Carvedilol の体内動態 (第2報)

ラット反復経口投与における体内動態

伯水英夫, 藤巻正慶

第一製薬株式会社中央研究所 〒134 東京都江戸川区北葛西1-16-13

江角凱夫, 高市松夫, 横田喬枝, 斎藤尚子, 三宅隆行, 本多尚子

第一化学薬品株式会社東海研究所 〒319-11 茨城県那珂郡東海村村松2117

Key words : carvedilol (DQ-2466), rats, pharmacokinetics, concentration of radioactivity, consecutive oral doses.

Studies on the Metabolic Fate of Carvedilol (Ⅱ)

Pharmacokinetics in Rats following Consecutive Oral Doses.

Hideo HAKUSUI and Masayoshi FUJIMAKI

Research Institute, Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.,
1-16-13, Kitakasai, Edogawa-ku, Tokyo 134, Japan

Yoshio ESUMI, Matsuo TAKAICHI, Takashi YOKOTA, Naoko SAITOU,
Takayuki MIYAKE, Takako HONDA

Tokai Research Laboratories, Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd.,
2117, Muramatsu, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 319-11, Japan

Summary

Pharmacokinetic studies on blood level, tissue distribution and excretion of carvedilol, a new β -blocking agent, were performed in rats during and after the consecutive oral administration of ^{14}C -carvedilol at a daily dose of 10mg/kg for 21 days.

1. The blood radioactivity showed the remarkable accumulation (accumulation factor of 19.0) following the consecutive doses due to the high affinity to the erythrocyte, which was observed only in rats. The plasma concentration of radioactivity reached to the steady state on day 10 and the C_{ss} (min) on day 21 was 296ng/ml at the accumulation factor of 4.1.

2. The radioactivity was well distributed in all the tissues following the consecutive oral doses. The radioactivity in the liver, which was the highest in all of the tissues after a single oral dose, has reached the steady state until day 21 at the accumulation factor of 4.8 in a similar manner as that in the plasma.

The radioactivity in the fat and brown fat increased much greater and disappeared much slower than that of plasma.

The remarkable accumulation of radioactivity in spleen was assumed to be ascribed to the high affinity to the erythrocyte.

3. Excretion rates in urine and feces during the consecutive oral doses were nearly constant, and were 3.5~3.6% and 84.0~91.6%, respectively. At 48hr after the last dosing, the total excretion into urine and feces was approximately 96% of the dose.

4. The accumulation of radioactivity in tissues was also estimated by whole body autoradiography.

緒言

Carvedilol (DQ-2466), (±)-1-(carbazol-4-yloxy)-3-[[2-(o-methoxyphenoxy) ethyl] amino]-2-propanol は Boehringer Mannheim 社 (西ドイツ) で開発された β -blocker で血管拡張作用を併せ有している^{1,2)}。本剤は臨床で高血圧症および狭心症患者にすぐれた治療効果が確認されている³⁾。本剤のラット反復経口投与時の体内動態 (吸収, 分布, 排泄) を検討する目的で, ^{14}C -carvedilol を21回反復投与し, 投与期間中および最終投与後の血液, 各種組織・臓器, 尿および糞中の放射能濃度を測定した。

試験材料および方法

1. 標識化合物

^{14}C -Carvedilol は第一製薬株式会社より提供を受けた。比放射能は2.15MBq (58.2 μCi)/mg, 放射化学的純度は96%以上であった。なお, 放射化学的純度の測定は吸着剤としてシリカゲル60 F₂₅₄ (ガラスプレート, 厚さ0.25mm, E. Merck), 展開溶媒としてクロロホルム:メタノール (6:1), クロロホルム:エタノール:アンモニア水 (100:10:1), クロロホルム:2-ブタノン:メタノール:酢酸:水 (75:25:35:5:8) を用いる薄層クロマトグラフィー (TLC) で行った。

* : Site of ^{14}C -labeling

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

2. 試験動物

試験動物として生後8週齢, 体重275~330gのSD系SPF雄性ラット (日本チャールス・リバー株式会社) を用いた。

購入後の動物には水および固形試料 (オリエンタル酵母工業株式会社, MF) を自由に摂取させ, 室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$ の条件下で1週間以上予備飼育したのち, 試験に供した。

3. 投与量および投与方法

^{14}C -Carvedilol に非標識 carvedilol を加えて所定の比放射能にしたのち, 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム (和光純薬工業株式会社) 水溶液に懸濁し, 10mg/5ml/kg で一定時刻に1日1回, 最高21回ゾンデを用いて経口投与した。投与放射能は, 単回投与後の血液中濃度の測定および組織内濃度の測定ではそれぞれ0.85MBq (23 μCi)/kg, 1.85MBq (50 μCi)/kg とし, 反復投与試験では0.35MBq (10 μCi)/kg とした。なお, 投与に際して絶食処置は施さなかった。

4. 放射能の測定

各試料中の放射能は, 液体シンチレーションカウンタ (ALOKA, LSC-903) を用いて測定した。計数効率の補正は外部標準線源によるチャンネル比法によった。

