高脂血症治療薬 Fluvastatin の体内動態 (第4報): ラットにおける立体選択的体内動態

増田 直記・谷岡 由香・赤坂 和泉・大多和昌克

Metabolic Fate of Fluvastatin, an Inhibitor of HMG-CoA Reductase (4): Stereoselective Pharmacokinetics of the Enantiomers of Fluvastatin in Rats

Naoki MASUDA, Yuka TANIOKA, Izumi AKASAKA, Masakatsu OHTAWA

Tsukuba Research Institute, Sandoz Pharmaceuticals Ltd., Ibaraki

Summary

Pharmacokinetics of the two enantiomers [FV(+); 3R, 5S-isomer, FV(-); 3S, 5R-isomer] of Fluvastatin (FV) were investigated in rats after single administration of [^{14}C]FV or ^{14}C -labeled enantiomers.

1. After intravenous administration of [^{14}C]FV (5 mg/kg), the total body clearance (CL_{tot}) for FV(+) was about 2 times higher than that for FV(-). The volume of distribution at steady state (Vd_{ss}) for FV(-) was 2.5 times higher than that for FV(+). After oral administration (5 mg/kg), C_{max} and t_{max} values were not different between enantiomers. The values of half-life ($t_{1/2}$) and AUC for FV(-) were 2~5 times higher than those for FV(+).

2. Pharmacokinetic(PK) parameters (CL_{tot} , Vd_{ss} etc.) of radioactivity after intravenous administration of [^{14}C]FV(+) or [^{14}C]FV(-) (2.5 mg/kg) were significantly different between enantiomers. The value of $t_{1/2}$ for FV(-) was significantly longer than that for FV(+).

3. The absorption rates and the bioavailabilities of enantiomers did not differ.

4. The tissue distribution of radioactivity after intravenous administration of [^{14}C]FV(+) or [^{14}C]FV(-) was different from each other at 0.5 hr and 24 hr.

5. No stereoselectivity was observed in the serum protein binding.

6. No stereoselective biliary excretion of unchanged enantiomers was observed. However, the biliary excretion rate of radioactivity after intravenous administration of [^{14}C]FV(+) was faster than that of [^{14}C]FV(-).

7. β -oxidized metabolite, M-7, was detected in both plasma and bile only after administration of [^{14}C]FV(+). Some unknown metabolites (UK1~UK4) were observed in the bile, and UK4 was only detected after administration of [^{14}C]FV(+).

From these results, the difference in the PK profiles of enantiomers after administration of FV seems to be caused by the change in the biliary excretion rates of metabolites following the stereoselective metabolism.

Key words : Fluvastatin, Enantiomers, HMG-CoA reductase inhibitor, Stereoselective pharmacokinetics, Rat

緒 言

Fluvastatin (FV), [(±)-(3*RS*, 5*SR*, 6*E*)-sodium-7-[3-(4-fluorophenyl)-1-(1-methylethyl)-1*H*-indol-2-yl]-3, 5-dihydroxy-6-heptenoate は基本骨格としてインドール環を有し、コレステロール合成系の律速酵素である 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) 還元酵素を特異的に阻害し¹⁾, 各種動物およびヒトの血清中総コレステロール, LDL (low density lipoprotein)-コレステロールを低下させることが明らかとなっている²⁾. FV はヘプテン酸側鎖の 3 位および 5 位に不斉炭素原子が存在し, 2 種の erythro 体 [FV(+), 3*R*, 5*S* 体および FV(-), 3*S*, 5*R* 体] を 1 : 1 で含有する.

我々は前報^{3~5)}でインドール環に [¹⁴C] 標識した FV を用い, ラットにおける体内動態について検討したが, 各種生体試料中の未変化体についてはラセミ体として定量し, 各光学異性体の分離分析を行わなかった. 今回は [¹⁴C]FV および [¹⁴C]標識した 2 種光学異性体を用い, ラットに投与した後の各光学異性体の体内動態について詳細な検討を行ったので報告する.

実験材料および方法

1. 標識化合物

[¹⁴C]FV, [¹⁴C]FV(+) および [¹⁴C]FV(-) は Sandoz Research Institute (East Hanover, NJ., USA) より提供または第一化学薬品株式会社で

合成されたものを使用した. 2 種光学異性体の化学構造式および標識位置を Fig. 1 に示す. 比放射能は 2.13~4.59 MBq/mg であり, 適宜非標識体で希釈して用いた. 放射化学的純度は高速液体クロマトグラフィー (HPLC, ODS column) の結果, 97% 以上であった. また, FV 中の 2 種光学異性体の割合はほぼ 1 : 1 であることを確認した.

2. 代謝物標品

FV の代謝物の化学構造式を Fig. 2 に示す. M-9 以外の標品は Sandoz Research Institute または根本特殊化学株式会社で合成されたものを用いた.

3. 実験動物

実験には 7~9 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF 雄性ラット (日本チャールス・リバー株式会社, 227~322 g) を使用した. ラットは温度 23±3°C, 湿度 55±15%, 照明サイクル 12 時間の条件下で固形飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) および水を自由に摂取させ, 1 週間以上の予備飼育の後, 健康状態の良好なものを実験に用いた. なお, 絶食下投与の場合には, 被験物質投与前 16±2 時間および投与後 4 時間までは絶食とした.

4. 投与方法

経口投与は被験物質を精製水または生理食塩水

Fig. 1 Chemical structures of ¹⁴C-labeled enantiomers of Fluvastatin (FV).

5-Hydroxy-FV (M-2)

6-Hydroxy-FV (M-3)

Desisopropyl-dihydro-FV Tetranor (M-4)

Desisopropyl-FV (M-5)

Threo-FV (M-6; 3R,5R and 3S,5S)

Deoxy-FV Dinor (M-7)

trans-Lactone-FV (M-8)

Desisopropyl-dehydro-FV (M-9)

Fig. 2 Chemical structures of metabolites of FV.

に溶解し、1~2 ml/kg の割合で経口ゾンデを用いて胃内へ強制単回投与した。静脈内投与では被験物質を 1~3 mg/ml となるように生理食塩水に溶解し、大腿静脈内または尾静脈内へ単回投与した。投与量は FV が 5 mg/kg (遊離酸として 4.7 mg/kg)、2 種光学異性体をそれぞれ 2.5 mg/kg (遊離酸として 2.4 mg/kg) とし、投与放射能は 1.85~22.95 MBq/kg であった。

