Propiverine hydrochloride の体内動態 (第3報)

ラット反復投与での吸収, 分布, 代謝, 排泄および薬物代謝酵素系におよぼす影響

津田益広, 山本佳男, 宇田和彦, 新藤恭司, 川口安郎

大鵬薬品工業株式会社研究開発本部開発研究所

〒771-01 徳島市川内町平石字夷野224-2

Key words : Propiverine hydrochloride, P-4, Repeated administration, Rat, Absorption, Distribution, Excretion, Metabolism, Hepatic drug-metabolizing enzymes

Pharmacokinetic Studies of Propiverine hydrochloride (3)

Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Effect on Drug-Metabolizing Enzymes after Repeated Oral Administration to Rats

Masuhiko TSUDA, Yoshio YAMAMOTO, Kazuhiko UDA,

Takashi SHINDO and Yasuro KAWAGUCHI

Biological Research Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co. Ltd.,
224-2 Hiraishi-Ebisuno, Kawauchi-cho, Tokushima 771-01, Japan

Summary

The absorption, distribution, metabolism and excretion of ^{14}C -labelled propiverine hydrochloride (^{14}C -P-4) were studied in male rats during and after seven consecutive daily oral administrations of ^{14}C -P-4 at 100mg/kg. The effect of unlabelled P-4 on the hepatic drug-metabolizing enzymes was examined by a commonly used method in male rats after repeated oral administration.

1. After fifth oral administration of ^{14}C -P-4 the blood radioactivity reached plateau values. The seventh administration produced a blood level-time curve for radioactivity which was not much different in the elimination phase from that seen after a single administration, however the half life after repeated administration was just a little increased as compared to a single administration.

2. The tissue concentrations during the repeated administration were 1.3~3 times higher than those observed after a single administration. The tissue level of radioactivity reached a plateau following administration of 4th dose. Radioactive counting and autoradiographic (ARG) experiments did not show any definite accumulation of radioactivity in any particular organ or tissue.

3. Excretion of radioactivity into the urine was almost constant during repeated administration and that into the feces was almost complete within 48hr after the final dosing. Similar results were obtained after administration of a single dose. Ninety-nine percent of administered radioactivity was excreted in the urine and feces within 96hr after the final dosing.

4. After repeated oral administration of P-4 to rats its biotransformation was enhanced due to induction of the enzymes involved in N-oxidation and N-demethylation. Therefore we supposed that P-4 was eliminated from plasma or liver fairly soon. And we supposed that due to a slow elimination rate of the polar metabolites (ex. benzoic acid) the total radioactivity after repeated administration was higher than that after single administration.

緒 言

Propiverine hydrochloride (1-methyl-4-piperidyl diphenylpropoxyacetate hydrochloride, P-4と略)は、ドイツ民主共和国 VEB Sächsisches Serumwerk Dresden 社で開発された平滑筋直接作用および抗コリン作用を有する^{1,2)} 新しいタイプの頻尿改善剤である。P-4はドイツ民主共和国においては、すでに過去数年間にわたって臨床的に種々の原因による頻尿、尿失禁および尿意切迫などに広く用いられている^{3,4)}。

P-4の phenyl 基を¹⁴C 標識した¹⁴C-P-4のラットにおける単回投与後の吸収、分布および排泄については第1報⁵⁾で、また、¹⁴C-P-4のラットにおける単回投与後の代謝については第2報⁶⁾で報告した。

今回、ラットにおける反復投与後の吸収、分布、代謝、排泄および肝薬物代謝酵素系への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. 使用薬剤および試薬

¹⁴C 標識 P-4 および非標識 P-4 は、第1報⁵⁾と同じものを使用した。

また、P-4 および代謝物推定用の非標識標準品: 1-methyl-4-piperidyl diphenylpropoxyacetate N-oxide (P-4(N→O)と略)、1-methyl-4-piperidyl benzilate N-oxide (DPr-P-4(N→O)と略)、1-methyl-4-piperidyl benzilate (DPr-P-4と略)、4-piperidyl diphenylpropoxyacetate (DM-P-4と略)、4-piperidyl diphenyl-1-(3-hydroxy)propoxyacetate (ω -OH-DM-P-4と略)、2,2-diphenyl-5-methyl-1,4-dioxan-3-one (ω -1-OH-Pr-BA(L)と略)、diphenyl-1-(2-hydroxy)propoxyacetic acid (ω -1-OH-Pr-BA と略)、1-methyl-4-piperidyl diphenyl-1-(2-carboxy)-ethoxyacetate (ω -COOH-P-4と略)および benzoic acid (BA と略)は第2報⁶⁾と同じものを使用した。

フェノバルビタール (PB と略) は、10% フェノバル (藤永製薬株式会社) を用いた。また、アニリン、アミノピリンおよびホルムアルデヒド

測定用試薬として、Formaldehyde Test Wako をそれぞれ和光純薬工業株式会社より購入して用いた。

2. 実験動物

ラットは雄性 Wistar 系 SPF を日本クレアより購入し、1週間予備飼育の後、7週齢(体重: 140~220 g)にて実験に供した。

3. 投与液の調製および投与方法

¹⁴C-P-4 投与液の調製は第1報⁵⁾と同様に行った。すなわち、吸収および全身オートラジオグラフィ (ARG と略) 実験においては、100 mg/3.70 MBq (100 μ Ci)/5 ml/kg の投与量で、また組織中濃度測定および排泄実験においては、100 mg/1.85 MBq (50 μ Ci)/5 ml/kg の投与量で、注射用蒸留水に溶解し、それぞれ1日1回7日間ゾンデを用いて強制経口投与した。また、吸収実験においては比較のために、1日1回6日間注射用蒸留水のみを5 ml/kg の投与量で経口投与した後、7日目に¹⁴C-P-4を100 mg/3.70 MBq (100 μ Ci)/5 ml/kg の投与量で単回投与した群を別に設定した。

また、酵素誘導実験においては、P-4を注射用蒸留水に溶解して調製し、20 mg/5 ml/kg あるいは100 mg/5 ml/kg の投与量で1日1回7日間強制経口投与した。control 群としては、注射用蒸留水のみを5 ml/kg の投与量で1日1回7日間同様に経口投与した。

また、PB は80 mg/ml/kg の投与量で、酵素活性測定の3日前より1日1回3日間腹腔内投与した(陽性対照群)。

すべての実験において試験期間中、餌(CE-2, 日本クレア)および水は自由に与えた。ただし、酵素誘導実験においては、最終投与後8 hrから動物を処置するまでは絶食とした。

4. 放射能の測定

放射能は液体シンチレーションカウンター (TRI-CARB 2000CA, Packard) を用いて測定した。クエンチングの補正は外部標準線源を用いて行った。

5. 血液中濃度測定

¹⁴C-P-4を1日1回7日間投与し、1回から6回投与後までは各投与後24 hr に、7回投与後は投与後0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72お

よび96hr にヘパリン処理した注射器で頸静脈より採血した。

単回投与群は反復投与群の7回投与後と同様にして採血した。

血液、血漿サンプルは一定量を SOLUENE-350(Packard)/イソプロパノール (1:1) 混液に溶解後、直ちに30%過酸化水素水を添加して脱色し、シンチレーター(Hionic Fluor, Packard)に溶解して放射能を測定した。

