新規モルホリン誘導体 Y-8894 のマウス, ラット,
モルモットおよびウサギにおける
吸収, 分布, 代謝, 排泄

有馬 徳行, 西峯 秀夫, 三浦 誠二

岡部 次夫, 廣津 京一, 加藤 安之

吉富製薬株式会社, 中央研究所 〒871 福岡県築上郡吉富町小祝955

Key words : Y-8894, Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Mice, Rats
Guinea Pigs, Rabbits

**Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion of
A New Morpholine Derivative Y-8894 in Mice,
Rats, Guinea Pigs and Rabbits**

Noriyuki ARIMA, Hideo NISHIMINE, Seiji MIURA, Tsugio OKABE,

Kyoichi HIROTSU, and Yasuyuki KATO

Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd.,

955, Yoshitomi-cho, Chikujo-gun, Fukuoka-ken 871, Japan

Summary

Absorption, distribution, metabolism and excretion of a new morpholine derivative Y-8894 were investigated in mice, rats, guinea pigs and rabbits by administration of ^{14}C labeled compound (^{14}C -Y-8894) at a dose of 30 mg/kg.

Urinary and fecal recoveries of radioactivity (^{14}C) within 4 days following oral administration were 52.2% and 46.8% in mice, 24.3% and 72.5% in rats, 73.4% and 22.5% in guinea pigs, and 64.8% and 26.0% in rabbits, respectively. About 93% of the given ^{14}C was recovered in the rat bile within 24 hours after oral administration.

Maximum blood levels of ^{14}C were obtained within 1 hour after oral administration in all species examined, with all initial biological half-lives ($T_{1/2}$) in the range of 1.0~1.8 hours. Terminal $T_{1/2}$ s were 21.2~25.8 hours for all species except the guinea pigs. The blood levels in guinea pigs were not detectable 24 hours after oral administration.

The highest levels of ^{14}C were observed in the liver, kidney and lung of mice, and in the liver of rats 0.5 hours after oral administration, and relatively high levels in the lung and kidney of rats, in the adrenal, pancreas, salivary gland and spleen of both mice and rats. Brain levels in both mice and rats were twice of that in the blood. Twenty-four hours after administration significant amount of ^{14}C were detected only in the liver and kidney.

Protein bindings of ^{14}C in the serum were in the range of 63~83% for all species.

Major metabolites of Y-8894 in urine of mice were similar to those in urine and bile of rats, but somewhat different from those in urine of guinea pigs and rabbits.

緒 言

新規モルホリン誘導体 Y-8894 は室ら¹⁾によって合成された下記構造を有する化合物であり、実験動物において、抗 anoxia 作用²⁾、実験的学習改善作用および脳賦活作用³⁾を有し、機序的には norepinephrine 作動神経増強作用を有することから、臨床的に脳機能改善薬として開発中である。

Y-8894; (±)-2-[[o-2-(thenyl)phenoxy]methyl]morpholine maleate

今回、本化合物の生体内動態の動物種差を明らかにする目的で、¹⁴C 標識化合物 (¹⁴C-Y-8894) を用いてマウス、ラット、モルモットおよびウサギにおける吸収、分布、代謝、排泄について検討したので報告する。

実験の部

1. 実験材料

1.1 ¹⁴C-Y-8894 の合成

下記の経路で合成した。

(II) の合成

¹⁴C-炭酸バリウム 60 mg (16 mCi, Amersham) に炭酸バリウム 927 mg を加え全量を 987 mg (5 mmol) とし、これに水 2 ml を加え70%過塩

素酸 4 ml を滴下して発生した ¹⁴C-炭酸ガスを (I) 1.4 g (7.5 mmol) と金属マグネシウム182.3 mg (7.5 mmol) とで調製したグリニャール試薬のエーテル溶液中に導入した。-60℃で1.5時間攪拌後10%塩酸を加え分離した油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水洗後、飽和炭酸水素ナトリウム水で逆抽出した。水層を濃塩酸で酸性とし、分離した油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水洗、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で溶媒を留去して結晶 (II) を670 mg (88.2%) 得た。

(III) の合成

(II) 670 mg に o-アニス酸 670 mg を加え全量を 1.34 g (8.7 mmol) としたのち、チオニルクロライド 3 ml を加え80℃で1時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、残留物をベンゼン 6 ml に溶解して、チオフエン 804 mg (9.57 mmol) を加え、攪拌しながら0~5℃で塩化第二スズ 2.49g (9.57 mmol) を滴下した。室温で2時間攪拌後、水 5 ml および10%塩酸 5 ml を加え酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を10%塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水で順次洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で溶媒を留去して油状物 (III) を 1.74 g (90.9%) 得た。

(IV) の合成

(III) 1.74 g (7.91 mmol) にピリジン塩酸塩 3 g (26 mmol) を加え200℃で2時間攪拌後、水を加え分離した油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水洗、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で溶媒を留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒; ベンゼン) で精製して油状物 (IV) を 1.34 g (82.3%)

