新規抗癌剤塩酸アムルビシン (SM-5887) の体内動態 (第4報): ラットおよびイヌにおける代謝

仲井 俊司, 赤尾 恭子, 伊藤 正樹, 金丸 博, 中塚 巖

Studies on the Metabolic Fate of Amrubicin Hydrochloride (SM-5887), a Novel Antitumor Agent (IV): Metabolism of SM-5887 in Rats and Dogs

Shunji NAKAI, Kyoko AKAO, Masaki ITO, Hiroshi KANAMARU and

Iwao NAKATSUKA

Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd., Osaka

Summary: The metabolism of amrubicin hydrochloride (SM-5887), a novel antitumor agent, was investigated in rats and dogs after intravenous administration of ^{14}C -labeled SM-5887.

1. Nine metabolites in rat urine, ten metabolites in rat bile, six metabolites in dog urine and eleven metabolites in dog bile were observed after intravenous administration of ^{14}C -SM-5887. Major radioactive components in rat urine were amrubicinol (SM-5887-13-OH) and the unchanged SM-5887, and those in dog urine were M-2 and Met B. Major radioactive components in bile of rats and dogs were polar metabolites, such as M-1 and M-2.

2. In rat tissues, major radioactive components were nonpolar or less polar metabolites, such as Met B and SM-5887-13-OH, and the unchanged SM-5887.

3. The structures of the nonpolar or less polar metabolites (SM-5887-13-OH and Met A~Met D) were determined by comparing them to the authentic samples using HPLC and mass spectrometry. The identified metabolites were an alcoholic derivative (SM-5887-13-OH), deoxyglycosides (Met A and Met B) formed by reductive glycosidic cleavage, an aglycone (Met B) formed by glycosidic cleavage and a deaminated derivative (Met D). Two polar metabolites (M-4 and M-6) were also identified as the conjugates of SM-5887-13-OH with glucuronic acid. The other polar metabolites (M-1~M-3, M-5 and M-7), which were assumed to be conjugates based on their high polarities, could not be identified due to their low stabilities.

Key words: Amrubicin hydrochloride (SM-5887), Antitumor agent, Metabolism, Urine, Bile, Rat, Dog

緒 言

塩酸アムルビシン ((7S, 9S)-9-acetyl-9-amino-7-[(2-deoxy- β -D-erythro-pentopyranosyl)oxy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,11-dihydroxy-5,12-naphthacenedione hydrochloride; SM-5887 と略) は住友製薬株式会社において化学的に全合成されたアンスラサイクリン系の新規抗癌剤であり, 既に上市されている同系抗癌剤の塩酸ドキソルビシンと比較して, 実験動物腫瘍に優れた効果を示す¹⁾とともに, 試験動物において心毒性が軽減される²⁾等, 薬効, 安全性両面で優れた特徴を有する化合物である. また, 本剤は動物体内で代謝されて, 細胞障害

活性が10~100倍強い代謝物アムルビシノール (SM-5887 の側鎖13位の水酸化体; SM-5887-13-OH と略) に変換されるという特性を有している³⁾. 他のアンスラサイクリン系抗癌剤も同様な代謝を受けるものの, それらの13-OH体の活性は親化合物と同等以下であると報告⁴⁾されており, 本剤のこの特性は他のアンスラサイクリン系抗癌剤にはみられないものである. 今回, SM-5887の体内動態を明らかにする目的で, ^{14}C 標識した SM-5887 をラットおよびイヌに静脈内投与し, 尿, 胆汁中代謝物 (ラット, イヌ) および組織中代謝物 (ラット) について検討したので報告する.

実験材料および実験方法

1. 使用化合物

^{14}C 標識 SM-5887 ($[5,12-^{14}\text{C}]$ SM-5887 free form ; ^{14}C -SM-5887 と略, Lot No. C-92-067 または RIS94018) は, 住友化学工業(株)生物環境科学研究所で合成されたものを使用した (Fig. 1). この標識化合物の比放射能は $4.2\sim 4.5$ MBq/mg, 放射化学的純度は 95% 以上であり, 非標識体で適宜希釈して試験に用いた. 純度は吸着剤としてシリカゲル 60F₂₅₄ (ガラスプレート, 厚さ 0.25 mm ; Merck), 展開溶媒としてクロロホルム/メタノール/酢酸/水 (16/4/3/1, v/v/v/v) を用いる薄層クロマトグラフィーで測定した. 非標識 SM-5887 (Lot No. C-143, E-223 または H-241) および代謝物の合成標品 (7S, 9S)-9-amino-7-[(2-deoxy- β -D-erythro-pentopyranosyl)oxy]-9-(1-hydroxyethyl)-7,8,9,10-tetrahydro-6,11-dihydroxy-5,12-naphthacenedione (アムルピシノール ; SM-5887-13-OH と略) は住友製薬(株)または住友化学工業(株)で合成されたものを, (9S)-9-acetyl-9-amino-7,8,9,10-tetrahydro-6,11-dihydroxy-5,12-naphthacenedione (Met A と略), (9S)-9-amino-9-(1-hydroxyethyl)-7,8,9,10-tetrahydro-6,11-dihydroxy-5,12-naphthacenedione (Met B と略), (7S, 9S)-9-amino-9-(1-hydroxyethyl)-7,8,9,10-tetrahydro-6,7,11-trihydroxy-5,12-naphthacenedione (Met C と略) および (7S)-9-acetyl-7-[(2-deoxy- β -D-erythro-pentopyranosyl)oxy]-7,8-dihydro-6,11-dihydroxy-5,12-naphthacenedione (Met D と略) は住友製薬(株)で合成されたものを用いた (Table I および Fig. 8). 投与液の調製には SM-5887 ピークル (2.0 mM L-システイン塩酸塩-14.6 mM ラクトース-154 mM 塩化ナトリウム, Lot No. C-246, C-247 または H-320 ; 住友製薬(株)) を用いた. その他の試薬類は, 市販特級品を

用いた.

2. 実験動物

Sprague-Dawley 系雄性ラット (7~10 週齢 ; 日本チャールス・リバー(株)) および雄性ビーグル犬 (8~9 カ月齢 ; White Eagle Laboratories Inc.) を用いた. 実験動物は, 予備飼育および実験期間を通じ, ラットは温度 $23\pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55\pm 15\%$ の条件下で, イヌは温度 $23\pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60\pm 20\%$ の条件下でそれぞれ飼育した. ラットには固型飼料 (CRF-1 ; オリエンタル酵母工業(株)) を自由摂取させ, イヌには固型試料 (Lab Rations ; ビュリナジャパン) 300 g を 1 日 1 回摂取させた. また, 各動物には濾過水道水を自由摂取させた.

