イソカルバサイクリンメチルエステル含有 O/W エマルジョン製剤

TTC-909 の体内動態 (第 1 報)

単回静脈内投与後のラットにおける血中濃度および排泄

河野 喜郎・皆川 俊哉・諏訪 俊男・近藤 史郎*

江角 凱夫**・菅井 三郎**・三次 孝一**・島崎 純二**・渡辺 勇夫**

Pharmacokinetics of an Oil-in-Water Emulsion Containing Isocarbacyclin Methyl Ester, TTC-909 (1): Blood Level and Excretion in Rats after Single Intravenous Administration

Yoshiro KOHNO, Toshiya MINAGAWA, Toshio SUWA, Shiro KONDO*,
Yoshio ESUMI**, Saburo SUGAI**, Koichi MITSUGI**, Junji SHIMAZAKI**, Isao WATANABE**

Research Center, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama;

**Teijin Institute for Bio-Medical Research, Tokyo;*

***Tokai Research Laboratories, Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd., Ibaraki*

Summary

Blood levels and excretion of ^3H -TTC-909, an oil-in-water (o/w) emulsion of isocarbacyclin methyl ester (^3H -TEI-9090), after intravenous administration to rats were investigated in comparison with those of ^3H -TEI-9090.

1. Blood levels of radioactivity in male rats after rapid intravenous injection of ^3H -TTC-909 declined tri-phasically, with parameters ($T_{1/2}$, AUC) which were almost similar to those for ^3H -TEI-9090. The AUC increased in dose-dependent manner at the dose range of 0.5 to 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. In female rats, the AUC of blood level was about 1.8 times higher than that in male rats.

2. Isocarbacyclin (TEI-7165) levels in blood accounted for 11-15% of the total radioactivity by AUC, irrespective of dosage forms and administration mode (rapid injection/infusion).

3. Within 120 hr, 49.7% and 47.0% of the administered radioactivity was recovered in the urine and feces, respectively, after administration of ^3H -TTC-909 to male rats. A similar excretion pattern was observed for ^3H -TEI-9090. In female rats, urinary excretion after ^3H -TTC-909 administration was about 10% higher than that in male rats.

4. In bile duct-cannulated male and female rats, 43.2% and 48.2% of the dose was excreted in the bile, respectively. Of the radioactivity excreted in the bile, 34.3% and 45.6% were reabsorbed from the intestinal tracts in male and female rats, respectively. This difference of reabsorption may be a cause of the higher blood levels found in female rats.

大正製薬株式会社 総合研究所 〒330 埼玉県大宮市吉野町 1-403

* 帝人株式会社 生物医学総合研究所 〒191 東京都日野市旭が丘 4-3-2

** 第一化学薬品株式会社 東海研究所 〒319-11 茨城県那珂郡東海村村松 2117

Key words : Isocarbacyclin methyl ester, TEI-9090, O/W emulsion, TTC-909, Blood level, Excretion, Reabsorption, Rat

緒 言

Prostacyclin (PGI_2) は、強力な血小板凝集抑制作用と血管拡張作用を有する生理活性物質であるが、化学的に不安定であり生体内においては容易に加水分解を受け活性を失うことから、安定な PGI_2 誘導体の合成とその臨床応用が試みられている^{1,2)}。TTC-909 は、 PGI_2 誘導体 isocarbacyclin (TEI-7165) のメチルエステル体(+)-(1*S*, 5*S*, 6*R*, 7*R*)-methyl 5-{7-hydroxy-6-[(*E*)-(*S*)-3-hydroxy-1-octenyl]bicyclo[3.3.0]oct-2-en-3-yl}pentanoate (TEI-9090)³⁾を、臨床栄養補液として広く使用されている10%ダイズ油 oil-in-water (o/w) エマルジョンに溶解させた静注用製剤であり、臨床的には慢性動脈閉塞症などの末梢循環障害および脳血栓症に対する治療効果が期待されている。

今回、著者らは本薬の体内動態を明らかにするため、 ^3H 標識した TEI-9090 およびその o/w エマルジョン製剤 TTC-909 を雌雄ラットに静脈内投与後の血液中濃度および排泄について比較検討した。

実験材料および方法

1. 標識化合物

[11- β - ^3H]TEI-9090 (^3H -TEI-9090) は、帝人(株)生物医学総合研究所において合成した⁴⁾。化学構造および標識位置を Fig. 1 に示す。比放射能は 681 GBq/mmol, 放射化学的純度は放射能

