Cepharanthin の第 I 相臨床試験（単回および連続静脈内投与）における薬物動態

安田 耕太郎^{*1} 茂呂 光男^{*1}
赤須 通範^{*2} 大西 明弘^{*1,3}

（受付：1989年6月12日）（特別掲載）

Pharmacokinetic Disposition of Cepharanthin Following Single and Multiple Intravenous Doses in Healthy Subjects

Kohtaro YASUDA^{*1} Mitsuo MORO^{*1}
Michinori AKASU^{*2} and Akihiro OHNISHI^{*1,3}

^{*1} Tokyo Research Center of Clinical Pharmacology, 2-14-19 Takatanobaba, Shinjyuku-ku Tokyo 169, Japan

^{*2} Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.

^{*3} Department of Internal Medicine (1), Daisan Hospital, The Jikei University, School of Medicine

The pharmacokinetic disposition of Cepharanthin, a biscoclaurine alkaloid, was investigated in healthy subjects following single intravenous doses of 25, 50, and 100 mg and during and after the 7 days repeated doses of 100 mg per day. Each dose was studied in 5 subjects. Plasma and urine Cepharanthin levels were measured by the HPLC method and were analyzed by the one-compartment open model. Linear relationships were obtained between the dose of 3 doses of Cepharanthin and the C_{max} or the AUC. The $t_{1/2}$ ranged from 31.8 to 36.9 hr. The steady state levels were obtained for 5 to 6 repeated doses of 100 mg/day approximately and following the 7 repeated doses the mean ($\pm$ SE) of $t_{1/2}$ was 62.0 ± 2.8 hr. Using our previous study results of oral dosing, we obtained 0.06 to 0.09 of the absolute bioavailability of Cepharanthin. Total recovery amount of unchanged drug was 9.6% of administered dose. Throughout the studies we did not observe any adverse effects. These results suggested that Cepharanthin could be extensively metabolized in liver and largely uptaken to the tissue, binding strongly.

Key words: Cepharanthin, pharmacokinetic, phase I study, platelet aggregation

^{*1} 東京臨床薬理研究所

〒169 東京都新宿区高田馬場 2-14-19

^{*2} 化研生薬株式会社

^{*3} 慈恵会医科大学付属第三病院内科

緒言

Cepharanthin はツヅラフジ科植物 *Stephania cepharantha* Hayata (和名；タマサキツヅラフ

ジ)より抽出されたアルカロイドで、古く抗結核薬として国内で開発され¹⁾、以来抗体産生能の回復や白血球減少の防止、ヒスタミン遊離作用の抑制など多彩な目的をもって長年にわたり臨床応用が試みられてきた。また、最近では、生体膜安定化作用²⁾、脂質過酸化抑制³⁾、血小板凝集阻害^{4~6)}などの作用を有することが認められている。

著者らはすでに本剤の経口投与による薬物動態を明らかにしたが⁷⁾、今回は Cepharanthin の単回および連続静脈内投与による薬物動態を健康成人男子について明らかにし、かつその安全性の確認と同時に血小板凝集能に及ぼす影響について調査したので、ここに報告する。

試験方法

1. 実施期間および実施施設

静脈内投与による試験は 1987 年 12 月より 1988 年 4 月にわたり東京臨床薬理研究所で実施され、付属する基礎研究部において薬物動態の測定および解析が行われた。

2. 投与方法および投与量

被験者は事前の健康診断で適格と判定⁸⁾された健康成人男子で、試験実施前に本剤の毒性、薬効および一般薬理作用と起こりうる副作用ならびに試験計画の内容を十分に説明し、文書による同意を得て契約されたものである。静脈内投与試験の計画および被験者は Tab. 1 に示すとおりで、実薬投与のみの非盲検法で実施した。被験者は投与前日、当研究所に来院し、前日 21:00 より飲食物摂取を禁止され、静脈内投与は絶食 12 時間後の午前 9 時に実施された。被験薬物は、10 ml 中 Cepharanthin 50 mg を含有する注射剤 (pH 3) を用いた。25 mg 投与群にはこの注射剤の 5 ml に生理食塩液 45 ml を加え、注入時間 5 分間で投与した。50 mg 投与群ではこの注射剤 10 ml に生

