骨粗鬆症治療薬 Alendronate のラット経口投与時の体内動態

樋坂 章博, 武永 敬博, 原 健一, 亀井 敏夫

江角 凱夫*, 唐澤 良夫*, 関 英昌*, 市毛 一美*, 佐久間智子*

Absorption, Distribution, Excretion, and Sex Differences in the Disposition of the Antiosteolytic Agent, Alendronate after Oral Administration in Rats

Akihiro HISAKA, Norihiro TAKENAGA, Kenichi HARA, Toshio KAMEI

Yoshio ESUMI*, Yoshio KARASAWA*, Hidemasa SEKI*, Kazumi ICHIGE* and Tomoko SAKUMA*

*Drug Metabolism, Development Research Laboratories,
Banyu Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama;*

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

Summary: Plasma concentrations, distribution, and excretion of [^{14}C]-alendronate (MK-217/GTH-42) were investigated after oral administration to male and female rats.

1. The urinary excretion of radioactivity within 168 hr was 0.46% after oral administration at the dose of 5 mg/kg to male rats. The remaining drug was recovered in the feces quantitatively.

2. The radioactivity levels in the bone, trachea, and kidney were 3 to 6 times higher than that in the plasma at 30 minutes after a single oral administration at 5 mg/kg to male and female rats. The levels in the bone and trachea showed a plateau at 4 hr and decreased very slowly thereafter. High radioactivity levels were detected in the gastro-intestinal tract, but this was probably due to unabsorbed drug. In the other organs and tissues, the radioactivity was similar to or less than that in the plasma and decreased to almost undetectable levels at 24 hr after dosing. Sex differences were not observed in the tissue distribution of [^{14}C]-alendronate in the rats.

3. After multiple oral administration at 5 mg/kg once daily for 7 days to female rats, the radioactivity levels in the trachea and bone were markedly higher than those after a single dosing. In the other organs and tissues, the overall profile of drug disposition was similar to that after a single dose.

These data indicated that the oral absorption of alendronate was very low (approximately 1 %), and that the drug distributed and accumulated selectively in the target site, the bone tissue.

Key words: Alendronate, Absorption, Distribution, Pharmacokinetics, Rat, Bisphosphonate

緒 言

Alendronate (monosodium 4-amino-1-hydroxybutylidene-1,1-diphosphonate trihydrate, MK-217/GTH-42) はビスフォスホン酸構造を持ち、破骨細胞による骨吸収を特異的に抑制することにより、骨増加作用および血中カルシウム濃度を低下させる作用を示す^{1,2)}。Alendronate の静脈内投与製剤は、腫瘍に伴う高カルシウム血症の治療薬として本邦でも既に臨床適応されている。一方、海外では骨粗鬆症の治療の目的で経口投与製剤が用いられ、その効果が注目されている²⁾。国内にお

ける経口投与製剤の開発は現在進行中である。

ビスフォスホン酸は負電荷を持つ親水性に富む化合物であり、一般にきわめて経口吸収性の低いことが知られている^{3,4)}。Alendronate の経口投与後の生物学的利用率はラットで0.95%、イスで1.76%、サルでは1.72%と報告されている⁵⁾。ラットおよびイスにおいて、Alendronate は体内で代謝を受けず、未変化体のまま主に尿中に排泄される⁵⁾。しかし、ラットに静脈内投与後216時間までに尿中に排泄される薬物は37.5%に過ぎず、残りは長期間にわたって骨中へ蓄積される⁶⁾。これはビスフォスホン酸の骨組織、特に骨表面への親和性がきわ

萬有製薬株式会社 開発研究所 薬物代謝研究所 〒360-0214 埼玉県大里郡妻沼町大字西城 810

* 第一化学薬品株式会社 東海研究所 〒319-1112 茨城県那珂郡東海村村松 2117

めて高いためであり、Alendronate の骨からの消失半減期は180～240日に及ぶと報告されている⁶⁾。

このように Alendronate は特異な体内動態を示す薬物であり、その実験動物における組織内分布を知ることが重要である。本報ではラットにおける $[^{14}\text{C}]$ -Alendronate 単回経口投与後の尿糞中排泄、単回および反復経口投与後の組織内分布を検討したので報告する。

