新規炭酸脱水酵素阻害剤ドルゾラミドの体内動態 (II): ラットにおける赤血球との結合および単回投与後の血中濃度

原 健一・長谷川拓郎・鋳持とし江・畑 俊輔

Metabolic Fate of Dorzolamide, a New Carbonic Anhydrase Inhibitor (II): Binding to Rat Erythrocytes, and Blood Concentration in Rats after Single Administration

Ken'ichi HARA, Takuro HASEGAWA, Toshie KENMOCHI, Shunsuke HATA

Development Research Laboratories, Banyu Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama

Summary

Dorzolamide hydrochloride (MK-507), (–)-(4S,6S)-4-ethylamino-5,6-dihydro-6-methyl-4H-thieno-[2,3-b]-thiopyran-2-sulfonamide-7,7-dioxide monohydrochloride, is a new topical carbonic anhydrase inhibitor. The binding of dorzolamide and its *N*-deethylated metabolite (L-706,803) to rat erythrocytes was investigated, and the pharmacokinetics of dorzolamide in rats was studied after a single intravenous administration.

1. Dorzolamide was incorporated into rat erythrocytes rapidly, while the uptake of L-706,803 was slower.

2. There were two types of binding site for dorzolamide and L-706,803 in rat erythrocytes. For both dorzolamide and L-706,803, the maximum binding capacity was about 60 μ M for the high affinity isozyme and 30 μ M for the low affinity isozyme.

3. The K_d values of dorzolamide and L-706,803 for low affinity binding were 0.387 and 0.497 μ M, respectively. The K_d values of dorzolamide and L-706,803 for high affinity binding were about 1/100 and 1/250 of those for low affinity binding, respectively.

4. After administration of dorzolamide hydrochloride to rats at the dose of 0.5 mg/kg, dorzolamide and L-706,803 were not detected in plasma. At the dose of 5 mg/kg, the plasma half-lives of dorzolamide and L-706,803 were 1.0 and 2.6 hr, respectively.

5. At the dose of 0.5 mg/kg, the half-lives of dorzolamide and L-706,803 in blood were 157 and 116 hr, respectively, and decreased to respective values of 101 and 99 hr after administration of 5 mg/kg.

6. After administration of dorzolamide hydrochloride at the dose of 0.5 mg/kg, the blood AUC values of dorzolamide and L-706,803 were 1093 and 115 μ g·hr/ml, respectively. The AUC value of dorzolamide at the dose of 5 mg/kg decreased by 50% and that of L-706,803 increased about five-fold.

7. The V_{dss} and CL_{tot} of dorzolamide were 99.9 ml/kg and 0.46 ml/hr/kg after administration of 0.5 mg/kg and increased 15- and 25-fold after 5 mg/kg, respectively.

Key words : Dorzolamide, MK-507, Erythrocytes, Rats, Carbonic anhydrase, Binding, Pharmacokinetics

緒 言

緑内障の治療薬の一つとして炭酸脱水酵素 (CA) 阻害薬が用いられてきたが、いずれも経口投与製剤であり、長期連用により種々の全身性の副作用を引き起こすことが知られている^{1,2)}。このため点眼で効果のある CA 阻害剤の開発が望まれていた。塩酸ドルゾラミド (MK-507), (–)-(4S,6S)-4-ethylamino-5,6-dihydro-6-methyl-4H-thieno-[2,3-b]-thiopyran-2-sulfonamide-7,7-dioxide monohydrochloride は強力な CA 阻害剤で点眼時の眼内移行性が良好なことから点眼製剤として開発が進められており、臨床的にも優れた効果が報告されている³⁻⁶⁾。前報でラットに¹⁴C 塩酸ドルゾラミドを静脈内あるいは経口投与したのちの吸収、分布、代謝および排泄に関する検討を行ない、投与された放射能は赤血球と強く結合すること、および血中放射能濃度推移に非線形性が認められることを報告した⁷⁾。

