Esmolol 光学異性体の体内動態の比較

岡村美弥子, 熊谷 正道, 村崎 祐子, 王鞍 孝子, 宮本 好明
河井祥一郎, 田村 隆, 高力 豊*, 富澤 宏樹*

Stereoselective Pharmacokinetics of Esmolol Enantiomers

Miyako OKAMURA, Masamichi KUMAGAI, Yuko MURASAKI, Takako OHKURA, Yoshiaki MIYAMOTO,
Yoichiro KAWAI, Takashi TAMURA, Yutaka TAKARIKI* and Hiroki TOMISAWA*

Central Research Laboratory, Maruishi Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka

*Drug Metabolism and Pharmacokinetics Group, Tsukuba Laboratories, Nemoto Science Co., Ltd., Ibaraki

Summary: Esmolol, an ultra-short-acting beta-adrenergic blocker, is a racemate. In this study, to compare the stereoselective pharmacokinetics of enantiomers, we have investigated the blood level profile after a single intravenous administration (10 mg/kg) of ^{14}C -esmolol hydrochloride (^{14}C -esmolol) to dogs. The distribution into the heart, a target organ, was tested after a single intravenous administration (20 mg/kg) of ^{14}C -esmolol to rats. Each enantiomer was tested for metabolic conversion by blood esterase (*in vitro*), and the protein binding. In addition, the chiral inversion was investigated using human (*in vitro*) and dog blood (*in vitro* and *in vivo*).

1. The blood concentration and the AUC of *d*-esmolol were 1.6-fold higher than those of *l*-esmolol, and the half-life of *d*-esmolol was 1.7-fold longer than that of *l*-esmolol after administration of ^{14}C -esmolol to dogs.

2. The half-life of *d*-esmolol was 1.4-fold longer than that of *l*-esmolol after incubation with dog blood, whereas no stereoselective difference was found in human blood.

3. The concentration in the heart showed no significant difference between two enantiomers after administration of ^{14}C -esmolol to rats.

4. The chiral inversion was found neither in blood after administration of ^{14}C -*d*-esmolol or ^{14}C -*l*-esmolol to dogs nor in human and dog blood after the *in vitro* incubation.

5. There was no significant difference in protein bindings of each enantiomer after the *in vitro* incubation with human, dog and rat serum, and the bound fraction was the highest in human, followed by dog and rat serum.

In conclusion, these findings suggest that pharmacokinetics of enantiomers slightly differ in dog, whereas there are no stereoselective differences in human blood kinetics.

Key words: Esmolol, Enantiomer, Rat, Dog, Human, Intravenous administration, Protein binding

緒 言

Esmolol は, Dupont Merck 社において開発された心臓に対して高い選択性を有する超短時間作用型 β 遮断薬であり, 分子内に不斉炭素を 1 原子有したラセミ体である^{1,2)}. この超短時間作用は血中エステラーゼによる急速な酵素的加水分解によることが報告されている³⁻⁵⁾. Esmolol の体内動態はラセミ体としての試験成績が主に報告されており^{4,5)}, 光学異性体間での体内動態の比較については明らかにされていない. そこで本研

究では, 血液および心臓中のエスモロール光学異性体について光学分割カラムを用いた分離定量法を確立し, ^{14}C 標識 esmolol を静脈内投与したときのイヌ血液中動態およびラット心臓中濃度推移ならびにイヌおよびヒト血液中での *in vitro* 代謝について光学異性体間で比較するとともに, イヌおよびヒト血液中での光学異性体相互変換についても検討した. また血清中のエスモロール定量法を確立し, ラット, イヌおよびヒトの血清蛋白結合率について光学異性体間で比較した.

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

* : Labeled position with ^{14}C

★ : Chiral center

実験材料および方法

1. 実験材料

1) 標識化合物

^{14}C 標識 esmolol (^{14}C -esmolol : Lot No. M-990630 および M-000229), ^{14}C 標識 *d*-esmolol (^{14}C -*d*-esmolol : Lot No. M-990812-D) および ^{14}C 標識 *l*-esmolol (^{14}C -*l*-esmolol : Lot No. M-990806-L) は株式会社ネモト・サイエンスで合成されたものを使用した (Fig. 1). 比放射能はいずれも 6.24 MBq/mg であり, TLC および HPLC で測定した放射化学的純度はいずれも 97% 以上であった.

2) 非標識化合物

非標識 esmolol (esmolol : Lot No. Ru082 および Ru074, 含量 : 100.0%) は Finorga 社で, 非標識 *d*-esmolol (*d*-esmolol : Lot No. C97056-4, 含量 : 96.8%, 光学的純度 95.1%) および非標識 *l*-esmolol (*l*-esmolol : Lot No. C97056-2, 含量 : 97.8%, 光学的純度 : 93.6%) は ㈱東レリサーチセンターで合成されたものを使用した.