6. 全身オートラジオグラフィー

^{14}C -P-4を1日1回7日間投与し、最終投与後1, 8, 24, 48, 72, 96および168hr にエーテル麻酔死させた後、ドライアイス/アセトン中で凍結させ、Ullberg⁷⁾の方法に準じて6%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に包埋凍結後大型滑走ミクロトーム(LKB2250, LKB)を用いて20 μm の全身切片を作製した。

切片を凍結乾燥後、X線フィルム(マクロオートラジオグラフィフィルム ^3H タイプ、コニカ株式会社)に密着させ、4℃で2カ月間の露出を行い、オートラジオグラムを作製した。

7. 組織内濃度測定

^{14}C -P-4を1日1回7日間投与し、1回および4回投与後24hr に、また7回投与後1, 8, 24, 48, 96および336hr にエーテル麻酔下で後大静脈より採血し、各組織を摘出後第1報⁵⁾と同様にして放射能を測定した。また、消化管(胃、小腸、盲腸、結腸)は各部位を分別して摘出し、各内容物を洗出した後、他の組織と同様にして放射能を測定した。

各組織サンプルは、一定量を SOLUENE-350により溶解後、血液サンプルと同様脱色後放射能を測定した。また、各消化管内容物は一定量に希釈し、その一部を精秤し、シンチレーター(ACS II, Amersham)に溶解後、液体シンチレーションカウンターにて放射能を測定した。

8. 主要組織中代謝物濃度の測定

組織サンプルのうち1および4回投与後24hr, 7回投与後1, 8, 24および48hr における肝と7回投与後8hr の腎および肺の組織中代謝物濃度、さらに1および4回投与後24hr, 7回投与後1, 8および24hr の血漿中代謝物濃度を測定した。

すなわち、各組織の一定量を精秤し、メタノール添加後 BIOTRON (type: BT 10, 20, 350 D, Kimura Co., Ltd.) 粉碎とソニケーション(ULTRASONIC GENERATOR, UT-304F, SHARP, 最高出力, 1 min)によりホモジナイズし、遠心分離後上清を採取することにより抽出を行った。このときのメタノール中抽出率は、肝においては約66.7%, 腎で約94.9%, 肺で約91.9%であった。次いで、抽出上清を減圧下濃縮乾固後、水に再溶解し、SEP-PAK C_{18} cartridge (Waters)に添加後、0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.4)にて洗浄した。次いでメタノールで溶出させた後、メタノール溶出液を非標識の標準品(P-4, P-4(N $\rightarrow$ O), DPr-P-4(N $\rightarrow$ O), DPr-P-4, DM-P-4, ω -OH-DM-P-4, ω -1-OH-Pr-BA(L), ω -1-OH-Pr-BA, ω -COOH-P-4およびBAのメタノール溶液)混合液と同時にスポットし、薄層クロマトグラフィー(以下TLCと略, Kieselgel 60F²⁵⁴, Merck, 展開溶媒=シクロヘキサン:ジオキサン:酢酸エチル:エタノール:濃アンモニア水=3:3:8:4:2)を行い、各代謝物を分離した。

展開、分離後のTLCプレートを、室温でX線フィルムに密着させて約2日間露出を行い、フィルム上の黒化部分に相当するTLC上のスポットをすべてかきとりメタノールで溶出後、シンチレーター(ACS II)を加え放射能を測定した。各標準品のUV吸収部分の放射能をそれぞれの代謝物の放射能であると推定した。

9. 尿糞中排泄率測定

^{14}C -P-4を1日1回7日間、投与期間中ラットをメタボリックケージで飼育し、所定時間における自然排泄尿糞を採取し、それぞれの放射能を測定した。

尿は初回投与後0~6, 6~12および12~24hrの区間、2回投与以降各回投与後24hr毎に採取し、7回(最終)投与後は24hr毎に96hrまでそれぞれ採取した。尿サンプルは各排泄区間の尿を一定量に希釈し、その一部を直接シンチレーター(ACS II)に溶解し、液体シンチレーションカウンターにて放射能を測定した。

糞採取は各回投与後24hr毎とし、7回(最終)投与後も24hr毎に96hrまで採取した。糞

サンプルは水により10%ホモジネートを調製し、一定量を SOLUENE-350に溶解後、血液サンプルと同様に、過酸化水素による脱色を行った後放射能を測定した。

10. 酵素誘導実験

P-4投与群、PB 投与群および対照群のそれぞれの最終投与後24hr に頸動静脈切断後脱血し、開腹後、門脈および後大静脈から氷冷生理食塩液で肝灌流を行った。次いで、肝を速やかに摘出して肝重量を測定した後、Omura らの方法⁸⁾に準じて、氷冷0.1Mリン酸緩衝液 (pH 7.4) で25%ホモジネートを調製し、遠心分離(10000×g, 30 min, 4℃, HITACHI 20PR-52, RPR-18ローター)して上清を得た。

遠心上清の蛋白質含量は、Lowry らの方法⁹⁾により、aniline hydroxylase 活性 p-アミノフェノールの生成量を定量することにより、また、aminopyrine N-demethylase 活性は、生成するホルムアルデヒドを Dickinson ら¹⁰⁾の

方法に従って測定することによりそれぞれ求めた。

さらに、遠心上清におけるP-4の代謝速度を測定した。すなわち、 ^{14}C -P-4と肝ホモジネートの遠心上清を NADPH 存在下、混合し(初濃度=0.3mM P-4, 20%肝ホモジネート10000×g上清, 7.4mM NADPH), 37℃で反応させた。混合後5 min の反応混液を採取し、同容量の氷冷エタノールで除蛋白し、遠心分離した。次いで、その上清中の未変化体および代謝物濃度を8項に準じて測定し、P-4の減少速度とDM-P-4およびP-4(N→O)の生成速度を算出した。

実験結果

1. 血液中濃度推移

^{14}C -P-4反復投与期間中の各回投与後24hr および最終投与後24, 48, 72および96hr の血液中濃度推移を Fig. 1 に、また、そのときの pharmacokinetic parameter を Table I に示し

Fig. 1. Blood levels of radioactivity at 24hr during and at 24, 48, 72 and 96hr after repeated oral administration of ^{14}C -P-4 to rats (100mg/kg/day×7, n=5)

: administration of ^{14}C -P-4

Table I. Pharmacokinetic parameters of total radioactivity in rats during and after repeated oral administration of ^{14}C -P-4 (100mg/kg/day $\times$ 7, n=5).

	$C_{\min}^{\text{1st day}}$	$C_{\min}^{\text{ss}}$	$T_{\min}^{\text{ss}}$	$T_{1/2}$
	(μg eq. of P-4/ml) (μg eq. of P-4/ml)		(day)	(hr)
Observed parameters	1.22 ± 0.34	2.19 ± 0.43	4.8 ± 2.3	50.0 ± 10.6
Predicted parameters*	2.33 ± 0.87	3.38 ± 0.94	7.6 ± 1.8	14.5 ± 0.8

* Obtained by the method of Wagner¹⁹. For the detail, see the text. Fig. 2. Blood levels of radioactivity after repeated (100mg/kg/day $\times$ 7) or single (100 mg/kg/day $\times$ 1) oral administration of ^{14}C -P-4 to rats (n=5).