3. 投与液の調製および投与方法

^{14}C -SM-5887 (free form) に等モルの HCl を加えて塩酸塩とし, SM-5887 ピークル中に溶解後, 非標識 SM-5887 (塩酸塩) を加えて比放射能を $0.37\sim 0.89$ MBq/mg とし, ラットでは 10 mg/2 ml/kg を尾静脈内に, イヌでは 1.5 mg/0.75 ml/kg を橈側皮静脈内にそれぞれ投与した. 各動物における投与量は臨床用量, 最大耐量および排泄系への影響 (下痢, 水様便等の毒性症状) の軽微な用量を考慮して設定した.

4. 生体試料の採取

1) ラット

3 匹のラットに ^{14}C -SM-5887 を静脈内投与し, 投与後 24 時間までの尿および胆汁を遮光, 氷冷下採取した. また, 7 匹のラットに ^{14}C -SM-5887 を静脈内投与し, 投与後 4 時間にエーテル麻酔下で後大静脈より採血致死させ, 肝臓を採取した. 採取した尿および胆汁は代謝物組成の検討に, 肝臓は代謝物の構造検討にそれぞれ用いた. なお, 胆汁の採取は総胆管へポリエチレンチューブ (PE10 ; クレイアダマス) を挿入する胆管カニュレーション手術を施したラットについて実施した.

^{14}C -SM-5887 を 1 時点 3 匹のラットに静脈内投与し, 投与後 1, 4 および 24 時間にエーテル麻酔下に開腹し, ヘパリナイズした注射筒を用いて後大静脈より採血致死させ, 組織を摘出した. 摘出組織は, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 膵臓, 副腎, 顎下腺, ハーダー氏腺, 胸腺, 骨髄, 胃, 小腸, 皮膚, 膀胱とした. 血液は 4°C , $1500\times\text{g}$ で 10 分間遠心分離して血漿を得た.

2) イヌ

3 匹のイヌに ^{14}C -SM-5887 を静脈内投与し, 投与後 24 時間までに自然排泄された尿を採取した. また, 1 時点 1 匹のイヌに ^{14}C -SM-5887 を静脈内投与し, 投与後 1, 4 および 24 時間にペントバルビタール (1 mg/kg, ネンブタール注射液TM ; 大日本製薬) 麻酔下, 頸動脈よ

Fig. 1 Chemical structure of ^{14}C -SM-5887 (free form)
* : ^{14}C labeled position

Table I MS and ^1H -NMR data of authentic standards

SM-5887-13-OH	LC-MS(ESI)	486[M+H] ⁺
	^1H -NMR (DMSO-d ₆ , ppm)	1.15(3H, d, J=6 Hz, CH ₃) 1.45–1.57(1H, m, H-2') 1.74–1.90(1H, m, H-2') 2.20–2.25(1H, m, H-8) 2.42–2.48(1H, m, H-8) 2.66–2.97(2H, m, H-10) 3.00–3.50(4H, brs, OH of phenol and sugar) 3.54–3.60(3H, m, H-4', 5', CH-CH ₃) 3.65–3.95(2H, m, H-3', 5') 4.52(1H, brs, CH-OH) 4.96(1H, s, H-7) 5.27(1H, s, H-1') 7.95–7.99(2H, m, H-2, 3) 8.24–8.34(2H, m, H-1, 4) 9.41(2H, brs, NH ₂)
Met A	LC-MS(ESI)	352[M+H] ⁺
	^1H -NMR (DMSO-d ₆ , ppm)	1.28–1.35(1H, m, H-8) 1.42–1.53(1H, m, H-8) 1.58(3H, s, CH ₃) 1.66–1.67(1H, m, H-7) 1.99–2.02(1H, m, H-7) 2.47(2H, s, H-10) 7.14–7.19(2H, m, H-2, 3) 7.42–7.46(2H, m, H-1, 4) 9.68(4H, brs, NH ₂ , OH)
Met B	LC-MS(ESI)	354[M+H] ⁺
	^1H -NMR (DMSO-d ₆ , ppm)	1.13(3H, dd, J=6 Hz, J=2 Hz, CH ₃) 1.41–1.52(1H, m, H-8) 1.53–1.65(1H, m, H-7) 1.75–1.85(1H, m, H-8) 2.55–2.68(1H, m, H-7) 2.74(2H, s, H-10) 3.33(2H, s, OH of phenol) 3.40–3.51(1H, m, CH-CH ₃) 4.68(1H, brs, CH-OH) 7.66(2H, brs, NH ₂) 7.93–7.97(2H, m, H-2, 3) 8.21–8.24(2H, m, H-1, 4)
Met C	LC-MS(ESI)	370[M+H] ⁺
	^1H -NMR (DMSO-d ₆ , ppm)	1.19(3H, d, J=6 Hz, CH ₃) 1.85–2.40(2H, m, H-8) 2.82–3.20(2H, m, H-10) 3.60–3.90(1H, m, CH-CH ₃) 5.10–5.30(1H, m, H-7) 8.00–8.10(2H, m, H-2, 3) 8.32–8.45(2H, m, H-1, 4)
Met D	LC-MS(APCI)	465[M-H] ⁻
	FD-MS ^1H -NMR (DMSO-d ₆ , ppm)	466[M] ⁺ 1.29–1.37(1H, m, H-2') 1.68–1.78(1H, m, H-2') 2.36–2.45(2H, m, H-8) 3.52–3.64(4H, m, H-3', 4', 5') 4.49(2H, brs, OH of sugar) 5.09–5.12(1H, m, H-7) 5.22–5.24(1H, m, H-1') 7.83(1H, s, H-10) 7.94–8.01(2H, m, H-2, 3) 8.21–8.39(2H, m, H-1, 4) 13.2(1H, s, H-6 or H-11) 13.3(1H, s, H-6 or H-11)

り放血致死させ、胆嚢内の胆汁を採取した。この尿および胆汁を代謝物の分析試料とし、胆汁については高極性代謝物の構造検討にも用いた。

5. 代謝物組成

1) 尿、胆汁中代謝物組成

ラット尿、胆汁およびイヌ尿については、投与後24時間まで採取した3匹分の試料をプールして分析し、イヌ胆汁については各時点1匹分を分析した。なお、イヌ尿は凍結乾燥により濃縮した後、その他の試料については濃縮せずに TLC プレート (Silica gel 60F₂₅₄, ガラスプレート; Merck) に線状塗布した。この TLC プレートをクロロホルム/メタノール/酢酸/水 (40/10/7/3, v/v/v/v) で約 15 cm 展開し、各代謝物領域の放射