5. 反復投与試験

^{14}C -Carvedilol を雄性ラット (1群3匹) に1日1回, 最高21回経口投与し, 血液中濃度, 尿, 糞中排泄率, 体内残存率および組織内濃度を測定した。また, 21回経口投与し, 全身オートラジオグラムの作製を行った。

1) 血液中濃度の測定

^{14}C -Carvedilol を雄性ラット (1群3匹) に経口投与したのち, 飼育ケージ (TR-356S, トキワ科学器械株式会社) に収め, 所定時間に採血用ホルダーに保定して, 尾静脈をメスで切り, マイクロピペットを用いて血液100 μl を採取した。測定時間は毎回投与後1時間および24時間, 21回投与後1時間, 2時間, 3時間, 6時間, 9時間, 24時間, 以後24時間毎に120時間, 120時間以後は48時間毎に360時間までとした。単回投与群では21回投与後の測定と同時間とした。

採取した血液は, 組織溶解剤 SOLUENE-350 (PACKARD) 2ml を加えて溶解し, 過酸化ベンゾイル飽和のトルエン溶液0.4ml を加え, 50°C で一夜振とうして脱色したのち, シンチレータ ECONOFUOR (Du Pont Research Products) 13ml を加えて放射能を測定し, 得られた値より血液中濃度の推移を求めた。また, 単回投与の血液中濃度消失曲線から, 以下の式にしたがって反復投与時の血液中濃度推移を予測し

た.

$$\text{Cnt} = \text{Coe}^{-kt} (1 - e^{k\tau n} / 1 - e^{-k\tau})$$

k : 消失速度定数

t : 投与後の時間

τ : 投与間隔

Co : 投与0時間における血液中濃度の外挿値

Cnt : n回投与後, t時間における血液中濃度

2) 尿, 糞中排泄率, 体内残存率の測定

^{14}C -Carvedilol を雄性ラット (1群3匹) に経口投与したのち, 代謝ケージに収め, 自然排泄された尿および糞を採取した. 測定時間は尿, 糞とも毎回投与後24時間および21回投与後24時間毎に120時間までとした.

採取した尿は水を加えて100mlに希釈し, その1mlにエマルジョン系シンチレーター (トルエン1l, PPO4g, POPOP0.1g, ノニオンNS-210 500ml) 10mlを加えて放射能を測定し, 得られた値より尿中排泄率を求めた. 糞は30%メタノール含有塩酸 (pH4) を加えて500mlにしたのち, 攪拌均質化し, その1mlにエマルジョン系シンチレーター10mlを加えて放射能を測定し, 得られた値より糞中排泄率を求めた.

尿および糞中排泄率測定終了後, すなわち21回投与後120時間においてラットをエーテル麻酔死させ, 0.5N水酸化ナトリウム500mlおよびトルエン80mlを加えて96時間還流して溶解した. 溶解後水層は800mlに希釈し, その0.5mlにシンチレーター ATOMLIGHT (Du Pont NEN Research Products) 13mlを加え, トルエン層は100mlに希釈し, その1mlにエマルジョン系シンチレーター10mlを加えてそれぞれ放射能を測定し, 得られた値より体内残存率を求めた.

3) 全身オートラジオグラフィー

^{14}C -Carvedilol を雄性ラット (1群1匹) に経口投与したのち, 代謝ケージ (株式会社夏目製作所, KN-646B) に収め, 21回投与後1時間, 24時間, 168時間にそれぞれエーテル麻酔死させ, 速やかに被毛を電気バリカンで刈り取り, 鼻腔および肛門を5%カルボキシメチルセルロース (CMC) で塞いだ. ついで -70°C のドライアイス・アセトンにより凍結し, さらに -20°C の冷凍庫に3~5日間放置した. 得られた凍結屍体より前

後肢および尾を切り離したのち, ミクロトームステージ上に5%CMCで包埋し, -70°C のドライアイス・アセトンにより凍結後, クライオミクロトーム (PALMSTIERNAS MEKAISKA VERKSTAD, CRYO MICROTOME 450MP) に固定し, -25°C 前後で約 $35\mu\text{m}$ の凍結切片を接着テープ (住友スリーエム株式会社, No.810) に貼りつけて削り取った. 得られた凍結切片は -25°C 前後で3~4日間凍結乾燥し, 切片表面を保護膜 ($4\mu\text{m}$, ダイヤホイル株式会社) で被い, X線フィルム (サクラマクロオートラジオグラフィフィルム ^3H タイプ, 小西六写真工業株式会社) と密着させ 4°C で35日間露出したのち, X線フィルムを現像し, 全身オートラジオグラムを作製した.