得た。

(V) の合成

(IV) 1.34 g (6.5 mmol) をテトラヒドロフラン 6 ml に溶解し、トリエチルアミン 788.4 mg (7.8 mmol) を加え、攪拌しながら 0~5℃でクロロ炭酸エチル 846.3 mg (7.8 mmol) を滴下した。さらに 0~5℃で30分攪拌後、析出した結晶を濾去し、結晶をテトラヒドロフラン 6 ml で洗浄した。濾液を洗液と合し、水素化ホウ素ナトリウム 982.8 mg (26 mmol) と水 8 ml の溶液中に 10℃以下で滴下した。室温で 1.5 時間攪拌後、氷冷下、濃塩酸を滴下し分離した油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水洗し減圧下で溶媒を留去したのち、残留物を 10% 水酸化ナトリウム水に溶解してヘキサンで洗浄した。水層を濃塩酸で酸性とし分離した油状物をクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を水洗、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で溶媒を留去して油状物 (V) を 1.18 g (94.6%) 得た。

(VI) の合成

(V) 1.18 g (6.2 mmol) にエピクロロヒドリン 1.43 g (15.5 mmol) を加えて攪拌しながら、100℃で水酸化ナトリウム 620 mg (15.5 mmol) と水 1.86 ml の溶液を滴下した。さらに 100℃で 4 時間攪拌後、水を加えて分離した油状物をクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を水洗、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で溶媒を留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒; ペンゼン) で精製して油状物 (VI) を 1.14 g (74.1%) 得た。

¹⁴C-Y-8894 の合成

水酸化ナトリウム 1.22 g (30.5 mmol) を水 1.2 ml に溶解しエタノールアミン硫酸エステル 3.92 g (27.8 mmol) を加え 40℃で 15 分攪拌後、(VI) 1.14 g (4.6 mmol) とエタノール 2.5 ml の溶液を加えてさらに 40℃で 2 時間攪拌した。この溶液に水酸化ナトリウム 2.45 g (61.2 mmol) と水 2.4 ml の溶液を加えて 100℃で 6 時間攪拌後、水を加えて分離した油状物を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水洗、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下溶媒を留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [展開溶媒; クロロホルム: メタノール (100:1, v/v)] で精

製して得られた油状物 848 mg をエタノール 3 ml に溶解し、この溶液にマレイン酸 340.4 mg (2.93 mmol) を加えて加熱溶解した。冷後、析出した結晶を濾取し、エタノールから再結晶して ¹⁴C-Y-8894 を 668 mg (35.6%) 得た。比放射能 3.7 μ Ci/mg, mp 155~156℃。

得られた ¹⁴C-Y-8894 は、Y-8894 の標準品との混融試験において融点降下を示さず、薄層クロマトグラフィー [展開溶媒; クロロホルム: メタノール (10:1, v/v)] における *R_f* 値は標準品と完全に一致した。逆同位体希釈分析法による放射化学的純度は 104.8% であった。なお、¹⁴C-Y-8894 は適宜非標識 Y-8894 で希釈して実験に供した。

1.2 Amberlite XAD-2 樹脂

市販品をメタノールに懸濁してガラスカラムに充填後 30 倍容量の精製水で洗浄してクロマトカラムを調製した。

1.3 β -Glucuronidase

市販品 (Bacterial Type II, Sigma, 48,000u/g) を使用した。

2. 実験動物および検体投与法

体重約 25 g の ddY 雄マウス、体重約 200 g の Wistar 雄ラット、体重約 380 g の Hartley 雄モルモットおよび体重約 2.4 kg の日本白色種雄ウサギ (いずれも九州実験動物センター供給) を使用した。検体 (¹⁴C-Y-8894) は 0.5% メチルセルロース溶液に懸濁し、30 mg/kg の割合で経口または腹腔内投与した。なお、尿、糞中排泄率の検討以外の実験では、いずれも被験物質を投与前約 18 時間絶食させた。

3. 放射能 (¹⁴C) の測定

試料中 ¹⁴C は、試料をトルエンシンチレーター⁴⁾または ACS-II[®] シンチレーター (Amersham) に溶解し、液体シンチレーション計数装置 (Packard, Tri-carb 460 C) で測定した。試料中のクエンチングは ²²⁶Ra を用いた外部標準線源法 (QIP 法) により補正した。

4. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

シリカゲル プレートは市販品 (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck, 厚さ 0.25 mm) を使用、展開溶媒として (1) 酢酸エチル: エタノール: 28% アンモニア水 (2:3:1, v/v) および (2) クロロホルム: メタノール: 28% アンモニア水 (30:3:0.2,

v/v) を用いた。

TLC プレート上の放射性物質は Radiochromatogram scanner System (Packard, Model 7201) またはオートラジオグラフィー (ARG; 工業用 X 線フィルム, 富士 No. 150) により検出した。