5. 放射能の測定

血液、糞および各臓器・組織試料に Soluene-350 (Packard) 0.5~2 ml を加え可溶化後、過酸化ベンゾイル飽和のベンゼン溶液 0.4 ml またはイソプロピルアルコール 0.5 ml と 30% 過酸化水素水 0.4 ml で脱色し、必要に応じて 1N 塩酸で中和した後、シンチレーター (HIONIC FLUOR, Packard) 10~13 ml を加えて放射能を測定した。それ以外の試料については直接シンチレーター (ULTIMA GOLD, Packard) を加え放射能を測定した。各試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター (Aloka LSC-903, Packard 2500TR または Beckman LS-6000TA) により測定し、計数効率の補正は外部標準線源法で行った。なお、放射能の検出限界は、バックグラウンド値 (BG) の 2 倍または BG を差し引いた測定値が BG の 1/2 以下の場合とした。ただし HPLC カラム溶出液分画の放射能測定の場合は、測定限界を 3 本のブランク試料中の放射能の平均 ± 2 S.D. (標準偏差) とした。

6. 全血中放射能濃度

ラットに $[^{14}\text{C}]\text{FV}$ を 5 mg/kg, $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ または $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ を 2.5 mg/kg で静脈内あるいは経口投与した後、経時的に頸静脈より 200~250 μl ずつ採血した。血液をガラスバイアルに約 50 μl 分取し重量測定後、放射能を測定した。

7. 臓器・組織内放射能濃度

$[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ または $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ をラットに静脈内投与後、所定時間にエーテル麻酔下に腹大

動脈より採血致死させ、直ちに臓器および組織を摘出し秤量した。肝臓、腎臓、心臓、肺および脳は精製水で 20% ホモジネート (w/v) を調製した。血液、血漿および各臓器のホモジネートは 50~500 μl を、大動脈、筋肉および皮膚は一部を採取し重量を測定後、放射能を測定した。

8. 蛋白結合

無処置のラットより血液を採取後、遠心分離して血清を得た。得られた血清 1.5 ml を 37°C で 15 分間インキュベーション後、Sørensen 緩衝液 (pH 7.4) に溶解した $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$, $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ を添加して終濃度を 0.25~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、さらに 37°C で 15 分間インキュベートした。その後の血清の一部を放射能測定用にサンプリングし、更に 1 ml を遠心限外濾過キット (Centrifree Micropartition, Amicon) に移し 37°C, 3000 rpm で 2~10 分間遠心分離し、濾液 100 μl を採取して放射能を測定した。各光学異性体の非結合率は、限外濾過前の放射能濃度 (Ct) および濾過後の放射能濃度 (Cf) より次式を用いて算出した。なお、血清の代わりに緩衝液を用いて薬物の限外濾過膜への吸着等を補正した。

$$\text{非結合率 (\%)} = \text{Cf/Ct} \times 100$$

また、 $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ の蛋白結合に及ぼす $\text{FV}(-)$ の影響についても検討するために、 $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ を溶解した緩衝液にさらに非標識の $\text{FV}(-)$ を加え [終濃度 $\text{FV}(+)$: 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, $\text{FV}(-)$: 0.25~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$] 同様な試験を行った。

9. 胆汁中排泄

ラットを麻酔下に開腹し、総胆管にカニューレーションを施した。覚醒後 $[^{14}\text{C}]\text{FV}$, $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ または $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ を静脈内投与し直ちにフリームービングケージに収め、経時的に胆汁、尿および糞を採取した。採取した胆汁および尿は精製水で一定量とし、その一部を採取後秤量し放射能を測定した。糞は精製水で 20% ホモジネート (w/v) を調製し、その一部を採取後秤量し放射能を測定した。

10. FV 投与後の全血中光学異性体濃度の測定

: TSKgel SW_{XL}

(1) 試料の前処理: ラットに [¹⁴C]FV を投与後各時点で血液を採取し, その 100 μ l に同量の蒸留水を加えて攪拌し 18500 $\times$ g, 4°C で 10 分間遠心分離した. 得られた上清をフィルター (DIS-MIC-13cp, 0.45 μ m, Advantec Tokyo) で濾過した. 濾液を 4°C で 24 時間静置後 18500 $\times$ g, 4°C で 10 分間遠心分離し, 得られた上清 40 μ l を HPLC 分析試料とした.

(2) HPLC: 分析試料 40 μ l を以下に示す前処理カラムに注入後 15.2~22.0 分の溶出液を切換バルブにて光学分割カラムに送液し, 各光学異性体を蛍光検出することにより定量した. 光学分割カラムにより FV(+), FV(-) および 2 種の threo 体 (3R, 5R 体および 3S, 5S 体) を分離分析することが可能であったが, [¹⁴C]FV をラットに投与後の血漿中に 2 種の threo 体は総放射能の 4% 以下とわずかであり⁵⁾, 今回用いた定量法の感度 (0.05 μ g/ml) 等を考慮し, FV(+), FV(-) のみを測定対象とした. また, ラット血中の主代謝物である M-7⁵⁾については, 本法を用いることにより各光学異性体の定量に影響を及ぼさないことを確認した.

本法により FV(+), FV(-) の 0.05~1 μ g/ml, 1~5 μ g/ml の範囲で作成した検量線はいずれも良好な直線性を示し, 回収率は 94.3~106.3% であった. なお, 定量操作による各異性体の相互変換は認められなかった. HPLC 装置および測定条件は以下のとおりである.

① HPLC 装置

ポンプ : 880-PU (JASCO)

システムコントローラー

: 802-SC (JASCO)

インジェクター : 851-AS (JASCO)

蛍光検出器 : 821-FP (JASCO)

データ処理装置 : 807-IT (JASCO)

② 測定条件

前処理カラム : TSKgel G3000 SW_{XL}
(ϕ 7.8 $\times$ 300 mm, 東ソー)

前処理ガードカラム

カラム

: ULTRON ES-OVM

(ϕ 4.6 $\times$ 150 mm, 5 μ m,
信和化工)

ガードカラム

: ULTRON ES-OVM-G

(ϕ 4.0 $\times$ 10 mm, 5 μ m,
信和化工)

カラム温度

: 室温

移動相

: アセトニトリル/20 mM
リン酸緩衝液 (pH3.25),
15 : 100 or 16 : 100 (v/v)

流速

: 1 ml/min

注入量

: 40 μ l

検出波長

: 305 nm (Excitation),
400 nm (Emission)

11. 光学異性体投与後の全血中未変化体および M-7 濃度の測定

(1) 試料の前処理: [¹⁴C]FV(+) または [¹⁴C]FV(-) を投与後採取した血液 (約 100 μ l) に等量の精製水および 0.1 M リン酸緩衝液 (pH5.0) を混和し, tert-ブチルメチルエーテル (t-BME) 6 ml を加えて 5 分間振とう後, 3000 rpm, 4°C で 10 分間遠心分離した. 有機層を分取後, 水層に再度 t-BME を 6 ml 加えて抽出を行った. 合した有機層は 40°C で減圧乾固後, アセトニトリル/0.01 M リン酸緩衝液 (pH7.0, 5 mM テトラメチルアンモニウムヒドロキサイド含有) = 1 : 2 (v/v) 150 μ l に溶解し, HPLC 注入試料とした.

(2) HPLC: ラット肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験および各光学異性体をラットに投与後の血漿抽出物の光学分割カラムによる分析より, 生体内で FV(+) と FV(-) との間の相互変換が認められなかったことから (data not shown), 本法では光学分割カラムを使用せず, 逆相系カラムを用いた.

