

# 5'-Deoxy-5-fluorouridine プロドラッグ含有リピッド マイクロスフィアによる抗癌剤のリンパ系送達

遠藤浩孝・熊倉克頼・大森裕正・奥村睦男・浮ヶ谷 正<sup>\*1)</sup>、関 俊暢・從二和彦<sup>\*2)</sup>

*Lymphatic delivery of anticancer drug by lipid microspheres containing prodrug of 5'-deoxy-5-fluorouridine*

Lipid microspheres (LM) containing lipophilic prodrug of 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR), 2', 3'-didecanoyl-5'-deoxy-5-fluorouridine (C 10-5'-DFUR), were prepared. The median diameter of LM containing C 10-5'-DFUR (C 10-5'-DFUR-LM) was about 200 nm, which was unchanged during storage for 1 week at 5°C. We analyzed plasma concentration and cumulative lymphatic transport of drug following oral administration of C 10-5'-DFUR-LM to rats, as compared with 5'-DFUR aqueous solutions (5'-DFUR-W) or 5'-DFUR added to LM (5'-DFUR+LM). Effect of simultaneous use of C 10-5'-DFUR and soybean oil or lecithin which is components of LM on lymphatic delivery of drug was also investigated. The plasma concentration of 5'-DFUR rapidly declined following administration of 5'-DFUR-W or 5'-DFUR+LM. In contrast, the plasma concentration of 5'-DFUR was sustained for 24 hr in all cases of formulations containing C 10-5'-DFUR.

On the other hand, the cumulative lymphatic transport of the drug following the co-administration of C 10-5'-DFUR and soybean oil or lecithin was higher than 5'-DFUR-W and 5'-DFUR+LM. Especially, in the case of C 10-5'-DFUR-LM, the cumulative lymphatic transport was higher than any other formulation. Those results indicate that administration of lipophilic drug incorporated in LM is effective for directed delivery of the drug to lymph duct, due partly to direct transmucosal passage of the intact LM containing the drug.

Hirohisa Endoh · Katsuyori Kumakura · Hiromasa Ohmori ·  
Mutsuo Okumura · Tadashi Ukigaya<sup>\*1)</sup>,  
Toshinobu Seki · Kazuhiko Juni<sup>\*2)</sup>

**key words :** lymphatic delivery, lipid microsphere, prodrug,  
5'-deoxy-5-fluorouridine, oral administration

〔要約〕 5'-Deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) の脂溶性プロドラッグ (2', 3'-didecanoyl-5'-deoxy-5-fluorouridine (C 10-5'-DFUR)) 含有リピッドマイクロスフィア (LM) を調製し (メジアン径≒200 nm)、ラットに経口投与した結果、血漿中 5'-DFUR 濃度は 5'-DFUR 製剤投与にくらべ持続し、薬物の累積リンパ移行量は C 10-5'-DFUR と LM 成分 (ダイズ油、レシチン) との併用時よりも高かった。これは、脂溶性薬物とカイロミクロン成分との併用と、一部、薬物を含有した LM 自身の粘膜通過が、薬物のリンパ系送達に効果があるためと考える。

癌の外科手術の予後は、転移、再発の有無に大きく左右されるので、リンパ節へのあるいはリンパ系

を介した他の組織への癌の転移予防を目的として、外科手術の際には腫瘍巣周辺リンパ節の廓清が頻繁に行われる。しかし、患者への負担が大きいのにもかかわらず完全でない場合も多く、しばしば癌の転移、再発がみられる。癌の転移予防に抗癌剤のリンパ系への送達が有効と考えられるが、抗癌剤の多くは親水性の低分子化合物であり、リンパ系への薬物移行性は比較的低い。これらを背景として、従来よりマイクロスフィアへの封入やプロドラッグ化などの薬剤学的手法によりリンパ系に選択的に抗癌剤を分布させる試みがなされている<sup>1-4)</sup>。

そこで筆者らは、経口投与したあと、消化管からリンパ系へ効率的に薬物を送達させるための薬物キャリアとして、リンパ管より吸収されるレシチン

<sup>\*1)</sup> Omiya Research Laboratory, Nikken Chemicals Co., Ltd. 日研化学株式会社大宮研究所

<sup>\*2)</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University 城西大学薬学部

Offprint requests to : Hirohisa Endoh, Pharmaceutical Group, Omiya Laboratory, Nikken Chemicals Co., Ltd., 1-346, Kitabukuro-cho, Omiya, Saitama 330-0835, Japan

や植物油を主成分とする平均粒子径が数十～数百 nm のリピッドマイクロスフィア (LM) が有望であると考えた。LM は静脈内注射により、炎症部位や障害血管周辺にターゲティングされることは知られているが、経口投与からの薬物キャリアとしての性質はあまり知られていない<sup>5,6)</sup>。

LM に含有させる薬物としては、5'-Deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) の脂溶性プロドラッグを用いた。5'-DFUR は、5-fluorouracil (5-FU) のプロドラッグであり、そのままでは効果を示さないが、腫瘍部位で活性の高いピリミジンヌクレオシドホスフォラーゼにより 5-FU に変換されるターゲティング効果を有するため、従来のフッ化ピリミジン系抗癌剤より安全性が高く、臨床の場でも経口的に広く使用されている<sup>7)</sup>。LM 製剤は o/w 型のエマルジョンであり、その LM 相 (油相) への 5'-DFUR の含有率は親水性であるため低くなると予想されるので、5'-DFUR の 2' 位、3' 位 OH 基を n-デカン酸でアシル化した 2', 3'-didecanoyl-5'-DFUR (C 10-5'-DFUR) を合成し、LM に含有させた。