5. 尿, 糞中排泄率の測定

検体を経口または腹腔内投与した各被験動物を個別の専用ケージ内で水と餌を自由に摂取させて飼育し, 24時間毎に4日間, 尿と糞を分別採取した。尿中 ^{14}C は尿 0.05~0.2 ml を ACS-II[®] シンチレーター 5 ml に直接溶解して測定した。糞については, 糞を恒量になるまで減圧乾燥し, 粉末としてその 10~20 mg を精秤した。これに精製水および 30% H_2O_2 を 1~2 滴加えて加温脱色 (40~50°C, 約 10 分間) したのち Soluene[®]-350 0.5~1 ml に溶解 (40~50°C, 約 3 時間) して, トルエンシンチレーター 5 ml を加えて ^{14}C を測定した。

6. 胆汁中排泄率の測定

ラットをエーテル麻酔下に開腹し, 総胆管にポリエチレンカニューレを挿入して胆管瘻ラットを作製した。術後, 1 時間に検体を経口投与し, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24, 48 時間目に胆汁を採取した。胆汁中 ^{14}C は胆汁を精製水で一定量に希釈し, その 0.05 ml を ACS-II[®] シンチレーター 5 ml に溶解して測定した。

7. 血液中 ^{14}C 濃度の測定

経口投与後, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 27, 30, 48 時間目のマウス, ラットの尾静脈, 投与後 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 24, 30, 48 時間目のウサギの耳介静脈およびモルモットの眼底静脈から採取した血液 0.05 ml を 30% H_2O_2 1 滴を加え脱色後 Soluene[®]-350 0.5 ml に溶解し, トルエンシンチレーター 5 ml を加えて測定した。

8. 組織中 ^{14}C 濃度の測定

経口投与後, 0.5, 6, 24 時間にマウスおよびラットをエーテル麻酔下に開腹し, 下行大静脈より採血後放血死させ, 各組織を摘出した。各組織中 ^{14}C は, 組織 3~130 mg を精秤し, 必要に応じて 30% H_2O_2 1 滴を加え脱色後 Soluene[®]-350 0.5~1.0 ml に加温溶解, トルエンシンチレーター 5 ml を加えて測定した。

9. 血清たん白結合率の測定

経口投与 0.5 および 6 時間後の各被験動物の血清を試料とした。各血清を 1/15 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) で 4 倍に希釈したのち, その 0.7~1 ml をそれぞれ Visking tube (三光純薬, 直径 0.6 cm) 内に入れた。外液には 1/15 M リン酸塩緩衝液 2.1~3.0 ml を使用し, 4°C の冷蔵庫中で 3 日間放置して平衡としたのち, 内液および外液中 ^{14}C を測定して血清たん白結合率を算出した。

10. 尿, 胆汁および血清中代謝物の検索

経口投与後 24 時間以内のマウス, ラット, モルモット, ウサギの尿, ならびに 0.5 および 6 時間後のラット, モルモットおよびウサギの血清および 24 時間以内のラットの胆汁 (いずれも pH 6 に調整) を試料とした。各試料を 2 倍容量の Amberlite XAD-2 樹脂を充填したカラムに通し, カラムを水洗後樹脂に吸着した ^{14}C を 28% アンモニア水含有メタノール [28% アンモニア水: メタノール (1:9, v/v)] で溶出した。28% アンモニア水含有メタノール溶出液中の ^{14}C を測定して回収率を算出後, 溶媒を減圧濃縮し, 残留物について TLC [展開溶媒 (1), (2)] および ARG により代謝物を検索した。

各代謝物の構造は, 先に同定したウサギ尿中およびラット胆汁中代謝物⁵⁾と TLC で比較することにより推定した。また, おのおのの未変化体および代謝物の尿, 血清または胆汁中での存在割合は, TLC プレート上の対応する部分のシリカゲルをバイアル中に削り取り, メタノール 0.5 ml と ACS-II[®] シンチレーター 5 ml を加えて, 試料中 ^{14}C を測定することにより算出した。

結 果

1. 尿, 糞中排泄率 (Table I)

経口投与後 4 日以内のマウス, ラット, モルモットおよびウサギの尿中に, 投与した ^{14}C の 52.2%, 24.3%, 73.4% および 64.8% が, 糞中には 46.8%, 72.5%, 22.5% および 26.0% がそれぞれ排泄された。一方, 腹腔内投与したときの同期間内の尿と糞中への排泄比は, それぞれ対応する動物種に経口投与した場合とほぼ等しかった。

2. 胆汁中排泄率 (Fig. 1)

経口投与後 24 時間以内のラットの胆汁中には投

Table I. Recovery (% of dose) of ^{14}C in urine and feces of mice, rats, guinea pigs and rabbits after administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