4) 組織内濃度の測定

^{14}C -Carvedilol を雄性ラット (1群3匹) に経口投与したのち, 代謝ケージに収め, 1回, 7回, 14回投与後24時間, 21回投与後1時間, 24時間, 72時間, 168時間, 360時間および1,200時間にそれぞれエーテル麻酔下, 腹大動脈より採血死させ, 次の組織を摘出した

測定組織: 血漿, 血液, 大脳, 小脳, 下垂体, 脊髄, 気管, 眼球, 甲状腺, 腸間膜リンパ腺, 顎下腺, ハーダー腺, 胸腺, 心房, 心室, 肺, 肝, 腎, 脾, 膵, 副腎, 白色脂肪, 褐色脂肪, 筋肉, 皮膚, 骨髄, 腎動脈, 腸間膜動脈, 大腿動脈, 睪丸, 副睪丸, 貯精囊, 前立腺, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸

血漿および血液はその0.1mlを採取し, 他の組織についてはその湿重量を測定し, 一部の組織について小片を切り取り, その湿重量も測定した. 秤量した全部あるいは一部の組織に組織溶解剤SOLUENE-350 2mlを加えて溶解し, 必要に応じて過酸化ベンゾイル飽和のトルエン溶液0.4mlを加え, 50°C で一晩振とうして脱色したのち, シンチレーター ECONOFLUOR 13mlを加え, 放射能を測定した. 得られた値よりそれぞれ組織内濃度および分布率を求めた.

また, 血液についてはヘマトクリット値 (Ht) を測定し, 血球中濃度および血球結合率を次式により算出した.

$$\text{血球中濃度} = \{ \text{血液中濃度} - \text{血漿中濃度} (1 - \text{Ht}/100) \} / \text{Ht}/100$$

$$\text{血球分布率(\%)} = \{1 - \text{血漿中濃度} / \text{血液中濃度} \times (100 - Ht) / 100\} \times 100$$

先に報告した¹⁴C-carvedilol を単回投与したときのデータをもとにして⁴⁾、反復経口投与時の血漿および肝臓中濃度を2コンパートモデルにあてはめてシミュレーションした。単回投与後24時間の濃度と反復投与後24時間〔C_{ss}(min)〕の濃度を比較することにより、各組織臓器の蓄積係数を算出した。

試験結果

1. 血液中濃度 (Table I, II, V, VI)

毎回投与後1時間における血液中濃度は、投与回数に伴い上昇し、21回投与後では1回投与後の血液中濃度422ng/ml (carvedilol 換算) の14倍を示した。また、毎回投与後24時間における血液

Table I Blood levels of radioactivity at 1 and 24 hr after daily oral administration of ¹⁴C-carvedilol to male rats (dose : 10mg/kg/day)

Number of dosing	Blood radioactivity (ng equiv. of carvedilol/ml)	
	1 hr	24 hr
1	422 ± 57	430 ± 60
2	767 ± 101	795 ± 30
3	1135 ± 55	1174 ± 60
4	1490 ± 44	1681 ± 97
5	1919 ± 47	1874 ± 55
6	2168 ± 66	2296 ± 171
7	2739 ± 148	2704 ± 128
8	3054 ± 192	2922 ± 126
9	3174 ± 163	3382 ± 130
10	3622 ± 120	3752 ± 183
11	3894 ± 189	3869 ± 195
12	4164 ± 177	4217 ± 178
13	4386 ± 175	4422 ± 246
14	4488 ± 223	4374 ± 150
15	4690 ± 145	4877 ± 178
16	5117 ± 177	5014 ± 262
17	5080 ± 224	5229 ± 193
18	5574 ± 153	5335 ± 224
19	6079 ± 308	5570 ± 282
20	5715 ± 154	6295 ± 591
21	5886 ± 236	5821 ± 281

Data are expressed as the mean values ± S.E. from three animals.

中濃度も、投与回数に伴い上昇し、21回投与後では1回投与後の血液中濃度430ng/ml (carvedilol 換算) の14倍を示した。

21回投与後の血液中濃度は、投与後1時間に5886ng/ml (carvedilol 換算)を示したのち24時間まではほぼ同濃度を維持し、その後360時間まで半減期311hr で消失した。投与後120時間には1時間の濃度の79%、360時間には46%、また1,200時間には4%に減少した。血球への結合率は最終投与後360時間で99.8%に達した。

単回投与群の血液中濃度は、投与後9時間に最高濃度499ng/ml (carvedilol 換算)を示したのち、360時間まで半減期369hr で消失した。単回投与群の血液中濃度の消失曲線式から、毎回投与後24時間および21回投与後の血液中濃度を求めたところ、いずれも実測値とはほぼ一致した。また、定常状態(無限大投与時濃度の99%値)には93回投与後に到達することが予測され、その時の蓄積係数は19であった (Fig. 2)。

血漿中濃度の反復経口投与時の濃度上昇は、血液中濃度とは対照的にそれほど著しくなく、21回

Table II Blood levels of radioactivity after a single and a 21 day period of daily oral administration of ¹⁴C-carvedilol to male rats (dose : 10mg/kg/day)

Time (hr)	Blood radioactivity (ng equiv. of carvedilol/ml)	
	Single dose	21 doses
1	355 ± 39	5886 ± 236
2	431 ± 68	6084 ± 66
3	447 ± 60	5796 ± 192
6	458 ± 76	6017 ± 257
9	499 ± 62	5736 ± 334
24	485 ± 72	5821 ± 281
48	471 ± 79	5552 ± 385
72	429 ± 62	4940 ± 178
96	401 ± 72	4823 ± 40
120	388 ± 62	4676 ± 276
168	339 ± 59	4366 ± 407
216	333 ± 51	3757 ± 104
264	296 ± 44	3259 ± 119
312	278 ± 55	3074 ± 103
360	263 ± 42	2721 ± 156

Data are expressed as the mean values ± S.E. from three animals.