3) 試薬

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の内標準物質には *l*-塩酸プロプラノロール (アルドリッチ社) および *p*-ヒドロキシ安息香酸メチル (和光純薬) を, その他の試薬は HPLC 用または市販特級品を使用した.

2. 実験動物および生体試料

1) 実験動物

血液中動態試験には雄性的 TOYO ビーグル (10 ヶ月齢, 体重 10.8~12.2 kg : ㈱北山ラベス) を用いた. 動物は温度 22~30°C, 湿度 55~93%, 換気回数 10 回以上/時間, 7~19 時までの 12 時間照明の環境下で, ステンレス製飼育ケージ (685 W × 735 D × 650 H mm) に 1 匹ずつ収容して飼育した. 飼料は DS-5 (オリエンタル酵母) を 1 日 1 回約 250 g 与え, 水は水道水を自由に摂取させた.

組織 (心臓) 分布試験には雄性的 SD 系ラット (7 週齢, 体重 224~269 g : ㈱日本チャールス・リバー) を用

いた. 動物は温度 23~25°C, 湿度 32~87%, 換気回数 10 回以上/時間, 7~19 時までの 12 時間照明の環境下で, 金網床金属製ケージ (239 W × 200 D × 195 H mm) に 1~5 匹ずつ収容し, 投与後は 1 匹ずつ収容した. 飼料は CE-2 (㈱日本クレア) を, 水は水道水を自由に摂取させた.

2) 生体試料

分析法バリデーションおよび *in vitro* 代謝実験には, 雄性ビーグル (1 歳 2 ヶ月~6 歳 1 ヶ月齢; ㈱ナルク) および男性ボランティア (20~25 歳) の血液 (ヘパリン処理済) を使用した.

血清蛋白結合率の測定には SD 系雄性ラット (7 週齢; ㈱日本 SLC), 雄性ビーグル (㈱日本クレア) および男性ボランティア (24~36 歳) の血清を使用した.

3. *In Vivo* における体内動態

1) 投与液の調製および投与

イスの試験では ^{14}C -esmolol, ^{14}C -*d*-esmolol および ^{14}C -*l*-esmolol をそれぞれの非標識体とともに注射用蒸留水に溶解し, 50 mg/mL (^{14}C -esmolol : 8.85 MBq/mL, ^{14}C -*d*-esmolol : 8.95 MBq/mL, ^{14}C -*l*-esmolol : 9.15 MBq/mL) の溶液を調製し, それぞれ 10 mg/0.2 mL/kg の用量で桡側皮静脈内に投与した.

ラットの試験では ^{14}C -esmolol を非標識体とともに生理食塩液に溶解し, 20 mg/mL (3.90 MBq/mL) の溶液を調製し, 20 mg/mL/kg の用量で尾静脈内に投与した.

2) 生体試料の採取

イスの試験では ^{14}C -esmolol を静脈内投与後 2, 5, 10, 20, 30 分および 1 時間後に, ^{14}C -*d*-esmolol あるいは ^{14}C -*l*-esmolol は静脈内投与後 5, 20 分, 1, 4 および 8 時間後に桡側皮静脈から 2~3 mL 採血した.

ラットの試験では ^{14}C -esmolol を静脈内投与後 2, 5, 20 分および 2 時間後にエーテル麻酔下, 腹大動脈より脱血致死させ, 心臓を摘出した.

3) *d*-esmolol および *l*-esmolol 濃度の測定

イス血液およびラット心臓を前処理後, HPLC で光学異性体を分離した. 得られた溶出液を放射能測定用容器に分取し, 液体シンチレータ Hionic-Fluor (Packard) を加えて放射能を測定した.

4. *In Vitro* における代謝実験

イスまたはヒト血液 0.5 mL を 15 mL 遠心チューブに取り, 37°C で 5 分間ブレインキュベートした後, *d*-esmolol または *l*-esmolol を 5 および 20 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加して反応を開始した. インキュベーション時間は 0, 5, 10, 20, 40 および 60 分間とし, 所定時間インキュベート後, 氷中に移してジクロロメタンを加えて反応を停止させた. 反応液に内標準物質 (I.S.) を加えて前処

理し、HPLC で光学異性体を分離測定した。

5. *In Vitro* における血清蛋白結合率

ラット、イスまたはヒト血清 1.9 mL を 15 mL 遠心チューブに取り、37°C で 2 分間プレインキュベートした後、*d*-esmolol または *l*-esmolol を 0.2, 0.5, 2 および 5 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加して反応を開始した。2 分間のインキュベーション後、その 1.0 mL をセントリフリー MPS-3 (アミコン) に取り、遠心分離 (2000 g, 20 分間) した。遠心分離後の濾液に *p*-ヒドロキシ安息香酸メチル (I.S.) を加えて、HPLC でエスモロール濃度を測定した。

