塩酸ロメリジン (KB-2796) のラットにおける代謝

粟田則男, 酒井孝範,* 里見 収, 川島恒男

鐘紡株式会社 薬品開発研究所

Metabolism of Lomerizine Hydrochloride (KB-2796) in Rats

Norio AWATA, Takanori SAKAI,* Osamu SATOMI
and Tsuneo KAWASHIMA

*Product Research and Development Laboratories, Pharmaceuticals
Research Center, Kanebo, Ltd., 5-90, Tomobuchi-cho 1-chome,
Miyakojima-ku, Osaka 534, Japan*

(Received September 28, 1994)

The metabolism of lomerizine was investigated after the oral administration of [methine-¹⁴C] or [benzyl-¹⁴C]lomerizine hydrochloride in rats.

1. Urinary, fecal and biliary excretions of the unchanged drug were less than 1% of dose, showing that lomerizine was eliminated by the extensive biotransformation after the oral administration.

2. The main metabolites were 1-(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazine (M7) and 2,3-dimethoxy-4-hydroxybenzylpiperazine in the urine, and 1-[bis(4-fluorophenyl)methyl]-4-(2,3-dimethoxy-4-hydroxybenzyl)piperazine in the feces and bile.

3. The radioactive substances in the plasma, liver and brain mainly existed as unconjugated forms, of which the intact drug showed the highest concentration.

4. The main metabolites in the plasma, and in the liver and brain were 1-[bis(4-fluorophenyl)methyl]-4-(3,4-dimethoxy-2-hydroxybenzyl)piperazine and bis(4-fluorophenyl)methylpiperazine (M6), respectively.

5. The plasma level of M7 and the biliary excretion of bis(4-fluorophenyl)-methanol in male rats were higher than those in female rats, suggesting the sex difference in the N-dealkylation at the 4-position of piperazine ring of the drug.

Key words—lomerizine hydrochloride (KB-2796); vasodilator; excretion; metabolism; rat

緒

言

塩酸ロメリジン, 1-[bis(4-fluorophenyl)methyl]-4-(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazine dihydrochloride (KB-2796) はカルシウム拮抗作用を有する¹⁾新規化合物である。塩酸ロメリジンは脳血管に選択的かつ持続的に作用し,^{2,3)} 脳血流量を増加させ,⁴⁾ 現在, 片頭痛治療薬として開発中である。塩酸ロメリジンのラットにおける単回及び反復経口投与時の吸収, 分布及び排泄については既に報告した。^{5,6)} またラットにおける主な代謝様式は, a) 2,3,4-トリメトキシベンジル基の O-脱メチル化, b) ピペラジン環の 1 位又は 4 位における N-脱アルキル化, c) 2,3,4-トリメトキシフェニル環 5 位への水酸化であり, これらの代謝反応を受けて生成された代謝物が

ラットの糞及び尿から単離同定されている。⁷⁾ 本研究では、メチン炭素の ^{14}C 標識塩酸ロメリジン (Fig. 1(a), [methine- ^{14}C] 標識体)⁵⁾ 及びベンジル炭素の ^{14}C 標識塩酸ロメリジン (Fig. 1(b), [benzyl- ^{14}C] 標識体)⁸⁾ を経口投与し、尿、糞、胆汁及び組織 (血漿、肝臓及び脳) 中代謝物の定量を行い、主要代謝経路の推定を行った。またラットにおける代謝の性差についても検討した。

実験の部

1. 標識化合物 [Methine- ^{14}C] あるいは [benzyl- ^{14}C] 標識体は、前報⁷⁾ で使用したものと同一である。試験期間中の放射化学的純度は 97% を下まわらなかった。

