

①

抗うつ薬の血中および脳内動態に関する研究

—アミトリプチリンおよびマプロチリン—

三宅勝志

試薬の血中および尿内動態に関する研究

アミトリアゾリンおよびマブプロチン

抗うつ薬の血中および脳内動態に関する研究

—アミトリプチリンおよびマプロチリン—

目次

序論	1
本論	2
第一章 静脈内投与時の抗うつ薬の体内動態	2
第一節 Amitriptyline および Nortriptyline 単回静脈内投与時の血中動態	3
第二節 Maprotiline および Desmethylmaprotiline 単回静脈内投与時の血中動態	5
第三節 小括	8
第二章 腹腔内投与時の抗うつ薬の体内動態	9
第一節 Amitriptyline 単回投与時の血中および 脳内動態	9
第二節 Amitriptyline 多数回投与時の血中および 脳内動態	13
第三節 Maprotiline 単回投与時の血中および 脳内動態	17
第四節 Maprotiline 多数回投与時の血中および 脳内動態	20
第五節 小括	24
第三章 経口投与時の抗うつ薬の体内動態	26
第一節 Amitriptyline 単回投与時の血中および 脳内動態	26
第二節 Amitriptyline 多数回投与時の血中および 脳内動態	33
第三節 Maprotiline 単回投与時の血中および 脳内動態	36

第四節	Maprotiline 多数回投与時の血中及び 脳内動態	40
第五節	小括	44
結論	45
謝辞	46
実験の部	47
文献	52

序論

薬物を臨床評価する場合、薬物の血中濃度のみでなく標的臓器内での薬物濃度を知ることが重要である。抗うつ薬はその使用経験の多さに比較して、その投与量と血中濃度あるいは臨床効果との関係に未だ不明な点が多いのが現状である¹⁻⁵⁾。その原因として、抗うつ薬の標的臓器である脳内での薬物濃度を評価していないこと、さらに、抗うつ薬の多くは活性代謝物を有しており、その薬理効果の評価を困難にしていることが考えられる。一般に薬物の体内動態は投与経路および単回あるいは多数回といった投与方法により影響を受けることが知られている。特に、抗うつ薬のように活性代謝物を有し、さらにその薬理効果が多数回投与により得られる場合、投与経路と投与方法に基づく体内動態の変化に留意する必要がある⁶⁻¹²⁾。また、種々の抗うつ薬を薬理的な観点から比較検討した報告は多いのに対して、薬動的な観点から比較検討した報告は少ない。

本研究は、抗うつ薬において未だ不明とされている血中濃度と臨床効果の関係を解明する目的で、临床上繁用されている抗うつ薬のうち化学構造、物理化学的性質および作用機序の異なる、三環系抗うつ薬 Amitriptyline および四環系抗うつ薬 Maprotiline に焦点をあて、それらの血清中および脳内動態に及ぼす投与経路（静脈内、腹腔内および経口）および投与方法（単回および多数回）の影響を脱メチル化代謝物とともに比較検討したものである。

本論

第一章 静脈内投与時の抗うつ薬の体内動態

三環系抗うつ薬の一つである Amitriptyline (AMT) は主として、前シナプスへの monoamine、特に serotonin (5-HT) の再取り込みを阻害することにより抗うつ効果を発現することが知られている¹³⁾。また、その脱メチル化代謝物である Nortriptyline (NRT) も薬理活性を有し、主に noradrenalin の再取り込みを阻害することにより抗うつ効果を発現することが知られている¹⁴⁾。

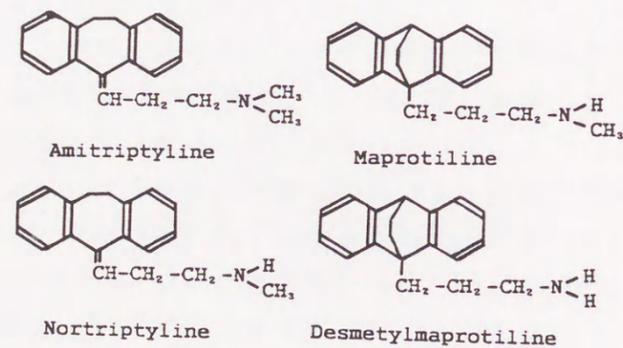


Fig. 1 Chemical Structures of Antidepressants

近年、従来の三環系抗うつ薬と構造、物理化学的性質および作用機序の異なる四環系抗うつ薬が登場し臨床応用されている。その一つである Maprotiline (MAP) は従来の三環系抗うつ薬と異なり、noradrenalin の再取り込みを選択的に阻害し¹⁵⁾、抗コリン性の副作用の発現率が低く¹⁶⁾、効果の発現時間も比較的事早いこと¹⁷⁾が知られている。MAP の主代謝物である脱メチル化代謝物 Desmethylmaprotiline (DMAP) は MAP に比較して、その薬理作用は約 1/10 と低

いことが知られている¹⁸⁻²⁰⁾。一般に活性代謝物を有する薬物の体内動態を統一的に理解するためには、親化合物およびそれらの代謝物それぞれの体内動態についての情報が必要である。そこで、ラットを用いて AMT、NRT、MAP および DMAP をそれぞれ静脈内投与し、それらの体内動態を検討した。Fig. 1 に本研究に用いた各薬物の化学構造を示した。

第一節 Amitriptyline および Nortriptyline 単回静脈内投与時の血清中動態

AMT およびその脱メチル化代謝物 NRT を 5.0、2.5 および 1.0 mg/kg 静注した際の血清中濃度推移を Fig. 2 に示した。

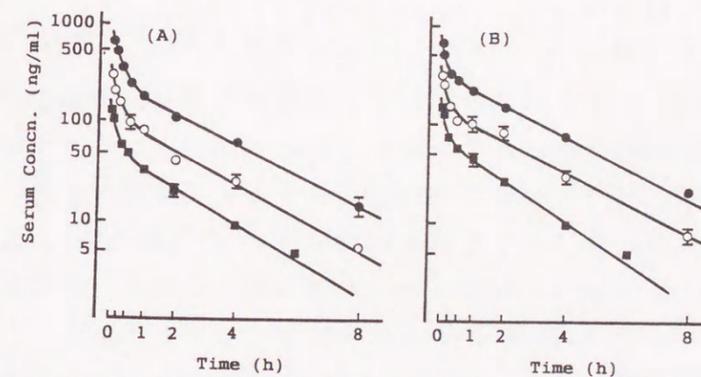


Fig. 2 Time Courses of Amitriptyline (A) and Nortriptyline (B) in Serum after Intravenous Administration of Amitriptyline or Nortriptyline.

Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves.

Key: (●) 5 mg/kg; (○) 2.5 mg/kg; (■) 1 mg/kg.

AMT および NRTともに血清中からは2-compartment model に従って消失することが観察された。親化合物を静脈内投与した際の血清中濃度推移は式 (1)を用いて非線形最小二乗法²¹⁾ で検討した、また脱メチル化代謝物のそれは式 (2)を用いて同様に非線形最小二乗法で解析した。

$$C_D = \frac{X_{iv,D}}{V_1} \left[\frac{(k_{21}-\alpha)}{(\beta-\alpha)} e^{-\alpha t} + \frac{(k_{21}-\beta)}{(\alpha-\beta)} e^{-\beta t} \right] \quad (1)$$

$$C_M = \frac{X_{iv,M}}{V_3} \left[\frac{(k_{43}-\gamma)}{(\delta-\gamma)} e^{-\gamma t} + \frac{(k_{43}-\delta)}{(\gamma-\delta)} e^{-\delta t} \right] \quad (2)$$

$$\alpha + \beta = k_{10} + k_{12} + k_{21} \quad \alpha \cdot \beta = k_{21} \cdot k_{10} \quad (\alpha > \beta)$$

$$\gamma + \delta = k_{30} + k_{34} + k_{43} \quad \gamma \cdot \delta = k_{43} \cdot k_{30} \quad (\gamma > \delta)$$

C_D 、 $X_{iv,D}$ 、 V_1 および k_{10} はそれぞれ親化合物の血清中濃度、投与量、central compartmentでの分布容積および一次消失速度定数である。 C_M 、 $X_{iv,M}$ 、 V_3 および k_{30} は脱メチル化代謝物のそれらである。また k_{12} および k_{21} はそれぞれcentral からperipheralおよびperipheralからcentral compartmentへの親化合物の一次分布速度定数、 k_{34} および k_{43} は脱メチル化代謝物のそれらである。

得られた薬動学的パラメーターをTable I に示した。AMTおよびNRTともに組織移行性が大きいことが観察された。AMTの血清中濃度曲線下面積(AUC)は投与量に比例して増加した。さらにAMTの総クリアランス(Cl)は投与量に関わらず、ほぼ一定であり、その消失が肝血流に依存しているものと考えられた。これらの結果より今回検討した濃度範囲では、AMTの血清中からの線形消失が示された。

抗うつ薬は主として肝臓で代謝されることが知られているにも関

Table I Pharmacokinetic Parameters of Amitriptyline and Nortriptyline in Serum after Intravenous Administration

Dose(mg/kg)	Amitriptyline			Nortriptyline		
	5	2.5	1	5	2.5	1
α (h^{-1})	4.95	6.36	8.68			
β (h^{-1})	0.354	0.385	0.430			
k_{12} (h^{-1})	2.51	3.42	4.93			
k_{21} (h^{-1})	1.83	2.21	2.89			
k_{10} (h^{-1})	0.955	1.11	1.29			
V_1 (L/kg)	6.69	7.29	5.85			
γ (h^{-1})				12.60	10.30	9.66
δ (h^{-1})				0.368	0.364	0.482
k_{34} (h^{-1})				7.38	5.93	5.27
k_{43} (h^{-1})				4.57	3.73	3.56
k_{30} (h^{-1})				1.01	1.01	1.31
V_3 (L/kg)				5.32	5.95	4.70
Vd_{ss} (L/kg)	15.87	18.57	15.83	13.91	15.41	11.66
AUC ^a ($\mu g \cdot h/mL$)	0.808	0.324	0.134	0.956	0.436	0.166
Cl ^b (L/h/kg)	6.19	7.71	7.45	5.23	5.73	6.04

^aAUC: area under the concentration curve. ^bCl=Dose/AUC

わらず²²⁾、AMTを静脈内投与した場合、いずれの投与量においても脱メチル化代謝物は検出限界以下であった。

第二節 Maprotiline および Desmethylnmaprotiline 単回静脈内投与時の血清中動態

Fig. 3にMAPを5.0、2.5および1.0mg/kg静注した際の血清中濃度推移を、またFig. 4にDMAPを2.5mg/kg静注した時の血清中濃度推移を示した。MAPおよびDMAPともに、血清中からは2-compartment modelに従って消失することが観察された。そこでAMTと同様に親化合物の血清中濃度推移を式1に、また脱メチル化代謝物のそれを式2に当てはめ、薬動学的パラメーターを算出した(Table II)。

MAPの場合もAMTと同様に、そのClは投与量に関わらず、ほぼ一定の値を示し、検討した濃度範囲では血清中から線形消失をすることが明らかになった。

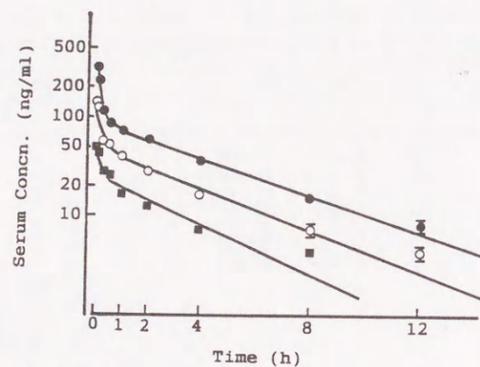


Fig. 3 Time Courses of Maprotiline in Serum after Intravenous Administration of Maprotiline.
Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves.
Key: (●) 5 mg/kg; (○) 2.5 mg/kg; (■) 1 mg/kg.

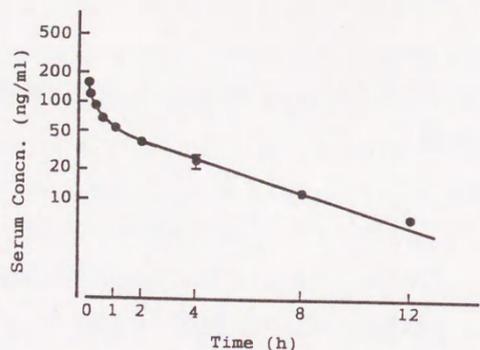


Fig. 4 Time Courses of Desmethyloprotiline in Serum after Intravenous Administration of Desmethyloprotiline (2.5 mg/kg).
Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves.