Fig. 1 Chemical structure of ^3H -TEI-9090
*: ^3H labeled position

検出器付高速液体クロマトグラフィー (RI-HPLC) による分析の結果、97%以上であった(条件 A, B および C)。

2. 投与検体の調製

検体調製に際しては、標識体を適宜非標識体で希釈して使用した。O/W エマルジョン製剤 ^3H -TTC-909 は、 ^3H -TEI-9090 をダイズ油に溶解し、精製卵黄レシチンにより乳化して 0.25 μg , 1 μg および 4 μg TEI-9090/ml の濃度となるように調製した⁵⁾。この時脂質濃度は、いずれの投与検体においてもダイズ油 100 mg/ml, レシチン 12 mg/ml とした。 ^3H -TEI-9090 は、調製投与液量の 5% に相当するエタノールに溶解後 Tween 80 を 0.2% (w/v) 含有する生理食塩水で 1 μg /ml の濃度に調製した。

3. 実験動物および投与方法

動物は雌雄の Wistar 系 SPF ラット (日本エスエルシー) を 1 週間以上予備飼育したのち 8 週齢で実験に供した。

静脈内投与は、血液中濃度測定実験では雄性ラットが陰茎背静脈、雌性ラットでは大腿静脈より投与し、排泄実験では尾静脈より投与した。持続静脈内投与の場合は、エーテル麻酔下、大腿静脈にカニューレーションを施した雄性ラットをボールマンケージに収め、麻酔覚醒後インフュージョンポンプ (Model 975, Harvard Apparatus) を用いて 1 時間の注入を行った。投与放射能量は、0.5 μg /kg 投与時が 925 KBq (25 μCi)/kg, 2 μg /kg および 8 μg /kg 投与時では 1.85 MBq (50 μCi)/kg とした。

4. 血液中放射能濃度の測定

^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 を雌雄ラットに静脈内投与したのち、所定時間に尾静脈をメスで切りマイクロピペットを用いて血液 50 μl を

採取した。採取した血液は濾紙に吸着させ、40°Cで24時間以上乾燥後自動燃焼装置 (ASC-112, Aloka) で燃焼し、シンチレーター Bio-fluor® (Du Pont NEN Research Products) 12 ml を加えて放射能を測定した。

5. 血液中 TEI-7165 濃度の測定

³H-TTC-909 および ³H-TEI-9090 を雄性ラットに静脈内投与後、所定時間にエーテル麻酔下開腹し、腹部大動脈より採取した血液 4 ml をシクロロメタン/エタノール (7:3) 30 ml および酢酸一塩酸緩衝液 (pH 3) 5 ml を入れた試験管に採り、激しく混和後遠心分離 (1200×g, 15分) により下層を得た。得られた抽出物は減圧乾固後少量のエタノールに溶解し、RI-HPLC 分析 (条件 C) に供した。

6. 尿糞中排泄率および体内残存率の測定

³H-TTC-909 および ³H-TEI-9090 を雌雄ラットに静脈内投与したのち、代謝ケージ (KN-646B, 夏目製作所) に収め自然排泄された尿および糞を所定時間ごとに採取した。尿は水を加えて 100 ml に希釈し、その 1 ml にシンチレーター Atomlight® (Du Pont NEN Research Products) 10 ml を加えて放射能を測定し、得られた値より尿中排泄率を求めた。糞については 50% エタノールを加えて 300 ml にしたのち攪拌均質化し、その 0.5 ml に Atomlight® 10 ml を加えて放射能を測定し糞中排泄率を求めた。なお、別実験において雄性ラットに ³H-TEI-9090 を静脈内投与し、トリチウム水の呼吸中および尿中排泄を測定した。投与後120時間に尿糞採取後のラットはエーテル麻酔死させ、0.5 N 水酸化ナトリウム 400 ml およびトルエン 80 ml を加え72時間還流して溶解した。溶解後水を加えて 1000 ml に希釈後攪拌均質化し、その 0.5 ml に Atomlight® 10 ml を加え放射能を測定して体内残存率を求めた。

7. 胆汁中排泄率および腸肝循環の測定

雌雄ラットをエーテル麻酔したのち、総胆管にポリエチレンチューブを挿入してボールマンケージに収め、麻酔覚醒後 ³H-TTC-909 を静脈内投与し、所定時間ごとに胆汁、尿および糞を採取した。採取した胆汁は水を加えて 50 ml に希釈し、その 1 ml に Atomlight® 10 ml を加えて放射能を測定し胆汁中排泄率を求めた。同時に採取した尿および糞中への排泄率は、前述の方法に従って測定した。一方、総胆管にポリエチレンチューブを挿入した雌雄ラットの十二指腸内に、別の雌雄ラットに ³H-TTC-909 を静脈内投与後24時間までに採取した胆汁の一部をそれぞれ注入したのち、24時間までの胆汁、尿および糞を採取し排泄率を求めた。試料採取後のラットについては消化管内容物に残存する放射能もあわせて測定した。