2. 合成標品及び試薬 非標識塩酸ロメリジン及び代謝物の合成標品である bis(4-fluorophenyl)methanol (M1), 1-[bis(4-fluorophenyl)methyl]-4-(3,4-dimethoxy-2-hydroxybenzyl)piperazine (M2), 1-[bis(4-fluorophenyl)methyl]-4-(5-hydroxy-2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazine (M3), 1-[bis(4-fluorophenyl)-4-(2,4-dimethoxy-3-hydroxybenzyl)piperazine (M4), 1-[bis(4-fluorophenyl)methyl]-4-(2,3-dimethoxy-4-hydroxybenzyl)piperazine (M5), bis(4-fluorophenyl)methylpiperazine (M6), 1-(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazine (M7) 及び 2,3,4-trimethoxybenzoic acid (M9) は、前報⁷⁾ で使用したものと同一である。4,4'-Difluorobenzophenone (M10) は Aldrich 社製試薬を用いた。2,4-Dimethoxy-3-hydroxy 又は 2,3-dimethoxy-4-hydroxybenzylpiperazine (M8) は塩酸ロメリジンをラットに経口投与し、尿中より単離した。⁷⁾ 抱合型代謝物の加水分解には β -グルクロニダーゼ/アリルスルファターゼ (Helix promatia, ベーリンガー・マンハイム山之内) 又は β -グルクロニダーゼ (大腸菌 K12, ベーリンガー・マンハイム山之内) を用いた。他の試薬は和光純薬製試薬特級を用いた。

3. 実験動物及び投与方法 Wistar 系 SPF 雌雄ラット (7—9 週令, 体重: 雄約 200 g, 雌約 130 g, 日本エスエルシー (株)) を用いた。購入後のラットには水と餌 (日本クレア, CE-2) を自由に与え、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$ の環境下で約 1 週間予備飼育した後実験に供した。

投与液は両標識体共に、非標識塩酸ロメリジンで希釈し $2\text{ mg}/2\text{ ml}/\text{kg}$ となるように水溶液として用時調製し、経口ゾンデを用いて投与した。動物は一晩絶食し、投与後 4 時間より給餌を行った。

投与放射能は血漿、脳及び肝臓中代謝物の定量に関する実験では約 5.92 MBq ($160\text{ }\mu\text{Ci}$)/kg, その他の実験では約 1.85 MBq ($50\text{ }\mu\text{Ci}$)/kg とした。

4. 尿、糞及び呼気中排泄率の測定 [Methine- ^{14}C] 標識体又は [benzyl- ^{14}C] 標識体を雄ラット (4 匹) に経口投与した後、代謝ケージ (メタボリカ CO_2 型, 杉山元製) に個別に収容し、投与後 120 時間までに自然排泄された尿及び糞を所定の時間間隔で採取した。なお、呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ は 20% モノエタノールアミン水溶液 (300 ml) で捕集し、捕集剤は 24 時間毎に新しいものと交換した。測定時点は呼気及び尿では 6, 24 時間、以後 24 時間毎に 120 時間までとし、糞では 24 時間毎 120 時間までとした。尿については、必要最少量のケージ洗浄水と共に尿量を

Fig. 1. Structures of ^{14}C -Labelled Lomerizine Hydrochloride

*, labelled position.

a) [methine- ^{14}C]lomerizine hydrochloride,

b) [benzyl- ^{14}C]lomerizine hydrochloride.

測定後、その 100 μ l にメタノール 1 ml, シンチゾール® EX-H 12 ml を加え放射能を測定した。糞は、水を加え乳鉢で均質化後、一定量をコンバストコーン (Packard 製) に採取し乾燥後、サンプルオキシダイザー (Packard 306B) で燃焼後放射能を測定した。呼気については捕集剤 1 ml にメタノール 2 ml, シンチゾール® EX-H (和光純薬製) 12 ml を加え放射能を測定した。

5. 胆汁中排泄率の測定 エーテル麻酔下、総胆管にカニューレを挿入した雌雄ラット (3 匹) に麻酔覚醒後 [methine- 14 C] 標識体を、また雄ラットに [benzyl- 14 C] 標識体を経口投与し、ボールマンケージに収め投与後 24 時間までの胆汁を採取した。胆汁は、20 μ l 採取しメタノール 1 ml, シンチゾール® EX-H 12 ml を加え放射能を測定した。

