新規 β 遮断薬 Bisoprolol の生体内動態 (第1報)

ラットにおける吸収, 分布および排泄

山田 泰弘, 中原 美香, 内藤 一秋, 河野 通弘

大塚 峯三, 高市 雄之

田辺製薬株式会社 生物研究所 〒335 埼玉県戸田市川岸2-2-50

Key words : Bisoprolol/ β -Adrenoceptor antagonist/Absorption/Distribution/
Excretion/Melanin affinity/Protein binding/Rat

**Metabolic Fate of the New β -Adrenoceptor Antagonist, Bisoprolol,
in Animals (1) : Absorption, Distribution and Excretion
of ^{14}C -Bisoprolol in Rats**

Yasuhiro YAMADA, Mika NAKAHARA, Kazuaki NAITO, Michihiro KOHNO,
Minezo OTSUKA and Osasi TAKAITIBiological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.,
2-2-50, Kawagishi, Toda, Saitama 335, Japan**Summary**

The absorption, distribution and excretion of bisoprolol were studied in rats after oral or intravenous administration of ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg).

1. ^{14}C -Bisoprolol was readily and almost completely absorbed from the gastrointestinal tract.

2. Following oral administration, serum levels of radioactivity reached a maximum at 1 hr, and declined relatively rapidly with a half-life of 1.2 hr.

3. Maximum levels of radioactivity in most tissues were reached within 1 hr after oral administration, and high levels of radioactivity were observed in the liver, kidney and lung. At 24 hr, slight radioactivity was found only in the excretory organs.

4. Excretion of radioactivity was 70-80% and 15-25% of the dose in urine and feces, respectively, within 72 hr in either route of drug administration. No sex difference was observed in excretion of radioactivity.

5. Biliary excretion of radioactivity was 22-26% of the dose irrespective of dosage route, and partial reabsorption of biliary excreta occurred from the intestinal tract.

6. The extent of *in vitro* binding of ^{14}C -bisoprolol to plasma proteins of various animal species was 18-23% in rats, rabbits and dogs, while that in human was about 40%. The binding of bisoprolol to human plasma proteins was not affected by other co-administered drugs. In the *in vivo* experiment, the percent binding of ^{14}C -bisoprolol and/or its radioactive metabolites to the rat plasma protein was about 17% after the intravenous dose and about 8% after the oral dose.

7. Whole body autoradiograms obtained with pigmented rats demonstrated that specific binding of radioactivity to melanin containing tissues was noticed.

緒言

Bisoprolol hemifumarate, (±)-1-[*p*-(2-isopropoxyethoxy) methyl]-phenoxy]-3-isopropylamino-2-propanol hemifumarate (以下 bisoprolol と略) は、西独の E. Merck 社で開発された β_1 -選択性の高いアドレナリン受容体遮断薬である^{1,2,3)}。本薬物は、分子中に1個の不斉炭素を有するが、ラセミ体として開発されている。また、本薬物は中程度の脂溶性を有し、消化管からの吸収性も良く、薬効の持続性もあり、ヒトの肝臓と腎臓におけるクリアランスが、おのおのほぼ50%であることが知られ、临床上使用しやすい薬物として期待されている^{2,4,5)}。

今回、 ^{14}C -bisoprolol を albino ラットに単回経口あるいは静脈内投与したときの吸収、分布、排泄および有色ラットに単回経口投与時のメラニン色素顆粒層への移行性について検討したので報

告する。なお、光学異性体間の体内動態の差異の有無については別報で報告する^{6,7)}。

実験材料および実験方法

1. 標識化合物

実験に使用した ^{14}C -bisoprolol は、Fig. 1 に示すルートにより E. Merck 社の研究所で合成されたものである。その比放射能は $145 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ であり、薄層クロマトグラフィー (プレート: Kiesel gel 60 F₂₅₄, precoated, Merck; 展開溶媒: *n*-hexane/ CHCl_3 /MeOH/*i*-PrOH/ Et_3N =50:25:15:10:5, v/v) による放射化学的純度は97%以上であった。

2. 実験動物

実験には、7~9週齢の Wistar 系雄性ラット (体重 195~260g), 7~8週齢の同系の雌性ラット (体重 140~200g, いずれも SPF で日本チャールス・リバーあるいは静岡実験動物農業協同

Fig. 1. Synthetic routes of ^{14}C -bisoprolol

★: labeled position of ^{14}C .

組合より購入) および 7~8 週齢の Long Evans 系の雄性有色ラット (体重 180~220 g, 日本クレア) を用いた。これらの動物は約 1 週間の予備飼育を行ったのち、実験に使用した。経口投与の場合、薬物投与前一晩絶食させ、薬物投与 4 時間後より給餌を再開した。静脈内投与の場合、絶食は行わなかった。なお、いずれの動物も飲水は自由摂取とした。

血漿蛋白結合率の測定には、Wistar 系の雄性ラット (体重 175~240 g, 日本チャールス・リバー)、日本白色種雄性ウサギ (3.6~4.0 kg, 北山ラベス)、雄性ビーグル犬 (9~14 kg, 吉城ファーム) および健康成人男子志願者 (28~39 歳) の新鮮血漿を使用した。

3. 投与液の調製および投与方法

投与液は経口投与、静脈内投与用とも ^{14}C -bisoprolol を精製水に溶解し調製した。その 1 mg/kg を胃内あるいは大腿静脈内に単回投与した。なお、標識化合物は必要に応じ非標識の bisoprolol で希釈したのち、実験に使用した。