実験材料および方法

1. 標識化合物および非標識化合物

$[^{14}\text{C}]$ -Alendronate は米メルク社で合成されたもの (Lot 番号 L-670, 452-008E014) を使用した。構造と標識位置を Fig. 1 に示す。比放射能は 796 kBq/mg で放射化学的純度は98%であった。放射化学的純度の測定は薄層クロマトグラフィー (Cellulose F ; E. Merck, 展開溶媒 ; ジオキサン/水/6N 塩酸 = 45 : 50 : 5, v/v/v) により行った。非標識の Alendronate も米メルク社から入手したものをを用いた (Lot 番号 L-670, 452-005Y039)。

2. 実験動物

実験動物は Sprague-Dawley 系の雌雄のラットを日本チャールス・リバー社より購入し、1～2 週間の馴化期間の後に使用した。投与時の週齢は 7 週齢であり、体重は雄が 206～248 g、雌が 136～166 g であった。飼育環境は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 15\%$ 、照明時間午前 6 時～午後 6 時であった。馴化期間中はげっ歯類用飼料 (MF, Lot 番号 961105 ; オリエンタル酵母工業) を与えた。試験期間を通じ水道水を自由に与えた。

3. 投 与

投与液は $[^{14}\text{C}]$ -Alendronate を注射用蒸留水に溶解し 2.5 mg/ml として調製した。単回投与、反復投与のいずれもラットを投与前日の17時より絶食し、ゾンデを用いて投与液を胃内に 5 mg/3.98 MBq/2 ml/kg となるように投与した。投与後 2 時間より給餌を行った。

4. 単回経口投与後の尿糞中排泄

雄ラットに $[^{14}\text{C}]$ -Alendronate を単回経口投与した後、代謝ケージに収め、投与後 0-4, 4-8, 8-24, 以後24

時間毎に168時間までの尿、および投与後 0-24, 以後 24時間毎に168時間までの糞を採取した。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 (Hionic-Fluor ; Packard) 10 ml を加えて放射能を測定した。糞は 0.1N 塩酸を加えて 300 ml としたのちホモジネートし、その 0.5 ml にシンチレーター 10 ml を加えて放射能を測定した。

5. 単回投与後の組織内分布

雄および雌ラットに $[^{14}\text{C}]$ -Alendronate を単回経口投与し、30分, 1, 4, 24時間後にエーテル麻酔下で動物を腹大動脈からの採血で致死させ、脳、顎下リンパ節、気管、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、白色脂肪、筋肉、皮膚、腸管膜リンパ節、胃、小腸、大腸、大腿骨、脛骨、および椎骨を採取した。なお、雄ラットは精巣および精巣上体、雌ラットは子宮および卵巣も採取した。

得られた血液のうち 100 μl を放射能測定用試料とし、また一部をヘマトクリット測定用毛細管 (テルモ) に採り、ヘマトクリット値を測定した。残りの血液を遠心分離 (1800 g, 4°C , 15 min) して血漿を得た。各組織はそのまま、あるいは一部を切り取ってその湿重量を測定して試料とした。血液、血漿の 100 μl および組織試料に溶解剤 2 ml (Soluene-350 ; Packard) を加え、組織については 50°C で 24 時間振盪し、必要に応じて過酸化ベンゾイルを飽和させたベンゼン溶液 0.4 ml を加えて脱色した後、シンチレーター 10 ml を加えて放射能を測定した。ただし、肝臓は 2 倍量の生理食塩液を加えてホモジナイズし、その約 1 ml を Soluene-350 4 ml に加え同様に処理した。脳および腎臓 (片側) はそのまま Soluene-350 10 ml を加えて 50°C で 24 時間処理して溶解した後、トルエンを加えて 20 ml に希釈し、その 2 ml にシンチレーター 10 ml を加えて放射能を測定した。また、骨髄を除いた大腿骨、脛骨および椎骨は湿重量を測定し、 40°C で 24 時間以上乾燥した後、自動燃焼装置 (ASC-113 ; Aloka) で処理して放射能測定のための試料を調製した。

6. 反復投与後の組織内分布

雌ラットに $[^{14}\text{C}]$ -Alendronate を 1 日 1 回 7 日間反復経口投与し、最終投与後、30分, 1, 4, 24 および 72 時間に単回投与時と同様に血液および組織を採取し、放射能濃度を測定した。

7. 放射能の測定とデータ処理

放射能は液体シンチレーションカウンタ (LSC-903 ; Aloka) を用い、外部標準線源チャンネル比法により測定した。試験成績は 4 例の平均と標準偏差で示した。