Table II Pharmacokinetic Parameters of Maprotiline and Desmethyloprotiline After Intravenous Administration

Dose (mg/kg)	Maprotiline			Desmethyloprotiline
	5	2.5	1	2.5
α (h^{-1})	10.64	9.21	12.01	
β (h^{-1})	0.216	0.243	0.283	
k_{12} (h^{-1})	7.54	6.02	7.49	
k_{21} (h^{-1})	2.33	2.56	3.94	
k_{10} (h^{-1})	0.986	0.874	0.863	
V_1 (L/kg)	11.1	12.8	12.2	
γ (h^{-1})				4.45
δ (h^{-1})				0.202
k_{34} (h^{-1})				2.32
k_{43} (h^{-1})				1.83
k_{30} (h^{-1})				0.490
V_3 (L/kg)				16.3
Vd_{ss} (L/kg)	47.0	42.9	35.4	37.0
AUC ^a ($\mu g \cdot h/mL$)	0.464	0.231	0.102	0.319
Cl ^b (L/h/kg)	10.8	10.8	9.84	7.83

^aAUC: area under the concentration curve. ^bCl=Dose/AUC

MAP は DMAP に比較してより急速な分布が示されたが、消失に関して、親化合物と脱メチル化代謝物との間に差は認められなかった。また MAP および DMAP の Vd_{ss} は AMT および NRT に比較して大きく、より組織移行性が高いことが示された。MAP を静注した場合も AMT 静注時と同様にいずれの投与量においても脱メチル化代謝物は検出限界以下であった。この原因としては AMT の場合も含めて次のように考えられる。即ち、抗うつ薬のように、高い脂溶性を有する薬物を直接体循環中に投与すると、投与された薬物の多くは組織に直ちに分布し、主代謝部位である肝臓に到達する薬物の量は少ないこと、さらに代謝によって生成した代謝物の量はさらに少なく、加えて代謝物自身もその脂溶性が高いため直ちに組織に分布することなどが考えられる。こういった結果は Imipramine (IMP) を静脈内投与した際にも報告されており²³⁾、組織分布性の高い抗うつ薬一般に認められる現象であることが示唆された。

第三節 小括

AMT、NRT、MAPおよび DMAP をラットにそれぞれ投与量を変化させて投与した際の血清中濃度はいずれも2-compartment model に従って血清中から消失することが明らかになった。AMT および MAPともに検討した濃度範囲内では血清中から線形消失を示すことが明らかになった。分布容積はいずれの薬物も大きく、高い組織分布性を有することが示された。親化合物である AMTおよび MAPを静脈内投与した場合、脱メチル化代謝物 NRTあるいは DMAPは検出限界以下であった。

第二章 腹腔内投与時の抗うつ薬の体内動態

抗うつ薬の標的臓器は脳であり、その薬理効果を評価するうえで薬物の脳内動態に関する情報は不可欠である。また抗うつ薬のように活性代謝物を有し、さらにその薬理効果が多数回投与により得られる場合、投与経路と投与法に基づく体内動態の変化を知ることが重要である。

著者はラット腹腔内に AMTおよび MAPをそれぞれ単回および多数回投与を行ない、それらの脱メチル化代謝物とともに血清中、前頭皮質(FC)、線条体(ST)、小脳(CE)、中脳(MB)、海馬(HI)、橋・延髄(MO)、視床(TH)及び視床下部(HY)における薬物動態を検討した。加えて、*in vitro*実験で、油水分配係数および脱メチル化酵素活性を検討した。

第一節 Amitriptyline 単回投与時の血清中および脳内動態

AMT20mg/kgをラット腹腔内に単回投与後の血清中と脳3部位(FC、HI、HY)における AMTおよび NRTの濃度推移をFig. 5に示した。また、非線形最小二乗法により得られた薬動学的パラメーターをTable III に示した。

AMT を腹腔内投与した場合、静脈内投与時と異なり、血清中に AMT および脱メチル化代謝物 NRTが高濃度に検出された。加えて、それらの最高濃度到達時間(t_{max})はともに投与5分後に得られ、代謝物の速やかな生成が認められた。これらの結果より AMTは腹腔内投与時に初回通過効果を受けることが明らかになった。

一方、脳中の最高濃度(C_{max})は AMT、NRT ともに血清中に比較して高値を示し、さらに C_{max} で比較した脳8部位での分布パターンはFCが他の部位に比して高い傾向を示したが AMTおよび NRTともに部位間に有意な差はなくほぼ均一な分布を示した (Table III)。脳中の t_{max} には部位間の差はなく AMTは15分後に、NRT は30分後に得

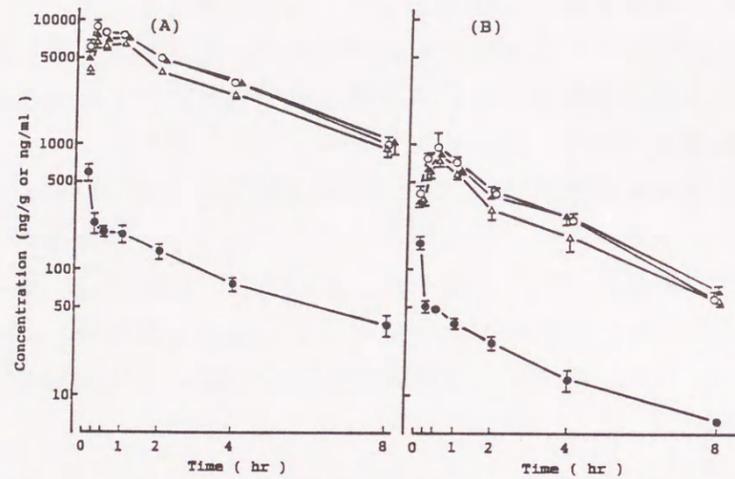


Fig. 5 Time Course of Amitriptyline (A) and Nortriptyline (B) in Serum and Brain Regions after Acute Intraperitoneal Administration of Amitriptyline (20 mg/kg). Each point represents the mean \pm SEM of 4 or 5 rats. Key: (●) Serum, (○) Frontal cortex, (▲) Hippocampus, (△) Hypothalamus.

られた。また脳各部位からの消失速度定数 k_{el} に部位間の差は認められず、血清中と平行に消失した。これらの結果より、AMT および NRT の脳移行は速やかに、かつ脳中に高濃度に分布すること、加えてその脳内動態に部位間の差は少ないことが示された。

脳は AMT のような抗うつ剤にとって標的臓器でありその効果発現に際して血液-脳関門 (B.B.B.) の通過は不可欠である。薬物の血液-脳関門の透過速度に影響を与える因子として油水分配係数、 pK_a およびタンパク結合等が知られている²⁴⁻²⁶⁾。AMT および NRT はともに高い pK_a (AMT, 9.4; NRT, 12.6) を有し血清中ではほとんどイオン化体で存在し²⁷⁾、かつ、それら薬物が高いタンパク結合性²⁸⁾

Table III Pharmacokinetic Parameters of Amitriptyline and Nortriptyline in Serum and Brain after Acute and Chronic Administration of Amitriptyline*

Sample	C _{max} , $\mu\text{g/mL}$, $\mu\text{g/g}$		t _{max} , h		K _{el} or β , h ⁻¹		t _{1/2} , h		AUC _{0-∞} , $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, $\mu\text{g}\cdot\text{h/g}$	
	A ^b	C ^c	A	C	A	C	A	C	A	C
Amitriptyline										
Serum	0.60(0.20)	0.88(0.09)	0.08	0.08	0.249	0.343	2.78	2.02	0.98	1.59
FC ^d	8.87(1.84)	12.19(1.45)	0.25	0.5	0.288	0.419	2.41	1.65	33.05	33.47
ST	8.61(2.10)	12.34(2.67)	0.25	0.5	0.282	0.406	2.46	1.71	31.65	32.96
CE ^f	6.35(1.26)	9.45(1.24) ⁱ	0.25	0.5	0.284	0.401	2.44	1.73	23.89	26.11
MB ^g	8.07(1.20)	11.73(1.16)	0.25	0.5	0.291	0.413	2.38	1.68	28.77	30.76
HI ^h	7.48(1.57)	10.72(1.26)	0.25	0.5	0.254	0.365	2.73	1.90	33.09	35.34
MO ⁱ	6.96(0.83)	9.82(0.83) ⁱ	0.25	0.5	0.247	0.367	2.81	1.89	31.72	30.62
TH ^j	8.01(1.44)	11.39(1.02)	0.25	0.5	0.266	0.407	2.61	1.70	34.45	34.18
HY ^k	6.65(1.42)	9.80(0.92) ⁱ	0.25	0.5	0.263	0.384	2.63	1.80	27.65	27.34
Nortriptyline										
Serum	0.17(0.04)	0.64(0.09)	0.08	0.25	0.309	0.303	2.24	2.29	0.19	1.66
FC	0.95(0.13)	5.25(0.28)	0.5	0.5	0.368	0.383	1.88	1.81	2.73	17.84
ST	0.86(0.12)	5.16(0.84)	0.5	0.5	0.359	0.378	1.93	1.83	2.56	17.25
CE	0.78(0.14)	4.94(0.60)	0.5	0.5	0.430	0.413	1.61	1.68	1.97	14.05
MB	0.86(0.16)	5.43(0.65)	0.5	0.5	0.396	0.389	1.75	1.78	2.38	16.71
HI	0.81(0.13)	4.47(0.44) ^m	0.5	0.5	0.307	0.314	2.26	2.21	2.71	19.12
MO	0.85(0.17)	4.79(0.44)	0.5	0.5	0.331	0.349	2.09	1.99	2.65	16.94
TH	0.92(0.17)	5.09(0.52)	0.5	0.5	0.342	0.384	2.03	1.80	2.74	18.00
HY	0.73(0.12)	4.56(0.42) ^m	0.5	0.5	0.358	0.376	1.94	1.84	2.10	14.91

*AMT was administered at a dose of 20 mg/kg intraperitoneally; each value represents the mean (SD) of four or five rats. ^bAcute. ^cChronic. ^dFrontal Cortex. ^eStriatum. ^fCerebellum. ^gMidbrain. ^hHippocampus. ⁱPons and medulla. ^jThalamus. ^kHypothalamus. ^l $p < 0.01$, vs. FC. ^m $p < 0.05$, vs. FC.

Table IV Brain:Serum Ratios of Amitriptyline and Nortriptyline after Acute and Chronic Administration of Amitriptyline*

Brain Regions	C _{max, brain} :C _{max, serum}		AUC _{brain} :AUC _{serum}	
	A	C	A	C
Amitriptyline				
FC	37.7	23.6	33.8	21.0
ST	36.7	23.9	32.4	20.7
CE	27.0	18.3	24.5	16.4
MB	34.3	22.7	29.5	19.3
HI	31.8	20.8	33.9	22.2
MO	29.6	19.0	32.5	19.2
TH	34.1	22.1	35.3	21.4
HY	28.3	19.0	28.3	17.2
Nortriptyline				
FC	19.6	9.7	14.8	10.7
ST	17.7	9.5	13.9	10.4
CE	16.1	9.1	10.7	8.5
MB	17.9	10.0	12.9	10.1
HI	16.8	8.2	14.7	11.5
MO	17.6	8.8	14.4	10.2
TH	18.9	9.4	14.9	10.8
HY	15.1	8.4	11.4	9.0

*See Table III for key to abbreviations; each value represents the mean of four or five rats.

Table V Nortriptyline:Amitriptyline Ratios in Serum and Brain Regions after Acute and Chronic Administration of Amitriptyline*

Sample	C _{max, NRT} :C _{max, AMT}		AUC _{NRT} :AUC _{AMT}	
	A	C	A	C
Serum	0.278	0.726	0.189	1.042
FC	0.107	0.430	0.083	0.533
ST	0.099	0.418	0.081	0.523
CE	0.123	0.522	0.083	0.538
MB	0.107	0.463	0.083	0.543
HI	0.109	0.417	0.082	0.541
MO	0.122	0.488	0.084	0.553
TH	0.114	0.447	0.086	0.527
HY	0.110	0.465	0.076	0.545

*See Table III for key to abbreviations; each value represents the mean of four or five rats.

を有しているにもかかわらず脳各部位での AMTおよび NRTの C_{max}は血清中に比較して高い値を示した。さらに、AUC で示した脳血比 (Table IV)は AMTが NRTの約 2.3倍高い値を示した。同様に AUCで比較した血清中の NRT:AMT比 (Table V)は脳各部位でのそれを約 2.3 倍上回り、AMT の脳移行性が NRTに比して優れていることが示唆された。そこで油水分配率を測定した結果、AMT は1373、NRT は57であった。Jørgensen らは薬物の脳内移行性がその脂溶性に依存することを報告しているが²⁶⁾、本節の検討においても、より脂溶性の高い AMTの脳内移行性が NRTのそれに比して良好であることが示された。

第二節 Amitriptyline 多数回投与時の血清中および脳内動態

AMT20mg/kgをラット腹腔内に10日間連続投与後の血清中と脳3部位(FC, HI, HY)における AMTおよび NRTの濃度推移をFig. 6に示し得られた薬動学的パラメーターをTable III に示した。

C_{max}で比較した脳8部位での分布パターンは単回投与時にはいずれの薬物も脳各部位間に差が認められなかったが、慢性投与によりAMT ではFCがCE、MOおよびHYに対して、また NRTではFCがHIおよびHYに比して有意に高いことが示され、部位間に差が認められた。こういった不均一な分布をもたらす原因として脳各部位への異なった分布および脳各部位からの異なった消失、さらに薬物に対する特異的な結合部位の存在が考えられる。Sherman ら⁹⁾はIMP が脊髄液からHIへの分布が遅いことさらにFriedmanら¹⁰⁾は中隔、STおよびHYにおいてchlorimipramine(CIM)のt_{1/2}が遅延することを報告している。さらにラット脳中においてIMP の特異的な結合部位の存在が知られている^{11, 12, 29-33)}。

多数回投与後のT_{max}および k_{el}は脳部位間で有意な差は認められず、分布パターンの差が分布速度あるいは消失速度の差に基づくものではないことが示唆された。また特異的な結合部位への結合は高親

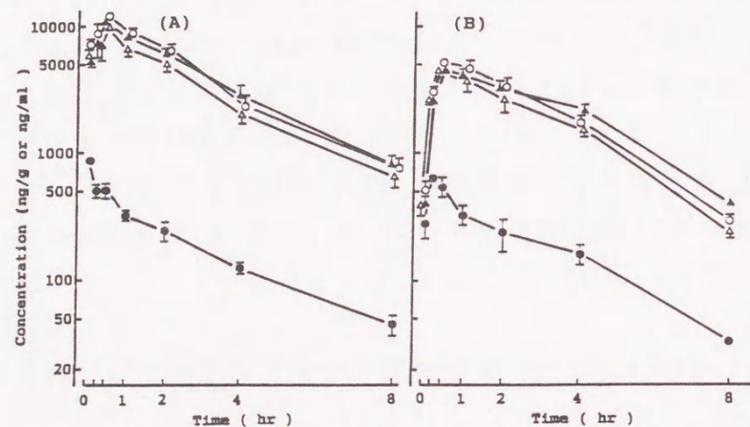


Fig. 6 Time Course of Amitriptyline (A) and Nortriptyline (B) in Serum and Brain Regions after Chronic Intraperitoneal Administration of Amitriptyline (20 mg/kg). Each point represents the mean \pm SEM of 4 or 5 rats. Key: (●) Serum, (○) Frontal cortex, (▲) Hippocampus, (△) Hypothalamus.