今回、ドルゾラミドおよびその N-脱エチル代謝物のラット赤血球との結合、ならびに塩酸ドルゾラミドをラットに静脈内投与した際の血中未変化体および N-脱エチル体の濃度推移について検討したのでその結果を報告する。

実験材料および方法

1. 試験薬物および標品

塩酸ドルゾラミドおよびその N-脱エチル代謝物標品である L-706,803 ならびに HPLC 測定時の内部標準物質である MK-417(S(+), [5,6-dihydro-4H-4-isobutylaminothieno (2,3-b) thiopyran-2-sulfonamide-7,7-dioxide monohydrochloride]) は、Merck 社より提供を受けた。以上の化合物の化学構造式を Fig. 1 に示した。以下投与量および濃度は全て遊離塩基換算値で示した。その他の試薬はいずれも HPLC 規格品および市販特級品を用いた。

2. 試験動物

雄性 Sprague-Dawley 系ラットを日本チャールスリバー株式会社より購入し、一週間以上予備飼育したのち、7~8 週齢で実験に供した。飼育は 22±2°C、湿度 55±10% の条件下で行い、水は水道水を、飼料はピュリナ 5002 を用いた。

3. 赤血球の調製

ラットをエーテル麻酔下腹部大動脈より採血し、ヘパリン添加後ヘマトクリット値を測定した。4°C で遠心分離し、血漿を除去後 3 倍量のリンゲル液で 3 回洗浄し、さらにトリス等張緩衝液 (10 mM Tris, 131 mM NaCl, 4 mM KCl, 3 mM

Fig. 1 Chemical structures of dorzolamide, L-706,803 and MK-417

CaCl₂, pH 7.4, 以後 TBS と略す) で 2 回洗浄した。

4. 赤血球への経時的取り込み

赤血球 400 μ l を 37°C で 2 分間ブレインキュベーションしたのち, ドルゾラミドまたは L-706,803 の 20 および 200 μ M の TBS 溶液 600 μ l を添加し, 37°C で経時的にインキュベートした。インキュベート終了後, 微量遠心機 (Kubota 1700) で遠心分離 (12,000 rpm, 2 min, 4°C) し, 上清中の薬物濃度を HPLC により測定した。

5. 赤血球との結合

ラット赤血球 400 μ l を 37°C で 2 分間ブレインキュベーションしたのち, ドルゾラミドの 25~200 μ M TBS 溶液 600 μ l を添加し, 37°C で 15 分間インキュベートした。L-706,803 は, 20~200 μ M の TBS 溶液 600 μ l を添加し, 37°C で 60 分間インキュベートした。インキュベート終了後微量遠心機で遠心分離 (12,000 rpm, 2 min, 4°C) し, 上清を限外濾過 (ウルトラフリー C3LGC, ミリポア) 後得られた濾液中の薬物濃度を HPLC により測定した。

6. 投与液の調製および投与方法

投与液は, 塩酸ドルゾラミドに生理食塩水を加えて 0.5 mg/ml, 5 mg/ml 溶液を調製した。投与は尾静脈より行い, 一群 3 匹とした。投与量は 0.5 mg/ml/kg および 5 mg/ml/kg とした。

7. 血液中および血漿中ドルゾラミドおよび L-706,803 の測定

投与後 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 72, 120, 168 時間にエーテル麻酔下腹部大動脈よりヘパリン処理したシリンジを用いて採血した。血液はその一部を用いてヘマトクリット値を測定後 1 ml を採取し, イオン交換水 1 ml を加えて混合し, 血液濃度測定用サンプルとした。残りの血液は遠心分離し血漿サンプルを得た。血漿は, 内部標準物質として MK-417 を添加後, 0.2 M リン酸緩衝液 (pH

8.0) を加え, 酢酸エチルで抽出した。分取した有機層に 25 mM リン酸を加え逆抽出後, リン酸層を HPLC に注入した。血液は 10% トリクロロ酢酸で溶血後, 血漿と同様に処理した。