試料 50 μ l を HPLC に注入後フラクションコレクター (SF-2120, アドバンテック東洋株式会社) を用いてカラム溶出液を分画採取し, 液体シ

ンチレーターを加えて各分画の放射能を測定した。分析に用いた HPLC 装置および測定条件は以下のとおりである。

① HPLC 装置

ポンプ : 880-PU (JASCO)
 インジェクター : SIL9A (Shimadzu)
 蛍光検出器 : 821-FP (JASCO)
 データ処理装置 : Chromatopac C-R7A (JASCO)

② 測定条件

カラム : Spelcosil LC8 ($\phi 4.6 \times 250$ mm, $5 \mu\text{m}$, スペルコジヤパン株式会社)
 カラム温度 : 50°C
 移動相 : アセトニトリル/0.01 M リン酸緩衝液 (pH7.0, 5 mM テトラメチルアンモニアヒドロキシライド含有), 1 : 2 (v/v)
 流速 : 1 ml/min
 検出波長 : 305 nm (Excitation), 400 nm (Emission)

12. 代謝物の分析

(1) 試料の前処理 : $[^{14}\text{C}]$ FV(+) または $[^{14}\text{C}]$ FV(-) を静脈内投与後30分に採取した血漿は、その 2 ml に等量の 0.1 M リン酸緩衝液 (pH5.0) を混和し、t-BME 5 ml を加えて 5 分間振盪後、3000 rpm, 4°C で 10 分間遠心分離した。有機層を分取後、水層に再度 t-BME を 5 ml 加えて抽出を行った。合した有機層は 40°C で減圧乾固後、メタノール/5 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0, 5 mM 塩酸テトラブチルアンモニウム含有), 7 : 3 (v/v) 400 μl に溶解し、HPLC 注入試料とした。標識薬物を投与後の胆汁については蒸留水で適宜希釈後、さらに等量の 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH5.0) を混和し、HPLC 注入試料とした。

(2) HPLC : 試料 100 μl を HPLC に注入後の放射能の測定は、ラジオアイソトープ検出器

(Model 171, Beckman) またはカラム溶出液をフラクションコレクターを用いて分画採取後液体シンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンターにより行った。なお、HPLC 装置および測定条件は前報⁵⁾に従った。

13. 薬物動態パラメータの算出

得られた各個体の全血中放射能、未変化体および M-7 の濃度について薬物動態パラメータ [最高血中濃度 ($C_{\max}$), 最高血中濃度到達時間 ($t_{\max}$), 消失半減期 ($t_{1/2}$), 血中濃度-時間曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-\infty}$), 全身クリアランス (CL_{tot}) および分布容積 (Vd_{ss})] を前報³⁾に従って算出した。

14. データおよび統計処理

放射能、未変化体および代謝物濃度は FV 当量で算出した。検出限界以下の場合は n.d. として表示し、0 として平均値等の計算を行った。

薬物動態パラメータ等の差の検定は以下に示す方法により行い、有意水準は両側 5 % とした。ただし $t_{\max}$ の差の検定については、Mann-Whitney の U 検定または Wilcoxon の順位和検定を用いた。

対応のない 2 群の比較 : 等分散検定 (F-test) → Student's t-test または Welch's t-test
 対応のある 2 群の比較 : Paired t-test

結 果

1. 全血中濃度

1) ラセミ体投与 : $[^{14}\text{C}]$ FV を 5 mg/kg でラットに単回静脈内または経口投与した後の放射能および 2 種光学異性体の全血中濃度推移を Fig. 3 に、薬物動態パラメータを Table I に示す。

$[^{14}\text{C}]$ FV を静脈内投与した後の放射能の消失は二相性を示し、終末相における消失半減期 ($t_{1/2}$) は 10.4 時間であった。 CL_{tot} および Vd_{ss} はそれぞれ 0.30 l/hr/kg, 3.57 l/kg を示した。2 種の光学異性体の濃度推移に差が認められ、FV(+) は投与 6 時間以後は定量限界以下であったのに対し、FV(-) の全血中からの消失は遅

Fig. 3 Blood concentrations of radioactivity and enantiomers of FV after intravenous or oral administration of [^{14}C]FV (5 mg/kg) to fasting male rats
 Each symbol represents the mean $\pm$ S.D. of four animals (*: $n=3$).
 ●: Radioactivity, $\triangle$: FV(-), $\circ$: FV(+).

く、投与12時間後まで検出された。また、いずれの薬物動態パラメータも異性体間で統計学的な有意差が認められ、FV(+)の CL_{tot} (1.52 l/hr/kg) はFV(-)に比べ約2倍高く、 Vd_{ss} (1.16 l/kg) はFV(-)の1/2以下であった。

^{14}C]FVを経口投与した時の全血中放射能は投与後1.3時間で最高濃度に達し、その後静脈内投与時とはほぼ同様の $t_{1/2}$ (11.6時間)で消失した。各光学異性体の薬物動態パラメータも静脈内投与

時と同様な傾向を示し、 $t_{1/2}$ およびAUCに各光学異性体間で有意差は認められないものの、FV(-)の方が約2~5倍高い値を示した。なお、 C_{max} および t_{max} については光学異性体間でほぼ同様な値を示した。FVの経口吸収率を経口および静脈内投与時の放射能のAUC(平均値)より算出すると84.2%であった。また、FV(+)およびFV(-)のバイオアベイラビリティ(BA)はそれぞれ64.9%、75.2%であった。

Table I Pharmacokinetic parameters of radioactivity and enantiomers of FV in the blood after intravenous or oral administration of [^{14}C]FV (5 mg/kg) to fasting male rats

1) Intravenous

Substance	$t_{1/2}$ (hr)	$\text{AUC}_{0-\infty}$ ($\mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$)	CL_{tot} (l/hr/kg)	Vd_{ss} (l/kg)
Radioactivity	10.4 ± 3.3	17.305 ± 3.272	0.30 ± 0.07	3.57 ± 0.73
FV(+)	0.6 ± 0.2	1.687 ± 0.330	1.52 ± 0.25	1.16 ± 0.05
FV(-)	3.9 ± 1.5	3.213 ± 0.761	0.82 ± 0.22	2.95 ± 0.85

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of four animals.

*: Significantly different ($p < 0.05$).

2) Oral

Substance	C_{max} ($\mu\text{g eq./ml}$)	t_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$\text{AUC}_{0-\infty}$ ($\mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$)	F or BA (%)
Radioactivity	1.028 ± 0.213	1.3 ± 0.5	11.6 ± 5.3	14.563 ± 5.985	84.2
FV(+)	0.435 ± 0.059	0.9 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.095 ± 0.285	64.9
FV(-)	0.387 ± 0.092	0.9 ± 0.3	5.6 ± 4.0	2.417 ± 0.585	75.2

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of four animals.