和性の現象であり低い濃度で飽和に達することが報告されている。従って、腹腔内投与により得られた脳中濃度 (5-40 μM) では薬物の特異的結合部位はすでに飽和しているものと考えられ、特異的な結合部位の存在で分布パターンの差を説明することは困難である。また Yufu³⁴⁾ は単回投与時に不均一な脳内分布を報告しており、AMT 多数回投与時の脳内分布パターンの変化についてはより詳細な検討が必要なことが示された。

抗うつ薬のように活性代謝物を有する場合、その代謝活性の変化は薬物動態の変化のみならず、薬理効果にも大きな影響を与えることが考えられる。すでに IMP^{6, 23)} および CIM¹⁰⁾ などについては多数回投与により抗うつ薬の代謝が亢進し脱メチル化体濃度の増加お

よび親化合物の $t_{1/2}$ が短縮することが報告されている。AMT の場合多数回投与により AMT および NRT の C_{max} 、血清中 AUC はいずれも増加し、特に NRT の顕著な増加が認められた。加えて AMT の $t_{1/2}$ は短縮したのに対して NRT のそれには変化が認められなかった。これらの結果は多数回投与により AMT の脱メチル化代謝酵素活性が亢進した可能性を示唆するものと考えられる。そこで AMT の脱メチル化酵素活性に及ぼす多数回投与の影響を肝ミクロソームを用いて検討した (Fig. 7)。NRT の生成速度と AMT 濃度の関係を Lineweaver-Burk plots により解析した結果、親和性は低下したが、線形領域における V_{max}/K_m および V_{max} ともに多数回投与により増加し、脱メチル化酵素活性の亢進が示された。従って、多数回投与時の NRT の血清中 AUC の増加の原因として AMT の脱メチル化代謝酵素の亢進が関与していることが明らかとなった。

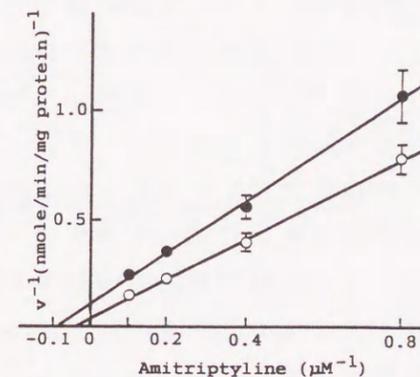


Fig. 7 Lineweaver-Burk Plot of Amitriptyline Obtained from Control and Pretreated rats. Each point represents the mean \pm SEM of three experiments. Control rat (●): $K_m = 10.6 \mu\text{M}$, $V_{\text{max}} = 9.0 \text{ nmol/min/mg protein}$. Pretreated rat (○): $K_m = 21.1 \mu\text{M}$, $V_{\text{max}} = 23.1 \text{ nmol/min/mg protein}$.

AMT の場合、脱メチル化代謝能の亢進、さらに $t_{1/2}$ の短縮にも関わらず、その血清中 AUCは多数回投与により増加した。この原因として bioavailabilityあるいは初回通過効果の変動、またより遅い消失相の存在、組織移行の抑制などが考えられる。本研究において血清中および脳中以外の組織中の薬物濃度、また8時間目以降の薬物濃度の検討は行っておらず、組織蓄積あるいはより遅い消失相についての知見を得ることが出来なかった。しかし IMPを多数回投与した際の組織移行の抑制が報告されており²³⁾、AMTの血清中 AUCの増加が組織移行の抑制に基づいている可能性が考えられる。また多数回投与により AMTの赤血球移行が抑制され AMTの血清中濃度が増加することも報告されている³⁵⁾。従って、AMTの血清中 AUCの変化についてはより詳細な検討が必要である。

多数回投与により AMTの脳中 AUCはいずれの部位も顕著な変化は認められなかったが、NRTのそれは顕著な増加が認められた。AMTの脳各部位からの $t_{1/2}$ は短縮したのに対して、NRTのそれに変化は認められず、いずれも血清中と平行に消失した。AMTおよびNRTともに、 C_{max} および AUCで示した脳血比 (Table IV)は多数回投与により有意に低下し、脳移行の抑制が認められた。さらにその抑制の程度が薬物で異なることが明らかになった。この実験で得られた血清中濃度は通常の治療濃度³⁶⁾に比較して高濃度であり、脳移行の抑制が脳内の結合部位の飽和に基づく可能性が考えられる。また Corona³⁷⁾らは家兎で慢性投与による膜透過性の変化が AMTと代謝物の脳内移行に影響を与える可能性を示している。しかし本章の実験では脳移行抑制の機構に関して明らかにすることは出来なかった。

第三節 Maprotiline 単回投与時の血清中および脳内動態

MAP20mg/kgをラット腹腔内に単回投与後の血清中と脳3部位 (FC、HI、HY) におけるMAPおよびDMAPの濃度推移をFig. 8に示した。また得られた薬動学的パラメーターをTable VIに示した。

MAP腹腔内投与により脱メチル化代謝物DMAPが高濃度に検出されたことから AMTと同様に初回通過効果を受けることが認められた。血清中の t_{max} は MAPが5分、DMAPが30分と AMTに比較して脱メチル化代謝物の出現が遅れることが示された。

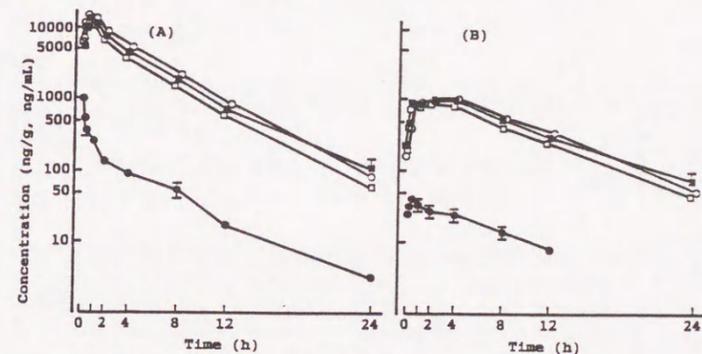


Fig. 8 Time Course of Maprotiline (A) and Desmethylmaprotiline (B) in Serum and Brain Regions after Acute Intraperitoneal Administration of Maprotiline (20 mg/kg).

Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats.

Key: (●) Serum, (○) Frontal cortex, (■) Hippocampus, (□) Hypothalamus.

Table VI Pharmacokinetic Parameters of Maprotiline and Desmethylmaprotiline in Serum and Brain after Acute and Chronic Administration of Maprotiline^a

Sample	C _{max} , μg/mL, μg/g		t _{max} , h		K _{el} or β, h ⁻¹		t _{1/2} , h		AUC _{0-∞} , μg·h/mL, μg·h/g	
	A ^b	C ^c	A	C	A	C	A	C	A	C
Maprotiline										
Serum	1.00(0.22)	0.89(0.22)	0.08	0.08	0.214	0.188	3.24	3.69	1.46	1.79
FC ^d	15.87(2.20)	15.26(1.39)	0.5	1.0	0.256	0.243	2.70	2.85	69.42	83.09
ST ^e	14.19(1.59)	15.13(1.16)	0.5	1.0	0.250	0.251	2.77	2.76	65.41	82.01
CE ^f	13.25(1.44)	12.11(0.70) ¹	0.5	1.0	0.296	0.264	2.34	2.62	51.01	57.72
MB ^g	14.69(1.77)	15.05(0.50)	0.5	1.0	0.285	0.255	2.43	2.71	58.29	74.84
HI ^h	12.91(1.12)	13.67(0.57) ^m	0.5	1.0	0.214	0.212	3.25	3.27	67.83	85.73
MO ⁱ	13.65(2.44)	14.16(0.92)	0.5	1.0	0.239	0.222	2.90	3.12	65.40	78.23
TH ^j	15.84(2.50)	16.15(0.69)	0.5	1.0	0.247	0.243	2.80	2.85	70.09	90.68
HY ^k	14.14(2.82)	14.17(2.43)	0.5	1.0	0.255	0.248	2.72	2.79	59.38	76.12
Desmethylmaprotiline										
Serum	0.04(0.01)	0.09(0.02)	0.5	2.0	0.131	0.108	5.28	6.42	0.30	1.24
FC	1.06(0.36)	1.96(0.32)	4.0	2.0	0.133	0.101	5.22	6.86	11.65	27.87
ST	1.04(0.20)	1.95(0.50)	2.0	2.0	0.108	0.087	6.39	8.00	12.42	28.41
CE	0.90(0.22)	1.45(0.28)	2.0	2.0	0.136	0.098	5.11	7.10	9.36	19.77
MB	1.02(0.26)	1.77(0.32)	2.0	2.0	0.119	0.098	5.80	7.08	11.93	24.92
HI	0.97(0.33)	1.71(0.32)	4.0	4.0	0.107	0.080	6.45	8.71	12.18	28.83
MO	1.04(0.41)	1.71(0.22)	4.0	2.0	0.110	0.090	6.30	7.74	12.50	27.37
TH	1.09(0.31)	2.02(0.36)	2.0	4.0	0.109	0.099	6.34	6.99	13.62	28.76
HY	1.02(0.37)	1.95(0.14)	4.0	4.0	0.107	0.073	6.48	9.47	12.18	32.31

^aMAP was administered at a dose of 20 mg/kg intraperitoneally; each value represents the mean (SD) of four or five rats. ^bAcute. ^cChronic. ^dFrontal Cortex. ^eStriatum. ^fCerebellum. ^gMidbrain. ^hHippocampus. ⁱPons and medulla. ^jThalamus. ^kHypothalamus. ¹p<0.01, vs. FC. ^mp<0.05, vs. FC.

Table VII Brain:Serum Ratios of Maprotiline and Desmethylmaprotiline after Acute and Chronic Administration of Maprotiline^a

Brain Region	C _{max, brain} :C _{max, serum}		AUC _{0-∞, brain} :AUC _{0-∞, serum}	
	A	C	A	C
Maprotiline				
FC	41.8	55.8	47.5	46.4
ST	37.3	55.3	44.8	45.8
CE	34.9	44.3	34.9	32.2
MB	38.7	55.0	39.9	41.8
HI	34.0	50.0	46.4	47.9
MO	35.9	51.8	44.8	43.7
TH	41.7	59.0	48.0	50.6
HY	37.2	51.8	40.7	42.5
Desmethylmaprotiline				
FC	42.7	21.2	39.0	22.5
ST	38.2	21.0	41.6	22.9
CE	33.0	15.7	31.3	16.0
MB	37.5	19.1	39.9	20.1
HI	39.4	20.0	40.8	23.3
MO	37.9	18.5	41.8	22.1
TH	40.0	23.6	45.6	23.2
HY	41.4	22.8	40.7	26.1

^aSee Table VI for key to abbreviations; each value represents the mean of four or five rats.

Table VIII Desmethylmaprotiline:Maprotiline Ratios in Serum and Brain Regions after Acute and Chronic Administration of Maprotiline^a

Sample	C _{max, DMAP} :C _{max, MAP}		AUC _{0-∞, DMAP} :AUC _{0-∞, MAP}	
	A	C	A	C
Serum				
FC	0.040	0.104	0.205	0.691
ST	0.067	0.128	0.168	0.335
CE	0.074	0.129	0.190	0.346
MB	0.068	0.120	0.183	0.343
HI	0.070	0.117	0.205	0.333
MO	0.075	0.125	0.180	0.336
TH	0.076	0.120	0.191	0.350
HY	0.069	0.125	0.194	0.317
	0.072	0.138	0.205	0.424

^aSee Table VI for key to abbreviations; each value represents the mean of four or five rats.

脳各部位におけるMAPの t_{max} に部位間の差はなく、いずれも投与30分後に得られた。一方、DMAPのそれは投与2-4時間後に得られ、部位間で差が認められた。MAPおよびDMAPともに消失速度定数に脳各部位間の差は認められず、血清中とパラレルに消失した。 C_{max} で比較した脳各部位での分布パターンはMAPでは脳内分布に有意な差は認められなかったが、FCがHI、CEおよびMOに比して高い傾向を示した。またDMAPのそれは均一な分布を示した。

第一節でAMTおよびNRTの脳移行性が異なり、薬物の脂溶性が大きな役割を果たしていることを明らかにした。MAPの場合、AUCで比較した脳血比はMAPおよびDMAPともに類似の値を示した(Table VII)。加えて、AUCで比較したDMAP:MAP比は血清中および脳各部位ともに顕著な差は認められなかった(Table VIII)。これらの結果よりMAPおよびDMAPの脳移行性に顕著な差がないことが示唆された。そこで油水分配率を測定した結果、MAPは23、DMAPは22であった。このことは脳移行性と薬物の脂溶性が密接に関連していることを示すものと考えられる。しかし、高い脂溶性を有するAMTおよびNRTの脳血比はMAPおよびDMAPに比して低値を示していることから、薬物の脂溶性のみで抗うつ薬の脳移行性を論ずることは困難と考えられる。

第四節 Maprotiline 多数回投与時の血清中および脳内動態

MAP 20mg/kg をラット腹腔内に10日間連続投与後の血清中と脳3部位(FC、HI、HY)におけるMAPおよびDMAPの濃度推移をFig. 9に示し得られた薬動的パラメーターをTable VIに示した。

C_{max} で比較したMAPの脳内分布は多数回投与によりFCがCEおよびHIより有意に高く分布に差が認められたのに対して、DMAPのそれらには有意な差は認められなかった。これらの結果よりMAPの脳内分布はAMTおよびNRTと同様に多数回投与により変化することが示された。MAPの t_{max} あるいは k_{el} に部位間の差は認められず、不均一

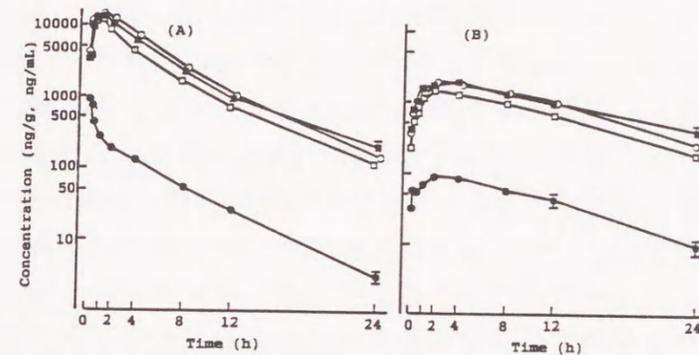


Fig. 9 Time Course of Maprotiline (A) and Desmethylmaprotiline (B) Concentrations in Serum and Brain Regions after Chronic Intraperitoneal Administration of Maprotiline (20 mg/kg).

Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats.

Key: (●) Serum, (○) Frontal cortex, (■) Hippocampus, (□) Hypothalamus.

な分布が分布速度あるいは消失速度の差に基づくものではないことが示された。脳組織は細胞構成成分が多種多様なきわめて不均一な組織と考えられる。従って脂溶性の高い薬物が蓄積しやすい脂質などの含量も脳各部位で異なっているものと考えられる。MAPの脳中濃度はDMAPのそれに比較して高く、脳各部位の脂質への蓄積の差が多数回投与時のMAPの不均一な脳内分布を説明するものかも知れない。しかしDanielら³³⁾はIMPの脳内分布の差が脳各部位の脂質含量および特異的な結合部位と相関しないことを報告している。さらにMAPに比較して脳中濃度は低い脂溶性の高いAMTおよびNRTの脳内分布も多数回投与により差が認められており、抗うつ薬を多数回投与した際に認められる異なった脳内分布に関してはより詳細な

検討が必要であると考えられる。

MAP の血清中 AUCは多数回投与によりわずかに増加したのに対して DMAPのそれは約 4.1倍と顕著に増加した。さらに、MAP の $t_{1/2}$ は単回投与時と差が観察されなかったのに対して、DMAPのそれは延長する傾向が示された。多数回投与により代謝物の血清中 AUCが上昇する原因として薬物代謝活性の亢進が考えられる。第二節において AMT の脱メチル化代謝活性が多数回投与により増加することを *in vitro* 実験において明らかにした。そこで、AMT と同様な方法を用いて MAPの脱メチル化代謝活性に及ぼす多数回投与の影響を検討した (Fig. 10)。コントロールラットの肝ミクロソームより得られた MAP の K_m および V_{max} は AMTのそれらに比較していずれも小さく MAP の脱メチル化代謝能が AMTに比して低いことが認められた。また前処置で得られた MAPの V_{max} および K_m はコントロールに比較して大きな変化は認められず、薬物代謝活性の亢進は認められなかった。

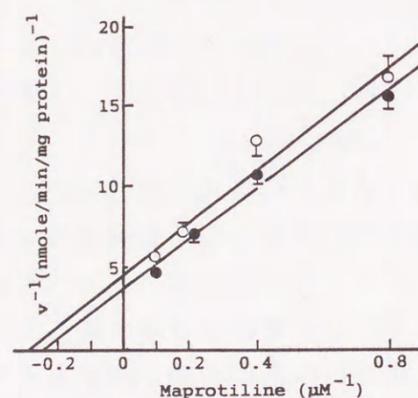


Fig. 10 Lineweaver-Burk Plot of Maprotiline Obtained from Control and Pretreated rats.

Each point represents the mean \pm SEM of three experiments. Control rat (●): $K_m = 3.93 \mu M$, $V_{max} = 0.259 \text{ nmol/min/mg protein}$. Pretreated rat (○): $K_m = 3.40 \mu M$, $V_{max} = 0.215 \text{ nmol/min/mg protein}$.

これらの結果から、脱メチル化体の血清中 AUCの増加の一因として AMT は脱メチル化酵素活性の亢進に基づくことが、MAP ではその影響は少ないことが明らかにされた。Chiba ら³⁸⁾ は IMPの代謝について parallel pathway interactionの存在を報告している。彼らは IMP の脱メチル化代謝物 Desipramine (DMI) の血清中 AUCが慢性投与により増加する原因として、high affinity で low capacityな DMI の 2-hydroxylation pathwayの飽和だけでなく、肝臓に蓄積した IMP による DMIの 2-hydroxylationが阻害された結果であることを指摘している。MAP も IMPと同様に、その主代謝経路は脱メチル化および水酸化であることが知られている^{19, 20)}。MAP においても IMP と同様な代謝阻害過程が存在すると仮定すると、観察された DMAPの血清中 AUCの増加が水酸化能の飽和あるいは蓄積した MAPによる代謝阻害に基づく可能性が考えられる。しかし今回の検討では DMAPの水酸化体濃度は測定していないため、この点についてはより詳細な検討が必要である。

一般に高い脂溶性を有する薬物が脂肪などの脂質に蓄積しやすいことが知られている。Okiyama ら²³⁾ は IMP慢性投与時に IMPの蓄積による central compartmentから peripheral compartmentへの移行の抑制および消失の遅延を報告している。さらに第二節で AMTおよび NRTの血清中 AUC が多数回投与により増加する原因として、薬物の組織移行の抑制に基づくことを明らかにした。DMAPの見かけの $t_{1/2}$ は多数回投与により遅延し、さらに Fig. 9に示すように24時間後の濃度は DMAPのそれが MAPより高いことが認められた。これらの結果は MAPに比較して DMAPが組織蓄積を受けやすく、観察された DMAPの血清中 AUCの増加が組織移行の抑制に基づくことを示すものと考えられる。

MAP の脳中 AUCは慢性投与により血清中と同程度の増加が認められた。一方、DMAPの脳内 AUCは約 2.3倍上昇したが、血清中の増加に比して低く、脳移行の抑制が考えられた。その抑制の程度は、すでに示した AMTおよび NRTのそれに比較して大きいものであった。

MAPの脳内濃度はDMAPのそれよりAUC比で約2.9倍高いにもかかわらず多数回投与による脳移行の抑制は認められなかった。さらに、AMTおよびNRTではMAPの脳中濃度より低い濃度で脳移行の抑制が認められた。これらの結果は、多数回投与時に観察された、脳移行の抑制が、それら薬物の脳中濃度に依存しておらず、それらの薬物自身の脳移行性が多数回投与により変化することを示している。弱塩基性薬物の脳移行に関して、イオン型薬物のcarrier mediatedな輸送系の関与が報告されている³⁹⁾。またSpector⁴⁰⁾は一級アミンであるRimantadineあるいはAmantadineの脳移行性が三級アミンであるDiphenhydramineによって阻害されることを報告している。これらの結果は抗うつ薬においても三級(AMT)あるいは二級アミン(MAP)である親化合物と、脱メチル化され二級(NRT)あるいは一級アミン(DMAP)となった代謝物が脳移行に際して競合阻害している可能性を示唆するものと考えられるが、この点に関してはより詳細な検討が必要である。

第五節 小括

AMTおよびMAPをラット腹腔内に投与した場合、いずれの薬物も脱メチル化代謝物が高濃度に検出され、初回通過効果を受けることが示された。また肝ミクロソームを用いて検討したAMTの脱メチル化代謝能はMAPのそれに比較して高いこと、さらに多数回投与によりAMTの脱メチル化代謝能が亢進するが、MAPのそれは変化が少ないことが明らかになった。多数回投与により脱メチル化代謝物NRTおよびDMAPともに血清中で顕著に増加したが、その原因としてNRTの増加は脱メチル化代謝能の亢進によること、DMAPのそれは脱メチル化代謝能の変化によらないことが明らかになった。

AUCで検討した脳血比および脱メチル化代謝物：親化合物比よりAMTの脳移行性はNRTより優れていること、MAPとDMAPとは同程度の脳移行性を有することが示された。C_{max}で検討した脳内の分布パ

ターンは単回投与時には、いずれの薬物も均一な分布を示したが、多数回投与によりAMT、NRTおよびMAPの脳内の分布パターンに差が認められた。さらに、多数回投与によりAMT、NRTおよびDMAPの脳移行の抑制が示された。これらの結果より多数回投与により薬物の脳内動態が変化することが認められた。

第三章 経口投与時の抗うつ薬の体内動態

第一章および第二章において、AMT および MAPを静脈内および腹腔内投与した際の体内動態を検討した。一般に抗うつ薬は経口投与で行われており、消化管吸収あるいは初回通過効果など、その bioavailability に及ぼす要因は多い。著者はラットに AMTおよび MAP を単回および多数回経口投与し、それらの脱メチル化代謝物を含めた血清中および脳中動態を同時当てはめを適用したコンパートメントモデル解析により検討した。

第一節 Amitriptyline 単回投与時の血清中及び脳内動態

AMT 20mg/kg をラットに単回経口投与したときの血清中と脳中の濃度推移をそれぞれ Fig. 11-Aおよび Fig. 12-Aに示した。

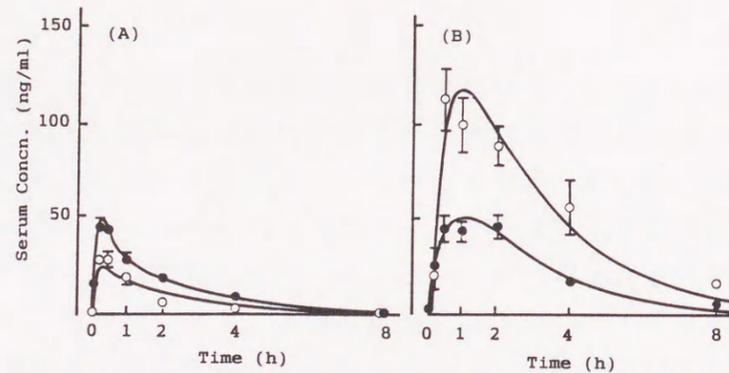


Fig. 11 Time Courses of Amitriptyline and Nortriptyline in Serum after Acute (A) and Chronic (B) Oral Administration of Amitriptyline (20 mg/kg). Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves. Key: (●) amitriptyline; (○) nortriptyline.

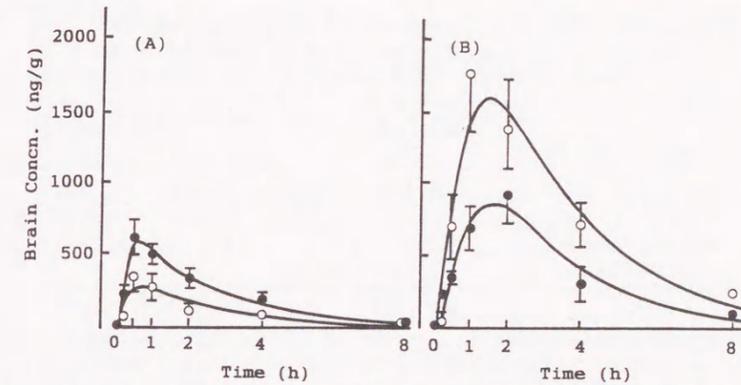


Fig. 12 Time Courses of Amitriptyline and Nortriptyline in Brain after Acute (A) and Chronic (B) Oral Administration of Amitriptyline (20 mg/kg). Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves. Key: (●) amitriptyline; (○) nortriptyline.

AMT を経口投与した場合、静注時と異なり血清中に脱メチル化代謝物が高濃度に検出された。また AMTの t_{max} は15分、NRT のそれは30分後に得られ代謝物の速やかな出現が観察された。これらのことより AMTが腹腔内投与時と同様に経口投与によっても初回通過効果を受けることが認められた。さらに AUCより算出した bioavailabilityは 0.056と低値を示した (Table IX)。そこで、bioavailabilityに及ぼす初回通過効果の影響を詳細に検討するために、Fig. 13に示す初回通過効果を考慮したコンパートメントモデルを構築し、同時当てはめを適用したモデル解析を行った。このモデルにおいて、AMT は一次吸収速度定数 (k_a)で吸収された後、体循環血清中に到達するものとし、その時の割合を F とした。また静脈内投与の結果より central compartmentからの AMTの代謝は考慮せず、吸収された AMTが初回通過効果により脱メチル化された割合を M_0 とした。従って未吸収あるいは脱メチル化代謝物以外の代謝物の割合は $1-F-M_0$ で表わされるものとした。さらに、脳中の薬物量は血清中の

Table IX The AUC^a Values of Amitriptyline and Nortriptyline in Serum and Brain after Acute and Chronic Oral Administration of Amitriptyline^b

	Amitriptyline		Nortriptyline	
	A ^c	C ^d	A	C
AUC _{SERUM} (μg·h/mL)	0.146	0.208	0.061	0.503
AUC _{BRAIN} (μg·h/g)	2.03	3.575	1.099	7.071
AUC _{BRAIN} :AUC _{SERUM}	13.9	17.2	17.9	14.1
Bioavailability ^e	0.056	0.052		

^aAUC: area under the concentration curve. ^bAMT was administered at a dose of 20 mg/kg. ^cAcute. ^dChronic. ^eCalculated from the normalized AUC_{SERUM} values of AMT after oral and intravenous administrations.

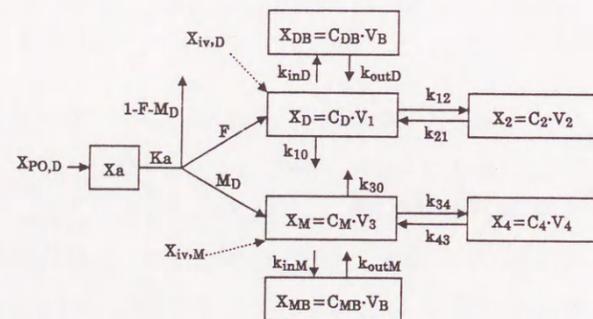


Fig. 13 Pharmacokinetic Model of Antidepressant and Its Metabolite Including Absorption Process.