			% of dose				
			1 day	2 day	3 day	4 day	total
Mice (n=4)	p.o.	urine	51.2± 2.1	0.8±0.3	0.1±0.1	0.1±0.1	52.2± 2.3
		feces	43.3± 2.8	3.1±2.2	0.3±0.1	0.1±0.1	46.8± 1.6
	i.p.	urine	47.6± 4.9	1.2±0.5	0.2±0.1	0.1±0.1	49.1± 5.2
		feces	43.0± 5.4	4.7±3.8	0.2±0.1	0.1±0.0	48.0± 4.1
Rats (n=4)	p.o.	urine	22.2± 1.2	1.8±0.7	0.2±0.1	0.1±0.0	24.3± 0.8
		feces	63.2± 8.1	8.3±8.1	0.7±0.1	0.3±0.1	72.5± 2.1
	i.p.	urine	20.4± 3.2	0.8±0.2	0.2±0.1	0.1±0.0	21.5± 3.3
		feces	63.2± 8.9	7.2±3.5	4.9±7.0	0.4±0.2	75.7± 3.1
Guinea pigs (n=4)	p.o.	urine	68.3± 4.5	4.1±0.4	0.7±0.4	0.3±0.1	73.4± 4.5
		feces	8.9± 3.1	7.7±5.1	4.5±3.9	1.4±1.3	22.5± 2.7
	i.p.	urine	66.7± 8.2	2.8±1.1	0.4±0.1	0.2±0.2	70.1± 8.4
		feces	13.2± 4.7	8.1±1.0	2.2±0.6	0.8±0.7	24.3± 4.4
Rabbits (n=3)	p.o.	urine	61.0±14.2	2.8±2.9	0.4±0.4	0.6±0.7	64.8±11.8
		feces	15.1± 6.2	8.5±1.4	1.5±1.3	0.9±0.5	26.0± 5.5
			mean±SD

Fig. 1. Cumulative excretion of ^{14}C in rat bile after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

Each point represents the mean value obtained from 3 rats.

Vertical lines represent the standard deviation.

与した ^{14}C の約93%が、48時間以内には約98%が排泄された。

3. 血液中 ^{14}C 濃度 (Fig. 2, 3, Table II)

経口投与後の各被験動物の血液中 ^{14}C 濃度を Fig. 2 に、また、これらのファルマコキネティック・パラメーターを Table II に示した。

いずれの動物種においても、投与後1時間以内には最高血液中 ^{14}C 濃度 ($C_{\max}$) に達し、マウス、ラット、モルモットおよびウサギの $C_{\max}$ (いずれも未変化体換算濃度) はそれぞれ $5.91 \mu\text{g/ml}$, $3.52 \mu\text{g/ml}$, $3.88 \mu\text{g/ml}$ および $3.85 \mu\text{g/ml}$ であった。

血液中からの ^{14}C の消失は2相性を示し、初期相のみかけの消失半減期 ($T_{1/2}$) はマウスで1.0時間、ラットで1.6時間、モルモットおよびウサギでは1.8時間であった。後期相の $T_{1/2}$ はマウス、ラットおよびウサギでそれぞれ22.8, 21.2および25.8時間であった。なお、モルモットでは、投与後24時間以降の血液中 ^{14}C 濃度は検出限界以下であった。

マウス、ラットおよびウサギの血液中 ^{14}C 濃度—時間曲線下面積 ($\text{AUC } 0\sim 48 \text{ h}$) は $28\sim 33 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ の範囲内にあり、著しい種差はみられなかった。

胆管瘻ラットにおける血液中 ^{14}C (Fig. 3) の消失は正常ラットよりも速く、投与後8時間までの AUC は正常ラットの $11.50 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ に対し、 $5.78 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ であった。

Fig. 2. Blood levels of ^{14}C in mice, rats, guinea pigs and rabbits after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

○—○ mice (n=4) ●—● rats (n=4) ×—× guinea pigs (n=4)
△—△ rabbits (n=3)

Blood levels of ^{14}C in guinea pigs were not detectable 24, 30 and 48 hours after administration.

Table II. Pharmacokinetic parameters of blood ^{14}C levels in mice, rats, guinea pigs and rabbits after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

Animal species		Pharmacokinetic parameters				
		Tmax (h)	Cmax ($\mu\text{g}^*/\text{ml}$)	$T_{1/2}(\alpha)$ (h)	$T_{1/2}(\beta)$ (h)	AUC (0~48 h) ($\mu\text{g}^*\cdot\text{h}/\text{ml}$)
Mice	(n=4)	<0.5	5.91 ± 1.14	1.0 ± 0.3	22.8 ± 2.10	33.49 ± 3.33
Rats	(n=4)	<0.5	3.52 ± 1.68	1.6 ± 0.4	21.2 ± 3.20	28.58 ± 4.01
Guinea pigs	(n=4)	1	3.88 ± 0.43	1.8 ± 0.3	—	—
Rabbits	(n=3)	1	3.85 ± 0.26	1.8 ± 0.5	25.8 ± 3.70	30.54 ± 1.49