理食塩液 40 ml を加え、同様 5 分間の注入時間で、100 mg 投与群では本剤 2 アンプル (20 ml) に生理食塩液 80 ml を加えて 10 分間の注入時間で投与した。100 mg 連続投与試験は 1 アンプル 10 ml 中に Cepharanthin 50 mg を含有する注射剤 (pH 3) を用い、2 アンプル 20 ml に生理食塩液 180 ml を加え、7 日間反復投与した。投与は朝食 2 時間後の午前 10 時から 1 時間の点滴により上腕部肘静脈に注入した。

3. その他の検査

単回投与試験では投薬前と退院時に理学的検査および一般臨床検査、生理機能検査 (ECG, BP, HR) を実施したが、100 mg 投与群のみに、投与前および投与後 1 時間目、3 時間目および退院時に、7 日間連続投与試験では投与前と投与後 3, 7, 28 日目の 12:00 に血小板凝集能の検査を加えた。また、すべての投与群の被験者は試験終了後 7 日目に事後検査 (医師による診察、一般臨床検査, ECG, BP, HR) を受け、異常の有無を確認された。

4. 倫理委員会による承認

試験計画はすべて東京倫理委員会で昭和 62 年 11 月 24 日より逐次その適否が審議され、妥当とする判断を文書で得た後、各試験が実施された。

5. 採血および採尿

単回投与試験では投与前と投与後 10, 20, 40 分と 1, 3, 5, 8, 12, 24, 48 時間目に 5 ml 採血を実施した。ただし、初回量の 25 mg 投与では血漿中薬物濃度の消失相を確認するため、投与後 1.5 時間目の採血と測定も行ったが、50 mg 投与以後の試験では実施しなかった。連続投与試験では、投与第 1, 7 日目に投与前および投与後 20, 40 分と 1, 1.5, 2, 4, 6, 10 時間目に、その他の日は投与後および投与終了時に全血 5 ml を採血した。採尿は、すべての単回投与試験で

Tab. 1 Characteristics of Healthy Subjects

Doses	25 mg single	50 mg single	100 mg single	100 mg multiple
Volunteers	5	5	5	5
Average age	22.4±1.82	22.8±1.10	20.8±1.30	21.8±1.30
Average weight (kg)	61.9±6.014	59.0±2.345	62.3±6.350	65.6±7.253

Data represent mean±SD

投与前と投与後 0~2, 2~4, 4~8, 8~12, 12~24, 24~48 の7分画で分時採尿を行い、尿量測定後 15 ml 採取した。連続投与試験では投与前日の10時より投与直前までの24時間尿を、投与第1, 7日目は10~14, 14~18, 18~翌10時までの3分画で、投与2日~9日目までの間は10~翌10時までの24時間尿を、投与後1, 14, 21および28日は前日10時から当日10時までの24時間尿をそれぞれ採尿し、尿量測定後、検体として15 ml を採取した。すべての血液は血漿分離された後、また、尿は検体15 ml の部分尿採取後、ただちに-20℃以下で凍結保存した。

6. 血漿中濃度測定法および尿中濃度測定法

いずれも HPLC 法により測定したが、詳細は Cepharanthin の経口投与試験に関する報文⁷⁾に記載したとおりである。また、測定に際して毎日検量線を作成したが、血漿中濃度測定における相関係数 r はすべて 0.999 で Cepharanthin 0~50 ng/ml 血漿の濃度範囲で直線性を示した。また、尿中濃度測定における相関係数 r もすべて 0.999 で、Cepharanthin 0~12 μ g/ml 尿の濃度範囲で直線性を示した。

7. 薬物動態の解析

Cepharanthin 血中濃度時間推移は1コンパートメントモデルで次式を用いて非線形最小二乗法プログラムにより解析した。

$$C_p = \sum_{i=1}^n C_i \cdot \exp(-K_{ei} \cdot t)$$

また、消失半減期 $t_{1/2}$ は

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_{el}} = \frac{0.693}{K_{el}}$$

より算出した。すでに報告済みの経口投与と本研究静注投与時の各投与量におけるクリアランス (CL) を次式より

$$CL = AUC_{\infty}^D$$

算出し、さらに生物学的利用率 (F) を次式

$$F = \frac{Di. v. \cdot AUC_{p. o.}}{Dp. o. \cdot AUC_{i. v.}}$$

i. v.: 静注投与時, p. o.: 経口投与時より算出した。

Cepharanthin 血中濃度時間推移曲線下面積 AUC については台形法を用いて計算した。

8. 血小板凝集能

血小板凝集能検査は、薬物投与を受けていないときの採血による PPP (保温された乏血小板血) (platelet poor plasma) を用いた検査時の凝集曲線をコントロールとして、投薬後の検査による凝集曲線のパターンおよび反応開始5分以内の最大凝集率ならびに最大凝集時間等を比較し作表した。凝集惹起物質には、ADP, コラーゲン, エピネフィリンを用い、使用濃度は下記のとおり一定濃度を常時使用した。ADP (sigma 製): 3 μ M (最終濃度), コラーゲン (東亜医用電子製): 10 μ g/ml (最終濃度), エピネフィリン (第一製薬製): 1 μ g/ml (最終濃度), 使用機器: Sysmex 自動血小板凝集測定装置, AA-100 (東亜医用電子製)。