F: Absorption rate, BA: Bioavailability.

2) 光学異性体投与: ラットに [^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) の 2.5 mg/kg を単回静脈内あるいは経口投与した後の全血中放射能, 未変化体 [FV(+)] または [FV(-)] および M-7 の濃度推移を Fig. 4, 5 に, その時の薬物動態パラメータを Table II に示す.

[^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) を静脈内投与後の放射能濃度はいずれも二相性の消失を示し, $t_{1/2}$ はそれぞれ 5.5 時間および 7.5 時間であり有意差が認められた. [^{14}C]FV(+) 投与時の CL_{tot} , Vd_{ss} はそれぞれ 0.27 l/hr/kg, 1.78 l/kg を示し, [^{14}C]FV(-) 投与時と比較し有意差が認められた. 未変化体の全血中からの消失も二相性を示し, [^{14}C]FV(+) 投与時の $t_{1/2}$ は 4.4 時間であり [^{14}C]FV(-) 投与時 (6.6 時間) と比べ有意に短かった. CL_{tot} および Vd_{ss} には差は認められなかったが, ラセミ体投与時に比べて FV(+) の $t_{1/2}$ は顕著に長くなった. [^{14}C]FV(+) を静脈内投与後の全血中には未変化体のほか代謝物 M-7 が検出され, 投与後約 1 時間で C_{max} に到達した後, 4.0 時間の $t_{1/2}$ で消失した. しかし [^{14}C]FV(-) を投与後の全血中には未変化体のみが検

出され, M-7 は認められなかった. 一方, [^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) を経口投与後の全血中の放射能濃度はいずれも投与後 1~1.5 時間で最高値に達し, C_{max} はそれぞれ 0.595 $\mu\text{g eq./ml}$, 0.263 $\mu\text{g eq./ml}$ を示し有意差が認められた. また, $t_{1/2}$ および AUC も静脈内投与時と同様に異性体間で差が認められた. 未変化体濃度はいずれの異性体投与においても約 1.5 時間で最高値を示し, 有意差は認められなかった. [^{14}C]FV(+) 投与時の未変化体の $t_{1/2}$ (6.3 時間) は静脈内投与の場合と同様に [^{14}C]FV(-) 投与時 (7.1 時間) に比べ短かったものの有意な差は認められず, また, AUC についてはほぼ同等であった. AUC より算出した各異性体の吸収率は [^{14}C]FV(+) 投与で 60.2%, [^{14}C]FV(-) 投与で 60.9% とほぼ同等であった. BA は [^{14}C]FV(+) 投与で 66.6%, [^{14}C]FV(-) 投与では 51.6% であった. なお, 静脈内投与と同様に経口投与においても [^{14}C]FV(+) 投与時のみ M-7 が検出された.

2. 臓器・組織内放射能濃度

[^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) をラットに

Fig. 4 Blood concentrations of radioactivity, unchanged FV and M-7 after intravenous administration of $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ or $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ (2.5 mg/kg) to fasting male rats. Each symbol represents the mean $\pm$ S.D. of four animals.
 ●: Radioactivity, ○: FV(+) or FV(-), △: M-7.

2.5 mg/kg で静脈内投与後0.5および24時間の臓器・組織内放射能濃度および K_p 値を Table III に示す。

いずれの異性体投与においても、0.5時間の分布では最も高い放射能が肝臓に認められた (45.3~55.8 $\mu\text{g eq./g}$)。異性体間で比較すると、 $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ 投与0.5時間後では肝臓以外の臓器・組織内濃度は $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ 投与時に比べて高く、大動脈、筋肉以外の臓器・組織において有意

差が認められた。24時間後では肝臓、腎臓での濃度は $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ 投与時の方が有意に高く、心臓での濃度は逆に $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ 投与時の方が有意に高かった。

$[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ 投与後0.5時間の肝臓および筋肉の K_p 値は $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ 投与時に比べ有意に高く、24時間においては肝臓、腎臓および心臓の K_p 値に異性体間で有意差が認められた。特に肝臓については、 $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ を投与した方が投

Fig. 5 Blood concentrations of radioactivity, unchanged FV and M-7 after oral administration of [¹⁴C]FV(+) or [¹⁴C]FV(-) (2.5 mg/kg) to fasting male rats

Each symbol represents the mean $\pm$ S.D. of four animals.

● : Radioactivity, ○ : FV(+) or FV(-), △ : M-7.

与後0.5時間で [¹⁴C]FV(+) 投与時の2.6倍、24時間では12.7倍を示した。

3. 蛋白結合

限外濾過法により測定した各光学異性体のラット血清への非結合率を **Table IV** に示す。FV(+) の血清蛋白への非結合率は、濃度 (0.25~10 μg/ml) に依存せず2.1~2.8%を示した。FV(-) の非結合率も濃度に依存せず1.9~

2.6%を示し、FV(+) と比べ差は認められなかった。FV(-) 共存下でFV(+) の非結合率は若干上昇するものの有意な変動は認められず、さらにFV(-) の濃度を変化させても非結合率は変化しなかった。

4. 胆汁中排泄

ラットに [¹⁴C]FV(+) または [¹⁴C]FV(-) をそれぞれ 2.5 mg/kg で静脈内投与した後の放射

Table II Pharmacokinetic parameters of radioactivity, unchanged FV and M-7 in the blood after intravenous or oral administration of [^{14}C]FV(+) or [^{14}C]FV(-) (2.5 mg/kg) to fasting male rats

1) Intravenous

Drug	Substance	$t_{1/2}$ (hr)	$\text{AUC}_{0-\infty}$ ($\mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$)	CL_{tot} (l/hr/kg)	Vd_{ss} (l/kg)
[^{14}C]FV(+)	Radioactivity	5.5 ± 0.4	9.484 ± 1.375	0.27 ± 0.04	1.78 ± 0.30
	FV(+)	4.4 ± 1.1	3.725 ± 0.928	0.71 ± 0.19	2.99 ± 1.24
	M-7	4.0 ± 0.9	2.935 ± 0.828	0.91 ± 0.28	5.71 ± 1.93
[^{14}C]FV(-)	Radioactivity	7.5 ± 0.9	5.809 ± 0.820	0.44 ± 0.06	4.01 ± 1.04
	FV(-)	6.6 ± 1.0	4.693 ± 1.845	0.61 ± 0.27	4.46 ± 1.69

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of four animals.

* : Significantly different (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

2) Oral

Drug	Substance	C_{max} ($\mu\text{g eq.}/\text{ml}$)	t_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$\text{AUC}_{0-\infty}$ ($\mu\text{g eq.} \cdot \text{hr/ml}$)	F or BA (%)
[^{14}C]FV(+)	Radioactivity	0.595 ± 0.069	1.5 ± 0.6	6.6 ± 0.9	5.711 ± 0.713	60.2
	FV(+)	0.250 ± 0.033	1.4 ± 0.8	6.3 ± 3.2	2.482 ± 1.113	66.6
	M-7	0.242 ± 0.089	2.8 ± 1.5	3.6 ± 1.4	1.851 ± 0.807	—
[^{14}C]FV(-)	Radioactivity	0.263 ± 0.073	1.0 ± 0.7	9.5 ± 0.6	3.538 ± 0.636	60.9
	FV(-)	0.239 ± 0.078	1.5 ± 1.7	7.1 ± 0.3	2.424 ± 0.291	51.6

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of four animals.