Fig.2. Observed and calculated levels of radioactivity in blood at 24 hr after daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to male rats (dose : 10mg/kg/day).

Fig.3 Simulated concentration-time profile of radioactivity in plasma following the oral administration of ^{14}C -carvedilol to rats (dose : 10mg/kg/day).

投与後24時間の血漿中濃度は296ng/ml で、単回投与後24時間の血漿中濃度の約4倍の濃度上昇にとどまった。単回投与試験での血漿中濃度推移データ⁴⁾をもとに反復投与時の濃度推移をシミュレーションすると (Fig. 3), 投与後21日までは定常状態に到達することが予測された。

2. 尿、糞中への排泄および体内残存率

(Table III)

毎回投与後24時間までの尿および糞中への累積投与量に対する排泄率は、尿では投与回数にかか

わらず一定値を示し、糞では4回投与以後ほぼ一定であり ($P>0.05$), 21回投与後の尿および糞中排泄率はそれぞれ3.6%, 91.6%であった。

21回投与後120時間までの尿中には累積投与量の3.6%, 糞中に92.0%が排泄され、尿、糞中排泄率は95.6%であった。また、この時点の体内には累積投与量の0.3%が認められた。

3. 組織内濃度 (Table N, V)

1回投与後24時間では、血漿中濃度が72ng/ml (carvedilol 換算) と低濃度であったが、血球、

Table III Cumulative excretions of radioactivity in urine and feces after daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to male rats (dose: 10mg/kg/day)

Number of dosing	Excretion of radioactivity (% of cumulative dose)		
	Urine	Feces	Total
1	3.3±0.3	76.5±4.8	79.8±5.0
2	3.4±0.3	75.0±4.1	78.4±4.4
3	3.5±0.3	79.4±2.5	82.9±2.8
4	3.5±0.3	84.0±3.8	87.4±4.0
5	3.5±0.3	86.2±3.8	89.7±3.8
6	3.5±0.3	87.0±3.5	90.5±3.6
7	3.5±0.3	87.4±3.6	90.9±3.6
8	3.5±0.3	88.3±3.5	91.8±3.5
9	3.5±0.3	88.1±3.5	91.7±3.5
10	3.5±0.3	87.1±3.4	90.7±3.4
11	3.6±0.3	86.1±2.8	89.6±2.8
12	3.6±0.3	87.2±1.9	90.8±1.9
13	3.6±0.3	88.3±1.3	91.9±1.3
14	3.6±0.3	87.6±1.8	91.2±1.8
15	3.6±0.3	89.5±0.3	93.1±0.2
16	3.6±0.3	90.7±0.9	94.3±0.8
17	3.6±0.3	91.2±1.0	94.8±1.0
18	3.6±0.3	91.5±1.2	95.1±1.1
19	3.6±0.3	91.5±1.0	95.0±0.9
20	3.6±0.3	91.6±1.2	95.2±1.1
21 24*	3.6±0.3	91.6±1.5	95.2±1.3
48*	3.6±0.3	92.0±1.4	95.6±1.2
72*	3.6±0.3	92.0±1.4	95.6±1.2
96*	3.6±0.3	92.0±1.4	95.6±1.2
120*	3.6±0.3	92.0±1.4	95.6±1.2

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. from three animals.

*: Hours after the last of 21 doses

All samples were collected for 24 hr after daily dosing and for every 24 hr after the last of 21 doses.

Residuals in carcass at 120 hr after the last of 21 doses:

199.1±17.7 g (equiv. of carvedilol/body, 0.3±0.0% of 21 doses).

Table IV Tissue distribution of radioactivity at 24hr after oral administration of ^{14}C -carvedilol to male rats (dose : 10mg/kg/day).

