前立腺癌治療薬 FLUTAMIDE の体内動態 (第2報): ラットにおける単回経口投与後の吸収, 分布, 排泄

浅川 紀子・小山 道則・橋本 豊・山下 幸和
江角 凱夫*・高市 松夫*・関 英昌*・原田 朋子*・本多 尚子*

Studies on the Metabolic Fate of Flutamide(2): Absorption, Distribution and Excretion after Single Oral Administration in Rats

Noriko ASAKAWA, Michinori KOYAMA, Yutaka HASHIMOTO, Kouwa YAMASHITA
Yoshio ESUMI*, Matsuo TAKAICHI*, Hideaki SEKI*, Tomoko HARADA*, Naoko HONDA*

Research & Development Division, Pharmaceuticals Group, Nippon Kayaku Co., Ltd., Tokyo;

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

Summary

Blood and plasma levels, tissue distribution and excretion of Flutamide, a pure antiandrogen agent for prostate cancer, were examined in rats after a single oral administration of ^{14}C -Flutamide at a dose of 5 mg/kg.

1. The radioactivity in blood and plasma reached $C_{\max}$ of 2.46 and 2.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Flutamide equivalent) at 2hr, respectively.

2. The radioactivity was well distributed in all tissues, especially in the kidney, fat, adrenal glands and the liver at 2 hr after oral administration. The radioactivities in these tissues were 2.8~4.8 times higher than that in plasma. The radioactivity in the most of tissues disappeared similarly as that in plasma.

3. The radioactivity was excreted within 120 hr into the urine, feces and the expired air at the rates of 70.2, 24.1 and 0.9% of the dose, respectively. The total recovery of radioactivity from the urine was 70.2% of dose, suggesting good gastro-intestinal absorption of Flutamide.

Key words : Flutamide, Antiandrogen, Antitumor agent, Plasma concentration, Autoradiography (ARG), Distribution, Excretion, Rat

緒 言

2-Methyl-*N*-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-propanamide(Flutamide)は, Schering-Plough社で開発された非ステロイド系抗アンドロゲン剤であり, 副作用の少ない経口制癌剤とし

て, 前立腺癌治療薬として欧米で広く使用されている¹⁻³⁾.

今回, ^{14}C で標識した Flutamide (^{14}C -Flutamide)を雄ラットに単回経口投与し, 吸収, 分布, 排泄および全身オートラジオグラフィーを含めた体内動態について検討したので報告する.

日本化薬株式会社医薬事業本部 創薬本部 〒115 東京都北区志茂 3-31-12

* 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

材料および方法

1. 標識化合物

^{14}C -Flutamide は, Schering-Plough 社より提供された放射化学的純度99%以上, 比放射能1.95 MBq/mg の標識体を使用した (Fig. 1). 放射化学的純度の測定は, 薄層クロマトグラフィー (シリカゲル60, F254ガラスプレート, 厚さ0.25 mm, E. Merck) で, 展開溶媒は, クロロホルム: 酢酸エチル (3:1) で行った. 標識化合物は, 使用前に非標識 Flutamide で適宜希釈して使用した.

2. 試験動物

試験動物としてSD系SPFラット (日本チャールス・リバー株, 8週齢, 体重278~327 g) を用いた. 動物の例数は, 全身オートラジオグラフィーでは, 1群1匹, 他の試験では1群3匹とした. 購入後のラットには, 水および固型飼料 (MF, オリエンタル酵母工業株) を自由に摂取させ, 室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55\pm 10\%$ の条件下で, 1週間以上予備飼育したのち, 試験に供した.

3. 投与液の調製

^{14}C -Flutamide に非標識 Flutamide を所定量加えてメタノールに溶解したのち, 窒素ガスで溶媒を除去した. これに0.5%メチルセルロース (SM-400, 信越化学株) 水溶液を加えて, 2.5 mg/ml の懸濁液を調製した.

4. 投与量および投与方法

ラットに, ^{14}C -Flutamide を5 mg/2 ml/kg の投与量で, 非絶食下経口投与した. 投与放射能は, 全身オートラジオグラフィーでは2.96 MBq/kg, 他の試験では740 kBq/kg とした.

Fig. 1 Chemical structure of ^{14}C -Flutamide

*: ^{14}C -labeled position

5. 放射能の測定

各試料中の放射能の測定は, 液体シンチレーションカウンタ (LSC-903, 株アロカ) で2分間計数して行った. 計数効率の補正は, 外部標準線源によるチャンネル比法によって行った.

