

氏 名	ないとう しん さく 内 藤 真 策
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 689 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	肝臓を標的とした光学活性な新規高尿酸血症治療薬 BOF-4272 の In vitro および In vivo 体内動態特性に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教授 中 川 照 真 教授 高 倉 喜 信 教授 富 岡 清

論 文 内 容 の 要 旨

高尿酸血症治療薬として新規に開発された BOF-4272 はスルフォキシド基を光学不斉中心とする R 体と S 体からなるラセミ体薬物である。薬理作用は S 体のみに認められるため不斉合成を試みたが、S 体は物理化学的に不安定であり、また経口投与での吸収性に変動が認められたため、ラセミ体として開発された。一般に炭素を不斉中心とする光学異性体薬物の体内動態の研究は多いがスルフォキシド基を光学活性中心とする薬物の体内動態研究は極めて限られている。そこで BOF-4272 をモデル化合物としてラセミ体および光学異性体のそれぞれについて in vitro および in vivo 体内動態を明らかにし、その関係を説明することを目的として本研究を行った。さらに、BOF-4272 の体内動態と薬理作用（組織中尿酸濃度）との関連を明らかにした。

I. 肝臓分布と薬理活性との関連性

ラセミ体 BOF-4272 をマウスに経口投与して血漿中および肝臓中のラセミ体濃度推移と薬理作用の指標である尿酸値（組織中尿酸濃度）との関係を調査した。血漿中薬物濃度に対する肝臓中濃度の比は、投与後 1 時間では 2.5, 8 時間では 6.3 に増加することが分かった。また、投与後 1 時間から 8 時間までの肝臓中尿酸値は $0.34 \sim 0.75 \mu\text{g/g tissue}$ であった。この値は正常マウスの尿酸値 ($5.03 \sim 10.96 \mu\text{g/g tissue}$) と比較して有意に低値であった。これらの結果から、マウス肝臓における低尿酸値の持続は、肝臓中に高濃度に存在する BOF-4272 によるものであることが明らかとなった。

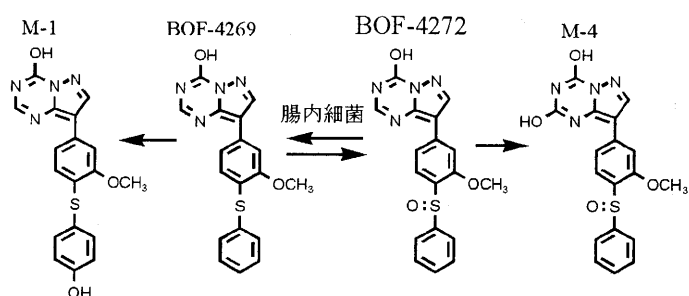
II. 体内分布、代謝および消失動態

マウスおよびラットを用いてラセミ体 BOF-4272 の体内動態を評価した。静脈内投与による消失半減期はマウスで 1.94 時間、ラットで 0.742 時間と比較的速く、分布容積はマウスで 415 mL/kg 、ラットで 440 mL/kg とほぼ同じであった。マウスおよびラットのいずれにおいても、 $1 \sim 125 \text{ mg/kg}$ の経口投与量において血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) と用量との相関係数が 0.997 以上となり、BOF-4272 の吸収と消失が広い濃度範囲にわたって線形性を保つことが分かった。

次に、静脈内投与および経口投与後に生成する代謝物の分析から代謝経路を推定した。BOF-4272 は肝臓で水酸化物 (M-4) に代謝された後、胆汁中に排泄された。また、スルフォキシド基は腸内細菌により還元代謝を受け (BOF-4269), その一部は肝臓で水酸化物 (M-1) となり、さらに M-1 の硫酸抱合体の存在も確認された。

III. 光学異性体の in vitro および in vivo 体内動態の差異

ラットおよびイヌにラセミ体 BOF-4272 を経口投与し、その 2 時間後の各異性体の動脈・門脈・静脈血漿中濃度および肝臓・腎臓中濃度を測定した。ラットではいずれの血漿中 S 体濃度も R 体より高値を示したが、イヌでは R 体が高値であ