* μg equivalent to ^{14}C -Y-8894

— not calculated

4. 組織中 ^{14}C 濃度 (Fig. 4, 5)

経口投与0.5時間後のマウス組織中 ^{14}C 濃度は腎臓、肝臓および肺が最も高く、その他脾臓、副腎、気管、唾液腺や脾臓にも比較的高濃度に移行した (Fig. 4)。

ラットでは、肝臓中が最も高く、ついで肺、腎臓、副腎、脾臓、唾液腺および脾臓中にも比較的高濃度に分布した (Fig. 5)。両動物の脳内 ^{14}C 濃度はいずれも血液中 ^{14}C 濃度の約2倍であった。各組織中 ^{14}C 濃度は時間の経過と共に低下

Fig. 3. Blood levels of ^{14}C in normal (●—●) and bile-duct cannulated rats (○—○) after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

Each point represents the mean value obtained from 3~4 rats. Vertical lines represent the standard deviation.

Table III. Protein binding of ^{14}C in serum after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

Animal species	% of ^{14}C in serum	
	0.5 h Bound	6 h Bound
Mice (n=4)	65.5 ± 3.6	80.6 ± 4.0
Rats (n=4)	75.7 ± 2.6	83.3 ± 2.4
Guinea pigs (n=4)	63.4 ± 12.4	68.1 ± 13.0
Rabbits (n=3)	76.7 ± 2.9	83.4 ± 0.6

し、投与24時間後には肝臓と腎臓に少量の ^{14}C が検出される他は特に高濃度の ^{14}C が検出される組織は認められなかった。

両動物共いづれの時間においても血清中 ^{14}C 濃度と血液中 ^{14}C 濃度の比は1.3~3.0であった。

5. 血清たん白結合率 (Table III)

経口投与後0.5および6時間における血清中 ^{14}C とたん白との結合率は、それぞれマウスで65.5%および80.6%, ラットで75.7%および83.3%, モルモットで63.4%および68.1%, ウサギで76.7%および83.4%であった。

6. 代謝 (Fig. 6, 7, 8, Table IV, V)

1) 尿および胆汁中代謝物

経口投与後24時間以内のマウス, ラット, モルモット, ウサギの尿およびラットの胆汁を Amblerlite XAD-2 樹脂に通して得られた28%アンモニア水含有メタノール溶出液(回収率:試料中 ^{14}C の94.6~98.8%)について行った TLC-ARG の1例を Fig. 6 に、また、代謝物の量的な関係を Fig. 7 に示した。なお、ラット尿中代謝物の F-I 分画(代謝物①~⑫)については量的に少なく、

Fig. 4. Tissue distribution of ¹⁴C in mice after oral administration of ¹⁴C-Y-8894 (30 mg/kg). Each point represents the mean value obtained from 4 mice.

□ at 0.5h, ▤ at 6h, ■ at 24h

これ以上分離することができなかったため①～⑫の合計として表示した。

この結果、各被験動物の尿中には数多くの代謝物が検出されたが、尿中代謝物の量的な関係には動物種差が認められた。

すなわち、マウスの尿中には少量の未変化体の他に主として M8, M7, M5 および M6 が検出された。その他にも数多くの代謝物が存在したが、これらはいずれも量的には非常に少なかった。ラット尿中には M5 が少ないが、その他の代謝物のパターンはマウスの場合と類似していた。さらにラットの胆汁中主要代謝物はマウスの尿中のそれらとほぼ一致した。

一方、モルモット尿中には主として M7 が検出され、この代謝物は投与量の約40%を占めてお

り、その他の代謝物は少なかった。ウサギ尿中には M4 が最も多く存在し、その他未変化体や代謝物 M8, M5 および M3 も比較的多く存在したが、他の動物種での代謝物の量的な関係とは若干異なっていた。

2) 血清中存在型

経口投与 0.5 および 6 時間におけるラット、モルモットおよびウサギの血清を Amberlite XAD-2 樹脂に通し吸着後、28%アンモニア水含有メタノールで溶出すると、0.5 時間では血清中 ¹⁴C の 82.6～91.6%，6 時間では 54.8～87.0%が回収された。

この28%アンモニア水含有メタノール溶出液について行った TLC-ARG の結果からラット、モルモットおよびウサギの血清中で検出された代謝

Fig. 5. Tissue distribution of ^{14}C in rats after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

Each point represents the mean value obtained from 4 rats.