$X_{p.o.d.}$, oral dose of parent drug; $X_{i.v.d.}$ and $X_{i.v.m.}$, intravenous doses of parent drug and its metabolite, respectively; X_a , X_D , X_2 and X_{DB} , the amounts of parent drug in each compartment; X_M , X_4 and X_{MB} , the amounts of metabolite in each compartment; C_D , C_2 and C_{DB} , parent drug concentration in each compartment; C_M , C_4 and C_{MB} , metabolite concentration in each compartment; V_1 , V_2 , V_3 and V_4 , the distribution volumes in each compartment; V_B , the mean weight of rat brain used in the experiment; k_a , the absorption rate constant; k_{10} and k_{30} , the first-order elimination rate constants; k_{12} , k_{21} , k_{inD} , k_{outD} , k_{34} , k_{43} , k_{inM} and k_{outM} , the first-order distribution rate constants; F , the extent of bioavailability; M_D , the fraction metabolized by NRT; $1-F-M_D$, the fraction of unabsorbed and/or other metabolites.

それに比較して極めて少ないと考えられるため、脳中濃度の変化は血清中濃度に影響を与えないものとした。このモデルでの微分式は以下に示す式 (3) から (9) によって表わされる。

$$dX_a/dt = -k_a \cdot X_a \quad \dots \dots (3)$$

$$dX_D/dt = F \cdot k_a \cdot X_a - (k_{10} + k_{12}) \cdot X_D \quad \dots \dots (4)$$

$$dX_2/dt = k_{12} \cdot X_D - k_{21} \cdot X_2 \quad \dots \dots (5)$$

$$dX_M/dt = M_D \cdot k_a \cdot X_a - (k_{30} + k_{34}) \cdot X_M + k_{43} \cdot X_4 \quad \dots \dots (6)$$

$$dX_4/dt = k_{34} \cdot X_M - k_{43} \cdot X_4 \quad \dots \dots (7)$$

$$dX_{DB}/dt = k_{inD} \cdot X_D - k_{outD} \cdot X_{DB} \quad \dots \dots (8)$$

$$dX_{MB}/dt = k_{inM} \cdot X_M - k_{outM} \cdot X_{MB} \quad \dots \dots (9)$$

X_a , X_D , X_2 および X_{DB} はそれぞれ AMT の吸収部位、central、peripheral および脳 compartment 中の薬物量である。同様に、 X_M , X_4 および X_{MB} は NRT の central、peripheral および脳 compartment 中の薬物量である。 k_a は一次吸収速度定数、 k_{12} , k_{21} , k_{inD} および k_{outD} は AMT の各 compartment 間の移行定数、 k_{34} , k_{43} , k_{inM} および k_{outM} は NRT のそれらである。

AMT 経口投与時の投与量を $X_{p.o. AMT}$ とし、時間 $t=0$ の時、 $X_D = X_2 = X_M = X_4 = X_{DB} = X_{MB} = 0$ なる初期条件で積分すると以下の式が得られる。

$$C_D = \frac{F \cdot k_a \cdot X_{p.o. AMT}}{V_1} \left[\frac{(k_{21} - k_a)}{(\alpha - k_a)(\beta - k_a)} e^{-k_a(t-t_D)} + \frac{(k_{21} - \alpha)}{(k_a - \alpha)(\beta - \alpha)} e^{-\alpha(t-t_D)} + \frac{(k_{21} - \beta)}{(k_a - \beta)(\alpha - \beta)} e^{-\beta(t-t_D)} \right] \quad (10)$$

$$C_M = \frac{M_D \cdot k_a \cdot X_{p.o. AMT}}{V_3} \left[\frac{(k_{43} - k_a)}{(\gamma - k_a)(\delta - k_a)} e^{-k_a(t-t_M)} + \dots \right]$$

$$\left. \frac{(k_{43}-\gamma)}{(k_a-\gamma)(\delta-\gamma)} e^{-\gamma(t-t_M)} + \frac{(k_{43}-\delta)}{(\gamma-\delta)(k_a-\delta)} e^{-\delta(t-t_M)} \right\} \quad (11)$$

$$C_{DB} = \frac{F \cdot k_a \cdot k_{inD} \cdot X_{po, AMT}}{V_B} \left[\begin{aligned} & \frac{(k_{21}-k_a)}{(\alpha-k_a)(\beta-k_a)(k_{outD}-k_a)} e^{-k_a(t-t_D)} + \\ & \frac{(k_{21}-\alpha)}{(k_a-\alpha)(\beta-\alpha)(k_{outD}-\alpha)} e^{-\alpha(t-t_D)} + \\ & \frac{(k_{21}-\beta)}{(\alpha-\beta)(k_a-\beta)(k_{outD}-\beta)} e^{-\beta(t-t_D)} + \\ & \frac{(k_{21}-k_{outD})}{(\alpha-k_{outD})(\beta-k_{outD})(k_a-k_{outD})} e^{-k_{outD}(t-t_D)} \end{aligned} \right] \quad (12)$$

$$C_{MB} = \frac{M_D \cdot k_a \cdot k_{inM} \cdot X_{po, AMT}}{V_B} \left[\begin{aligned} & \frac{(k_{43}-k_a)}{(\gamma-k_a)(\delta-k_a)(k_{outM}-k_a)} e^{-k_a(t-t_M)} + \\ & \frac{(k_{43}-\gamma)}{(k_a-\gamma)(\delta-\gamma)(k_{outM}-\gamma)} e^{-\gamma(t-t_M)} + \\ & \frac{(k_{43}-\delta)}{(\gamma-\delta)(k_a-\delta)(k_{outM}-\delta)} e^{-\delta(t-t_M)} + \\ & \frac{(k_{43}-k_{outM})}{(\gamma-k_{outM})(\delta-k_{outM})(k_a-k_{outM})} e^{-k_{outM}(t-t_M)} \end{aligned} \right] \quad (13)$$

C_D および C_{DB} はそれぞれ AMT の血清中および脳中の薬物濃度、 C_M および C_{MB} は NRT の血清中および脳中の薬物濃度、 V_1 、 V_2 、 V_3 およ

び V_4 は各 compartment 中の分布容積、 V_B は実験に使用したラットの平均脳重量である。また t_D および t_M はそれぞれ吸収に要した lag time である。

一般に、経口投与後の薬物の血清中データから、各パラメーターを正確に算出することは困難である。しかし、静脈内投与時の血清中データを利用することにより、経口投与された薬物の吸収、分布および排泄に関連した各パラメーターが特異的に算出されることが報告されている⁴¹⁻⁴⁵⁾。

そこで、先ず AMT および NRT をそれぞれ 2.5mg/kg 単回静注した際の血清中濃度-時間データと、AMT 20mg/kg を単回経口投与した際の AMT および代謝物としての NRT の血清中濃度-時間データの同時あてはめ(式1、2、10および11)を行ない、構築したモデルの血清中濃度推移に関連したパラメーターを算出した(Table X)。各パラメーターを用いて計算した薬物の理論曲線は Fig. 11-A に示す実測値とよく一致した。加えて、これら multi-line curve fitting により算出された AMT および NRT の分布および排泄に関するパラメーターは、第一章に示した single-line fitting で算出した値(Table I)と顕著な差は観察されず、このことから、今回構築したモデルおよび解析方法の妥当性が示された。算出された F 値は AUC で求めた bioavailability (Table IX) と同様な値が得られた。また初回通過効果により脱メチル化された割合を示す M_D 値から、投与された AMT の約 2% がこの効果を受けることが示された。すでに第二章で AMT を 20mg/kg 腹腔内投与した際も経口投与時と同様に初回通過効果を受けることを示した。しかし血清中 AUC で検討した NRT:AMT 比は経口投与時には 0.418 が得られ、腹腔内投与時のそれに比較して約 2.2 倍高く、投与経路により初回通過効果が異なることが示された。腹腔内投与時の AMT および NRT の t_{max} など示されるように、腹腔内投与時の吸収速度は経口投与時のそれに比較して極めて速いことが考えられ、吸収速度も初回通過効果に影響を与えることが認められた。

Table X Pharmacokinetic Parameter Estimates* of Amitriptyline and Nortriptyline
Obtained by Simultaneous Fitting

	Amitriptyline		Nortriptyline	
	A ^b	C ^c	A	C
α (h ⁻¹)	6.20	6.10		
β (h ⁻¹)	0.357	0.429		
k_{12} (h ⁻¹)	3.40	1.64		
k_{21} (h ⁻¹)	2.109	4.272		
k_{10} (h ⁻¹)	1.047	0.613		
V_1 (L/kg)	7.37	8.53	9.60	5.20
γ (h ⁻¹)			0.377	0.385
δ (h ⁻¹)			5.42	2.44
k_{s4} (h ⁻¹)			3.54	2.26
k_{s3} (h ⁻¹)			1.02	0.888
V_s (L/kg)			6.05	4.98
k_s (h ⁻¹)				
F_d	5.339	1.562		
M_p	0.044	0.050		
M_p	0.020	0.096		
Lag time (h)	0.054	0.059	0.077	0.209
k_{1n} (h ⁻¹) ^f	0.013	0.010	0.015	0.012
k_{out} (h ⁻¹) ^r	3.33	2.75	3.37	2.09
$k_{1n}:k_{out}$	0.0039	0.0038	0.0044	0.0055
V_B (g)	1.78	1.78	1.78	1.78

*Obtained by simultaneously fitting intravenous and oral serum concentrations to the model equations in the text. ^bAcute. ^cChronic. ^dThe extent of bioavailability. ^eFraction metabolized to NRT. ^fObtained by simultaneously fitting oral brain concentrations to the model equations in the text. All parameters except k_{1n} and k_{out} in this Table were adopted with these equations. ^gMean weight of rat brain used in the experiment.

薬物の血清中濃度推移に関するパラメーターを算出した後、AMT及びNRTの脳中濃度-時間データを同時あてはめ(式12および13)し、血清中-脳の移行定数を求めた(Table X)。このときすでに算出したAMT及びNRTの血清中濃度推移に関するパラメーターおよび V_B は固定して行なった。算出されたパラメーターを用いた理論曲線はFig. 12-Bに示すようによく一致した。算出されたパラメーターkinおよびkoutに薬物間の差は観察されなかった。加えてkin:kout比にも差は認められず、単回経口投与時のAMTおよびNRTは同程度の脳透過性を示した。

第二節 Amitriptyline 多数回投与時の血清中及び脳内動態

次にAMTを10日間多数回経口投与した際の血清中と脳内の濃度推移を検討した(Fig. 11-BおよびFig. 12-B)。すでに第二章においてAMTおよびNRTの体内動態は多数回腹腔内投与することにより変化することを示した。経口投与時においてもAMTおよびNRTの血清中AUCは多数回投与によりいずれも増加し、特にNRTで顕著であった(Table IX)。また、多数回経口投与時の最終投与直前に血清中および脳中にAMTおよびNRTは検出されず、血清中および脳中への蓄積は認められなかった。従って、観察されたAUCの変化が腹腔内投与時と同様に、薬物の体内動態の変化に基づいていることが示された。そこで前処置としてAMT20mg/kgを9日間多数回経口投与したラットにAMTおよびNRTをそれぞれ2.5mg/kg静脈内投与し、その体内動態を検討し、第一章の結果と比較した。得られた濃度-時間曲線および算出されたパラメーターをFig. 14およびTable XIに単回投与の結果とともに示した。

前処置後AMT2.5mg/kgを静脈内投与した際も、未処置の時と同様に脱メチル化代謝物は検出限界以下で検出されなかった。すでに第二章でAMT多数回腹腔内投与でAMTおよびNRTの組織移行が抑制されることを示した。また、IMPを多数回経口投与した際、IMPの

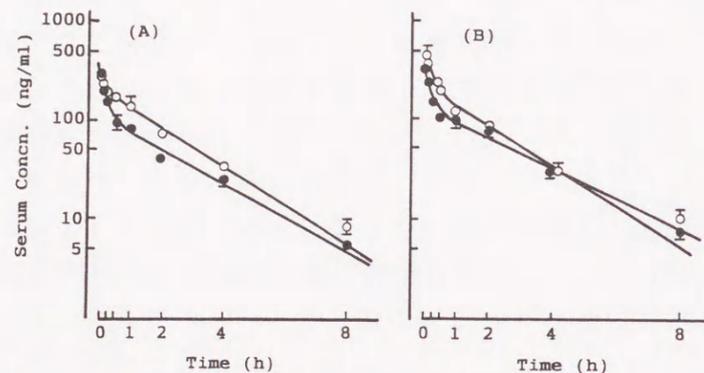


Fig. 14 Time Courses of Amitriptyline (A) and Nortriptyline (B) in Serum after Intravenous Administration at a Dose of 2.5 mg/kg.

Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves.

Key: (●) untreated ; (○) pretreated.

Table XI Pharmacokinetic Parameters of Amitriptyline and Nortriptyline in Serum after Intravenous Administration

	Amitriptyline		Nortriptylin	
	untreated ^a	pretreated ^b	untreated	pretreated
α (h^{-1})	6.36	9.11		
β (h^{-1})	0.385	0.453		
k_{12} (h^{-1})	3.42	2.51		
k_{21} (h^{-1})	2.21	6.40		
k_{10} (h^{-1})	1.11	0.645		
V_1 (L/kg)	7.29	8.22		
γ (h^{-1})			10.30	6.60
δ (h^{-1})			0.364	0.472
k_{34} (h^{-1})			5.93	2.87
k_{43} (h^{-1})			3.73	3.24
k_{30} (h^{-1})			1.01	0.962
V_3 (L/kg)			5.95	4.89
Vd_{ss} (L/kg)	18.57	11.44	15.41	9.22
AUC ($\mu g \cdot h/mL$)	0.324	0.498	0.436	0.562
Cl ^c (L/h/kg)	7.71	5.02	5.73	4.45

^aAMT or NRT was administered intravenously (2.5 mg/kg).