8. 放射能の測定

放射能の測定は、液体シンチレーションカウンター (LSC-903, Aloka または LS 6000TA, Beckman) により行った。

9. RI-HPLC

標識体の放射化学的純度および血液中 TEI-7165 濃度の測定は、以下に示す RI-HPLC 条件により行った。

ポンプ: Model 305 (Gilson)

検出器: 放射能検出器 Ramona 90LS (Raytest)

および紫外検出器 Model 117

(Gilson)

条件(A)

カラム: LiChrosorb Si60 (7 μm, 4.0 × 250 mm, Merck)

溶離液: n-ヘキサン/エタノール (97.5: 2.5)

流速: 1.0 ml/min

条件(B)

カラム: LiChrosorb RP-18 (7 μm, 4.0 × 250 mm, Merck)

溶離液: アセトニトリル/0.01% 酢酸

(50:50)

流 速: 1.0 ml/min

条件(C)

カラム: LiChrosorb RP-18 (7 μ m, 4.0
× 250 mm, Merck)

溶離液: アセトニトリル/水/酢酸
(30 分間に 50:50:0.1 から
100:0:0.1 のグラジエント)

流 速: 1.0 ml/min

10. データの解析

血中濃度—時間曲線下面積 (AUC) は台形公式により, 消失半減期 ($T_{1/2}$) は最小二乗法で求めた消失速度定数より算出した。

実験結果

1. 血液中放射能濃度

^3H -TTC-909 (0.5, 2, 8 $\mu\text{g/kg}$) および ^3H -TEI-9090 (2 $\mu\text{g/kg}$) を雄性ラットに, また ^3H -TTC-909 (2 $\mu\text{g/kg}$) を雌性ラットにそれぞれ静脈内投与後の血液中放射能濃度推移およびパラメーター ($T_{1/2}$, AUC) を Fig. 2 および Table I に示す。

雄性ラットに ^3H -TTC-909 を 2 $\mu\text{g/kg}$ 投与した時の血液中放射能濃度は, 投与後 1 分に 2.647 ng eq./ml を示したのち 8 時間まで 3 相性で消失し, 12 時間には検出限界以下となった。低用量 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 投与の場合, 3 時間まで 2 $\mu\text{g/}$

Fig. 2 Blood levels of radioactivity after rapid intravenous injection of ^3H -TTC-909 and ^3H -TEI-9090 (2 $\mu\text{g/kg}$) to male and female rats. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of five animals.

kg 投与時と同様の推移で消失したがその後検出限界以下となり, AUC は 2 $\mu\text{g/kg}$ 投与時の 15% であった。高用量 8 $\mu\text{g/kg}$ 投与では, 投与後 10 分まで減少したのち 30 分まで上昇したが, その後は 2 $\mu\text{g/kg}$ 投与時と同様の推移で消失し, AUC は 2 $\mu\text{g/kg}$ 投与時との間に比例関係が認められた。また, ^3H -TEI-9090 を雄性ラットに 2 $\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与後の血液中放射能濃度は, 投与後 1 分に 2.294 ng eq./ml を示したのち 8 時間まで 3 相性で消失し, いずれのパラメーターも ^3H -TTC-909 2 $\mu\text{g/kg}$ 投与時との間に顕著な差

Table I Pharmacokinetic parameters of total radioactivity after rapid intravenous injection of ^3H -TTC-909 and ^3H -TEI-9090 to rats

Formulation	Dose ($\mu\text{g eq./kg}$)	Sex	$T_{1/2}$ 1-7 min (min)	$T_{1/2}$ 7 min-3 hr (min)	$T_{1/2}^{\text{a)}$ 3 hr- (hr)	AUC ^{b)} (ng eq.·hr/ml)
^3H -TTC-909	0.5	male	3.9 $\pm$ 0.3	39.2 $\pm$ 0.9	—	0.24 $\pm$ 0.01
	2	male	5.0 $\pm$ 0.4	36.3 $\pm$ 1.3	5.1 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.0
	8	male	8.8 $\pm$ 0.9	51.6 $\pm$ 2.5	2.3 $\pm$ 0.1	6.8 $\pm$ 0.3
	2	female	6.6 $\pm$ 1.5	63.5 $\pm$ 5.2	4.1 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.2
^3H -TEI-9090	2	male	4.6 $\pm$ 0.2	41.0 $\pm$ 1.2	4.3 $\pm$ 0.6	1.4 $\pm$ 0.1

Values are expressed as the mean $\pm$ S.E. of five animals.

^{a)} $T_{1/2}$ (3-8 hr) in male rats, and $T_{1/2}$ (3-12 hr) in female rats.

^{b)} Calculated by the trapezoidal rule (0- ∞ hr).