結 果

すべての試験はプロトコールどおり正確に実施され、臨床検査および生理機能検査を含むすべての所見に異常はなく、副作用ならびにそれに随伴する症状も何ら認められなかった。各試験の事後検査でも被験者は健康で正常であることが確認された。

1. Cepharanthin の薬物動態

Fig. 1 に Cepharanthin 25, 50, 100 mg 静注後の血中濃度・時間推移が示されている。約1時間の分布相後の血中濃度時間推移を1コンパートメントモデルで解析した結果が Tab. 2 に示されている。半減期は 31.8 ± 0.8 から 36.9 ± 3.6 時間 (mean $\pm$ SE) と比較的長く、血中濃度はなだらかに低下した。C_{max}, AUC_{0- ∞} と投与量の関係は、いずれも 100 mg が Fig. 2 に示すごとく上方に位置し、静注では投与量の増大で saturation を示唆する結果となっている。Tab. 3 に Cepharanthin のクリアランス (total clearance: CL) と生体利用率 (absolute bioavailability: F) が示されているが、静注時クリアランスは 102 ± 8 l/hr から 164 ± 18 l/hr と著しく高い値を示した。経口時の薬物動態値から生体内利用率を求めると6から9%と低値であることが示された。Fig. 3 に

Tab. 2 Pharmacokinetic Parameters of Cepharanthin Obtained from a Single Intravenous Injection of the 25, 50, and 100 mg in 5 Subjects

parameter		doses	25 mg	50 mg	100 mg
1	AUC	AUC 0→48 hr	110.4±9.2	252.9±14.8	730.5±86.2
2	(ng·hr/ml)	AUC 0→∞	158.8±15.8	377.8±22.7	962.5±101.6
3	C _{max} (ng/ml)		187±14	433±25	1,464±364
4	t _{1/2} (hr)		35.8±3.2	36.9±3.6	31.8±0.8
5	K _{el} (hr ⁻¹)		0.020±0.002	0.0196±0.002	0.0219±0.0006

All data represent mean±SE

Fig. 1 Mean (±SE) plasma concentration-time curves following a single intravenous dose of 25, 50, and 100 mg of Cepharanthin in 5 healthy subjects.

25~100 mg 静注時の累積尿中排泄量が示されている。投与後 48 時間に至っても、まだ定常状態に達していないことが理解できる。48 時間までに $5.1 \pm 0.6 \sim 6.0 \pm 0.3\%$ の Cepharanthin が尿中に出現しているが、その後さらに排泄が続くと予想される。Fig. 4 に 100 mg 静注 7 日間連続投与の血中濃度時間推移が示されている。5 日から 6 日に C_{min} の変動幅は小さくなり、ほぼ定常

状態に達していることがわかる。Tab. 4 に 7 日間連続投与後の C_{max}、投与前の C_{min} および 7 日間の投与終了後の血中濃度時間推移より求められる血中半減期および K_{el} を記載したが、投与後の半減期 62.0 ± 2.8 時間は単回投与で得られた 31.8 ± 0.8 時間の約 2 倍延長していた。Fig. 5 と Tab. 5 に 7 日間 Cepharanthin 100 mg 連続投与時および投与後の尿中累積排泄量の時間推移および単位日数当りの尿中排泄量が示されている。連続投与期間中は、累積排泄量は直線性に上昇し、7 日間投与後 12~13 日まで徐々に上昇傾向を示したが、その後 nadir となった。28 日までに総量 700 mg Cepharanthin 投与のうちで $9.6 \pm 0.1\%$ が未変化体として排泄された。