6. 単回投与試験

(1) 血液, 血漿中濃度の測定

^{14}C -Flutamide を雄性ラットに経口投与したのち, 経時的に尾静脈より, マイクロビペットを用いて血液約250 μl を採取し, その一部を遠心分離して血漿を得た. 採血時間は, 投与後30分, 1, 2, 4, 6, 8, 24時間, 以後24時間ごとに120時間までとした.

採取した血液および血漿は, その一部に組織溶解剤 SOLUENE-350TM (PACKARD) 2 ml を加えて溶解し, 血液には過酸化ベンゾイル飽和のベンゼン溶液0.4 ml を加えて脱色したのち, シンチレーター ECONOFLUOR (Du Pont/NEN Research Products) 13 ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より血液, 血漿中濃度の推移を求めた. また, 各時点におけるヘマトクリット値を測定し, 次式より血球移行率を求めた.

血球移行率 (%)

$$= \left(1 - \frac{P}{B} \times \frac{100 - \text{Ht}}{100} \right) \times 100$$

ここで, B: 血液中濃度 ($\mu\text{g/ml}$), P: 血漿中濃度 ($\mu\text{g/ml}$), Ht: ヘマトクリット値 (%) である.

(2) 全身オートラジオグラフィー

^{14}C -Flutamide を雄性ラットに経口投与したのち, 投与後2, 8, 24, 120時間にそれぞれエーテル麻酔下, -70°C のドライアイス・アセトン中で凍結した. 得られた凍結屍体を5%カルボキシメチルセルロースで包埋し, -70°C のドライアイス・アセトン中で凍結後クライオミクロトーム (PMV 450MP, LKB) に固定し, -25°C 前後で約35 μm の凍結切片を作製した. 凍結乾燥した切片を, X線フィルム (MARG ^3H タイプ, コニカ株) と接させ, 4°C で14日間露出したのち, X線フィルムを現像し, 全身オートラジオグラ

ムを作製した。

(3) 組織内濃度の測定

^{14}C -Flutamide を雄性ラットに経口投与したのち、投与後30分、2, 8, 24, 48時間にそれぞれエーテル麻酔下、腹部大動脈より採血後、放血死させ、血液および血漿と次の32組織：大脳、視床、視床下部、小脳、延髄、脊髄、下垂体、眼球、甲状腺、顎下腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、白色脂肪、骨格筋、皮膚、骨髓、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、包皮腺、胃、小腸、盲腸、大腸、膀胱を摘出した。

血液および血漿はその一部を採取し、他の組織については、その全重量(湿重量)を測定し、また一部の組織については小片を切り取り、その湿重量を測定した。秤量した組織に組織溶解剤 SOLUENE-350TM 2 ml を加えて溶解し、必要に応じて過酸化ベンゾイル飽和のベンゼン溶液 0.4 ml を加えて脱色したのち、シンチレーター ECONOFLUOR 13 ml を加えて放射能を測定し、得られた値より組織内濃度を求めた。

(4) 尿、糞、呼気中排泄率、体内残存率の測定

^{14}C -Flutamide を雄性ラットに経口投与したのち、尿、糞および呼気と同時に採取できるガラス製代謝ケージ(容量 4 l, 第一化学薬品型, 株式会社石井商店)に収め、自然排泄された尿および糞を採取した。代謝ケージに空気を 300 ml/min. で連続的に通じながら、呼気中に排泄された $^{14}\text{CO}_2$ を、20%モノエタノールアミン水溶液 200 ml を入れたトラップ2本に捕集した。測定時間は、尿および呼気については、投与後 4, 8, 24時間、以後24時間ごとに120時間までとした。糞については投与後24時間ごとに120時間までとした。呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ は、トラップを測定時間ごとに交換してそれぞれ採取した。

採取した尿は、水を加えて希釈し、その一部にシンチレーター ATOMLIGHT (Du Pont/NEN Research Products) 13 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。糞は 50%メタノールを加えて希釈したのち、かき混ぜて均質化し、その一部にシンチレーター

ATOMLIGHT 13 ml を加えて放射能を測定し、得られた値より糞中排泄率を求めた。呼気中排泄率は、 $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した20%モノエタノールアミン水溶液の一部にシンチレーター HIONIC-FLUOR (PACKARD) 10 ml を加えて放射能を測定して求めた。

投与後120時間の尿、糞および呼気採取終了後、ラットをエーテル麻酔死させ、0.5M 水酸化ナトリウム 400 ml およびトルエン 100 ml を加え、96時間還流して溶解した。溶解後、水を加えて 800 ml とし、均質化したのち、その一部にシンチレーター ATOMLIGHT 13 ml を加えて放射能を測定し、体内残存率を求めた。

結 果

1. 単回経口投与

(1) 血液、血漿中濃度

ラットに ^{14}C -Flutamide を 5 mg/kg 単回経口投与したときの血液および血漿中放射能の濃度推移を Fig. 2 に、薬動学的パラメーターを Table I に示した。

血液中放射能濃度は、投与後2時間に最高濃度を示したのち、24時間まで半減期7.6時間で消失した。投与後24時間までの血液中放射能の AUC は $30.4 \mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$ であった。血漿中放

Fig. 2 Radioactivity concentrations in blood and plasma after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rats at a dose of 5 mg/kg (mean $\pm$ S.D., $n=3$).