Tissue	Concentration of radioactivity (ng equiv. of carvedilol/g or ml)			
	1 day	7 day	14 day	21 day
Plasma	72 ± 8	139 ± 14 (1.93)*	231 ± 64 (3.21)	296 ± 42 (4.11)*
Blood cell	1120 ± 23	7132 ± 464 (6.37)*	11802 ± 1057 (10.54)*	15242 ± 1253 (13.61)*
Blood	465 ± 18	2726 ± 300 (5.86)	4763 ± 774 (40.24)*	6605 ± 602 (14.20)
Cerebrum	30 ± 5	103 ± 13 (3.43)*	173 ± 10 (5.77)*	348 ± 50 (11.60)*
Cerebellum	39 ± 12	113 ± 13 (2.90)*	178 ± 5 (4.56)*	365 ± 57 (9.36)*
Hypophysis	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Spinal cord	43 ± 7	191 ± 20 (4.44)*	240 ± 18 (5.58)*	499 ± 66 (11.60)*
Trachea	N. D.	N. D.	N. D.	566 ± 98
Eyeball	N. D.	N. D.	81 ± 7	159 ± 28
Thyroid	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Mesenteric lymph nodes	100 ± 6	257 ± 27 (2.57)*	463 ± 114 (4.63)*	440 ± 71 (4.40)*
Submaxillary gland	89 ± 4	287 ± 29 (3.23)*	390 ± 75 (4.38)*	705 ± 61 (7.92)*
Harderian gland	867 ± 217	1161 ± 75 (1.34)*	1844 ± 419 (2.13)	2752 ± 483 (3.17)*
Thymus	70 ± 13	238 ± 42 (3.40)	446 ± 82 (6.37)*	541 ± 72 (7.73)*
Atrium of the heart	79 ± 2	265 ± 61 (3.35)*	627 ± 160 (7.94)*	908 ± 196 (11.49)*
Ventricle of the heart	91 ± 27	297 ± 14 (3.26)*	610 ± 119 (6.70)*	801 ± 77 (8.80)*
Lung	154 ± 21	599 ± 55 (3.89)*	924 ± 146 (6.00)*	1317 ± 218 (8.55)*
Liver	1055 ± 40	2633 ± 49 (2.50)*	3214 ± 288 (3.05)*	5107 ± 755 (4.84)*
Kidney	364 ± 45	1139 ± 118 (3.13)*	1698 ± 94 (4.67)*	2216 ± 223 (6.09)*
Spleen	171 ± 21	763 ± 23 (4.46)*	1455 ± 250 (8.51)*	2180 ± 368 (12.75)*
Pancreas	74 ± 12	255 ± 32 (3.45)*	443 ± 100 (5.99)*	624 ± 101 (8.43)*
Adrenal	114 ± 21	458 ± 27 (4.02)*	749 ± 202 (6.57)*	1024 ± 114 (8.98)*
Fat	66 ± 11	322 ± 44 (4.88)*	567 ± 96 (8.59)*	859 ± 142 (13.01)
Brown fat	243 ± 42	655 ± 51 (2.70)*	1096 ± 197 (4.51)*	1317 ± 139 (5.42)*
Muscle	39 ± 7	141 ± 6 (3.61)*	322 ± 77 (8.26)*	363 ± 48 (9.31)*
Skin	98 ± 15	322 ± 20 (3.29)*	484 ± 109 (4.94)*	542 ± 104 (5.53)*
Bone marrow	139 ± 28	N. D.	688 ± 18 (4.93)*	1365 ± 331 (9.79)*
Renal artery	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Mesenteric artery	N. D.	N. D.	N. D.	770 ± 148
Femoral vein	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Testis	36 ± 4	130 ± 13 (3.61)*	247 ± 55 (6.86)*	342 ± 41 (9.50)*
Epididymis	59 ± 7	194 ± 10 (3.29)*	368 ± 89 (6.24)*	422 ± 45 (7.15)*
Seminal vesicle	72 ± 11	262 ± 25 (3.64)*	444 ± 129 (6.17)*	515 ± 78 (7.15)*
Prostate	83 ± 16	242 ± 26 (2.92)*	273 ± 37 (3.29)*	477 ± 72 (5.75)*
Stomach	81 ± 20	234 ± 13 (2.89)*	408 ± 127 (5.04)	494 ± 121 (6.10)*
Duodenum	98 ± 6	253 ± 28 (2.58)*	332 ± 63 (3.39)*	698 ± 207 (7.12)*
Jejunum	109 ± 12	393 ± 12 (3.61)*	447 ± 74 (4.10)*	781 ± 112 (7.17)*
Ileum	329 ± 55	657 ± 186 (2.00)	803 ± 105 (2.44)*	584 ± 50 (1.77)*
Caecum	590 ± 32	1312 ± 172 (2.22)*	1572 ± 43 (2.66)*	5191 ± 1255 (8.80)*
Colon	178 ± 15	513 ± 191 (2.88)	528 ± 71 (2.97)*	1155 ± 230 (6.49)*

Data are expressed as the mean values ± S.E. from three animals.

Figures in parentheses are expressed as the ratio of concentration in the tissue to that of single dose.

*: Significantly different from values of single dose, $P < 0.05$

N.D. : Not detected

Table V Tissue distribution of radioactivity after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to male rats
(dose : 10mg/kg/day).