能をバイオ・イメージングアナライザー (BAS2000; 富士写真フィルム) により計測し、試料中の各代謝物の割合を求めた。

2) 組織中代謝物組成

組織は一部 (肝臓、皮膚、約 1 g) あるいは全量を秤量後、トリス緩衝液 (25 mM トリス-塩酸, 1 mM エチレンジアミン四酢酸ナトリウム, 4 mM ジチオスレイトール, pH 7.6) 6 倍容を加えて、テフロンガラスホモジナイザー (デジタルホモジナイザー; 井内盛栄堂) あるいは混合破砕機 (ポリトロン™; Kinematica) を用いてホモジナイズ処理した。血漿および骨髄は一部を秤量後、適当量のトリス緩衝液を加えて攪拌均質化した。このホモジネート 1 ml に塩化ナトリウムを飽和させ、クロロホルム/メタノール (4/1, v/v) 7 ml または 7.5 ml

を加えて振盪機 (SR-II ; 大洋科学工業) で60回/分, 10分間振盪した. これを4°C, 1000×g で10分間遠心し, 有機層を採取した. 素気流で有機層を濃縮乾固し, 残渣をメタノールに溶解した. この濃縮試料を TLC プレートにスポットし, クロロホルム/メタノール/酢酸 (6/1/1, v/v/v) を用いて展開した. 展開後の TLC プレート上の放射能をバイオ・イメージングアナライザーにより計測し, 抽出後の試料中の各代謝物の割合を求め, これに組織中放射能濃度および放射能抽出率を乗じ, 各代謝物濃度を算出した.

3) 放射能濃度の測定

組織ホモジネートについては約 0.1 ml を秤量し, 組織溶解剤 (NCSTTM-II ; Amersham) を加えて溶解後, シンチレーター (トルエンシンチレーターTM ; Packard) を加えて液体シンチレーションカウンター (Tri-CarbTM 4640 ; Packard) にて放射能を測定した. また, 組織ホモジネートより抽出された有機層の放射能は, 有機層 200 μ l にシンチレーターを加えて液体シンチレーションカウンターにより測定した. この有機層中と組織ホモジネート中の放射能の比率を抽出率とした.

6. 代謝物の構造確認

1) 肝臓中代謝物 (SM-5887-13-OH, Met A~Met D)

低極性代謝物 (SM-5887-13-OH, Met A~Met D) を検討するため, ラット肝臓 (13~19 g) を上記の項 5.2) と同様の方法でホモジナイズ処理し, クロロホルム/メタノール (4/1, v/v) を用いて抽出した. 得られた有機層を減圧下濃縮した後, ヘキサンに溶解し, コスモシル140-C₁₈ (ナカライテスク) を充填したカラム (1.5 cm i.d.×10 cm) に添加した. ヘキサン 100 ml, 続いてクロロホルム 50 ml で疎水性の粘性成分を先に溶出して除去し, ついでメタノール/水/酢酸 (89/10/1, v/v/v) 20 ml で代謝物を溶出した. この代謝物画分を減圧下濃縮後, 残渣を少量のクロロホルム/メタノール (1/1, v/v) に溶解し, TLC プレートにスポットした. このプレートをクロロホルム/メタノール/酢酸/水 (40/10/7/3, v/v/v/v) で展開して, 各代謝物画分 (SM-5887-13-OH, Met A, Met B, Met C および Met D) を分取した. 得られた各代謝物画分をクロロホルム/メタノール (1/1, v/v) で溶離し, 各溶液を減圧下濃縮後, メタノールに再溶解して LC-MS 分析に供した.

2) 胆汁中代謝物 (M-1~M-7)

高極性代謝物 (M-1~M-7) は酵素反応によりその構造を検討した. すなわち, ラットあるいはイヌ胆汁より上記の項 5.1) の TLC 条件で粗精製した M-4~M-7 の各代謝物画分, あるいは M-1~M-7 を含む精製前の胆汁を, β -グルクロニダーゼ (Type B-1, from bo-

vine liver ; Sigma) 100 unit あるいはサルファターゼ (Type IV, from limpets, Sigma) 7 unit を含む 0.2 M 酢酸緩衝液 (pH 5) 0.5 ml に加え, 37°C で2時間インキュベートした. 反応後の試料を TLC プレートにスポットし, 上記の項 5.1) の場合と同様に生成物を分析した. なお, サルファターゼ溶液中には D-saccharic acid-1,4-lactone を濃度 5 mg/ml となるように加えた.

7. 機器分析

1) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

代謝物 SM-5887-13-OH, Met A~Met D について, 以下のように放射能, 蛍光および質量分析の各検出モードにて HPLC 分析を行った. すなわち, ポンプに L-6200 (日立製作所) を, カラムに Sumipax ODS A-212 (6 mm i.d.×150 mm ; 住化分析センター) を, 検出器として放射能検出器 Radiomatic FLO-ONE- β (Packard), 分光蛍光光度計 F-1050 (励起波長 465 nm, 測定波長 560 nm ; 日立製作所) あるいはタンデム型四重極質量分析装置 TSQ700 (Finnigan MAT) を使用した. 移動相には SM-5887-13-OH および Met A~Met C 分析時には 2% 酢酸/アセトニトリル (7/3, v/v) を, Met D 分析時には 2% 酢酸/アセトニトリル (7/93, v/v) を用い, 流速は 1 ml/min とした.

2) 質量分析 (MS)

代謝物の MS 測定は装置として TSQ700 を使用し, イオン化モードとしてエレクトロスプレー (ESI, SM-5887-13-OH および Met A~Met C 分析時) または大気圧化学イオン化 (APCI, Met D 分析時) モードを用い, それぞれ次の条件により分析した. ESI モードでは測定イオンを正イオンとし, エレクトロスプレー電圧を 4.5 kV, キャピラリー温度を 250°C とした. APCI モードでは測定イオンを負イオンとし, キャピラリー温度を 150°C, ベーボライザー温度を 400°C とした. なお, 各イオン化モードへの試料導入に用いた HPLC 条件は上記 7.1) に示した. また, タンデム質量分析 (MS/MS) 測定はコリジョンガスとしてアルゴンをを用い, コリジョンガス圧を 1 m Torr, コリジョンエネルギーを 40 eV とした. その他, 代謝物標品の FD-MS 測定には M-80B (日立製作所) を使用した.

3) 核磁気共鳴 (NMR)

¹H-NMR は JNM-GSX270J (日本電子) を使用した. 試料は DMSO-d₆ に溶解して測定した.