□ at 0.5 h, ▤ at 6 h, ■ at 24 h

物はいずれも対応する動物種の尿中にも存在したが、ラットでは M8, モルモットでは M7 と未変化体, ウサギは未変化体が主存在型であった。いずれの動物種でも未変化体の存在割合は時間の経過と共に減少した。また、各動物の血清中主要代謝物の量的な関係は対応する動物種の尿中のそれらと類似していた。

なお、先に単離、同定したラットの胆汁中代謝物およびウサギの尿中代謝物⁵⁾と TLC で比較して推定したこれらの代謝物の存在割合を Table IV および V に示した。

さらに、マウス、ラット、モルモットおよびウサギの主要代謝経路を Fig. 8 に示した。

考 察

^{14}C -Y-8894 を経口投与したときの ^{14}C の尿中排泄率は各動物種により異なり、投与した ^{14}C の一部しか尿中に回収されないが、マウス、ラットおよびモルモットにおいて経口投与と腹腔内投与時の尿と糞中 ^{14}C の排泄比が類似していることから、本化合物はこれら動物種の消化管からはほぼ完全に吸収されるものと推定される。ウサギの腹腔内投与時の排泄率は検討されていないが、経口投与時の尿中に投与した ^{14}C の約65%が排泄されることから、ウサギにおいても消化管からの吸収は良好と推定される。ラットの胆汁中排泄率の測定結果 (Fig. 1) から、糞中の ^{14}C は主として胆汁を介して排泄されたものと考えられる (Table

Fig. 6. Autoradiograms of TLC of radioactive metabolites extracted from mouse urine after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

- (A) Amberlite XAD-2 MeOH extracts
solvent system; AcOEt: EtOH: 28% NH_4OH (2: 3: 1, v/v)
- (B) Rechromatography of F-I
solvent system; CHCl_3 : MeOH: 28% NH_4OH (30: 3: 0.2, v/v)
- (C) Rechromatography of F-II
solvent system; AcOEt: EtOH: 28% NH_4OH (2: 3: 1, v/v); developed 3 times

I).

^{14}C -Y-8894 を経口投与した各動物の血液中 ^{14}C 濃度は、いずれも投与後1時間以内に最高濃度に達することから、本化合物はいずれの動物種においても消化管から速やかに吸収されることがわかる (Fig. 2)。

マウス、ラットおよびウサギにおける血液中 ^{14}C 濃度の経時変化から求めたファルマコキネティック・パラメーター (Table II) は類似している。しかし、モルモットではこれらの動物種よりも血液中からの消失が速く、投与24時間後の血液中 ^{14}C 濃度が検出限界以下であった。

胆管瘻ラットにおける血液中 ^{14}C 濃度の消失は正常ラットより速く、AUC (0~8h) も正常ラッ

トの約1/2であることから、ラットでは腸肝循環の関与が考えられる (Fig. 3)。

経口投与0.5時間後における組織中 ^{14}C 濃度は、マウス (Fig. 4) では肝臓、腎臓および肺が最も高かった。マウスの肝臓中 ^{14}C 濃度がラットのその約1/2であり、マウスの腎臓中 ^{14}C 濃度はラットのそれより若干高い点を除けば、マウスとラットにおける ^{14}C の分布パターンおよび組織中 ^{14}C 濃度は類似していた (Fig. 5)。肝臓と腎臓中の ^{14}C 濃度がマウスとラットで異なるのは、両者での尿と糞 (胆汁) 中へ排泄される割合が異なり、ラットの方が胆汁中へ排泄されやすいためと推定される。以後、マウス、ラットのいずれにおいても、各組織中 ^{14}C 濃度は時間の経過と共に低下し、投与24時間後には肝臓と腎臓に少量の ^{14}C が検出される以外には高濃度の ^{14}C が検出される組織は認められなかった。また、マウス、ラットの脳内 ^{14}C 濃度はいずれも血液中 ^{14}C 濃度の約2倍であり、本化合物またはその代謝物が脳内へ移行しやすいことを示している。また、血清と血液中の ^{14}C 濃度比から本化合物またはその放射性代謝物の血球中への移行は少ないものと推定される。

経口投与後の血清中 ^{14}C とたん白との結合率 (Table III) はいずれの動物種でも63~83%の範囲内であり、結合率に著しい種差は認められなかった。

Table V. Metabolite patterns of ^{14}C -Y-8894 in serum of rats, guinea pigs and rabbits after oral administration (30 mg/kg)

Metabolites	% of ^{14}C in serum					
	Rats		Guinea pigs		Rabbits	
	0.5 h	6 h	0.5 h	6 h	0.5 h	6 h
Y-8894	8.8	2.5	29.3	6.5	26.2	10.0
M1	1.7	0.7	0.4	0.8	0.5	0.7
M2	2.1	1.1	0.5	2.9	1.1	0.7
M3	5.8	2.4	trace	trace	9.5	3.2
M4	8.7	6.5	2.7	4.1	12.1	9.0
M5	2.7	1.4	5.2	8.6	7.1	4.1
M6	2.7	6.3	trace	trace	3.4	3.0
M7			37.0	39.2		
M8	21.8	24.6	trace	trace	8.3	7.1
Total	54.3	45.5	75.1	62.1	68.2	37.8