本報告では、基礎検討として、C 10-5'-DFUR の物理化学的性質と酵素反応性を検討し、さらに、C 10-5'-DFUR を含有した LM をラットに経口投与したあとの薬物体内動態とリンパ移行性を評価し、5'-DFUR や C 10-5'-DFUR を LM や LM の材料と併用投与した場合と比較した。

## 方 法

### (1) 材 料

精製卵黄レシチン (PL 100 E) は、キューピー社より供与されたものを用いた。5'-Deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) はシグマ社より購入した。2', 3'-didecanoyl-5'-DFUR は Nishizawa らの方法により合成した<sup>8)</sup>。すなわち、5'-DFUR (1 g) をピリジンに溶解させ、0°C 下、n-デカン酸クロリド (3 倍等量) を滴下し、室温で 2 時間放置した。反応液は、溶媒を減圧下で留去し、得られたオイルをカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、展開溶媒；n-ヘキサン：酢酸エチル=8:1) で精製し、C 10-5'-DFUR を得た。化学構造は、<sup>1</sup>H-NMR と MS により確認した。

純度は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により 98% 以上であることを確認した。ブタ肝臓エステラーゼ (エステラーゼ懸濁液、2530 units/ml) は、シグマ社より購入した。エステラーゼ懸濁液は、0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) で希釈し、200 units/ml とした。その溶液は 0.45 μm メンブランフィルターで濾過し、使用時まで 4°C で保存した。溶液は調製後 50 時間以内に使用した。他の試薬は HPLC グレードあるいは特級品を購入しそのまま用いた。

### (2) 見かけの分配係数の測定

薬物の見かけの分配係数は、25°C において n-オクタノール/0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 6.8) 系およびダイズ油/0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 6.8) 系で測定した。C 10-5'-DFUR の場合、n-オクタノールもしくはダイズ油 1 g に C 10-5'-DFUR (20 mg) を溶解し、それぞれの溶液に緩衝液 (20 ml) を加えた。それぞれの混液を室温にて攪拌して薬物を分配させたあと、水相中薬物濃度を HPLC により測定した。5'-DFUR の場合、緩衝液 5 ml に 5'-DFUR (50 mg) を溶解させ、n-オクタノール (40 g) もしくはダイズ油 (35 g) を加えた。

薬物を分配させたあと、油相から 7 g を分取し、分取液より水 (2 ml) で 6 回、薬物を抽出した。その抽出液中薬物濃度を HPLC で測定した。

### (3) 溶解度の測定

C 10-5'-DFUR の水への溶解度は、試験管中の水に薬物を懸濁させ、その試験管を 37°C で 24 時間保持後、上澄みを分取し、HPLC により測定して求めた。ダイズ油への薬物溶解性は、薬物 (1~350 mg) を、1 g のダイズ油に加え、60°C に加温、攪拌後、室温まで冷却し、1 日放置後の液中に薬物固体が析出しているかどうかを目視することで判定した。

### (4) *In vitro* におけるエステラーゼによる加水分解試験

等張りリン酸塩緩衝液 (pH 7.4) で 1 unit/ml に希釈したエステラーゼ溶液 (5 ml) を恒温槽で 37°C とし、それに C 10-5'-DFUR エタノール溶液 ( $4 \times 10^{-3}$  M) を 50 μl 加えた。経時的にサンプル (100 μl) を分取し、等量のアセトニトリルを加えて酵素反応を止めた。サンプル中 C 10-5'-DFUR および 5'-DFUR 濃度を HPLC により測定した。ジエステル誘導体から

モノエステル体への分解速度定数(K<sub>1</sub>)は、C 10-5'-DFUR 濃度の経時的減少を片対数グラフにプロットし、その傾きから求めた。

モノエステル体からの 5'-DFUR の生成速度定数(K<sub>2</sub>)は、C 10-5'-DFUR および 5'-DFUR 濃度の経時変化から、非線形最小二乗法により求めた。

#### (5) LM 製剤の調製

3.15%(w/v) C 10-5'-DFUR, 10%(w/v) ダイズ油, 1.2%(w/v) 卵黄レシチン, 2.5%(w/v) グリセリンおよび蒸留水からなる LM 製剤(o/w emulsion)を以下の方法により調製した。C 10-5'-DFUR (18.9 g) と卵黄レシチン (7.2 g) を 80°C で、ダイズ油 (60 g) に溶解させ、あらかじめ 80°C に暖めたグリセリン水溶液で全量を 600 ml とした。その溶液をハイドロシャー(HS-0.5 型, ゴーリン, ドイツ)で 18 分オペレートして粗乳液(粒子径=500 μm)を得た。さらに、高圧ホモジナイザー(LAB 60-10 TBS, ゴーリン)で 21 分オペレートし、LM 製剤(600 ml)を得た。その LM 製剤は、室温に冷却後、メンブランフィルター(1.0 μm, ミリポア, USA)で濾過し、実験まで 5°C で保存した。また、薬物を含まない LM 製剤を調製して、5'-DFUR をあとから添加し、体内動態を C 10-5'-DFUR と 5'-DFUR 間で比較するための製剤とした。

#### (6) LM 製剤の薬物含量および LM の平均粒子径の測定

LM 製剤(0.5 ml)をアセトニトリル(250 ml)に溶解後、溶液中 C 10-5'-DFUR 濃度を HPLC により測定した。LM の重量基準によるメジアン径は N 4 型コールター(日科機)により測定した。