● : single, ○ : repeated

Table II. Pharmacokinetic parameters of total radioactivity in rat after repeated oral administration of ^{14}C -P-4(100mg/kg/day $\times$ 7) and after single oral dose of ^{14}C -P-4(100mg/kg/day $\times$ 1, n=5).

	$C_{\max}$	$T_{\max}$	$T_{1/2}$	AUC_{0-96}
	(μg eq. of P-4/ml)	(hr)	(hr)	(μg eq. of P-4 $\cdot$ hr/ml)
Multiple	5.85 ± 0.79	8.8 ± 1.8	50.0 ± 10.6	149.7 ± 14.0
Single	5.25 ± 1.26	7.2 ± 5.0	$13.3 \pm 4.7^{**}$	105.3 ± 34.6

** : Significantly different from "Multiple" at $p < 0.01$

Fig. 3-1

24hr

Kidney

Liver

Harderian gland

1.

Intestinal contents

Liver

2.

Intestinal contents

48hr

Kidney

Liver

1.

Intestinal contents

Liver

2.

Intestinal contents

Fig. 3-2

Fig. 3-3

168 hr

Fig. 3-4

Fig. 3. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after repeated oral administration of ^{14}C -P-4 to rats ($100\text{mg/kg/day} \times 7$).

1. Left lateral aspect. 2. Central axis aspect.

た。各回投与後24hr 値においては、3回投与後までは回を追ってわずかながら増加傾向を示したが、その後はほぼ定常状態に達した。このときの定常状態に到達する時間($T_{\min}^{\text{ss}}$)は約4.8 day、定常状態における最小血液中濃度($C_{\min}^{\text{ss}}$)は約 $2.19\mu\text{g eq./ml}$ であり、これは初回投与後の $C_{\min}$ の約1.8倍であった。

第1報において報告した ^{14}C -P-4単回投与後のラット血液中濃度推移のデータ⁵⁾を用いて、重ね合せ法¹¹⁾により1日1回10日間反復投与した場合の投与期間中および投与後の血液中濃度推移をシミュレーションした結果も Table I に併せて示した。これによると、 $T_{\min}^{\text{ss}}$ は約7.6 day、 $C_{\min}^{\text{ss}}$ は約 $3.38\mu\text{geq./ml}$ となり、実測値ではシミュレーションの場合より $T_{\min}^{\text{ss}}$ は早く、また $C_{\min}^{\text{ss}}$ は低かった。

また、反復投与群の7回投与後および単回投与後の血液中濃度推移を Fig. 2 に、また、そのときの pharmacokinetic parameter を Table II に示した。反復投与終了後の血液中濃度は、投

与後約8.8hr に最高濃度約 $5.85\mu\text{g eq./ml}$ を示した後半減期約50hr で消失した。反復投与群と単回投与群は、投与後24hr までほぼ同様の推移を示し $C_{\max}$, $T_{\max}$ および AUC の値に有意な差はみられなかったが、 $T_{1/2}$ は反復投与群が単回投与群より延長した。

2. 全身オートラジオグラフィー

^{14}C -P-4の7回投与後1, 8, 24, 48, 72, 96および168hr の ARG 像を Fig. 3 に示した。

投与後1hr では、胃および小腸内容物に最も高い放射能が認められ、次いで、肝、腎の順に高く、その他の組織では低かった。

8hr においても、消化管内容物に最も高い放射能が認められ、その放射能は盲腸内まで下降していた。各組織への分布は、1hr と同様に肝において高く、次いで肺、腎の順に高い放射能を示した。さらに、ハーダー氏腺においても、比較的高い放射能を示した。また、1hr に比べ全体的にやや高い放射能を示した。

24hr では、小腸および結腸内容物に最も高い

Table III. The level of radioactivity in tissues during and after seven daily oral administration of ^{14}C -P-4 to rats (100mg/kg/day $\times$ 7).

Tissue	Tissue concentration (μg equiv./g or ml)					
	1st	T/P	4th	T/P	7th	T/P
	24hr		24hr		24hr	
Plasma	1.71 $\pm$ 0.64	(1.00)	3.51 $\pm$ 1.11	(1.00)	3.06 $\pm$ 1.58	(1.00)
Blood	1.42 $\pm$ 0.48	(0.83)	2.64 $\pm$ 0.60	(0.75)	2.42 $\pm$ 1.08	(0.79)
Pituitary gland	N. D.		N. D.		N. D.	
Brain	0.02 $\pm$ 0.05	(0.01)	0.21 $\pm$ 0.14	(0.06)	0.05 $\pm$ 0.08	(0.02)
Harderian gland	14.27 $\pm$ 1.74	(8.35)	22.72 $\pm$ 2.99	(6.47)	19.95 $\pm$ 11.48	(6.52)
Eye-ball	0.20 $\pm$ 0.18	(0.12)	0.42 $\pm$ 0.16	(0.12)	0.30 $\pm$ 0.14	(0.10)
Submaxillary gland	0.84 $\pm$ 0.31	(0.49)	1.32 $\pm$ 0.51	(0.38)	0.95 $\pm$ 0.27	(0.31)
Sublingual gland	0.81 $\pm$ 0.23	(0.47)	1.12 $\pm$ 0.57	(0.32)	0.91 $\pm$ 0.30	(0.30)
Parotid gland	0.82 $\pm$ 0.27	(0.48)	3.92 $\pm$ 5.79	(1.12)	1.04 $\pm$ 0.43	(0.34)
Thyroid	0.88 $\pm$ 1.08	(0.51)	2.14 $\pm$ 0.15	(0.61)	1.32 $\pm$ 1.27	(0.43)
Thymus	0.77 $\pm$ 0.21	(0.45)	1.16 $\pm$ 0.34	(0.33)	1.19 $\pm$ 0.89	(0.39)
Lung	3.85 $\pm$ 0.94	(2.25)	5.66 $\pm$ 1.89	(1.61)	4.22 $\pm$ 1.47	(1.38)
Heart	1.03 $\pm$ 0.22	(0.60)	1.83 $\pm$ 0.71	(0.52)	1.50 $\pm$ 0.37	(0.49)
Liver	17.58 $\pm$ 3.62	(10.28)	38.82 $\pm$ 6.85	(11.06)	47.34 $\pm$ 7.88	(15.47)
Spleen	1.38 $\pm$ 0.31	(0.81)	2.67 $\pm$ 1.08	(0.76)	2.28 $\pm$ 0.78	(0.75)
Pancreas	1.85 $\pm$ 1.02	(1.08)	5.27 $\pm$ 1.14	(1.50)	3.53 $\pm$ 1.33	(1.15)
Kidney	4.80 $\pm$ 1.29	(2.81)	9.40 $\pm$ 1.32	(2.68)	15.25 $\pm$ 6.41	(4.98)
Adrenal	2.31 $\pm$ 0.56	(1.35)	4.41 $\pm$ 4.57	(1.26)	2.66 $\pm$ 1.01	(0.87)
Urinary bladder	2.37 $\pm$ 0.28	(1.39)	6.03 $\pm$ 4.39	(1.72)	5.21 $\pm$ 3.71	(1.70)
Fat	3.35 $\pm$ 1.19	(1.96)	4.39 $\pm$ 2.42	(1.25)	3.17 $\pm$ 2.41	(1.04)
Muscle	0.67 $\pm$ 0.30	(0.39)	1.08 $\pm$ 0.57	(0.31)	0.86 $\pm$ 0.40	(0.28)
Skin	1.40 $\pm$ 0.51	(0.82)	4.15 $\pm$ 1.12	(1.18)	4.56 $\pm$ 1.85	(1.49)
Bone marrow	1.09 $\pm$ 0.18	(0.64)	1.42 $\pm$ 0.35	(0.40)	1.20 $\pm$ 0.34	(0.39)
Mesenteric lymph node	4.70 $\pm$ 3.48	(2.75)	8.59 $\pm$ 1.98	(2.45)	6.42 $\pm$ 2.16	(2.10)
Stomach	8.11 $\pm$ 3.26	(4.74)	7.01 $\pm$ 3.21	(2.00)	35.44 $\pm$ 34.81	(11.58)
Small intestine	20.62 $\pm$ 9.41	(12.06)	40.54 $\pm$ 11.65	(11.55)	29.32 $\pm$ 13.90	(9.58)
Caecum	41.59 $\pm$ 9.10	(24.32)	59.79 $\pm$ 17.38	(17.03)	67.64 $\pm$ 70.21	(22.10)
Colon	35.89 $\pm$ 11.45	(20.99)	66.12 $\pm$ 28.50	(18.84)	81.80 $\pm$ 42.78	(26.73)
Prostate	1.07 $\pm$ 0.31	(0.63)	1.45 $\pm$ 0.49	(0.41)	1.35 $\pm$ 0.24	(0.44)
Testis	2.40 $\pm$ 0.32	(1.40)	4.49 $\pm$ 0.49	(1.28)	4.59 $\pm$ 1.09	(1.50)
Epididymis	1.86 $\pm$ 0.32	(1.09)	2.81 $\pm$ 0.23	(0.80)	2.31 $\pm$ 0.59	(0.75)
Seminal vesicle	1.38 $\pm$ 0.43	(0.81)	3.35 $\pm$ 0.95	(0.95)	3.00 $\pm$ 1.96	(0.98)
Nerve	1.14 $\pm$ 0.29	(0.67)	2.14 $\pm$ 0.36	(0.61)	1.70 $\pm$ 0.47	(0.56)