Table I Pharmacokinetic parameters calculated for the mean radioactivity after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to three male rats (dose: 5 mg/kg)

	$[\text{AUC}]_{0-24}$ ($\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/ml}$)	C_{max} ($\mu\text{g eq.}/\text{ml}$)	$t_{1/2}$ (hr)
Blood	30.4	2.1	7.6
Plasma	34.6	2.4	7.1

Table II Percentage distribution of radioactivity in blood cell after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rats (dose: 5 mg/kg)

Time (hr)	Ratio of Radioactivity in blood cell (%)
0.5	29.9 $\pm$ 6.3
1	32.9 $\pm$ 2.6
2	32.6 $\pm$ 4.4
4	31.9 $\pm$ 3.8
6	35.2 $\pm$ 2.9
8	29.8 $\pm$ 4.3
24	38.2 $\pm$ 3.3

Data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of three animals.

射能濃度は投与後2時間に最高濃度を示したのち、24時間まで半減期7.1時間で消失した。投与後24時間までのAUCは $34.6 \mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/ml}$ であった。

放射能の血球移行率をTable IIに示した。投与後24時間における放射能の血球移行率は38.2%であった。

(2) 全身オートラジオグラム

ラットに ^{14}C -Flutamideを5 mg/kg単回経口投与したときの全身オートラジオグラムをFig. 3~6に示した。

投与後2時間には胃内容物、腸内容物、膀胱内尿に最も高い放射能が、次いで肝臓、前立腺、副腎、腎臓に高い放射能が認められた。血液には低い放射能が認められた。投与後8および24時間では全体の放射能はさらに低下した。投与後120時間では鼻粘膜、肝臓、腸内容物、皮膚、腎臓に放射能が認められたのみであった。

(3) 組織内濃度

ラットに ^{14}C -Flutamideを5 mg/kg単回経口投与したときの組織内濃度をTable IIIに示した。

ほとんどの組織は、投与後2時間に最高濃度を示し、肝臓、副腎、白色脂肪および腎臓は血漿中濃度の2.8~4.8倍を示した。甲状腺、下垂体、延髄、視床、精巣上体および標的組織である包皮腺、前立腺には血漿の2倍前後の濃度が認められた。その後組織内放射能濃度は速やかに減衰し、投与後48時間では、肝臓に最高濃度の13%、甲状腺および盲腸にそれぞれ最高濃度の8および7%が認められたほかは、いずれも最高濃度の4%以下であった。また、視床、視床下部、小脳、延髄、脊髄、下垂体、白色脂肪、骨髓液、小腸および膀胱は検出限界以下であった。

(4) 尿、糞、呼気中への排泄、体内残存率

ラットに ^{14}C -Flutamideを5 mg/kg単回経口投与したときの累積排泄率をFig. 7に示した。尿中には、投与後24時間までに投与量の61.8%、120時間までに70.2%が排泄された。糞中には、投与後24時間までに14.9%、120時間までに24.1%が排泄された。呼気中には、投与後24時間までに0.8%、120時間までに0.9%が排泄された。投与後120時間までの尿、糞および呼気中総排泄率は投与量の95.2%であった。また、この時点の体内には投与量の1.3%しか認められなかった。

考 察

前立腺癌治療薬であるFlutamideの体内動態を調べるため、 ^{14}C -Flutamideを雄性ラットに5 mg/kg単回経口投与したときの吸収、分布および排泄について検討した。

血液、血漿中放射能濃度は、いずれも投与後2時間に最高濃度を示したのち、速やかに減衰した。放射能の組織内濃度の結果から、投与後30分において、肝臓、腎臓、脾臓など多数の組織中放射能が、すでに最高濃度の70%前後に達していることから、Flutamideの消化管からの吸収は速やかであると考えられた。

2hr

Fig. 3 Whole body autoradiograms after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rat (dose: 5 mg/kg)