4. 血清中放射能濃度の測定

雄性ラットに ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg) を経口あるいは静脈内投与したのち、所定の時間に頸静脈より血液約 0.2 ml を採取した。得られた血液を約 20 分間放置後、遠心分離 (3,000 rpm, 15 分) し血清を得た。血清試料の 0.05~0.1 ml について、放射能を測定した。血清中放射能濃度は、投与液の比放射能から bisoprolol 当量に換算して、ng equiv./ml として表示した。

5. *In vivo* および *in vitro* における血漿蛋白結合率の測定

1) 添加液の調製

^{14}C -bisoprolol, enalapril および captopril は精製水に溶解し、それぞれ 100, 5 および 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に調製した。Trichlormethiazide および warfarin はエタノールに溶解し、それぞれ 10 および 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に調製した。

2) *In vitro* における血漿蛋白結合

血漿蛋白結合率は遠心限外濾過法により測定した。すなわち、ラット、ウサギ、イヌおよびヒトの血漿 1 ml をそれぞれ分取し、37°C で 5 分間ブレインキューベーションしたのち、 ^{14}C -bisoprolol を 1 μg 添加し、さらに同温で 15 分振とうした。つ

いで、セントリーフリー (MPS-3, アミコン) を用いて遠心限外濾過 (3,000 rpm, 15 分) した。濾過前の放射能濃度 (A) と濾液中の放射能濃度 (B) を測定したのち、次式により結合率を算出した。

$$\text{蛋白結合率 (\%)} = (1 - B/A) \times 100$$

3) *In vivo* における血漿蛋白結合

雄性ラットに ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg) を経口あるいは静脈内投与したのち、静脈内投与後 5 分あるいは経口投与後 30 分の時点で、エーテル麻酔下に腹部大動脈より採血した。ついで、遠心分離 (3,000 rpm, 10 min) し血漿を得たのち、遠心限外濾過法により結合率を測定した。

4) 併用薬共存時の bisoprolol の血漿蛋白結合

健康人から得た血漿各 1 ml を 37°C で 5 分間ブレインキューベーションしたのち、warfarin, captopril, enalapril あるいは trichlormethiazide を、それぞれ 5, 0.8, 0.05 あるいは 0.1 μg 添加したのち、 ^{14}C -bisoprolol を 1 μg 添加した。ついで、37°C で 15 分間インキュベート後、遠心限外濾過法により結合率を測定した。なお、対照実験として併用薬の代わりに精製水あるいはエタノールを添加した場合についても検討した。

6. 臓器・組織内放射能濃度の測定

雄性ラットに ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg) を経口投与したのち、投与後 30 分, 1, 3, 6 および 24 時間にエーテル麻酔下に腹部大動脈より採血し致死させた。ついで、所定の臓器・組織を摘出し、付着血液を生理食塩液で洗浄したのち、その一部または全部について溶解法により放射能を測定した。

臓器・組織内放射能濃度は、bisoprolol 当量に換算し $\mu\text{g equiv.}/\text{ml}$ (g) として表示した。本実験における検出限界は、血液で 0.004 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 下垂体で 0.14 $\mu\text{g}/\text{g}$, 甲状腺で 0.08 $\mu\text{g}/\text{g}$, 副腎で 0.02 $\mu\text{g}/\text{g}$, その他の組織では 0.003 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

7. 全身オートラジオグラフィ (全身 ARG)

雄性および雌性 albino ラットあるいは雄性有色ラットに、 ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg) を経口あるいは静脈内投与したのち、所定の時間にエーテル麻酔下にドライアイス/アセトン中に浸漬し凍

結した。凍結動物からオートクライオーム（中川製作所，NA-200 F）を用いて，厚さ 50 μm の全身薄切切片を採取した。得られた切片を凍結乾燥したのち，X線フィルム（DEF-5, Kodak）と密着させ，4 $^{\circ}\text{C}$ で 1～2 カ月間露出した。ついで，常法の写真処理を行い，全身オートラジオグラム（全身 ARGM）を得た。また，全身 ARGM の黒化度の評価は，Image Analysis System（RAS 1,000, Amersham）を用いて O.D. 値を測定することにより行った。

8. 尿および糞中排泄率の測定

雄性および雌性ラットに， ^{14}C -bisoprolol (1mg/kg) を経口あるいは静脈内投与した。投与後直ちに個別の代謝ケージに収め，自然に排泄された尿および糞を投与後 4，8，24，48 および 72 時間に分別採取した。採取した尿に精製水を加え希釈したのち，その一部について放射能を測定した。糞は一定量の精製水を加えポリトロンでホモジナイズしたのち，その一部を燃焼法により放射能を測定した。

9. 胆汁中排泄率の測定

ウレタン麻酔 (750 mg/kg, i.p.) した雄性ラットの総胆管にカニューレを挿入したのち，約 1 時間後に ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg) を経口あるいは静脈内投与した。投与後 1，2，4，6，8 および 24 時間までに排泄された胆汁を採取し，精製水で一定量に希釈したのち，その一部について放射能を測定した。

10. 腸肝循環

エーテル麻酔下に雄性ラットの総胆管にカニューレを挿入した。麻酔から覚醒後 ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg) を経口投与したのち，投与後 6 時間までに排泄された胆汁を氷水冷却下に採取した。この胆汁の一部 (1 mL) を胆管カニューレを施した別のラットの十二指腸内に注入し，ポールマンケージに収容した。注入後 2，4，6 および 24 時間までに排泄された胆汁と，24 時間尿および糞を採取した。また，24 時間後に全消化管を摘出した。それぞれの試料中の放射能を測定した。