#### (7) 動物実験手技

Bollman らの方法に従い、以下の実験を行った<sup>9)</sup>。約 18 時間絶食させた Wistar 系雄性ラット(8 週齢, 体重 190~300 g)にペントバルビタール麻酔下(40 mg/kg)頸動脈カニューレを施し、麻酔覚醒後、薬物を経口投与した。投与後、ボールマンケージにラットを固定し、経時的にカニューレより血液(500 μl)を少量のヘパリン処理したチューブに採取した。サンプルは、ただちに遠心分離して血漿(250 μl)を分取し、分析まで凍結した。

リンパ液採取実験の場合、別の胸管リンパにカ

ニューレを施して絶食させたラットに、薬物を経口投与し、カニューレより 24 時間持続的にリンパ液を採取した。

血漿およびリンパ液中 5-FU, 5'-DFUR 濃度は、町田らの方法を応用し、5-iodouracil(5-IU)を内部標準物質として用いて測定した<sup>10)</sup>。すなわち、サンプル(200 μl)に 5-IU 水溶液(250 μl)と pH 6.0, 1 M リン酸塩緩衝液(50 μl)を加え、酢酸エチル(8 ml)を加えて 10 分振盪した。遠心分離後、有機層を分取し、N<sub>2</sub>ガスで乾固した。残渣を移動相(250 μl)に再溶解し、メンブランフィルター(0.22 μm)で濾過後、HPLC により薬物濃度を測定した。血漿およびリンパ液中 C 10-5'-DFUR 濃度は、サンプル(50 μl)に 2 倍量のアセトニトリルを加えて除蛋白したあと、上澄みを HPLC に注入して測定した。また、C 10-5'-DFUR のモノエステル体の濃度は以下の手順で測定した。

すなわち、リンパ液(250 μl)に 100 units/ml エステラーゼ溶液(500 μl)を加えて 2 時間 37°C でインキュベートして、C 10-5'-DFUR と C 10-5'-DFUR のモノエステル体をすべて 5'-DFUR に変換し、5'-DFUR 濃度を測定して、その薬物濃度と個別に測定した C 10-5'-DFUR と 5'-DFUR 濃度の和との差を C 10-5'-DFUR のモノエステル体の濃度と考えた。

#### (8) HPLC 分析法

薬物濃度の測定には HPLC システム(LC-10 A, SPD-10 A, 島津)を用いた。カラムには、YMC-pack-ODS-A(5 μm, 6.0×150 mm, YMC)を用い、カラム温度は 40°C とした。移動相は、5-FU には水:メタノール=95:5, 5'-DFUR には pH 4.0, 0.05 M 酢酸緩衝液:メタノール=85:15, C 10-5'-DFUR には水:アセトニトリル=5.95 をそれぞれ用い、波長 266 nm での吸光度をモニターした。

#### (9) 有意差検定法

危険率 5%での条群間の有意差を Tukey-Kramer 法により検定した。

### 結 果

#### (1) 薬物の物理化学的性質およびプロドラッグのエステラーゼによる加水分解試験

薬物の物理化学的性質を表 1 に示す。5'-DFUR の

表 1 Physicochemical properties of the drugs and enzymatic hydrolysis rates of C10-5'-DFUR

Compound mp	(°C)	Partition coefficient		Logk <sup>(c)</sup>	Solubility		K1 (n=3, mean±SD, min <sup>-1</sup> )	K2 (n=3, mean±SD, min <sup>-1</sup> )
		LogP <sup>(a)</sup>	LogP <sup>(b)</sup>		in water (μg/ml)	in soybean oil (mg/g)		
5'-DFUR	191	-3.14	-0.36	0.597	1000<	1>	—	—
C10-5'-DFUR	61	6<	6<	5.766	0.02> <sup>(d)</sup>	350<	0.017±0.003	0.262±0.009

a) Soybean oil/0.1 M phosphate buffer (pH 6.8).

b) n-Octanol/0.1 M phosphate buffer (pH 6.8).

c) Lipophilic index: The mobile phase was water: acetonitrile system and formamide was used as non-retention substance.

d) Not detected.

LogP 値がオクタノール, ダイズ油とも 0 より低い  
のに対し, C10-5'-DFUR のそれは 6 以上と高かつ  
た. 薬物の LM の内相であるダイズ油への溶解性を  
評価した結果, 親水性の 5'-DFUR では 1 mg/g より  
低いのに対し, C10-5'-DFUR では 350 mg/g 以  
上であった. 予備検討において, 2',3'-didodecanoyl-  
5'-DFUR を合成し, その物理化学的性質を評価し  
たが, そのダイズ油への溶解度は 250 mg/g 以下で  
C10-5'-DFUR より低かった. これらの結果から,  
C10-5'-DFUR を用いることで効率よく LM 中に  
薬物が含有されると思われた.

C10-5'-DFUR からの 5'-DFUR の生成につい  
て, ジエステル体からモノエステル体への反応速度  
定数を K1, モノエステル体から 5'-DFUR への反  
応速度定数を K2 とし<sup>11)</sup>, それらの値を比較した(表  
1). C10-5'-DFUR の K1 の値は K2 と比較して小  
さく, ジエステル体からモノエステル体への反応が  
律速段階であることが示された.

C10-5'-DFUR は脂溶性なので, LM 製剤で投与  
した場合, 安定に油相に保持され, 放出した一部の  
薬物はエステラーゼ存在時には 5'-DFUR に変化  
し, さらに, ホスホリラーゼ活性の高い部位にお  
いて 5-FU を生じると予想される.