6. 代謝物試料の分画 6-1. 尿、糞及び胆汁中代謝物——雄ラット (3 匹) に [methine- 14 C] 標識体、又は [benzyl- 14 C] 標識体を経口投与後、24 時間までに排泄された尿、糞あるいは胆汁を前報⁷⁾に従って分画した。各分画中の放射能を測定すると共に、非抱合体塩基性中性画分 (非抱合体画分)、抱合体画分及び酸性画分 ([benzyl- 14 C] 標識体を投与した試料) を代謝物の合成標品と共に薄層クロマトグラフィー (TLC) に供し、オートラジオグラム (TLC-ARG) を作製した。なお抱合体画分中に放射能が最も多く存在した胆汁について β -グルクロニダーゼと β -グルクロニダーゼ/アリルスルファターゼによる酵素的加水分解を比較検討した結果、ほとんど差のないことを確認した。

6-2. 組織中代謝物——雄ラット (3 匹) に [methine- 14 C] 標識体を経口投与した後、1, 6 及び 24 時間にエーテル麻酔下、腹大静脈よりヘパリン処理したシリンジで採血し、放血致死させた後、脳及び肝臓を摘出した。脳及び肝臓は、倍量の水を加えヒスコトロンでホモジナイズした後、1.5 倍量のエタノールで 3 回抽出した。また血液は 3000 r.p.m. (10 分) で遠心した後、得られた血漿について 2.5 倍量の酢酸エチルで抽出した。以下、胆汁と同様の方法で処理し、TLC-ARG を作製した。

7. TLC-ARG の作製 薄層板はシリカゲル 60F₂₅₄ (ガラスプレート, 20 cm $\times$ 20 cm, 厚さ 0.25 mm, E. Merck) を用い、一次溶媒としてクロロホルム:メタノール:酢酸 (45:5:1), 二次溶媒としてベンゼン:酢酸エチル:メタノール:酢酸 (7:3:2:2) で二次元に展開した。展開後薄層板を工業用 X 線フィルム (Ix-150, 富士写真フィルム (株)) と密着させて TLC-ARG を作製した。

8. 代謝物の定量 UV (254 nm) 照射並びに TLC-ARG により薄層板上の代謝物の位置を確認後、各代謝物に相当する部分のシリカゲルをかき取り、メタノールを加え一晩放置後、シンチゾール® EX-H を 12 ml 加え放射能を測定し各代謝物濃度を算出した。なお M10 は 4,4'-difluorobenzophenone と推定されているが、⁶⁾ 本試験条件の TLC 上 *R_f* 値が 0.9 以上でありスポットの形状及び大きさに試料間でバラツキがみられ正確な定量値を算定するのは困難であると判断されたので M10 の定量は実施しなかった。

9. 放射能の測定 各試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター (Packard model 2450B, 3385 あるいは Aloka LSC-1050) で測定した。なお、クエンチングの補正は外部標準線源法により行った。

結 果

1. 尿、糞及び呼気中排泄率

雄ラットに [methine- 14 C] 標識体を 2 mg/kg 経口投与した時の尿及び糞中排泄率は、既に報告したように投与後 120 時間までに、それぞれ 11.7 及び 84.8% である。⁵⁾ 今回、雄ラットに

[benzyl- ^{14}C] 標識体を経口投与し、尿、糞及び呼気中累積排泄率を測定した。その結果を Fig. 2 に示す。尿中には24時間までに23.3%、120時間までに25.6%が排泄され、糞中には24時間までに投与量の58.0%、120時間までに67.5%が排泄された。呼気中には投与後24時間までに3.8%、120時間までに4.6%が排泄された。

2. 胆汁中排泄率

胆管カニューレを施した雄ラットに、[methine- ^{14}C] 標識体及び [benzyl- ^{14}C] 標識体を経口投与した場合、24時間までの胆汁中排泄率は既に報告したように投与量のそれぞれ47.9% 及び48.7%である。⁷⁾ 今回、実施した雌ラットにおける [methine- ^{14}C] 標識体の経口投与後24時間までの胆汁中排泄率は43.4%であり、雌雄間で差は認められなかった。

