薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
103 (3) 342-349 (1983)

新規 Butyrophenone 系抗精神病薬, Timiperone の全身オートラジオ グラフィーによるラット, サル体内分布に関する研究

須藤賢一,* 立沢晴男

第一製薬株式会社中央研究所

Autoradiographic Studies on the Distribution of ^{14}C -Labeled Timiperone, a New Butyrophenone Antipsychotic, in the Rat and Monkey

KENICHI SUDO* and HARUO TACHIZAWA

Research Institute, Daiichi Seiyaku Co. Ltd., 16-13, Kita-kasai
1-chome, Edogawa-ku, Tokyo, 132, Japan

(Received August 30, 1982)

The distribution of ^{14}C -timiperone, a butyrophenone antipsychotic, was studied in rat and monkey by means of autoradiography. Tissue levels of radioactivity in the rat at 2 h after a single oral administration of 0.5 mg of the drug per kg were high in the order of the gastrointestinal contents, liver, urinary bladder, salivary gland, thyroid, pituitary, adrenal, harderian gland, kidney, lung, heart, testis, skeletal muscle and brain. In the rat brain, higher concentrations of radioactivity were detected in the striatum, nucleus accumbens and frontal cortex in which cerebral dopamine receptors were localized, as compared with other brain regions. The tissue levels of radioactivity persisted up to 10 h after dosing. Repeated oral administration did not affect the distribution pattern of radioactivity. In the monkey which received a single oral dose of 1 mg per kg, tissue levels of radioactivity at 2 h after the administration were high in the order of the gastrointestinal contents, gall-bladder, liver, kidney, thyroid, pituitary, salivary gland, lung, heart, eye, blood, bone marrow, skeletal muscle and brain. In the monkey brain, radioactivity was localized in the brain regions including the caudate nucleus, putamen and cortex. The monkey uveal tract had a similar concentration of radioactivity to the blood.

Thus, it was confirmed that ^{14}C -timiperone could be transferred to the cerebral dopaminergic systems associated closely with the exhibition of antipsychotic activity of major tranquilizer.

Keywords—antipsychotic; butyrophenone; autoradiography; rat; monkey

ブチロフェノン系薬物は、抗精神病薬として精神分裂病の治療に臨床で広く使用されている。Timiperone (以下 TP と略) は、当研究所で合成された新規 butyrophenone であり、¹⁾ 実験動物とヒトで優れた抗精神病作用が確認されている。^{2,3)} Butyrophenone 系薬物の抗精神病作用は脳内ドーパミン受容体の遮断により発現されるとする仮説が提唱されており、⁴⁻⁶⁾ 脳内ドーパミン作動性神経系への薬物の分布に興味を持たれる。著者らは、これまでに、代表的 butyrophenone 系抗精神病薬である haloperidol と比較して timiperone が脳内ドーパミン受容体を約 5 倍強力に遮断すること、*in vivo* における timiperone の活性本体が未変化体であることを明らかにした。⁷⁾ また、多くの向精神薬が体内の特異的な組織へ高濃度に蓄積し重篤な副作用を発現する可能性が示唆されている。⁸⁾ Timiperone を初めとする butyrophenone 系抗精神病薬の体内動態は、これまでに多くの研究者により検討されてきた⁹⁻¹⁷⁾ が、体内分布傾向を詳細に把握できる全身オートラジオグラフィーによる体内分布の研究は報告されていない。従って、timiperone の有効性と安全性を考える上で全身オートラジオグラフィーにより体内分布を検討することは重要であると考えられる。

以上の理由により、著者らは、 ^{14}C 標識 timiperone をラットおよびサルに単回あるいは連続経口投与し、その体内分布を全身オートラジオグラフィーにより検討した。その結果、興味ある知見を得たので報告する。

実 験 の 部

標識化合物および試薬 標識化合物としては, Fig. 1 に化学構造式を示す ^{14}C -timiperone (以下 ^{14}C -TP と略), 4'-fluoro-4-[4-(2-thioxo-1-[2- ^{14}C]benzimidazolyl)piperidino]butyrophenone を使用した. ^{14}C -TP は第一化学薬品株式会社東海研究所により合成され, その比放射能が 33.0, 36.0 および 43.1 mCi/mmol のもので, 放射化学的純度がそれぞれ 99% の化合物を使用した. その他の試薬および溶媒はいずれも試薬特級品を使用した.