11. 放射能の測定

血清，血漿，尿および胆汁試料は，その一部を Aquasol II (N.E.N.) 10～15 mL に直接溶解後，放射能を測定した。臓器・組織については，その

一部あるいは全部に組織溶解剤 Soluene 350 (Packard) 約 1 mL を加え加温溶解した。着色の見られた試料については，30% H_2O_2 を加え脱色した。ついで，Hionic fluor (Packard) 10 mL を加え放射能を測定した。糞および消化管は，精製水を加えポリトロンでホモジナイズしたのち，その一部をサンプルオキシダイザー (ASC-113, Aloka) で燃焼した。生成した $^{14}\text{CO}_2$ をモノエタノールアミン/メタノール (1:3, v/v) に吸収させたのち，トルエン系シンチレータを加え放射能を測定した。放射能の測定はすべて液体シンチレーションカウンター (460 CD, Packard) を用いて行い，また，計数効率の補正は外部標準源比法を用いた。

12. データの表示と処理

得られたデータは平均値±標準偏差 (S.D.) で表示した。薬物速度論的パラメータは，1-コンパートメントモデルを用いて算出した。血清中放射能濃度—時間曲線下面積 (AUC) は台形法で求め，これに無限時間外挿値を加えて算出した。

実験結果

1. 血清中放射能濃度の推移

雄性ラットに ^{14}C -bisoprolol を経口あるいは静脈内投与したときの血清中放射能濃度の推移を Fig. 2 に示した。

Fig. 2. Serum levels of radioactivity after oral (●) or intravenous (○) administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to male rats

Each point represents the mean and S.D. of six animals for the oral dose and five to seven animals for the intravenous dose.

静脈内投与した場合、投与5分後における血清中放射能濃度は 380 ng equiv./ml であり、血中から速やかに組織に移行していることが示された。その後15分から1時間にかけて再び血清中濃度は上昇し、1時間時の値は 460 ng equiv./ml となった、以後6時間まで半減期1.6時間で、比較的速度やかに消失した。投与24時間後における濃度はバックグランドレベルであった。投与後無限時間までの AUC は 1,479 ng equiv.·hr/ml であった。

経口投与時の血清中放射能濃度のピークは投与後1時間に認められ、そのときの濃度は 490 ng equiv./ml であり、静脈内投与時のそれより若干高かった。その後6時間まで半減期1.2時間で消失した。投与24時間後における濃度は、静脈内投与時と同様、バックグランドレベルとほぼ同程度であった。投与後無限時間までの AUC は 1,288 ng equiv.·hr/ml であった。経口および静脈内投与時の AUC の比較から、経口投与時の消化管からの吸収率を算出すると約87%であった。

2. *In vivo* および *in vitro* における血漿蛋白結合率

1) *In vitro* における血漿蛋白結合

^{14}C -bisoprolol と各種動物の血漿蛋白との *in vitro* における結合率を Table I に示した。ラット、ウサギ、イヌおよびヒト血漿に ^{14}C -bisoprolol を 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように添加した際の血漿蛋白結合率は、ラットで18.1%、ウサギで20.9%、イヌで22.4%と低かったが、ヒトでは39.3%とラットなどに比し高かった。

2) *In vivo* における血漿蛋白結合

雄性ラットに ^{14}C -bisoprolol を経口あるいは静脈内投与したときの血漿蛋白と、本薬物あるいは

Table I. Extent of *in vitro* binding of ^{14}C -bisoprolol (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) to plasma proteins of various animal species.

Plasma source	Percent of binding
Rat	18.1 $\pm$ 1.0
Rabbit	20.9 $\pm$ 2.5
Dog	22.4 $\pm$ 3.2
Human	39.3 $\pm$ 0.1

Each value represents the mean and S.D. of four animals.

Table II. Percent binding of radioactive substances to plasma protein after intravenous or oral administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to male rats.

Time after administration (route)	Plasma concentration ^{a)} (μg equiv./ml)	Percent of binding
5 min (i.v.)	0.26 $\pm$ 0.01	16.7 $\pm$ 1.8
30 min (p.o.)	0.45 $\pm$ 0.07	8.0 $\pm$ 3.2

Each value represents the mean and S.D. of five animals for the intravenous dose or six animals for the oral dose.

a) Plasma levels of radioactivity are expressed as μg equiv. of ^{14}C -bisoprolol.

その代謝物との結合率を Table II に示した。

血漿蛋白結合率は静脈内投与後5分の時点で16.7%、経口投与後30分で8.0%であり、*in vitro* における結合率と同程度か低い値であった。

3) Bisoprolol の血漿蛋白結合に及ぼす併用薬の影響

臨床上併用されると考えられる他薬物三種および warfarin が、本薬物の血漿蛋白結合に対して

Table III. Effect of several drugs on *in vitro* binding of ^{14}C -bisoprolol to human plasma protein.

Test drug	Percent of binding	
	Bisoprolol alone	Bisoprolol+Drug
Warfarin (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	33.0 $\pm$ 1.3	34.6 $\pm$ 1.9
Captopril (0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	39.5 $\pm$ 3.3	38.0 $\pm$ 1.6
Enalapril (0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	39.5 $\pm$ 3.3	40.6 $\pm$ 3.6
Trichlormethiazide (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	33.0 $\pm$ 1.3	32.5 $\pm$ 1.7

Each value represents the mean and S.D. of three male human volunteers.

Concentration of bisoprolol was 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of plasma.

Warfarin and trichlormethiazide were dissolved in ethanol and others were dissolved in water.