3. 排泄物中代謝物の検索及び定量

3-1. 尿及び糞中代謝物の定量 前報⁷⁾で報告したように、雄ラットに [methine- ^{14}C] 標識体を経口投与し、24時間までの尿を分画した結果、投与量の1.7%が非抱合体画分に、1.4%が抱合体画分に、そして0.5%及び0.2%がそれぞれ酸性及び極性画分に認められた。また糞中放射能を分画した結果、投与量の39.5%が非抱合体画分に認められた。放射能が相対的に多く認められた尿中非抱合体画分、抱合体画分及び糞中非抱合体画分中代謝物を定量し、結果を Table I に示す。尿中においては非抱合体画分中に、未変化体、M1、M2、M3、M4、M5 及び M6 が投与量に対し0.01—0.2%認められ、抱合体画分中では、主な代謝物としてM1が1.1%認められた。糞中においては、M5が投与量の12.6%と最も多く、次いでM4、M3、M1 及び M6 の

Fig. 2. Cumulative Excretion of Radioactivity in Urine, Feces and Expired $^{14}\text{CO}_2$ after Oral Administration of [Benzyl- ^{14}C]lomerizine Hydrochloride to Male Rats

■, urine; ●, feces; ▲, expired $^{14}\text{CO}_2$; ○, total. Each point represents the mean $\pm$ S.D. for four rats.

TABLE I. Quantitation of Metabolites in 24h Urine and Feces after Oral Administration of [Methine- ^{14}C]lomerizine Hydrochloride to Male Rats

Metabolite	Excretion (% of dose)		
	Urine (4.1 $\pm$ 0.7)		Feces (51.7 $\pm$ 4.6)
	Unconjugated (1.7 $\pm$ 0.4)	Conjugated (1.4 $\pm$ 0.2)	Unconjugated (39.5 $\pm$ 2.1)
Unchanged	0.21 $\pm$ 0.12	—	0.7 $\pm$ 0.4
M1	0.15 $\pm$ 0.06	1.05 $\pm$ 0.21	4.1 $\pm$ 0.9
M2	0.01 $\pm$ 0.01	N.D.	0.2 $\pm$ 0.1
M3	0.05 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.01	4.2 $\pm$ 0.9
M4	0.04 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.01	5.8 $\pm$ 0.2
M5	0.02 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.00	12.6 $\pm$ 1.3
M6	0.09 $\pm$ 0.04	N.D.	2.6 $\pm$ 0.2

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of three rats. N.D., not detected; —, not measured.

順で多く、また未変化体は0.7%であった。

雄ラットに [benzyl-¹⁴C] 標識体を経口投与し 24 時間までの尿を分画した結果、投与量の 2.6% が非抱合体画分に、2.9% が抱合体画分に、2.6% が酸性画分に、10.1% が極性画分に認められた。尿中の非抱合体画分、及び抱合体画分中代謝物を定量し Table II に示す。[Methine-¹⁴C] 標識体投与では検出できない M7 及び M8 が非抱合体と抱合体を合わせ、それぞれ約 1.5%, M9 が 1.1% 認められた。また未変化体, M3, M4 及び M5 が [methine-¹⁴C] 標識体を投与した時と同様に少量認められた。

3-2. 胆汁中代謝物の定量 雄ラットに [methine-¹⁴C] 標識体を経口投与した後 24 時間までに排泄された胆汁中放射能を分画した結果は既に報告した。⁷⁾ すなわち投与量の 34.7% が抱合体画分中に、9.2% が非抱合体画分中に認められた。胆汁中の抱合体画分及び非抱合体画分中の代謝物を定量し, Table III に示す。

抱合体画分中に M5 が投与量の 14.2% と最も多く認められた。次いで M1 が 7.0% と多く、M3 及び M4 が約 3%, M6 が 1.3% 認められた。非抱合体画分中では M6 が 0.5% 認められた。M2 は検出されなかった。

[Benzyl-¹⁴C] 標識体を雄ラットに経口投与し、24 時間までに得られた胆汁について分画した結果、投与量の 29.2% が抱合体画分中に、5.7% が非抱合体画分中に、3.2% が酸性画分中に認められた。⁷⁾ 胆汁中のこれらの画分中代謝物を定量し, Table IV に示す。抱合体画分中では [methine-¹⁴C] 標識体投与時と同様、M5 が投与量の 16.2% と最も多く認められた。次いで M4, M3, M8, M7 が 1.0—3.9% 認められた。非抱合体画分中では、M8 が 0.7% 認められた。酸