## (2) C10-5'-DFUR 含有 LM の安定性

調製された C10-5'-DFUR-LM のメジアン径は  
193±21 nm であり, 薬物含有濃度は, 調製時の損失  
により理論値より低下し, 27.6±0.2 mg/ml であ  
った. 実験期間中の C10-5'-DFUR 含有 LM (C10-5'-  
DFUR-LM) の安定性を保証するため, 5°C で 1 週間  
保存し, これら値の変化を観察した. C10-5'-  
DFUR-LM の製剤中 C10-5'-DFUR 濃度と LM の  
メジアン径の変化を表 2 に示す. 1 週間保存のあと,

表 2 Stability of C10-5'-DFUR-LM on storage at 5°C

Time (day)	Drug concentration in o/w emulsion (n=3, mean±SD, mg/ml)	Median diameter of LM (n=3, mean±SD, nm)
0	27.6±0.2	193±21
7	27.6±0.1	208±8

薬物含有濃度および粒子径に変化は認められず,  
LM 製剤は実験期間中安定であることを確認でき  
た. また, C10-5'-DFUR の分解物である製剤中 5'-  
DFUR 濃度を, LM 製剤調製直後および 1 週間保存  
後に, HPLC により測定した結果, とともに検出限界  
(0.02 μg/ml) 以下であり, クロマトグラム上に分解  
物のピークは認められなかった.

## (3) ラット経口投与後の血漿中薬物濃度

5'-DFUR 水溶液(5'-DFUR-W), 5'-DFUR を薬  
物フリー LM 製剤に添加して調製した LM 製剤(5'-  
DFUR+LM), C10-5'-DFUR の水性懸濁液(C10-  
5'-DFUR-W), C10-5'-DFUR のダイズ油溶液  
(C10-5'-DFUR-S), 1.2% レシチンを添加した  
C10-5'-DFUR 水性懸濁液(C10-5'-DFUR-L)およ  
び C10-5'-DFUR-LM をそれぞれ 0.406 mmol/kg  
ラットに経口投与した. それぞれの製剤投与後の血  
漿中薬物濃度時間推移を図 1 に示す. 5'-DFUR を含  
有する 5'-DFUR-W と 5'-DFUR+LM の投与後の  
5'-DFUR 血漿中濃度推移は, Cmax の平均値でそ  
れぞれ 102.9 nmol/ml と 104.5 nmol/ml でほぼ同  
等であるが, 5'-DFUR-W では Tmax が 0.67 h で  
5 時間目以降血漿中濃度が検出されなかったのに対  
し, 5'-DFUR+LM では, Tmax が 0.94 h で血漿中  
5'-DFUR は投与 9 時間後まで検出された. C10-5'-  
DFUR の製剤の場合, いずれの製剤においても, 血  
漿中には大部分 5'-DFUR として出現した. 5'-