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.D. for five animals.N.D. : Not detected ($<0.03\mu\text{g}$ equiv./g or ml)

T/P : tissue-to-plasma concentration ratio.

放射能が認められた。各組織では肝、腎およびハーダー氏腺において、若干の放射能が認められた以外には、他の組織ではほとんど認められなかった。

48hr では、24hr よりもさらに低くなり、小腸、結腸内容物、肝および腎にわずかな放射能が

認められたのみであった。

72hr および96hr では、消化管内容物および肝にごくわずかな放射能が認められたのみであり、168hr では、放射能の貯留は認められなかった。

3. 組織内濃度

Table V. The level of radioactivity in tissues after seven daily consecutive oral administrations of ^{14}C -P-4 to rats (100mg/kg/day $\times$ 7).

Tissue	Tissue concentration ($\mu\text{g equiv. /g or ml}$)											
	1 hr	T/P	8 hr	T/P	24hr	T/P	48hr	T/P	96hr	T/P	336hr	T/P
Plasma	9.14 $\pm$ 5.56	(1.00)	12.55 $\pm$ 3.26	(1.00)	3.06 $\pm$ 1.58	(1.00)	1.80 $\pm$ 0.49	(1.00)	0.37 $\pm$ 0.14	(1.00)	0.36 $\pm$ 0.42	(1.00)
Blood	4.88 $\pm$ 0.61	(0.53)	7.57 $\pm$ 2.39	(0.60)	2.42 $\pm$ 1.08	(0.79)	1.28 $\pm$ 0.19	(0.71)	0.83 $\pm$ 0.36	(2.24)	0.70 $\pm$ 0.10	(1.94)
Pituitary gland	11.57 $\pm$ 3.36	(1.27)	41.43 $\pm$ 11.52	(3.30)	N. D.		N. D.		N. D.		N. D.	
Brain	0.94 $\pm$ 0.39	(0.10)	1.76 $\pm$ 0.60	(0.14)	0.05 $\pm$ 0.08	(0.02)	N. D.		N. D.		N. D.	
Harderian gland	30.63 $\pm$ 4.94	(3.35)	60.38 $\pm$ 13.24	(4.81)	19.95 $\pm$ 11.48	(6.52)	4.03 $\pm$ 1.09	(2.24)	0.59 $\pm$ 0.09	(1.59)	0.37 $\pm$ 0.12	(1.03)
Eye ball	1.23 $\pm$ 0.14	(0.13)	3.65 $\pm$ 2.29	(0.29)	0.30 $\pm$ 0.14	(0.10)	0.03 $\pm$ 0.06	(0.02)	N. D.		N. D.	
Submaxillary gland	8.32 $\pm$ 1.76	(0.91)	27.07 $\pm$ 9.84	(2.16)	0.95 $\pm$ 0.27	(0.31)	0.38 $\pm$ 0.04	(0.21)	0.41 $\pm$ 0.34	(1.11)	N. D.	
Sublingual gland	6.69 $\pm$ 1.64	(0.73)	22.14 $\pm$ 8.58	(1.76)	0.91 $\pm$ 0.30	(0.30)	0.37 $\pm$ 0.22	(0.21)	0.34 $\pm$ 0.47	(0.92)	N. D.	
Parotid gland	6.07 $\pm$ 1.30	(0.66)	17.99 $\pm$ 6.15	(1.43)	1.04 $\pm$ 0.43	(0.34)	0.41 $\pm$ 0.10	(0.23)	0.31 $\pm$ 0.08	(0.84)	0.31 $\pm$ 0.53	(0.86)
Thyroid	11.48 $\pm$ 5.39	(1.26)	24.80 $\pm$ 8.40	(1.98)	1.32 $\pm$ 1.27	(0.43)	0.56 $\pm$ 1.12	(0.31)	N. D.		N. D.	
Thymus	5.33 $\pm$ 2.14	(0.58)	16.57 $\pm$ 4.86	(1.32)	1.19 $\pm$ 0.89	(0.39)	0.40 $\pm$ 0.14	(0.22)	0.23 $\pm$ 0.14	(0.62)	N. D.	
Lung	35.81 $\pm$ 19.96	(3.92)	117.18 $\pm$ 35.76	(9.34)	4.22 $\pm$ 1.47	(1.38)	1.94 $\pm$ 0.90	(1.08)	0.87 $\pm$ 0.14	(2.35)	0.85 $\pm$ 0.53	(2.36)
Heart	7.19 $\pm$ 1.95	(0.79)	16.36 $\pm$ 5.76	(1.30)	1.50 $\pm$ 0.37	(0.49)	0.98 $\pm$ 0.13	(0.54)	0.55 $\pm$ 0.04	(1.49)	0.63 $\pm$ 0.29	(1.75)
Liver	109.18 $\pm$ 26.05	(11.95)	159.88 $\pm$ 47.07	(12.74)	47.34 $\pm$ 7.88	(15.47)	20.24 $\pm$ 2.35	(11.24)	9.87 $\pm$ 0.84	(26.68)	1.80 $\pm$ 0.41	(5.00)
Spleen	12.13 $\pm$ 2.64	(1.33)	37.57 $\pm$ 14.06	(2.99)	2.28 $\pm$ 0.78	(0.75)	1.02 $\pm$ 0.08	(0.57)	0.63 $\pm$ 0.09	(1.70)	0.69 $\pm$ 0.12	(1.92)
Pancreas	13.32 $\pm$ 2.96	(1.46)	26.19 $\pm$ 8.17	(2.09)	3.53 $\pm$ 1.33	(1.15)	0.47 $\pm$ 0.10	(0.26)	0.20 $\pm$ 0.15	(0.54)	N. D.	
Kidney	29.81 $\pm$ 7.01	(3.26)	54.35 $\pm$ 21.30	(4.33)	15.25 $\pm$ 6.41	(4.98)	3.86 $\pm$ 0.72	(2.14)	2.39 $\pm$ 0.45	(6.46)	1.02 $\pm$ 0.14	(2.83)
Adrenal	15.44 $\pm$ 4.43	(1.69)	55.71 $\pm$ 25.23	(4.44)	2.66 $\pm$ 1.01	(0.87)	2.02 $\pm$ 0.71	(1.12)	2.08 $\pm$ 2.11	(5.62)	1.21 $\pm$ 0.82	(3.36)
Urinary bladder	21.34 $\pm$ 22.82	(2.33)	27.73 $\pm$ 10.90	(2.21)	5.21 $\pm$ 3.71	(1.70)	0.54 $\pm$ 0.14	(0.30)	0.24 $\pm$ 0.23	(0.65)	N. D.	