6. 試料の前処理

1) 血液

In vivo 試験ではイス血液 200 μL にアセトニトリル 400 μL を添加後、遠心分離 (7200 g, 5 分間) し、得られた上清 400 μL に esmolol 水溶液 (1 mg/mL) を 40 μL 添加した。この試料 100 μL を HPLC に供した。

In vitro 試験ではイスまたはヒト血液 0.5 mL に、ジクロロメタン 5 mL, 0.2 M 水酸化ナトリウム溶液 50 μL , 内標準物質 (I.S.) として *l*-塩酸プロプラノロール溶液 (50 $\mu\text{g/mL}$) 10 μL を加え、10 分間振盪後、遠心分離 (2000 rpm, 10 分間) した。有機相を分取し、0.02 M 水酸化ナトリウム溶液 5 mL を加え、さらに 10 分間振盪後、遠心分離 (2000 rpm, 10 分間) した。有機相を分取し、0.025 M 硫酸溶液 200 μL を加え、1 分間振盪後、遠心分離 (2000 rpm, 5 分間) し、得られた水相 50 μL を HPLC に供した⁶⁾。

2) 心臓

ラット心臓に 62.5 $\mu\text{g/mL}$ の esmolol を含む 10 mM フッ化ナトリウム水溶液を加えて 20% ホモジネートを調製した。そのうち 400 μL にアセトニトリル 800 μL を加え、遠心分離 (1500 g, 10 分間) して上清を取り、さらに沈渣にアセトニトリル 800 μL を加えて遠心分離 (1500 g, 10 分間) した上清と合わせた。これを窒素気流下で乾固後、HPLC 移動相 100 μL を加えて溶かし、その 50 μL を HPLC に供した。

3) 血清

ラット、イスおよびヒト血清 0.6 mL に水 0.9 mL を加えて混和した後、その 1.25 mL を Sep-pak C₁₈ light (日本ウォーターズ) に注入し、0.25 mM リン酸水溶液 2 mL で洗浄した。0.25 mM リン酸水溶液-アセトニトリル (70 : 30 v/v) 0.5 mL で溶出し、その 0.39 mL に I.S. として *p*-ヒドロキシ安息香酸メチル (40 $\mu\text{g/mL}$) 10 μL を加え、100 μL を HPLC に供した。

7. HPLC 条件

1) 光学異性体分離測定

In vivo 試験ではポンプ Model 305 (GILSON), カラムオープン L-7300 (日立), 紫外検出器 L-7420 (日立) で構成された HPLC システムを使用し、試料の注入にはインジェクタ 7725i (Rheodyne) を使用した。

In vitro 試験ではポンプ CCPM-II (東ソー), オートサンプラー AS-8020 (東ソー), カラムオープン AO-30C (昭和電工), 紫外検出器 UV-8011 (東ソー) およびデータ処理ソフト LC-8020 (東ソー) で構成された HPLC システムを使用した。

カラムは Chiral CD-Ph (4.6 mm I.D. $\times$ 250 mm; 資生堂) を使用し、イスおよびラット試料は移動相に過塩素酸ナトリウム溶液/アセトニトリル (50 : 50 v/v) を用いて流速 0.7 mL/min で、ヒト試料は過塩素酸ナトリウム溶液/アセトニトリル (55 : 45 v/v) を用いて流速 0.5 mL/min で溶出させ、ともに UV 229 nm で検出した。

2) エスモロール濃度測定

HPLC システムはポンプ CCPM-II (東ソー), オートサンプラー AS-8020 (東ソー), カラムオープン CO-8020 (東ソー), 紫外検出器 UV-8020 (東ソー) およびデータ処理装置 SC-8020 (東ソー) で構成されたものを使用した。カラムは TSK-gel ODS-80Ts (4.6 mm I.D. $\times$ 250 mm; 東ソー) を使用し、A 液に 0.02 M リン酸緩衝液 (pH 4.0) を、B 液にアセトニトリル-0.02 M リン酸緩衝液 (80 : 20 v/v) を用いたグラジエント (Table I) により流速 1.0 mL/min で溶出させ、UV 229 nm で検出した。

8. 放射能の測定

放射能は液体シンチレーションカウンタ LCS-3500 (Aloka), LCS-5100 (Aloka) または LS6000 (Beckman) により 5 分間測定した。計数効率は外部標準線源法により補正し、定量限界値はバックグランド値の 2 倍とした。