は認められなかった。一方、雌性ラットに ^3H -TTC-909 を $2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与後の血液中放射能濃度は、投与後1分に 2.184 ng eq./ml を示したのち7分まで減少した。その後30分まで一旦上昇したのち2相性で消失し、24時間には検出限界以下となった。雄性ラットの同用量投与時と比較すると、AUC は1.8倍を示した。

2. 血液中 TEI-7165 濃度

^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 を雄性ラットにそれぞれ $2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与、あるいは1時間の持続静脈内投与後の血液中放射能濃度

および TEI-7165 濃度 (TEI-9090 換算) 推移を **Fig. 3** に、パラメーター ($T_{1/2}$, AUC) を **Table II** に示す。

^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 を静脈内投与後の血液中 TEI-7165 濃度は、5分でそれぞれ 0.771 ng eq./ml および 0.937 ng eq./ml を示し、その後2時間までそれぞれ22.5分および27.6分の半減期で低下した。血液中放射能に占める TEI-7165 の割合を AUC で比較すると、 ^3H -TTC-909 投与時が 0.14, ^3H -TEI-9090 投与時が 0.15 であった。また、 ^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 を1時間持続静脈内投与した時の血液中

Fig. 3 Blood levels of radioactivity and TEI-7165 after rapid intravenous injection (A) or infusion (B) of ^3H -TTC-909 and ^3H -TEI-9090 ($2\text{ }\mu\text{g/kg}$) to male rats
Each point represents the mean $\pm$ S.E. of three animals.
a) Pooled sample ($n=3$)

Table II Half lives and AUC of total radioactivity and TEI-7165 after intravenous administration of ^3H -TTC-909 and ^3H -TEI-9090 ($2\text{ }\mu\text{g/kg}$) to male rats

Formulation		Total radioactivity		TEI-7165		AUC ₇₁₆₅ /AUC _{total}
		$T_{1/2}$ (min)	AUC ^{a)} (ng eq. · min/ml)	$T_{1/2}$ (min)	AUC ^{a)} (ng eq. · min/ml)	
Injection	^3H -TTC-909	28.4	72.1	22.5	10.3	0.14
	^3H -TEI-9090	26.4	72.7	27.6	11.0	0.15
Infusion	^3H -TTC-909	36.5	58.5	25.5	8.5	0.15
	^3H -TEI-9090	33.6	85.3	25.9	9.7	0.11

Values are expressed as the mean of three animals.

^{a)} Calculated by the trapezoidal rule; injection: 0–2 hr, infusion: 0–3 hr.

TEI-7165 は、投与終了時にそれぞれ 0.153 ng eq./ml および 0.175 ng eq./ml の濃度を示し、その後 3 時間までそれぞれ半減期 25.5 分および 25.9 分で消失した。血液中放射能に対する TEI-7165 の AUC 比は ^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 投与時でそれぞれ 0.15 および 0.11 であった。なお、いずれの場合も血液中に未変化体 TEI-9090 は検出されなかった。

3. 尿糞中排泄

^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 を雄性ラットに、また ^3H -TTC-909 を雌性ラットにそれぞれ静脈内投与後の尿糞中への放射能の累積排泄率を Table III に示す。

雄性ラットに ^3H -TTC-909 を投与した場合、投与放射能の大部分は 24 時間までに尿糞中に排泄され、120 時間までの累積排泄率はそれぞれ投与量の 49.7% および 47.0% であり、尿糞合わせて 96.7% となった。 ^3H -TEI-9090 投与後の排泄パターンも ^3H -TTC-909 投与の場合とほぼ同様であり、120 時間までに尿糞中へそれぞれ 52.1% および 43.6% が排泄された。一方、雌性ラットに ^3H -TTC-909 を投与した場合、雄性ラットと同

様 24 時間までに大部分の放射能は排泄されたが、120 時間までの排泄率は尿中に 59.6%、糞中に 36.6% であり、雄性ラットと比較し尿中に高く糞中への排泄は低かった。なお、雄性ラットに ^3H -TEI-9090 投与時の呼気中および尿中トリチウム水を測定したところ、120 時間までの排泄はそれぞれ投与量の 0.4% および 0.7% と極めてわずかであった（データ示さず）。

4. 胆汁中排泄

胆管カニューレを施した雌雄ラットに ^3H -TTC-909 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内投与後の胆汁中および尿糞中への放射能の累積排泄率を Table IV に示す。

胆汁中への排泄は、雄性および雌性ラットとも速やかであり、6 時間までに雄性ラットで投与量の 40.6%、雌性ラットで 47.3% の排泄が認められた。その後 48 時間までの排泄率は、雄性および雌性ラットでそれぞれ 43.2% および 48.2% であり雌性ラットの方がやや高値を示した。同時に採取した尿中には、48 時間までに雄性ラットで投与量の 46.6%、雌性ラットで 38.7% の排泄が認められたが、糞中に放射能は検出されなかった。