Fig. 7. Quantitative urinary and biliary metabolite patterns of ^{14}C -Y-8894 after oral administration (30 mg/kg)

本化合物を経口投与した時の尿または胆汁中代謝物の検索結果から、Y-8894の代謝様式 (Fig 8) は、Y-8894のフェニル基4位への水酸化 (M2) とそれに引き続くモルホリン環5位のオキシ化 (M1) および N-水酸化 (M5) ならびにチオフェン環5位への水酸化 (M8) 反応であり、これらの化合物はいずれもグルクロン酸抱合体とし

て尿または胆汁中に排泄された。その他に、Y-8894のモルホリン環素原子の硫酸抱合反応 (M3) およびチオフェン環の開環反応 (M4) も認められた。フェニル基の水酸化やモルホリン環5位の酸化に関してはすでに indeloxazine⁶⁾ や viloxazine⁷⁾ で明らかにされているが、今回、モルホリン環の脂肪族二級アミンが硫酸抱合を受けるこ

Table IV. Urinary and biliary metabolite profiles of ^{14}C -Y-8894 in mice, rats, guinea pigs and rabbits after oral administration (30 mg/kg)

Metabolite No.	Codes	Structures	(% of dose)				
			Mice urine	Rats urine	Rats bile	Guinea pigs urine	Rabbits urine
①	—	—	0.6	↑ 1.2 ↓	1.8	ND	1.5
②	—	—	0.6		1.4	0.7	ND
③	—	—	0.6		1.2	ND	ND
④	Y-8894 (free base)		1.3		3.4	0.8	6.1
⑤	—	—	0.3		0.7	ND	ND
⑥	M1		0.3		0.8	0.6	0.1
⑦	—	—	0.1		0.4	ND	ND
⑧	M2		0.2		0.8	2.9	0.2
⑨	—	—	0.1		0.5	ND	ND
⑩	—	—	0.5		1.5	ND	ND
⑪	—	—	0.3		1.2	ND	ND
⑫	—	—	0.7		1.5	1.4	0.7
⑬	M3		ND	0.4	ND	3.8	3.7
⑭	—	—	1.4	1.9	5.2	ND	2.9
⑮	—	—	1.0	0.6	4.0	2.6	4.3
⑯	M4		2.1	2.1	8.7	5.9	13.6
⑰	M5		6.9	0.3	9.8	6.7	5.3
⑱	M6	glucuronide of M1	5.4	1.9	7.1	ND	3.4
⑲	M7	glucuronide of M2	7.0	2.5	8.4	39.5	2.2
⑳	M8		14.2	4.9	16.0	ND	4.4
㉑	—	—	6.0	4.5	16.2	2.7	9.3
Total	% of dose		49.6	20.3	90.6	67.6	57.7
	% of ^{14}C excreted in urine or bile		96.9	93.2	97.4	99.0	94.6

Glu: glucuronic acid
ND: not detected

Fig. 8. Postulated major metabolic pathways of ^{14}C -Y-8894 in mice, rats, guinea pigs and rabbits after oral administration of ^{14}C -Y-8894 (30 mg/kg)

とを明らかにした。各動物における代謝物の尿または胆汁中での存在割合から、マウスおよびラットでは M5, M6, M7 および M8 が、モルモットでは M7, ウサギでは M4 がそれぞれ主要代謝物であった (Fig. 6, 7)。フェニル基が水酸化された代謝物 (M1+M2+M6+M7) とチオフェン環が酸化された代謝物 (M4+M8) を比較すると、マウスとラットの尿およびラットの胆汁ではそれぞれ前者が投与量の 12.9%, 4.4~5.6% および 17.1% で、後者が 16.3%, 4.9% および 24.7% であり、両者はほぼ同程度存在した。モルモット尿中では前者が 43% であり、後者が 5.9% と前者の方が多く、ウサギ尿中では前者が 5.9%, 後者が 18.0% と後者の方が多かった。このことから、本化合物のマウスおよびラットの主要な代謝経路は類似しておりフェニル基とチオフェン環がほぼ同程度酸化される経路であるのに対し、モルモットではフェニル基、ウサギではチオフェン環が酸化される経路が主要な代謝経路と推定される。マウス、ラットではフェニル基の水酸化反応に続いてモルホリン環 5 位のオキシ化も起こるが、モルモットではフェニル基の水酸化反応のみであった。さらにチオフェン環の開環反応 (M4 の生成) はウサギで最も多い。

その他、モルホリン環窒素原子の硫酸抱合反応

はマウス、ラットでは少ないが N-水酸化反応に関しては著しい種差は存在しないものと推定される。また、未変化体が多い点を除くと、血清中の主要代謝物も対応する動物種の尿または胆汁中主要代謝物と類似していた (Table IV)。

