- 9) W. Droste, H.D. Scharf, F. Korte, *Ann. Chem.*, **724**, 71 (1969).
- 10) C. Berger, M.F. Neumann, G. Qurisson, *Tetrahedron Lett.*, **1968**, 3451.
- 11) T. Saegusa, I. Murase, Y. Ito, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **45**, 1884 (1972).
- 12) L.G. Tensmeyer, C. Ainsworth, *J. Org. Chem.*, **31**, 1878 (1966).

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (2) 198-201 (1981)

**Tulobuterol の生体内運命 (第 5 報¹⁾) ラット, イヌ, モルモットおよび
ウサギにおける代謝および排泄に関する種差**

松村卓子,^{*,a} 高原義男,^a 荒谷隆幸,^a 西出和憲,^a 加藤日出男,^a 桐山典城^b
北陸製薬株式会社中央研究所,^a 北陸大学薬学部^b

**Studies on the Metabolic Fate of Tulobuterol. V.¹⁾ Species Differences in the
Metabolism and Excretion in Rat, Dog, Guinea Pig and Rabbit**

KUGAKO MATSUMURA,^{*,a} YOSHIO TAKAHARA,^a TAKAYUKI ARATANI,^a
KAZUNORI NISHIDE,^a HIDEO KATO,^a and NORIKI KIRIYAMA^b

Hokuriku Seiyaku Co., Ltd.,^a Inokuchi, Katsuyama, Fukui and Faculty of Pharmaceutical
Sciences, Hokuriku University,^b Kanagawa-cho, Kanazawa

(Received October 3, 1980)

The species differences in the metabolism and excretion of tulobuterol (I) were investigated in rat, dog, guinea pig and rabbit after oral administration of ¹⁴C-tulobuterol.

The urinary metabolites were analyzed by thin-layer chromatography.

The urinary excretion of radioactivity within 72 hr. was estimated and about 50% of the administered dose were excreted in the urine of rat, dog and guinea pig, whereas relatively a small amount (24.6% of dose) in the urine of rabbit.

The excretion of ¹⁴CO₂ into expired air within 48 hr. was 19.6% and 35.8% of dose in guinea pig and rabbit, respectively, and these values were larger than 0.8% in rat.

Major metabolites excreted in the urine were 3-hydroxy-(III) and 4-hydroxy-5-methoxytulobuterol (IV) in rat, IV and *o*-chloromandelic acid (VI) in dog, an unchanged drug, 1-(*o*-chlorophenyl)-1,2-ethandiol (V) and IV in guinea pig, and VI in rabbit.

On the basis of these results it was clarified that there were marked species differences in the metabolism and excretion of I.

Keywords—species differences; metabolism; excretion; tulobuterol; broncho-dilator

Fig. 1. Structure of Tulobuterol and Its Metabolites in Rat Urine

Phenethylamine 誘導体である tulobuterol (I) は adrenergic β -receptor 刺激による気管支拡張剤で、その作用は気管支筋に対し選択的であり、かつ持続的であることが報告されている。²⁾ さきに著者らは I のラットでの生体内運命について検討し、³⁾ 経口投与時での尿中代謝物として未変化体のほか 4-hydroxy-(II), 3-hydroxy-(III), 4-hydroxy-5-methoxytulobuterol (IV), 1-(*o*-chlorophenyl)-1,2-ethandiol (V) および *o*-chloromandelic acid (VI) を同定し (Fig. 1), 主代謝物経路が芳香環水酸化反応であることを明らかとした。一方経口投与時にお

るヒト尿中からも芳香環水酸化体が検出され、⁴⁾ 類似構造を有するclorprenaline⁵⁾ とは異なる代謝経路で代謝されていることが示唆された。

そこで今回、ラットを含めた各種動物での経口投与時における排泄量ならびに尿中代謝物における種差について比較検討したので報告する。

実 験 方 法

標識化合物 Diethyl 2-¹⁴C-malonate (第一化学薬品) を出発原料として前報^{3a)} の方法にしたがって合成した ¹⁴C-tulobuterol (メチレン炭素をラベル) を用いた。

使用動物および投与方法 雄性の SD 系ラット (200—250 g), ビーグル犬 (9—11 kg), Hartley 系モルモット (310—350 g) および白色在来種ウサギ (2.0—2.5 kg) を 24 時間絶食後実験に供した。イヌでは ¹⁴C-tulobuterol をカプセルに入れて 1 mg/kg 経口投与した。ラット, モルモットおよびウサギでは ¹⁴C-tulobuterol を水溶液とし, 2 mg/kg 胃ゾンデを用いて胃内へ強制投与した。なお, 飼料は投与 1 時間目より与え, 水は絶食中も自由に与えた。