9. 試験成績の表示

1) イスにおける血液中動態

血液中濃度は各試料中の放射能の計数値から算出した。

Table I Gradient condition of HPLC for esmolol quantitation

Time (min)	A sol. (%)	B sol. (%)
0.0	78	22
14.0	55	45
14.5	0	100
19.5	0	100
20.0	78	22

^{14}C -esmolol を投与して求めた血液中 *d*-esmolol および *l*-esmolol 濃度値から、薬物動態パラメータとして半減期 ($t_{1/2}$) および血液中濃度-時間曲線下面積 (AUC) を Win Nonlin (Ver. 1.1; Parsight Corporation) により算出した。数値は平均値および標準偏差 (S.D.) で示した。例数の過半数の個体が定量限界未満の場合は平均値を定量限界未満として表示し、半数以下の個体が定量限界未満の場合には、定量限界未満の個体値を 0 として平均値を算出した。

2) ラットにおける心臓中濃度推移

心臓中濃度は各試料中の放射能の計数値から esmolol 当量に換算して表示し、平均値および S.D. で示した。例数の過半数の個体が定量限界未満の場合は平均値を定量限界未満として表示し、半数以下の個体が定量限界未満の場合には、定量限界未満の個体値を 0 として平均値を算出した。

3) *In vitro* における代謝

血液中の *d*-esmolol および *l*-esmolol 量は、各光学異性体と I.S. とのピーク面積比で示し、インキュベーション時間を X、ピーク面積比の常用対数を Y として最小二乗法による一次回帰分析を行い、傾き (Slope) から下記の式により半減期 ($t_{1/2}$) を求めた。

$$t_{1/2} = -\log 2 / \text{Slope}$$

4) *In vitro* における血清蛋白結合率

血清蛋白結合率は、各光学異性体の調製濃度 (Ct) と測定した血清濾液中の *d*-esmolol および *l*-esmolol 濃度値 (非結合型濃度: Cf) から下記の式により算出し、平均値および S.D. で示した。

$$\text{血清蛋白結合率 (\%)} = (\text{Ct} - \text{Cf}) / \text{Ct} \times 100$$

結 果

1. 分析法バリデーション

1) 血液中光学異性体の分離定量

イスおよびヒト血液に *d*-esmolol, *l*-esmolol および I.S. を添加したときのクロマトグラムを Fig. 2 に、分析能パラメータを Table II に示した。イスでは *l*-esmolol は 8.40 分、*d*-esmolol は 9.30 分、I.S. は 10.23 分に溶出され、これらのピークの溶出位置に妨害する内因性夾雑物のピークは認められず、*l*-esmolol と *d*-esmolol および *d*-esmolol と I.S. の分離度はそれぞれ 2.63 および 2.55 であった。相関係数は 0.25~10 $\mu\text{g/mL}$ (定量限界値: *d*-esmolol, *l*-esmolol とともに 0.25 $\mu\text{g/mL}$) の範囲で *d*-esmolol, *l*-esmolol とともに 1.000 であり、良好な直線性を示した。変動係数 (C.V. %) は 0.25~10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で *d*-esmolol が 1.0~4.8%, *l*-esmolol が 1.0~2.3% であり、血液からの回収率は *d*-esmolol が 88.4~93.8%, *l*-esmolol が 82.3~88.8% であった。

ヒトでは *l*-esmolol は 12.56 分、*d*-esmolol は 13.76 分、I.S. は 15.74 分に溶出され、これらのピークの溶出位置に妨害する内因性夾雑物のピークは認められず、*l*-esmolol と *d*-esmolol および *d*-esmolol と I.S. の分離度はそれぞれ 2.73 および 4.19 であった。相関係数は 0.25~15 $\mu\text{g/mL}$ (定量限界値: *d*-esmolol, *l*-esmolol とともに 0.25 $\mu\text{g/mL}$) の範囲で *d*-esmolol, *l*-esmolol とともに 1.000 であり、良好な直線性を示した。C.V. 値は 0.25~15 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で *d*-esmolol が 1.0~4.0%, *l*-es-

Fig. 2 HPLC chromatograms obtained from dog (left) and human (right) blood added *d*-esmolol (5 $\mu\text{g/mL}$), *l*-esmolol (5 $\mu\text{g/mL}$) and I.S. (1 $\mu\text{g/mL}$)

Table II Variability of an analytical method and recovery of an analyte in an assay (blood)

Species	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	<i>d</i> -esmolol		<i>l</i> -esmolol	
		C.V. (%)	Recovery (%)	C.V. (%)	Recovery (%)
Dog	0.25	4.8	93.8	2.3	82.3
	2.5	1.2	88.4	1.2	88.6
	10	1.0	88.5	1.0	88.8
Human	0.25	4.0	97.3	3.2	97.0
	5	1.0	90.3	0.8	90.5
	15	2.1	89.2	2.1	89.0

Each value represents the mean ($n=5$).