Fig. 1. Chemical structure of $[^{14}\text{C}]$ -alendronate

放射能の検出限界はバックグラウンド値の2倍とし、4例中3例以上が検出限界未満の場合はN. D. と表示した。全ての濃度は Alendronate 換算で示した。

血球移行率は以下の式で算出した。

$$\text{血球移行率 (\%)} = \left(1 - \frac{P}{B} \times \frac{100 - \text{Ht}}{100}\right) \times 100$$

ただし、P および B はそれぞれ血漿中および血液中の放射能濃度 (dpm/ml), Ht はヘマトクリット値 (%) である。

結 果

1. 単回経口投与後の尿糞中排泄

雄ラットに $[^{14}\text{C}]$ -Alendronate 5 mg/kg を単回経口投与後、尿中への放射能の排泄率は8時間までに0.28%、24時間までに0.42%、168時間までで0.46%であった (Table I)。糞中への排泄率は24時間までに98.94%、168時間まででは102.32%であった。

2. 単回経口投与後の組織内分布

雌および雄ラットに $[^{14}\text{C}]$ -Alendronate 5 mg/kg を単回経口投与後、血漿中への放射能の出現は速く、0.5時間に雌で32.2 ng eq./ml、雄で25.3 ng eq./mlを示した (Fig. 2, Table II および III)。その後の消失は速や

Table I Cumulative excretion of radioactivity after oral dosing of $[^{14}\text{C}]$ -alendronate to male rats at 5 mg/kg

Time (hr)	Radioactive excretion (% of dose)		
	Urine	Feces	Total
4	0.14±0.03	—	0.14±0.03
8	0.28±0.05	—	0.28±0.05
24	0.42±0.09	98.94±1.37	99.36±1.45
48	0.45±0.09	102.21±0.73	102.66±0.70
72	0.45±0.09	102.32±0.76	102.77±0.73
96	0.46±0.10	102.32±0.76	102.78±0.73
120	0.46±0.10	102.32±0.76	102.78±0.73
144	0.46±0.10	102.32±0.76	102.78±0.73
168	0.46±0.10	102.32±0.76	102.78±0.73

Each value represents the mean±s.d. of 4 animals.

—: Sample was not collected.

かであり、投与後4時間の血漿中放射能濃度は雌雄ともに4例中の2例が検出限界以下であった。全血中濃度は血漿中濃度の7割程度の値で推移した。血球移行率は11.7~22.9%と算出され、雌雄の差は認められなかった。

投与後30分の腎臓、気管および骨中の放射能は血漿の3~6倍と高い値であった (Table II~V)。このうち

Table II Radioactive concentration in blood and tissues after single oral administration of $[^{14}\text{C}]$ -alendronate to fasting female rats at 5 mg/kg

Tissue	Radioactive concentration (ng eq./g or ng eq./ml)			
	30 min	1 hr	4 hr	24 hr
Plasma	32.2±21.5	18.0±4.0	5.8±2.8	N.D.
Blood	18.3±13.5	12.3±1.1	N.D.	N.D.
Brain	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mandibular lymph node	25.5±33.1	16.6±7.1	N.D.	N.D.
Trachea	137.6±123.1	77.5±52.3	84.9±45.5	39.5±31.9
Heart	11.6±7.3	11.0±3.2	N.D.	N.D.
Lungs	14.2±13.4	12.4±3.0	5.8±0.8	N.D.
Liver	13.6±5.1	19.6±1.9	12.0±1.3	5.3±1.2
Kidneys	89.1±46.9	46.5±14.8	30.1±6.9	N.D.
Spleen	13.1±12.5	9.9±1.2	N.D.	N.D.
Pancreas	13.3±6.7	13.3±4.5	7.0±0.6	N.D.
Fat	7.4±4.5	7.4±1.4	N.D.	N.D.
Skeletal muscle	8.0±5.1	9.8±2.7	N.D.	N.D.
Skin	17.3±8.5	18.8±13.0	8.2±3.9	N.D.
Mesenteric lymph node	20.5±5.8	50.8±21.4	7.9±1.8	N.D.
Uterus	15.7±7.7	15.5±4.5	6.5±2.2	N.D.
Ovary	14.8±7.6	11.9±2.2	N.D.	N.D.
Stomach	11121.2±9684.0	398.2±234.3	75.8±37.0	37.0±42.1
Small intestine	3497.1±5095.3	767.2±554.8	196.5±191.9	12.3±8.1
Large intestine	79.6±35.4	27.4±21.6	352.6±162.3	9.3±11.4

Each value represents the mean±s.d. of 4 animals.

