(Jpn. J. Hosp. Pharm.)
(25(6) 643 — 648 (1999))

シベンゾリンの蛋白結合に及ぼすアルブミンおよび α_1 酸性糖蛋白質の影響

上野和行*, 森井 恵, 西岡純子, 吉村尋典, 辻 美里, 平木精一, 高田充隆, 柴川雅彦
国立循環器病センター薬剤部†

Effect of Albumin and α_1 Acid-Glycoprotein on Binding of Cibenzoline

KAZUYUKI UENO*, MEGUMI MORII, JYUNKO NISHIOKA, HIRONORI YOSHIMURA,
MIRI TSUJI, KIYOKAZU HIRAKI, MITSUTAKA TAKADA and MASAHICO SHIBAKAWA

Department of Pharmacy, National Cardiovascular Center†

(Received March 4, 1999)
(Accepted July 27, 1999)

The effect of albumin and α_1 acid-glycoprotein (AAG) on the binding of cibenzoline was studied using the pH 7.4 phosphate buffer (PBs) and human plasma. The binding in 40 inpatients who received cibenzoline therapy was measured. The cibenzoline concentrations of samples were measured by high performance liquid chromatography. As a result, not only the PBs but also human plasma samples the binding increased in proportion as the concentrations of albumin and AAG increased. On the other hand the binding decreased in inverse proportion as the total cibenzoline concentration increased. However, in the patient samples the effect of the total concentration of cibenzoline and the concentrations of albumin and AAG on the binding was slight and the mean binding ratio was about 80%. These results suggest that when clinically monitoring the cibenzoline blood concentration in clinical monitoring the total concentrations of cibenzoline alone appears to be sufficient.

Key words — Cibenzoline, binding, albumin, α_1 -acid glycoprotein (AAG), concentration

緒 言

シベンゾリンは1971年フランスで開発された Vaughan Williams の分類クラス Ia に分類される抗不整脈薬である。本邦では1993年より市販され、現在臨床で繁用されている抗不整脈薬の一つである。シベンゾリンは主として腎より未変化体で排泄される腎排泄型の薬物であり、その薬物体内動態あるいは臨床に関する種々の報告があ

る¹⁻⁴⁾。

一方、一般に薬物は循環血中においては蛋白質に結合している場合が多く、主としてアルブミンに結合する。しかし、一部の塩基性薬物はアルブミンだけでなく α_1 酸性糖蛋白質(AAG)に結合することが知られている。抗不整脈薬ではジソピラミド^{5,6)}、ピルメノール^{7,8)}、およびリドカイン^{9,10)}がAAGと結合することが知られている。AAGは糖含量が高い炎症性の蛋白質で、アルブミンとの大きな違いは蛋白量の変動幅が非常に大きいことが知られている。従ってAAGに結合す

† 大阪府吹田市藤白台5丁目7-1; 5-7-1, Fujishiro-dai, Suita-city, Osaka, 565-8565 Japan

る薬物では蛋白結合率が薬物動態に影響を与える場合があり、その結果薬効動態が変化する可能性がある。シベンゾリンは塩基性薬物であり、その蛋白結合率に関する情報が非常に少ない。そこで、シベンゾリンの蛋白結合に及ぼすアルブミンおよびAAGの影響を調べた。併せて、シベンゾリン服用患者の蛋白結合率も調べたので報告する。

実験の部

リン酸緩衝液あるいはヒト血漿中にシベンゾリンを添加した試料を用いて蛋白結合率を測定した。また、シベンゾリン服用患者を対象として蛋白結合率を測定した。同時に血清中アルブミンおよびAAG濃度も測定した。

1. 試薬

コハク酸シベンゾリンは藤沢薬品(株)、内標準物質4-メチルメキシレチンはベーリンガーインゲルハイム(株)より提供して頂いた。アルブミン(ヒト)およびAAG(ヒト)はシグマ社製を用いた。その他の試薬は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)用、または試薬特級品を用いた。

2. 蛋白結合率測定

1) リン酸緩衝液による添加実験

pH 7.4, 0.1 M リン酸緩衝液に種々の濃度のシベンゾリン、ヒトアルブミン、およびヒトAAGを添加し試料を調製した。試料中のシベンゾリン総濃度および蛋白非結合型濃度を測定し、蛋白結合率を測定した。

2) ヒト血漿による添加実験

ヒト新鮮凍結血漿中のアルブミンおよびAAG濃度を測定し、アルブミンおよびAAG濃度がそれぞれ 4.0 ± 0.4 g/dL および 50 ± 5 mg/dL の範囲内にあったヒト血漿を選び、種々の濃度のシベンゾリン、アルブミン、およびAAGを添加し試料を調製した。試料中のシベンゾリン総濃度および蛋白非結合型濃度を測定し、蛋白結合率を測定した。