Table III Variability of an analytical method and recovery of an analyte in an assay (serum)

Species	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	C.V. (%)	Recovery (%)
Rat	0.2	3.0	95.7
	1	6.6	82.6
	5	2.0	81.9
Dog	0.2	2.9	112.0
	1	3.4	95.4
	5	3.2	102.6
Human	0.2	3.0	108.5
	1	3.2	98.8
	5	4.0	100.0

Each value represents the mean ($n=5$).

molol が 0.8~3.2% であり、血液からの回収率は *d*-esmolol が 89.2~97.3%, *l*-esmolol が 89.0~97.0% であった。

2) 血清中エスモロールの定量

ラット、イスおよびヒト血清中エスモロール定量法の分析能パラメータを **Table III** に示した。いずれの血清試料においても esmolol および I.S. の溶出位置に妨害する内因性夾雑物のピークは認められず、相関係数は 0.1~5 $\mu\text{g/mL}$ の範囲(定量限界: ラット, イスおよびヒトともに 0.2 $\mu\text{g/mL}$)でラット, イスおよびヒトともに 0.999~1.000 であった。C.V. 値は 0.2~5 $\mu\text{g/mL}$ の範囲でラット, イスおよびヒトでそれぞれ 2.0~6.6%, 2.9~3.4% および 3.0~4.0% であった。血清からの esmolol の回収率は、ラットで 81.9~95.7%, イスで 95.4~112.0%, ヒトで 98.8~108.5% であった。

2. イスにおける血液中動態

イスに ^{14}C -esmolol を 10 mg/0.2 mL/kg の用量で単回静脈内投与後の *d*-esmolol および *l*-esmolol 血液中濃度推移を **Fig. 3** に、薬物動態パラメータを **Table IV** に示した。 ^{14}C -esmolol を投与 2 分後の血液中 *d*-esmolol および *l*-esmolol 濃度はそれぞれ 1.26 $\mu\text{g/mL}$ お

Fig. 3 Concentration of *d*-esmolol and *l*-esmolol in blood after an intravenous administration of ^{14}C -esmolol to male dogs
Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

Table IV Pharmacokinetic parameters of *d*-esmolol and *l*-esmolol after an intravenous administration of ^{14}C -esmolol to male dogs

	<i>d</i> -esmolol	<i>l</i> -esmolol
$T_{1/2}$ (min)	2.5 ± 0.2	1.5 ± 0.1
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$)	0.137 ± 0.026	0.089 ± 0.012

Each value represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

および 0.899 $\mu\text{g/mL}$ で、その後 *d*-esmolol は 2.5 分、*l*-esmolol は 1.5 分の半減期で減少した。*d*-esmolol は投与 20 分後、*l*-esmolol は投与 10 分後には定量限界未満となり、*l*-esmolol の方が *d*-esmolol より血液からの消失は速かった(1.7 倍)。いずれの測定時点においても血液中の *d*-esmolol 濃度は *l*-esmolol 濃度より高く、AUC は *d*-esmolol (0.137 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$) の方が *l*-esmolol (0.089 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$) より 1.6 倍高かった。

イスに ^{14}C -*d*-esmolol あるいは ^{14}C -*l*-esmolol を 10 mg/0.2 mL/kg の用量で単回静脈内投与後の *d*-esmolol および *l*-esmolol 血液中濃度を **Table V** に示した。 ^{14}C -

d-esmolol を投与 5 分後の血液中 *d*-esmolol 濃度は 0.504 $\mu\text{g/mL}$ を示し, 投与 20 分後には定量限界未満となり, *l*-esmolol はいずれの測定時点においても認められなかった. ^{14}C -*l*-esmolol を投与 5 分後の血液中 *l*-esmolol 濃度は 0.093 $\mu\text{g/mL}$ を示し, 投与 20 分後には定量限界未満となり, *d*-esmolol はいずれの測定時点においても認められなかった.

3. *In Vitro* における血清蛋白結合率

ラット, イヌあるいはヒト血清に 0.2, 0.5, 2 および 5 $\mu\text{g/mL}$ となるように *d*-esmolol あるいは *l*-esmolol を添加したときの *d*-esmolol および *l*-esmolol の血清蛋白結合率を Table VI に示した. ラットにおける血清蛋白結合率は *d*-esmolol で 27.9~29.3%, *l*-esmolol で 25.6~31.7%, イヌではそれぞれ 37.0~41.5%, 35.4~36.3%, ヒトではそれぞれ 37.6~39.0%, 42.1~46.4% と 0.2~5 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲ではほぼ一定の値を示した. どの種においても光学異性体間で蛋白結合率に顕著な差は認められず, いずれも比較的低値であった. また, 血清蛋白に対する結合率はヒト, イヌ, ラットの順に高かった.