Table III Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces after rapid intravenous injection of ^3H -TTC-909 and ^3H -TEI-9090 (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) to male and female rats

Time (hr)	Excreted radioactivity (% of dose)					
	^3H -TTC-909				^3H -TEI-9090	
	Male		Female		Male	
	Urine	Feces	Urine	Feces	Urine	Feces
0-6	44.0 $\pm$ 0.8	—	49.2 $\pm$ 1.3	—	46.3 $\pm$ 1.2	—
-12	47.8 $\pm$ 0.5	18.2 $\pm$ 4.8	56.9 $\pm$ 1.1	7.7 $\pm$ 3.1	50.5 $\pm$ 1.0	12.3 $\pm$ 3.6
-24	49.1 $\pm$ 0.7	40.4 $\pm$ 3.8	58.7 $\pm$ 1.1	34.0 $\pm$ 0.7	51.5 $\pm$ 0.9	36.8 $\pm$ 0.9
-48	49.4 $\pm$ 0.7	46.1 $\pm$ 1.0	59.1 $\pm$ 1.1	36.4 $\pm$ 0.5	51.9 $\pm$ 0.9	43.0 $\pm$ 0.7
-72	49.5 $\pm$ 0.7	46.9 $\pm$ 0.6	59.3 $\pm$ 1.1	36.6 $\pm$ 0.6	52.0 $\pm$ 0.9	43.6 $\pm$ 0.7
-96	49.6 $\pm$ 0.7	46.9 $\pm$ 0.5	59.5 $\pm$ 1.1	36.6 $\pm$ 0.6	52.1 $\pm$ 0.9	43.6 $\pm$ 0.7
-120	49.7 $\pm$ 0.7	47.0 $\pm$ 0.5	59.6 $\pm$ 1.1	36.6 $\pm$ 0.6	52.1 $\pm$ 0.9	43.6 $\pm$ 0.7

Residual radioactivity in carcass at 120 hr was 0.9 $\pm$ 0.1% and 0.8 $\pm$ 0.0% in male rats administered ^3H -TTC-909 and ^3H -TEI-9090, respectively, and was 1.5 $\pm$ 0.1% in female rats administered ^3H -TTC-909.

Values are expressed as the mean $\pm$ S.E. of five animals.

— : Not determined.

Table IV Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after rapid intravenous injection of ^3H -TTC-909 ($2\text{ }\mu\text{g/kg}$) to bile duct-cannulated male and female rats

Time (hr)	Excreted radioactivity (% of dose)					
	Male			Female		
	Bile	Urine	Feces	Bile	Urine	Feces
0-0.5	7.7 ± 1.9	—	—	14.5 ± 1.0	—	—
-1	22.8 ± 3.4	—	—	30.3 ± 2.1	—	—
-2	34.4 ± 3.7	—	—	42.8 ± 1.2	—	—
-4	38.5 ± 1.8	—	—	46.7 ± 1.2	—	—
-6	40.6 ± 1.4	—	—	47.3 ± 1.3	—	—
-8	41.2 ± 1.3	28.0 ± 10.4	—	47.6 ± 1.3	36.6 ± 4.6	—
-24	42.1 ± 1.1	46.6 ± 2.3	ND	48.0 ± 1.3	38.4 ± 3.6	ND
-48	43.2 ± 0.9	46.6 ± 4.0	ND	48.2 ± 1.3	38.7 ± 3.4	ND

Values are expressed as the mean $\pm$ S.E. of three animals.

— : Not determined.

ND : Not detected.

Fig. 4 Blood levels of radioactivity after rapid intravenous injection of ^3H -TTC-909 ($2\text{ }\mu\text{g/kg}$) to bile duct-cannulated and sham operated male (A) and female (B) rats
Each point represents the mean $\pm$ S.E. of three animals.

5. 胆管カニューレ処置ラットにおける血液中放射能濃度

胆管カニューレを施し胆汁を体外に排出させた雌雄ラット(胆管瘻ラット)および同様に処置したカニューレを再度十二指腸内に挿入した雌雄ラット(shamラット)にそれぞれ ^3H -TTC-909を $2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与した時の血液中放射能

濃度推移を**Fig. 4**に、それぞれのAUC値を**Table V**に示す。

Shamラットにおける血液中放射能濃度は雌性ラットが雄性ラットに比べ高い濃度で推移したが、胆管瘻ラットの場合、顕著な性差は認められなかった。それぞれのAUC値で比較すると、shamラットでは雌性ラットが $5.8\text{ ng eq.} \cdot \text{hr/ml}$,

Table V AUC of total radioactivity in blood after rapid intravenous injection of ^3H -TTC-909 ($2\text{ }\mu\text{g/kg}$) to bile duct-cannulated and sham operated male and female rats

	AUC _{0-24 hr} (ng eq. · hr/ml)	
	Male	Female
Bile duct-cannulated	4.1 ± 0.5	4.6 ± 0.4
Sham operated	5.8 ± 1.0	7.0 ± 0.9

Values are expressed as the mean $\pm$ S.E. of three animals.