TABLE II. Quantitation of Metabolites in 24 h Urine after Oral Administration of [Benzyl-¹⁴C]lomerizine Hydrochloride to Male Rats

Metabolite	Excretion (% of dose)	
	Urine (19.3±0.7)	
	Unconjugated (2.6±0.3)	Conjugated (2.9±1.0)
Unchanged	0.02±0.01	—
M2	N.D.	N.D.
M3	0.04±0.01	N.D.
M4	0.03±0.01	0.09±0.11
M5	0.05±0.05	0.10±0.08
M7	0.76±0.01	0.73±0.44
M8	0.65±0.19	0.66±0.22
M9 ^{a)}	1.11±0.09	

Each value represents the mean±S.D. of three rats. a) Acidic fraction (unconjugated+conjugated). N.D., not detected; —, not measured.

TABLE III. Quantitation of Metabolites in 24 h Bile after Oral Administration of [Methine-¹⁴C]lomerizine Hydrochloride to Male or Female Rats

Metabolite	Excretion (% of dose)			
	Male (47.9±24.4)		Female (43.4±5.9)	
	Unconjugated (9.2±4.9)	Conjugated (34.7±15.6)	Unconjugated (6.6±2.0)	Conjugated (33.5±3.3)
Unchanged	N.D.	—	0.1±0.1	—
M1	N.D.	7.0±3.5	N.D.	0.5±0.1
M2	N.D.	N.D.	N.D.	0.1±0.0
M3	N.D.	2.7±1.4	0.1±0.1	3.0±0.4
M4	N.D.	3.1±1.4	N.D.	7.4±0.6
M5	N.D.	14.2±5.1	0.0±0.1	17.4±2.5
M6	0.5±0.2	1.3±0.7	1.0±0.2	2.1±0.8

Each value represents the mean±S.D. of three rats. N.D., not detected; —, not measured.

性画分中では M9 が 0.4% 認められた。

雌ラットに [methine-¹⁴C] 標識体を経口投与し 24 時間までに得られた胆汁を分画した結果、抱合体画分中に投与量の 33.5%，非抱合体画分中に 6.6%，酸性及び極性画分中にそれぞれ約 1% が認められた。抱合体画分及び非抱合体画分中の代謝物を定量し Table III に示す。その結果、雄ラットと同様に M5 の抱合体が最も多く 17.4% であった。次いで、M4 の抱合体が 7.4% 認められた。M3 及び M6 は雄とほぼ同じ値を示し、また未変化体及び M2 が少量検出された。M1 は 0.5% と雄に比べ非常に少なかった。

4. 組織中代謝物の検索及び定量

[Methine-¹⁴C] 標識体を雄ラットに経口投与し、1, 6 及び 24 時間後に血漿、肝臓及び脳を溶媒分画した。それらの溶媒分画割合の結果を Table V に示す。組織中放射能は主として非抱合体画分中に存在した。次にその画分中代謝物を定量し、結果を Table VI に示す。

4-1. 血漿中代謝物 血漿中では非抱合体画分が最も多く、投与後 1 時間で血漿中放射能の 68.6%，6 時間で 66.2%，24 時間で 49.2% であった (Table V)。投与後 1 時間では、未変化体が最も高く 15.6 ng/ml、次いで M2 が 4.9 ng/ml であった。投与後 6 時間でも、未変化体が 6.2 ng/ml で最も高く、M1, M2, M3, M4, M5 及び M6 は 1.2—2.3 ng/ml であった。投与後 24 時間では、未変化体、各代謝物濃度は、いずれも 1 ng/ml 以下であった (Table VI)。

4-2. 肝臓中代謝物 肝臓についても、血漿と同じく非抱合体画分が最も多く、投与後 1 時間では肝臓中放射能の 65.0%，投与後 6 時間では 55.7%，投与後 24 時間では 50.0% であった (Table V)。投与後 1 時間では、未変化体が最