4. ラットにおける心臓中濃度推移

ラットに ^{14}C -esmolol を 20 mg/mL/kg の用量で単回

静脈内投与後の *d*-esmolol および *l*-esmolol 心臓中濃度推移を Fig. 4 に示した. ^{14}C -esmolol を投与 2 分後の心臓中 *d*-esmolol および *l*-esmolol 濃度はそれぞれ 13.1 $\mu\text{g/g}$ および 12.5 $\mu\text{g/g}$ で, その後 *d*-esmolol, *l*-esmolol ともにほぼ同一の速度で速やかに減少し, 投与 20 分後にはいずれも 0.5 $\mu\text{g/g}$ まで低下した. 心臓への分布量およびその濃度推移に光学異性体間で差はなかった. なお本法による心臓からの *d*-esmolol および *l*-esmolol の回収率は 96.0~98.2% であった.

Fig. 4 Concentration of each enantiomer in heart after an intravenous administration of ^{14}C -esmolol to male rats. Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

Table V Concentration of each enantiomer in blood after an intravenous administration of ^{14}C -*d*-esmolol or ^{14}C -*l*-esmolol to male dogs

Time	Administration of ^{14}C - <i>d</i> -esmolol		Administration of ^{14}C - <i>l</i> -esmolol	
	<i>d</i> -esmolol ($\mu\text{g/mL}$)	<i>l</i> -esmolol ($\mu\text{g/mL}$)	<i>d</i> -esmolol ($\mu\text{g/mL}$)	<i>l</i> -esmolol ($\mu\text{g/mL}$)
5 min	0.504	<LOQ	<LOQ	0.093
20 min	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1 hr	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
4 hr	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
8 hr	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

<LOQ : Below the limit of quantitation
Each value represents the mean ($n=2$).

Table VII The half-lives of *d*-esmolol and *l*-esmolol in dog and human blood (*in vitro*)

Species	$T_{1/2}$ (min)	
	<i>d</i> -esmolol	<i>l</i> -esmolol
Dog ¹⁾	18.7	13.7
Human ²⁾	34.8	33.1

1) The values were obtained from the pooled sample ($n=3$).
2) The values represent the mean ($n=3$).

Table VI Protein binding of *d*-esmolol and *l*-esmolol to serum protein

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Protein binding (%)					
	<i>d</i> -esmolol			<i>l</i> -esmolol		
	Rat	Dog	Human	Rat	Dog	Human
0.2	28.8 $\pm$ 1.1	37.9 $\pm$ 2.3	37.6 $\pm$ 0.4	31.7 $\pm$ 1.5	35.8 $\pm$ 1.0	43.9 $\pm$ 1.6
0.5	27.9 $\pm$ 1.3	37.0 $\pm$ 2.4	37.6 $\pm$ 2.9	30.0 $\pm$ 2.6	36.3 $\pm$ 0.4	46.4 $\pm$ 1.2
2	29.3 $\pm$ 1.2	40.9 $\pm$ 2.4	38.1 $\pm$ 1.1	26.6 $\pm$ 0.7	35.4 $\pm$ 2.5	42.1 $\pm$ 1.5
5	28.2 $\pm$ 0.9	41.5 $\pm$ 2.3	39.0 $\pm$ 2.8	25.6 $\pm$ 1.3	35.7 $\pm$ 2.5	45.2 $\pm$ 2.5

Each value represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

Fig. 5 Peak area ratio for I.S. of *d*-esmolol and *l*-esmolol after incubation of *d*-esmolol and *l*-esmolol with dog (1) and human (2) blood
Each point represents the mean ($n=3$).

5. *In Vitro* における代謝

イスあるいはヒト血液に 5 および 20 µg/mL となるように *d*-esmolol あるいは *l*-esmolol を添加し、37°C でインキュベートした後の血液中 *d*-esmolol および *l*-esmolol 量の推移を Fig. 5 に、それぞれの半減期を Table

VII に示した。*d*-esmolol および *l*-esmolol をイスあるいはヒト血液とインキュベートしたとき、*d*-esmolol はイスで 18.7 分、ヒトで 34.8 分の半減期で、*l*-esmolol はイスで 13.7 分、ヒトで 33.1 分の半減期で減少し、いずれの場合も相対する光学異性体の生成は認められなか

った。血液中での *d*-esmolol および *l*-esmolol の半減期はイヌの方がヒトより短かった。また、イヌでは *l*-esmolol の方が *d*-esmolol より半減期は短く、ヒトでは光学異性体間で差はみられなかった。