Fig. 3. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after oral administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to male rats

影響を及ぼすかどうかについて、ヒト血漿を用い *in vitro* で検討した。Table III で示されるように、これらの薬物はいずれも bisoprolol の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。

3. 全身オートラジオグラム (全身 ARGM)

1) 経口投与時の分布

雄性ラットに経口投与時の全身 ARGM を Fig. 3 に示した。全身における放射能濃度は投与1時間後が最も高かった。体内各組織における放射能濃度は、消化管内容を除いて、肝臓に最も高く、ついで腎臓、副腎、脾臓、唾液腺、肺、骨髄などが高かった。中枢神経系への放射能の移行は全組織中最も低かった。脳下垂体の濃度は血中濃度と同程度であった。また、精巣、精巣上体、眼組織への移行は骨格筋と同様であった。全身における放射能濃度は比較的速やかに低下し、投与24時間後では消化管内容に低濃度の放射能が観察されるのみで、他の組織ではほぼ消失していた。

雌性ラットに経口投与した際の全身 ARGM を Fig. 4 に示した。全身における放射能の分布状態は前述した雄性ラットに類似していた。

2) 静脈内投与時の分布

雌性ラットに静脈内投与したときの全身 ARGM を Fig. 5 に示した。投与5分後におい

て体内各組織の中で高い放射能濃度を示した組織は、肝臓、腎臓、肺、副腎、脾臓、唾液腺、骨格筋などであった。中枢神経系、精巣、精巣上体への放射能の移行は全組織中最も低いものであった。投与30分後の分布状態は、経口投与時の1時間時とほぼ類似していた。体内からの放射能の消失は比較的速やかであり、投与6時間では消化管内容に中程度の放射能が残存したが、他の組織では著しく低下していた。

雌性ラットに静脈内投与したときの全身 ARGM を Fig. 6 に示したが、全身 ARGM で観察する限り、経口投与時同様、雄性ラットにおける放射能の分布状態に類似するものであった。

3) 有色ラットにおける分布

雄性有色ラットに経口投与したときの全身 ARGM を Fig. 7 に示した。投与1時間後の全身における放射能の分布状態は、上述した albino ラットと類似するものであったが、melanin 色素顆粒層に富む眼組織のブドウ膜部分や毛胞に、albino ラットとは異なり、明らかな放射能の移行が認められた。この所見は、薬物の大部分が消失したと考えられる投与24時間後でより明白となった。その後放射能濃度は緩やかに低下し、投与5日後では毛胞における放射能濃度は観察されな

Fig. 4. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after oral administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to female rats

Fig. 5. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after intravenous injection of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to male rats

Fig. 6. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after intravenous administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to female rats

ったが、眼のブドウ膜部分には軽微ではあるが放射能の存在が認められた。投与10日後でも、この部分にかすかな放射能が観察された。Fig. 8 にブドウ膜部分における黒化度の O.D. 値の経時変化を示した。O.D. 値から見た放射能の消失は二相性 ($t_{1/2}$: 0.7 および 20 時間) であった。

4. 経口投与時の臓器・組織内放射能濃度

雄性ラットに ^{14}C -bisoprolol を経口投与した際の臓器・組織内放射能濃度を Table IV に示した。

組織中濃度はほとんどの組織において、投与後 1 時間が最も高かった。この時点で最も高い濃度を示した組織は肝臓であり、ついで腎臓、副腎、肺、唾液腺、脾臓、膵臓であった。これらの組織は、いずれも血漿中濃度より高い濃度を示し、血漿から組織中へ移行性の良いことが認められた。それ以外の組織は、いずれも血漿中濃度より低かった。この分布パターンは、他の時点においてもほぼ同様であった。

中枢神経系への移行は極めて少なく、対応する時点の血漿中濃度の 1/10 以下であった。精巣、脂肪における濃度も血漿中濃度より明らかに低かった。有色ラットで認められた眼球部分への移行

は、albino ラットでは少なく血漿中濃度の 1/3～1/5 であり、特別な親和性は認められなかった。また、血球への移行を全血、血漿中濃度から、ヘマトクリット値を 0.42 として求めたところ、いずれの時点においても血漿中濃度の 1/2～1/3 であった。

各組織からの放射能の消失は比較的速やかであり、投与 24 時間後においては、ほとんどの組織で検出限界付近あるいは以下の濃度となった。以上の所見は、上述の全身 ARGМ のそれと大略一致するものであった。

5. 尿および糞中排泄率

雄性および雌性ラットに、 ^{14}C -bisoprolol を経口あるいは静脈内投与した後の尿および糞中への放射能の累積排泄率を Table V に示した。

経口投与の場合、投与後 8 時間までの尿中に雄性ラットで投与量の 72.3%、雌性ラットで 72.0% が排泄された。72 時間までの累積排泄率はそれぞれ 76.8、77.4% に達した。72 時間までに排泄された放射能のうち 90% 以上が投与後 8 時間以内に排泄された。一方、糞中には投与後 24 時間までに雄性ラットで 18.8%、雌性ラットで 17.6% 排泄され、72 時間までの累積排泄率はそれぞれ 24.3、22.5%

Fig. 7. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after oral administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to male pigmented rats

となった。

静脈内投与時の尿、糞中への放射能の排泄パターンは、表で示されるように、上述した経口投与時のそれとほぼ同様であった。

尿、糞中への放射能の排泄速度および排泄割合に、投与経路差や性差は認められなかった。

6. 胆汁中排泄率

胆管カニューレを処置した雄性ラットに、 ^{14}C -bisoprolol を経口あるいは静脈内投与したときの

胆汁中への放射能の排泄率を Fig. 9 に示した。

投与後24時間までの胆汁中排泄率は、経口投与時で投与量の $25.7 \pm 4.5\%$ (平均値 $\pm$ S.D., $N=5$), 静脈内投与で $23.0 \pm 6.3\%$ ($N=4$) であった。これらのうち約90%は投与後6時間までに排泄された。胆汁中排泄率に投与経路差は認められなかった。

7. 腸肝循環

胆管カニューレを処置した雄性ラットに、 ^{14}C -

Fig. 8. Concentration of radioactivity in the uveal tract of eyes of pigmented rats after oral administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg

Concentration of radioactivity is expressed as optical density values measured on autoradiograms.