TABLE IV. Quantitation of Metabolites in 24 h Bile after Oral Administration of [Benzyl-¹⁴C]-lomerizine Hydrochloride to Male Rats

Metabolite	Excretion (% of dose)	
	Bile (48.7±19.5)	
	Unconjugated (5.7±3.4)	Conjugated (29.2±10.9)
Unchanged	N.D.	—
M2	N.D.	N.D.
M3	N.D.	3.4±1.4
M4	N.D.	3.9±1.1
M5	0.03±0.00	16.2±5.9
M7	N.D.	1.0±0.4
M8	0.67±0.40	1.4±0.8
M9 ^{a)}	0.4±0.2	

Each value represents the mean±S.D. of three rats. a) Acidic fraction (unconjugated+conjugated). N.D., not detected; —, not measured.

TABLE V. Extraction of Fractionation of Plasma, Liver and Brain after a Single Administration of [Methine-¹⁴C]lomerizine Hydrochloride at a Dose of 2 mg/kg in Rats

Tissue	Time (h)	Tissue level (ng equivalent to lomerizine/ml or g)	Fraction (% of tissue)			
			Unconjugated	Conjugated	Acidic	Polar
Plasma	1	79	68.5	18.3	4.1	7.0
	6	59	66.2	17.7	6.4	7.1
	24	23	49.2	23.7	17.0	7.1
Liver	1	2076	65.0	11.6	1.4	1.3
	6	1578	55.7	13.1	2.9	1.5
	24	1099	50.0	13.4	5.0	3.8
Brain	1	198	96.8	0.7	0.6	1.0
	6	233	97.5	1.3	0.6	0.4
	24	107	83.5	3.2	1.6	1.2

Each value represents the mean of three rats.

TABLE VI. Quantitation of Metabolites in Tissue after Oral Administration of [Methine-¹⁴C]lomerizine Hydrochloride to Male Rats

Tissue	Time (h)	Concentration (ng/ml or g)						
		Unchanged	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Plasma	1	15.6	2.0	4.9	1.5	1.4	1.6	1.6
	6	6.2	2.0	2.3	1.3	1.2	1.4	1.3
	24	0.4	0.8	0.4	0.3	0.1	0.3	0.1
Liver	1	523.5	85.8	133.7	42.8	66.8	103.6	379.8
	6	28.3	39.9	19.4	13.8	11.3	29.1	208.1
	24	6.2	13.4	3.0	3.6	1.7	0.9	29.5
Brain	1	4.9	8.7	4.5	9.8	4.9	5.6	38.4
	6	2.8	4.4	2.7	0.3	0.8	2.7	79.2
	24	1.1	1.9	0.4	0.3	0.6	0.2	16.9

Each value represents the mean of three rats.

も高く 523.5 ng/g, 次いで M6 が 379.8 ng/g であり, M1, M2, M3, M4 及び M5 は 42.8—133.7 ng/g であった. 投与後 6 時間では, M6 が最も多く 208.1 ng/ml で, 未変化体及び M6 以外の代謝物は 11.3—29.1 ng/g であった. 投与後 24 時間でも, M6 が 29.5 ng/g と最も高かったが, 6 時間の値に比べ約 1/7 に減少した (Table VI).

4-3. 脳中代謝物 脳中でも放射能の大部分が非抱合体画分に存在し, 投与後 1 時間で脳中放射能の 96.8%, 6 時間で 97.5%, 24 時間で 83.5% を占めた (Table V). 投与後 1 時間では, M6 が最も高く 38.4 ng/g, 次いで M3 が 9.8 ng/g, M1 が 8.7 ng/g であった. 未変化体, M2, M4 及び M5 は 4.5—5.6 ng/g であった. 投与後 6 時間では, M6 が最も高く 79.2 ng/g であり, 投与後 1 時間の値の約 2 倍高い濃度を示した. 未変化体, M1—M5 はいずれも投与後 1 時間の値よりも低い濃度を示した. 投与後 24 時間でも, M6 が最も高く 16.9 ng/g であり, 未変化体及び M6 以外の代謝物は 1.9 ng/g 以下であった (Table VI).