結 果

1. 尿および胆汁中代謝物

ラットおよびイヌに ¹⁴C-SM-5887 を静脈内投与して得られた尿および胆汁の TLC クロマトグラムを Fig. 2-A, B に, 尿および胆汁中の代謝物組成を Table II に

Fig. 2-A TLC radioluminograms of rat or dog urine collected for 24 hr after a single intravenous administration of ^{14}C -SM-5887 at a dose of 10 mg/kg (rat) or 1.5 mg/kg (dog)
 (A) Rat urine, pooled from 3 animals.
 (B) Dog urine, pooled from 3 animals.

Fig. 2-B TLC radioluminograms of rat or dog bile after a single intravenous administration of ^{14}C -SM-5887 at a dose of 10 mg/kg (rat) or 1.5 mg/kg (dog)
 (A) Rat bile, collected for 24 hr after administration, and pooled from 3 animals.
 (B) Dog bile, collected at 1 hr (B-1), 4 hr (B-2), 24 hr (B-3) after administration from one animal.

示した。

ラットでは尿中に9種類の代謝物が、胆汁中に10種類の代謝物がそれぞれ確認された。ラットの尿中にはSM-5887-13-OHがもっとも多く(56%)、ついでSM-5887が多く(11%)認められ、その他の代謝物は5%以下であった。ラットの胆汁中にはSM-5887-13-OH, M-1, M-2, M-5が多く(11~15%)、ついでSM-5887, M-4, M-7が多く(6~8%)認められ、その他

は5%以下であった。

イヌでは尿中に6種類の代謝物が、胆汁中に11種類の代謝物がそれぞれ確認された。イヌの尿中にはM-2およびMet Bが多く(16~22%)、ついでSM-5887-13-OH, M-1, M-7が多く(8~11%)認められ、その他の代謝物は5%以下であった。イヌの胆汁中には、M-1, M-2, M-7が多く(全時点を通じて9~24%)、ついでSM-5887-13-OH, M-3, M-4, M-6が多く(最高

Table II Composition of metabolites in urine or bile after a single intravenous administration of ^{14}C -SM-5887 at a dose of 10 mg/kg(rat) or 1.5 mg/kg(dog)

	Metabolites in urine (%)		Metabolites in bile (%)			
	Rat ^{a)}		Rat ^{a)}		Dog ^{b)}	
	(0~24 hr)	(0~24 hr)	(0~24 hr)	(1 hr)	(4 hr)	(24 hr)
SM-5887	10.8	4.1	5.7	1.9	3.6	2.1
SM-5887-13-OH	55.6	11.1	14.8	7.0	11.2	5.9
Met A	1.0	2.7	1.8	4.7	3.7	1.1
Met B	2.4	15.5	1.3	1.0	1.8	1.6
Met C	1.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Met D	1.1	N.D.	N.D.	3.2	2.2	N.D.
M-1	1.7	7.7	13.3	15.9	13.4	23.5
M-2	4.3	21.8	10.5	14.8	15.1	20.8
M-3	N.D.	N.D.	4.4	5.2	5.4	8.5
M-4 ^{c)}	N.D.	N.D.	7.3	4.7	8.3	3.7
M-5	3.8	N.D.	14.7	2.6	N.D.	N.D.
M-6 ^{c)}	N.D.	N.D.	4.7	3.1	7.6	3.5
M-7	4.9	11.4	7.5	17.1	9.4	15.2
Others	12.6	25.7	14.0	18.8	18.3	14.1

N.D. : Not detected

a) Values are expressed as percent of radioactivity in the pooled samples of 3 animals.

b) Values are expressed as percent of radioactivity in the bile of one dog at each time point.

c) SM-5887-13-OH glucuronide

時で8~11%)認められ、その他の代謝物は5%以下であった。

2. 組織中代謝物

ラットに ^{14}C -SM-5887を静脈内投与したときの組織中の代謝物濃度をTable IIIに示した。

組織ホモジネートの抽出物について分析した結果、SM-5887を含めて6種類の代謝物が確認された。SM-5887は脾臓、骨髄、肺、顎下腺および胸腺で高濃度にかつ高い比率で存在したが、肝臓、副腎およびハーダー氏腺ではほとんど認められなかった。組織中でもっとも高濃度に検出された代謝物はMet Bであり、ハーダー氏腺、副腎、腎臓、肝臓、肺において特に高かった。ついでSM-5887-13-OHが高濃度に認められ、小腸、脾臓、顎下腺、肺、脾臓、骨髄で高かった。その他の代謝物としてはMet A, Met C, Met Dが認められたが、低濃度であった。また、SM-5887の組織からの消失と比較して代謝物の組織からの消失は緩やかであり、SM-5887-13-OHについてはハーダー氏腺、胸腺で投与後24時間まで濃度が増加した。

ほとんどの組織の放射能の抽出率は高く、低極性の代謝物が多く認められたが、脾臓、胸腺、骨髄では抽出されない放射能の割合が他の組織よりも大きかった。

3. 代謝物の構造検討

^{14}C -SM-5887をラットあるいはイヌに静脈内投与したとき、胆汁中に多く認められた高極性代謝物、ならびにラット肝臓中に多く認められた低極性代謝物についてそれらの構造を検討した。

SM-5887と同等かそれよりも低極性の代謝物SM-5887-13-OHおよびMet A~Dをそれぞれラット肝臓より単離精製し、HPLC導入によりMSおよびMS/MS分析をした結果を以下の1)~5)に示した。

一方、高極性代謝物M-1~M-7に関しては、極めて不安定で精製過程で分解したことや、良好な検出法が見いだせなかったこと等の理由により、機器分析では構造を推定することはできなかった。さらに、胆汁あるいは高極性代謝物(M4~M7)の粗精製物をグルクロニダーゼ処理した場合、M-4およびM-6からSM-5887-13-OHが生成することがTLC上で確認されたが、その他の代謝物では酵素処理による変化は認められなかった。

1) SM-5887-13-OH

本画分の精製物のESIマスペクトルおよびESIタンデムマスペクトルをFig. 3に示した。m/z 486に疑分子イオン([M+H]⁺)が観測され、この[M+H]⁺のプロダクトイオンとして、m/z 117およびm/z 370に糖の脱離に基づくイオン、m/z 352に糖および水の脱離に基づくイオンがベースピークとしてそれぞれ観測された。これらのマスペクトル、ならびにHPLCクロマトグラム上の保持時間が合成標品のものと一致したことから、本画分の代謝物はSM-5887の側鎖カルボニル基が還元されたSM-5887-13-OHと同定した。

2) Met A

本画分の精製物のESIマスペクトルおよびESIタンデムマスペクトルをFig. 4に示した。m/z 352に[M+H]⁺が観測され、この[M+H]⁺のプロダクトイオンとして、m/z 335にアミノ基の脱離に基づくイオン、m/z 293にアミノ基および側鎖カルボニル基の脱離に基づくイオンがベースピークとしてそれぞれ観測された。これらのマスペクトル、ならびにHPLCクロマトグラム上の保持時間が合成標品のものと一致したことより、本画分の代謝物はSM-5887の糖の還元的脱離により生じるデオキシアグリコン体Met Aと同定した。

