**2-(7-Methoxy-10-methyl-2-phenothiazinyl)-propionic
Acid (PRT) の生体内運命 (第2報¹⁾)**

田島英男, 石黒淳三, 林 康之, 山崎好雄, 栗田昌夫, 山本 忍, 小川信久
持田製薬株式会社研究所²⁾

Metabolic Fate of 2-(7-Methoxy-10-methyl-2-phenothiazinyl)-propionic Acid (PRT). II¹⁾

HIDEO TAJIMA, JUNZO ISHIGURO, YASUYUKI HAYASHI, YOSHIO YAMAZAKI,
MASAO KURITA, SHINOBU YAMAMOTO and NOBUHISA OGAWA

Research Laboratory, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.²⁾

(Received August 10, 1974)

Following oral administration of ³H-2-(7-methoxy-10-methyl-2-phenothiazinyl)-propionic acid (PRT) to rabbits and dogs, radioactivity level in blood increased rapidly to a maximum at 1 hr. In the rabbits, 87% of the administered radioactivity was excreted in the urine, whereas 73% of the administered radioactivity was excreted in the feces in the dogs within 72 hr after dosing. In pregnant rats given ³H-PRT orally, radioactivity in the fetuses did not exceed 1% of the administered radioactivity. When ³H-PRT was given orally to rats having carrageenin-induced edema in one of their hind feet, radioactivity level in the inflamed foot was found to be significantly higher than that in the untreated foot.

Aminopyrine demethylase and aniline hydroxylase activities of liver microsome of rats were determined after oral administration of PRT for 4 days and for 30 days, respectively. No significant difference was found in the enzyme activities between the rats given PRT and control animals.

前報¹⁾で、雌雄ラットおよび 2-(7-methoxy-10-methyl-2-phenothiazinyl)-propionic acid (PRT) を 30 日間連続経口投与した雄ラットにおける ³H-PRT の吸収、分布、排泄を報告した。引き続き ³H-PRT のウサギおよびイヌにおける吸収および排泄、ラット胎仔への移行、ラットカラゲニン浮腫への分布、および PRT によるラットの肝薬物代謝酵素の誘導について検討したので報告する。

実験材料および方法

投与試料の調製、下記以外の動物実験条件および放射能測定は前報¹⁾と同様である。

ウサギにおける血中レベルおよび排泄 体重約 3 kg の雄ウサギに ³H-PRT を 8 mg/kg の割合で経口投与した。投与放射能は 192 μCi/ウサギとした。投与後所定の時間ごとに耳静脈より採血し、尿および糞を 24 時間ごとに分取した。

イヌにおける血中レベルおよび排泄 体重約 10 kg の雄ビーグル犬に、ベントバルビタール麻酔下に ³H-PRT を 8 mg/kg の割合で経口投与した。投与放射能は 516 μCi/イヌとした。投与後所定の時間ごとに桡側内静脈より採血し、24 時間ごとに尿および糞を分取した。

ラット胎仔への移行 妊娠 20 日の Wistar 系雌ラットに ³H-PRT 8 mg/kg を経口投与した。投与放射能は 40.3 μCi/ラットとした。投与後所定の時間ごとに頸動脈より採血し、放血死させた後胎仔および胎盤、ならびに母獣の肝および腎を摘出した。1 匹の母獣につき 6 匹の胎仔を取り出し、3 匹は胎仔全体の放射能を測定するためすべて摺りつぶし、残り 3 匹から肝、腎および脳を摘出した。別に ³H-PRT 経口投与後 30 分のラットについて前報の方法に従って全身オートラジオグラムを作成した。

1) 第1報: 田島英男, 石黒淳三, 林 康之, 山崎好雄, 栗田昌夫, 山本 忍, 小川信久, 薬誌, 95, 528 (1975).

2) Location: Kamiya 1-1, Kitaku, Tokyo.

炎症部位への分布 Winter の方法³⁾ に準じて, Wistar 系雄ラット (体重 180—220 g) の足蹠にカラゲニン浮腫を作成した. 0.1% カラゲニン-生理食塩水 0.1 ml を左後肢足蹠皮下に注入し, 未処置の右後肢を対照とした. ^3H -PRT の経口投与はカラゲニン注入 1 時間前または注入 1 時間後に行ない. 投与量は 8 mg/kg とした. 経時的に左右の後肢を足関節より切断し, 放射能を測定した.