F : Absorption rate, BA : Bioavailability, * : Significantly different (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Fig. 6 Cumulative excretion of radioactivity (●, ▲) and unchanged FV (○, △) in the bile after intravenous administration of [^{14}C]FV(+) or [^{14}C]FV(-) (2.5 mg/kg) to fasting male rats

Each symbol represents the mean $\pm$ S.D. of four animals.

●, ○ : [^{14}C]FV(+) i.v., ▲, △ : [^{14}C]FV(-) i.v.

** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Table III Tissue Distribution of radioactivity after intravenous administration of [^{14}C]FV(+) or [^{14}C]FV(-) (2.5 mg/kg) to fasting male rats

1) Concentration

Tissue	Radioactive concentration ($\mu\text{g eq./g}$ or mL)			
	0.5 hr		24 hr	
	[^{14}C]FV(+) i.v.	[^{14}C]FV(-) i.v.	[^{14}C]FV(+) i.v.	[^{14}C]FV(-) i.v.
Blood	$1.824 \pm 0.126^{**}$	0.884 ± 0.152	$0.050 \pm 0.009^{1)}$	$0.051 \pm 0.007^{1)}$
Plasma	$3.061 \pm 0.224^{***}$	1.371 ± 0.206	$0.078 \pm 0.031^{1)}$	$0.065 \pm 0.014^{1)}$
Liver	$45.296 \pm 0.824^{**}$	55.848 ± 2.157	$0.418 \pm 0.092^{*}$	5.996 ± 1.316
Kidney	$4.689 \pm 0.700^{**}$	2.263 ± 0.031	$0.128 \pm 0.003^{*}$	0.239 ± 0.044
Heart	$1.758 \pm 0.508^{*}$	0.551 ± 0.088	$0.100 \pm 0.011^{**}$	0.040 ± 0.011
Lung	$1.085 \pm 0.221^{*}$	0.570 ± 0.064	0.026 ± 0.003	0.026 ± 0.002
Brain	$0.124 \pm 0.048^{*}$	0.030 ± 0.007	0.005 ± 0.000	0.005 ± 0.002
Aorta	0.843 ± 0.344	0.512 ± 0.185	0.025 ± 0.013	0.020 ± 0.008
Muscle	0.409 ± 0.054	0.304 ± 0.038	0.019 ± 0.010	0.012 ± 0.005
Skin	$0.613 \pm 0.086^{*}$	$0.358 \pm 0.006^{2)}$	0.033 ± 0.010	0.020 ± 0.009

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of three animals. 1) $n=4$, 2) $n=2$.

: Significantly different from [^{14}C]FV(-) administration data (: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$).

2) Kp value

Tissue	Kp value			
	0.5 hr		24 hr	
	[^{14}C]FV(+) i.v.	[^{14}C]FV(-) i.v.	[^{14}C]FV(+) i.v.	[^{14}C]FV(-) i.v.
Blood	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
Plasma	1.678 ± 0.009	1.555 ± 0.054	$1.355 \pm 0.061^{1)\dagger\dagger}$	$1.337 \pm 0.120^{1)\dagger}$
Liver	$24.905 \pm 1.569^{*}$	64.703 ± 13.463	$9.260 \pm 3.501^{***\dagger\dagger}$	$117.541 \pm 7.385^{\dagger\dagger}$
Kidney	2.562 ± 0.228	2.608 ± 0.417	$2.792 \pm 0.491^{**}$	$4.699 \pm 0.248^{\dagger\dagger}$
Heart	0.976 ± 0.329	0.631 ± 0.107	$2.206 \pm 0.633^{*\dagger}$	0.812 ± 0.253
Lung	0.592 ± 0.091	0.651 ± 0.074	0.565 ± 0.110	$0.511 \pm 0.040^{\dagger}$
Brain	0.069 ± 0.030	0.034 ± 0.005	0.099 ± 0.022	0.106 ± 0.049
Aorta	0.473 ± 0.230	0.575 ± 0.150	0.515 ± 0.206	0.380 ± 0.120
Muscle	$0.226 \pm 0.044^{*}$	0.349 ± 0.062	0.387 ± 0.169	0.229 ± 0.082
Skin	0.337 ± 0.047	$0.446 \pm 0.051^{2)}$	0.748 ± 0.366	0.381 ± 0.112

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of three animals. 1) $n=4$, 2) $n=2$.

, $\dagger$: Significantly different from [^{14}C]FV(-) administration data () or 0.5 hr data ($\dagger$) (*, $\dagger$: $p<0.05$, **, $\dagger\dagger$: $p<0.01$, ***: $p<0.001$).

能および未変化体の胆汁中への累積排泄率を Fig. 6 に示す。

[^{14}C]FV(+) を投与後の胆汁中への放射能の排泄は [^{14}C]FV(-) を投与した場合に比べて速やかであり、いずれの時点の累積排泄率も有意に高かった。投与後24時間までの胆汁中には投与放射能量のほぼ100%が排泄され、尿および糞中

への排泄率はいずれも2%以下であった。一方、[^{14}C]FV(-) 投与後24時間までの放射能の胆汁中排泄率は73.3%であり、その後も排泄は続き、120時間までの排泄率は81.6%であった。なお、尿および糞中への放射能の排泄率は投与120時間後でそれぞれ5.3%および3.9%であった (data not shown)。なお、投与後24時間までの未変化

Table IV Unbound fraction of [^{14}C]FV(+) or [^{14}C]FV(-) to rat serum protein (*in vitro*)

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)		Fraction unbound (%)
[^{14}C]FV(+)	[^{14}C]FV(-)	
10	—	2.14 $\pm$ 0.16
5	—	2.15 $\pm$ 0.07
1	—	2.37 $\pm$ 0.09
0.5	—	2.78 $\pm$ 0.07
0.25	—	2.78 $\pm$ 0.17
—	10	1.93 $\pm$ 0.08
—	5	2.20 $\pm$ 0.05
—	1	2.47 $\pm$ 0.30
—	0.5	2.59 $\pm$ 0.20
—	0.25	2.61 $\pm$ 0.26 ¹⁾
1	10*	2.71 $\pm$ 0.09
1	5*	2.66 $\pm$ 0.08
1	1*	2.55 $\pm$ 0.09
1	0.5*	2.76 $\pm$ 0.05
1	0.25*	2.85 $\pm$ 0.10

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of four experiments.