Fat	4.85 $\pm$ 1.09	(0.53)	7.02 $\pm$ 2.31	(0.56)	3.17 $\pm$ 2.41	(1.04)	0.99 $\pm$ 0.10	(0.55)	0.50 $\pm$ 0.11	(1.35)	0.44 $\pm$ 0.07	(1.22)
Muscle	2.74 $\pm$ 0.65	(0.30)	8.04 $\pm$ 2.75	(0.64)	0.86 $\pm$ 0.40	(0.28)	0.29 $\pm$ 0.10	(0.16)	0.23 $\pm$ 0.10	(0.62)	N. D.	
Skin	7.31 $\pm$ 2.10	(0.80)	12.33 $\pm$ 2.73	(0.98)	4.56 $\pm$ 1.85	(1.49)	1.59 $\pm$ 0.41	(0.88)	2.11 $\pm$ 0.41	(5.70)	0.72 $\pm$ 0.16	(2.00)
Bone marrow	7.33 $\pm$ 1.87	(0.80)	22.91 $\pm$ 7.25	(1.83)	1.20 $\pm$ 0.34	(0.39)	0.63 $\pm$ 0.09	(0.35)	0.40 $\pm$ 0.05	(1.08)	0.45 $\pm$ 0.23	(1.25)
Mesenteric lymph node	13.56 $\pm$ 2.20	(1.48)	31.09 $\pm$ 8.10	(2.48)	6.42 $\pm$ 2.16	(2.10)	0.93 $\pm$ 0.22	(0.52)	0.62 $\pm$ 0.23	(1.68)	0.56 $\pm$ 0.12	(1.56)
Stomach	156.56 $\pm$ 94.23	(17.13)	77.52 $\pm$ 42.39	(6.18)	35.44 $\pm$ 34.81	(11.58)	1.05 $\pm$ 0.19	(0.58)	0.51 $\pm$ 0.08	(1.38)	1.15 $\pm$ 1.22	(3.19)
Small intestine	119.02 $\pm$ 19.22	(13.02)	157.57 $\pm$ 49.79	(12.56)	29.32 $\pm$ 13.90	(9.58)	2.25 $\pm$ 0.53	(1.25)	0.92 $\pm$ 0.08	(2.49)	1.61 $\pm$ 1.94	(4.47)
Caecum	63.49 $\pm$ 27.69	(6.95)	37.05 $\pm$ 12.06	(2.95)	67.64 $\pm$ 70.21	(22.10)	2.89 $\pm$ 0.68	(1.61)	1.15 $\pm$ 0.15	(3.11)	1.35 $\pm$ 1.49	(3.75)
Colon	43.92 $\pm$ 17.13	(4.81)	31.84 $\pm$ 10.53	(2.54)	81.80 $\pm$ 42.78	(26.73)	2.24 $\pm$ 0.45	(1.24)	0.85 $\pm$ 0.13	(2.30)	1.01 $\pm$ 1.07	(2.81)
Prostate	4.43 $\pm$ 0.87	(0.48)	21.46 $\pm$ 7.10	(1.71)	1.35 $\pm$ 0.24	(0.44)	0.35 $\pm$ 0.07	(0.19)	0.08 $\pm$ 0.11	(0.22)	N. D.	
Testis	4.96 $\pm$ 1.39	(0.54)	7.92 $\pm$ 1.38	(0.63)	4.59 $\pm$ 1.09	(1.50)	2.16 $\pm$ 0.27	(1.20)	0.66 $\pm$ 0.18	(1.78)	N. D.	
Epididymis	4.23 $\pm$ 0.80	(0.46)	10.26 $\pm$ 3.04	(0.82)	2.31 $\pm$ 0.59	(0.75)	0.58 $\pm$ 0.04	(0.32)	0.31 $\pm$ 0.09	(0.84)	N. D.	
Seminal vesicle	4.25 $\pm$ 0.68	(0.46)	21.79 $\pm$ 8.98	(1.74)	3.00 $\pm$ 1.96	(0.98)	0.48 $\pm$ 0.05	(0.27)	0.28 $\pm$ 0.03	(0.76)	N. D.	
Nerve	3.02 $\pm$ 0.70	(0.33)	6.78 $\pm$ 2.64	(0.54)	1.70 $\pm$ 0.47	(0.56)	0.80 $\pm$ 0.18	(0.44)	0.10 $\pm$ 0.22	(0.27)	N. D.	

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.D. for five or three (336hr) animals

T/P : tissue-to-plasma concentration ratio.

N. D. : Not detected ($<0.03\mu\text{g equiv. /g or ml}$)

Table V. Plasma and liver levels of P-4 and its metabolites during and after repeated oral administration of ^{14}C -P-4 to rats (100mg/kg/day $\times$ 7, n=5).

Metabolite	plasma (μg eq. of P-4/ml)			liver (μg eq. of P-4/g)		
	1st~24hr	4th~24hr	7th~24hr	1st~24hr	4th~24hr	7th~24hr
P-4	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
P-4(N $\rightarrow$ O)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
DPr-P-4 (N $\rightarrow$ O)	N. D.	N. D.	N. D.	1.712	6.173	4.062
DPr-P-4	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
DM-P-4	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
ω -OH-DM-P-4	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
ω -1-OH-Pr-BA(L)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
ω -1-OH-Pr-BA	0.138	0.220	0.149	1.527	3.450	3.833
ω -COOH-P-4	0.078	0.187	0.098	0.888	3.128	3.851
BA	0.506	0.587	0.348	2.345	3.618	4.264
others	0.447	1.029	0.624	1.842	2.555	3.367
Total	1.169	2.023	1.219	8.314	18.924	19.377

N.D. : not detected

Table VI. Plasma, liver, kidney and lung levels of P-4 and its metabolites after repeated oral administration of ^{14}C -P-4 to rats (100mg/kg/day $\times$ 7, n=5).