N.D.: Not detected.

腎臓の放射能は血漿中濃度の減少に伴って速やかに減衰した。胃腸管の放射能は投与直後にきわめて高値を示したが、24時間後には 6.4~54.7 ng eq./ml に減衰した。

Fig. 2. Radioactive concentration in plasma after single and multiple oral administration of [^{14}C]-alendronate to fasting rats at 5 mg/kg. Each point represents the mean $\pm$ s.d. of 4 animals.

腸間膜リンパ節では投与後0.5時間に比べ1時間で放射能濃度が上昇したが、その後の消失は速やかであった。これら以外の軟組織の放射能はいずれも投与後30分で血漿中濃度より低く、速やかに減衰して投与後24時間にはほとんどが検出限界以下であった。特に脳、脂肪、および筋肉の放射能はきわめて低い結果であった。生殖器中の放射能濃度は雌雄ラットともに低い値であった。

軟組織に比べ骨、および軟骨を含む気管への放射能の分布はきわめて選択的なものであった。すなわち、投与後30分の骨中の放射能濃度は 101.1~172.8 ng eq./ml と高く、投与後4時間までさらに上昇し 152.4~366.2 ng eq./ml に達し、その後の減衰もきわめて遅かった (Table IV および V)。骨への放射能の分布に雌雄による差は認められなかった。採取した骨の中では椎骨中濃度がやや低く推移したものの、部位間に顕著な差は認められなかった。気管中の放射能濃度は骨に比べるとやや低く推移したが、蓄積性は同様の傾向であった。

3. 反復投与後の組織内分布

雌ラットに [^{14}C]-Alendronate 5 mg/kg を1日1回7日間反復経口投与した後の組織内分布を検討した (Fig. 2 および Table VI)。最終投与後30分に血漿中放射能濃度は 28.9 ng eq./ml を示し、その後、速やかに

Table III Radioactive concentration in blood and tissues after single oral administration of [^{14}C]-alendronate to fasting male rats at 5 mg/kg

Tissue	Radioactive concentration (ng eq./g or ng eq./ml)			
	30 min	1 hr	4 hr	24 hr
Plasma	25.3 $\pm$ 22.3	14.7 $\pm$ 2.5	7.0 $\pm$ 1.4	N.D.
Blood	17.6 $\pm$ 13.4	9.1 $\pm$ 2.4	N.D.	N.D.
Brain	N.D.	5.9 $\pm$ 2.8	N.D.	N.D.
Mandibular lymph node	7.9 $\pm$ 4.3	8.5 $\pm$ 2.4	N.D.	N.D.
Trachea	96.2 $\pm$ 112.0	69.0 $\pm$ 24.6	99.9 $\pm$ 54.4	88.3 $\pm$ 70.3
Heart	7.2 $\pm$ 4.6	6.5 $\pm$ 0.7	4.4 $\pm$ 2.5	N.D.
Lungs	11.9 $\pm$ 8.6	9.0 $\pm$ 2.8	5.6 $\pm$ 1.7	N.D.
Liver	20.1 $\pm$ 8.6	15.7 $\pm$ 1.5	12.2 $\pm$ 1.5	5.5 $\pm$ 1.1
Kidneys	106.5 $\pm$ 101.7	49.4 $\pm$ 6.4	37.7 $\pm$ 11.6	10.6 $\pm$ 3.2
Spleen	8.3 $\pm$ 2.5	6.6 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 2.4	N.D.
Pancreas	9.4 $\pm$ 3.4	7.8 $\pm$ 1.2	7.1 $\pm$ 2.1	N.D.
Fat	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Skeletal muscle	5.1 $\pm$ 2.1	5.6 $\pm$ 1.5	N.D.	N.D.
Skin	10.0 $\pm$ 5.4	10.6 $\pm$ 3.8	7.1 $\pm$ 3.8	N.D.
Mesenteric lymph node	67.5 $\pm$ 55.5	83.3 $\pm$ 30.6	10.7 $\pm$ 2.1	N.D.
Testis	6.8 $\pm$ 5.9	6.1 $\pm$ 1.3	N.D.	N.D.
Epididymis	9.7 $\pm$ 8.1	6.8 $\pm$ 1.8	4.8 $\pm$ 1.5	N.D.
Stomach	7401.3 $\pm$ 2079.0	288.3 $\pm$ 351.2	162.6 $\pm$ 87.3	54.7 $\pm$ 41.7
Small intestine	4596.0 $\pm$ 3785.7	361.9 $\pm$ 258.7	100.6 $\pm$ 70.6	14.7 $\pm$ 9.0
Large intestine	51.1 $\pm$ 15.3	25.5 $\pm$ 23.6	112.8 $\pm$ 19.9	6.4 $\pm$ 2.2

Each value represents the mean $\pm$ s.d. of 4 animals.

N.D. : Not detected.

Table IV Radioactive concentration in bone tissues after single oral administration of [^{14}C]-alendronate to fasting female rats at 5 mg/kg

Bone	Radioactive concentration (ng eq./g)			
	30 min	1 hr	4 hr	24 hr
Femur	172.8 $\pm$ 149.5	226.4 $\pm$ 115.6	366.2 $\pm$ 89.8	169.6 $\pm$ 133.7
Tibia	137.2 $\pm$ 113.7	192.8 $\pm$ 61.8	362.5 $\pm$ 110.0	236.4 $\pm$ 177.4
Vertebra	101.1 $\pm$ 89.1	113.5 $\pm$ 62.2	204.6 $\pm$ 45.4	100.5 $\pm$ 70.0

Each value represents the mean $\pm$ s.d. of 4 animals.

Table V Radioactive concentration in bone tissues after single oral administration of [^{14}C]-alendronate to fasting male rats at 5 mg/kg

Bone	Radioactive concentration (ng eq./g)			
	30 min	1 hr	4 hr	24 hr
Femur	145.5 $\pm$ 151.9	261.2 $\pm$ 26.2	307.3 $\pm$ 189.5	198.1 $\pm$ 153.2
Tibia	166.7 $\pm$ 145.1	247.3 $\pm$ 41.1	281.6 $\pm$ 231.5	209.2 $\pm$ 134.2
Vertebra	107.0 $\pm$ 94.3	146.6 $\pm$ 31.5	152.4 $\pm$ 106.1	111.8 $\pm$ 61.9

Each value represents the mean $\pm$ s.d. of 4 animals.

Table VI Radioactive concentration in blood and tissues after multiple oral administration of [^{14}C]-alendronate to female rats at 5 mg/kg/day on day 7

Tissue	Radioactive concentration (ng eq./g or ng/ml)				
	30 min	1 hr	4 hr	24 hr	72 hr
Plasma	28.9 $\pm$ 9.4	20.1 $\pm$ 1.4	11.3 $\pm$ 1.4	N.D.	N.D.
Blood	19.8 $\pm$ 6.9	14.6 $\pm$ 3.2	6.8 $\pm$ 1.1	N.D.	N.D.
Brain	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mandibular lymph node	20.7 $\pm$ 6.8	51.8 $\pm$ 40.5	30.3 $\pm$ 22.7	19.0 $\pm$ 13.9	N.D.
Trachea	506.0 $\pm$ 148.9	439.8 $\pm$ 107.6	804.8 $\pm$ 684.9	685.4 $\pm$ 505.3	607.0 $\pm$ 362.4
Heart	12.0 $\pm$ 3.1	13.5 $\pm$ 2.3	8.6 $\pm$ 1.1	6.4 $\pm$ 1.7	5.5 $\pm$ 2.6
Lungs	18.0 $\pm$ 4.2	19.5 $\pm$ 2.9	14.6 $\pm$ 2.6	10.3 $\pm$ 1.2	7.3 $\pm$ 2.7
Liver	36.7 $\pm$ 5.6	31.5 $\pm$ 8.9	34.2 $\pm$ 2.3	22.6 $\pm$ 2.7	17.2 $\pm$ 7.8
Kidneys	132.4 $\pm$ 46.8	104.6 $\pm$ 14.4	88.7 $\pm$ 16.1	50.4 $\pm$ 7.9	36.3 $\pm$ 26.5
Spleen	21.5 $\pm$ 6.8	21.8 $\pm$ 2.4	18.5 $\pm$ 0.8	13.2 $\pm$ 2.0	14.8 $\pm$ 10.2
Pancreas	19.4 $\pm$ 10.8	18.4 $\pm$ 1.6	12.5 $\pm$ 1.0	7.5 $\pm$ 2.0	5.4 $\pm$ 2.4
Fat	22.8 $\pm$ 5.7	28.6 $\pm$ 4.1	29.8 $\pm$ 13.2	18.4 $\pm$ 2.1	20.7 $\pm$ 7.4
Skeletal muscle	7.2 $\pm$ 1.2	7.8 $\pm$ 0.8	6.4 $\pm$ 2.0	N.D.	N.D.
Skin	16.9 $\pm$ 2.3	32.4 $\pm$ 18.0	20.9 $\pm$ 7.9	10.8 $\pm$ 1.4	10.7 $\pm$ 5.1
Mesenteric lymph node	87.6 $\pm$ 38.6	62.1 $\pm$ 14.5	48.2 $\pm$ 21.5	66.8 $\pm$ 35.2	19.5 $\pm$ 12.0
Uterus	22.0 $\pm$ 7.0	21.2 $\pm$ 4.7	16.8 $\pm$ 2.1	12.0 $\pm$ 2.5	9.1 $\pm$ 2.7
Ovary	27.0 $\pm$ 7.6	23.5 $\pm$ 3.5	21.0 $\pm$ 4.6	16.3 $\pm$ 2.5	11.0 $\pm$ 5.5
Stomach	8476.7 $\pm$ 4944.5	1316.2 $\pm$ 992.9	199.2 $\pm$ 57.3	215.2 $\pm$ 82.2	89.9 $\pm$ 55.2
Small intestine	4356.6 $\pm$ 4257.4	2158.3 $\pm$ 3180.1	172.6 $\pm$ 53.5	127.4 $\pm$ 70.0	28.9 $\pm$ 14.1
Large intestine	110.7 $\pm$ 62.4	46.6 $\pm$ 21.4	294.8 $\pm$ 167.9	14.4 $\pm$ 5.6	9.8 $\pm$ 5.2

Each value represents the mean $\pm$ s.d. of 4 animals.

N.D. : Not detected.

減衰して投与後24時間では放射能を検出できなかった。全血中濃度は単回投与時と同様に血漿に比べ低く、血球移行率は17.0~19.2%であった。軟組織における放射能分布は単回投与時と類似していたが、肝臓および腎臓ではやや放射能濃度が増加した。最終投与後72時間にお

ける放射能濃度は胃で 89.9 ng eq./ml, 腎臓と小腸で 30 ng eq./ml 程度, その他の軟組織では 21 ng eq./ml 以下であった。これに対し反復投与後の気管中放射能濃度は 439.8~804.8 ng eq./ml, 骨中では 993.0~3309.6 ng eq./ml と著しく高く, また最終投与後72時間でも減

Table VII Radioactive concentration in bone tissues after multiple oral administration of [^{14}C]-alendronate to female rats at 5 mg/kg/day on day 7

Bone	Radioactive concentration (ng eq./g)				
	30 min	1 hr	4 hr	24 hr	72 hr
Femur	1685.9 $\pm$ 610.8	1589.5 $\pm$ 462.0	3155.9 $\pm$ 1550.0	2355.2 $\pm$ 1011.4	2110.1 $\pm$ 1000.8
Tibia	2298.3 $\pm$ 776.9	1683.4 $\pm$ 216.6	2788.0 $\pm$ 1044.8	3309.6 $\pm$ 1134.8	1964.5 $\pm$ 687.2
Vertebra	1046.5 $\pm$ 228.8	993.0 $\pm$ 357.2	1393.7 $\pm$ 479.5	1282.8 $\pm$ 520.2	1370.1 $\pm$ 738.3

Each value represents the mean $\pm$ s.d. of 4 animals.

衰傾向が認められなかった (Table VII)。

考 察

ビスフォスホン酸は内因性の骨吸収抑制因子であるピロフォスホン酸の合成アナログであるが、ピロフォスホン酸と異なり炭素-リン結合を持つために酵素的分解によってリン酸を遊離することがない⁷⁾。ビスフォスホン酸は実際に生体内できわめて安定な化合物であり、Alendronate の標識体を静脈内投与した後、骨中および尿中に検出される放射能は全て未変化体によるものであることが報告されている⁵⁾。また類似薬である Etidronate⁸⁾、Pamidronate⁹⁾ および Incadronate¹⁰⁾ も代謝を受けないことが知られている。したがって今回の試験で測定された放射能は、全て未変化体由来すると考えられる。

Alendronate の経口吸収率はきわめて低いため、血中濃度で体内動態の評価を行うのは難しい。Linらは経口および静脈内投与後に骨中に蓄積される薬物の割合から、Alendronate のラットにおける生物学的利用率は0.95%であると報告している⁵⁾。静脈内投与後の尿中排泄率は37.5%と報告されているが⁶⁾、今回、経口投与後の尿中排泄率が0.46%と低かったのは経口吸収率の低さを反映していると考えられる。また、Alendronate の静脈内投与後の胆汁中排泄は0.3%に過ぎない⁶⁾ことから、今回の試験で糞中に回収された放射能のほとんど全ては未吸収の薬剤に起因すると思われる。

組織内分布試験において、多くの組織の放射能は血漿中濃度以下であった。これは Alendronate の脂質膜透過性の低さを示していると考えられ、化合物の親水性からみて自然な結果と思われる。したがって一般の軟組織への Alendronate の負荷は低いと考えられる。特に反復投与後でも脳中に放射能は検出されなかったことから、Alendronate は中枢神経系へはきわめて移行しにくいと考えられる。

軟組織の中では腎臓および胃腸管に高値の放射能が検出された。腎臓は Alendronate の主排泄経路にあたり^{5,6)}、その排泄機構には能動的分泌の関与している可能性が指摘されている¹¹⁾。また、Alendronate は静脈内投与後に腎臓中へ比較的良好に分布することが報告されて

おり^{5,6,12)}、今回の腎臓中放射能の濃度推移はこれらの知見と矛盾しない。胃腸管については、本薬の吸収率がきわめて低いこと、また胃、小腸、大腸の順に遅れて放射能が出現していること、さらに静脈内投与後の Alendronate の胃腸管への分布は少ないこと^{5,12)}からみて、未吸収の薬剤の影響により高い放射能が検出されたと考えられる。

これに対し骨および気管への Alendronate の分布はきわめて特徴的であった。ビスフォスホン酸は骨表面に存在するヒドロキシアパタイトへの親和性がきわめて高く、一般に骨中に良く蓄積することが知られている¹³⁾。Alendronate の骨からの消失半減期は、ラットの静脈内投与による試験により、骨部位により多少の差はあるものの180~240日に及ぶと報告されている⁶⁾。また骨への分布はきわめて速やかであり、血流律速になっているとされる¹⁴⁾。今回の試験においても投与後0.5時間より骨中放射能濃度は高く、その値が24時間まではほぼ維持された。また7回反復投与後の骨中濃度は、単回投与時のおおむね7倍以上であった。したがって反復投与期間中も骨からの放射能の減衰はなかったことがうかがえる。

Alendronate の骨中での分布については望月らが詳細に検討しており、骨の表面、特に代謝回転の速い骨端部成長板に良く分布すると報告されている⁶⁾。また部位については椎骨が高く、ついで長管骨、頭蓋骨の順であると報告されている。経口投与で実施した今回の試験では骨中濃度の変動が大きかったが、静脈内投与時にはこれほどの変動は認められていないので⁶⁾、今回の骨中濃度の変動は吸収の個体間の変動を反映したものと考えられる。望月らの結果との正確な比較はこの変動のために困難ではあるが、椎骨中濃度が他の部位に比べ高い傾向は観察されなかった。この原因は不明であるが、望月らとは異なり、我々は湿重量あたりの骨濃度を測定したことが影響しているかもしれない。

骨粗鬆症は女性に多い疾患であることから、雌性の実験動物における Alendronate の体内動態を確認することは重要である。しかし、これまで経口投与後の雌性動物における組織内分布の報告はなかった。今回、我々は単回経口投与後の組織分布を雌雄ラットで比較し、顕著

な差はないことを確認した。また雌ラットによる連続経口投与試験を実施し、Alendronate は薬効発現部位へ選択的に蓄積することを見い出した。これらの知見は本薬の臨床応用にとって有用なものと考えられる。

要 約

ラットに [^{14}C]-Alendronate (MK-217/GTH-42) を経口投与し、血漿中濃度、分布および排泄を検討した。

1. 雄ラットに 5 mg/kg を単回投与後168時間までの放射能尿中排泄は投与量の0.46%であった。残りの放射能は糞中に定量的に回収された。

2. 雌雄ラットに 5 mg/kg を単回経口投与した後30分に、骨、気管および腎臓中の放射能は血漿中の3~6倍高値を示した。骨および気管中の放射能は4時間まで上昇し、その後の消失はきわめて緩やかであった。胃腸管中にも高い放射能が検出されたが、これは未吸収の薬剤の影響と考えられた。その他の軟組織の放射能濃度は血漿中と同程度かより低く、投与後24時間にはほぼ検出限界以下にまで減衰した。 [^{14}C]-Alendronate のラットの組織内分布に性差は認められなかった。

3. 雌ラットに 5 mg/kg を1日1回7日間連続投与すると、気管および骨中の放射能は単回投与に比べ著しく上昇した。しかし、その他の臓器および組織の放射能分布は単回投与時と同様の推移を示した。

以上の結果から本試験における Alendronate の経口吸収率は低く (1%程度)、雌雄にかかわらず吸収後に薬物は速やかに薬効発現部位である骨へと選択的に分布し、そこに蓄積されることが明らかとなった。

文 献

- Attardo-Parrinello, G., Merlini, G., Pavesi, F., Crema, F., Fiorentini, M. L. and Ascari, E.: Effects of a new amino-diphosphonate (aminohydroxybutylidene diphosphate) in patients with osteolytic lesions from metastases and myelomatosis: Comparison with dichloromethylene diphosphonate. *Arch. Intern. Med.*, **147**: 1629-1633 (1987).
- Kirk, J. K. and Spangler, J. G.: Alendronate: A bisphosphonate for treatment of osteoporosis. *American Family Physician*, **54**: 2053-2060 (1996).
- Licata, A. A.: Bisphosphonate therapy. *Am. J. Med. Sci.*, **313**: 17-22 (1997).
- Gertz, B. J., Holland, S. D., Kline, W. F., Matuszewski, B. K., Freeman, A., Quan, H., Lassefer, K. C., Mucklow, J. C. and Porras, A. G.: Studies of the oral bioavailability of alendronate. *Clin. Pharmacol. Ther.* **58**: 288-298 (1995).
- Lin, J. H., Duggan, D. E., Chen, I. W. and Ellsworth, R. L.: Physiological disposition of alendronate, a potent anti-osteolytic bisphosphonate, in laboratory animals. *Drug Metab. Dispos.*, **19**: 926-932 (1991).
- Mochizuki, T., Nishimura, S., Okabe, K., Azuma, Y., Kudoh, S., Ishii, S., Ohta, T., Kondo, S. and Kiyoki, M.: Metabolic fate of 4-amino-1-hydroxybutylidene-1,1-bisphosphonate (alendronate) (I): Plasma concentration, distribution and excretion after intravenous administration of alendronate to rats. *Xenobio. Metabol. and Dispos.*, **10**: 161-173 (1995).
- Fleisch, H.: Chemistry and mechanisms of action of bisphosphonates. in Garattini, S., (ed.): "Bone Resorption, Metastasis, and Diphosphonates" pp. 33-40. New York; Raven Press (1985).
- Michael, W. R., King, W. R. and Wakim, J. M.: Metabolism of disodium ethane-1-hydroxy-1,1-diphosphonate (disodium etidronate) in the rat, rabbit, dog and monkey. *Toxicol. and Appl. Pharmacol.*, **21**: 503-515 (1972).
- Wingen, F. and Schmähl, D.: Pharmacokinetics of the osteotropic diphosphonate 3-amino-1-hydroxypropane-1,1-diphosphonic acid in mammals. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **37**: 1037-1042 (1987).
- Usui, T., Watanabe, T. and Higuchi, S.: Pharmacokinetics of YM175, a new bisphosphonate, in rats and dogs. *Drug Metab. Dispos.*, **23**: 1214-1219 (1995).
- Lin, J. H., Chen, I-W., deLuna, F. A. and Hichens, M.: Renal handling of alendronate in rats. *Drug Metab. Dispos.*, **20**: 608-613 (1992).
- Lin, J. H., Chen, I-W. and Duggan, D. E.: Effects of dose, sex, and age on the disposition of alendronate, a potent anti-osteolytic bisphosphonate, in rats. *Drug Metab. Dispos.*, **20**: 473-478 (1992).
- Fleisch, H.: Diphosphonates: History and mechanisms of action. *Metab. Bone Dis. Rel. Res.* **4**: 279-288 (1981).
- Lin, J. H., Chen, I-W. and deLuna, F. A.: Nonlinear kinetics of alendronate: Plasma protein binding and bone uptake. *Drug Metab. Dispos.*, **22**: 400-405 (1993).