使用動物 ウィスター系雄ラット (静岡実験動物農業協同組合, 体重約 200—250 g, 8 週令) を各時点 1 匹計 7 匹使用した. 雄カニクイザル (静岡実験動物農業協同組合, 体重 1.7 kg) 1 匹を使用した.

検体溶液の調製と投与方法 ^{14}C -TP は, 0.5% (w/v) sodium carboxymethyl cellulose (キシダ化学) 水溶液に懸濁し, ラットには 0.2 ml/100 g 体重, サルには 2 ml/kg 体重ずつ経口投与した.

単回投与実験においては, ^{14}C -TP をラットおよびサルに, それぞれ 0.5 mg/kg (50.6 $\mu\text{Ci/kg}$) と 1 mg/kg (90.6 $\mu\text{Ci/kg}$) を経口ゾンデならびに乳児用カテーテル (アトム栄養カテーテル, NS-510) により経口投与した.

7 日間連続投与実験においては, ^{14}C -TP をラットに 0.5 mg/kg (41.5 $\mu\text{Ci/kg}$) を 1 日 1 回 7 日間連続経口投与した.

21 日間連続投与実験においては, ^{14}C -TP をラットに 0.5 mg/kg (40.3 $\mu\text{Ci/kg}$) を 1 日 1 回 21 日間連続経口投与した.

全身オートラジオグラフィ 単回投与実験においては, ^{14}C -TP をラットに経口投与後 2, 10, 24 h に, サルに経口投与後 2 h にエーテル麻酔死させた. 連続投与実験においては, ^{14}C -TP をラットに 7 日間連続投与後 24 h および 72 h に, 21 日間連続投与後 24 h および 48 h にエーテル麻酔死させた. 全身オートラジオグラムは, 松岡らの方法¹⁸⁾に準じて作製した. すなわち, 麻酔死させた動物を直ちに -70°C のアセトン-ドライアイス浴中で凍結した. これをマイクロトームのステージ上に 7% sodium carboxymethyl cellulose 水溶液で包埋し, クライオマイクロトーム (S.P.I., PMV 400 型) により 40 μm の凍結全身切片を作成した. 得られた全身切片は -20°C で凍結乾燥後, カセット中でオートラジオグラフィフィルム (小西六, ^3H タイプ) とラットでは約 3—7 ヶ月, サルでは約 1 ヶ月間密着させて全身オートラジオグラムを作成した. 組織内放射能濃度については, オートラジオグラムの黒化度を目で判断し, 相対濃度を判定した.

実 験 結 果

単回投与時の体内分布

i) ラット (Fig. 2—4) ^{14}C -TP 0.5 mg/kg 経口投与後 2 h で放射能は, 胃腸管内容物で最も高濃度に認められ, ついで, 肝, 膀胱尿, 唾液腺, 甲状腺, 下垂体, 副腎, ハーダー腺, 腎, 肺, 心臓, 睪丸, 骨格筋, 血液, 脳の順にその濃度が低下した (Fig. 2a, 2b). 脳内では, ドーパミン作動神経系に属する線条体および側坐核への放射能の分布が他の脳領域と比較して高く, 特異的脳内分布が認められた (Fig. 2c). 放射能濃度は投与後 10 h まで持続し, 分布傾向は投与後 2 h の傾向と類似していた (Fig. 3a, 3b). また, 眼組織への放射能の分布は極めて低いことが判明した (Fig. 3c). 投与後 24 h には, 腸内容物および肝で高濃度の放射能による黒化が認められるに過ぎず, 他の体内組織の放射能は, いずれも低濃度になった (Fig. 4).