薬物代謝酵素活性の測定 PRT 投与の薬物代謝酵素活性に及ぼす影響を, Wistar 系雄ラット (4 週令および 6 週令) を用いて検討した. PRT の投与量は 8, 50 または 100 mg/kg とした. 4 週令ラットには 4 日間, 6 週令ラットには 30 日間連続して PRT-0.5%. カルボキシメチルセルロース (CMC) 懸濁液を経口投与した. 最終投与後 24 時間絶食し, 屠殺後肝ミクロゾーム画分のアミノピリン脱メチル化活性およびアニリン水酸化活性を測定した. 対照には 0.5% CMC-生理食塩水を PRT と同じ期間経口投与したラットおよびフェノバルビタール-Na 80 mg/kg を 4 日間連続腹腔内投与した 4 週令および 10 週令のラットを用いた. 肝ミクロゾームの調製は次のように行なった. ラットの頸動脈を切断して放血屠殺後, 肝を摘出し, 0.25M sucrose を加えてホモジナイズした. 600 g で 10 分間, ついで 12000 g で 10 分間遠心し, 得られた上清を 105000 g で 1 時間遠心後, 沈渣を 0.15M-KCl-0.025M-Tris-塩酸緩衝液に懸濁させた. 以上の操作はすべて 4° で行なった. この懸濁液 0.5 ml に NADPH-generating system 0.3 ml (NADP-Na 1.12 mg, G-6-P- Na_2 4.56 mg, G-6-P dehydrogenase 1.4 unit, MgCl_2 1.425 mg を含む), 0.1M-Tris-塩酸緩衝液 (pH 7.4) 1.5 ml, 0.15M-KCl-0.025M-Tris-塩酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 ml を加え 37°, 5 分間インキュベーションした. ついでアミノピリン水溶液 (アミノピリンとして 6 μM) またはアニリン-0.03M 塩酸溶液 (アニリンとして 6 μM) を添加し, さらに 37° で 15 分間インキュベーションした. アミノピリン脱メチル化活性は反応液中のホルマリンを Nash 法⁴⁾ により, アニリン水酸化活性は *p*-アミノフェノールを Imai ら⁵⁾ の方法により測定して求めた. ミクロゾーム蛋白量は Lowry⁶⁾ らの方法により測定した. 得られた酵素活性はミクロゾーム蛋白 1 mg あたりの基質分解量 (nm/15 min/mg protein) で表わした.

実験結果

ウサギおよびイヌにおける血中レベル

Fig. 1 に示したように, ウサギでは ^3H -PRT 投与後血中放射能レベルは速やかに上昇し, 1 時間で最大値を示した. 以後漸減し, 24 時間後の放射能レベルはきわめて低値であった. またイヌにおいても, ほぼウサギと同様な推移を示した.

ウサギおよびイヌにおける尿および糞中排泄

Table I に示したように, ウサギでは投与後 24 時間以内に尿中へ 84%, 糞中へ 5% の放射能が排泄され, 投与した放射能の大部分が投与後 24 時間以内に尿中へ排泄された. また投与後 72 時間までに尿および糞中に 93% の放射能が回収された. イヌではウサギと異なり, 投与後 72 時間までに 73% の放射能が糞中に排泄された.

Fig. 1. Radioactivity in Blood of Rabbits and Dogs orally given 8 mg/kg of ^3H -PRT

The volume of rabbit and dog blood was assumed to be one twentieth and one fifteenth of the body weight respectively. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of three rabbits or the mean of two dogs. —: rabbit ———: dog

ラット胎仔への分布

妊娠ラットにおける ^3H -PRT の経口投与後の分布を Table II に示した. 投与後 30 分および 3 時間では 1

Fig. 2. Autoradiogram of a Pregnant Rat 30 min after Oral Administration of ^3H -PRT

3) C.A. Winter, E.A. Risley, G.W. Nuss, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **111**, 544 (1962).

4) T. Nash, *Biochem. J.*, **55**, 416 (1953).

5) Y. Imai, R. Sato, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **25**, 80 (1966).

6) O.H. Lowry, N.J. Rosabrough, A.L. Farr and R.J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).

TABLE I. Urinary and Fecal Excretion of Radioactivity in Rabbits and Dogs orally given 8 mg/kg of ^3H -PRT

Collection period (hr)	Radioactivity in urine and feces (percent of administered radioactivity)					
	Rabbit ^{a)}		Dog 1		Dog 2	
	Urine	Feces	Urine	Feces	Urine	Feces
0—24	84.4±2.3	5.2±0.6	6.5	55.2	4.7	42.5
24—48	1.7±0.1	0.9±0.3	0.4	16.0	0.9	28.5
48—72	0.4±0.1	0.4±0.1	0.2	1.3	0.3	1.6
Total	86.5±2.3	6.4±0.8	7.1	72.5	5.9	72.6

a) Each value represents the mean±S.E. of three rabbits.

TABLE II. Distribution of Radioactivity in Fetuses of Pregnant Rats given orally 8 mg/kg of ^3H -PRT

	Distribution of radioactivity (percent of administered radioactivity)		
	30 min	3 hr	6 hr
Fetus	0.72±0.04	0.71±0.07	0.44±0.09
Fetal liver	0.04±0.00	0.03±0.00	0.02±0.00
kidney	0.01±0.00	0.01±0.00	^{a)}
brain	0.01±0.00	0.01±0.00	^{a)}
Placenta	0.09±0.01	0.06±0.00	0.03±0.01
Maternal blood	20.62±1.65	6.88±0.88	4.15±1.03
liver	14.06±1.59	6.78±0.25	5.89±0.58
kidney	1.56±0.15	0.99±0.11	1.07±0.15

a) less than 0.005% of administered radioactivity
Each value represents the mean±S.E. of five rats.