った。ラットでは小腸から門脈系への移行は両光学異性体間ではほとんど違いが認められなかったのに対し、肝臓中濃度／血漿中濃度比はR体の方がS体よりも大きく、肝臓中濃度もR体が大きかった。一方、イヌでは小腸から門脈系への移行はR体の方がS体よりも大きかったが、肝臓中濃度／血漿中濃度比はいずれの光学異性体もラットより大きかったものの有意な差は認められなかった。ラットおよびイヌの腎臓中濃度は動脈・門脈・静脈血漿中濃度と同様の立体選択性を示した。これらの結果から、ラットでは肝臓への移行性（肝臓中濃度／血漿中濃度比）の違いによりS体の血漿中濃度がR体のそれよりも大きくなり、イヌでは小腸から門脈系への吸収の違いによりR体の血漿中濃度がS体のそれよりも大きくなったものと考えられた。

ラット肝臓から調製した肝細胞を単層培養し、培地にラセミ体 BOF-4272 を添加した。24時間後の定常状態における培地中のS体濃度はR体濃度よりも高値となった。この結果は、ラットにラセミ体 BOF-4272 を経口投与した場合にS体の血漿中濃度がR体のそれよりも高いという前述の結果と一致した。次に、ラット肝臓ホモジネートを9000xgで遠心分離した上清のS9を用いた *in vitro* 実験から、BOF-4272 の代謝による消失はS体よりもR体が速く立体選択性が見られた。

IV. 遊離肝細胞を用いたR体およびS体の肝臓取り込みの差異

ラット肝臓から調製した遊離肝細胞を用いて BOF-4272 の取り込み速度を検討した。光学異性体の肝細胞への取り込み速度は温度依存的であり、また濃度相関性を示した。S体とR体の肝取り込みは高濃度になると飽和性を示し、 K_m 値はS体およびR体でそれぞれ $59.3\mu\text{M}$ および $25.7\mu\text{M}$ となりR体が有意に大きな値を示した。しかしながら、両光学異性体の V_{max} の値はほぼ同じであった。代謝阻害剤であるアンチマイシン、オリゴマイシン、ロテノンにS体の取り込みをわずかに抑制したのに対し、R体の取り込みを有意に阻害した。有機アニオンであるタウロコール酸やコール酸は、いずれも両光学異性体の取り込みを減少させた。これらの結果は、ラットにおける BOF-4272 光学異性体の肝取り込みには単純拡散だけではなく担体仲介型輸送が関与していることを示している。さらに、BOF-4272 の肝細胞への立体選択的な取り込みは能動輸送の違いによるものであると考えられた。

以上、著者はスルホキシド基を光学活性中心として有する新規高尿酸血症治療薬 BOF-4272（ラセミ体）の体内動態特性について検討し、代謝消失における生体内運命の詳細を明らかにすると共に薬理作用の標的臓器である肝臓への分布の特異性について解明した。その結果、ラセミ体としてはラットとイヌのいずれにおいても肝臓に高濃度に移行することが分かった。しかし、光学異性体別に検討すると、ラットではR体が能動的に肝臓に移行するという動態特性が肝臓でのラセミ体 BOF-4272 の高濃度と関係しており、その結果として、動脈・門脈・静脈血漿中のS体が高濃度となっていることが分かった。一方のイヌでは光学異性体間の吸収はR体が大きいことがR体の高い血中濃度と関係し肝臓への移行には光学異性体に差を認めなかった。

このように、光学異性体の吸収・分布特性は BOF-4272 のように能動輸送が関与すると一様でなく種差の存在も想定されるため、光学分割測定による薬物動態の検討が重要と考えられる。

論文審査の結果の要旨

高尿酸血症治療薬として新規に開発された BOF-4272 はスルホキシド基を光学不斉中心とするR体とS体からなるラセミ体薬物である。薬理作用はS体のみに認められたが、S体は物理学的に不安定であり、また経口投与での吸収性に変動があるため、ラセミ体として開発された。一般に炭素を不斉中心とする光学異性体薬物の体内動態の研究は多いが、スルホキシド基を光学活性中心とする薬物の体内動態研究は極めて限られている。そこで本研究では、肝臓を標的とした光学活性な薬物のモデル化合物としてラセミ体および光学活性体の BOF-4272 を用いて体内動態特性を研究した。加えて、BOF-4272 の体内動態と薬理作用（組織中尿酸濃度）との関連を明らかにした。