Tissue	Tissue radioactivity (ng equiv. of carvedilol/g or ml)					
	1 hr	24 hr	72 hr	168 hr	360 hr	1200 hr
Plasma	616± 18 (1.00)	296± 42 (1.00)*	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Blood cell	13432±1425 (21.81)	15242±1253 (51.49)*	12531±1667	9958±748	7509±127	159± 5
Blood	5596± 578 (9.08)	6605± 602 (22.31)*	4418± 594	4161±367	3135± 86	228±14
Cerebrum	367± 36 (0.60)	348± 50 (1.18)*	218± 33	227± 49	185± 34	N. D.
Cerebellum	373± 53 (0.61)	365± 57 (1.23)*	279± 25	229± 36	186± 19	N. D.
Hypophysis	2192± 482 (3.56)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Spinal cord	516± 51 (0.84)	499± 66 (1.69)*	376± 24	372± 61	335± 21	190±52
Trachea	829± 161 (1.35)	566± 98 (1.91)	513± 55	N. D.	N. D.	N. D.
Eyeball	244± 7 (0.40)	159± 28 (0.54)	139± 5	115± 15	104± 17	76±18
Thyroid	1549± 53 (2.51)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Mesenteric lymph nodes	1468± 416 (2.38)	440± 71 (1.49)*	663± 40	228± 7	304± 28	237±18
Submaxillary gland	1301± 138 (2.11)	705± 61 (2.38)*	357± 35	248± 21	155± 25	N. D.
Harderian gland	2692± 276 (4.37)	2752± 483 (9.30)*	553± 45	250± 24	N. D.	N. D.
Thymus	662± 13 (1.07)	541± 72 (1.83)	292± 11	175± 10	122± 11	N. D.
Atrium of the heart	1060± 69 (1.72)	908± 196 (3.07)*	552± 61	422± 18	275± 34	N. D.
Ventricle of the heart	1050± 64 (1.70)	801± 77 (2.71)	606± 35	426± 22	293± 22	N. D.
Lung	2452± 217 (3.98)	1317± 218 (4.45)*	978± 152	659± 69	463± 7	N. D.
Liver	10708±1246 (17.38)	5107± 755 (17.25)	1921± 236	1098±120	461± 41	N. D.
Kidney	3702± 254 (6.01)	2216± 223 (7.49)*	1451± 21	1002± 63	500± 13	72±14
Spleen	2660± 150 (4.32)	2180± 368 (7.36)*	1693± 72	1342± 72	1232±262	659±58
Pancreas	1176± 139 (1.91)	624± 101 (2.11)*	413± 33	280± 20	214± 17	N. D.
Adrenal	2331± 637 (3.78)	1024± 114 (3.46)*	746± 91	580± 27	326± 50	N. D.
Fat	871± 65 (1.41)	859± 142 (2.90)	775± 87	749± 97	739± 39	475±70
Brown fat	1424± 105 (2.31)	1317± 139 (4.45)	1073± 167	973± 59	437± 96	223± 9
Muscle	487± 21 (0.79)	363± 48 (1.23)	315± 14	251± 33	224± 45	N. D.
Skin	812± 72 (1.32)	542± 104 (1.83)	525± 42	412± 38	498± 34	272±83
Bone marrow	1277± 116 (2.07)	1365± 331 (4.61)	647± 82	N. D.	N. D.	N. D.
Renal artery	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Mesenteric artery	1568± 538 (2.57)	770± 148 (2.60)	435± 151	N. D.	N. D.	N. D.
Femoral vein	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Testis	321± 23 (0.52)	342± 41 (1.16)*	240± 19	207± 19	138± 32	N. D.
Epididymis	452± 71 (0.73)	422± 45 (1.43)*	282± 32	246± 39	235± 6	91±21
Seminal vesicle	592± 62 (0.96)	515± 78 (1.74)	380± 23	246± 24	142± 8	N. D.
Prostate	611± 37 (0.99)	477± 72 (1.61)*	282± 9	183± 17	N. D.	N. D.
Stomach	20847±3383 (33.84)	494± 121 (1.67)*	384± 60	200± 16	151± 21	N. D.
Duodenum	19020±6501 (30.88)	698± 207 (2.36)*	333± 18	209± 19	139± 10	N. D.
Jejunum	40882±2723 (66.37)	781± 112 (2.64)*	520± 37	344± 63	231± 14	169±13
Ileum	1020± 74 (1.66)	583± 50 (1.97)*	405± 76	247± 74	173± 10	169±13
Caecum	1319± 170 (2.14)	5191±1225 (17.54)*	351± 45	213± 23	132± 13	N. D.
Colon	594± 139 (0.96)	1155± 230 (3.90)*	285± 20	197± 20	142± 16	N. D.

Data are expressed as the mean values ± S.E. from three animals.

Figures in parentheses are expressed as the ratio of concentration in tissue to that in plasma.

N.D. : Not detected

肝, ハーダー腺に高濃度の分布が持続し, 血漿中濃度の10倍以上の濃度であった. ついで盲腸, 腎, 回腸, 褐色脂肪に高濃度の分布を示し, 血漿中濃度の8~3倍の濃度であった. 他の組織中濃度は血漿中濃度の2倍以下に低下した.

7回投与後24時間では血漿中濃度は137ng/ml (carvedilol 換算) を示し, 単回投与群の2倍に増大した. 検出限界以下であった下垂体, 気管, 甲状腺, 骨髄, 腎動脈, 腸間膜動脈, 大腿静脈を除く組織は, 単回投与群とほぼ類似したパターンで血漿と同様に濃度の増加が認められた. 血球の濃度増加が最も大きく, 単回投与群の6倍の濃度を示した.

14回投与後24時間では血漿中濃度は231ng/ml (carvedilol 換算) を示し, 単回投与群の3倍に増大した. 検出限界以下であった下垂体, 気管, 甲状腺, 腎動脈, 腸間膜動脈, 大腿静脈を除く組織は血漿と同様に濃度の増大が認められた. 血球, 白色脂肪, 脾, 筋肉, 脂肪の濃度増大が大きく, 単回投与群の11~8倍の濃度を示した.