3) Met B

本画分の精製物のESIマスペクトルおよびESIタンデムマスペクトルをFig. 5に示した。m/z 354に[M+H]⁺が観測され、この[M+H]⁺のプロダクトイオンとして、m/z 319, 337にアミノ基または水の脱離に基づくイオン、m/z 293にアミノ基および側鎖ヒドロキシエチル基の脱離に基づくイオンがそれぞれ観測された。これらのマスペクトル、ならびにHPLCクロ

Table III Concentrations of radioactivity, SM-5887 and its metabolites in tissues after a single intravenous administration of ^{14}C -SM-5887 at a dose of 10 mg/kg to rats

Tissue	Time ^{a)} (hr)	Concentration (μg eq. of SM-5887/g tissue)								
		Total (^{14}C)	SM-5887	SM-5887-13-OH	Met A	Met B	Met C	Met D	Others	Unextracted
Adrenal	1	41.18 $\pm$ 2.58	0.49 $\pm$ 0.07	1.63 $\pm$ 0.18	1.77 $\pm$ 0.24	25.09 $\pm$ 2.27	N.D.	N.D.	8.75 $\pm$ 0.33	3.45 $\pm$ 0.60
	4	39.43 $\pm$ 3.88	0.25 $\pm$ 0.03	2.67 $\pm$ 0.53	1.33 $\pm$ 0.12	22.76 $\pm$ 0.80	N.D.	N.D.	9.30 $\pm$ 1.78	3.11 $\pm$ 1.61
	24	7.63 $\pm$ 0.53	0.08 $\pm$ 0.01	0.72 $\pm$ 0.08	N.D.	2.03 $\pm$ 0.56	N.D.	N.D.	1.70 $\pm$ 0.02	3.10 $\pm$ 0.10
Bladder	1	9.66 $\pm$ 0.84	2.74 $\pm$ 0.08	1.43 $\pm$ 0.30	0.51 $\pm$ 0.13	2.19 $\pm$ 0.27	0.17 $\pm$ 0.04	0.57 $\pm$ 0.06	1.31 $\pm$ 0.25	0.75 $\pm$ 0.75
	4	5.65 $\pm$ 0.64	0.54 $\pm$ 0.07	1.30 $\pm$ 0.18	0.18 $\pm$ 0.01	1.31 $\pm$ 0.09	0.18 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.04	0.74 $\pm$ 0.09	1.11 $\pm$ 0.17
	24	1.90 $\pm$ 0.56	N.D.	0.32 $\pm$ 0.07	N.D.	0.13 $\pm$ 0.02	N.D.	N.D.	0.34 $\pm$ 0.04	1.11 $\pm$ 0.49
Bone marrow	1	41.40 $\pm$ 3.42	24.42 $\pm$ 2.00	3.10 $\pm$ 0.35	1.11 $\pm$ 0.11	2.14 $\pm$ 0.47	0.54 $\pm$ 0.07	0.98 $\pm$ 0.08	3.27 $\pm$ 0.14	5.83 $\pm$ 1.00
	4	35.24 $\pm$ 2.00	11.98 $\pm$ 1.89	4.34 $\pm$ 0.50	0.72 $\pm$ 0.14	3.22 $\pm$ 1.24	1.23 $\pm$ 0.24	0.74 $\pm$ 0.05	2.87 $\pm$ 0.19	10.14 $\pm$ 1.81
	24	5.67 $\pm$ 0.17	0.15 $\pm$ 0.04	2.92 $\pm$ 0.21	N.D.	0.31 $\pm$ 0.06	N.D.	N.D.	0.77 $\pm$ 0.22	1.52 $\pm$ 0.09
Heart	1	10.52 $\pm$ 0.66	2.26 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.02	1.54 $\pm$ 0.22	2.84 $\pm$ 0.58	0.30 $\pm$ 0.05	0.54 $\pm$ 0.04	1.34 $\pm$ 0.11	0.69 $\pm$ 0.19
	4	6.00 $\pm$ 0.58	0.39 $\pm$ 0.04	0.70 $\pm$ 0.05	0.54 $\pm$ 0.08	2.07 $\pm$ 0.42	0.25 $\pm$ 0.01	0.40 $\pm$ 0.01	1.06 $\pm$ 0.07	0.58 $\pm$ 0.14
	24	1.18 $\pm$ 0.11	N.D.	0.35 $\pm$ 0.07	0.03 $\pm$ 0.01	0.28 $\pm$ 0.05	N.D.	N.D.	0.19 $\pm$ 0.07	0.34 $\pm$ 0.04
Harderian gland	1	30.04 $\pm$ 2.10	N.D.	1.04 $\pm$ 0.30	1.97 $\pm$ 0.02	20.66 $\pm$ 1.90	N.D.	N.D.	4.54 $\pm$ 0.36	1.82 $\pm$ 0.47
	4	44.92 $\pm$ 0.13	N.D.	2.62 $\pm$ 0.38	1.53 $\pm$ 0.31	30.24 $\pm$ 1.82	N.D.	N.D.	8.18 $\pm$ 1.42	2.34 $\pm$ 0.42
	24	39.57 $\pm$ 3.90	N.D.	3.22 $\pm$ 0.20	N.D.	26.63 $\pm$ 2.04	0.90 $\pm$ 0.19	N.D.	5.52 $\pm$ 0.62	3.30 $\pm$ 1.37
Kidney	1	29.89 $\pm$ 0.76	1.56 $\pm$ 0.29	1.29 $\pm$ 0.17	1.73 $\pm$ 0.20	17.53 $\pm$ 1.77	0.58 $\pm$ 0.02	0.48 $\pm$ 0.05	2.46 $\pm$ 0.15	4.25 $\pm$ 1.34
	4	19.65 $\pm$ 1.14	0.38 $\pm$ 0.04	1.20 $\pm$ 0.14	0.53 $\pm$ 0.06	10.35 $\pm$ 0.69	0.59 $\pm$ 0.10	0.54 $\pm$ 0.04	3.35 $\pm$ 0.10	2.70 $\pm$ 0.31
	24	8.89 $\pm$ 0.98	0.14 $\pm$ 0.01	0.62 $\pm$ 0.07	N.D.	2.61 $\pm$ 0.42	N.D.	N.D.	2.54 $\pm$ 0.46	2.99 $\pm$ 0.24
Liver	1	27.48 $\pm$ 1.35	0.29 $\pm$ 0.08	0.60 $\pm$ 0.12	4.55 $\pm$ 0.40	13.29 $\pm$ 0.11	1.02 $\pm$ 0.19	0.55 $\pm$ 0.02	3.56 $\pm$ 0.40	3.62 $\pm$ 0.94
	4	21.13 $\pm$ 1.39	0.19 $\pm$ 0.02	1.09 $\pm$ 0.33	1.75 $\pm$ 0.15	8.77 $\pm$ 0.34	0.68 $\pm$ 0.06	0.54 $\pm$ 0.05	2.76 $\pm$ 0.16	5.35 $\pm$ 0.37
	24	8.76 $\pm$ 1.17	0.05 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.10	2.18 $\pm$ 0.31	N.D.	0.09 $\pm$ 0.02	0.87 $\pm$ 0.07	4.99 $\pm$ 0.73
Lung	1	36.52 $\pm$ 1.48	11.04 $\pm$ 0.15	3.16 $\pm$ 0.16	1.67 $\pm$ 0.20	10.78 $\pm$ 1.83	1.52 $\pm$ 0.24	1.11 $\pm$ 0.09	2.73 $\pm$ 0.06	4.52 $\pm$ 0.83
	4	21.93 $\pm$ 2.52	1.73 $\pm$ 0.23	2.84 $\pm$ 0.30	0.71 $\pm$ 0.12	10.59 $\pm$ 2.26	1.68 $\pm$ 0.29	0.80 $\pm$ 0.09	2.25 $\pm$ 0.09	1.34 $\pm$ 0.62
	24	4.06 $\pm$ 0.41	0.08 $\pm$ 0.05	1.54 $\pm$ 0.07	0.04 $\pm$ 0.01	0.69 $\pm$ 0.15	0.17 $\pm$ 0.05	N.D.	0.60 $\pm$ 0.12	0.93 $\pm$ 0.02