8. HPLC 測定

ポンプは 880PU (日本分光), UV 検出器は 875UV (日本分光) または 116 (Gilson) を用いた。カラムは Bondesil C-18 4.6 $\times$ 50 mm, 3 μ m (Analytichem) および Ultrasphere C-8 4.6 $\times$ 150 mm, 5 μ m (Beckman) を直列に連結して使用した。

〈血漿および血液中濃度測定〉

移動相: 0.085% H₃PO₄-1.6g/l Sodium octane-sulfonate/CH₃CN(75:25)

流速: 1 ml/min カラム温度: 20°C UV 検出波長: 252 nm

本測定法の定量限界はドルゾラミド, L-706,803 ともに血漿で 10 ng/ml, 血液で 50 ng/ml であった。

〈赤血球との結合実験〉

移動相:

ドルゾラミド測定時: 25 mM KH₂PO₄(pH 4.5)/CH₃CN(88:12)

L-706,803 測定時: 25 mM Na₂HPO₄-10 mM Citric acid(pH 5.1)/CH₃CN(88:12)

流速: 1 ml/min カラム温度: 40°C UV 検出波長: 252 nm

本測定法の定量限界はドルゾラミド, L-706,803 ともに 10 ng/ml であった。

9. 結合定数の算出

結合パラメーターは 5-parameter model (式 1) を用いた非線形最小二乗法プログラム (Grafit^R, Erithacus Software) により算出した。

$$Cb = B_{\max 1} \times Cf / (Kd1 + Cf) + B_{\max 2} \times Cf / (Kd2 + Cf) + C \times Cf \quad (\text{式 1})$$

Cb: 結合薬物濃度 Cf: 非結合薬物濃度

B_{max}: 最大薬物結合濃度 Kd: 解離定数

C: 非特異的結合定数

10. ファーマコキネティックパラメーターの算出

血液 (血漿) 中のドルゾラミドおよび L-706,803 濃度よりファーマコキネティックパラメーターを算出した。消失半減期 ($t_{1/2}$) は濃度の対数-時間プロットの消失相の直線部分の傾き (K_e) を最小二乗法により求め $t_{1/2} = 0.693/K_e$ より算出した。血液 (血漿) 中濃度時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) は台形法により求め、最終測定時点以降は消失相の直線部分を無限大時間まで外挿して求めた。全身クリアランス (CL_{tot}) は投与量を $AUC_{0-\infty}$ で除して求めた。定常状態分布容積

($V_{d_{ss}}$) は式 2 により求めた。

$$V_{d_{ss}} = CL_{tot} \times \int_0^{\infty} t C_p dt / \int_0^{\infty} C_p dt \quad (\text{式 2})$$

ここで t は投与後時間, C_p は時間 t における血漿中または血液中濃度

結 果

1. ラット赤血球中へのドルゾラミドおよび L-706,803 の取り込み

ドルゾラミドおよび L-706,803 のラット赤血球への取り込みを Fig. 2 に示した。ドルゾラミ

Fig. 2 Decrease of dorzolamide and L-706,803 in the incubation medium by the uptake into rat erythrocytes
Each point represents the mean of three (dorzolamide) or two (L-706,803) determinations. ○, addition of 20 μM; ●, addition of 200 μM

ドのラット赤血球中への取り込みは速く、20 μM 添加時には約2分で、200 μM 添加時には約30秒でメディウム中濃度は平衡に達した。これに比べL-706,803の取り込みは遅く20 μM , 200 μM 添加時それぞれ20および5分で平衡に達した。20 μM 添加時のドルゾラミドおよびL-706,803のメディウム中からの消失速度定数は、それぞれ4.9および0.35 min^{-1} であった。

2. ラット赤血球とドルゾラミドおよびL-706,803の結合

ドルゾラミドおよびL-706,803のラット赤血球との結合をScatchard plotでFig. 3に示した。両薬剤ともScatchard plotは、非線形を示したことから、2種類以上の結合部位があることが示唆された。そこで2種類の特異的結合と非特異的結合を想定した5-parameter modelにて解析した結果、実測値は理論式と良く合致した。これらの解離定数(Kd)および最大薬物結合濃度(B_{max})をTable Iに示した。ドルゾラミドのKd1およびKd2は、それぞれ0.004 μM および