^bAMT or NRT was administered intravenously after receiving daily oral administrations of AMT (20 mg/kg) for 9 days. ^cCl=Dose/AUC

central から peripheral compartment への移行の抑制が報告されている²³⁾。前処置および未処置の静脈内投与実験から得られたパラメーターについて統計学的な有意差検定を行なうことはできないが AMT および NRT の AUC の増加、 k_{12} 、 k_{34} および Vd_{ss} の低下した所見より組織移行の抑制が認められた。

次に単回経口投与時と同様な方法を用いて多数回投与時の血清中および脳中データの解析を行なった。コンパートメントモデルおよび濃度式は単回投与時に定義したものを使用した。即ち、AMT を多数回経口投与して得られた AMT および NRT の血清中濃度データと前処置後 AMT および NRT を静脈内投与して得られた血清中濃度データとを同時あてはめ (式 1、2、10 および 11) し、構築したモデルの血清中濃度推移に関連したパラメーターを算出した。得られたパラメーターを Table X、それらによって計算された理論曲線を Fig. 12-B に示した。

算出された F 値は単回投与時のそれに比較して顕著な変化は観察されなかったのに対して、 M_0 値は約 4.8 倍の増加が示された。多数回投与時の各パラメーターは前処置下での AMT 静注後の血清中データとの同時あてはめによって得られたものである。従って、増加した AMT の AUC が F 値の変化に基づくものではなく、組織移行の抑制に基いていることが判明した。一方、同様に前処置下での NRT 静注後の血清中データを基に算出されている M_0 値は F 値と異なり多数回投与により増加した。多数回経口投与後の NRT の血清中 AUC の増加の程度は前処置下で NRT を静注した際に観察された NRT 血清中 AUC の増加の程度を上回った。これらの結果から NRT の血清中 AUC の増加が組織移行の抑制に加えて、初回通過効果の変化によることが認められた。第二章において AMT の脱メチル化酵素活性が多数回投与により増加することを *in vitro* 実験で示した。従って増加した M_0 値の一因として AMT の脱メチル化酵素活性の亢進が考えられた。しかし、F 値は AMT の脱メチル化代謝能が亢進されたのにも関わらず、顕著な変化を示さなかった。AMT の主代謝経路は IMP などと同様に

水酸化と脱メチル化であることが知られている⁴⁶⁾。加えて、IMPの水酸化経路がDMIによりparallel pathway interactionを介して阻害されることが報告されている³⁸⁾。本節での検討では1-F-M_Dに含まれる水酸化体の割合を他の要素と分離して評価できないが、AMTがIMPと同様なparallel pathway interactionを有すると仮定すると多数回投与時に脱メチル化代謝が亢進したにも関わらずF値が変化しなかった原因として、NRTによりAMTの水酸化経路が阻害されたことに基づくことが考えられる。

多数回経口投与により得られたAMTおよびNRTの脳中濃度から単回投与時と同様な手法を用いて、血清中-脳間の移行定数を求めた(Table X)。算出された脳移行定数 k_{in} および K_{out} は多数回投与により顕著な変化は観察されなかった。加えて $k_{in}:k_{out}$ 比にも差が観察されなかった。これらの結果からAMTおよびNRTの脳移行性は多数回経口投与による影響をほとんど受けないことが示された。

第三節 Maprotiline 単回投与時の血清中及び脳内動態

MAP 20mg/kg をラットに単回経口投与したときの血清中と脳内の濃度推移を、それぞれ Fig. 15-Aおよび Fig. 16-Aに示した。第二節においてAMT経口投与時に初回通過効果を受けることを示した。MAPを経口投与した場合も、静注時と異なり血清中に脱メチル化代謝物が高濃度に検出された。さらにMAPおよびDMAPの t_{max} は同じ値を示し、AUC法で検討したbioavailabilityも低値を示した(Table XII)。これらの結果よりMAPもAMTと同様に経口投与時に初回通過効果を受けることが示された。

MAPの場合も静脈内投与をした際、脱メチル化代謝物は測定限界以下で検出されず、AMTと同様に、central compartmentからの代謝を考慮しないモデル(Fig. 13)が適用できるものと考えられ、AMTと同様な方法でMAPのbioavailabilityに及ぼす初回通過効果の影響を検討した。

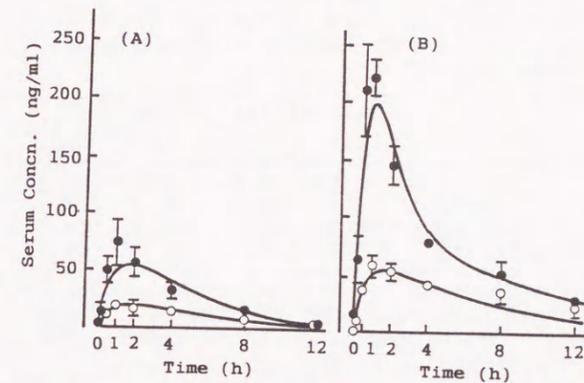


Fig. 15 Time Courses of Maprotiline and Desmethylmaprotiline in Serum after Acute (A) and Chronic (B) Oral Administration of Maprotiline (20 mg/kg). Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves. Key: (●) maprotiline; (○) desmethylmaprotiline.

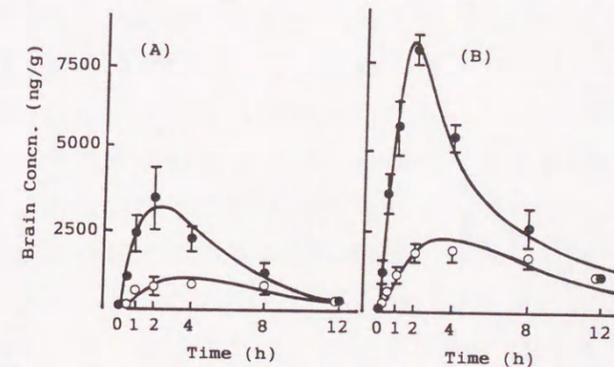


Fig. 16 Time Courses of Maprotiline and Desmethylmaprotiline in Brain after Acute (A) and Chronic (B) Oral Administration of Maprotiline (20 mg/kg). Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves. Key: (●) maprotiline; (○) desmethylmaprotiline.

Table XII The AUC^a Values of Maprotiline and Desmethylnaprotiline in Serum and Brain after Acute and Chronic Oral Administration of Maprotiline^b

	Maprotiline		Desmethyl- maprotiline	
	A ^c	C ^d	A	C
AUC _{SERUM} (μg·h/mL)	0.376	1.24	0.179	0.581
AUC _{BRAIN} (μg·h/g)	21.4	58.3	10.4	26.1
AUC _{SERUM} :AUC _{BRAIN}	56.8	47.0	58.3	44.9
Bioavailability ^e	0.204		0.527	

^aAUC: area under the concentration curve. ^bMAP was administered at a dose of 20mg/kg. ^cAcute. ^dChronic. ^eCalculated from the normalized AUC_{SERUM} values of MAP after oral and intravenous administrations.

先ず、MAP および DMAP の静脈内および経口投与時の血清中濃度-時間データを同時あてはめ (式1、2、10および11) することにより MAP 経口投与時の吸収過程を含む薬動学的パラメーターを算出した (Table XIII)。

第二章において、MAP の脱メチル化代謝能は AMT のそれに比較して低いことを明らかにしたが、算出された MAP の M₀ 値は AMT のそれに比較して高値を示し、in vitro で検討した脱メチル化代謝能を反映しなかった。吸収速度定数 k_a は AMT に比較して低値を示し、MAP の緩徐な吸収が示された。これらの結果より、初回通過効果による脱メチル化体生成は薬物の代謝能ばかりではなく吸収速度によっても影響を受けることが明らかにされた。このことは、より急速な吸収を示す MAP 腹腔内投与時の血清中 AUC で比較した DMAP:MAP 比 (0.205) が経口投与時のそれ (0.476) に比較して低値を示したことから支持され、初回通過効果が投与部位により変化することが判明した。また F 値から MAP の bioavailability は AMT のそれに比較して高いことが認められた。

Table XIII Pharmacokinetic Parameter Estimates^a of Maprotiline and Desmethylmaprotiline Obtained by Simultaneous Fitting

	Maprotiline		Desmethylmaprotiline	
	A ^b	C ^c	A	C
α (h ⁻¹)	8.11	1.54		
β (h ⁻¹)	0.254	0.113		
k ₁₂ (h ⁻¹)	5.00	0.81		
k ₂₁ (h ⁻¹)	2.56	0.352		
k ₁₀ (h ⁻¹)	0.803	0.493		
V ₁ (L/kg)	14.0	17.0		
γ (h ⁻¹)			3.81	2.46
δ (h ⁻¹)			0.181	0.145
k ₃₄ (h ⁻¹)			2.038	1.13
k ₄₃ (h ⁻¹)			1.48	1.16
k ₃₀ (h ⁻¹)			0.464	0.309
V ₃ (L/kg)			16.6	15.1
k _a (h ⁻¹)	0.824	0.942		
F ^d	0.202	0.520		
M ₀ ^e	0.065	0.112		
lag time (h)	0.068	0.057	0.207	0.080
k _{in} (h ⁻¹) ^f	0.0195	0.0088	0.0045	0.0044
k _{out} (h ⁻¹) ^f	2.59	1.73	0.719	0.712
k _{in} :k _{out}	0.0075	0.0051	0.0063	0.0062
V _B (g)	1.78	1.78	1.78	1.78

^aObtained by simultaneously fitting intravenous and oral serum concentrations to the model equations in the text. ^bAcute. ^cChronic. ^dThe extent of bioavailability. ^eFraction metabolized to DMAP. ^fObtained by simultaneously fitting oral brain concentrations to the model equations in the text. All parameters except k_{in} and k_{out} in this table were adopted with these equations. ^gMean weight of rat brain used in the experiment.

AMT および MAPの主代謝経路は脱メチル化反応であり、AMT の水酸化体への代謝経路は脱メチル化反応について大きな割合を示すこと⁴⁸⁾、MAP の場合は脱メチル化体に比較して水酸化体の割合が少ないことが報告されている^{19, 20)}。本実験では水酸化代謝物を含めた他の代謝物の割合は1-F-M_bで表わされ各々を分離評価することは出来ないが、MAP のF値およびM_b値がAMTのそれらに比較して高値を示す一因として、両薬物の異なった水酸化能に基づいている可能性が考えられた。

薬物の血清中濃度推移に関係したパラメーターを算出した後 MAP および DMAPの脳内濃度推移の同時あてはめ(式12および13)を行ない血清中-脳間の移行定数を求めた(Table XIII)。このとき、すでに算出した MAPおよび DMAPの血清中濃度推移に関するパラメーターおよびV_bは固定して行なった。算出されたパラメーターを用いた理論曲線は Fig. 16-Aに示すようによく一致した。MAP の k_{in}および k_{out}は DMAPに比較して高値を示したがk_{in}:k_{out}比に MAPと DMAPの差は観察されなかった。これらの結果から、両薬物は同程度の脳移行性を示すものと考えられる。またk_{in}:k_{out}比は第二節に示した AMT および NRTのそれらに比較して高値を示し、脳移行性に差があることが認められた。

第四節 Maprotiline 多数回投与時の血清中及び脳内動態

次に、MAP を10日間多数回経口投与した際の血清中と脳内の濃度推移を検討した(Fig. 15-BおよびFig. 16-B)。すでに第二章において MAPおよび DMAPの体内動態が慢性腹腔内投与において変化することを示した。さらに前節で AMTを10日間(20mg/kg) 多数回経口投与した際、AMT および NRTの体内動態が変化することを示した。MAP および DMAPの血清中 AUCは多数回投与により、それぞれ約 3.3および 3.2倍増加し(Table XII)、薬物の体内動態が変化することが明らかになった。そこで前章の AMTの検討で行なったように、前処置

としてMAP 20mg/kg を9日間経口投与した後、MAP あるいは DMAPをそれぞれ2.5mg/kg静脈内投与し、その体内動態の変化を第一章の結果と比較した。血清中濃度推移は Fig. 17に、また得られたパラメーターはTable XIV に単回投与の結果とともに示した。前処置後 MAP を静脈内投与した場合も未処置のラットに静脈内投与したときと同様に脱メチル化代謝物は定量限界以下で検出されなかった。

今回の検討では前処置および未処置の静脈内投与実験から得られたパラメーターについて統計学的有意差を検討することはできないが MAPおよび DMAPの血清中 AUCは増加し、また薬物のV_{dss}は低下したことから、薬物の組織移行性が多数回投与により抑制されることが認められた。高い脂溶性を有する薬物が組織に蓄積することが知られているが、MAP も多数回投与により組織蓄積することが報告されている²⁰⁾。これらのことから、経口投与時の MAPおよび DMAPの AUC が増加する一因として、これら薬物の組織蓄積に基づく組織移行の抑制によることが示された。

次に単回経口投与時と同様な方法を用いて多数回投与時の血清中および脳中データの解析を行なった。多数回投与時の解析には、静注データとして前処置後 MAPおよび DMAPを静脈内投与して得られた血清中濃度-時間データおよび MAPを多数回経口投与して得られた MAPおよび DMAPのそれらを同時あてはめ(式1、2、10および11)し構築したモデルの血清中濃度推移に関連したパラメーターを算出した。得られたパラメーターをTable XIIIに、それらによって計算された理論曲線を Fig. 15-Bに示した。

算出されたF および M_bは単回投与時に比較して、それぞれ約 2.6 および 1.7倍増加し、多数回投与によりbioavailability の増加および脱メチル化体の割合が上昇することが認められた。これらの結果から MAPおよび DMAPの血清中 AUCの増加の原因が組織移行の抑制ばかりではなく、初回通過効果の変動にもよることが明らかになった。すでに吸収速度および薬物代謝活性がそれぞれ初回通過効果に影響を与えることを示した。前章で MAPの脱メチル化代謝能は慢性

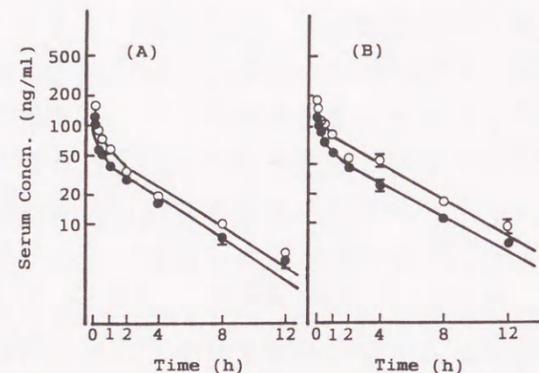


Fig. 17 Time Courses of Maprotiline (A) and Desmethylmaprotiline (B) in Serum after Intravenous Administration (2.5 mg/kg).