2. 血小板凝集能への影響

Cepharanthin の 100 mg 静脈内単回投与試験において実施した血小板凝集能検査は投薬前と投薬後 1, 3 および 20 時間目に行ったが、エピネフリン (濃度 $1 \mu\text{g/ml}$ 血漿) を凝集惹起物質とする反応で 5 例中 3 例に投与 1~3 時間に若干の凝集能低下がみられたが、24 時間には正常に復した。Cepharanthin の 100 mg 連続静脈内投与試験では血小板凝集能検査を投薬第 1 日目、第 4 日目の投薬前と第 8 日目および第 28 日目の午前 10 時に実施したが、3 種の凝固惹起物質についての検査の全例で本薬剤によると思われる変化はとくにみられなかった。

3. 臨床検査値

Cepharanthin の 25, 50 および 100 mg 単回静脈内投与試験と 100 mg 連続投与試験でそれぞれ実施された臨床検査値は、白血球分画中の一部に

Fig. 2 Relationship of C_{max} or $AUC_{0-\infty}$ in pharmacokinetic parameters of Cepharanthin.

Fig. 3 Cumulative urinary excretion of Cepharanthin following a single dose of 25, 50, and 100 mg of Cepharanthin in 5 healthy subjects.

Fig. 4 Mean ($\pm$ SE) plasma concentration-time curves following a multiple intravenous dose of 100 mg of Cepharanthin in 5 healthy subjects.

Tab. 3 Cepharanthin Total Clearance and Absolute Bioavailability
Obtained from Oral and Intravenous Dosing

Dose (mg)	30	60	120
CL p. o. (l/hr)	1,792±574	2,390±285	1,094±228
Dose (mg)	25	50	100
CL i. v. (l/hr)	164±18	136±17	102±8
F	0.09	0.06	0.09

CL p. o. : total clearance oral dosing

CL i. v. : total clearance of intravenous dosing

F : absolute bioavailability

Tab. 4 Peak and Minimum Concentration of Cepharanthin Following the 7 Repeated Doses

	1	2	3	4	5	$\bar{x} \pm SE$
C_{max} (ng/ml)	162.0	146.6	201.8	170.8	300.2	196.3±27.50
C_{min} (ng/ml)	25.1	37.6	33.6	36.7	36.9	34.0±2.32
$t_{1/2}$ (hr)	60.8	62.6	53.1	70.7	62.6	62.0±2.8
K_{el} (hr ⁻¹)	0.0114	0.0111	0.0131	0.0098	0.0111	0.0113±0.005

 C_{min} was obtained as the level before the 7th dose of Cepharanthin. **Fig. 5** Cumulative urinary excretion of Cepharanthin following a multiple dose of 100 mg of Cepharanthin in 5 healthy subjects.

基準値をわずかに上下するものが散見されたが、すべて生理的変動の範囲内であり、何等問題なく事後検査時にも異常は認められなかった。

考察および結論

1. 安全性と忍容性

第 I 相臨床試験における単回投与の初回量より最高用量の設定については毒性実験の基礎資料³⁾と一般薬理作用⁴⁾ならびに多数の臨床報告^{1,5)}からみて妥当なものであり、試験の結果、本薬剤の 25, 50, 100 mg 単回静注試験および 100 mg 7 日間連続投与試験において安全性と忍容性は十分確かめられた。

2. Cepharanthin の薬物動態

著しく高値なクリアランスから想定して、Cepharanthin は静注後ただちに臓器に移行することが予想される。また、血中半減期が約 30 時間と長く、7 日間連続投与後約 2 倍に半減期が延長することから、Cepharanthin の組織への結合が強く、その結合性が投与期間により延長するのではないかと考えられた。700 mg (7 日間) の総量投

Tab. 5 Urinary Excretion of Cepharanthin in Multiple-dosing Study for 7 days

Subject No.		1	2	3	4	5	mean±SE
Day							
Tx	1	6.80	5.50	3.96	6.11	3.92	5.26±0.58
	2	5.28	6.46	5.65	6.33	6.10	5.96±0.22
	3	6.38	7.18	5.12	8.18	6.81	6.73±0.51
	4	10.1	6.21	7.03	9.62	11.2	8.83±0.95
	5	7.97	9.49	5.80	8.85	5.12	7.45±0.85
	6	8.26	10.9	6.87	12.2	8.58	9.36±0.96
	7	9.29	11.5	6.86	12.9	7.18	9.55±1.18
Wd	8	6.21	6.66	4.71	7.27	5.97	6.16±0.43
	9	3.25	5.20	2.26	4.64	3.33	3.74±0.53
	10	2.07	2.45	2.56	3.23	1.23	2.31±0.73
	11	1.24	1.39	1.25	2.27	0.96	1.42±0.22
	12	1.05	0.67	0.57	0.91	1.01	0.84±0.09

Tx: treatment period, Wd: withdrawal period.