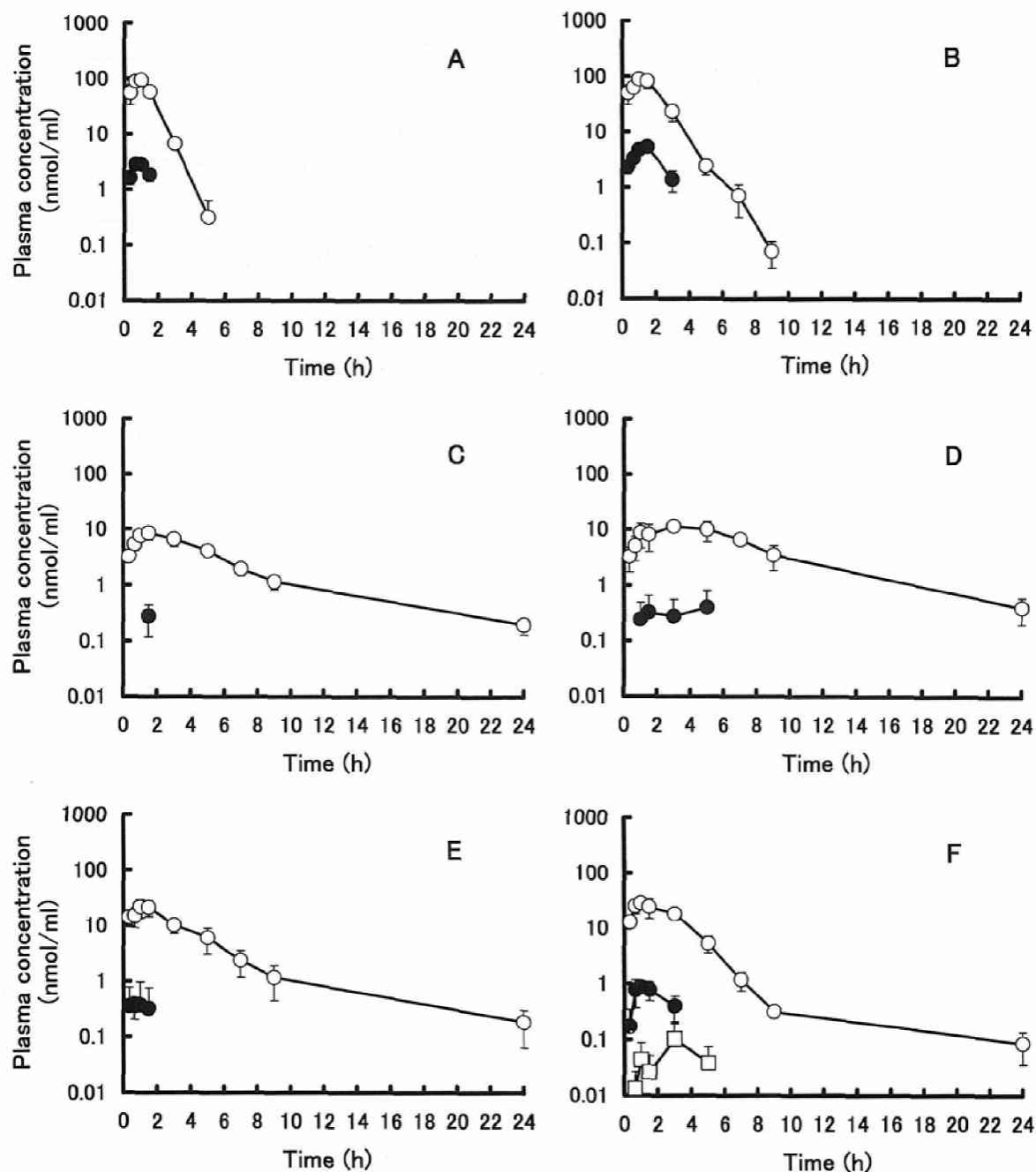


图 1 Plasma levels of C10-5'-DFUR, 5'-DFUR, and 5-FU after oral administration of various formulations to rats at a dose of 0.406 mmol/kg 5'-DFUR or C10-5'-DFUR

A : 5'-DFUR-W (n=4, 5.0 ml/kg aqueous solution)  
 B : 5'-DFUR+LM (n=3, 8.6 ml/kg o/w emulsion)  
 C : C10-5'-DFUR-W (n=4, 5.0 ml/kg aqueous suspension)  
 D : C10-5'-DFUR-S (n=3, 0.98 ml/kg oil solution)  
 E : C10-5'-DFUR-L (n=3, 6.76 ml/kg aqueous suspension)  
 F : C10-5'-DFUR-LM (n=3, 8.6 ml/kg o/w emulsion)  
 ○ : 5'-DFUR concentration. ● : 5-FU concentration. □ : C10-5'-DFUR concentration.  
 The volume/kg of C10-5'-DFUR-S and C10-5'-DFUR-L were coincided with the volume/kg of each component in LM. Each value represents the mean  $\pm$  SE.

表 3 AUC of prodrug and its metabolizes following oral administration of various formulations to rats at a dose of 0.406 mmol/kg 5'-DFUR or C10-5'-DFUR

	AUC <sup>C10</sup>	AUC <sup>5'-DFUR</sup>	AUC <sup>5-FU</sup>	n
	(mean±SE, nmol h/ml)			
5'-DFUR-W	—	151.6±15.0 <sup>c)</sup>	3.1±0.4	4
5'-DFUR+LM	—	202.2±17.2 <sup>d)</sup>	10.2±1.6	3
C10-5'-DFUR-W	— <sup>a)</sup>	49.5±10.8	— <sup>b)</sup>	4
C10-5'-DFUR-S	— <sup>a)</sup>	99.8±22.0	5.4±5.4	3
C10-5'-DFUR-L	— <sup>a)</sup>	84.9±33.7	1.4±1.4	3
C10-5'-DFUR-LM	0.3±0.1	96.2±16.9	2.0±1.1	3

The linear trapezoidal rule was used to determine AUC from time 0 to the respective last detectable time.

AUC<sup>C10</sup>: AUC of C10-5'-DFUR concentration

AUC<sup>5'-DFUR</sup>: AUC of 5'-DFUR

AUC<sup>5-FU</sup>: AUC of 5-FU

a) Plasma concentration of C10-5'-DFUR was not detected.

b) It was detected just only at 1.5 h following administration of C10-5'-DFUR-W, so that the value of AUC could not be calculated.

c)  $p < 0.05$  vs. C10-5'-DFUR-W

d)  $p < 0.05$  vs. C10-5'-DFUR-W, C10-5'-DFUR-S, C10-5'-DFUR-L, C10-5'-DFUR-LM

DFUR 投与製剤と比較すると, C10-5'-DFUR-W, C10-5'-DFUR-S, C10-5'-DFUR-L, C10-5'-DFUR-LM 投与後の 5'-DFUR の C<sub>max</sub> は, それぞれ 8.8, 13.0, 22.2, 35.2 nmol/ml と低く, T<sub>max</sub> が, それぞれ 1.75, 2.50, 1.17, 1.83 h といずれも遅くなる傾向がみられ, 血漿中 5'-DFUR 濃度は 24 時間後も検出された。

各薬物の血漿中薬物濃度曲線下面積(AUC)を表 3 に示す。5'-DFUR 製剤投与後の AUC の値は, LM に添加して投与した場合に水溶液で投与した場合より高くなる傾向を認めた。C10-5'-DFUR 製剤投与後の 5'-DFUR の AUC は, 5'-DFUR+LM 投与後とくらべて, いずれの C10-5'-DFUR 製剤の場合も有意に低い値となった( $p < 0.05$ )。C10-5'-DFUR 投与製剤間で比較すると, C10-5'-DFUR を水性懸濁液として投与した場合, 特に 5'-DFUR の AUC の値が低いことが示された。

#### (4) ラット経口投与後のリンパ液中薬物濃度

それぞれの製剤のリンパ液に回収される総薬物量の時間推移を図 2 に示す。1 時間までのリンパ液中総薬物移行量は 5'-DFUR-W が最大で, その値は各 C10-5'-DFUR 製剤投与時に対して有意に高かったが( $p < 0.05$ ), それ以降の大小関係は逆転し, 3 時間までの値では, C10-5'-DFUR-LM 投与において他