考 察

イヌおよびヒト血液中光学異性体の分離定量法、ラット心臓中光学異性体の分離定量法およびラット、イヌ、ヒト血清中エスモロール定量法を確立し、これらの方法を用いて ^{14}C 標識 esmolol (^{14}C -esmolol) を単回静脈内投与したときのイヌにおける血液中動態およびラットにおける心臓中濃度推移、血液中 (*in vitro*) での代謝ならびにラット、イヌ、ヒトでの血清蛋白結合率 (*in vitro*) について光学異性体間で比較検討し、さらにイヌ血液中 (*in vivo* および *in vitro*) およびヒト血液中 (*in vitro*) での光学異性体の相互変換について検討した。

イヌ血液中光学異性体の分離定量ではジクロロメタンによる血液からの抽出と光学分割カラムを用いた分析法により、血液中 *d*-esmolol および *l*-esmolol 濃度が $0.25 \sim 10 \mu\text{g/mL}$ の範囲で良好な分離 (分離度 2.63) と定量精度 (変動係数 8% 以下) が得られた。ヒト血液では内因性夾雑物の影響を避けるために、イヌ血液中の測定法とは移動相の組成および流速を変えた条件で検討し、イヌと同様な分析精度が得られた。ラット、イヌ、ヒト血清中エスモロールの定量においても良好な分離精度を得た。

^{14}C -esmolol をイヌに静脈内投与したときの光学異性体の血液中動態において、*d*-esmolol の方が *l*-esmolol に比べ血液中濃度および AUC は高く、半減期は *l*-esmolol (1.5 分) の方が *d*-esmolol (2.5 分) より短かった。また、イヌ血液中の *in vitro* での半減期についても同様に *l*-esmolol (13.7 分) のほうが *d*-esmolol (18.7 分) より短かったことから、イヌ血液中におけるエステラーゼによる代謝には立体選択性があることが示された。一方、ヒト血液中の *in vitro* での半減期は、光学異性体間で差はみられず (*d*-esmolol : 34.8 分, *l*-esmolol : 33.1 分)、ヒト生体内において光学異性体間の消失半減期に差はないことが示唆された。これらの結果は、esmolol の代謝酵素である血中エステラーゼの酵素活性および立体選択性に種差があることを示唆しており、Quon らの報告⁷⁾ に一致した。また、イヌ血液中における *d*-esmolol と *l*-esmolol の消失半減期は *in vitro* に比べ *in vivo* で短く、ヒトにおいても *in vivo* (消失半減期 : 9 分)⁴⁾ の方が短かった。これは *in vivo* において esmolol の分布容積が大きいこと⁸⁾、*in vivo* の酵素活性は *in vitro* に比べて維持されていること、*in vivo* では esmolol の加水分解代謝物が速やかに尿中に排泄される⁸⁾ ため、反応速度が減少しないこと等が原因として考えられる。

血清蛋白に対する結合率はヒト (約 41%)、イヌ (約 37%)、ラット (約 29%) の順に高く、どの種においても $0.2 \sim 5 \mu\text{g/mL}$ の範囲内ではほぼ一定の値を示した。またラット、イヌおよびヒト血清における *d*-esmolol と *l*-esmolol の蛋白結合率に光学異性体間で差は認められなかった。

^{14}C -esmolol をラットに静脈内投与したときの心臓への分布量 (投与 2 分後で約 $13 \mu\text{g/g}$) およびその濃度推移は光学異性体間で差がなかった。膜通過が薬物の脂溶性に基づく受動拡散の場合、物性が同等な光学異性体間では分布に差は認められない。分布に差が認められるのは、蛋白結合率に差がある場合や膜通過に担体輸送系が関与している場合である⁹⁾。Esmolol の場合は蛋白結合率に光学異性体間で差がなかったことから心臓への移行は脂溶性にのみ依存した受動拡散と考えられる。また、*d*-esmolol と *l*-esmolol の濃度推移に差が認められなかったことから、心臓中のエステラーゼによる立体選択的代謝は血中エステラーゼほど顕著ではないものと推察される。

^{14}C -*d*-esmolol あるいは ^{14}C -*l*-esmolol をイヌに単回静脈内投与したときの血液中に、それぞれ相対する光学異性体は認められなかった。また、イヌおよびヒト血液に *d*-esmolol あるいは *l*-esmolol を添加し、 37°C でインキュベートしたときの血液中においても相対する光学異性体の生成は認められなかったことから、ヒト生体内で esmolol の光学異性体変換は起こらないものと考えられる。

一般に esmolol のような静脈内投与の薬物について光学異性体間で体内動態に差が生じることの原因としては、代謝酵素が立体選択性を有すること、血液中で光学異性体変換が起こること、蛋白結合に起因する分布に差があることなどが考えられる。本実験においてイヌ血液中では esmolol の光学異性体変換が起こらないことおよび蛋白結合率に差がないことが確認されたことから、光学異性体間の血中動態の差は esmolol の代謝酵素である血中エステラーゼの立体選択性に起因すると考えられる。一方、ヒトでは *in vitro* の半減期 (血中エステラーゼによる代謝速度) および蛋白結合率に異性体間で差はなく、光学異性体変換も認められなかったことから、esmolol をヒトに投与したときの体内動態において光学異性体間で差がないものと推察される。また、ラットにおける esmolol の心臓分布は受動拡散と考えられ、受動拡散による膜の透過性には顕著な種差はない¹⁰⁾ ことから、ヒトにおける心臓への分布は *d*-esmolol と *l*-esmolol で差はないことが示唆される。

要 約

Esmolol の ^{14}C 標識体をイヌおよびラットにそれぞれ

10 mg/kg および 20 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血液中動態(イス)と、標的臓器である心臓中の濃度推移(ラット)および血液中(*in vitro*)での代謝について光学異性体間で比較し、またイスおよびヒト血液中での光学異性体変換について検討した。さらに、血清蛋白結合率(ラット、イス、ヒト)について光学異性体間で比較した。

1. イスに ^{14}C -esmolol を単回静脈内投与したときの血液中濃度および AUC は *d*-esmolol の方が *l*-esmolol より 1.6 倍高く、半減期は *d*-esmolol の方 *l*-esmolol より 1.7 倍長かった。

2. イスおよびヒト血液に *d*-esmolol あるいは *l*-esmolol を添加し、37°C でインキュベーションして測定した半減期は、イスでは *d*-esmolol の方が *l*-esmolol より 1.4 倍長く、ヒトでは光学異性体間で差はみられなかった。また、イスの方がヒトより半減期は短かった。

3. ラットに ^{14}C -esmolol を単回静脈内投与したときの心臓への分布量および濃度推移は光学異性体間で差はみられなかった。

4. イスに ^{14}C -*d*-esmolol あるいは ^{14}C -*l*-esmolol を単回静脈内投与したときの血液中には、それぞれの相対する光学異性体は認められず、またイスおよびヒト血液に *d*-esmolol あるいは *l*-esmolol を添加し、37°C でインキュベートしたときの血液中には、それぞれの相対する光学異性体の生成はみられなかった。

5. ラット、イスおよびヒト血清における *d*-esmolol と *l*-esmolol の蛋白結合率に差は認められなかった。また、血清蛋白に対する結合率はヒト、イス、ラットの順に高かった。

文 献

- 1) Gorczynski R. J., Shaffer J. E. and Lee R. J.: Pharmacology of ASL-8052, a novel β -adrenergic receptor antagonist with an ultra-short duration of action. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **5**: 668-677 (1983).
- 2) Zarosinski J., Borgman R. J., O'Donnell J. P., Anderson W. G., Erhardt P. W., Kams S. T., Reyn R. D., Lee R. J., Gorczynski R. J.: Ultra-short-acting beta-blockers: A proposal for the treatment of the critically ill patient. *Life Sci.*, **31**: 899-907 (1982).
- 3) Quon C. Y. and Stampfli H. F.: Biochemical properties of blood esmolol esterase. *Drug Metab. Dispos.*, **13**: 420-424 (1985).
- 4) Sum C. Y., Yacobi A., Kartzinell R., Stampfli H. F., Davis C. S. and Lai C. M.: Kinetics of esmolol, an ultra-short-acting beta blocker, and of its major metabolite. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **34**: 427-434 (1983).
- 5) Reynolds R. D., Gorczynski R. J. and Quon C. Y.: Pharmacology and Pharmacokinetics of Esmolol. *J. Clin. Pharmacol.*, **26**(suppl): A3-A14 (1986).
- 6) Fan C. D., Zhao H. and Chow M. S. S.: Simple and rapid high-performance liquid chromatographic assay for esmolol. *J. Chromatogr.*, **570**(1): 217-223 (1991).
- 7) Quon C. Y., Mai K., Patil G. and Stampfli H. F.: Species differences in the stereoselective hydrolysis of esmolol by blood esterases. *Drug Metab. Dispos.*, **16**(3): 425-428 (1988).
- 8) 宮本好明, 村崎祐子, 岡村美弥子, 熊谷正道, 王鞍孝子, 河井祥一郎, 田村 隆, 高力 豊, 富澤宏樹: Esmolol のラットにおける体内動態, 薬物動態 **16**(5): 415-426 (2001).
- 9) 加藤隆一: 臨床薬物動態学—臨床薬理学・薬物療法の基礎として. 南江堂, 251-259 (1992).
- 10) 杉山雄一: ファーマコキネティクス研究の方法と技術—前臨床から臨床第 1 相へ—. 日本薬物動態学会, 127-130 (1993).