Table VI Percentage distribution of radioactivity in bile, urine and intestinal contents in male and female rats after intraduodenal administration of radioactive 24 hr bile obtained from the other rats^{a)}

	Radioactivity (% of dose) ^{b)}	
	Male	Female
Bile	15.6 ± 2.8	23.4 ± 1.3
Urine	18.7 ± 1.9	22.2 ± 4.6
Intestinal contents	51.9 ± 7.4	41.7 ± 5.0

Values are expressed as the mean $\pm$ S.E. of three animals.

a) ^3H -TTC-909 ($2\text{ }\mu\text{g/kg}$) was injected intravenously to male and female rats.

b) Percentage distribution was determined at 24 hr after intraduodenal administration of radioactive bile samples.

雌性ラットが $7.0\text{ ng eq.} \cdot \text{hr/ml}$ を示し雌性ラットの方が明らかに高かったが、胆管瘻ラットでは雄性および雌性ラットでそれぞれ $4.1\text{ ng eq.} \cdot \text{hr/ml}$ および $4.6\text{ ng eq.} \cdot \text{hr/ml}$ と、顕著な差は認められなかった。

6. 腸肝循環

雌雄ラットに ^3H -TTC-909 を $2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与後24時間までに採取した胆汁を、胆管カニューレを施した別の雌雄ラットの十二指腸内にそれぞれ注入した時の24時間までの胆汁および尿中への放射能の排泄率および消化管内容物中の残存率を **Table VI** に示す。

雄性ラットでは、注入量の15.6%が再び胆汁中

へ排泄され尿中には18.7%の排泄が認められたが、雌性ラットの場合、胆汁および尿中へそれぞれ23.4%および22.2%が排泄され、雄性ラットに比べて高値を示した。消化管内容物中の放射能残存率は、雄性ラットが51.9%、雌性ラットが41.7%であった。

考 察

TEI-9090 は強力な PGI_2 様作用を有する TEI-7165 をメチルエステル化した薬物であり、その高い脂溶性により o/w エマルジョン粒子へ良好に保持される⁵⁾。O/W エマルジョン製剤については、保持された薬物の代謝不活化からの保護および病巣部への選択的移行による薬効の増強あるいは副作用軽減などが報告されており、ドラッグキャリアーとしての有用性が期待されている⁶⁻⁸⁾。本研究では、 ^3H -TEI-9090 およびその o/w エマルジョン製剤 ^3H -TTC-909 をラットに静脈内投与し、血液中濃度および排泄について比較検討した。

実験に先立ち、 11β - ^3H 標識 TEI-9090 をラットに静脈内投与後トリチウム水として呼気および尿中へ排泄される放射能を測定した結果、それぞれ投与量の0.4%および0.7%と極めて低かった。このことから、今回使用した標識体は生体内で ^3H の脱離を受けにくく⁹⁾、 ^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 の体内動態をほぼ正確に評価可能なものと考えられた。

雄性ラットに ^3H -TTC-909 0.5, 2 および $8\text{ }\mu\text{g/kg}$ を静脈内投与後の血液中放射能濃度は用量に伴い上昇し、 $0.5\text{ }\mu\text{g/kg}$ では2相性、2 および $8\text{ }\mu\text{g/kg}$ では3相性の消失パターンを示した。この時2 および $8\text{ }\mu\text{g/kg}$ 投与時の AUC は用量に比例して上昇したものの、 $0.5\text{ }\mu\text{g/kg}$ の場合は用量比に比べやや低値を示したが、これは4時間以降の血液中放射能濃度（第3相）が検出限界以下であるためと考えられた。 ^3H -TEI-9090 $2\text{ }\mu\text{g/kg}$ を雄性ラットに静脈内投与後は、いずれのパラメーターも ^3H -TTC-909 投与時とほぼ同様であり、有意な差異は認められなかった。ま

た、 ^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 を急速または持続静脈内投与後の血液中にはいずれの測定点においても未変化体 TEI-9090 は測定限界以下であり、活性体 TEI-7165 およびその他の代謝物が認められたが、TEI-7165 の推移には両薬剤で大きな差異は認められなかった。