Metabolite	concentration (μg eq. of P-4 ml or g)								
	plasma			liver				kidney	lung
	1 hr	8 hr	24hr	1 hr	8 hr	24hr	48hr	8 hr	8 hr
P-4	0.183	0.285	N. D.	8.395	15.855	N. D.	N. D.	3.096	6.297
P-4(N $\rightarrow$ O)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	1.736
DPr-P-4(N $\rightarrow$ O)	0.271	0.568	N. D.	5.458	1.254	4.062	1.145	N. D.	N. D.
DPr-P-4	N. D.	0.168	N. D.	7.463	13.455	N. D.	N. D.	7.526	6.130
DM-P-4	N. D.	0.210	N. D.	10.203	24.459	N. D.	N. D.	6.069	23.086
ω -OH-DM-P-4	N. D.	N. D.	N. D.	2.893	3.739	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
ω -1-OH-Pr-BA(L)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
ω -1-OH-Pr-BA	0.378	0.477	0.149	5.896	10.194	3.833	1.641	2.826	N. D.
ω -COOH-P-4	0.431	0.587	0.098	7.101	9.362	3.851	1.001	3.414	N. D.
BA	0.616	0.873	0.348	5.819	7.869	4.264	1.208	N. D.	N. D.
others	1.741	2.074	0.624	16.920	30.365	3.367	0.716	11.576	8.620
Total	3.620	5.242	1.219	70.148	116.582	19.377	5.711	34.507	46.499

N.D. : not detected

1, 4 および 7 回投与後24hr における組織内濃度を Table III に示した。

4 回投与後24hr の組織内濃度は、ほとんどの組織において初回投与後24hr 値の約1.3~3.0倍の増加を示した。しかし、4 回投与後24hr 値と7 回投与後24hr 値とを比較すると、すべての組織において有意な増加がみられず、4 回投与後ではほぼ定常に達していた。

反復投与終了後の組織内濃度を Table IV に示した。

最終投与後1 hr の組織内濃度は、単回投与⁵⁾の場合と同様な組織分布様式を示したが、その濃度においてはハーダー氏腺、精巣、結腸および盲腸が、単回投与の約2.9倍 ($p<0.01$)、3.0倍 ($p<0.01$)、4.2倍 ($p<0.05$) および7.7倍 ($p<0.05$) をそれぞれ示した。他の組織においては、濃度に

Fig. 4. Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces after repeated oral administration of ^{14}C -P-4 to rats (100mg/kg/day $\times$ 7, $n=5$).

: administration of ^{14}C -P-4, ● : Urine, ▲ : Feces, ○ : Total

Table VII. Effect of repeated oral administration of P-4 on drug metabolizing enzymes in rat livers.

Treatment	aniline hydroxylation	aminopyrine N-demethylation	P-4 degradation	P-4(N→O) formation	DM-P-4 formation
	(nmol/min/mg protein) ^{a)}		(nmol/min/mg protein) ^{b)}		
Control	0.133 $\pm$ 0.028	0.135 $\pm$ 0.023	1.042 $\pm$ 0.323	0.570 $\pm$ 0.240	0.325 $\pm$ 0.068
P-4(20mg/kg/day p.o. $\times$ 7)	0.136 $\pm$ 0.040	0.203 $\pm$ 0.061	—	—	—
P-4(100mg/kg/day p.o. $\times$ 7)	0.132 $\pm$ 0.033	0.349 $\pm$ 0.123*	2.427 $\pm$ 0.266**	1.470 $\pm$ 0.231**	0.582 $\pm$ 0.052**
PB (80mg/kg/day i.p. $\times$ 3)	0.205 $\pm$ 0.045*	0.375 $\pm$ 0.084*	2.277 $\pm$ 0.257**	1.343 $\pm$ 0.207**	0.579 $\pm$ 0.051**

The data represent the mean $\pm$ SD of 4^{a)} or 6^{b)} rats. *or** : Significantly different from control at $p<0.05$ or $p<0.01$

— : not determined

有意差はみられなかった。また、最終投与後 8 hr の組織内濃度は、単回投与後 8 hr⁵⁾ の濃度と比較すると、盲腸、結腸、肝および血漿が約 1.8～2.9 倍 ($p<0.05$) を示したが、他の組織においては濃度に有意差は認められなかった。最終投与後 24hr においても、いずれの組織でも濃度の上昇はわずかであり、特に著明な濃度上昇を示す組織はみられなかった。また、最終投与後 336hr に

において放射能が検出される組織がみられたが、その濃度は非常に低いものであった。

4. 主要組織中代謝物濃度

1, 4 および 7 回投与後 24hr における血漿中代謝物濃度および肝臓中代謝物濃度を Table V に示した。血漿中主代謝物は BA であり、次いで ω -1-OH-Pr-BA, ω -COOH-P-4 が認められ、これらの濃度は 4 回投与でほぼ定常状態に達

した。未変化体および P-4(N→O), DPr-P-4, DM-P-4 の極性の低い代謝物は認められなかった。

肝臓中主代謝物は DPr-P-4(N→O) であり、次いで BA, ω -1-OH-Pr-BA, ω -COOH-P-4 が認められたが、これらはすべて極性の高い代謝物であった。また、これらの濃度は、血漿と同様 4 回投与でほぼ定常状態に達した。未変化体および極性の低い代謝物は、血漿中と同様に認められなかった。

反復投与終了後の主要組織中代謝物濃度を Table VI に示した。

最終投与後 8 hr における血漿中主代謝物は BA であり、次いで ω -COOH-P-4, DPr-P-4(N→O), ω -1-OH-Pr-BA がみられ、未変化体, DPr-P-4, DM-P-4 も認められたが、P-4(N→O) および ω -OH-DM-P-4 は認められなかった。また、24hr では BA, ω -1-OH-Pr-BA および ω -COOH-P-4 はみられたが、その他の代謝物は認められなかった。

肝臓中主代謝物は、最終投与後の初期においては DM-P-4, 次いで未変化体, DPr-P-4, ω -1-OH-Pr-BA, ω -COOH-P-4 であったが、未変化体, DPr-P-4, DM-P-4, ω -OH-DM-P-4 は 24hr 以降認められず、かわって BA, DPr-P-4(N→O), ω -COOH-P-4, ω -1-OH-Pr-BA などの極性代謝物が主としてみられ、それらは比較的長時間にわたり認められた。

最終投与後 8 hr の腎においては DPr-P-4, DM-P-4 が主であり、次いで ω -COOH-P-4, 未変化体, ω -1-OH-Pr-BA の順であった。

最終投与後 8 hr の肺では DM-P-4 が主であり、次いで未変化体, DPr-P-4 であり、P-4(N→O) も認められた。

5. 尿糞中排泄

^{14}C -P-4 の毎回投与後の毎回総投与量に対する尿糞中放射能の累積排泄率を Fig. 4 に示した。毎回投与後の 24hr 毎の尿中排泄率は、4 回投与後までは徐々に上昇していき、4 回投与以降は約 37% とほぼ一定の排泄率を示し、最終投与後 24hr でそのほとんどが排泄された。毎回投与後 24hr の糞中排泄率は、5 回投与以降ほぼ一定の排泄率を示し、最終投与後 48hr でそのほとんど