Data units are represented in mg.

Fig. 6 Inhibition of platelet aggregation induced by ADP, collagen, and epinephrine following 100 mg Cepharanthin intravenous dosing. Upper column: pre-administration, lower column: 1hr post-administration.

与のうち、9.6%のみしか Cepharanthin として尿中に recover されなかったが、他の 90% は代謝産物および形を変えて体内に利用されたものか、あるいは便、汗、体内分泌物として別の経路で排

泄されたのではないかと予想する。いずれにせよ単回静注投与で約 1.5 日の半減期から 1 時間内外で定常状態に達すると予想されたが、実際に 5～6 日目で C_{min} に変動幅が少なくなった事実

Fig. 7 Maximal percent of platelet aggregation induced by ADP, collagen, and epinephrine-time relationship following the administration of Cepharanthin.

から体内では単回投与の動態値がそのまま使用し
うることを裏づけている。経口投与と静注投与を
比較して、生体内利用率が 6~9% の小さい値で
あることが示された。つまり、経口後、腸管吸
収、腸肝循環、肝代謝を経るうちに 90% 近く失
われることは、もし Cepharanthin 自体のみが
active なら、経口投与の不利を教えている。前回
の報告で経口投与における C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ と投
与量の関係は有意で、直線性を示したが、今回静
注では 100 mg で saturation の傾向を示した
(Fig. 2)。もちろんこれは C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ の
order が、経口と静注とでは 10 倍以上違うこと
によるが、やはり静注では高用量の時(100 mg 前後)
に saturation (組織結合性、血球への取込み、肝
代謝)を生じ、高い血中濃度になることが考えら
れ、もし、高血中濃度において副作用等が生じる

ことが判明すれば注意が必要となろう。しかし、
今回の 25, 50, 100 mg 単回静注、100 mg 7 日
間連続投与において、なんら副作用が認められ
ず、プロトコルどおり異常なく試験が終了した
ことから、耐用量の大きい薬物であろうと考えら
れる。いずれにせよ、今後、代謝産物の測定、血
球および各種組織への取込み、結合を含めた広範
囲の Cepharanthin に関する研究が必要であろう。

3. 血小板凝集能と Cepharanthin

Fig. 6, 7 に示すように ADP, コラーゲン, エ
ピネフリンによる血小板凝集に対して、Cepha-
ranthin は単回ならびに連続投与においてもほと
んど変化を示さなかった。多くの研究者により
Cepharanthin の血小板凝集阻止が報告⁴⁻⁶⁾されて
いるが、本研究では epinephrine により、投与後
数時間で凝集阻止傾向がみられたので、とくに有

意な変化は認められなかった。今後、さらに綿密な濃度と効果の関係を調査する必要があるし、各種血小板凝集異常を伴う病態で確かめられるべきであろう。

文 献

- 1) 化研生薬株式会社: Cepharranthin 文献目録集 (1986).
- 2) Utumi, K., Miyahara, M., Inoue, M. et al.: Inhibition by Cepharranthin of red blood cell potassium release induced by lead acetate and lysolecithin, *Cell Struct. Funct.*, **1**: 133-136 (1975).
- 3) Shiraishi, N., Morimoto, Y., Utumi, K. et al.: Inhibition by biscoclaurine alkaloid of lipid peroxidation in biological membranes, *Physiol. Chem. Phys.*, **12**: 299-305 (1980).
- 4) Yasunori, K.: Mechanism of the inhibitory effect of Cepharranthin on the aggregation of platelets. *Cell Struct. Funct.*, **7**: 39-44 (1982).
- 5) 花籠良一: アルカロイドの一種, セファランチンによる血小板凝集抑制効果に関する臨床的検討. 基礎と臨床, **16**: 291-299 (1982).
- 6) 金保安則, 佐藤隆司, 藤井達三ほか: 血小板凝集に対する Cepharranthin の in vivo での効果. 内科宝函, **30**: 15-19 (1983).
- 7) 安田耕太郎, 茂呂光男, 大西明弘ほか: Cepharranthin の第 I 相臨床試験 (経口単回投与) における薬物動態. 臨床薬理, **20**: 735-740 (1989).
- 8) 安田耕太郎, 石井和歌子, 高沢謙二ほか: ヒト試験におけるボランティアの選択基準について. 臨床薬理, **15**: 425-435 (1984).