考 察

著者らはカルシウム拮抗作用を有する新規化合物, 塩酸ロメリジンのラットにおける単回及び反復経口投与後の薬物動態について検討し, 消化管からの吸収は約 80% と良好であること, 主排泄経路は胆汁を介した糞中であり腸肝循環が認められることなどを既に報告した.⁵⁾ また, 1 日 1 回反復経口投与すると血液中放射能は 15 回の投与以降ほぼ定常状態に達した.⁶⁾ さらにロメリジンの主要な代謝様式が (a) O-脱メチル化, (b) N-脱アルキル化及び (c) 水酸化反応であることを明らかにした.⁷⁾ 今回, ラットにおける塩酸ロメリジンの代謝についてさらに詳細に検討するため, ピペラジン環の両側に結合するそれぞれの炭素, すなわちメチン炭素及びベンジル炭素を ¹⁴C で標識した放射性標識化合物を合成し, 投与後 24 時間までの排泄物並びに組織中代謝物を検索, 定量した. さらに雌雄ラットを用い塩酸ロメリジンの代謝における性差についても考察を加えた.

主要排泄経路である胆汁中の放射能はどちらの標識体を投与した場合も約 60% が抱合体画分に存在した (Table III 及び IV). 一方, 糞中では放射能のほとんどが非抱合体画分に存在し, 腸管通過中に大部分加水分解されると推察された (Table I). 雌雄ラットとも胆汁中代謝物の中で M5 が最も多く存在し, 投与量の 14—17% を占めた. M4 も 3—7% を占め O-脱メチル化体が胆汁中放射能の 35—60% (投与量の約 15—25%) を占めた (Table III 及び IV). 雄ラットで

は M1 が次いで多く 1 位 N-脱アルキル化反応も顕著であると推察された (Table III). 定量値は示していないが, M10 の排泄量も考慮すると胆汁中放射能の約 20% (投与量の約 10%) 程度を 1 位 N-脱アルキル化反応で生成した代謝物が占めると考えられた.

[Benzyl- ^{14}C] 標識体及び [methine- ^{14}C] 標識体の経口投与後の排泄を比較すると [benzyl- ^{14}C] 標識体投与の場合, 尿中への放射能の排泄量が増大し, また呼気中への排泄が観察された (Fig. 2). これはピペラジン環の 1 位又は 4 位の脱アルキル化反応で生成された放射性代謝物の排泄量の違いによると推察される. [Benzyl- ^{14}C] 標識体投与の場合, 酸性画分中に代謝物 M9 が認められ, また極性画分に多量の放射能が認められた. M9 のような芳香族メトキシカルボン酸類はメトキシ基の脱メチル化, 生成したフェノール性水酸基の再メチル化又は脱離, カルボン酸側鎖の脱離, 水酸化あるいはグリシン抱合などの抱合化と多様な代謝を受けることが報告されているが,¹¹⁾ 例えば桂皮酸は大部分が馬尿酸として尿中へ排泄されることが古くから知られている.¹²⁾ [Benzyl- ^{14}C] 標識体投与時に生成される放射性代謝物 M9 及びその代謝物が [methine- ^{14}C] 標識体投与時に比べ放射能としての尿中排泄量を増大させ, また呼気中へ $^{14}\text{CO}_2$ 等として排泄されたと考えられる. 4 位脱アルキル化反応で生成するもう一方の代謝物 M6 の組織中濃度は肝では未変化体に次いで高く, また脳中ではいずれの測定時点においても最も高い濃度を示した (Table IV). M6 は M2, M3, M4 及び M5 からさらに二次的な代謝を受けて生成されるが, 投与 1 時間後において既に組織中で高い濃度を占めていることから, かなり高い割合でロメリジンから直接 N-脱アルキル化されると推察され, 4 位 N-脱アルキル化が主要な代謝経路の 1 つであることを示している.

