糖蛋白質変動に対するT-593前投与の効果. 薬理と治療, **22**(12): 4967-4973 (1994).
- 5) 小野田誠, 門田卓美, 大山進祐, 松谷博子, 松岡賀英子, 酒井広志, 今泉弘之, 中島良文: 新規抗潰瘍剤T-593の体内動態(第1報): ラットにおける吸収, 分布, 代謝および排泄. **13**(5): 429-448 (1998).
- 6) 小野田誠, 門田卓美, 大山進祐, 松谷博子, 酒井広志, 今泉弘之, 中島良文: 新規抗潰瘍剤T-593の体内動態(第2報): ラットにおける胎児および乳汁移行性. 薬物動態, **13**(5): 449-458 (1998).
- 7) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275 (1951).
- 8) Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, **239**: 2370-2378 (1964).
- 9) Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification, and properties. *J. Biol. Chem.*, **239**: 2379-2385 (1964).
- 10) Imai, Y., Ito, A. and Sato, R.: Evidence for biochemically different types of vesicles in the hepatic microsomal fraction. *J. Biochem.*, **60**: 417-428 (1966).
- 11) Cochlin, J. and Axelrod, J.: Biochemical and pharmacological changes in the rat following chronic administration of morphine, nalorphine and normorphine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **125**: 105-110 (1959).
- 12) McMahon, R.E., Culp, H.W., Mills, J. and Marshall, F.J.: Demethylation studies. IV. The *in vitro* and *in vivo* cleavage of alkyl- and arylalkyl-p-nitrophenyl ethers. *J. Med. Chem.*, **6**: 343-346 (1963).
- 13) Yuasa, A.: Purification and properties of uridine diphosphate glucuronyltransferase from rabbit liver microsomes. *J. Coll. Dairying*, **7**(1): 103-156 (1977).
- 14) 北川晴雄, 大槻俊治, 神 義容, 松永京子, 石井典子, 横島徹熹, 沖山雅彦, 萬宝国久, 肥後喬一: Ranitidineの生体内動態(第2報) ラットにおける胎盤通過性乳汁移行性および反復投与実験. 応用薬理, **25**(4): 623-632 (1983).
- 15) 岩村 敏, 坪 玲子, 本間誠次郎, 塚本國雄: H_2 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. 応用薬理, **30**(2): 321-328 (1985).
- 16) 佐野 廣, 佐藤博志, 外山誠司, 田頭栄治郎, 江角凱夫, 片見好春, 東条英晃, 谷津幸子, 横島徹熹: Nizatidineの

- 生体内動態 (第 2 報) ラットにおける胎仔, 乳汁移行性および反復投与実験. 薬物動態, 4(1): 43-54 (1989).
- 17) 永井章夫, 宮崎美代乃, 三善隆広, 長沢峰子, 野沢 公, 河村泰仁, 児玉卓也: 新規抗潰瘍剤 Osutidine (T-593) のラット 12 ヶ月間反復経口投与毒性試験. 応用薬理, 55(4): 149-168 (1998).
- 18) 河村泰仁, 鬼頭暢子, 塩谷紀雄, 小崎 司, 三善隆広, 長沢峰子, 児玉卓也: 新規抗潰瘍剤 Osutidine (T-593) のビーグル犬 12 ヶ月間反復経口投与毒性試験. 応用薬理, 55(4): 169-211 (1998).