1. Adrenal gland	10. Harderian gland	19. Pituitary gland
2. Blood	11. Heart	20. Prostate gland
3. Bone marrow	12. Intestinal contents	21. Skeletal muscle
4. Brain	13. Kidney	22. Skin
5. Brown fat	14. Liver	23. Spleen
6. Epididymis	15. Lung	24. Tarsal gland
7. Eyeball	16. Mandibular gland	25. Testis
8. Fat	17. Nasal mucous membrane	26. Thymus
9. Gastric contents	18. Pancreas	27. Thyroid gland
		28. Urine in bladder

8hr

Fig. 4 Whole body autoradiograms after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rat (dose: 5 mg/kg)

1. Adrenal gland	10. Harderian gland	19. Pituitary gland
2. Blood	11. Heart	20. Prostate gland
3. Bone marrow	12. Intestinal contents	21. Skeletal muscle
4. Brain	13. Kidney	22. Skin
5. Brown fat	14. Liver	23. Spleen
6. Epididymis	15. Lung	24. Tarsal gland
7. Eyeball	16. Mandibular gland	25. Testis
8. Fat	17. Nasal mucous membrane	26. Thymus
9. Gastric contents	18. Pancreas	28. Urine in bladder

24hr

Fig. 5 Whole body autoradiograms after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rat (dose: 5 mg/kg)

1. Adrenal gland	10. Harderian gland	19. Pituitary gland
2. Blood	11. Heart	20. Prostate gland
3. Bone marrow	12. Intestinal contents	21. Skeletal muscle
4. Brain	13. Kidney	22. Skin
5. Brown fat	14. Liver	23. Spleen
6. Epididymis	15. Lung	24. Tarsal gland
7. Eyeball	16. Mandibular gland	25. Testis
8. Fat	17. Nasal mucous membrane	28. Urine in bladder
9. Gastric contents	18. Pancreas	

120hr

Fig. 6 Whole body autoradiograms after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rat (dose: 5 mg/kg)

12. Intestinal contents	13. Kidney	14. Liver
17. Nasal mucous membrane	22. Skin	

Table III Tissue concentrations of radioactivity after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rats (dose: 5 mg/kg)