ii) カニクイザル (Fig. 5) ^{14}C -TP 1 mg/kg 経口投与後 2 h で放射能は, 胃腸管内容物, 胆のう内容物, 肝, 腎, 甲状腺, 下垂体, 唾液腺, 肺, 心臓, 眼球, 血液, 骨髄, 筋肉, 脳の順にその濃度が低下した. 脳内では, 放射能は尾状核, 被殻, 前頭葉皮質を含む大脳皮質をはじめ各脳領域へ分布した. 眼球内では, 放射能は, ブドウ膜で最も高濃度であり, 水晶体およびレンズへはほとんど分布しなかった.

連続投与時の体内分布

i) ラット 7 日間連続投与時 (Fig. 6) ^{14}C -TP 0.5 mg/kg, *p.o.*, 7 日間連続投与後 24 h では, 放射能濃度は, 肝および腸管内容物において最も高く, これについて腎, 副腎, ハーダー腺, 肺, 下垂体, 睪丸, 脾, 胸腺, 血

Fig. 1. Chemical Structure of ^{14}C -Timiperone
Asterisk denotes the position of ^{14}C .

Fig. 2. Macroautoradiograms Showing the Distribution of Radioactivity in the Male Rat at 2 h after Oral Administration of 0.5 mg/kg of ^{14}C -Timiperone

液, 心臓, 骨髄, 筋肉, 眼球, および脳の順で低下した (Fig. 6a, 6b). 連投後 72 h では, 放射能の分布傾向は投与後 24 h の傾向に準じており, 放射能濃度は, 時間の経過に伴い全般的に減少した (Fig. 6c).

ii) ラット 21 日間連続投与時 (Fig. 7, 8) ^{14}C -TP 0.5 mg/kg 21 日間連続経口投与後 24 h では, 放射能濃度は腸管内容物で最も高く, ついで甲状腺, 肝, 腎, 肺, 脾, 睾丸, 心臓, 筋肉, 眼球, 脳の順で低下した (Fig. 7a, 7b). 投与後 48 h では, 放射能の分布傾向は, 投与後 24 h と比較して変わらず, 経時的な放射能濃度の減少が認められるのにすぎなかった (Fig. 8a, 8b).

考 察

メージャートランキライザーの抗精神病作用機序に関しては, 主に中枢神経系のドーパミン受容体の遮断を介して発現されるとするドーパミン仮説が現在有力である.⁴⁻⁶⁾ さらに, 脳内ドーパミン受容体が線条体, 側坐核, 嗅結節, 前頭葉皮質等に局在することが良く知られている.¹⁰⁾ 従って, これらの脳領域への抗精神病薬の分布は, その薬効発現に深く関係していると考えられる. この点に関して, 著者らは, 本研究でラット, サルに ^{14}C -timiperone を単回経口投与後 2 h で放射能が線条体, 側坐核, 前頭葉皮質へ有意な濃度で分布することを明らかにした. 著者らは, 既に, ラットに ^{14}C -timiperone 経口投与後 10 h までは未変化体が主として存在するこ

Fig. 3. Macroautoradiograms Showing the Distribution of Radioactivity in the Male Rat at 10 h after Oral Administration of 0.5 mg/kg of ^{14}C -Timiperone

Fig. 4. Macroautoradiograms Showing the Distribution of Radioactivity in the Male Rat at 24 h after Oral Administration of 0.5 mg/kg of ^{14}C -Timiperone

Fig. 5. Macroautoradiogram Showing the Distribution of Radioactivity in the Male Monkey at 2 h after Oral Administration of 1 mg/kg of ^{14}C -Timiperone

Fig. 6. Macroautoradiograms Showing the Distribution of Radioactivity in the Male Rat at 24 and 72 h after Oral Administration of 0.5 mg/kg of ^{14}C -Timiperone Daily for 7 d