21回投与後24時間では血漿中濃度は296ng/ml

(carvedilol 換算) を示し, 単回投与群の4倍に増大した. 検出限界以下であった下垂体, 甲状腺, 腎動脈, 大腿静脈を除く組織は血漿と同様に濃度の増大が認められた. 血球, 白色脂肪, 脾, 大脳, 脊髄, 心房, 骨髄, 睪丸の濃度増大が大きく, 単回投与群の14~10倍の濃度を示した.

各組織・臓器中単回投与で, 最も高濃度となる肝臓について, 単回投与時の濃度推移データ⁴⁾をもとに反復投与時の濃度推移をシミュレーションすると (Fig. 4), 投与後21日までは定常状態に到達していることが予測された.

21回投与後の組織内濃度は, 血液, 血球, ハーダー腺, 骨髄, 睪丸, 盲腸, 結腸は24時間に, 他の組織は最初の測定時間である1時間に最高濃度を示した.

21回投与後1時間では空腸, 胃, 十二指腸に最も高い濃度が認められ, 血漿中濃度616ng/ml (carvedilol 換算) の66~31倍を示した. ついで血球, 肝, 血液が高く, 血漿中濃度の22~9倍, 腎, ハーダー腺, 脾, 肺, 副腎, 下垂体が6~4倍を示した. 第1報における単回投与群の血漿中

Fig. 4 Simulated concentration-time profile of radioactivity in liver following the consecutive oral administration of ^{14}C -carvedilol to rats (dose: 10mg/kg/day).

Table V Percentage distribution of radioactivity in blood cell after a single, 7, 14 and 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to male rats (dose: 10 mg/kg/day)

Number of dosing		Ratio of radioactivity in blood cell (%)
1	24*	90.4 $\pm$ 0.8
7	24*	96.8 $\pm$ 0.4
14	24*	97.0 $\pm$ 0.6
21	1*	93.1 $\pm$ 0.7
	24*	97.4 $\pm$ 0.1
	72*	98.3 $\pm$ 0.1
	168*	99.1 $\pm$ 0.3
	360*	99.8 $\pm$ 0.2

Data are expressed as the mean values $\pm$ S.E. from three animals

*: Hours after the last administration.

濃度比と比較すると、血球が19倍、血液が8倍、白色脂肪が5倍高い値を示した⁴⁾。

21回投与後24時間では血球に最も高い濃度が認められ、血漿中濃度296ng/ml (carvedilol 換算) の51倍を示した。ついで血液、盲腸、肝が高く、血漿中濃度の22~17倍、ハーダー腺、腎、脾、骨髄、肺、褐色脂肪、結腸が9~4倍を示した。

21回投与後72時間では血漿中濃度は検出限界以下に低下していた。また、白色脂肪、血球、褐色脂肪、小脳、脊髄、睾丸が最高濃度の89~70%に、他の組織は67%以下に減少した。

21回投与後168時間では白色脂肪、脊髄、褐色脂肪、血球、血液、大脳、小脳、睾丸が最高濃度の86~61%に、他の組織は54%以下に減少した。

21回投与後360時間では白色脂肪、脊髄、皮膚、副睾丸が最高濃度の85~52%に、他の組織は50%以下に減少した。この時点においては血球、脾の濃度が他の組織に比較して高かった。

21回投与後1,200時間では白色脂肪が最高濃度の55%、脊髄、皮膚、脾、副睾丸が37~20%に、他の組織は16%以下に減少した。

21回投与後168時間以後の消失半減期は、白色脂肪が62日であり、空腸、脊髄、脾、副睾丸が49~28日であった。

4. 全身オートラジオグラム (Photo. 1~3)

21回投与後1時間では胃内容物、腸内容物が最

も高い放射能を示し、ついで肝に高い放射能が認められた。腎、肺には血液とほぼ同程度の放射能が認められた。脾、副腎、ハーダー腺、甲状腺、褐色脂肪、顎下腺、下垂体、心、眼球壁、被毛は血液より低い放射能を示した。胸腺、筋肉、中枢神経系、睾丸の放射能は最も低かった。

21回投与後24時間では腸内容物が最も高い放射能を示し、ついで肝に血液とほぼ同程度の放射能が認められた。腎、肺、副腎、甲状腺、ハーダー腺、脾、褐色脂肪、被毛、眼球壁は血液より低い放射能が認められた。胸腺、筋肉、睾丸、中枢神経系の放射能は最も低かった。

21回投与後168時間では全体の放射能は低下したものの、血液は21回投与後24時間の放射能とほぼ同程度であった。肝、腎、肺、脾、副腎、甲状腺、被毛に血液より低い放射能が認められた。

考 察

本薬剤はラット血球に特異的な親和性を示し、著しい濃度の蓄積と貯留が見られ、定常状態の蓄積係数は19であった。これに関連して、脾臓も反復投与により濃度が増大し、貯留傾向が見られた。血漿中濃度は低濃度であり、21回反復投与しても単回投与群の4倍程度の増大にとどまり、定常状態に到達していることが予測された。反復投与後も比較的速やかに消失した。