Tissue	Concentration of radioactivity (μg eq. of Flutamide/g or ml)				
	Time after administration (hr)				
	0.5	2	8	24	48
Plasma	1.90 ± 0.59	2.57 ± 0.13	1.96 ± 0.04	0.29 ± 0.04	0.08 ± 0.02
Blood	1.43 ± 0.40	2.06 ± 0.03	1.57 ± 0.06	0.25 ± 0.03	0.11 ± 0.01
Cerebrum	2.72 ± 0.77	3.88 ± 0.21	2.54 ± 0.19	0.18 ± 0.04	0.02 ± 0.01
Cerebellum	2.70 ± 0.77	3.95 ± 0.22	2.59 ± 0.08	0.18 ± 0.05	N.D.
Thalamus	2.79 ± 0.84	4.24 ± 0.36	2.84 ± 0.17	0.18 ± 0.04	N.D.
Hypothalamus	2.65 ± 0.98	3.60 ± 0.28	2.32 ± 0.24	0.15 ± 0.04	N.D.
Medulla oblongata	3.14 ± 0.84	4.75 ± 0.13	3.10 ± 0.08	0.20 ± 0.04	N.D.
Spinal cord	2.52 ± 0.65	4.92 ± 0.23	3.24 ± 0.14	0.20 ± 0.03	N.D.
Pituitary gland	2.94 ± 0.95	4.82 ± 0.78	3.30 ± 0.34	N.D.	N.D.
Eyeball	0.64 ± 0.21	1.19 ± 0.08	1.04 ± 0.07	0.16 ± 0.02	0.03 ± 0.00
Thyroid gland	2.99 ± 0.93	5.10 ± 0.98	3.12 ± 0.86	0.50 ± 0.06	0.41 ± 0.12
Mandibular gland	3.81 ± 1.07	5.50 ± 0.12	3.43 ± 0.17	0.37 ± 0.07	0.06 ± 0.00
Thymus	1.62 ± 0.37	2.57 ± 0.13	1.90 ± 0.12	0.16 ± 0.03	0.02 ± 0.01
Heart	3.54 ± 0.99	4.86 ± 0.12	3.36 ± 0.08	0.35 ± 0.04	0.06 ± 0.01
Lung	3.06 ± 0.80	4.70 ± 0.19	3.22 ± 0.49	0.39 ± 0.10	0.10 ± 0.01
Liver	9.74 ± 2.76	12.40 ± 1.32	9.81 ± 0.57	3.35 ± 0.14	1.66 ± 0.22
Kidney	5.70 ± 1.44	7.16 ± 0.26	5.11 ± 0.31	0.70 ± 0.07	0.24 ± 0.01
Adrenal gland	6.44 ± 1.30	9.93 ± 0.11	6.40 ± 0.20	0.68 ± 0.03	0.16 ± 0.03
Spleen	2.13 ± 0.55	4.11 ± 1.71	2.23 ± 0.09	0.26 ± 0.05	0.07 ± 0.01
Pancreas	4.01 ± 0.91	5.03 ± 1.65	3.89 ± 0.22	0.33 ± 0.09	0.05 ± 0.01
Fat	2.82 ± 1.23	8.36 ± 0.81	5.92 ± 0.12	0.32 ± 0.08	N.D.
Skeletal muscle	1.79 ± 0.61	2.82 ± 0.36	2.05 ± 0.18	0.19 ± 0.04	0.02 ± 0.00
Skin	2.63 ± 0.94	3.59 ± 0.12	2.36 ± 0.08	0.34 ± 0.07	0.12 ± 0.01
Bone marrow	2.05 ± 0.58	3.19 ± 0.08	2.15 ± 0.07	0.21 ± 0.05	N.D.
Testis	1.42 ± 0.43	2.94 ± 0.05	2.20 ± 0.14	0.21 ± 0.04	0.03 ± 0.01
Epididymis	1.51 ± 0.42	3.90 ± 0.32	2.79 ± 0.12	0.28 ± 0.04	0.04 ± 0.01
Prostate gland	3.25 ± 0.72	6.16 ± 0.35	4.38 ± 0.94	0.40 ± 0.11	0.03 ± 0.00
Seminal vesicle	0.86 ± 0.22	1.87 ± 0.18	1.42 ± 0.06	0.16 ± 0.03	0.03 ± 0.01
Preputial gland	3.57 ± 0.78	6.39 ± 0.33	4.50 ± 0.30	0.53 ± 0.06	0.15 ± 0.05
Stomach	18.03 ± 9.34	3.81 ± 0.83	2.42 ± 0.17	0.20 ± 0.03	0.05 ± 0.01
Small intestine	1.04 ± 0.31	0.74 ± 0.24	0.66 ± 0.22	0.08 ± 0.07	N.D.
Cecum	0.54 ± 0.11	0.58 ± 0.04	1.35 ± 0.55	0.33 ± 0.06	0.10 ± 0.01
Large intestine	0.73 ± 0.22	1.12 ± 0.40	0.98 ± 0.52	0.27 ± 0.14	0.05 ± 0.01
Urinary bladder	1.63 ± 0.44	4.19 ± 2.26	4.67 ± 2.57	0.25 ± 0.03	N.D.

Data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of three animals.

N.D.: Not detected.

Fig. 7 Cumulative excretion of radioactivity into urine, feces and expired air after single oral administration of ^{14}C -Flutamide to male rats at a dose of 5 mg/kg (mean $\pm$ S.D., $n=3$)

組織内分布を検討したとき、放射能分布はほとんどの組織で投与後2時間に最高濃度を示し、血漿とはほぼ同程度、またはそれより高い濃度が認められた。特に、肝臓、副腎および腎臓に高く、また標的組織である前立腺にも比較的高い濃度が認められたことから、Flutamide またはその代謝物の組織移行性は良好であると考えられた。各組織に移行した放射能は、投与後48時間には肝臓、

甲状腺および盲腸を除き、最高濃度の4%以下に減少した。血液—脳関門の通過は認められたが投与後24時間には血漿中濃度以下であった。肝臓からの消失は緩慢で、投与後120時間における全身オートラジオグラムからも低い放射能が確認された。

尿中には、投与後120時間において投与量の70.2%が排泄されることから、Flutamideの主排泄経路は尿であり、消化管からの吸収率は高いものと推察された。

投与後120時間までの尿、糞、呼気中総排泄率は95.2%であり、その時点での体内残存率は1.3%とわずかであったことから、Flutamideの体内残存の可能性は低いものと考えられる。

文 献

- 1) Neri, R. O., Florance, K., Koziol, P. and Van Cleave, S.: A biological profile of a nonsteroidal antiandrogen, SCH 13521 (4'-nitro-3'-trifluoro-methylisobutylanilide). *Endocrinology* **91**: 427-437 (1972).
- 2) Neri, R.O. and Monahan, M.: Effects of a novel nonsteroidal antiandrogen on canine prostatic hyperplasia. *Invest. Urol.* **10**: 123-130 (1972).
- 3) Stolian, B. and Albert, J. A.: SCH 13521 in the treatment of advanced carcinoma of the prostate. *J. Urol.* **111**: 803-807 (1974).