が排泄され、約 61% が糞中に排泄された。また、最終投与後 96hr での体内残存は、総投与量の 0.1 % 以下であった。

6. 酵素誘導

各薬物投与後の肝ホモジネートにおける酵素活性の測定結果を Table VII に示した。

P-4 投与群の aniline の水酸化活性は、control 群のそれに比べて有意な増加はみられなかったが、aminopyrine の N-脱メチル化活性は、高用量群においてのみ有意な増加 (約 2.6 倍, $p < 0.05$) を示した。PB 投与群ではいずれも有意に増加した。

P-4 の代謝速度についても、P-4 高用量投与群は control 群に比べて有意に増大し、約 1.6 倍の速度を示した ($p < 0.01$)。さらに P-4(N→O) の生成速度についても、有意に増大して約 1.8 倍の速度を示し ($p < 0.01$)、DM-P-4 の生成速度についても同様に有意に増大し、約 1.2 倍の速度を示した ($p < 0.01$)。

考 察

^{14}C -P-4 をラットに反復投与した場合の体内動態について検討し、あわせて P-4 の肝薬物代謝酵素系への影響について検討した。

毎回投与後 24hr の血液中濃度は、投与約 4.8 日でほぼ定常状態に達し、その濃度 ($C_{\min}^{\text{ss}}$) は初回投与後の約 1.8 倍であり、また、最終投与後の AUC は単回投与後の約 1.4 倍であり、いずれも 2 倍以下の値であることから、反復投与による血液中濃度には著しい変化はないものと推測された。しかしながら、 $C_{\min}^{\text{ss}}$ は単回投与からシミュレーションした結果より低い値であること、また、反復投与により $T_{1/2}$ が延長することから、反復投与により何らかの変動要因があることが示唆された。

これらの変動要因が何に起因するかを考察する目的で、単回投与後の血漿中代謝物濃度と反復投与終了後のそれとを比較検討した。単回投与においては、投与後 8 hr までは未変化体ならびに P-4(N→O) が認められた⁶⁾ のに対し、反復投与群では、P-4(N→O) は測定した全時点で全く認められず、未変化体も投与後短時間で認められたものの、24hr では検出限界以下となってい

た。また、反復投与の毎回投与後24hr においても、血漿中に未変化体は認められず、より代謝の進んだ BA などの極性代謝物が主に認められた。組織中極性代謝物が反復投与により多く見出される原因として、極性代謝物への代謝が促進されることも考えられた。また、これら極性代謝物は総放射能の半分近くを占めており、これら代謝物の $T_{1/2}$ が長く、反復投与の総放射能の $T_{1/2}$ が、単回投与のそれより見かけ上長くなったことも推察された。

一方、肝臓中の代謝物濃度についてみると、反復投与後においては、未変化体および DM-P-4 などの比較的疎水性の高い代謝物が、24hr 後には検出限界以下となるのに対して、BA などの極性代謝物は長時間まで認められた。このような傾向は、血漿中代謝物濃度の推移と同様の理由により生じたものと推測された。反復投与終了後8 hr における腎の代謝物濃度をみると DPr-P-4, DM-P-4が主であったが、P-4を基質とした場合の *in vitro* 代謝実験での主生成物である P-4 (N→O)¹²⁾ がほとんど生成されなかったことから、P-4からの代謝物である P-4(N→O) の腎組織からの消失は速やかであり、DPr-P-4 や、DM-P-4のそれは比較的遅いものと考えられた。また、反復投与終了後8 hr の肺組織中では DM-P-4が主であり、次いで未変化体、DPr-P-4であったが、肺における同様な *in vitro* の代謝実験では、その代謝活性は弱く、P-4(N→O) の生成が少量認められていたのみであった¹⁾。ことを考え併せると、これらの代謝物は血液由来のものと考えられ、肺への移行性が比較的高いために濃度が高まったものと考えられた。

反復投与後の組織中濃度は、血漿中濃度推移にはほぼ対応して動き、ほとんどの組織において、4 回投与後までにはほぼ定常状態に達するものと考えられた。また、7 回投与後の組織中濃度を単回投与後⁵⁾ と比較してみると、ほとんどの組織において濃度が増加したものの、その程度は小さく、投与終了後には徐々に消失していったことなどから、特に貯留性の大きな組織はないものと考えられた。このことは全身 ARG 像からも確認され、反復投与後72hr 以降では、肝にわずかに放射能がみられた以外は確認されなかった。P-4の

高用量 (100mg/kg) 反復投与によりラット肝における aminopyrine N-demethylase 活性に明らかな誘導が認められ、さらにP-4の代謝速度も明らかに増大したことから、P-4を反復投与することで、薬物代謝酵素系が誘導されることが示唆された。ラット亜急性毒性試験結果によると、50mg/kg 以上の投与量において肝重量が増加し、病理組織学的に肝細胞の肥大と著明な滑面小胞体の増殖が認められている¹³⁾ が、これらの現象も酵素誘導に起因した結果であると推測された。しかしながら、低用量 20mg/kg では酵素誘導は認められていないことから、ヒトの場合を類推すると、臨床用量が0.4mg/kg/day と非常に低用量であるため、ほとんど酵素誘導はみられないものと考えられた。

P-4の代謝に比較的大きく関与している酵素は、主として N-oxidation および N-demethylation に関するものであると推定されており¹²⁾、一般に、これらはそれぞれ microsomal FAD-containing monooxygenase (以下 MFMOと略)、mixed-function oxidase (cytochrome P-450 dependent) (以下 MFO と略) などの酵素によって触媒されて発現するといわれている^{14,15)}。これらの活性それぞれについてみた場合、P-4(N→O) の生成速度、DM-P-4の生成速度共に増大したことから、P-4の代謝活性における誘導は、見かけ上前述の2種の酵素が共に誘導されたことによると推測された。MFMOは、cytochrome P-450の誘導剤として知られている PB や3-methylcholanthrene によって誘導されないという報告^{16,17)} があるものの、P-4によって誘導される可能性もあるものと考えられた。また、tertiaryamine の N-oxidationに MFO が同時に関与している可能性もある^{18,19)} ことから、P-4のN-oxidation においてもMFO が関与したことも推測された。今後阻害剤を用いた実験を行うことにより、これらについては明らかになるものと思われた。

反復投与において認められた単回投与との血漿中ならびに肝臓中代謝物の相違は、P-4やP-4(N→O) が反復投与により比較的速やかに代謝を受けて、単回投与より速やかに血漿中や肝臓中から消失し、極性代謝物へと代謝されたことが一

理由であると推測された。反復投与後の血液中濃度推移における実測値の $C_{\min}^{ss}$ が、単回投与後の血液中濃度推移からシミュレーションした $C_{\min}^{ss}$ より有意に低い値を示したことも、これら P-4 の代謝亢進により影響を受けたものと推察された。

P-4 をラットに経口投与した際に薬理活性を示すのは、平滑筋直接作用を示す未変化体、P-4 (N→O) および抗コリン作用を示す DPr-P-4 (N→O), DPr-P-4 であるといわれており^{20,21)}、反復投与した場合においても、毎回投与後短時間では P-4 (N→O) は肺を除き検出されなかったが、血漿中には未変化体、DPr-P-4 および DPr-P-4 (N→O) が、また、組織中には比較的長時間まで DPr-P-4 (N→O) が検出されたことから、これら代謝物が相加あるいは相乗的に薬理効果を発現するものと推測された。