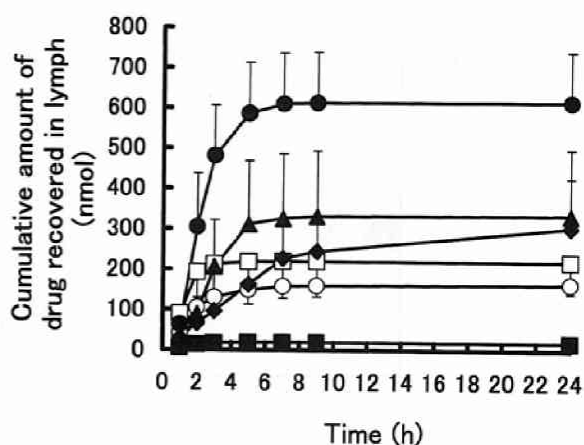


図 2 Cumulative lymphatic transport of total drug after oral administration of various formulation to rats at a dose of 0.406 mmol/kg 5'-DFUR or C10-5'-DFUR

□: 5'-DFUR-W (n=4, 5.0 ml/kg aqueous solution). ○: 5'-DFUR+LM (n=3, 8.6 ml/kg o/w emulsion). ■: C10-5'-DFUR-W (n=3, 5.0 ml/kg aqueous suspension). ▲: C10-5'-DFUR-S (n=4, 0.98 ml/kg oil solution). ◆: C10-5'-DFUR-L (n=3, 6.76 ml/kg aqueous suspension). ●: C10-5'-DFUR-LM (n=3, 8.6 ml/kg o/w emulsion). The volume/kg of C10-5'-DFUR-S and C10-5'-DFUR-L were coincided with the volume/kg of each component in LM. Each value represents the mean±SE.

の条件での投与と比較して有意に高かった( $p < 0.05$ ).

表 4 に 24 時間にリンパ液中に回収された C10-5'-DFUR, モノエステル体, 5'-DFUR, 5-FU の各薬物量およびその総量を示す。C10-5'-DFUR 製剤投与時, 血漿中にはほとんど 5'-DFUR として検出されたのに対して, リンパ液中には, 未変化体である C10-5'-DFUR が出現し, C10-5'-DFUR が一部分分解したモノエステル体がわずかに存在した。C10-5'-DFUR-LM 投与後のリンパ液中への C10-5'-DFUR の移行量は, 他の C10-5'-DFUR 製剤と比較して高く, リンパ液中総薬物移行量も全製剤中でもっとも高かった。5'-DFUR-W と 5'-DFUR+LM 投与後のリンパ液中総薬物移行量には, 差はみられなかった。

#### 考 察

C10-5'-DFUR からの 5-FU の生成過程を図 3 に示す。C10-5'-DFUR から 5'-DFUR を生じる過程でモノエステル体を生じるが, その 5'-DFUR への

表 4 Cumulative lymphatic transport of prodrug, its metabolites and total drug (0-24 hr) and total lymph output (0-24 hr) after oral administration of various formulations to rats at a dose of 0.406 mmol/kg 5'-DFUR or C10-5'-DFUR

	Diester 5'-DFUR	Ester 5'-DFUR	5'-DFUR	5-FU	Total drug	Total lymph output (mean $\pm$ SE, ml)	n
	(mean $\pm$ SE, nmol)						
5'-DFUR-W	—	—	209.8 $\pm$ 58.6	9.3 $\pm$ 1.8	219.1 $\pm$ 60.3	13.6 $\pm$ 2.4	4
5'-DFUR+LM	—	—	152.2 $\pm$ 21.2	11.8 $\pm$ 1.9	164.0 $\pm$ 22.9	14.2 $\pm$ 1.0	3
C10-5'-DFUR-W	0.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.6	18.4 $\pm$ 3.7	0.5 $\pm$ 0.3	18.9 $\pm$ 3.6	13.8 $\pm$ 1.0	3
C10-5'-DFUR-S	127.6 $\pm$ 84.4	6.2 $\pm$ 6.5	197.6 $\pm$ 78.4	3.5 $\pm$ 1.4	334.9 $\pm$ 163.2	14.8 $\pm$ 1.1	4
C10-5'-DFUR-L	55.1 $\pm$ 38.7	9.8 $\pm$ 7.2	228.0 $\pm$ 73.4	10.9 $\pm$ 4.3	303.8 $\pm$ 123.0	14.8 $\pm$ 2.2	3
C10-5'-DFUR-LM	237.6 $\pm$ 76.7	53.7 $\pm$ 5.0	317.0 $\pm$ 28.5	6.7 $\pm$ 3.2	615.0 $\pm$ 125.8 <sup>a)</sup>	14.9 $\pm$ 0.7	3

a)  $p < 0.05$  vs. C10-5'-DFUR-W.