Pancreas	1	20.15 $\pm$ 1.02	7.98 $\pm$ 0.84	1.03 $\pm$ 0.23	1.00 $\pm$ 0.32	3.34 $\pm$ 0.83	0.26 $\pm$ 0.03	0.98 $\pm$ 0.02	0.89 $\pm$ 0.14	2.59 $\pm$ 1.33
	4	15.33 $\pm$ 0.86	1.94 $\pm$ 0.08	5.79 $\pm$ 0.18	0.14 $\pm$ 0.07	4.59 $\pm$ 0.81	0.38 $\pm$ 0.10	0.42 $\pm$ 0.09	0.51 $\pm$ 0.07	1.57 $\pm$ 0.28
	24	4.58 $\pm$ 0.18	0.07 $\pm$ 0.02	2.45 $\pm$ 0.23	0.04 $\pm$ 0.01	0.60 $\pm$ 0.08	0.04 $\pm$ 0.04	N.D.	0.29 $\pm$ 0.06	1.09 $\pm$ 0.15
Plasma	1	3.52 $\pm$ 0.38	1.44 $\pm$ 0.29	0.13 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.07	0.13 $\pm$ 0.02	N.D.	0.41 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.04	0.75 $\pm$ 0.05
	4	1.69 $\pm$ 0.14	0.24 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.00	0.20 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.06
	24	1.95 $\pm$ 0.16	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.00	N.D.	0.02 $\pm$ 0.01	N.D.	0.02 $\pm$ 0.00	0.08 $\pm$ 0.02	1.82 $\pm$ 0.13
Skin	1	6.04 $\pm$ 0.12	1.30 $\pm$ 0.24	0.52 $\pm$ 0.06	0.48 $\pm$ 0.07	2.42 $\pm$ 0.41	0.10 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.10	0.74 $\pm$ 0.16
	4	4.40 $\pm$ 0.59	0.36 $\pm$ 0.12	0.73 $\pm$ 0.10	0.17 $\pm$ 0.03	1.71 $\pm$ 0.16	0.15 $\pm$ 0.03	0.17 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.03	0.82 $\pm$ 0.37
	24	1.36 $\pm$ 0.18	N.D.	0.45 $\pm$ 0.08	N.D.	0.33 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.01	N.D.	0.13 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.03
Small intestine	1	28.51 $\pm$ 0.89	9.71 $\pm$ 1.01	5.39 $\pm$ 0.31	3.07 $\pm$ 0.51	2.98 $\pm$ 0.54	0.51 $\pm$ 0.09	0.94 $\pm$ 0.04	2.46 $\pm$ 0.02	3.44 $\pm$ 1.00
	4	18.78 $\pm$ 3.64	3.47 $\pm$ 0.54	4.52 $\pm$ 1.03	0.79 $\pm$ 0.19	3.99 $\pm$ 0.35	0.74 $\pm$ 0.09	0.48 $\pm$ 0.10	1.61 $\pm$ 0.27	3.18 $\pm$ 1.92
	24	3.91 $\pm$ 0.20	0.10 $\pm$ 0.04	2.21 $\pm$ 0.38	0.04 $\pm$ 0.01	0.42 $\pm$ 0.05	0.07 $\pm$ 0.02	N.D.	0.37 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.36
Spleen	1	50.09 $\pm$ 1.89	20.82 $\pm$ 2.31	4.04 $\pm$ 0.41	1.34 $\pm$ 0.19	3.78 $\pm$ 0.91	0.91 $\pm$ 0.19	0.91 $\pm$ 0.14	2.51 $\pm$ 0.21	15.77 $\pm$ 3.93
	4	36.73 $\pm$ 1.77	11.15 $\pm$ 0.84	6.29 $\pm$ 0.53	1.43 $\pm$ 0.22	6.36 $\pm$ 1.27	2.33 $\pm$ 0.28	0.92 $\pm$ 0.09	2.72 $\pm$ 0.29	5.53 $\pm$ 0.89
	24	4.58 $\pm$ 0.16	0.17 $\pm$ 0.08	2.10 $\pm$ 0.13	0.07 $\pm$ 0.02	0.44 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.04	N.D.	0.59 $\pm$ 0.04	1.06 $\pm$ 0.07
Stomach	1	15.67 $\pm$ 0.15	4.18 $\pm$ 0.30	2.46 $\pm$ 0.06	1.96 $\pm$ 0.45	3.83 $\pm$ 0.24	0.31 $\pm$ 0.07	0.14 $\pm$ 0.14	1.59 $\pm$ 0.21	1.20 $\pm$ 0.15
	4	10.05 $\pm$ 0.43	1.41 $\pm$ 0.30	3.39 $\pm$ 0.37	0.48 $\pm$ 0.01	2.74 $\pm$ 0.50	0.33 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.02	1.09 $\pm$ 0.06	0.38 $\pm$ 0.17
	24	3.74 $\pm$ 0.20	0.06 $\pm$ 0.01	2.17 $\pm$ 0.20	N.D.	0.41 $\pm$ 0.01	N.D.	N.D.	0.39 $\pm$ 0.03	0.71 $\pm$ 0.12
Submaxillary gland	1	29.92 $\pm$ 1.20	13.88 $\pm$ 1.26	3.68 $\pm$ 0.25	2.04 $\pm$ 0.36	2.37 $\pm$ 0.50	0.68 $\pm$ 0.12	1.56 $\pm$ 0.21	2.80 $\pm$ 0.27	2.92 $\pm$ 0.35
	4	21.36 $\pm$ 3.11	5.78 $\pm$ 2.28	4.45 $\pm$ 0.53	1.03 $\pm$ 0.24	3.70 $\pm$ 1.01	1.29 $\pm$ 0.04	1.16 $\pm$ 0.21	2.08 $\pm$ 0.32	1.87 $\pm$ 0.22
	24	10.81 $\pm$ 0.19	0.20 $\pm$ 0.06	3.02 $\pm$ 0.27	0.08 $\pm$ 0.01	3.08 $\pm$ 0.38	2.31 $\pm$ 0.13	N.D.	0.51 $\pm$ 0.03	1.62 $\pm$ 0.23
Thymus	1	20.87 $\pm$ 1.46	8.76 $\pm$ 0.65	0.78 $\pm$ 0.08	0.27 $\pm$ 0.07	0.49 $\pm$ 0.13	0.19 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.16	1.17 $\pm$ 0.17	8.97 $\pm$ 0.63
	4	25.37 $\pm$ 1.28	9.42 $\pm$ 1.10	2.05 $\pm$ 0.19	0.36 $\pm$ 0.10	1.37 $\pm$ 0.39	0.61 $\pm$ 0.13	0.13 $\pm$ 0.13	1.80 $\pm$ 0.44	9.62 $\pm$ 2.04
	24	8.93 $\pm$ 0.62	0.92 $\pm$ 0.24	4.40 $\pm$ 0.19	0.41 $\pm$ 0.04	0.75 $\pm$ 0.24	N.D.	N.D.	0.60 $\pm$ 0.07	1.83 $\pm$ 0.30

