

新規 α -アミラーゼ阻害剤CS-1036の薬物動態：CS-1036の濃度依存的かつ飽和性のタンパク結合の影響および組織分布における同化代謝に関する検討

本田，友博

<https://hdl.handle.net/2324/1470646>

出版情報：九州大学，2014，博士（薬学），論文博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 本田 友博

論文題名 : 新規 α -アミラーゼ阻害剤 CS-1036 の薬物動態
- CS-1036 の濃度依存的かつ飽和性のタンパク結合の影響および
組織分布における同化代謝に関する検討 -

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

1. 新規 α -アミラーゼ阻害剤である (2*R*,3*R*,4*R*)-4-hydroxy-2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-3-yl 4-*O*-(6-deoxy- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranoside (CS-1036) のラットおよびサルにおける吸収、代謝、排泄および消化管内の経時的な分布と薬理作用の関係を評価することを目的とした。
2. ラットおよびサルに CS-1036 を静脈内投与後、CS-1036 は二相性で長い半減期 ($t_{1/2}$: 18.4–30.0 h) で血漿中から消失したが、ヒトに CS-1036 を経口投与した際には CS-1036 の $t_{1/2}$ は 3.7–7.9 h と短かったことから、 $t_{1/2}$ の種差の原因を明らかにすることを目的とした。
3. [14 C]CS-1036 をラットに単回経口投与後、様々な組織において放射能が投与 7–14 日後まで検出され、血漿中放射能推移における消失相は CS-1036 とその主代謝物 M1 では説明できなかった。この原因が生体内のタンパク質などの高分子への共有結合か [14 C]CS-1036 由来の放射能が生体成分の生合成に利用されたのかを解明することを目的とした。

【方法】

1. ラットおよびサルに CS-1036 あるいは [14 C]CS-1036 を静脈内あるいは経口投与後の CS-1036 の吸収、代謝、排泄および消化管内分布と薬理効果との関係を検討した。
2. ヒトに CS-1036 を経口投与後の CS-1036 の体内動態を評価するとともに限外濾過により CS-1036 のラット、サルおよびヒト血漿中タンパク結合率を評価した。CS-1036 の結合タンパクを同定するため、アルブミンおよびアミラーゼに対する CS-1036 の結合および抗アミラーゼ抗体により免疫沈降した血漿における CS-1036 のタンパク結合についても検討した。
3. [14 C]CS-1036 をラットに経口投与後の組織分布を評価し、生体成分への利用について血漿タンパクのアミノ酸分析と脂肪組織の脂質分析を高速液体クロマトグラフィー、加速器質量分析、薄層クロマトグラフィーおよび液体クロマトグラフィー/質量分析により検討した。

【結果】

1. CS-1036 を静脈内投与後の CS-1036 の全身クリアランス (CL) および分布容積 (V_{ss}) はともに低く、ラットにおいてはそれぞれ 2.67–3.44 mL/min/kg および 0.218–0.237 L/kg であり、サルにおいてはそれぞれ 2.25–2.84 mL/min/kg および 0.217–0.271 L/kg であった。 [14 C]CS-1036 をラットおよびサルに静脈内投与後、放射能は主に尿中に排泄 (ラット: 77.2%, サル: 81.1%) された。経口投与後の経口バイオアベイラビリティ (F_{oral}) はラットで 1.73%–2.44%、サルで 0.983%–1.20% と低く、放射能は主に糞中に排泄 (ラット: 80.28%, サル: 88.13%) された。ラットでは静脈内投与後の糞中排泄 (15.66%) が観察されたことから、ラットにおいては消化管分泌が一部、糞中排泄に寄与していることが示唆された。CS-1036 の代謝には腸内