3) シベンゾリン服用患者の蛋白結合率

当院入院患者でシベンゾリンのTDM (Therapeutic drug Monitoring) を実施した患者40例を対象として血清中蛋白結合率を調べた。採血はすべて早朝服用前に肘静脈より実施した。本対象には炎症性疾患を併発している患者は含まれていないが、感染を疑われている患者、重篤な不整脈出現中、あるいは心筋梗塞併発患者は含まれている。採血後約1時間室温で放置し、遠心分離にて血清を得た。

4) 蛋白結合率の算出

試料を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の振盪恒温水槽で1時間インキュベーションした後、限外ろ過法により蛋白非結合分画を採取し非結合型濃度を測定した。限外ろ過にはセントリカットミリ1万分画(クラボウ)を用いた。蛋白結合率の算出は非結合型濃度と総濃度の比で算出した。

3. シベンゾリン濃度測定

1) HPLC の条件

試料中および血清中のシベンゾリン濃度はHPLC法により測定した。測定条件は既報の方法⁸⁾で測定した。すなわち、装置LC-7Aシステム(島津製作所、京都)を使用した。カラム条件はSTR ODS-2 (4.6mm I.D. $\times$ 25cm, 島津テクノロジー、京都)、移動相はアセトニトリル: 0.5% トリエチルアミンを含む0.044M リン酸二ナトリウム水溶液をpH 2.6に調整した溶液(1:3)を用いた。カラム温度 40°C 、流速1.2 mL/min、検出波長210nmであった。本測定法の測定限界は50 ng/mLで、その時の変動係数は5%以内であった。

2) 抽出法

試料あるいは血清0.5 mLに内標準物質4-メチルメキシレチン水溶液(20 $\mu\text{g/mL}$) 0.05 mL, 0.1 N 水酸化ナトリウム1 mLを添加し、ジエチルエーテル5 mLを加え混和後、ジエチルエーテル相を分離し蒸発乾固した。残渣を移動相0.1 mLに溶解し、その一部をHPLCに注入した。

4. AAG 濃度測定

試料および患者血清中のAAG濃度は、血漿蛋

白質定量用免疫拡散板 (MBL プレート, α_1 -アシッドグリコпротеイン, 医学生物学研究所) を用いて測定した。

5. データ処理

データは平均 $\pm$ SD で示した。P<0.05 を有意とした。検定方法は Excel 98 の分析ツールを用いて行った。

結 果

アルブミンおよび AAG 濃度がそれぞれ 4 mg/mL および AAG 50 mg/dL になるように添加したリン酸緩衝液, およびアルブミンおよび AAG 濃度がそれぞれ 4.3 mg/mL および 54 mg/dL のヒト血漿中におけるシベンゾリンの蛋白結合率を Fig. 1 に示した。ともにシベンゾリンの濃度上昇に伴い蛋白結合率が減少することが認められた。かつヒト血漿の方がリン酸緩衝液よりも蛋白結合率が高い傾向が認められた。アルブミンおよび

AAG の蛋白結合率に及ぼす影響を Fig. 2 に示した。アルブミンおよび AAG 濃度依存的に蛋白結合率が高くなることが認められた。

一方、シベンゾリン服用入院患者で TDM を実施し蛋白結合率を測定した対象 40 例の患者背景を Table 1 に、蛋白結合率と総濃度の関係を Fig. 3 に示した。シベンゾリン濃度依存的に蛋白結合率が減少する傾向が認められたが有意差は認められなかった。蛋白結合率は $79.3 \pm 5.5\%$ で比較的バラツキが小さいことが認められた。また、蛋白結合率に及ぼすアルブミンおよび AAG の影響を Fig. 4 に示したがアルブミンでは濃度依存的に蛋白結合率が高くなる傾向が認められたが有意差が認められなかった。AAG はほとんど影響を与えないことが認められた。

考 察

一般に薬物は循環血中においては蛋白質に結合

Fig. 1. Relationship between Binding and Total Concentration of Cibenzoline in Human Plasma Containing 4 g/dL of Albumin and 50 mg/dL of AAG (○) and pH 7.4 Phosphate Buffer Solution Adding 4 g/dL of Albumin and 50 mg/dL of AAG (●)

Each data represents the mean $\pm$ SD of 3 experiments

○ ; $Y = 86.4 - 0.0157 X$, $r = 0.935$ $P < 0.01$

● ; $Y = 84.7 + 0.0229 X$, $r = 0.959$ $P < 0.01$

Fig. 2. Effect of Albumin and AAG on Binding of Cibenzoline

Each data represents the mean $\pm$ SD of 3 experiments

○ ; Human plasma containing 4.3 g/dl of albumin

△ ; Phosphate buffer solution adding 4 g/dl albumin

□ ; Phosphate buffer solution with no albumin

▲ ; Phosphate buffer solution with no AAG

Table 1. Patients Characteristics and Binding of Cibenzoline in 40 Inpatients

	Age (yr)	Body weight (kg)	Albumin (g/dL)	AAG (mg/dL)	Total concentration (ng/mL)	Binding (%)
Mean	63.7	59.2	3.9	109.8	460	79.3
SD	12.6	11.9	0.45	67.0	359	5.5