Table I Binding parameters of dorzolamide and L-706,803 in rat erythrocytes

Compound	Kd1 (μM)	$B_{\text{max}1}$ (μM)	Kd2 (μM)	$B_{\text{max}2}$ (μM)	C
Dorzolamide	0.004	56.5	0.387	25.5	0.580
L-706,803	0.002	56.7	0.497	31.4	0.272

Parameters were determined from the mean values by nonlinear regression analysis of the equation shown in *Materials and Methods* using the mean of duplicate incubations.

0.387 μM と高親和性部位との結合は、低親和性部位との結合に比べ約100倍強かった。ドルゾラミドの $B_{\text{max}1}$ および $B_{\text{max}2}$ は、それぞれ56.5および25.5 μM と高親和性部位の B_{max} は、低親和性部位のそれよりも約2倍大きい値を示した。L-706,803のKd1は0.002 μM , Kd2は0.497 μM であり、Kd2/Kd1の比は約250とドルゾラミド同様、高親和性部位への選択的な結合が認められた。L-706,803の $B_{\text{max}1}$ および $B_{\text{max}2}$ は、ドルゾラミドとほぼ同じ値を示した。

Fig. 3 Scatchard plots of the binding of dorzolamide and L-706,803 to rat erythrocytes. Each point represents the mean of two determinations.

3. 血液および血漿中ドルゾラミドおよび L-706,803 濃度推移

塩酸ドルゾラミド 0.5 mg/kg および 5 mg/kg を静脈内投与したのちの血漿中および血液中ドルゾラミドおよび N-脱エチル代謝物 (L-706,803) の経時的濃度推移を Fig. 4 に、投与後24時間までの赤血球中のドルゾラミドおよび L-706,803 濃度推移をモル濃度に換算して Fig. 5 に示した。また、血液および血漿中濃度から求めたファーマコキネティックパラメーターを Table II に示した。

0.5 mg/kg 投与時、血漿中ドルゾラミド、L-

706,803 濃度はともに定量限界以下であった。投与後30分から8時間までの血液中ドルゾラミド濃度は5.8~6.3 $\mu\text{g/ml}$ とほぼ一定濃度を維持し、この時点の赤血球中濃度は約 50 μM であった。血液中ドルゾラミドの消失半減期 ($t_{1/2}$) は157 時間で、投与後168時間では投与後8時間の35%まで減少した。血液中 L-706,803 濃度は投与後徐々に増加し、投与後72時間から120時間で約 0.4 $\mu\text{g/ml}$ の最高値に達した。血液中のドルゾラミドおよび L-706,803 の $\text{AUC}_{0-\infty}$ はそれぞれ 1093 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ および 115 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ であった。

5 mg/kg 投与後30分の血漿中ドルゾラミドお

Fig. 4 Blood and plasma concentrations of dorzolamide and L-706,803 after single intravenous administration of dorzolamide hydrochloride to male rats at doses of 0.5 and 5 mg/kg

Each point represents the mean $\pm$ S.D. of three rats.

○, blood concentration of dorzolamide; ●, blood concentration of L-706,803
△, plasma concentration of dorzolamide; ▲, plasma concentration of L-706,803

Table II Pharmacokinetic parameters of dorzolamide and L-706,803 in plasma and blood after intravenous administration of dorzolamide hydrochloride to rats at doses of 0.5 and 5 mg/kg

0.5 mg/kg

	AUC _{0-∞} (μg·hr/ml)	Vd _{ss} (ml/kg)	CL _{tot} (ml/hr/kg)	t _{1/2} (hr)
〈Plasma〉				
Dorzolamide	—	—	—	—
L-706, 803	—	—	—	—
〈Blood〉				
Dorzolamide	1093	99.9	0.46	157
L-706, 803	115	—	—	116

5 mg/kg

	AUC _(0-∞) (μg·hr/ml)	Vd _{ss} (ml/kg)	CL _{tot} (ml/hr/kg)	t _{1/2} (hr)
〈Plasma〉				
Dorzolamide	0.81	13775	6173	1.0
L-706, 803	0.78	—	—	2.6
〈Blood〉				
Dorzolamide	442	1503	11.3	101
L-706, 803	521	—	—	99

Parameters were calculated from mean plasma concentrations (n=3).