尿, 糞, 呼気中排泄率の測定 前報^{3a)} に準じて処理し, 所定時間毎に放射能を測定した。なお, 呼気中排泄についてはラット, モルモットおよびウサギで行なった。

尿中代謝物の分離 採取した尿 10 ml を conc. NH₄OH で pH 9.5 に調整し, ethyl acetate 10 ml で 3 回抽出する。この ethyl acetate 層を 10 ml まで減圧留去し 0.1 N HCl 10 ml で抽出し, 水層部へ移行する塩基性部と ethyl acetate 層に残留する中性部に分画した。最初の水層部は conc. HCl で pH 2.5 とし, ethyl acetate 10 ml で抽出, ethyl acetate 層に移行する酸性部と移行しない水溶性部に分画した。抱合体については水溶性部を 5% HCl で 3 時間加熱して加水分解後, 前述の方法で塩基性部, 中性部, 酸性部および水溶性部に分画し, それぞれの放射能を測定した。

尿中代謝物の定量 塩基性部, 中性部および酸性部につき薄層クロマトグラフィーを行い, 前報^{3b)} に準じて代謝物を定量した。ただし, 展開溶媒としては塩基性・中性代謝物の分離には A) CHCl₃-CH₃OH-conc. NH₄OH (77: 20: 3 v/v) を, 酸性代謝物の分離には B) benzene: acetone: ethyl acetate (50: 50: 3) を用いた。

結 果 お よ び 考 察

¹⁴C-Tulobuterol の経口投与後 72 時間までの尿・糞中排泄量 (Table I) および 48 時間までの呼気中排泄量 (Table II) を比較した。

ラットおよびイヌでは尿・糞中排泄量が 80% 以上であるが, モルモットおよびウサギは少なく, 呼気中排泄

TABLE I. Cumulative Urinary and Fecal Excretion of Radioactivity after Oral Administration of ¹⁴C-Tulobuterol in Various Animals

Animals	Time (hr)	Dose (mg/kg)	% of dose		
			Urine	Feces	Total
Rat	0—24	2	46.3 ± 2.0	30.7 ± 1.0	77.0
	0—48		47.7 ± 1.8	32.9 ± 0.9	80.6
	0—72		48.2 ± 1.8	33.9 ± 1.1	82.1
Dog	0—24	1	46.7 ± 2.7	30.3 ± 2.4	79.0
	0—48		51.2 ± 2.9	32.1 ± 2.5	83.3
	0—72		52.0 ± 3.0	32.7 ± 2.5	84.7
Guinea pig	0—24	2	46.3 ± 2.1	10.8 ± 0.9	57.1
	0—48		47.4 ± 2.0	17.3 ± 1.0	64.7
	0—72		47.7 ± 2.0	18.8 ± 0.8	66.5
Rabbit	0—24	2	23.0 ± 1.0	6.5 ± 0.8	29.5
	0—48		23.8 ± 1.2	7.4 ± 0.6	31.2
	0—72		24.6 ± 0.8	8.0 ± 0.7	32.6

Each value is expressed as the mean S.E. of three animals.

TABLE II. Percent Recovery of ^{14}C in Expired CO_2 after Oral Administration of ^{14}C -Tulobuterol in Various Animals

Animals	Time (hr)	Dose (mg/kg)	$^{14}\text{CO}_2$
Rat	0—24	2	0.6 ± 0.2
	0—48		0.8 ± 0.1
Guinea pig	0—24	2	18.3 ± 1.1
	0—48		19.6 ± 1.1
Rabbit	0—24	2	35.0 ± 1.5
	0—48		35.8 ± 1.4

Each value is expressed as the mean S.E. of three animals.

TABLE III. Metabolites in Basic, Neutral and Acidic Fraction of Urine in Various Animals

Animals	% of dose												Total								
	Basic metabolites								Neutral metabolite		Acidic metabolite										
	I				II				III					IV		V		VI			
	F		C		F		C		F		C			F		C		F		C	
	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C		F	C	F	C	F	C		
Rat	2.1	0.1	0.1	1.2	0.5	14.0	0.3	12.0	0.1	0.1	0.9	n.d.	31.4								
Dog	1.9	0.1	0.4	0.3	0.2	1.1	1.1	2.8	0.3	0.8	4.5	0.1	13.6								
Guinea pig	8.8	0.2	2.1	1.0	n.d.		0.2	0.5	5.5	3.5	8.0	0.1	29.9								
Rabbit	0.3	n.d.	n.d.	1.0	n.d.		n.d.		0.3	1.4	7.6	0.2	10.8								

F: Free, C: Conjugated, n.d.: not detected.