Each point represents the mean \pm SEM of four or five rats and the solid lines are fitted curves.
Key: (●) untreated ; (○) pretreated.

Table XIV Pharmacokinetic Parameters of Maprotiline and Desmethylmaprotiline After Intravenous Administration

	Maprotiline		Desmethylmaprotiline	
	untreated ^a	pretreated ^b	untreated	pretreated
α (h^{-1})	9.21	3.97		
β (h^{-1})	0.243	0.233		
k_{12} (h^{-1})	6.02	2.01		
k_{21} (h^{-1})	2.56	1.61		
k_{10} (h^{-1})	0.874	0.575		
V_1 (L/kg)	12.8	15.2		
γ (h^{-1})			4.45	7.41
δ (h^{-1})			0.202	0.208
k_{34} (h^{-1})			2.32	3.76
k_{43} (h^{-1})			1.83	3.41
k_{30} (h^{-1})			0.490	0.452
V_3 (L/kg)			16.3	12.0
Vd_{3s} (L/kg)	42.9	34.2	37.0	25.2
AUC ($\mu g \cdot h/mL$)	0.231	0.294	0.319	0.471
Cl ^c (L/h/kg)	10.8	8.49	7.83	5.30

^aMAP or DMAP was administered intravenously (2.5 mg/kg).

^bMAP or DMAP was administered intravenously (2.5 mg/kg) after receiving daily oral administrations of MAP (20 mg/kg) for 9 days. ^cCl=Dose/AUC

腹腔内投与により変化しないことをin vitro実験で明らかにした。加えて、 k_a には大きな変化は観察されなかった。これらの結果より M_D 値が増加する原因として脱メチル化代謝能あるいは吸収速度の変化によらないことが判明した。Chiba ら³⁸⁾ は蓄積した IMPが parallel pathway interactionを介して、DMI の 2-hydroxylation 側路の飽和および水酸化速度の低下を引き起こすことを報告している。MAP の主代謝経路は脱メチル化と水酸化であることが知られている^{19, 20)}。MAP が IMPと同様なparallel pathway interactionを有すると仮定すると、F および M_D 値の増加がそれぞれ MAPおよび DMAPの水酸化能の飽和あるいは低下に基づく可能性が考えられた。

多数回経口投与で得られた MAPおよび DMAPの脑中濃度推移から単回投与と同様な方法で脳移行定数を求めた。算出されたパラメータはTable XIIIに、またそれらによって計算された理論曲線をFig. 16-Bに示した。算出された MAPの k_{in} および k_{out} 値は多数回投与により低下した。一方、DMAPのそれらは多数回投与により変化が認められなかった。加えて MAPの $k_{in}:k_{out}$ 比は多数回投与により低下したのに対して、DMAPのそれは変化が認められなかった。Table XIV に示すように MAPおよび DMAPともに多数回投与により V_{dss} は低下し組織移行の抑制が示され、特に MAPにおいて顕著であった。加えて MAP の脳内濃度は DMAPに比較して高値を示した。これらの結果は抑制された MAPの脳移行が MAPの脳内での蓄積あるいは結合の低下が DMAPのそれに比較して大きいことによってもたらされた可能性も考えられる。先に述べたように一級、二級および三級アミンのイオン体のB.B.B.通過に関して、carrier mediatedな機構の関与が報告されている^{39, 40)}。MAP および DMAPの脳移行はその大部分が単純拡散によるものと考えられるが MAPの脳移行性の変化がこの carrier mediate な機構を介して、多数回投与により顕著に増加した DMAPとの競合による可能性も考えられる。しかし、この点に関してはより詳細な検討を加える必要がある。

第五節 小括

AMT および MAPを経口投与した場合も脱メチル化代謝物が高濃度に検出され、初回通過効果を受けることが示された。多数回投与により、いずれの薬物の血清中 AUCも増加し、体内動態が変化することが示された。そこで経口投与時の体内動態を詳細に検討する目的で初回通過効果を考慮したコンパートメントモデルを構築し、同時あてはめを適用したモデル解析を行なった。

その結果、初回通過効果が薬物の代謝能だけでなく吸収速度にも影響を受けることが明らかになった。また AMTの血清中 AUCの変化は組織移行の抑制によること、NRT のそれは移行の抑制に加えて初回通過効果の変化によることが判明した。さらに MAPおよび DMAPの血清中 AUCの増加は組織移行の抑制に加えて bioavailabilityおよび脱メチル化代謝率の変化によることが明らかになった。

著者らは AMTおよび MAPを服用中の患者を対象として、それらの投与量と血清中濃度との関係を検討しAMT の脱メチル化代謝率がMAP に比して、より大きな固体差を示すこと、さらに投与量と血清中濃度との間に MAP投与群で有意な相関が認められたが、AMT 投与群ではそれが認められないことを報告した^{36, 47, 48)}。本章のモデル解析により、AMT および MAPの M_0 値の変化は多数回投与によりAMT が約 4.7倍であったのに対して、MAP のそれは約 1.7倍と前者の変化が大きいことを明らかにした。これらの結果は臨床における薬物の脱メチル化代謝率の固体間変動および投与量と血清中濃度との相関の結果を薬動的に証明するものと考えられる。脳移行定数 k_{in} および k_{out} より AMTと NRTは同程度の脳移行性を示し、それが多数回投与時にも変化しないこと、MAP の脳移行性は DMAPと同程度であるが多数回投与により MAPの脳移行性が低下することが示された。

結 論

三環系抗うつ薬 Amitriptyline及び四環系抗うつ薬 Maprotilineの血清中および脳内動態に及ぼす投与経路（静脈内、腹腔内および経口投与）および投与法（単回および多数回）の影響を検討し、以下の知見を得た。

静脈内投与された AMT、NRT、MAPおよび DMAPは血清中からいずれも 2-compartment modelに従って消失し、高い組織移行性を有することが明らかになった。また親化合物 AMTあるいは MAPを静脈内投与した場合、脱メチル化代謝物 NRTあるいは DMAPは検出限界以下でこれら薬物に一般的な現象であることが示された。

AMT および MAPを腹腔内あるいは経口投与した場合、脱メチル化代謝物は高濃度に検出され初回通過効果を受けることが判明した。また、その効果は腹腔内投与時に比較して経口投与時に大きく、初回通過効果が投与経路および吸収速度によって影響されることを明らかにした。さらに、AMT および MAPの血清中動態は多数回投与により変化し、特に脱メチル化代謝物が顕著に増加することが判明した。経口投与時の体内動態の変化をモデル解析により詳細に検討した結果、AMT の変化は組織移行の抑制、また NRTのそれは組織移行の抑制に加えて脱メチル化酵素活性の亢進に基づくことが明らかになった。MAP および DMAPの場合、それらの変化は組織移行の抑制に加えて、初回通過効果の変化が関与することが判明した。

腹腔内投与時の AMTの脳移行性は NRTに比較して優れていることMAP と DMAPは同程度の脳移行性を示すことが認められた。また多数回投与により AMT、NRT および DMAPの脳移行が抑制されることが明らかになった。モデル解析によって得られた経口投与時の血清中一脳間移行定数 k_{in} および k_{out} より AMTと NRTは同程度の脳移行性を示すこと、またそれが多数回投与時においても変化しないこと、さらに MAPの脳移行性は DMAPと同程度であるが多数回投与により MAPの脳移行性が変化することを明らかにした。これらの結果から、脱

メチル化代謝物を含めた AMT および MAP の脳内移行は投与経路（腹腔内、経口）および投与方法（単回、多数回）で異なることが判明した。

抗うつ薬の臨床応用に際して、投与量と血清中濃度、またそれらと臨床効果の関係については未だ不明な点が多いのが現状である。その原因として、それらが活性代謝物を有していること、標的臓器である脳内での濃度を直接評価できないことなどが考えられる。本章で用いた初回通過効果を考慮したモデルはそのセントラルコンパートメントからの代謝を考慮しない点が従来の初回通過効果モデルと比較して特異な点であるが、このモデルは経口投与時の体内動態の解析に応用しうることが判明した。実際の Therapeutic Drug Monitoring (TDM) で測定された患者の血中濃度をこのモデルを用いて解析することにより、投与量から代謝物を含めた血中濃度の予測が可能となり、うつ病治療に際しての合理的な投与量の設定が容易となりうるものと考えられる。またこのモデルによって血中濃度推移から脳中濃度推移を予測でき、投与量から薬理効果を予測することが可能と考える。

謝 辞

本研究は広島大学附属病院薬剤部において行なったもので、その間、終始御懇篤なる御指導、ご鞭撻を賜りました福地 坦教授に深謝致します。

また、お世話になりました薬剤部の皆様に、厚く御礼申し上げます。

実験の部

第一章の実験

1) 試薬

Amitriptyline hydrochloride (lot B63901) 標品は万有製薬(株)、Nortriptyline hydrochloride (lot 58057) 標品は、大日本製薬(株)、Maprotiline hydrochloride (lot 000884) 標品および Desmethylmaprotiline hydrochloride (lot IV) 標品は日本チバガイギー(株)、Trimipramine maleate (lot CA8433100) 標品は塩野義製薬(株)からそれぞれ分与された。Acetonitrile は高速液体クロマトグラフィ(HPLC)用のものを用い、他の試薬はいずれも試薬特級を用いた。

2) 動物実験

実験動物として SD 系雄性ラット(体重 230-300g) 4-5 匹を 1 群として行った。それらを同一ケージに入れ、動物室で飼育し固形飼料及び飲料水を自由に摂取させ、実験開始前約 20 時間絶食させた。注射液は AMT を生理食塩水に、また NRT、MAP および DMAP は 1% の Tween 80 / 生理食塩水に加温溶解して調整したものをそれぞれ使用した。AMT、NRT および MAP はそれぞれ 5、2.5、および 1 mg/2 ml/kg、DMAP は 2.5 mg/2 ml/kg をラット尾静脈より投与した。投与後心臓穿刺により、ラット一匹につき一点を採血し、3000 rpm で 15 分間遠心分離して血清を得た。血清は測定まで -20℃ で保存した。濃度推移は一匹一点法で得られた血清中濃度の各時間毎の平均値から作成した。

3) 定量法

血清または脳ホモジネート液 1ml に内部標準物質として trimipramine maleate (10 µg/ml) 20µl、2N NaOH 溶液 0.5ml および

n-hexane:isoamyl alcohol 混合溶液(99:1) 5mlを加え15分間振盪した後、3000 rpmで15分間遠心分離した。上清の有機層 4mlを分取し0.2M phosphate buffer (pH 2.0)を加え90秒間振盪混合し15分間遠心分離した。上清の有機層を除去した後水層100 μ lをHPLCに注入した。

測定装置には島津高速液体クロマトグラフ LC-3Aにカラム恒温槽 CTO-2Aを備えたものを用い、検出には島津分光光度計SPD-6Aを使用した。カラムはShim-pack CLC-ODS(6 \times 150mm)、移動相はacetonitrile と2%のsodium perchlorate-0.1M phosphate buffer(pH 3.0)(40:60)混液を用い、流速1.2 ml/min、カラム温度40 $^{\circ}$ C、AMT および NRTの検出波長は250 nm、MAP 及び DMAPのそれは220 nmとした。検出限界は AMTおよび NRTは3 ng/ml、MAP および DMAPは5 ng/mlであった。

4) データ解析

濃度-時間データの薬動的解析は、非線形最小二乗プログラム MULTI²¹⁾を用いてパーソナルコンピューター-NEC PC-9801で行なった。非線形アルゴリズムはdamping Gauss-Newton法を選択した。

AMT および MAPは本論中の式 (1)に従って、NRT および DMAPは式 (2)に従って算出した。

濃度下面積 (AUC)は0から最終試料採取時間までは台形法により算出し、それ以降は外挿により求めた。

第二章の実験

1) 試薬

第一章の実験に使用したものと同一のものを用いた。

2) 動物実験

実験動物として第一章の実験と同様に飼育したSD系雄性ラットを

用い、実験開始前約20時間絶食させた。

注射液は AMTを生理食塩水に、また NRT、MAP および DMAPはそれぞれ 5% Tween 80 /生理食塩水に加温溶解して調整したものを使用した。単回投与実験では AMTあるいは MAPを20 mg/2ml/kg腹腔内投与した。多数回投与実験では AMTあるいは MAPを20 mg/2ml/kgを腹腔内に1日1回10日間連続投与した。最終投与後、一匹一点法で血液を心臓穿刺により採取し、直ちに断頭した。脳は、Glowinsky と Iversen らの方法⁴⁹⁾を参考にして、前頭皮質(FC)、線条体(ST)、小脳(CE)、中脳(MB)、海馬(HI)、橋・延髄(MO)、視床(TH)及び視床下部(HY)の8部位に分割した。分割した脳組織は秤量後15-50倍量の蒸留水を加えpolytron homogenizer (KINEMATICA, Switzerland)でホモジナイズ(15分)した。血清及び脳ホモジネート液とも測定まで-20 $^{\circ}$ Cで保存した。

3) 油水分配率の測定⁵⁰⁾

AMT、NRT、MAP および DMAPを0.1M phosphate buffer(pH 7.4)にそれぞれ20 μ g/mlの濃度に溶解し、あらかじめ同じ buffer で飽和させたn-octanol に対する分配係数を温度20 $^{\circ}$ Cで測定した。これら薬物の分配係数は極めて高いため、水層と油層の容積比は50:1とした。水層中の薬物は島津分光光度計(UV-240)を用いて吸光度測定法により AMTおよび NRTは波長240 nm、MAP および DMAPは波長220 nmで測定した。

4) 薬物代謝酵素実験

MAP あるいはAMT20mg/kgを腹腔内に1日1回10日間連続投与したのち48時間のwash outを行ったラットの肝臓およびコントロールとして未処理のラットのそれを使用した。肝ミクロソームの調整は Omura と Satoら⁵¹⁾の方法によった。肝ミクロソームタンパクは Lowry ら⁵²⁾の方法により測定した。AMT あるいは MAPの脱メチル化速度は 1ml中の最終濃度をミクロソームが0.5mg/ml、MgCl₂が