先に著者ら⁵⁾は、 ^3H -TTC-909 の薬物保持効率および製剤中における薬物の存在様式を検討し、10% o/w エマルジョンにおいて ^3H -TEI-9090 はほぼ完全に保持されているが、これを希釈することによりエマルジョン粒子における薬物の存在様式は変化し一部の ^3H -TEI-9090 は粒子表面へ移動するものの、薬物保持効率は低下しないことを示した。更に著者ら¹⁰⁾は、イヌおよびヒト血清を用いて同様な検討を行い、エマルジョン粒子表面へ移動した ^3H -TEI-9090 が血清蛋白との結合およびエステラーゼによる加水分解を受け、その結果 ^3H -TTC-909 の薬物保持効率は経時的に低下することを報告した。一方、血液における ^3H -TEI-9090 の加水分解活性には著しい種差がみられ、ラット血液中のエステラーゼ活性はイヌやヒトに比べ100倍以上高いことを確認している¹¹⁾。したがって、ラットに ^3H -TTC-909 を静脈内投与後は、エマルジョン粒子表面に移動した TEI-9090 の速やかな加水分解により薬物保持効率が急激に低下し、その結果血中動態を見る限り o/w エマルジョンの製剤特性がほとんど反映されず、 ^3H -TEI-9090 投与時の血中濃度推移とはほぼ同様となったものと推察される。岩井ら¹²⁾はラットにデキサメタゾンパルミチン酸エステルの o/w エマルジョンおよび水溶性デキサメタゾン静脈内投与時の血中濃度に有意な差が認められないことを報告しているが、今回と同様な理由によるものと考えられる。

雌性ラットに ^3H -TTC-909 を $2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与後の血液中放射能濃度は雄性ラットに比べて高く、AUC は雄性ラットの1.8倍であった。同様な性差は PGI_2 や PGE_2 の各種誘導体においても認められ、いずれも雄性ラットに比べ雌性ラットで高い血中濃度推移を示すことが報告されてい

る^{13,14)}。一方、 ^3H -TTC-909 を静脈内投与後の胆汁中排泄率は雄性ラットに比べてむしろ雌性ラットで若干高かった。そこで、雌雄の胆管瘻ラットおよび sham ラットに ^3H -TTC-909 静脈内投与後の血中放射能濃度を比較した結果、sham ラットでは血液中放射能濃度の雌雄差が認められたが、胆管瘻ラットにおいてその差異はほとんど消失した。また、 ^3H -TTC-909 投与後得られた胆汁を十二指腸内投与したのちの再吸収率も雌性ラットが雄性ラットに比べ約10%高いことが示された。 PGE_2 誘導体 ^{14}C -trimoprostil の場合も経口投与後の血液中放射能濃度は雌性ラットで有意に高いが、この主要因として胆汁中代謝物の質的な差異が考えられている¹⁴⁾。著者ら¹⁵⁾は、 ^3H -TTC-909 を雌雄ラットに投与後の胆汁中代謝物を検索し、代謝物組成に性差がみられることを明らかにしている。また、雌雄ともに胆汁中に活性体 TEI-7165 は検出されなかった。これらのことから、血液中放射能濃度の性差は、活性体以外の代謝物の腸肝循環における再吸収の差異に基づくものと考えられた。

要 約

^3H 標識 TEI-9090 およびその o/w エマルジョン製剤 ^3H -TTC-909 をラットに静脈内投与後の血液中濃度および排泄について検討し、以下の結果を得た。

1) ^3H -TTC-909 および ^3H -TEI-9090 を雄性ラットに $2\text{ }\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与後の血液中放射能濃度推移は両者とも3相性の消失パターンを示し、パラメーター ($T_{1/2}$, AUC) に有意な差は認められなかった。一方、雌性ラットに ^3H -TTC-909 静注後の血液中放射能濃度は雄性ラットに比べ AUC で1.8倍の高い濃度で推移した。

2) 血液中放射能濃度に対する活性体 TEI-7165 濃度の割合は AUC の比で11~15%であり、投与剤形あるいは投与方法(急速静注および持続静注)によらずほぼ一定であった。

3) ^3H -TTC-909 を雄性ラットに静脈内投与後大部分の放射能は48時間までに排泄され、120

時間までの累積排泄率は尿および糞中でそれぞれ49.7%および47.0%であった。 ^3H -TEI-9090の排泄率もほぼ同様であった。一方、 ^3H -TTC-909の雌性ラットにおける排泄は雄性ラットに比べ10%程度尿中に高く糞中への排泄は低かった。

4) ^3H -TTC-909投与後の胆汁中排泄率は48時間までに雄性ラットで43.2%, 雌性ラットで48.2%を示し、同時に採取した尿中への排泄率は雌性ラットでやや低かった。