Fig. 2. Distribution of Radioactivity among Basic, Neutral, Acidic and Aqueous Fractions of Various Animals Urine after Oral Administration of ^{14}C -Tulobuterol

R: rat, D: dog, G: guinea pig, Ra: rabbit,
□: conjugated, ■: free.

25.5% および 32.6% と大差はないが、塩基性分画の 98% が未変化体であることからラットとは全く異なる経路で代謝されることが明らかとなった。ウサギでは酸性分画が尿中排泄量に対して 48.2% を占め、ラットとは異なる経路で代謝されるが、中性分画および代謝物が少ないことはモルモットとも異なっていた。

すなわち今回の結果から各動物の代謝経路を推察すると (Fig. 3), ラットでは芳香環水酸化が主代謝経路であり、モルモットおよびウサギでは側鎖の酸化とくに $^{14}\text{CO}_2$ の排泄がラットより多いことから *o*-chlorobenzyl al-

量を考慮すればモルモット 86%, ウサギ 68% に達するもののラットとは本質的に異なる代謝経路が示唆された。そこで各動物の 24 時間尿を塩基性、中性、酸性および水溶性分画にわけ、それぞれの代謝物を定量し、さらに水溶性部を 5% HCl で加水分解し同様に操作したものを抱合体の量としてあらわし比較した (Fig. 2, Table III)。

ラットでは塩基性分画が尿中排泄量の 74.1% を占めその 81.9% がフェノール化され、そのほとんどが (96.8%) 抱合化されていた。イヌでは水溶性分画が尿中排泄量の 56.1% を占め、ラットとは異なる代謝経路が存在していることが示唆されたが、それが単に抱合体の種類が異なるのか、別の代謝物が存在するのかは明らかではない。残る分画についてはフェノール化された代謝物と側鎖が酸化された代謝物が同程度の割合で検出された。モルモットでは塩基性、中性および酸性分画が尿中排泄量に対して 28.3%,

Fig. 3. Possible Metabolic Pathways in Various Animals

cohol (VII) を経てさらに *o*-chlorobenzoic acid となる経路が主代謝経路と考えられる。イヌについては未知代謝物が多く、主代謝経路の解明にはいならずさらに検討を要する。

これらの結果、活性代謝物⁶⁾を含む塩基性代謝物が検出されたラットやイヌがヒトに比較的類似していることが示唆され、この点がヒトでの代謝が側鎖酸化のウサギに類似している clorprenaline とは全く異なっており、両薬物の臨床での効果の違いが示唆された。

引用文献および注

- 1) 第4報：高原義男，荒谷隆幸，西出和憲，松村卓子，加藤日出男，桐山典城，薬誌，**100**，1241 (1980)。
- 2) a) S. Kubo, Y. Kase, T. Miyata, I. Uesaka, *Arzneim-Forsch.*, **25**, 1028 (1975); b) S. Kubo, I. Uesaka, I. Matsubara, I. Ishihara, Y. Kase, *Arzneim-Forsch.*, **27**, 1439 (1977)。
- 3) a) 第1報：上坂征夫，荒谷隆幸，西出和憲，越中栄一，新田啓一，山本 譲，医薬品研究，**7**，548 (1976); b) 第2報：山本 譲，樋口昭幸，藤橋俊明，清水 栄，西出和憲，上坂征夫，薬誌，**97**，244 (1977); c) 第3報：山本 譲，新田啓一，藤橋俊明，上坂征夫，西出和憲，薬誌，**97**，231 (1977)。
- 4) K. Matsumura, O. Kubo, T. Sakashita, Y. Adachi, H. Kato, K. Watanabe, M. Hirobe, *J. Chromatogr.*, 印刷中。
- 5) K. Tatsumi, N. Arita, C. Yamato, H. Yoshimura, H. Tsukamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1254 (1970)。
- 6) a) Y. Gomi, H. Shirahase, H. Funatsu, *Japan Pharmacol.*, **29**, 515 (1979); b) 越中栄一，倉田 栄，山岸輝里，久保信治，加藤日出男，薬誌，**98**，1198 (1978)。