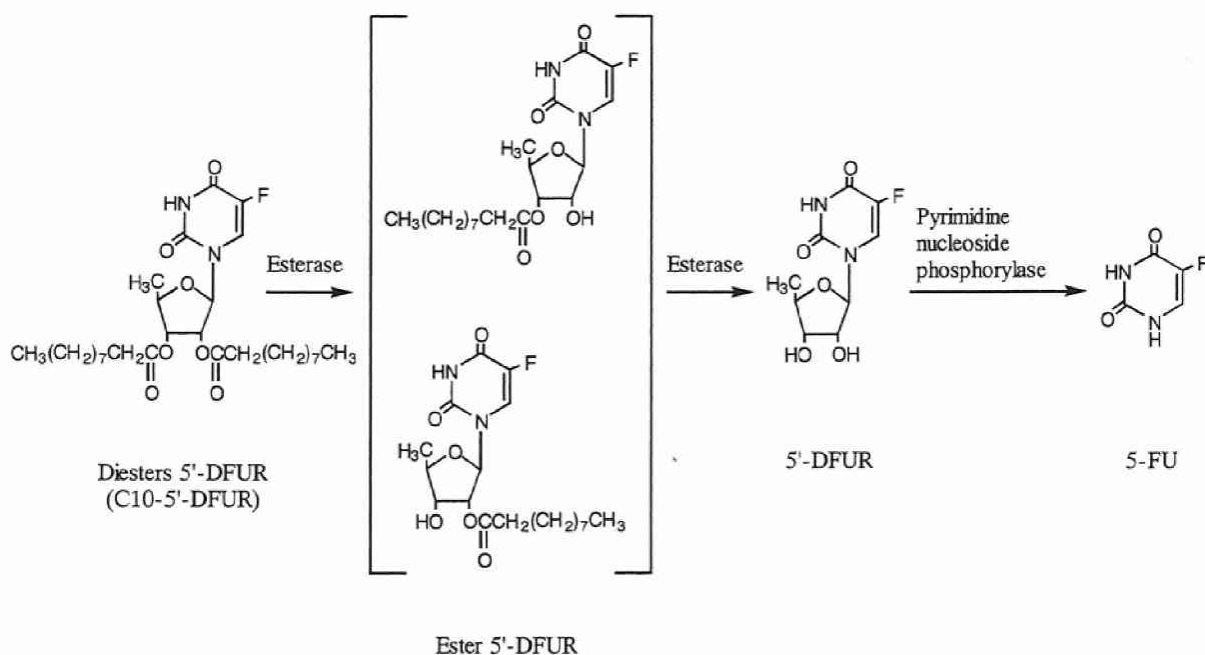


図 3 Main metabolic pathway of C10-5'-DFUR to 5-FU

代謝は速いので、その存在頻度は低いと考えられる。

5'-DFUR を水溶液として、あるいは LM 製剤に添加して投与した場合、血漿中 5'-DFUR は T<sub>max</sub> の平均値で 1 時間以内と比較的速やかに消失した。一方、C10-5'-DFUR 製剤を投与した場合、血漿中に C10-5'-DFUR 自身はほとんど検出されなかったものの、すべての製剤で 24 時間後まで血漿中に 5'-DFUR が検出された。リンパ系には高濃度の C10-5'-DFUR が検出されていることから、少なくとも一部は C10-5'-DFUR の形で吸収されていると考えられる。血漿中に 5'-DFUR としてのみ検出された理由は、親油性プロドラッグである C10-5'-DFUR が吸収されたあと、リンパ系や細胞膜などの

脂溶性部分に分布し、それから徐々に 5'-DFUR を生じたことによると思われる。5'-DFUR を含めた 5-FU 系の代謝拮抗薬は、時間依存型の作用機序を有することから、この血漿中濃度の持続は、薬効の面で有利に働くことが期待できる。

C10-5'-DFUR-W を投与した場合、5'-DFUR の AUC 値は 5'-DFUR-W 投与時と比較して有意に低かった。その原因は、C10-5'-DFUR が水にほとんど溶けないため、吸収の律速段階が消化管内容液への溶解過程になり、吸収速度が極度に低下したためと考えられた。もし、消化管内でのエステラーゼ活性が C10-5'-DFUR を速やかに 5'-DFUR に変換できるほど高ければ、C10-5'-DFUR-W の投与におい

て吸収速度が低下することはないと予想される。したがって、消化管内でのエステラーゼ活性は、実際はそれほど高くないと考えられる。一方、薬物がより酵素分解を受け難い状態で保持されているC 10-5'-DFUR-LMなどでの投与では、消化管内においてC 10-5'-DFURは加水分解されることなく安定に油相中に保持され、5'-DFURの生成は粘膜通過過程やその後に生じていると思われる。

リンパ系への薬物送達を評価した結果、C 10-5'-DFURをカイロミクロン原料であるダイズ油やレシチンとともに投与することにより、リンパ系への薬物送達が高まる傾向が示された。ダイズ油やレシチンを経口投与した場合、リパーゼにより胆汁酸塩との複合ミセルに変化して微絨毛間に入り込み腸管上皮細胞に取込まれたあとに、カイロミクロンを形成してリンパ管に移行する<sup>12)</sup>。

Stellaらのグループは、難吸収性薬物とカイロミクロンの原料である植物油の併用投与でカイロミクロン形成を促進させることにより、難吸収性薬物のリンパ系を介した生体内への吸収を改善できると報告している<sup>13)</sup>。彼らは、この報告のなかで、分配係数 $\log P$ (n-octanol/water)が5より大きく、植物油によく溶ける薬物がカイロミクロンへの分配に有利であると結論している。筆者らの結果でも、24時間までのリンパ液採取量は、水溶液投与によりカイロミクロン原料投与の方が有意差はないものの多くなる傾向がみられ、カイロミクロン形成の促進によりリンパ流量が増加したと考えられた(表4)。また、親水性の5'-DFURでは、LMに添加した場合でもリンパ系移行が低いのにに対し、 $\log P$ が5より大きくダイズ油によく溶けるC 10-5'-DFURでは、ダイズ油やレシチンとの併用時に高いリンパ移行が得られ、カイロミクロンの形成促進に加えて薬物のカイロミクロンへの分配がリンパ移行性において重要であることが示された。