1) n=3, *: Non-labeled FV(-)

体の排泄率は [^{14}C]FV(+) 投与で投与量の 13.1%, [^{14}C]FV(-) 投与で 18.1% であり, いずれの採取時点においても有意差は認められなかった。

5. 代謝

[^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) の 2.5 mg/kg をラットに静脈内投与 0.5 時間後の血漿および 24 時間まで採取した胆汁の HPLC クロマトグラムを **Fig. 7, 8** に, また, 胆汁中総放射能に対する各代謝物の割合を **Table V** に示す。

1) **血漿中代謝物**: 血漿からの t-BME への放射能の抽出率は, いずれも 85% 以上と良好であった。 [^{14}C]FV(+) を 2.5 mg/kg で静脈内投与後 0.5 時間の血漿中には未変化体および代謝物 M-7 が認められ, それぞれ総放射能の 68.0%, 11.9% を占めた。 それ以外の代謝物はいずれも 1% 以下であった。 [^{14}C]FV(-) を投与した場合には溶媒抽出された放射能のほとんど (79.8%)

が未変化体であった。

2) **胆汁中代謝物**: 胆汁中には未変化体及び既知代謝物として 8 種 (M-2~9), 他に未知代謝物として 4 種 (UK 1~4) が確認された。 なお, 今回の HPLC 条件では M-4 と M-9 は分離されることなく溶出されたため, 結果は M-4 および M-9 を合したものと示した。

[^{14}C]FV(+) を 2.5 mg/kg で静脈内投与後 24 時間まで採取した胆汁中には M-7 が最も多く認められ, 総放射能の 19.6% を占めた。 次いで未変化体, M-5, M-3, M-2 および M-4/M-9 の順でそれぞれ 13.1%, 9.5%, 7.8%, 5.1%, 4.0% 認められ, 他の既知代謝物は検出されなかった。 さらに数種の未知代謝物が検出されたが, HPLC クロマトグラムで 84~96 分の溶出位置に認められた未知代謝物 (UK 4) は総放射能の 17.7% と高い割合を占めた。 一方, [^{14}C]FV(-) の 2.5 mg/kg 投与時の胆汁中には未変化体が最も多く, 次いで M-3 が認められ, 総放射能のそれぞれ 30.9%, 10.8% を占めた。 M-2, M-4/M-9 および M-5 は 3~4% 認められ, 他の既知代謝物は検出されないか, または微量であった。 数種の未知代謝物も認められたが, [^{14}C]FV(+) 投与時ではほとんど検出されなかった UK 1 (溶出位置 13~15 分), UK 2 (溶出位置 28~30 分) および UK 3 (溶出位置 31~35 分) がそれぞれ 11.2%, 8.7%, 13.9% を占めた。 なお, UK 4 は [^{14}C]FV(+) 投与時のみ認められた。

[^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) を投与した後の採取時間毎の未変化体, M-7, UK 4 およびその他の代謝物の排泄率を **Fig. 9** に示す。 [^{14}C]FV(+) 投与後 4 時間までの 1 時間毎の放射能 (未変化体 + M-7 + UK 4 + その他の代謝物) の排泄率は [^{14}C]FV(-) 投与時と比較して有意に高かったが, 一方, 8~24 時間までの排泄率は逆に [^{14}C]FV(-) 投与時の方が有意に高かった。 未変化体の時間毎の排泄率に異性体間で大きな差は認められなかった。 [^{14}C]FV(+) 投与時のみ認められた M-7 および UK 4 の排泄は速やかであり, 投与後 4 時間までに 24 時間までの総排

Fig. 7 HPLC chromatograms of radioactivity in the plasma at 0.5 hr after intravenous administration of [^{14}C]FV(+) or [^{14}C]FV(-) (2.5 mg/kg) to fasting male rats

Table V Composition of metabolites in the bile (0~24 hr) after intravenous administration of

Drug	Percent of radioactivity (%)					
	Unchanged	M-2	M-3	M-4/M-9	M-5	M-6
[^{14}C]FV(+) ¹⁾	13.09 $\pm$ 1.59	5.13 $\pm$ 1.02	7.78 $\pm$ 2.27	4.03 $\pm$ 0.29	9.50 $\pm$ 1.42	n.d.
[^{14}C]FV(-) ¹⁾	30.93 $\pm$ 0.47	3.34 $\pm$ 0.82	10.80 $\pm$ 2.06	3.84 $\pm$ 4.11	3.94 $\pm$ 1.52	n.d.
[^{14}C]FV ²⁾	21.94 $\pm$ 3.34	4.11 $\pm$ 0.87	9.79 $\pm$ 0.93	3.67 $\pm$ 0.50	6.79 $\pm$ 1.39	0.95 $\pm$ 0.21

Each data represents the mean $\pm$ S.D. of three animals.

1) Measured by radioisotope detector, 2) Measured by fraction-collect method.

n.d.: Not detected.

Fig. 8 HPLC chromatograms of radioactivity in the bile (0~24 hr) after intravenous administration of $[^{14}\text{C}]$ FV(+) or $[^{14}\text{C}]$ FV(-) (2.5 mg/kg) to fasting male rats

$[^{14}\text{C}]$ FV(+), $[^{14}\text{C}]$ FV(-) (2.5 mg/kg) or $[^{14}\text{C}]$ FV (5 mg/kg) to fasting male rats

Percent of radioactivity (%)						
M-7	M-8	UK1	UK2	UK3	UK4	Others
19.59±5.31	n.d.	n.d.	0.80±0.71	1.26±1.10	17.72±2.78	21.11±2.44
n.d.	n.d.	11.23±1.34	8.72±1.77	13.93±3.70	n.d.	13.28±3.13
6.84±2.91	0.87±0.42	4.74±1.34	0.95±1.77	6.95±3.70	14.07±3.32	18.33±1.41

Fig. 9 Excretion of metabolites of FV in the bile after intravenous administration of [¹⁴C]FV(+) or [¹⁴C]FV(-) (2.5 mg/kg) to fasting male rats

Each column represents the mean of three animals.

* : Significantly different from the data of [¹⁴C]FV(+) administration (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

泄量の72~82%が排泄された。

[¹⁴C]FVの5 mg/kgをラットに静脈内投与後24時間まで採取した胆汁のHPLCクロマトグラムを**Fig. 10**に示す。 [¹⁴C]FVを投与後の胆汁中には未変化体が総放射能の21.9%, UK 4が14.1%, M-3が9.8%を占めた。次いでUK 3, M-5およびM-7がいずれも約7%認められ, M-2, M-4/M-9およびUK 1が4~5%, 他の代謝物は1%以下であった。

考 察

Fluvastatin (FV) はヘプテン酸側鎖に2個の不斉炭素原子を有し, 2種の光学異性体(erythro体)を1:1で含有する。そこで [¹⁴C]FVおよびその光学異性体である [¹⁴C]FV(+)ならびに [¹⁴C]FV(-)をそれぞれラットに単回投与し, 立体選択的体内動態の有無について詳細な検討を行った。

Fig. 10 HPLC chromatogram of radioactivity in the bile (0~24 hr) after intravenous administration of [^{14}C]FV (5 mg/kg) to fasting male rats

[^{14}C]FV を 5 mg/kg で静脈内投与した時の FV(+) の CL_{tot} は FV(-) に比べ約 2 倍, $t_{1/2}$ および Vd_{ss} については FV(-) の方が FV(+) のそれぞれ 6.5 倍, 2.5 倍を示し, 統計学的に有意差が認められた. また, 経口投与時の薬物動態パラメータに異性体間で有意な差は認められないものの, FV(-) の $t_{1/2}$ および AUC は FV(+) に比べ 2~5 倍であった. したがって, ラセミ体 (FV) を投与した場合, FV(+) は FV(-) に比べて血中からの消失が速やかであることが明らかとなった.