匹の胎仔あたり約 0.7% の放射能が検出された。投与後 30 分の胎仔を搾りつぶして求めた胎仔単位重量あたりの放射能濃度は母獣血液のそれの約 1/5 であった。Fig. 2 は ^3H -PRT 投与後 30 分の妊娠ラットの全身オートラジオグラムである。とくに胎仔への高濃度の放射能分布は認められなかった。

炎症部位への分布

ラット足蹠に作成したカラゲニン浮腫への ^3H -PRT の分布を対照足と比較した。Table III に示したように起炎後に ^3H -PRT を投与すると、投与後 2 時間および 4 時間のいずれの時点においても炎症足の放射能濃度は対

TABLE III. Distribution of Radioactivity in Carrageenin-induced Edema of Rats at Various Times after Oral Administration of ^3H -PRT (8 mg/kg)

	Rats given ^3H -PRT 1 hr after edema provocation		Rats given ^3H -PRT 1 hr before edema provocation		
	2 hr	4 hr	2 hr	4 hr	6 hr
Inflamed paw (dpm/g×10 ³) (A)	183±8 ^{a)}	142±7 ^{a)}	203±7	344±31 ^{b)}	301±32 ^{a)}
Intact paw (dpm/g×10 ³) (B)	90±7	68±10	178±21	114±2	103±7
A/B	2.03	2.09	1.14	3.02	2.91

Each value represents the mean±S.E. of three rats.
Significant difference from intact paw are marked. a) $p<0.01$ b) $p<0.05$

照足の 2 倍であった。また起炎前投与でも投与後 4 時間および 6 時間で、いずれも対照足に比べ約 3 倍の放射能濃度を示し、 ^3H -PRT の投与が起炎の前後にかかわらず明らかに炎症部位へ放射能が集中することを認めた。

PRT 投与ラットの薬物代謝酵素活性

アミノピリン脱メチル化活性およびアニリン水酸化活性を指標として、PRT の肝ミクロゾーム薬物代謝酵素誘導能を調べた。4 週令のラットに 4 日間投与した群 (Fig. 3) および 6 週令のラットに 30 日間投与した群 (Fig. 4) とともに、その両酵素活性は PRT 8, 50 および 100 mg/kg 投与のいずれの場合でも CMC-生理食塩水を投与した対照群との間に有意な差はみられなかった。一方フェノバルビタール-Na 投与群の酵素活性は対照群との間に有意な差を示した。

Fig. 3. Drug Metabolizing Enzyme Activities in Rats orally given PRT for 4 days

Four-week-old rats at the starting of the administration were used. PRT was administered as 0.5% CMC-saline suspension. Phenobarbital was administered intraperitoneally for 4 days. Enzyme activity is expressed as the quantity of substrate decomposed. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of six rats.

□: aminopyrine demethylase activity
 ■: aniline hydroxylase activity

Fig. 4. Drug Metabolizing Enzyme Activities in Rats orally given PRT for 30 days

PRT in 0.5% CMC-saline suspension or CMC-saline was administered to rats of 6-week-old at the starting of the administration. Phenobarbital was administered to 10-week-old rats for 4 days. Enzyme activity is expressed as the quantity of substrate decomposed. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of six rats.

□: aminopyrine demethylase activity
 ■: aniline hydroxylase activity

考 察

前報¹⁾で報告したラットでは、投与後 30 分のピーク時で投与放射能の 15—20% の放射能が血中に検出された。ところが Fig. 1 に示したようにウサギ、イヌともに血中放射能レベルはラットよりも低値であった。またイヌではラットと同様に投与した放射能の大部分は糞中に排泄されたが、ウサギでは尿中に大部分の放射能が回収され、これらの動物間に胆汁排泄態度の相違を推測させた。以上の結果は PRT の吸収および排泄に種差の存在を示唆しているものと思われる。

次に ^3H -PRT を経口投与した妊娠ラットでは、胎仔 1 匹につき投与放射能の 0.7% が分布した。本化合物と同様にフェノチアジン核を有するクロルプロマジンでは、胎仔 1 匹あたりの移行率は 1.2% と報告されており、⁷⁾上記の結果と類似している。

Table III に示したように、ラット足蹠カラゲニン浮腫へは、対照足蹠の 2—3 倍の放射能が分布した。PRT の薬理効果発現の機序を理解する上に参考になろう。

また本実験で選んだ条件下では PRT 投与による薬物代謝酵素の誘導は認められなかった。とくに 30 日間連続投与したラットでも酵素誘導が示されなかったことは PRT 投与による耐性の発現を否定している藤村らの成績⁸⁾と符合するものと思われる。

7) 神田郁子, 日産婦誌, 24, 1162 (1972).

8) 藤村 一, 鶴見介登, 小島勝彦, 山口 東, 中野万正, 呉晃一郎, 応用薬理, 9, 267 (1975).