尿中排泄率は、投与期間中はほぼ一定の割合であり、単回投与⁵⁾ とほぼ同じ値であった。糞中排泄においては、排泄の遅れが認められたが、単回投与実験によると、排泄がほぼ完了するのに約 48 hr を要することが示唆されていることから⁵⁾、反復投与により実際に排泄に遅れを生じているものとは考えられなかった。最終投与後 48 hr までに総投与量の大部分が排泄され、最終投与後 96 hr における体内残存も 0.1% 以下であったことから、P-4 は反復投与においても排泄が良好であり、貯留性はないものと考えられた。

要 約

¹⁴C-P-4 をラットに反復投与したときの体内動態および肝薬物代謝酵素系への影響について検討し、以下の結果を得た。

1. P-4 反復投与期間中の血液中放射能濃度は、投与 5 日後には定常状態となり、7 回反復（最終）投与後の推移は、 $T_{1/2}$ が延長したものの、その他の pharmacokinetic parameter は単回投与と大きな相違は認められなかった。
2. P-4 を反復投与することにより、組織中濃度は 4 回投与でほぼ定常となり、約 1.3~3.0 倍上昇したが、最終投与後徐々に消失し、反復投与により特に蓄積する組織は認められなかった。P-4 反復投与後の全身 ARG の結果においても同様であり、反復投与による特定臓器中への薬物の貯留は認められなかった。
3. P-4 反復投与期間中放射能の尿中排泄率はほぼ一定の値を示し、糞中排泄も最終投与後 48 hr でほぼ完了した。これらの排泄率は単回投与（絶食時投与）とほぼ同じ値であった。また、最終投与後 96 hr までに総投与量の約 99% が排泄され、体内残存はほとんどなかった。
4. P-4 を反復投与することにより、N-oxidation 活性および N-demethylation 活性に関与する酵素が誘導を受け、その結果として P-4 の代謝も亢進されることが示された。

文 献

- 1) Vietinghoff, G. and Hammer, S. : Untersuchung der antispasmodischen Wirkung von α, α -Diphenyl- α, n -propoxyessigsäure-4-(1-methylpiperidyl)-ester (Mictonorm[®]) an der isolierten Meerschweinchenharnblase. *Zbl. Pharmacother. Laboratoriumsdiagn.*, 120 : 1219-1224 (1981).
- 2) Riotte, J. and Mutschler, E. : Untersuchungen zur spasmolytischen Aktivität von Propiverin und einigen seiner Strukturanaloga. *Arzneimittelforsch.*, 37 : 300-302 (1987).
- 3) Kelly, L.-U. and Wehnert, J. : Die Wirkung von Anticholinergika auf den Harnblasentonus und auf die Funktion der Harnentleerung. *Z. Urol. Nephrol.*, 72 : 765-769 (1979).
- 4) Dorschner, W., Jacob, J., Höfner, K. and Dieterich, F. : Die Wirkung des Anticholinergikums Mictonorm[®] auf den unteren Harntrakt. *Dtsch. Gesundheitswes.*, 37 : 950-952 (1982).
- 5) 山本佳男, 津田益広, 宇田和彦, 新藤恭司, 川口安郎 : Propiverine hydrochloride の体内動態 (第 1 報) ラット単回投与後の吸収, 分布および排泄. *薬物動態*, 4 : 537-551 (1989).
- 6) 山本佳男, 南 慶典, 吉田昌彦, 津田益広, 宇田和彦, 新藤恭司, 梅野幸彦, 川口安

- 郎 : Propiverine hydrochloride の体内動態 (第2報) ラット単回投与後の代謝.
薬物動態, 4 : 553-551 (1989).
- 7) Ullberg, S. : Studies on the distribution and fate of ^{35}S -labeled benzylpenicillin in the body. *Acta Radiol. (Suppl.)*, 118 : 1-110 (1954).
 - 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) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagents. *J. Biol. Chem.*, 193 : 265-275 (1951).
 - 10) Dickinson, R.G. and Jacobsen, N.W. : A new sensitive and specific test for the detection of aldehydes : formation of 6-mercapto-3-substituted-s-triazolo[4,3-b]-s-tetrazines. *Chemical Communications*. : 1719-1720 (1970).
 - 11) Wagner, J.G. : Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics. Drug Intelligence Pub., IL : 136-143 (1975).
 - 12) 山本佳男, 吉田昌彦, 梅野幸彦, 丸中照義, 川口安郎 : 塩酸プロピペリン (P-4) の体内動態, 投与経路及び各動物種における代謝動態の比較, 第107回日本薬学会講演要旨集 : 884 (1987).
 - 13) 中野茂樹, 桑田雅彦, 長谷川浩之, 入村兼司, 丸伝 章, 森田健一 : Propiverine hydrochloride のラット経口投与による13週間亜急性毒性試験および5週間回復試験. *J. Toxicol. sci.*, 14 Suppl. II : 13-59 (1989).
 - 14) Ziegler, D.M. : Microsomal flavin-containing monooxygenase : Oxygenation of nucleophilic nitrogen and sulfur compounds. in "Enzymatic Basis of Detoxication", Vol. 1, Jacoby, W.B. (ed.), Academic Press, New York : pp. 201-229 (1980).
 - 15) Gibson G. Gordon and Skett Paul, 村田敏郎ら訳 : 入門薬物代謝, 講談社サイエンティフィク : pp. 50-52 (1987).
 - 16) Ziegler, D.M., Poulsen, L.L. and Mckee, E.M. : Interaction of primary amines with a mixed-function oxidase isolated from pig liver microsomes. *Xenobiotica.*, 1 : 211-291 (1971).
 - 17) Sum, C.Y. and Kasper, C.B. : Mixed-function amine oxidase of the rat hepatocyte nuclear envelope : Demonstration and effect of phenobarbital and 3-methylcholanthrene. *Biochem. Pharmacol.*, 31 : 69-73 (1982).
 - 18) Iwasaki, K. and Noguchi, H. : N-Oxidation and N-dealkylation of tiaramide by liver microsomal cytochrome P-450, in "Microsomes, Drug Oxidation and Drug Toxicity". Sato, R. and Kato, R. (eds), Japan Scientific Societies Press, Tokyo (1982), pp. 567-568.
 - 19) Frendrick, C.B., Mays, J.B., Ziegler, D.M., Guengerich, F.P. and Kadlubar, F.F. : Cytochrome P-450 and Flavin-containing monooxygenase-catalyzed formation of the carcinogen N-hydroxy-2-aminofluorene and its covalent binding to nuclear DNA, *Cancer Res.*, 42 : 2671-2677 (1982).
 - 20) 野村鳴夫, 金子 茂, 浜川寿博, 永井正則, 入来正躬 : Propiverine hydrochloride およびその代謝物のラット生体位膀胱機能に対する作用. 日薬理誌, 94(3) : 173-180 (1989).
 - 21) 春野明弘, 山崎靖人, 三好和久, 三宅秀和, 土屋勝彦, 小坂光男, 永井正則, 入来正躬 : 頻尿改善剤 Propiverine hydrochloride およびその代謝物のモルモット摘出膀胱標本に対する作用. 日薬理誌, 94(2) : 145-150 (1989).