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of three rats.

N.D. : Not detected

a) Time after administration

マトグラム上の保持時間が合成標品のものと一致したことより、本画分の代謝物は SM-5887 の糖の還元的脱離と側鎖カルボニル基の還元により生じるデオキシアグリコン体 Met B と同定した。

4) Met C

本画分の精製物の ESI マススペクトルおよび ESI タンデムマススペクトルを **Fig. 6** に示した。m/z 370 に $[\text{M}+\text{H}]^+$ が観測され、この $[\text{M}+\text{H}]^+$ のプロダクトイオンとして、m/z 317, 335, 352 にアミノ基または水の脱離に基づくイオン、m/z 291 にアミノ基、水および

側鎖ヒドロキシエチル基の脱離に基づくイオンがベースピークとしてそれぞれ観測された。これらのマススペクトル、ならびに HPLC クロマトグラム上の保持時間が合成標品のものと一致したことより、本画分の代謝物は SM-5887 の糖の脱離と側鎖カルボニル基の還元により生じるアグリコン体 Met C と同定した。

5) Met D

本画分の精製物の APCI マススペクトルおよび APCI タンデムマススペクトルを **Fig. 7** に示した。m/z 465 に $[\text{M}-\text{H}]^-$ が観測され、この $[\text{M}-\text{H}]^-$ のブ

Fig. 3 Mass spectra of SM-5887-13-OH isolated from rat liver
(A) ESI mass spectrum (B) Product ions of m/z 486

ロダクトイオンとして、m/z 331, 348 に糖の脱離に基づくイオンが観測された。これらのマススペクトルならびに HPLC クロマトグラム上の保持時間が合成標品のも的一致したことより、本画分の代謝物は SM-5887 の脱アミノ体 Met D と同定した。

考 察

SM-5887 を投与したラットおよびイスの尿、胆汁ならびに組織中には、合計12種類の代謝物 (SM-5887-13-OH, M-1~M-7, Met A~Met D) が存在した。尿中代謝物としては SM-5887-13-OH が多く認められ、特

にラットで高い比率であり、その他、未変化体 SM-5887 がラットでは多く、M-2, Met B がイスでは多く認められた。胆汁中代謝物としては、M-1, M-2 がラット、イスとも多く、さらに M-5 がラットで、M-7 がイスで多く認められた。ラットとイスについて尿および胆汁中の代謝物を比較した場合、イスのほうが高極性の代謝物が高比率となる傾向がみられた。このようにラットとイスで尿および胆汁中の代謝物組成に関する種差が多少認められたものの、代謝物の種類に大きな差はなかった。また、尿中代謝物と胆汁中代謝物を比較した場合、胆汁中のほうが高極性代謝物が高比率となる傾向がみら

Fig. 4 Mass spectra of Met A isolated from rat liver
 (A) ESI mass spectrum (B) Product ions of m/z 352

れた。この高極性の代謝物 M-1~M-7 の中で、M-4 および M-6 は SM-5887-13-OH のグルクロン酸抱合体と考えられ、それら以外の高極性代謝物 M-1~M-3 および M-5 についても正確な構造は不明であったものの、高い極性を有することからいずれも抱合体として存在するものと推測された。このような高極性代謝物は本剤と類似の構造を持つアンスラサイクリン系抗癌剤においても報告されている⁵⁾。

一方、ラットの組織中代謝物を検討した結果、Met B がもっとも多く認められ、ついで SM-5887 や SM-5887-13-OH が比較的高濃度に認められた。このよう

に多くの組織において SM-5887 と同等の極性あるいはより低い極性の代謝物が高比率にみられたが、脾臓、胸腺、骨髄の放射能の抽出率は比較的低く、高極性代謝物の比率が他の組織より高いと考えられた。組織中に多くみられた比較的低極性の代謝物 (SM-5887-13-OH, Met A~Met D) をラット肝臓より精製し、そのクロマトグラムおよびマススペクトルを合成標品と比較した結果、SM-5887-13-OH は側鎖13位のカルボニル基が還元された代謝物、Met A と Met B は糖が還元的に脱離したデオキシアグリコン体、Met C は7位水酸基が保持されたまま脱離したアグリコン体、Met D は脱アミ

Fig. 5 Mass spectra of Met B isolated from rat liver
 (A) ESI mass spectrum (B) Product ions of m/z 354

ノ体であることをそれぞれ確認した。このような側鎖カルボニル基の還元反応,あるいはデオキシアグリコン体を生成する糖の脱離反応のような代謝反応は,他のアンスラサイクリン系抗癌剤について報告されている反応と同様であった⁵⁻⁸⁾。