および L-706,803 濃度は、それぞれ 0.55 および 0.20 μg/ml であった。以後ドルゾラミドは t_{1/2} 1.0 hr, L-706,803 は 2.6 hr で消失し、投与後 24 時間ではいずれも検出限界以下となった。血液中ドルゾラミド濃度は投与後 30 分で 11.7 μg/ml を示したのち二相性で消失し、投与後 24 時間以降の t_{1/2} は 101 hr であった。赤血球中ドルゾラミド濃度は投与後 30 分、1 および 168 時間でそれぞれ 95.9, 55.2 および 7.4 μM であった。血液中 L-706,803 濃度は投与後徐々に上昇し投与後 24 時間で 3.25 μg/ml の最高値に達したのち t_{1/2} 99 hr で減少し、投与後 168 時間では 1.33 μg/ml となった。投与後 30 分、1 および 168 時間の赤血球中 L-706,803 濃度はそれぞれ 15.5, 14.9 および 12.2 μM であった。血液中濃度のドルゾラミドおよび L-706,803 の AUC_{0-∞} はそれぞれ 442 μg·hr/ml および 521 μg·hr/ml であり、ドルゾラミド

は 0.5 mg/kg 投与時の約 1/2, L-706,803 は 0.5 mg/kg 投与時の約 5 倍高い値を示した。5 mg/kg 投与時の血漿中濃度の AUC_{0-∞} は、ドルゾラミドおよび L-706,803 とともに約 0.8 μg·hr/ml であり、それぞれ血液中濃度の AUC の約 1/550 および 1/670 であった。5 mg/kg 投与時の血液中ドルゾラミドの Vd_{ss} および CL_{tot} は 0.5 mg/kg 投与時と比べそれぞれ 15 および 25 倍高い値を示した。

考 察

ラットに ¹⁴C 塩酸ドルゾラミドを静脈内あるいは経口投与した際、血液中放射能のほとんどは赤血球中に存在し、赤血球との強い結合が示唆された⁷⁾。また、主代謝物である N-脱エチル体 (L-706,803) はドルゾラミド同様 CA 阻害活性を有するが、阻害活性は CA-II に対してはドルゾラミドよりも弱く CA-I に対しては強いことが確認されている (米国メルク社、社内資料)。そこで、*in vitro* において本薬剤および L-706,803 とラット赤血球との結合性について検討した。

ラット赤血球中への L-706,803 の取り込み速度は、ドルゾラミドに比べ約 14 倍遅かった。この取り込み速度の差異はヒト赤血球においても認められており⁸⁾、L-706,803 の脂溶性がドルゾラミドよりも低いためと考えられる。しかしながら両化合物ともラット赤血球内への取り込み速度はヒト赤血球内への取り込みと比べると、約 2~3 倍速く種差が認められた。このような赤血球内への取り込み速度に種差があることはドルゾラミドと同様、thienothiopyran-2-sulfonamide の構造を有する MK-927 においても認められている⁹⁾。ラット赤血球内にはドルゾラミド、L-706,803 とともに 2 種類の結合部位が認められ、高親和性、低親和性のいずれの結合部位においても両化合物の K_d および B_{max} に大きな差は認められなかった。一般にスルホンアミド系の CA 阻害剤は CA と強く結合し、CA-I よりも CA-II を強く阻害することが知られている¹⁰⁻¹²⁾。また、ヒト赤血球中でもドルゾラミドの特異的結合部位は 2

Fig. 5 Concentrations of dorzolamide and L-706,803 in rat erythrocytes after single intravenous administration of dorzolamide hydrochloride at doses of 0.5 and 5 mg/kg
Each point represents the mean $\pm$ S.D. of three rats.
○, dorzolamide; ●, L-706,803; □, total concentration