一般に N-脱アルキル化反応は窒素原子の塩基性, 求核性及び立体的要因等が関係していると言われている. ロメリジンの 1 位及び 4 位における脱アルキル化反応を比較すると 4 位 N-脱アルキル化反応が雄ラットにおいては若干優位の傾向は認められるが, その選択性はあまり大きくないと推察される. 一方, 雌ラットにおいては雄ラットに比較して胆汁中 M1 の排泄率に著しい低下が見られた (Table III). すなわち雌ラットにおいては 1 位 N-脱アルキル化活性が雄より著しく低いことが明らかとなった. N-脱アルキル化反応における同様な性差はフルナリジンにおいても報告されている.¹³⁾ しかしながら, 4 位脱アルキル化活性にはほとんど性差が認められない. この要因は明らかではないが, 脱アルキル化の機構にも関連すると考えられ興味ある結果である. なお雌ラットにおいて胆汁中にわずかに未変化体が認められ, また血漿中未変化体濃度も雌ラットの方が高い結果が得られており,¹⁴⁾ ロメリジンに対する代謝能は雄ラットより雌ラットの方が低いと推察される.⁵⁾

トリメトキシフェニル環の水酸化反応に関しては代謝物 M3 が認められているが 24 時間までの胆汁中排泄率は胆汁中放射能の 10% 以下 (投与量の 5% 以下) であり (Table III 及び IV), この経路は比較的少ないと推察された.

抱合化様式を明らかにするため β -グルクロニダーゼあるいは β -グルクロニダーゼ/アリルスルファターゼによる酵素加水分解を予備的に比較検討した. その結果両者の間にほとんど差異は認められなかったことから, いずれの代謝物も主としてグルクロン酸抱合体であり, 硫酸抱合体はほとんどないかあるいは極めて少ないと考えられた.

以上, 排泄物及び組織中代謝物の定量結果から雄ラットにおけるロメリジンの代謝は O-脱メチル化, 特に 4-メトキシ基の脱メチル化が優先し, さらに 4 位 N-脱アルキル化及び 1 位 N-脱アルキル化反応によって代謝されることが明らかになった. また, メトキシフェニル基の水酸化反応も認められたが, この代謝経路の関与は少ないと判断された. さらに, 雌ラットでは

Fig. 3. Proposed Metabolic Pathways of Lomerizine in Rats

1 位 N-脱アルキル化活性が著しく低いことが明らかとなった。ラットにおけるロメリジンの推定代謝経路を Fig. 3 に示す。

引用文献

- 1) T. Iwamoto, T. Morita, T. Kanazawa, *Jpn. J. Pharmacol.*, **48**, 241 (1988).
- 2) 金沢稔郎, 戸山 昇, 日薬理誌, **89**, 365 (1987).
- 3) H. Ohtaka, T. Kanazawa, K. Ito, G. Tsukamoto, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **10**, s-147 (1987).
- 4) 金沢稔郎, 中洲庸子, 松田昌之, 半田譲二, 日本外科宝函, **55**, 682 (1986).
- 5) 川島恒男, 栗田則男, 里見 収, 能勢尚志, 江角凱夫, 三好孝一, 片見好春, 市毛一美, 平野広美, 谷津幸子, 薬物動態, **5**, 723 (1990).
- 6) 栗田則男, 川島恒男, 里見 収, 酒井孝範, 江角凱夫, 片見好春, 市毛一美, 平野広美, 石崎正男, 薬物動態, **9**, 522 (1994).
- 7) T. Kawashima, O. Satomi, N. Awata, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **14**, 449 (1991).
- 8) 里見 収, 川島恒男, 栗田則男, *Radioisotopes*, **37**, 265 (1988).
- 9) K. Harada, Y. Nakasu, M. Matsuda, J. Handa, *Surg. Neurol.*, **30**, 89 (1989).
- 10) H. Ohtaka, M. Hori, R. Iemura, H. Yumioka, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3122 (1989).
- 11) H. Teuchy, C. F. Sumere, *Arch. Int. Physiol. Biochim.*, **79**, 589 (1971).
- 12) A. M. El Masri, J. N. Smith, R. T. Williams, *Biochem. J.*, **64**, 50 (1956).
- 13) W. Meuldermans, J. Hendrix, R. Hurkumans, E. Swysen, R. Woestenborghs, W. Lauwers, J. Heykants, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **33**, 1142 (1983).
- 14) 第4回日本薬物動態学会年会, 仙台, 1989年10月.