5) 胆汁を体外に排泄させた雌雄ラットに ^3H -TTC-909投与後の血液中放射能濃度のAUCはほぼ同等となった。また、 ^3H -TTC-909投与後採取した胆汁を別のラットの十二指腸内に投与したところ、胆汁中放射能の再吸収率は雄性ラットに比べ雌性ラットで高かった。これらの結果から、血液中放射能濃度に認められる雌雄差は再吸収率の相違によることが示唆された。

文 献

- Amemiya, S., Koyama, K., Saito, S. and Kojima, K.: Synthesis of a highly potent analogue of prostacyclin, $(-)-5\text{-methyleneisocarbacyclin}$. *Chem. Pharm. Bull.*, **34**: 4403-4405 (1986).
- Crane, B. H., Maish, T. L., Maddox, Y. T., Corey, E. J., Székely, I. and Ramwell, P. W.: Effect of prostaglandin I_2 and analogs on platelet aggregation and smooth muscle contraction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **206**: 132-138 (1978).
- Shibasaki, M., Torisawa, Y. and Ikegami, S.: Synthesis of $9(\text{O})\text{-methano-}\Delta^{6(9a)}\text{-PGI}_1$: the highly potent carbon analog of prostacyclin. *Tetrahedron Lett.*, **24**: 3493-3496 (1983).
- Sugiura, S. and Kurozumi, S.: Synthesis of tritium-labeled isocarbacyclin derivatives, radiolabelled prostaglandin I_1 analogs (1). *J. Labelled Compds. Radiopharm.*, in press (1994).
- Minagawa, T., Kohno, Y., Suwa, T. and Tsuji, A.: Entrapping efficiency and drug release profile of an oil-in-water (o/w) emulsion formulation using a polydimethylsiloxane-coated glass bead assay. *Pharm. Res.*, **11**: 503-507 (1994).
- Mizushima, Y., Yanagawa, A. and Hoshi, K.: Prostaglandin E_1 is more effective, when incorporated in lipid microspheres, for treatment of peripheral vascular diseases in man. *J. Pharm. Pharmacol.*, **35**: 666-667 (1983).
- 清川重人, 原本俊一, 玉手純子, 東海林洋子, 星恵子, 水島 裕, 渡辺正弘, 浜野哲夫: PG含有リビッドマイクロスフェアの動脈硬化部位へのターゲティング. *Drug Delivery System*, **2**: 35-40 (1987).
- Sim, A. K., McCraw, A. P., Cleland, M. E., Aihara, H., Otomo, S. and Hosoda, K.: The effect of prostaglandin E_1 incorporated in lipid microspheres on the thrombus formation and thrombus disaggregation and its potential to target to the site of vascular lesions. *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, **36**: 1206-1209 (1986).
- Dashman, T., Witt, C., Kuhn, D. and Gallo-Torres, H. E.: Biliary, fecal and urinary excretion of $[^3\text{H}]$ -prostaglandins in the rat. *Prostaglandins*, **33**: 419-429 (1987).
- Minagawa, T., Kohno, Y., Suwa, T. and Tsuji, A.: Entrapping efficiency of an oil-in-water emulsion containing isocarbacyclin methyl ester (TEI-9090) in dog and human sera. *Pharm. Res.*, **11**: 1677-1679 (1994).
- Minagawa, T., Kohno, Y., Suwa, T. and Tsuji, A.: Species differences in hydrolysis of isocarbacyclin methyl ester (TEI-9090) by blood esterases. *Biochem. Pharmacol.*, in press (1995).
- 岩井正和, 浜野哲夫, 荒川良夫, 岡本浩之, 渡辺正弘, 横山和正: 脂溶性プロドラッグ, パルミチン酸デキサメタゾンの生体内動態 (第1報) —体内分布および排泄—. *基礎と臨床*, **19**: 619-643 (1985).
- Matsumoto, K., Tajima, A., Hirano, Y., Ohno, K., Yuge, T., Hamasaki, T., Hase, T. and Horiba, M.: Pharmacokinetics and biotransformation of beraprost sodium I: Plasma level profile of beraprost sodium in rat. *薬物動態*, **4**: 87-99 (1989).
- 富澤宏樹, 市本範子, 市原成泰, 深沢英雄, 立石満: ラットにおける Trimoprostil の体内動態に関する研究 (第1報): Trimoprostil 経口投与後の血中濃度, 体内分布および尿, 糞, 胆汁中排泄. *薬物動態*, **1**: 43-53 (1986).
- 皆川俊哉, 玉谷隆次, 河野喜郎, 諏訪俊男, 近藤史郎, 田中利夫, 真鍋健次: イソカルバサイクリンメチルエステル含有 O/W エマルジョン製剤 TTC-909 の体内動態 (第2報) ラットにおける代謝. *薬物動態*, **10**(2): 279-295 (1995).