[^{14}C] 標識した 2 種の光学異性体を 2.5 mg/kg でそれぞれ単独で静脈内投与した後の未変化体 [FV(+) または FV(-)] の $t_{1/2}$ は異性体間で差が認められ, [^{14}C]FV(-) 投与の方が 1.5 倍長かった. 他の薬物動態パラメータには異性体間で差は認められなかった. [^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) を経口投与した場合には未変化体の $t_{1/2}$ に静脈内投与時と同様な傾向はあるものの有意差は認められず, 他のパラメータは異性体間でほぼ同等であった. 以上のように, ラセミ体投与時での光学異性体の血中濃度推移の差が, 異性体を単独で投与した場合より顕著に認められた. 光学異

性体の血中濃度推移の差は, 各光学異性体間の相互変換⁶⁾や血漿蛋白結合率の差⁷⁾によって生ずることが知られている. そこで各光学異性体投与後の相互変換 (data not shown) 及び蛋白結合率 (Table IV) を検討したが, いずれもその影響は認められなかった. したがって, 本試験におけるラセミ体投与後と各光学異性体投与後の未変化体の血中動態の差が何に起因するか, 現在のところ不明である.

[^{14}C] 標識した光学異性体を静脈内または経口投与した後の全血中放射能の各薬物動態パラメータに異性体投与間で差が認められたが, これは未変化体の動態の差とともに [^{14}C]FV(+) 投与時にのみ血中に認められた M-7 (ペンテン酸体) にも起因すると推察される.

[^{14}C]FV を経口投与した後の C_{max} および t_{max} に異性体間で有意差は認められず, また, [^{14}C] 標識した光学異性体を単独で経口投与した場合の未変化体の C_{max} , t_{max} にも異性体間で差は認められなかった. 各光学異性体を単独で経口投与した場合, AUC (平均値) より求めた吸収率は [^{14}C]FV(+) 投与で 60%, [^{14}C]FV(-) 投与で 61% とほぼ同等であった. BA は [^{14}C]FV(+) 投与で

67%, [^{14}C]FV(-) 投与で52%であったが, 経口および静脈内投与時の未変化体の AUC に異性体間で有意差が認められなかったことから, 異性体間で BA に差はないものと考えられた. 以上の結果より, 吸収性に関しては異性体間で大きな差はないものと考えられた. なお, AUC (平均値) より算出したラセミ体投与時 (5 mg/kg) の吸収率は84%と, 異性体を単独投与 (2.5 mg/kg) した場合 (60~61%) に比べ高値を示した. これはラセミ体として投与することにより消化管からの吸収性が向上した可能性や本薬が高用量で初回通過効果の飽和を起こすこと^{3,8)}等の要因が考えられたが, 明らかではなかった. また, ラセミ体投与時の異性体間の BA 差 [FV(+): 65%, FV(-): 75%] については異性体共存下での相互作用等が考えられたが, 用いた定量法の感度等の問題もあり明確ではなかった.

ラットに [^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) をそれぞれ 2.5 mg/kg で静脈内投与後0.5時間の組織内放射能濃度は, いずれの異性体投与においても最も高い放射能が肝臓に認められ (45~56 $\mu\text{g eq./g}$), 標的臓器である肝臓への移行性は各異性体ともに良好であると考えられた. 異性体間で比較すると, 投与0.5時間後では大動脈, 筋肉以外の臓器・組織内放射能濃度に, また, 24時間では肝臓, 腎臓および心臓の放射能濃度に異性体間で有意差が認められたことから, 各異性体投与後の組織分布には差があることが明らかになった. 特に肝臓の Kp 値は他の臓器・組織に比べて顕著に大きいことから, 肝臓における異性体間の分布の差もそれらの体内動態に大きく影響している可能性が考えられた.

[^{14}C]FV(+) および [^{14}C]FV(-) のラット血清蛋白への結合について検討した結果, FV(+) の非結合率は2.1~2.8%であり, FV(-) の非結合率 (1.9~2.6%) と比較して差は認められなかった. また, FV(-) 共存下で FV(+) の血清蛋白への結合に変化は認められなかった. したがって光学異性体のラット血清蛋白への結合に立体選択性はなく, 異性体共存下でもその結合は変化し

ないことが明らかとなった.

[^{14}C]FV(+) をラットに静脈内投与した後の胆汁中への放射能の排泄は [^{14}C]FV(-) を投与した場合に比べて速やかであり, いずれの時点の累積排泄率も有意に高かった. 一方, 投与後24時間までの未変化体の累積排泄率は異性体投与間で差は認められず[FV(+): 13%, FV(-): 18%], また, いずれの採取時点においても累積排泄率に有意差は認められなかった. したがって, 未変化体の胆汁中への排泄については異性体間で差は認められないものの, 放射能の排泄については [^{14}C]FV(+) 投与時の方が速やかであることが明らかとなった.

[^{14}C]FV(+) を 2.5 mg/kg で静脈内投与後0.5時間の血漿では未変化体および M-7 が t-BME に抽出された放射能のほとんどを占め, それぞれ放射能の68.0%, 11.9%であった. [^{14}C]FV(-) を投与した場合には, 放射能のほとんどが未変化体であり (79.8%), M-7 は検出されなかった. したがって FV をラットに投与した時の循環血中での主代謝物である M-7⁵⁾は, FV(+) より代謝, 生成したものと考えられた.

FV 投与後の主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄である³⁾. そこで [^{14}C]FV(+) または [^{14}C]FV(-) を静脈内投与後に採取した胆汁中の代謝物組成について比較した. その結果, FV(+) 投与時に認められた代謝物 M-7 (放射能の19.6%) および UK 4 (17.7%) は FV(-) 投与した場合には検出されず, また, FV(-) 投与時にみられた UK 1 (11.2%) については FV(+) 投与では認められなかった. よってラセミ体投与後に認められる代謝物のいくつかは, 一方の光学異性体由来するものと考えられ, FV のラットにおける代謝に立体選択性の存在が示唆された. なお, FV(+) 投与時の血漿中には UK 4 は検出されなかったが, これは UK 4 が肝臓で生成後, 全身循環へ移行することなく直ちに胆汁中に排泄されたためと考えられた.