I. 肝臓分布と薬理活性との関連性

ラセミ体 BOF-4272 をマウスに経口投与して血漿中および肝臓中のラセミ体濃度推移と薬理作用の指標である尿酸値（組織中尿酸濃度）との関係を調査した。血漿中薬物濃度に対する肝臓中濃度の比は、投与後の時間の経過により増加する傾向を認めた。また、BOF-4272 の投与により肝臓中尿酸値は正常値の1/10程度を示し有意に低値であった。これらの結果から、マウス肝臓における低尿酸値の持続は、肝臓中に高濃度に存在する BOF-4272 の薬理作用であることが明らかと

なった。

II. 体内分布、代謝および消失動態

マウスおよびラットを用いてラセミ体 BOF-4272 の体内動態を評価した。静脈内投与による消失半減期は比較的速く、分布容積はほぼ同じであった。次に、静脈内投与および経口投与後に生成する代謝物の分析から代謝経路を推定した。BOF-4272 は肝臓で水酸化物 (M-4) に代謝された後、胆汁中に排泄され、一方において、スルホキシド基は腸内細菌により還元代謝を受け (BOF-4269)、その一部は肝臓で水酸化物 (M-1) となり、さらに M-1 の硫酸抱合体の存在も確認された。

III. 光学異性体の *in vitro* 代謝および *in vivo* 体内動態

ラットおよびイヌにラセミ体 BOF-4272 を経口投与し、その 2 時間後の各異性体の動脈・門脈・静脈血漿中濃度および肝臓・腎臓中濃度を測定した。ラットではいずれの血漿中 S 体濃度も R 体より高値を示したが、イヌでは R 体が高値であった。ラットでは肝臓への移行性の違いにより S 体の血漿中濃度が R 体のそれよりも大きくなり、イヌでは小腸から門脈系への吸収の違いにより R 体の血漿中濃度が S 体のそれよりも大きくなったものと考えられた。

ラット培養肝細胞の培地にラセミ体 BOF-4272 を添加したところ、培地中の S 体濃度は R 体のそれよりも高値となり、ラットにラセミ体 BOF-4272 を経口投与した場合と一致した。次に、ラット肝臓ホモジネートから得た S9 画分を用いた代謝実験から、BOF-4272 の代謝は S 体よりも R 体が速く立体選択性が見られた。

IV. 遊離肝細胞を用いた R 体および S 体の肝臓取り込み

ラットから調製した遊離肝細胞を用いて BOF-4272 の取り込み速度を検討した。光学異性体の肝細胞への取り込み速度は温度依存的であり高濃度になると飽和性を示した。R 体の K_m 値が S 体のそれよりも有意に大きな値を示したが、 V_{max} の値はほぼ同じであった。アンチマイシン等の代謝阻害剤は S 体の取り込みをわずかに抑制したのに対し、R 体の取り込みを有意に阻害した。タウロコール酸などの有機アニオンは、両光学異性体の取り込みを減少させた。これらの結果は、ラットにおける BOF-4272 光学異性体の肝取り込みに単純拡散だけではなく担体仲介型輸送が関与していることを示している。さらに、BOF-4272 の肝細胞への立体選択的な取り込みは能動輸送の違いによるものであると考えられた。

著者はスルホキシド基を光学活性中心として有する新規高尿酸血症治療薬 BOF-4272 (ラセミ体) の体内動態特性について検討し、代謝消失における生体内運命を明らかにすると共に薬理作用の標的臓器である肝臓への分布の特異性について解明した。その結果、ラセミ体としてはラットとイヌのいずれにおいても肝臓に高濃度に移行することが分かった。しかし、光学異性体別に検討すると、ラットでは R 体が能動的に肝臓に移行するという動態特性が肝臓でのラセミ体 BOF-4272 の高濃度と関係しており、その結果として、動脈・門脈・静脈血漿中の S 体が高濃度となっていることが分かった。一方のイヌでは光学異性体間の吸収は R 体が大きいために R 体の高い血中濃度と関係し肝臓への移行には光学異性体に差を認めなかった。

以上、本研究での成果は、光学異性体の吸収・分布特性は BOF-4272 のように能動輸送が関与すると一様でなく種差の存在も想定されることを明らかにするとともに、光学分割測定によるスルホキシド体の薬物動態を解明した。

よって、本論分は博士 (薬学) の論文として価値のあるものと認める。

さらに平成15年2月21日、論文内容とそれに関連した事項につき諮問を行なった結果優秀と認定した。