本化合物を経口投与したときの ^{14}C の尿と糞中へ排泄される割合は動物種により異なり、モルモット、ウサギでは主として尿中に排泄されるのに対し、ラットでは糞中に排泄された。一方、マウスでは尿と糞中ほぼ等量ずつ排泄された。しかし、尿と糞中排泄比の動物種差と他のファルマコキネティック・パラメーター、たん白結合率、代謝様式などとの相関性を見出すことはできなかった。

ラットにおいて、投与後 24 時間以内の胆汁中に投与した ^{14}C の約 93% が排泄されるのに対し、同期間内の糞中には約 63% が排泄されるに過ぎないことから、本化合物またはその代謝物はラットにおいて、かなりの割合で腸肝循環により再吸収されるものと推定される。

結 論

^{14}C -Y-8894 をマウス、ラット、モルモットおよびウサギに 30 mg/kg を経口投与して吸収、分布、代謝および排泄について検討し、以下の成績

を得た。

1. 本化合物は、いずれの動物種でも消化管からの吸収は良好であり、速やかに吸収される。
2. 経口投与後の血液中放射能 (^{14}C) 濃度は、いずれも投与後1時間以内に最高濃度に達し、初期相の $T_{1/2}$ は1.0~1.8時間であった。マウス、ラット、ウサギにおける後期相の $T_{1/2}$ は21~26時間であったが、モルモットの後期相の $T_{1/2}$ は算出できなかった。
3. 経口投与後の血清中 ^{14}C のたん白結合率はマウスで65.5~80.6%, ラットで75.7~83.3%, モルモットで63.4~68.1%, ウサギで76.7~83.4%であった。
4. 経口投与後マウスでは肝臓、腎臓および肺に、ラットでは肝臓に最も高濃度の ^{14}C が移行したが、マウス、ラットのいずれにおいても ^{14}C が長期間蓄積する組織は認められなかった。
5. マウス、ラットのいずれにおいても、本化

合物またはその代謝物は血球へ移行せず、大部分が血清中に存在した。

6. マウス、ラット尿およびラット胆汁中には M5, M6, M7 および M8 がモルモット尿中には M7, ウサギ尿中には M4 および未変化体が主として排泄され、代謝物の定量的パターンには動物種差が認められた。
7. 経口投与後4日以内のマウス、ラット、モルモットおよびウサギの尿中にはそれぞれ投与した ^{14}C の約52.2%, 24.3%, 73.4% および 64.8% が、また糞中には約 46.8%, 72.5%, 22.5% および 26.0% が排泄された。マウス、ラットおよびモルモットに腹腔内投与した時の尿と糞中への排泄比は経口投与した時と類似していた。
8. 経口投与後24時間以内のラット胆汁中には、投与した ^{14}C の約93%が排泄された。
9. 本化合物またはその代謝物は、一部腸肝循環により再吸収されることが推定された。

文 献

- 1) 室 富雄, 湯木 弘, 川北武志, 千原保昭, 安本光由, 瀬戸口信郎, 阿南惟毅, 瀬戸口通英: 2-(置換フェノキシメチル) モルホリン誘導体の合成と薬理活性について, 薬誌, **106** (9): 764-774 (1986).
- 2) 泉 律好, 安田 寛: Sufoxazine (Y-8894) の薬理学的研究第2報, 抗アノキシア作用, 日薬理誌, **86** (4): 323-328 (1985).
- 3) 阿南惟毅, 山本吉延, 瀬戸口通英: Sufoxazine (Y-8894) の薬理学的研究第1報, マウスの実験的記憶障害 (amnesia) に対する作用, 日薬理誌, **85** (2): 71-77 (1985).
- 4) 中西美智夫, 今村 博, 松井英一, 加藤安之: 向精神薬に関する研究第4報, ラットにおけるトリチウム標識 Carpipramine の生体内運命, 薬誌, **90** (2): 204-208 (1970).
- 5) 有馬徳行, 西峯秀夫, 三浦誠二, 岡部次夫, 杉本健二, 加藤安之: 新規モルホリン誘導体 Y-8894 のラット胆汁およびウサギ尿中代謝物について; 薬物動態, **2** (3): 263-277 (1987).
- 6) 小林伸一郎, 神村秀隆, 川井龍太郎, 江角凱夫, 高市松夫, 大槻俊治: 塩酸インデロキサジン (YM-08054) のイヌにおける吸収, 分布, 代謝および排泄, 基礎と臨床, **19** (11): 236-244, (1985).
- 7) David E. Case, Hilary Illston, Peter R. Reeves, Brain Shuker, Peter Simons: The disposition and metabolism of I.C.I. 58, 834 (viloxazine) in animals, *Xenobiotica*, **5** (2): 83-111 (1975).