FV(+) 由来であり, また, FV(+) 投与時の主代謝物である M-7 および UK 4 の胆汁中への

排泄は速やかであり、投与後4時間までに大部分(24時間までの排泄量の72~82%)が排泄された。したがって $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ 投与後の放射能の胆汁中排泄が $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ 投与時に比べて速やかであったのは、これら代謝物の排泄速度の差によるものと考えられた。

$[^{14}\text{C}]\text{FV}$ の5 mg/kgを静脈内投与した後の胆汁中には、FV(+)を投与した後に認められるM-7およびUK 4の放射能に対する割合がFV(-)投与で多く認められるUK 1, UK 2およびUK 3に比べて高く、ラセミ体投与ではFV(+)の方がより選択的に代謝されているものと思われた。

脂肪酸の β -酸化に関与する酵素のうち、L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenaseが3-フェニルプロピオン酸のR体を選択的に作用することがLi-Feng Maoら⁹⁾により、また、Acyl-CoA synthetaseによるアシル-CoAの生成にも立体選択性のあること¹⁰⁾が報告されている。M-7はFVのヘプテン酸側鎖が β -酸化を受けた後に生成する代謝物であると考えられるが、側鎖の3位の水酸基の立体配置がR配置であるFV(+)を投与した場合にのみM-7の生成が認められたことから、これら酵素の立体選択的代謝能と関連しているものと考えられた。今後この点について、*in vitro*等で更に詳細な検討が必要であると思われた。なお、UK 4の化学構造推定については現在実施中であるが、HPLCによる単離精製、エステル化後の質量分析およびNMR等の結果より、M-7と同じ分子量(351)でN-イソプロピルインドール骨格、フルオロベンゼンおよび側鎖に二重結合ならびにカルボン酸を有することが明らかとなっている(data not shown)。

以上の結果より、FV(ラセミ体)投与後の異性体間の動態の差については、立体選択的な代謝により生成したFV(+)由来の代謝物M-7およびUK 4が、他の代謝物に比べ胆汁中により速やかに排泄されたためと考えられた。

要 約

ラセミ体である $[^{14}\text{C}]\text{FV}$ をラットに単回投与した後の各光学異性体の血中動態について比較し、さらに $[^{14}\text{C}]$ 標識した2種光学異性体を用いてそれらの体内動態の詳細な検討を行った。

1. $[^{14}\text{C}]\text{FV}$ の5 mg/kgを静脈内投与後のFV(+)の全身クリアランス(CL_{tot})はFV(-)の約2倍を示し、FV(-)の分布容積(Vd_{ss})はFV(+)の2.5倍であった。5 mg/kgのFVを経口投与した時の C_{max} および t_{max} は異性体間で差は認められなかったものの、FV(+)の消失半減期($t_{1/2}$)ならびにAUCはFV(+)の2~5倍を示した。

2. $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ または $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ を単独で静脈内投与(2.5 mg/kg)した場合、放射能の薬物動態パラメータに差が認められた。FV(-)の $t_{1/2}$ はFV(+)に比べて有意に長かった。

3. 経口投与時の吸収性に異性体間で差は認められなかった。

4. 各異性体を静脈内投与後0.5および24時間の放射能の臓器・組織分布に差が認められた。

5. ラット血清蛋白への結合に異性体間で差は認められず、また、相互作用も認められなかった。

6. 未変化体の胆汁中への排泄に立体選択性は認められないものの、 $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ を静脈内投与後の放射能の胆汁中排泄速度は、 $[^{14}\text{C}]\text{FV}(-)$ 投与時に比べて速やかであった。

7. FV投与時の血漿中主代謝物であるM-7(ペンテン酸体)は、 $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ 投与時にのみ認められた。また、胆汁中には数種の未知代謝物(UK 1~UK 4)が認められたが、UK 4についても $[^{14}\text{C}]\text{FV}(+)$ 投与時にのみ認められた。

8. FVおよびその各光学異性体を静脈内投与した後の胆汁中代謝物の比較より、本薬の代謝物組成には異性体間で差が認められ、さらにFV(+)の方がFV(-)よりも選択的に代謝されているものと考えられた。

したがってラセミ体投与後の異性体間の動態の

差については、立体選択的な代謝により生成した代謝物の胆汁中排泄速度の差によるものと考えられた。

文 献

- 1) Kathawala, F.G.: HMG-CoA reductase inhibitors: An exciting development in the treatment of hyperlipoproteinemia. *Med. Res. Rev.*, **11**(2): 121-146 (1991).
- 2) Yuan, J., Tsai, M.Y., Hegland, J. and Hunnighake, D.B.: Effects of fluvastatin (XU62-320), an HMG-CoA reductase inhibitor, on the distribution and composition of low density lipoprotein sub-species in humans. *Atherosclerosis*, **87**: 147-157 (1991).
- 3) 増田直記, 赤坂和泉, 大多和昌克: 高脂血症治療薬 Fluvastatin のラットにおける体内動態 (第1報): 単回経口投与後の吸収, 分布および排泄. 薬物動態., **10**(4): 513-528 (1995).
- 4) 増田直記, 赤坂和泉, 大多和昌克: 高脂血症治療薬 Fluvastatin のラットにおける体内動態 (第2報): 胎児および乳汁移行ならびに反復投与時の体内動態. 薬物動態., **10**(4): 529-546 (1995).
- 5) 増田直記, 谷岡由香, 赤坂和泉, 大多和昌克: 高脂血症治療薬 Fluvastatin の体内動態 (第3報): ラットおよびヒトにおける各試料中の代謝物組成ならびにヒト未知代謝物の構造推定. 薬物動態., (投稿中).
- 6) Foster, R. T. and Jamali, F.: Stereoselective pharmacokinetics of ketoprofen in the rat; Influence of route of administration. *Drug Metab. Dispos.*, **16**(4): 623-626 (1988).
- 7) Tocco, D.J., DeLuna, F.A., Duncan, A.E.W., Hsieh, J.H. and Lin, J.H.: Interspecies difference in stereoselective protein binding and clearance of MK-571. *Drug Metab. Dispos.*, **18**(4): 388-392 (1989).
- 8) Tse, F.L.S., Smith, H.T., Ballard, F.H. and Nicoletti, J.: Disposition of fluvastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, in mouse, rat, dog, and monkey. *Biopharm. Drug Dispos.*, **11**: 519-531 (1990).
- 9) Mao, L.-F., Chu, C. and Schulz, H.: Hepatic β -oxidation of 3-phenylpropionic acid and the stereospecific dehydration of (R)- and (S)-3-hydroxy-3-phenylpropionyl-CoA by different enoyl-CoA hydratases. *Biochemistry*, **33**: 3320-3326 (1994).
- 10) Koibuchi, Y., Yamada, J., Watanabe, T., Kurosawa, T., Tohma, S. and Suga, T.: Study on stereospecificity of enzyme reaction related to peroxisomal bile acid synthesis in rat liver, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**(2): 446-448 (1992).