種類存在し、高親和性部位は CA-II との、低親和性部位は CA-I との結合であること、さらに L-706,803 もヒト CA と結合し、結合部位はドルゾラミドと競合することが明らかとなっている⁸⁾。ラット赤血球内におけるドルゾラミドおよび L-706,803 の低親和性部位と高親和性部位の B_{max} の合計は 80~90 μM でありラット赤血球中の総 CA 濃度の約 90~100 μM ^{13,14)} と一致していることからラット赤血球内においてもドルゾラミドおよび L-706,803 は CA と結合しているものと思われる。ドルゾラミドは CA-II の強力な阻害剤⁴⁾

でヒト CA-II に対する親和性は CA-I に比べ約 4000 倍強く、既存の CA 阻害剤よりはるかに強い選択性を示す⁸⁾。ラット赤血球内には CA-I, CA-II, CA-III が存在し、この内 CA-I および CA-II が主であることが報告されている¹⁵⁻¹⁷⁾。Lönnerholm ら¹⁸⁾ はラット血液中 CA-II 濃度は約 29 μM と報告している。ラット血液のヘマトクリット値を 45% とすると赤血球中 CA-II 濃度は約 70 μM と算出され、高親和性部位の B_{max} 約 60 μM とほぼ一致することからラット赤血球内の高親和性部位は CA-II、低親和性部位は CA-I

と推定される。高親和性、低親和性部位に対するドルゾラミドの K_d 値の差は約100倍であり、CA-II に選択的であったが、ヒトの4000倍⁸⁾と比べると選択性が低かった。*これは低親和性部位に対する結合がヒトよりも強いためである。また、ヒトでは L-706,803 の CA-II に対する選択性はドルゾラミドに比べ低かったが、ラットではドルゾラミドとほぼ同様であった。この様な同種の CA でも親和性に種差があることについては、MK-927 においても報告⁹⁾されている。

¹⁴C 塩酸ドルゾラミド静脈内投与時の血液中放射能濃度推移は 1 mg/kg まではほぼ線形性を保つがそれ以上の投与量では非線形性を示すことが明らかとなっている⁷⁾。今回、血中放射能濃度が飽和レベルに達しない低投与量群として 0.5 mg/kg を、飽和レベルを越える高投与量群として 5 mg/kg を設定し、ラットに塩酸ドルゾラミドを静脈内投与したのちのドルゾラミドおよびその N-脱エチル代謝物 (L-706,803) の血液中、血漿中濃度推移について検討した。0.5 mg/kg 投与時では血漿中ドルゾラミド、L-706,803 濃度は定量限界以下であり、血液中からのドルゾラミドの消失は緩慢であった。また、赤血球中 L-706,803 濃度はドルゾラミドに比べて低いものの投与後72から120時間まで僅かずつ上昇した。5 mg/kg 投与時では 0.5 mg/kg 投与時に比べ投与後8時間までの血液中ドラゾラミドの消失は速く投与後4時間以降のドルゾラミド濃度は 0.5 mg/kg 投与時よりも低値を示した。5 mg/kg 投与時の血液中 L-706,803 濃度は 0.5 mg/kg 投与時に比べ著しく上昇し、 $AUC_{0-\infty}$ は 0.5 mg/kg 投与時の約5倍高い値を示した。

以上の低投与量群 (0.5 mg/kg) と高投与量群 (5 mg/kg) で見られた血中動態の差は赤血球中 CA との飽和のある結合によるものと考えられる。0.5 mg/kg 投与時の血液中ドルゾラミドの V_{dss} はほぼ血液量に相当したが、これは赤血球中 CA とドルゾラミドとの結合が飽和に達しないため投与したドルゾラミドは、ほとんどが赤血球中に取り込まれるためと考えられる。したがって肝臓に

