

氏名	いしかわ　　みのる 石川　　稔
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	甲第166号
学位授与年月日	平成16年　9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	脂質低下薬ゲムフィブロジルの新規代謝物の構造解析および代謝におけるβ-シクロデキストリン誘導体との相互作用に関する研究 (Structural elucidation of novel metabolites of gemfibrozil, a lipid-lowering agent and the study of the interaction between β-cyclodextrin derivatives and drug in metabolism)
学位論文審査委員	(主査) 古田武 (副査) 和泉好計　小西久俊 吉井英文

## 学位論文の内容の要旨

医薬品開発において、薬物代謝研究は薬効や毒性発現の評価に極めて重要であり、代謝過程の解明は、薬物の薬効発現機序の解明や安全性評価の面で必要不可欠である。薬物を次の開発ステージへ移行させる判断材料として、代謝物の構造解析は重要な役割を占め、各動物種およびヒト組織由来試料での代謝物ならびに推定代謝経路のデータから、ヒトのデータの予測をせねばならない。薬物代謝の情報を把握することは、動物種差、遺伝的多型、個人差、薬物相互作用などを回避するために必要である。そのため、代謝物の構造解析は、多量の生体内夾雑物の存在下で微量の目的代謝物の構造を、多種分離分析手段および質量分析計を駆使することにより決定し、迅速に構造解析することが必須である。本研究の目的は、脂質低下薬であるゲムフィブロジルのイヌにおける代謝物の構造解析ならびに推定代謝経路の解明を検討するとともに、開発ステージで可溶化剤、投与基剤として用いられることが多い水溶性シクロデキストリン誘導体と本薬物との相互作用、ならびに代謝に対する影響の有無について検討することである。

本論文は全6章から構成されている。

第1章「緒論」では、本研究の背景と既往の研究をまとめ、本研究の位置付けおよび目的を述べている。

第2章では、雄性イヌ(Beagle)に、<sup>14</sup>C標識化されたゲムフィブロジルを経口投与した際の、

尿中代謝物を単離精製ならびに種々のイオン化法や誘導体化法で測定したマスマスペクトロメトリー (MS)、および MS/MS により得られた情報から構造解析した。その結果、イヌ尿中から 10 種の代謝物が検出され、そのうち 7 種の代謝物については、未報告の新規代謝物であることが明らかとなった。特に、極性の高い 2 種の代謝物については、カルボキシル基部分のグルクロン酸抱合体とフェノール性水酸基部分の硫酸抱合体がさらにグルクロン酸抱合化された 2 重抱合代謝物であり、抱合形式としては報告例が少ない特異な抱合代謝物であることが判明した。併せて、イヌにおけるゲムフィブロジル代謝経路についても推定し、抱合代謝物がさらにグルクロン酸抱合体もしくは硫酸抱合化される酵素的なメカニズムのプロセスを明らかにした。

第 3 章では、可溶化剤および投与基剤等として汎用されている水溶性シクロデキストリン (CD) の体内動態を把握する目的で、雄性 Sprague-Dowley 系ラットに、 $^{14}\text{C}$  で標識した HP- $\beta$ -CD を経口および静注投与した際の血中濃度推移、尿糞中排泄および組織分布を明らかにした。その結果、 $^{14}\text{C}$ -HP- $\beta$ -CD をラットに経口投与時の放射能は、消化管および胃が最大であり、一部は肝臓にも分布していた。また、静注投与時の放射能は、血液 (血漿) および腎臓が最大であり、時間の経過とともに肝臓、膀胱および肺に多く分布していた。静注投与後の尿糞中排泄率は 72 時間で、それぞれ約 72% および 13% であることから、尿排泄が主排泄経路であった。また、経口投与後の尿糞中排泄率は 72 時間で、それぞれ約 2% および約 93% であることから、経口投与では消化管から吸収されにくいことが分かった。

第 4 章では、薬物の可溶化剤として CD 誘導体である HP- $\beta$ -CD ならびにメチル化  $\beta$ -CD (Me- $\beta$ -CD) を使用し、ゲムフィブロジルをモデル薬物とした際の溶解性や代謝に対する相互作用の有無について、*in vitro* 系試験により基礎的な検討を行った。ゲムフィブロジルの溶解度は CD 誘導体の添加濃度の増加に伴い、指数関数的に増加する Ap 型を示した。HP- $\beta$ -CD は安定度定数の算出結果から、濃度域の違いにより、ゲムフィブロジルと HP- $\beta$ -CD における複合体のコンフォーメーションが変化することが分かった。また、ヒトおよびラット肝ミクロソームによる薬物代謝に対する CD 誘導体の影響についても検討した結果、CD 誘導体との相互作用を示した。低濃度領域では代謝速度の促進作用が見られ、高濃度領域では抑制 (阻害) 作用が観察され、種差も確認された。さらに、ヒト CYP 発現系ミクロソームを用いた、各 CYP 基質代謝に対する CD 誘導体の影響について検討した結果、CYP 分子種の違いにより相互作用が異なり、主に CYP2C9 で促進作用、また、CYP2C19 および CYP3A4 で抑制作用があることが明らかとなった。

第 5 章「総括」では、本研究において得られた結果を結論としてまとめた。

## 論文審査の結果の要旨

医薬品開発において、薬物代謝過程の研究は薬効のメカニズムや評価、および毒性発現などの安全性評価の面で必要不可欠であり、次の開発ステージへ移行させる判断材料として重要な役割を占める。本研究では、脂質低下薬であるゲムフィブロジル (GEM) の代謝物の構造解析ならびに代謝経路の解明を検討すること、および、可溶化剤、投与基剤として用いられることが多い水溶

性シクロデキストリン誘導体 (CD 誘導体) と GEM との相互作用、ならびに代謝に対する影響の有無について検討したものである。

ゲムフィブロジルの代謝に関しては、イヌに  $^{14}\text{C}$  標識化された GEM を投与し、尿中代謝物を単離精製の後、種々のイオン化法や誘導体化法を駆使したマスマスペクトロメトリー (MS) 測定により構造解析した。その結果、イヌ尿中から 7 種の新規代謝物を見だし、その構造解析を行うと同時にイヌにおける GEM の代謝経路について推定した。CD 誘導体の体内動態に関しては、ラットに  $^{14}\text{C}$  で標識した HP- $\beta$ -CD を経口及び静脈内投与し、血中濃度推移、尿糞中排泄率および組織分布などを明らかにした。また、HP- $\beta$ -CD、メチル化  $\beta$ -CD などの CD 誘導体を使用し、GEM の溶解性や代謝に対する相互作用の有無について検討し、濃度域の違いにより、GEM と HP- $\beta$ -CD 複合体の構造が変化することを明らかにした。更に、ヒトおよびラット肝マイクロソームによる薬物代謝に対する CD 誘導体の影響についても検討し、低濃度領域では代謝速度の促進作用が、高濃度領域では阻害作用が生ずることを明らかにした。また、ヒト CYP 発現系マイクロソームを用いた CD 誘導体の影響に関しては、CYP 分子種の違いにより相互作用が異なることを明らかにした。

以上、本論文の研究成果は、薬物代謝の構造解析および代謝経路の解明にマスマスペクトロメトリー (MS) が有用であることを明らかにすると同時に、薬物の可溶化剤および投与基剤として近年注目を浴びている CD 誘導体の有用性を明らかにしたものとして、新薬の開発・工業化に大いに貢献できるものと考えられる。

よって、本論文は博士 (工学) の学位論文に値するものと認められる。