Fig. 7. Macroautoradiograms Showing the Distribution of Radioactivity in the Male Rat at 24 h after Oral Administration of 0.5 mg/kg of ^{14}C -Timiperone Daily for 21 d

Fig. 8. Macroautoradiograms Showing the Distribution of Radioactivity in the Male Rat at 48 h after Oral Administration of 0.5 mg/kg of ^{14}C -Timiperone Daily for 21 d

と⁹⁾ および抗ドーパミン作用の活性本体が未変化体であること⁷⁾ を明らかにしており、これらの成績を勘案すると、本研究で見出された上記脳領域への放射能の分布は、活性本体である未変化体の分布を概略示しているといえる。ドーパミン受容体への抗精神病薬の結合には飽和性が認められており、²⁰⁾ 投与量の増加により増大した非特異的結合により受容体への特異的結合が隠蔽されて、抗精神病薬の特異的分布が認められなくなることが報告されている。²¹⁾ 本研究では、¹⁴C-timiperone 連続投与時の放射能の組織内分布傾向は単回投与後のそれと類似しており、受容体への timiperone 結合の飽和性を反映して連投による濃度の上昇や分布傾向の変化は認められないことが確認された。

ドーパミン作動神経系は視床下部-下垂体系にも存在することが確認されており、抗精神病薬の移行は、ドーパミン受容体の遮断を介したプロラクチン分泌抑制因子放出の抑制により血中プロラクチン濃度を上昇させることが報告されている。^{22,23)} ¹⁴C-Timiperone 経口投与後 2 h で、ラットおよびサル下垂体に高濃度の黒化が認められ、¹⁴C-timiperone の顕著な移行が認められた。事実臨床で精神分裂病患者に timiperone 6 mg 単回経口投与後 1 h で、血中プロラクチン濃度は投与前値の約 6 倍に上昇することが確認されており、²⁴⁾ 本研究で確認された ¹⁴C-timiperone の下垂体への移行は、血中プロラクチン濃度上昇に密接に関連している。網膜においてもドーパミン作動神経系の存在することが良く知られている。代表的抗精神病薬であるクロールプロマジンが眼のメラニン含有組織であるブドウ膜に親和性が高く、有色家兎のブドウ膜に分布することが明らかにされており、⁸⁾ 視障害を発現するクロロキンも高濃度に有色家兎のブドウ膜へ分布することが報告されている。²⁵⁾ これらの知見から、抗精神病薬の眼組織への移行に関心が持たれている。本研究においては、¹⁴C-timiperone の眼組織移行は、白色ラットおよび有色動物であるカニクイザルで検討された。その結果、¹⁴C-timiperone 経口投与後 2 h で、放射能濃度は、白色ラット眼組織では極めて低く、カニクイザルブドウ膜では血液と概略同程度であり、クロールプロマジンで認められたようなブドウ膜への高親和性は認められなかった。また、本研究においては、¹⁴C-timiperone 経口投与後、高濃度の放射能がラットおよびカニクイザル甲状腺へ分布することが見出された。しかし、timiperone の安全性に関して、前臨床試験で実施された甲状腺機能検査には全く異常が認められていない。²⁶⁾ 一般にメチマゾールやチオウラシルのような化学構造上 $\text{C}=\text{S}$ を有する抗甲状腺薬が甲状腺へ高濃度に分布することが知られており、^{27,28)} timiperone の甲状腺への分布がこの化学構造上の特徴に起因する可能性も考えられる。

全身オートラジオグラフィによる timiperone の分布を詳細に調べた結果、¹⁴C-timiperone は、抗精神病作用発現に関連したドーパミン受容体の局在する脳領域へ分布することが明らかとなった。