細菌が関与するものの、糞中の主成分は CS-1036 (ラット: 70.3%, サル: 48.7%) であり、投与後 2 h まではラット小腸内容物中において CS-1036 が投与量の 33%–68% を占めた。糖尿病モデルである Zucker diabetic fatty (ZDF; ZDF/Crl-Leprfa) ラットにおいて CS-1036 はデンプン負荷後の血糖上昇抑制効果を示し、50%有効用量は 0.015 mg/kg であった。CS-1036 は α -アミラーゼ阻害により食後過血糖抑制を示した。

2. ラットおよびサルにおいて CS-1036 は濃度依存的で飽和性の血漿タンパク結合を示し、乖離定数 (K_D) はそれぞれ 8.95 および 27.2 nM、最大結合濃度 (B_{max}) はそれぞれ 52.8 および 22.1 nM であったが、ヒト血漿タンパク結合はほぼ一定 ($\leq 10.2\%$) であった。組換えラット唾液アミラーゼおよび免疫沈降の結果からラットにおける主な結合タンパクは唾液アミラーゼ (K_D ; 5.64 nM) と同定され、CS-1036 はヒト唾液および膵臓アミラーゼに対してもラットと同等の K_D で結合した。CS-1036 の *in vitro* 血漿における K_D および B_{max} から *in vivo* における血漿中非結合型分率 (f_u) の推移を算出した結果、経口投与後に用量依存的な f_u の増加が認められた。
3. [^{14}C]CS-1036 を投与後の血漿タンパク質を加水分解後のアミノ酸分析において、グルタミン酸、アスパラギン酸、アラニンおよびプロリンが主な放射性アミノ酸として検出され、同定された放射性の非必須アミノ酸は血漿中放射能の 76.0% を占めた。脂質の加水分解により放射性脂質は中性脂質を構成する脂肪酸と同定され、放射性脂肪酸はパルミチン酸、オレイン酸および 8,11,14-エイコサトリエン酸であると同定された。

【考察】

1. ラットおよびサルに CS-1036 を経口投与後、CS-1036 はほとんど吸収されず、ラットにおいては薬理活性発現部位である小腸管腔側に経口投与後 2 h まで高濃度に分布し、消化管管腔内で安定であった。このような CS-1036 の薬物動態プロファイルがデンプン由来のグルコースの吸収抑制と密接に関連していることが示唆された。
2. 血漿中の α -アミラーゼに結合することにより CS-1036 はラットおよびサルにおいて濃度依存的で飽和性の血漿タンパク結合を示した。 α -アミラーゼに結合する薬剤はこれまでに報告がなく、新規の知見である。一方で、ヒトにおいては血漿中アミラーゼ濃度が低いため、CS-1036 のタンパク結合はほぼ一定となったと考えられ、血清中アミラーゼ濃度、つまり、 B_{max} に種差があることが示唆された。したがって、濃度依存的で飽和性のタンパク結合が認められたラットおよびサルにおいて $t_{1/2}$ が長く、ヒトにおいては $t_{1/2}$ が短いことが示唆された。また、CS-1036 を経口投与後の用量依存的な f_u の増加によって用量依存的に CL が増加し、ラットに 0.3 mg/kg を経口投与した際に、1–10 mg/kg に比べて AUC/dose が高くなったと推測された。今回得られた知見は血漿中に低レベルに存在するタンパク質と薬物の特異的な結合に伴う薬物動態の非線形性について検討する上で有用な情報と考えられる。
3. [^{14}C]CS-1036 をラットに経口投与後、[^{14}C]CS-1036 由来の放射能は、血漿タンパクのアミノ酸および中性脂肪の脂肪酸の構成成分として取り込まれた。このことから、CS-1036 あるいは CS-1036 由来の代謝が腸内細菌などの関与によりさらなる低分子代謝物へ代謝され、アミノ酸および脂肪酸に取り込まれる可能性が示唆された。反応性代謝物が生体中の高分子に共有結合するのではなく、低分子薬剤由来の物質の生体の構成成分への取り込みを明らかにした知見はこれまでなく、本検討で用いた手法は反応性代謝物で説明のつかない放射能の残存メカニズムを解明する一つの手法となり得ると考えられる。