以上の結果に基づいて推定したラットおよびイヌにおける代謝経路を Fig. 8 に示した。また,血液,組織,尿および胆汁中の代謝物組成とその推移より, SM-5887 は主に未変化体および低極性代謝物として速やかに組織に分布し,抱合体と推測される高極性代謝物に変換された後,徐々に体外へ排泄されるものと考えられ

た。本剤の主排泄経路は胆汁を経由した糞中排泄であること⁹⁾と胆汁中代謝物組成より,高極性代謝物は主として胆汁より排泄されることが明らかとなった。また SM-5887-13-OH や Met B は組織中に高濃度で存在し,血中では組織中よりもはるかに低濃度であったが,尿中では高い比率で認められたことから,血中に存在するこれらの代謝物は速やかに尿中へ排泄されるものと推測された。

SM-5887-13-OH はドキソルピシンと同等の *in vitro* での薬理活性を有し,その他の代謝物および SM-5887 の薬理活性はドキソルピシンの1/10~1/100程度と低い

Fig. 6 Mass spectra of Met C isolated from rat liver
(A) ESI mass spectrum (B) Product ions of m/z 370

ことが明らかになっている³⁾。今回のラットに SM-5887 投与時の組織中 SM-5887-13-OH 濃度と、ラットにドキソルビシン投与時の組織中ドキソルビシン濃度¹⁰⁾ (いずれも主たる薬理活性体濃度) を比較すると、ドキソルビシン投与 (20 mg/kg) の場合には、投与後 3 時間のドキソルビシン濃度が脾臓、心臓、腎臓、肝臓で 19~63 $\mu\text{g/g}$ と高く、今回検討した SM-5887-13-OH のほうが低濃度であった。一方、マウス実験腫瘍系 (ヒト腫瘍株/ヌードマウス系) において、本剤投与時の組織中 SM-5887-13-OH 濃度とドキソルビシン投与時の組織中ドキソルビシン濃度を比較した場合、正常組織より腫瘍組織への分布の選択性が SM-5887-13-OH の

ほうがより高いことが明らかとなっている¹⁾。本剤の抗腫瘍効果の選択的発現と毒性の軽減は、このような薬理活性体の分布特性に関連するものと考えられた。

要 約

ラットおよびイヌに ^{14}C 標識した SM-5887 を静脈内投与したときの尿、胆汁中 (ラット、イヌ) または組織中 (ラット) の代謝物について検討し、以下の結果を得た。

1. ラット尿中には 9 種類、ラット胆汁中には 10 種類、イヌ尿中には 6 種類、イヌ胆汁中には 11 種類の代謝物がそれぞれ認められた。尿中代謝物についてはラッ

Fig. 7 Mass spectra of Met D isolated from rat liver
 (A) APCI mass spectrum (B) Product ions of m/z 465

トでは SM-5887-13-OH や SM-5887 が多く、イヌでは M-2 や Met B の割合が高かった。ラット、イヌとも胆汁中には M-1, M-2 をはじめ、多くの高極性代謝物が認められた。

2. ラット組織中には Met B がもっとも多く、ついで SM-5887 や SM-5887-13-OH が多く、ほとんどの組織において SM-5887 と同等、あるいはより低極性の代謝物が高い比率を占めた。

3. 低極性の代謝物は、側鎖の13位カルボニル基が還元された SM-5887-13-OH, 還元的に脱糖したデオキシアグリコン体 Met A と Met B, 7 位水酸基が保持されたまま脱離したアグリコン体 Met C, および脱アミノ

体 Met D であることを、それぞれ各合成標品と HPLC および質量分析で比較することにより同定した。高極性の代謝物 (M-1~M-7) については、M-4 および M-6 は SM-5887-13-OH のグルクロン酸抱合体と考えられ、その他はその高い極性から抱合体として存在するものと推測されたものの、極めて不安定であり、構造を確認することはできなかった。

文 献

- 1) Noguchi, T. *et al.*: Tumor selective distribution of active metabolite of amrubicin (SM-5887) in tumor bearing

Fig. 8 Possible metabolic pathways of SM-5887 in rats and dogs

mice. *Cancer Chemother. Pharmacol.* (in press.).

- 2) 足立春彦, 中山厚美, 木村重紀, 堀井和成, 尾崎正和, 宇和川賢, 紙田祐介, 関 高樹, 奥野泰由, 細川俊治: 5日間連続静脈内投与による塩酸アムルビシン (SM-5887) と塩酸ドキソルビシンの雄ラットにおける比較毒性試験, 薬理と治療, (in press.).
- 3) Yamaoka, T. *et al.*: Comparative cytotoxicity and cellular incorporation of 9-aminoanthracycline, amrubicin and its metabolites. *Cancer Chemother. Pharmacol.* (in press.).
- 4) Schott, B. and Robert, J.: Comparative activity of anthracycline 13-dihydrmetabolites against rat glioblastoma cells in culture. *Biochem. Pharmacol.*, **38**: 4069-4074 (1989).
- 5) Zini, G., Vicario, G. P., Lazzati, M. and Arcamone, F.: Disposition and metabolism of [14-¹⁴C]4-demethoxydaunorubicin HCl (idarubicin) and [14-¹⁴C]daunorubicin HCl in the rat. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **16**: 107-115 (1986).
- 6) 根岸嗣治, 高平汎志: The absorption, excretion, distribu-

tion, and metabolism of adriamycin. 基礎と臨床 **7**(3): 425-431 (1973).

- 7) Gewirtz, D. A. and Yanovich, S.: Metabolism of adriamycin in hepatocytes isolated from the rat and the rabbit. *Biochem. Pharmacol.*, **36**(11): 1793-1798 (1987).
- 8) Israel, M., Wilkinson, M., Pegg, W. J. and Ill, E. F.: Hepatobiliary metabolism and excretion of adriamycin and N-trifluoroacetyladiamycin-14-valerate in the rat. *Cancer Res.*, **38**: 365-370 (1978).
- 9) 仲井俊司, 赤尾恭子, 伊藤正樹, 水野佳子, 小室勢津子, 金丸 博, 中塚 巖, 江角凱夫, 石崎正男, 群司 忍, 高尾厚志, 木村和枝, 中山知子, 二宮真一: 新規抗癌剤塩酸アムルビシン (SM-5887) の体内動態 (第1報): ラットにおける単回静脈内投与時の体内動態. 薬物動態, **13**: 61-77 (1998).
- 10) Tavaloni, N. and Guarino, A. M: Disposition and metabolism of adriamycin in the rat. *Pharmacology*, **21**: 244-255 (1980).