AAG ; α : acid-glycoprotein

している場合が多く、主としてアルブミンに結合する。しかし、一部の塩基性薬物はアルブミンだけでなく AAG に結合することが知られている。抗不整脈薬ではジソピラミド、ピルメノール、およびリドカインが AAG と結合することが知られている。特にジソピラミドの蛋白結合率が濃度依存であるのは AAG による影響が大きいとされている^{11,12)}。シベンゾリンの蛋白結合に関する報告は非常に少なく平衡透析法では 50~53% でアルブミンに結合すると報告されている¹³⁾。Fig. 1 より、シベンゾリンの蛋白結合はシベンゾリンの総濃度依存であることが認められた。しかし患者血清 (Fig. 3) においては蛋白結合率は総濃度の変

化にあまり影響を受けないことが示唆された。かつ蛋白結合率は $79.3 \pm 5.5\%$ でバラツキが非常に小さいことが認められた。この結果は従来の報告とは大きく異なっているが、従来の報告は平衡透析法であり、試験条件等の詳細な検討は実施されていないため今回の結果との比較検討はできなかったので今後の検討が必要と考える。

また、総濃度と蛋白結合率の回帰直線の傾きがリン酸緩衝液 > ヒト血漿 > 患者血清であり、かつヒト血漿の方がリン酸緩衝液よりも蛋白結合率が高いことを考えれば、シベンゾリンの蛋白結合にはアルブミンおよび AAG 以外の血液中の他の因子が関与している可能性が示唆された。

Fig. 3. Relationship between Binding and Serum Total Concentration of Cibenzoline in Inpatients
The regression equation is $Y=80.9-0.00353 X$,
 $R=0.221$ (Not significant)

Fig. 4. Relationship between Binding of Cibenzoline and AAG or Albumin

一方, Fig. 2 および 4 より蛋白結合にはアルブミンおよび AAG が影響を与えること認められた。かつアルブミンが 4 g/dl 添加時では AAG の影響は比較的小さいことや患者血清ではアルブミンの影響は受けるが, AAG はほとんど影響を受けないことが認められた。すなわちシベンゾリンの蛋白結合には AAG の与える影響は小さいこと

が示唆された。かつ患者血清のなかには感染を疑われている患者や心筋梗塞を併発している患者も含まれているが蛋白結合率は変化が小さかったこと, および一般に臨床レベルでは AAG の変動に比べれば, アルブミンの変動は比較的小さいことを考慮すれば臨床においてはシベンゾリンの蛋白結合率が大きく変動する可能性が小さいことが示

唆される。

以上シベンゾリンの蛋白結合に関して基礎的実験および臨床で検討した結果、蛋白結合率は約80%程度であり、結合蛋白はAAGにも結合するが主としてアルブミンに結合することが示唆された。また血液中の他の因子にも結合する可能性も示唆された。しかし、臨床レベルでは低アルブミン血漿患者でないかぎり蛋白結合率は大きく変動する可能性が小さいことが示唆された。シベンゾリンの有効濃度域(200–800ng/mL)を考慮すれば臨床レベルで患者の血中シベンゾリン濃度を測定し、薬物動態解析および薬効動態を解析する場合は血中総濃度のモニタリングで十分可能であることが示唆された。

引用文献

- 1) Canal M, Flouvat B, Tremblay D, Dufour A, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **24**, 509–515 (1983).
- 2) Brazzell RK, Aogaichi K, Heger JJ, Scomberg JC, Carliner NH, Morganroth J. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **35**, 307–316 (1984).
- 3) Brazzell RK, Colburn WA, Aogaichi K,

Szuna AJ, Somberg JC, Carliner N, Heger J, Morganroth J, Winkle RA, Block P, *Clin. Pharmacokint.*, **10**, 178–186 (1985).

- 4) 加藤林也, 外畑巖, 横田充弘, 宮垣仁実, 伊藤厚士, 伊藤昭男, 棚橋淑文, 都築実紀, 池田信男, 稲垣春夫, 都築雅人, 谷口直樹, *臨床薬理*, **22**, 363–372 (1989).
- 5) 大塚実, *Pharma Medica*, **14**, 155–166 (1996).
- 6) Lima JJ, Boudoulas H, Blanford MF, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **219**, 741–747 (1981).
- 7) Haugheyv DB, Streinberg I, Lee MH, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 285–288 (1985).
- 8) 植田孝子, 小林真一, 安原一, *臨床薬理*, **22**, 611–616 (1991).
- 9) 上野和行, *臨床医薬*, **12**, 351–358 (1996).
- 10) Barchowsky A, Stand DG, Stargel WW, Wagner GS, Routledge PA, *Br. J. Clinical Pharmacol.*, **13**, 411–415 (1982).
- 11) Stand DG. *Clin. Pharmacokint. Suppl.*, **9**, 1, 27–31 (1984).
- 12) Giacomini KM, Swezey SE, Tuner-Tamiyasu K, Blascheke TF, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **10**, 1–14 (1982).
- 13) Haughey DB, Steinberg I, Lee MH, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 285–288 (1985).
- 14) シベンゾリンインタビューフォーム.