本薬剤は組織移行性が大きく、組織中濃度は血漿中濃度に比較して反復投与により濃度増大傾向が大きかった。また、組織からの消失に持続性が認められた。肝臓中濃度は投与後21日目までには定常状態に到達しており、蓄積係数4.8は血漿に類似していた。脂肪組織には反復経口投与により特に濃度が増大し、また、その消失に時間を要した。Carvedilol は脂溶性が高く、いわゆるdeep compartment の脂肪組織に低濃度ながら反復投与により徐々に移行し、貯留するためと推定される。最終投与終了後から、各組織・臓器中濃度は消失傾向にあり、著しい蓄積と貯留が見られた血球、脾においても、最終投与後1,200時間ではそれぞれ最高濃度の1%および25%に減少した (Fig. 5)。

血液への高い親和性は、現在までのところラットに特異的で、ヒトを含む他の動物種には見られ

Photo 1. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to a male rat (dose : 10mg/kg/day)

Legend	1. Adrenal	8. Hair.	15. Muscle
	2. Blood	9. Heart	16. Spleen
	3. Brain	10. Hypophysis	17. Submaxillary gland
	4. Brown fat	11. Intestinal contents	18. Testis
	5. Eyeball	12. Kidney	19. Thymus
	6. Gastric contents	13. Liver	20. Thyroid
	7. Harderian gland	14. Lung	

Photo 2. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to a male rat (dose: 10mg/kg/day)

Legend	1. Adrenal	8. Hair.	15. Muscle
	2. Blood	9. Heart	16. Spleen
	3. Brain	10. Hypophysis	17. Submaxillary gland
	4. Brown fat	11. Intestinal contents	18. Testis
	5. Eyeball	12. Kidney	19. Thymus
	6. Gastric contents	13. Liver	20. Thyroid
	7. Harderian gland	14. Lung	

Photo 3. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to a male rat (dose: 10mg/kg/day)

Legend	1. Adrenal	8. Hair.	15. Muscle
	2. Blood	9. Heart	16. Spleen
	3. Brain	10. Hypophysis	17. Submaxillary gland
	4. Brown fat	11. Intestinal contents	18. Testis
	5. Eyeball	12. Kidney	19. Thymus
	6. Gastric contents	13. Liver	20. Thyroid
	7. Harderian gland	14. Lung	

Fig. 5 Tissue concentrations of radioactivity after a 21 day period of daily oral administration of ^{14}C -carvedilol to male rats (dose: 10mg/kg/day).

Data are expressed as the mean values from three animals.

ていない⁵⁾。ラット血球への特異性の機作については現在検討中である。一方、ラット長期投与の安全性試験において、血球および脾臓に薬物貯留に帰因すると考えられる異常は全く見られていない⁶⁾。

毎回投与後24時間の尿および糞への排泄率は、4回投与以後3.5~3.6%および84.0%~91.6%とほぼ一定であり、21回投与後120時間までの累積排泄率も、単回投与群と顕著な相違が認められな

かった。このことから、反復投与における尿および糞中排泄に及ぼす影響は少ないものと考えられた。

別途実施された胆汁中排泄試験の結果から⁷⁾、糞中排泄の大部分は胆汁中排泄に帰因すると考えられる。21回反復投与後の全身オートラジオグラフィにおいても同様の分布パターンを確認し、他に特に高い蓄積および貯留を示唆する組織、臓器は存在しなかった。

文 献

- 1) Abshagen, U : A new molecule with vasodilating and β -adrenoceptor blocking properties. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 10(suppl. 11) : 23-31 (1987).
- 2) Streim, K, Sponer, G, Muller-Beckmann, B and Bartsch, W. : Pharmacological profile of carvedilol, a compound with β -blocking and vasodilating properties. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 10 (suppl. 11) : 33-41 (1987).
- 3) Ogihara, T., Goto, Y., Yoshinaga, K., Kumahara, Y., Iimura, O., Ishii, M., Murakami, E., Takeda, T., Kokubu, T., Arakawa, K. and Ikeda, M., : Dose-effect relationship of carvedilol in essential hypertension : *An. open.study. Drugs.*, 36 (suppl. 6) : 75-81 (1988).
- 4) 伯水英夫, 藤巻正慶, 江角凱夫, 高市松夫, 斎藤尚子, 大月みゆき, 三宅隆行, 本多尚子 : Carvedilol の体内動態 (第1報). ラットにおける単回経口投与時の吸収,

分布, 排泄, 薬物動態. 4(6): 637-649 (1989).

- 5) 藤巻正慶, 新谷尚三, 伯水英夫: Carvedilol の体内動態 (第 6 報). サルにおける血中濃度推移および全身オートラジオグラフィー薬物動態. 4(6): 693-701 (1989).
- 6) 柿畑耕司, 大野広志, 山田昌男, 手嶋典子, 島田春美, 藤井文隆, 鈴木則男, 野村護: (±)-1-(carbazol-4-yloxy)-3-{[2-(o-methoxyphenoxy) ethyl] amino}-2-propanol (carvedilol) のラットにおける亜急性毒性試験. 医薬品研究, 投稿中 (1989).
- 7) 藤巻正慶, 伯水英夫: Carvedilol の体内動態 (第 3 報). ラットにおける胆汁中排泄と腸肝循環, 薬物動態. 4(6): 667-671 (1989).