Each point represents the mean and S.D. of the number of sections shown in parentheses.

Table IV. Distribution of radioactivity in various organs and tissues after oral administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to male rats.

Tissues and organs	Concentration ($\mu\text{g equiv./g or mL}$)				
	0.5 hr	1 hr	3 hr	6 hr	24 hr
Blood	0.103 ± 0.015	0.217 ± 0.030	0.142 ± 0.013	0.038 ± 0.005	N. D.
Plasma	0.126 ± 0.028	0.287 ± 0.025	0.191 ± 0.018	0.054 ± 0.009	N. D.
Cerebrum	0.011 ± 0.003	0.018 ± 0.004	0.010 ± 0.002	N. D.	N. D.
Cerebellum	0.008 ± 0.007	0.015 ± 0.003	0.007 ± 0.006	N. D.	N. D.
Hypophysis	0.106 ± 0.092	0.198 ± 0.032	N. D.	N. D.	N. D.
Eyeball	0.027 ± 0.010	0.061 ± 0.019	0.054 ± 0.011	0.015 ± 0.001	N. D.
Harderian gland	0.137 ± 0.038	0.211 ± 0.048	0.142 ± 0.037	0.032 ± 0.003	N. D.
Salivary gland	0.267 ± 0.088	0.499 ± 0.066	0.360 ± 0.056	0.086 ± 0.013	N. D.
Thyroid gland	0.137 ± 0.009	0.183 ± 0.049	0.084 ± 0.022	N. D.	N. D.
Myocardium	0.118 ± 0.015	0.161 ± 0.026	0.119 ± 0.013	0.036 ± 0.005	N. D.
Lung	0.464 ± 0.067	0.594 ± 0.091	0.338 ± 0.042	0.088 ± 0.013	N. D.
Liver	6.340 ± 0.600	5.818 ± 1.682	3.476 ± 0.379	1.374 ± 0.211	0.027 ± 0.004
Spleen	0.303 ± 0.103	0.347 ± 0.055	0.176 ± 0.028	0.043 ± 0.005	N. D.
Pancreas	0.233 ± 0.043	0.305 ± 0.027	0.159 ± 0.019	0.042 ± 0.004	N. D.
Kidney	0.732 ± 0.067	1.104 ± 0.376	0.543 ± 0.063	0.157 ± 0.013	0.004 ± 0.001
Adrenal gland	0.388 ± 0.076	0.597 ± 0.071	0.294 ± 0.029	0.071 ± 0.022	N. D.
Testis	0.020 ± 0.007	0.058 ± 0.013	0.090 ± 0.010	0.044 ± 0.003	0.010 ± 0.001
Epididymis	0.055 ± 0.009	0.123 ± 0.018	0.152 ± 0.017	0.049 ± 0.002	N. D.
Seminal vesicle	0.108 ± 0.027	0.223 ± 0.070	0.146 ± 0.013	0.053 ± 0.026	N. D.
Skeletal muscle	0.070 ± 0.027	0.096 ± 0.013	0.083 ± 0.006	0.030 ± 0.001	N. D.
Skin	0.065 ± 0.018	0.131 ± 0.010	0.100 ± 0.010	0.026 ± 0.003	N. D.
Adipose tissue	0.013 ± 0.004	0.023 ± 0.003	0.014 ± 0.004	N. D.	N. D.

Each value represents the mean and S.D. of three animals.

N.D. : Not detected. Each μg is represented by 47,508 dpm.

bisoprolol を経口投与後6時間までに排泄された胆汁の一部を、胆管カニューレを施した別のラットの十二指腸内に注入した際の、胆汁、尿および糞（消化管内容物を含む）中への放射能の累積排

泄率を Table VI に示した。

十二指腸内投与後24時間までの胆汁および尿中への排泄率は、注入放射能のそれぞれ 2.5, 14.7 %であった。投与後24時間までに胆汁、尿および

Table V. Excretion of radioactivity in urine and feces following intravenous or oral administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to rats.

Animal	Route		Percent of dose				
			0~4 hr	0~8 hr	0~24 hr	0~48 hr	0~72 hr
Male rat (n=6)	i.v.	Urine	57.3±5.4	68.3±4.0	72.4±3.6	73.1±3.5	73.3±3.4
		Feces	—	—	13.4±3.0	17.9±2.0	18.2±1.9
		Total	57.3±5.4	68.3±4.0	85.8±5.1	91.0±4.7	91.5±4.7
Male rat (n=5)	p.o.	Urine	61.3±4.7	72.3±2.5	76.1±3.4	76.6±3.7	76.8±3.7
		Feces	—	—	18.8±7.6	20.9±4.3	24.3±3.5
		Total	61.3±4.7	72.3±2.5	94.9±7.2	97.5±4.5	101.1±3.7
Female rat (n=6)	i.v.	Urine	55.6±9.1	66.7±6.3	70.3±6.7	70.8±6.6	71.0±6.6
		Feces	—	—	13.0±1.4	15.8±1.1	16.2±1.2
		Total	55.6±9.1	66.7±6.3	83.3±7.3	86.6±6.9	87.2±7.0
Female rat (n=6)	p.o.	Urine	60.0±2.5	72.0±2.7	76.4±2.3	77.2±2.2	77.4±2.1
		Feces	—	—	17.6±7.2	20.8±3.6	22.5±1.4
		Total	60.0±2.5	72.0±2.7	94.0±7.6	98.0±3.6	99.8±1.7

Each value represents the mean and S.D. of five to six animals.

— : No sample taken.

Fig. 9. Cumulative excretion of radioactivity in the bile after oral (●) or intravenous (○) administration of ^{14}C -bisoprolol at a dose of 1 mg/kg to male rats

Each point represents the mean and S.D. of five animals for the oral dose and four animals for the intravenous dose.

Table VI. Excretion of radioactivity in bile, urine and feces of the bile-duct cannulated male rats after intraduodenal injection of radioactive biliary excreta^{a)}.

Time (hr)	Radioactivity excreted (% of injected radioactivity ^{b)})			
	Bile	Urine	Feces ^{c)}	Recovery
0~2	0.4±0.2	—	—	0.4±0.2
0~4	0.8±0.3	—	—	0.8±0.3
0~6	1.2±0.2	—	—	1.2±0.2
0~24	2.5±0.2	14.7±3.5	79.8±3.8	97.0±1.8

Each value represents the mean and S.D. of three animals.

a) : The radioactive 0~6 hr-bile used in this experiment was obtained from the rats which were orally dosed with ^{14}C -bisoprolol (1 mg/kg).

b) : Calculated from the radioactivity injected intraduodenally.

c) : Feces and intestinal contents.

— : No sample taken.

糞（消化管内容物を含む）中から回収された放射能は、注入量の97%であった。胆汁および尿中へ排泄された量を再吸収量と考えると、本薬物あるいはその代謝物の投与後24時間までの再吸収率は17.2%であった。

考 察

本薬物は propanolamine 側鎖を有する点で、他の典型的な β 遮断薬に構造が類似している。また、もう 1 つのアルキル側鎖を有する点で、他の多くの β 遮断薬と異なり、metoprolol⁸⁾ に類似している。本薬物の脂溶性は、高い脂溶性を有する propranolol と、親水性である atenolol との中間に位置している^{2,4)}。この中程度の脂溶性は、本薬物の吸収、分布、代謝および排泄に大きく関与しているものと思われる。

本薬物をラットに経口投与したとき、血清中放射能濃度は投与後1時間にピークに達したのち、半減期1.2時間で消失した。一方、静脈内投与時の血清中濃度は、投与後10分位まで急速に減少したのち、再び上昇し30分～1時間にピークに達したのち、経口投与時とほぼ同レベルで推移した(Fig. 2)。また、経口および静脈内投与時の血清中放射能濃度のAUC値の比較から、経口投与時の消化管からの吸収率は約87%と算出された。以上のことから、本薬物の消化管からの吸収は速やかであり、かつほぼ完全に行われているものと考えられた。

静脈内投与時において、血清中放射能濃度が一度減少したのち再び上昇する現象が認められた。その原因として、未変化体の濃度推移にはこの現象が認められないことから⁹⁾、本薬物が血中から速やかに組織に移行したのち代謝を受け、その代謝物が再び血中に出現したものと考えられた。一方、Bühning らは、サルに静脈内投与したときの未変化体の推移にも同様の現象のあることを報告⁹⁾していることから、この現象の成因に未変化体も一部寄与している可能性も否定できない。未変化体とすれば、どこかに一時的に本薬物を pool している組織（例えば肺）のあることを示唆するものである。しかしながら、明確な原因は現在のところ明らかでない。

一般に、薬物と血漿蛋白との結合性は、その薬

物の脂溶性に依存していることが知られている¹⁰⁾。本薬物と各種動物の血漿蛋白との *in vitro* における結合率はラット、イヌ、ウサギでは18～22%、ヒトで約40%と低い値であった。また、本薬物をラットに経口あるいは静脈内投与したときの結合率も、8～17%と *in vitro* における値と同程度か低いものであった。本薬物の低い蛋白結合性は、その脂溶性とよく相関しているものと考えられる。また、臨床の場で併用が考えられている薬物との間に結合部位での displacement が起こるかどうかが検討したが (Table III), bisoprolol の蛋白結合は captopril や trichlormethiazide などの併用薬や warfarin によって影響を受けないことが明らかとなった。以上のことから, bisoprolol の蛋白結合率は小さく、結合率に多少の変動が生じたとしても、薬効や生体内動態に大きく影響を及ぼすことはないものと推察される。なお、ethanol の添加時に結合率の低下が認められたが (Table III), 溶媒によると考えられる低下については、Knadler らが Nizatidine でも認めている¹¹⁾。

本薬物を静脈内投与したとき、血中より速やかに組織中に移行することが、血清中濃度の測定結果から推察されたが、全身 ARGM において中枢神経系を除くほぼ全身に放射能の移行していることが観察され、本薬物の組織移行性の良いことが明らかにされた。経口投与時の全身 ARGM においても、消化管からの良吸収性、組織への迅速な移行と比較的速やかな消失を示す分布像が認められた。この全身 ARGM の所見は、組織内放射能濃度の定量結果からも支持された。全身 ARGM および組織内定量の結果から、本薬物あるいはその代謝物は組織に容易に移行するが、特定の組織に放射能が残留するようなことはないものと考えられた。なお、Bühning らは、経口および静脈内投与時の組織内未変化体濃度を測定したところ、肝臓、血漿、腎臓を除いた組織における放射能の大半は未変化体であることから、代謝物より未変化体の方が組織移行性が良いと述べている⁹⁾。

経口投与時の中枢神経系における放射能濃度は、血漿中濃度の1/10以下と低いことから (Table IV), 本薬物あるいはその代謝物は、血液—脳関門を通過し難いと推察された。また、

Bühning らは⁹⁾, ラットに bisoprolol, propranolol, metoprolol あるいは atenolol を, 静脈内投与30分後の脳/血漿中未変化体濃度比は propranolol で44.6, metoprolol で8.2, bisoprolol で1.9, atenolol で0.1以下と報告している。これらの順序は, それらの化合物の脂溶性の順序と良く相関するものである。また, bisoprolol の中枢神経系への副作用は, その移行量から考えて, propranolol などとに比し低いことが示唆された。

Bühning らは⁹⁾, ¹⁴C-bisoprolol をラットに静脈内投与したときの赤血球中への放射能の移行を調べている。それによると, 投与5分後では赤血球中への移行は血漿中へのそれと同程度であるが, その割合は時間の経過とともに小さくなり, 4時間後では血漿中濃度の約1/2となった。また, 鈴木らは⁶⁾ イヌの血液に本薬物を添加し *in vitro* での赤血球への移行性を調べ, 赤血球に単純拡散により容易に移行すると述べている。これらの所見は, 上述した本薬物の組織移行性の良いこととよく対応するものと考えられる。一方, Table IV に示した経口投与時の血漿および全血中濃度から求めた赤血球/血漿中濃度比は1/2~1/3であり, 静脈内投与時の4時間に類似するものであった。ラットに経口投与時の血漿中の未変化体濃度は, 総放射能濃度の1/10以下であると報告されている⁹⁾。これらのことから, 未変化の bisoprolol は比較的良好に赤血球中に移行するが, その代謝物の移行はそれよりかなり少ないものと判断された。

有色ラットに経口投与した際の全身 ARG M で, 眼のブドウ膜や毛胞などの melanin 含有組織に放射能が移行し, 比較的高い親和性を有していることが観察された。いくつかの β 遮断薬で melanin 色素と親和性を有することが認められており, 眼組織において, melanin 色素を含む組織と含まない組織の間に β 遮断薬の取り込みに大きな差のあることが示されている^{12~18)}。Nagata らは^{12,13)}, β 遮断薬 befunolol が虹彩, 毛様体, 網膜上皮の色素細胞の melanin 顆粒に特異的に結合することを電顕 ARG により明らかにしている。今回, bisoprolol で認められた眼のブドウ膜部分への放射能の移行は, 全身 ARG M の所見ではあるが albino ラットは明らかではなく, 有色ラットで明白に認められたことから, befunolol

と同様 melanin 色素との親和性によるものと判断される。Bisoprolol と melanin 色素との結合は, それらの組織における放射能濃度の経時的推移から判断し可逆的なものと結論される。 β 遮断薬の melanin 色素に対する親和性と毒性との関連については, いくつかの研究がなされているが^{19,20)}, 副作用の面で重篤な症例の報告はない。

また, bisoprolol を有色動物(イヌ)に反復投与したときの毒性研究の所見では, 眼検査(ERG, 眼底検査)で異常は認められていない。²¹⁾

経口および静脈内投与のいずれの投与経路においても, 放射能は比較的速やかに体外へ排泄された。排泄経路は主として腎を介しての尿中への経路であり, 胆汁を介しての排泄は投与量の22~26%であった。今回の実験から, 本薬物の尿, 糞および胆汁中への排泄率, 排泄速度に投与経路差や性差はほとんどないことが明らかにされた。また, 胆汁中排泄物の約17%が消化管から再吸収され, 一部腸肝循環の生起していることが認められたが, 胆汁中への排泄率が投与量の約25%と少ないことを考慮すると, 体内動態に対する腸肝循環の寄与は小さいものと考えられた。

以上, 本薬物の体内動態は, 本薬物の物理化学的性質を良く反映しているものと考えられる。

要 約

ラットに ¹⁴C-bisoprolol (1 mg/kg) を経口あるいは静脈内投与したときの吸収, 分布および排泄について検討し, 以下の結果を得た。

1. 消化管からの吸収は速やかで, かつ極めて良好であった。

2. 経口投与時の血清中放射能濃度は, 投与後1時間に最高濃度を示したのち, 半減期1.2時間で消失した。静脈内投与時の濃度は, 投与後30分~1時間に再びピークに達し, その後, 経口投与とほぼ同様の半減期(1.6時間)で消失した。

3. *In vitro* における血漿蛋白結合率は, ラット, ウサギ, イヌで18~22%, ヒトでは約40%であった。ラットに経口あるいは静脈内投与時の結合率は8~17%であった。

4. 大部分の組織における放射能濃度は, 経口投与後1時間で最大となった。放射能の移行が最も高かった組織は肝臓, ついで腎臓, 副腎, 肺,

唾液腺などであった。中枢神経系、生殖器系への放射能の移行は極めて少なかった。

5. 全身 ARGM の所見も、組織内濃度のそれと大略一致するものであった。

6. 有色ラットに経口投与したとき、メラニン色素顆粒層との親和性が認められたが、可逆的なものであった。

7. ラットに経口あるいは静脈内投与したとき、投与後72時間までに投与量の70~80%が尿中に、15~25%が糞中に排泄された。尿、糞中への

放射能の排泄に投与経路差や性差は認められなかった。

8. 胆汁中への排泄率は、両投与経路とも投与量の22~26%であった。一部腸肝循環の生起していることが認められた。

謝 辞

本研究にあたり、終始御鞭撻を頂いた当研究所長、針谷祥一博士に深謝致します。

文 献

- 1) Manalan, A.S., Besch, H.R. and Watanabe, A.M. : Characterization of ^3H -($\pm$)-carazolol binding to β -adrenergic receptors. Application to study of β -adrenergic receptor subtypes in canine ventricular myocardium and lung. *Circ. Res.*, **49** : 326-336 (1981).
- 2) Haeusler, G., Schliep, H.J., Schelling, P., Becker, K.H., Klockow, M., Minck, K.O., Enenkel, H.J., Schulze, E., Bergmann, R., Schmitges, C.J., Seyfried, C. and Harting, J. : High β_1 -selectivity and favourable pharmacokinetics as the outstanding properties of bisoprolol. *J. Cardiovasc., Pharmacol.*, **8** (Suppl. 11) : S2-S15 (1986).
- 3) Schliep, H.J. and Harting, J. : β_1 -Selectivity of bisoprolol, a new β -adrenoceptor antagonist, in anesthetized dogs and guinea pigs. *J. Cardiovasc., Pharmacol.*, **6** : 1156-1160 (1984).
- 4) Leopold, G. : Balanced pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol. *J. Cardiovasc., Pharmacol.*, **8** (Suppl. 11) : S16-S20 (1986).
- 5) Leopold, G., Pabst, J., Ungethüm, W. and Bühring, K.U. : Basic pharmacokinetics of bisoprolol, a new highly β_1 -selective adrenoceptor antagonist. *J. Clin. Pharmacol.*, **26** : 616-621 (1986).
- 6) 鈴木健彦, 堀切勇児, 溝辺雅一, 野田和夫, 鮫島政義 : 新規 β 遮断薬ビソプロロールの光学異性体のイヌにおける体内動態。薬物動態, 投稿原稿作成中 (1989)。
- 7) 鈴木健彦, 堀切勇児, 溝辺雅一, 野田和夫, 鮫島政義 : 新規 β 遮断薬ビソプロロールのヒトにおける体内動態。薬物動態, 投稿原稿作成中 (1989)。
- 8) Borg, K. O., Carlsson, E., Hoffmann, K. J., Jonsson, T.E., Thorin, H. and Wallin, B. : Metabolism of metoprolol- ^3H in man, the dog and the rat. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **36** (Suppl. V) : 125-135 (1975).
- 9) Bühring, K.U., Sailer, H., Faro, H.P., Leopold, G., Pabst, J. and Garbe, A. : Pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol- ^{14}C in three animal species and in humans. *J. Cardiovasc., Pharmacol.*, **8** (Suppl. 11) : S21-S28 (1986).
- 10) Riddell, J.G., Harron, D.W.G. and Shanks, R.G. : Clinical pharmacokinetics of β -adrenoceptor antagonists. An update. *Clin. Pharmacokinet.*, **12** : 305-320 (1987).
- 11) Knadler, M.P., Bergstrom, R.F., Callaghan, J.T. and Rubin, A. : Nizatidine, an H_2 -blocker. Its metabolism and disposition in man. *Drug Metab. Dispos.*, **14** (2) : 175-182 (1986).
- 12) Yamabayashi, S., Gunarso, W., Tsukahara, S. and Nagata, T. : Incorporation of ^3H -bepunolol (beta-blocking agent) into melanin granules of ocular tissues in the pigmented rabbits. I. Light microscopic radioautography. *Histochemistry*, **73** (2) : 371-375 (1981).
- 13) 山林茂樹, W. Gunarso, 永田哲士, 塚原茂雄 : ^3H -Bepunolol の眼球内局在性に関するラジオオートグラフィー。眼科臨床医報, **75** : 1271-1273 (1981)。
- 14) 石井幸久, 松村 譲, 白沢栄一, 新家 真 : β -遮断剤 Bepunolol の硝子体内および結膜下注射による家兎眼組織内分布。日眼会誌, **88** : 1278-1286 (1984)。

- 15) Araie, M., Takase, M., Sakai, Y., Ishii, Y., Yokoyama, Y. and Kitagawa, M. : Beta-adrenergic blockers : Ocular penetration and binding to the uveal pigment. *Jpn. J. Ophthalmol.*, **79** : 248-263 (1982).
- 16) Slanina, P. and Tjalve, H. : Accumulation of alprenolol in some polypeptide hormone producing cells and in melanin-containing tissues. *Acta Endocrinol.*, **79** : 202-208 (1975).
- 17) Poynter, D., Martin, L.E., Harrison, C. and Cook, J. : Affinity of labetalol for ocular melanin. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, Suppl. : 711-721 (1976).
- 18) Rosenbaum, S.E., Lindup, W.E. and Orton, T.C. : Practolol and its metabolites: Tissue localization and retention in the hamster. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **234** (2) : 485-490 (1985).
- 19) Tanaka, N., Ohkawa, T., Hiyama, T. and Nakajima, A. : Evaluation of ocular toxicity of two beta blocking drugs, carteolol and practolol, in beagle dogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **224** (2) : 424-430 (1983).
- 20) Chou, A., Hori, S. and Takase, M. : Ocular toxicity of beta blockers and benzalkonium chloride in pigmented rabbits : Electrophysiological and morphological studies. *Jpn. J. Ophthalmol.*, **29** (1) : 13-23 (1985).
- 21) 湯浅啓史, 久世 博, 野口通重, 乾 俊秀, 山村高章, 堀 正樹, 藤井建男, 武下政一, 川合是彰, 野口祐三 : フマル酸ビソプロロールのイヌを用いた経口投与法による急性毒性試験および3カ月間亜急性毒性試験. 基礎と臨床, **23** (6) : 155-159 (1989).