C 10-5'-DFURをLMに含有させたC 10-5'-DFUR-LM投与の場合、リンパ系への薬物デリバリーはダイズ油溶液やレシチン添加懸濁液で投与した場合より高く、脂溶性プロドラッグの単独使用であるC 10-5'-DFUR-W投与時と比較してリンパ液中総薬物移行量が有意に高かった。薬物のリンパ系

送達には、プロドラッグをLMに含有させることが有用であることが示された(図2、表4)。C 10-5'-DFUR-LM投与では、リンパ液中C 10-5'-DFUR回収量が特に高いことが特徴的である。

レシチンやダイズ油が消化されて吸収されるのに対し、LMは平均粒子径200 nm程度の安定なエマルジョン微粒子であり(表2)、一部はパイエル板や細胞間隙を通り、直接吸収されることも考えられ<sup>14,15)</sup>、そのため、消化管管腔での薬物放出や5'-DFURへの加水分解を受け難く、効率的にリンパに移行したと考えられる。しかし、C 10-5'-DFUR-LM投与後の5-FUのリンパ液中回収量は、5'-DFURがもっとも高いにもかかわらず低い。LMもしくはその成分が5'-DFURからの5-FUへの生成を阻害するとも考えられるので、この点については、さらなる検討が必要である。

LMは、薬物が代謝を受けるのを保護する作用を有すると考えられるので、腸管組織中での5-FUへの代謝を減少させることによる消化管への副作用の軽減が期待できる。この点についても、さらなる検討が必要である。

## 結 論

本実験において、5'-DFURの親油性プロドラッグを合成し、LMに含有させてラットに経口投与した。このプロドラッグをLMに封入することで、血漿中濃度の長時間の持続と薬物の高いリンパ系送達を得ることに成功した。さらなる検討は必要であるが、5'-DFURのリンパ系送達を高めたこの投与法は、癌の転移予防やリンパ系に関わる癌の治療に、有効性を発揮するものと期待される。

## 文 献

- 1) Hashida M, Muranishi S, Sezaki H: Evaluation of water in oil and microsphere in oil emulsion as specific delivery system of 5-fluorouracil into lymphatics. *Chem Pharm Bull* 25: 2410-2418, 1977.
- 2) Yoshikawa H, Nakao Y, Takada K, Muranishi S, Wada R et al.: Targeted and sustained delivery of aclarubicin to lymphatics by lactic acid-oligomer microspheres in rat. *Chem Pharm Bull* 37: 802-804, 1989.
- 3) Sakai A, Mori N, Shuto S, Suzuki T: Deacylation-reacylation cycle: A possible absorption mechanism for the novel lymphotropic antitumor agent dipalmitoylphosphatidylfluorouridine in rats. *J Pharm Sci* 82: 575-578,



1993.

- 4) Shuto S, Sakai A, Itoh H, Matsuda A : Targeting for lymph based on the characteristic oral absorption mechanism for phospholipids—Design, synthesis, and biological activity of 5'-phosphatidyl-FURs as antitumor pseudo-phospholipids—. *Drug Delivery System* 11 : 81-88, 1996.
- 5) Mizushima Y, Igarashi R : Targeting delivery of prostaglandins and other drugs—Basic and clinical study—. *Drug Delivery System* 10 : 337-343, 1995.
- 6) Nishikawa M, Takakura Y, Hashida M : Submicron Emulsions in Drug Targeting and Delivery (ed. Benita S), Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1998, p 99-118.
- 7) Taguchi T : 5'-DFUR (Doxifluridine). *Jpn J Cancer Chemother* 14 : 2235-2247, 1987.
- 8) Nishizawa Y, Cashida JE, Anderson SW, Heldeberger C : 3', 5'-Diesters of 5-fluoro-2'-deoxyuridine : Synthesis and biological activity. *Biochem Pharmacol* 14 : 1605-1619, 1965.
- 9) Bollman JL, Cava JC, Grindley JH : Techniques for the collection of lymph from the liver, small intestine, or thoracic duct of rat. *J Lab Clin Med* 33 : 1349-1352, 1948.
- 10) Machida Y, Nakano K, Iwase H, Nagai T : Simultaneous determination of 5-fluorouracil and 5'-deoxy-5-fluorouridine in human, rabbit, and rat plasma by high performance liquid chromatography. *J Pharm Sci Technol Jpn* 50 : 8-14, 1990.
- 11) Kawaguchi T, Suzuki Y, Nakahara Y, Nambu N, Nagai T : Activity of esterase in the hydrolysis of 3', 5'-diesters of 5-fluoro-2'-deoxyuridine in relation to the structure of the diester prodrugs. *Chem Pharm Bull* 33 : 301-307, 1985.
- 12) Thomson ABR, Dietschy JM : Physiology of the Gastrointestinal Tract (ed. Johnson LR), Raven Press, New York, 1981, p 1147-1219.
- 13) Charman WNA, Stella VJ : Estimating the maximal potential for intestinal lymphatic transport of lipophilic drug molecules. *Int J Pharm* 34 : 175-178, 1986.
- 14) Jani P, Halbert GW, Langridge J, Florence AT : The uptake and translocation of latex nanospheres and microspheres after oral administration to rat. *J Pharm Pharmacol* 41 : 809-812, 1989.
- 15) Aprahamian M, Michel C, Humbert W, Devissaguet JP, Damge C : Transmucosal passage of polyalkylcyanoacrylate nanocapsules as a new drug carrier in the small intestine. *Biology of the Cell* 61 : 69-76, 1987.