移行するドルゾラミドは少なく L-706,803 への代謝も低いと考えられる。0.5 mg/kg 投与時の血液中 L-706,803 濃度が投与後72時間以降の遅い時点で最高値に達するのは、赤血球からのドルゾラミドの緩慢な消失に伴い僅かずつ生成する L-706,803 が徐々に赤血球内の CA と結合するためと考えられる。5 mg/kg 投与群では、血液中ドルゾラミドの V_{dss} が 0.5 mg/kg 投与時の約15倍に増加したが、これは投与後早い時点において赤血球中 CA は完全に飽和され、非結合型の割合が増加することにより肝臓への移行が増加するためと考えられる。0.5 mg/kg 投与時に比べ 5 mg/kg 投与時の血液中 AUC がドルゾラミドでは減少、L-706,803 では増加したのは L-706,803 の CA-I および CA-II に対する親和性がドルゾラミドとほぼ等しいため、肝臓で生成した L-706,803 が赤血球中の CA と結合しているドルゾラミドと競合的に置換するためと考えられる。また、赤血球中のドルゾラミドおよび L-706,803 の合計濃度推移は約 60 μ M を境にして二相性を示した (Fig. 5)。赤血球中高親和性部位 (CA-II) の B_{max} が約 60 μ M であることから速い消失相は CA-I との結合、遅い消失相部分は CA-II との結合が関与するものと考えられる。以上、低投与量群と高投与量群の血中動態に見られた差異はドルゾラミド、L-706,803 がともに赤血球中 CA-II と強く結合し、その結合には飽和があることに起因するものと考えられる。

要 約

ラットにおけるドルゾラミドおよびその N-脱エチル代謝物とラット赤血球との結合性について検討した。さらに、ラットに塩酸ドルゾラミドを静脈内投与した際のドルゾラミドおよび L-706,803 の血中濃度推移について検討した。

1. ドルゾラミドのラット赤血球中への取り込みは L-706,803 よりも速かった。

2. ドルゾラミド、L-706,803 とともにラット赤血球内では2種類の結合部位が認められ、高親和性部位および低親和性部位の最大薬物結合濃度

はそれぞれ約60および30 μM であった。

3. ドルゾラミドおよびL-706,803の低親和性部位のKd値は、それぞれ0.387および0.497 μM であった。ドルゾラミドおよびL-706,803の高親和性部位のKd値はそれぞれ低親和性部位の約1/100および1/250であった。

4. 塩酸ドルゾラミドをラットに静脈内投与した際、0.5 mg/kg では血漿中にドルゾラミドおよびL-706,803は認められなかった。5 mg/kg 投与時では僅かに認められ、消失半減期はドルゾラミドが1.0時間、L-706,803が2.6時間であった。

5. 塩酸ドルゾラミド0.5 mg/kgを静脈内投与した際、血液中ドルゾラミドおよびL-706,803の消失半減期はそれぞれ157および116時間であった。5 mg/kg 投与時の消失半減期はそれぞれ101および99時間であった。

6. 0.5 mg/kg 投与時の血液中ドルゾラミドおよびL-706,803のAUCは、それぞれ1093および115 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ であったが、5 mg/kg 投与時ではドルゾラミドのAUCは0.5 mg 投与時の約1/2に減少した。L-706,803のAUCは逆に約5倍上昇した。

7. 0.5 mg/kg 投与時の血液中ドルゾラミドのVd_{ss}およびCL_{tot}はそれぞれ99.9 ml/kg および0.46 ml/hr/kg であった。5 mg/kg 投与時のVd_{ss}およびCL_{tot}はそれぞれ0.5 mg/kg 投与時の15および25倍であった。

文 献

- 1) Epstein, D. L. and Grant, W. M.: Carbonic anhydrase inhibitor side effects; serum chemical analysis. *Arch. Ophthalmol.*, **95**: 1378-1382 (1977).
- 2) Lichter, P. R., Newman, L. P., Wheeler, N. C. and Beall, O. V.: Patient tolerance to carbonic anhydrase inhibitors. *Am. J. Ophthalmol.*, **85**: 495-502 (1978).
- 3) Sugrue, M. F., Mallorga, P., Schwam, H., Baldwin, J. J. and Ponticello, G. S.: A comparison of L-671, 152 and MK-927, two topically effective ocular hypotensive carbonic anhydrase inhibitors, in experimental animals. *Curr. Eye Res.*, **9**: 607-615 (1990).
- 4) Wang, R. F., Serle, J. B., Podos, S. M. and Sugrue, M. F.: The ocular hypotensive effect of the topical