謝辞 終わりに、本研究に御協力戴いた第一製薬中央研究所代謝分析研究センター倉田忠司および橋本浩一氏に感謝する。

引用文献および注

- 1) M. Sato, M. Arimoto, K. Ueno, *J. Med. Chem.*, **21**, 1116 (1978).
- 2) T. Yamasaki, H. Kojima, T. Sakurai, A. Kasahara, S. Watanabe, M. Fujiwara, S. Ueki, *Arzneim.-Forsh. Drug Res.*, **31**, 701 (1981).
- 3) 仮屋哲彦, 島藺安雄, 山下 格, 菅野圭樹, 融 道男, 森 温理, 村崎光邦, 伊藤 齊, *臨床精神医学*, **10**, 1281 (1981).
- 4) I. Creese, D.R. Burt, S.H. Snyder, *Science*, **192**, 481 (1976).
- 5) P. Seeman, T. Lee, M. Chau-Wong, K. Wong, *Nature (London)*, **261**, 717 (1976).
- 6) P. Seeman, *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 1741 (1977).
- 7) H. Tachizawa, K. Sudo, M. Sano, *Eur. J. Pharmacol.*, **59**, 245 (1979).
- 8) N.G. Lindquist, S. Ullberg, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **31**, Suppl. 2, 3 (1972).
- 9) H. Tachizawa, K. Sudo, H. Sasano, M. Sano, *Drug Metab. Dispos.*, **9**, 442 (1981).
- 10) K. Sudo, H. Tachizawa, M. Sano, *Xenobiotica*, **11**, 685 (1981).
- 11) W. Soudijn, I.V. Wijngaarden, F. Allewijn, *Eur. J. Pharmac.*, **1**, 47 (1967).
- 12) G.A. Braun, G.I. Poos, W. Soudijn, *Eur. J. Pharmac.*, **1**, 58 (1967).
- 13) P.A.J. Janssen, W. Soudijn, I.V. Wijngaarden, A. Dresse, *Arzneim.-Forsh.*, **18**, 282 (1968).
- 14) G.A. Fusaro, D.A. Garteiz, K.Y. Chan, G.A. Leeson, *Drug Metab. Dispos.*, **4**, 562 (1976).

- 15) D.R. Hawkins, D.H. Moore, L.F. Chasseaud, *Xenobiotica*, **7**, 315 (1977).
- 16) 相本太刀夫, 増田千春, 村田敏郎, 薬誌, **99**, 576 (1979).
- 17) 相本太刀夫, 増田千春, 村田敏郎, 薬誌, **99**, 851 (1979).
- 18) 松岡 理, 永沼真理子, 高須俊明, *Radioisotopes*, **21**, 23 (1972).
- 19) 融 道男, 渡辺修三, 金野 滋, 日本臨床, **36**, 76 (1978).
- 20) J.E. Leysen, W. Gommeren, P.M. Laduron, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 307 (1978).
- 21) P.M. Laduron, P.F.M. Janssen, J.E. Leysen, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 317 (1978).
- 22) K.H. Lu, Y. Amenomori, C.L. Chen, J. Meites, *Endocrinology*, **87**, 667 (1970).
- 23) J.A. Clemens, E.B. Smalstig, B.D. Sawyer, *Psychopharmacologia*, **40**, 123 (1974).
- 24) 村崎光邦, 岡本呉賦, 村岡英雄, 志津雄一郎, 池田商洋, 堤 邦彦, 永井 卓, 須藤賢一, 診療と新薬, **19**, 223 (1982).
- 25) H. Bernstein, N. Zvaifler, M. Rubin, S.A.M. Mansour, *Invest. Ophthalmol.*, **2**, 334 (1963).
- 26) 小野寺威, 秋山義広, 相原 清, 吉田貢由, 梶村哲也, 柿畑耕司, 山田明甫, DD-3480 の安全性に関する研究 (3), ラットにおける経口慢性毒性 (未発表).
- 27) J.A. Pittman, R.J. Beschi, T.C. Smitherman, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **33**, 182 (1971).
- 28) L. Jirousek, L.W. Cunningham, *Biochim. Biophys. Acta*, **170**, 160 (1968).