6mM、EDTAが50 μ M、Na,K phosphate buffer (pH 7.4) が0.1Mおよび基質濃度がそれぞれ1.25、2.5、5および10 μ Mとなるように調整した混液を、37 $^{\circ}$ Cで5分間 preincubationを行なった後、最終濃度がそれぞれNADPが0.8mM、glucose-6-phosphateが8mM、G-6-P dehydrogenase が2 unit/ml となるように調整した混液を加えることにより測定した。この時、NRT およびDMAPの生成速度は検討した濃度ではそれぞれ1分および2分まで直線性を示すことから、AMTでは20秒間、MAPでは1分間のincubation後に2N NaOHを0.5ml加えて反応を停止した。

5) データ解析

親化合物を腹腔内投与した際の吸収速度定数は極めて大きいと考えられるため AMTおよび MAPの血中濃度は第一章の式(1)、さらに代謝物 NRT、およびDMAPの血中濃度、さらに全ての薬物の脳中濃度は次式を用いて、非線形最小二乗プログラムMULTI²¹⁾で解析した。

$$C=A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad \text{or} \quad C=B \cdot e^{-k_{el} \cdot t} - A \cdot e^{-k_a \cdot t} \quad (14)$$

6) 検定

有意差検定はStudent's t testまたは paired t testにより行い、 $p < 0.05$ を有意水準とした。

第三章の実験

1) 試薬

第一章の実験に使用したのと同じものを用いた。

2) 動物実験

実験動物として第一章の実験と同様に飼育したSD系雄性ラットを用い、実験開始前約20時間絶食させた。

AMT 及び MAPの経口用溶液は第二章の実験と同じものを用いた。また、注射液は第一章の実験と同じものを用いた。単回経口投与実験では AMTあるいは MAPを20mg/2ml/kg ラットに経口ゾンデを用いて投与した。多数回経口投与実験では AMTあるいは MAP20mg/2ml/kgを1日1回10日間連続経口投与を行った。またAMT20mg/2ml/kgを1日1回、9日間連続経口投与したのち、最終投与24時間目にAMT、NRT、MAPおよびDMAPをそれぞれ2.5mg/2ml/kg尾静脈内投与した。最終投与後、一匹一点法で血液を心臓穿刺により採取し、直ちに断頭した。脳は全脳を試料とした。血清及び脳ホモジネート液の調製は第二章の実験と同様に行なった。

3) データ解析

濃度-時間データは第一章の実験と同様な手法を用いて行った。

文献

- 1) 渡辺昌祐：抗うつ薬のTDM. 神経精神薬理, 7, 661 (1985).
- 2) 浅野 裕, 山下 格：三環系抗うつ剤の血中濃度と臨床. 臨床精神医学, 8, 787 (1979).
- 3) G. D. Barrows, B. Davis, B. A. Scoggins: Plasma concentration of nortriptyline and clinical response in depressive illness. *Lancet*, 2, 619 (1972).
- 4) G. Jungkunz, H. J. Kurs: Amitriptyline and its demethylation-rate. *Lancet*, 2, 1263 (1978).
- 5) R. A. Braithwait, R. Goulding, G. Theano, G. J. Bailey, A. Coppen: Plasma concentration of amitriptyline and clinical response. *Lancet*, 1, 1297 (1972).
- 6) W. Daniel, A. Adamus, M. Melzacka, J. Szymura, J. Vetulani: Cerebral pharmacokinetics of imipramine in rats after single or multiple dosages. *J. Naunyn-Schmiederberg's Arch. Pharmacol.*, 317, 209 (1981).
- 7) W. Daniel, A. Adamus, M. Melzacka, J. Szymura: The route of administration of imipramine as a factor affecting formation of its metabolite desipramine. *J. Pharm. Pharmacol.*, 34, 678 (1982).
- 8) A. Nagy: Blood and brain concentrations of imipramine and clomipramine and their monomethylated metabolites after oral and intramuscular administration in rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, 29, 104 (1977).
- 9) A. D. Sherman, G. L. Allers: Relationship between regional distribution of imipramine and its effect on learned helplessness in the rat. *Neuropharmacology*, 19, 159 (1980).
- 10) E. Friedman, T. B. Cooper: Pharmacokinetics of chlorimipramine and its demethylated metabolite in blood and brain regions of rats treated acutely and chronically with chlorimipramine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 225, 387 (1983).
- 11) M. Masada, K. Suzuki, S. Kikuta, S. Yamashita, K. Nakanishi, T. Nadai, Y. Igarashi, T. Noguchi: Regional distribution and elimination kinetics of imipramine in rat brain after single intraperitoneal administration. *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 927 (1986).
- 12) M. Masada, K. Suzuki, S. Kikuta, S. Yamashita, K. Nakanishi, T. Nadai, Y. Igarashi, T. Noguchi: Regional distribution and elimination kinetics of imipramine in rat brain after multiple dosages. *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 2173 (1986).
- 13) A. Carlsson, H. Corrodi, K. Fuxe, T. Hokfelt: Effects of some antidepressant drugs on the depletion of intraneuronal brain catecholamine stores caused by 4-methyl- α -ethyl-meta-tyramine. *Eur. J. Pharmacol.*, 5, 357 (1969).
- 14) A. Carlsson, H. Corrodi, K. Fuxe, T. Hokfelt: Effects of some antidepressant drugs on the depletion of intraneuronal brain catecholamine stores caused by 4, α -dimethyl-meta-tyramine. *Eur. J. Pharmacol.*, 5, 367 (1969).
- 15) L. Maitre, M. Staehelin, H. J. Bein: Blockade of noradrenaline uptake by 34276-Ba, a new antidepressant drug. *Biochem. Pharmacol.*, 20, 2169 (1971).
- 16) A. Balestrieri, P. Benassi, G. B. Cassano, P. Castrogiovanni, A. Catalano, A. Colombi, C. Conforto.

- G. Del Soldato, F. Giberti, P. E. Luccelli, A. Muratorio, M. Nistri, P. Sarteschi: Clinical comparative evaluation of maprotiline, a new antidepressant drug. A multicenter study, *Int. Pharmacopsychiatry*, 6, 236 (1971).
- 17) R. M. Pinder, R. N. Brogden, T. M. Speight, G. S. Avery: Maprotiline. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in mental depressive states, *Drugs*, 13, 321 (1977).
- 18) 植木昭和: 日本チバガイギー(株)社内資料
- 19) W. Riess, L. Dubey, E. W. Fünfgeld, P. Imhof, H. Hürzeler, N. Matussek, T. G. Rajagopalan, F. Raschdorf, K. Schmid: The pharmacokinetic properties of maprotiline (Ludiomil) in man, *J. Int. Med. Res.*, 3, Suppl. 2, 16 (1975).
- 20) 北川晴夫, 横島徹義, 江角凱夫, 片見好春, 宮田万里子: ラットにおける1-(3-methylaminopropyl)-dibenzo [b, c] bicyclo [2, 2, 2] octadiene hydrochloride (maprotiline) の薬動学的研究 吸収, 分布, 代謝および排泄について, *医薬品研究*, 8, 180 (1977).
- 21) K. Yamaoka, Y. Tanigawara, T. Nakagawa, T. Uno: A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer, *J. Pharmacobio-Dyn.*, 4, 879 (1981).
- 22) 風祭 元: 三環系抗うつ薬のPharmacokinetics, *神経精神薬理*, 2, 471 (1980).
- 23) M. Okiyama, K. Ueno, S. Ohkawara, S. Ohmori, T. Igarashi, H. Kitagawa: Effect of combined administration of diazepam and imipramine hydrochloride in Rats, *J. Pharm. Sci.*, 75, 1071 (1986).
- 24) B. B. Brodie, H. Kurtz, L. S. Schanker: The importance of dissociation constant and lipid-solubility in influencing the passage of drug into the cerebrospinal fluid, *Pharmacol. Exp. Ther.*, 130, 20 (1960).
- 25) S. Mayer, R. P. Maickel, B. B. Brodie: Kinetics of penetration of drugs and other foreign compounds into cerebrospinal fluid and brain, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 127, 205 (1959).
- 26) A. Jørgensen, V. Hansen, K. F. Overø: The distribution pattern of a series of tricyclic and bicyclic thymoleptics compared with their lipophilic properties and binding to plasma proteins, *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 33, 81-91 (1973).
- 27) A. L. Green: Ionization constants and water solubilities of some aminoalkylphenothiazine tranquilizers and related compounds, *J. Pharm. Pharmacol.*, 19, 10 (1967).
- 28) O. Borga, D. L. Azarnoff, G. Plym Forsell, F. Sjoqvist: Plasma protein binding of tricyclic antidepressants in man, *Biochem Pharmacol.*, 18, 2135 (1969).
- 29) R. Raiseman, M. S. Briley, S. Z. Langer: Specific tricyclic antidepressant binding sites in rat brain characterized by high-affinity ³H-imipramine binding, *Eur. J. Pharmacol.*, 61, 373 (1980).
- 30) M. Palkovits, R. Raiseman, M. Briley, S. Z. Langer: Regional distribution of [³H]imipramine binding in rat brain, *Brain Res.*, 210, 493 (1981).
- 31) W. J. Kinner, D. M. Chuang, G. Gwynn, E. Costa: Characteristics and regulation of high affinity ³H imipramine binding to rat hippocampal membranes, *Neuropharmacology*, 20, 411 (1981).
- 32) M. Sette, R. Raiseman, M. S. Briley, S. Z. Langer:

- Localisation of tricyclic antidepressant binding sites on serotonin nerve terminals, *J. Neurochem.*, 37, 40 (1981).
- 33) W. Daniel, L. Danek, L. Janczar, H. Nocon, M. Melzacka: Regional distribution of imipramine, desipramine and specific [³H]desipramine binding sites in the rat brain after acute and chronic treatment with imipramine, *J. Pharm. Pharmacol.*, 43, 31 (1991).
- 34) 由布信夫: ラットにおける amitriptyline, maprotiline およびそれらの脱メチル化体の血漿中濃度と脳内各部位濃度, *精神神経学雑誌*, 89, 22 (1987).
- 35) 大島夏生, 小滝 一, 伊賀立二: アミトリプチリンのラットにおける単回および連続投与時の体内動態の比較, *薬物動態*, 5, 603 (1990).
- 36) 中原俊夫, 更井啓介, 木村昌彦, 三宅勝志, 北浦照明, 福地 坦: 抗うつ薬血中濃度測定 of 臨床応用に関する研究 - アミトリプチリン, ノルトリプチリン, マプロチリンの薬物動態の検討 -, *精神薬療基金研究年報*, 19, 275 (1988).
- 37) G. L. Corona, R. M. Facino, G. Santagostino: Influence of a chronic treatment on the distribution of amitriptyline and metabolites in rabbit brain, *Biochem. Pharmacol.*, 20, 2765 (1971).
- 38) M. Chiba, S. Fujita, T. Suzuki: Parallel pathway interactions in imipramine metabolism in rats, *J. Pharm. Sci.*, 77, 944 (1988).
- 39) M. J. Goldberg, R. Spector, C.-K. Chiang: Transport of diphenhydramine in the central nervous system, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 240, 717 (1987).
- 40) R. Spector: Transport of amantadine and rimantadine through the blood-brain barrier, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 244, 516 (1988).
- 41) D. M. Gibson, M. E. Taylor, W. A. Colburn: Curve fitting and unique parameter identification, *J. Pharm. Sci.*, 76, 658 (1987).
- 42) Y. Tone, K. Kawamata, T. Murakami, Y. Higashi, N. Yata: Dose-dependent pharmacokinetics and first-pass metabolism of acetaminophen in rats, *J. Pharmacobio-Dyn.*, 13, 327 (1990).
- 43) 伊藤ひろ子, 乾 幸子, 松本亜紀, 浅田昌三: ラットにおけるプロカインアミドとその代謝物 N-アセチルプロカインアミドの同時あてはめを適用したコンパートメントモデル解析, *薬剤学*, 47, 61 (1987).
- 44) 松本亜紀, 乾 幸子, 浅田昌三: 家兎において同時あてはめの適用によるプロカインアミドとその代謝物, N-アセチルプロカインアミドの利用率の推定: *薬剤学*, 48, 17 (1988).
- 45) 長嶺幸子, 安達桂子, 黒津春子, 中江裕子, 浅田昌三: ラットにおけるアザチオプリンとその代謝物, 6-メルカプトプリンの同時あてはめを適用したコンパートメントモデル解析, *薬剤学*, 49, 157 (1989).
- 46) B. Mellström, L. Bertilsson, Y.-C. Lou, J. Säwe, F. Sjöqvist: Amitriptyline metabolism: Relationship to polymorphic debrisoquine hydroxylation, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 34, 516 (1983).
- 47) 中原俊夫, 更井啓介, 木村昌彦, 三宅勝志, 北浦照明, 福地 坦: 抗うつ薬血中濃度測定 of 臨床応用に関する研究 (第2報) - 人における各種抗うつ薬の薬物動態の比較 -, *精神薬療基金研究年報*, 20, 206 (1989).
- 48) H. Fukuchi, T. Kitaura, K. Miyake K, M. Kimura, Y. Kimura, K. Sarai, T. Nakahara: Association between Dosage and Serum Concentration of Antidepressants,

Clin. Pharm., 9, 45 (1990).

- 49) J. Glowinski, L. L. Iversen: Regional studies of catecholamines in the rat brain-I. The disposition of [³H] dopamine and [³H]dopa in various regions of the brain. J. Neurochem., 13, 655 (1966).
- 50) C. A. M. Hogen, D. J. Tocco, B. B. Brodie, L. S. Shanker: On the mechanism of intestinal absorption of drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther., 125, 275 (1959).
- 51) T. Omura, R. Sato: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes, I. Evidence for its hemoprotein nature. J. Biol. Chem., 239, 2370 (1964).
- 52) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall: Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265 (1951).

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page.

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page.