- carbonic anhydrase inhibitor L-671, 152 in glaucomatous monkeys. *Arch. Ophthalmol.*, **108**: 511-513 (1990).
- 5) Wang, R. F., Serle, J. B., Podos, S. M. and Sugrue, M. F.: MK-507 (L-671, 152), a topically active carbonic anhydrase inhibitor, reduces aqueous humor production in monkeys. *Arch. Ophthalmol.*, **109**: 1297-1299 (1991).
- 6) Hiett, J. A. and Dockter, C. A.: Topical carbonic anhydrase inhibitors: a new perspective in glaucoma therapy. *Optom. Clin.*, **2**: 97-112 (1992).
- 7) 原 健一, 長谷川拓郎, 釧持とし江, 江角凱夫, 神 義容, 根本裕之: 新規炭酸脱水酵素阻害剤 Dorzolamide の体内動態 (第1報): ラットにおける単回投与後の吸収, 分布, 代謝および排泄. *薬物動態*, **10**(1): 1-17 (1995).
- 8) Hasegawa, T., Hara, K. and Hata, S.: Binding of dorzolamide and its metabolite, N-deethylated dorzolamide, to human erythrocytes *in vitro*. *Drug Metab. Dispos.*, **22**: 377-382 (1994).
- 9) Lin, J. H., Chen I. W. and Lin T. H.: Species-dependent stereopharmacokinetics of MK-927, a potent carbonic anhydrase inhibitor. *Drug Metab. Dispos.*, **19**: 816-822 (1991).
- 10) Maren, T. H.: Carbonic anhydrase: chemistry, physiology and inhibition. *Physiol. Rev.*, **47**: 595-781 (1967).
- 11) Sanyal, G., Swenson, E. R., Pessah, N. I. and Maren, T. H.: The carbon dioxide hydration activity of skeletal muscle carbonic anhydrase: Inhibition by sulfonamides and anions. *Mol. Pharmacol.*, **22**: 211-220 (1982).
- 12) Osborne, W. R. A. and Tashian, R. E.: Dissociation constants for carbonic anhydrase-sulfonamide binding by high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, **137**: 302-306 (1984).
- 13) Lin, J. H., Chen I. W. and deLuna, F. A.: Dose-dependent pharmacokinetics of MK-417, a potent carbonic anhydrase inhibitor, in experimental polycythemic and anemic rats. *Pharm. Res.*, **8**: 608-614 (1991).
- 14) Lin, J. H., Ulm, E. H. and Los, L. E.: Dose-dependent stereopharmacokinetics of 5,6-dihydro-4H-4 (isobutylamino) thieno (2,3-B) thiopyran-2-sulfonamide-7,7-dioxide, a potent carbonic anhydrase inhibitor, in rats. *Drug Metab. Dispos.*, **19**: 233-238 (1991).
- 15) McIntosh, J. E. A.: Carbonic anhydrase isoenzymes in the erythrocytes and dorsolateral prostate of the rat. *Biochem. J.*, **114**: 463-476 (1969).
- 16) Wistrand, P. J. and Wählstrand, T.: Rat renal and erythrocyte carbonic anhydrases purification and properties. *Biochim. Biophys. Acta.*, **481**: 712-721 (1977).

- 17) Deutsch, H. F.: Review, Carbonic anhydrases. *Int. J. Biochem.*, **19**: 101-113 (1987).
Carbonic anhydrase isoenzymes in the rat kidney. Effects of chronic acetazolamide treatment. *Acta Physiol. Scand.*, **126**: 51-60 (1986).
- 18) Lönnerholm, G., Wistrand, P. J. and Bárány, E.: