

抗AIDS薬2',3'-ジデオキシイノシン(DDI)プロドラッグの
合成と油性基剤を用いた経口投与後の血中濃度推移川口健夫・長谷川哲也・関 俊暢・從二和彦・森本雅憲^{*1)}、宮川 晃^{*2)}、実吉峯郎^{*3)}*Prodrugs of 2',3'-dideoxyinosine (DDI) : Synthesis and plasma concentration of DDI in rats via oral administration of an oil formulation*

Four ester derivatives of 2',3'-dideoxyinosine (DDI), acetate (C2-DDI), octanoate (C8-DDI), benzoate (Bz-DDI), and hemisuccinate (Suc-DDI), were synthesized from deoxyinosine, and evaluated as a prodrug of DDI. The esters were proved to quantitatively regenerate DDI in the presence of human plasma. Absolute bioavailability was evaluated by an oral administration to rats by using water or olive oil as a solvent. Hydrophobic prodrugs, C8-DDI and Bz-DDI, showed higher bioavailability when administered as a water suspension than as an oil solution, though hydrophilic prodrugs, C2-DDI and Suc-DDI, showed higher bioavailability with an oil suspension than with a solution in water.

Takeo Kawaguchi・Tetsuya Hasegawa・
Toshinobu Seki・Kazuhiko Juni・
Yasunori Morimoto^{*1)}, Akira Miyakawa^{*2)},
Mineo Saneyoshi^{*3)}

key words : DDI, AIDS, prodrug, oral administration

2',3'-ジデオキシヌクレオシド類(ddN)は、レトロウイルスの有する逆転写酵素に対して、かなり特異的な阻害作用を示すことから、後天性免疫不全症候群(AIDS)に対する効果が期待されている¹⁾。しかしながら、ddNの作用は、AIDSの原因と考えられるヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染自体の治療を可能にするものではなく、HIVの増殖を抑制することで、AIDSおよびその関連症候群(ARC)の発症の阻止、あるいは発症後の病状

進行の遅延を期待するものである。

したがって、HIV感染に対する根本的治療の不可能な現状においては、感染者は生存のための薬剤投与を、生涯にわたってつづけることになる。ddNの長期連続投与の問題点は、唯一臨床使用が許可されている2',3'-ジデオキシ-3'-アジドチミジン(AZT, zidovudine)からの知見^{2,3)}が示すように、薬剤耐性と副作用の発現であり、その克服には交叉耐性を示さない薬剤の数を増やすことと、簡単で、かつ体内薬物濃度を抑制しうる投与方法あるいは剤形の開発が必要であると考えられる。

当グループではAZTに加え、いずれも臨床治療研究中の2',3'-ジデオキシ-3'-アジドチミジン(D4T)および2',3'-ジデオキシイノシン(DDI)のプロドラッグ⁴⁻⁸⁾、経皮吸収性⁹⁻¹⁴⁾、直腸吸収性¹⁵⁾について検討してきた。DDIは経口投与が検討されているが、AZT、D4Tに比較して消化管からの吸収性が劣る¹⁶⁾ことに加え、胃液中での化学的安定性がきわめて低い¹⁷⁾ため、経口での絶対的バイオアベイラビリティは10数パーセントにすぎないと報告されている¹⁸⁾。

筆者らは、DDIの胃内での分解を抑制することを目的に、水に難溶性のプロドラッグをデザインしたが、本報ではこれらプロドラッグの物理化学的性質と投与に用いる基剤の関係について、経口投与時のバイオアベイラビリティなどを指標に検討した。

材料と方法

(1) 薬物の合成と定量

DDIはシグマ社より試薬として購入可能であるが、きわめて高価であるため一部を図1に示す方法でデオキシイノシンより合成した。合成品は

^{*1)} Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University
城西大学薬学部

^{*2)} Pharmaceutical Division, Kyowa Hakko Kogyo Co.
協和発酵工業医薬事業本部

^{*3)} Department of Biological Science, The Nishi-Tokyo
University 西東京科学大学バイオサイエンス学科

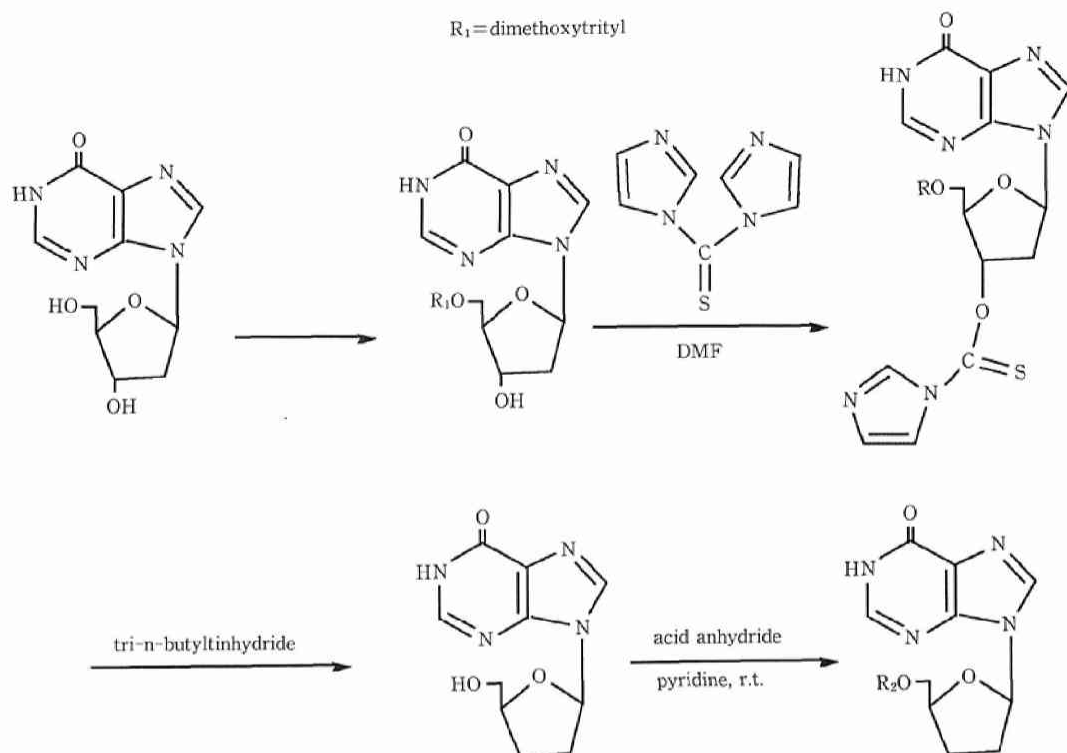


図1 デオキシイノシンから DDI プロドラッグの合成経路

$^1\text{H-NMR}$ および融点が評品と一致し、HPLC で主ピークが 99%以上の純度を示した。DDI から各プロドラッグ、acetate(C2-DDI), octanoate(C8-DDI), benzoate(Bz-DDI), および succinate(Suc-DDI) への合成方法は前報⁸⁾ に従った。

(2) 動物実験

雄性ウィスターラット(体重 200~250 g)をペンタバルビタール麻酔下に頸部切開し、15 cm のシリコンチューブ(内径 0.58 mm)を用いて頸動脈カニューレを施した。血管との接合部を固定し、チューブの反対末端を背部の小切開部を経由して体外に導いた。切開部を縫合したあと、ボールマンケージに固定し、水のみを与えて 16 時間絶食させた。薬物を 42.4 $\mu\text{mol/ml}$ の濃度でオリーブ油に溶解(C8-DDI, Bz-DDI)あるいは懸濁(DDI, C2-DDI, Suc-DDI)させ、1.0 ml/kg を経口ゾンデを用いて胃内に投与した。経時的に頸動脈血を採取し、前報⁸⁾ に従って HPLC で血漿中 DDI およびプロドラッグ濃度を定量した。DDI の血中濃度下面積(AUC)の算出には台形法を用い、最終

測定点以降の値は terminal phase の傾きを外挿して求めた。

結果と考察

(1) 物性と酵素反応性

表 1 に DDI および誘導体の物理化学的性質およびヒト血漿中での安定性を示す。エステル部分の化学構造に依存して、C8-DDI, Bz-DDI では疎水性が、Suc-DDI では水溶性が増加した。ヒト血漿中での安定性は各プロドラッグ間での差が大きかったため、pH 7.4 のリン酸緩衝液を希釈溶媒として 0.2~80%の範囲で適当な血漿濃度を選択して加水分解速度を測定し、結果を血漿濃度 20%に換算して半減期で示した。血漿中ではいずれのプロドラッグも定量的に DDI を再生した。pH 7.4 でのプロドラッグの化学的安定性は高い⁸⁾ ことから、ヒト血漿中での DDI の再生は主に酵素的加水分解によると考えられた。

(2) 経口投与後の血中濃度

図 2 に DDI を水懸濁(○), オリーブ油懸濁

表 1 DDI およびエステルプロドラッグの物理化学的性質と酵素反応性

化合物	融点 (°C)	溶解度 ^{*1)} ($\mu\text{g/ml}$)	分配係数 ^{*2)} (logP)	酵素反応性 ^{*3)} ($t_{1/2}$, min)	製剤の性状 ^{*4)}
DDI	>270	27,300	-1.88	—	懸濁
C2-DDI	181	10,400	-0.54	43 ± 4.8	懸濁
C8-DDI	99	273	1.17	0.85 ± 0.10	溶液
Bz-DDI	101	442	1.08	1.8 ± 0.14	溶液
Suc-DDI	99	>100,000	-1.50	3900 ± 320	懸濁

*1) 水, 40°C

*2) クロロホルム: 水, 25°C

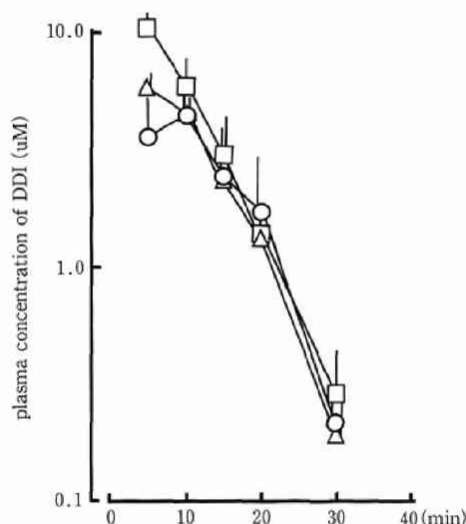
*3) 20% ヒト血漿, 37°C, $n=3 \pm \text{SE}$ *4) オリーブ油 (1 ml) 中 $42.4 \mu\text{moles}$ 含有製剤

図 2 DDI 経口投与後の血中 DDI 濃度

$42.4 \mu\text{moles/kg}$ を投与, 各点は平均値 \pm 標準誤差をあらわす。○: 水溶液, Δ : オリーブ油懸濁剤, □: 水溶液 + 制酸剤前処置

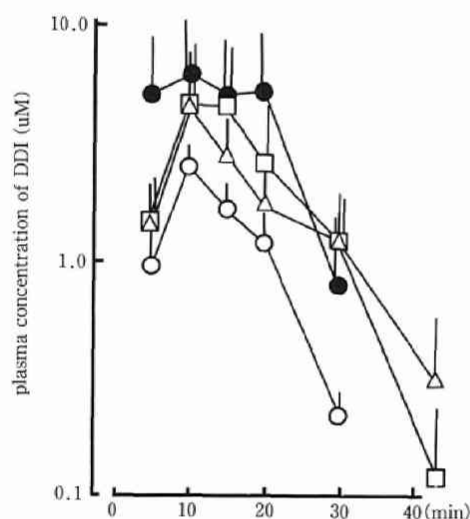


図 3 DDI プロドラッグのオリーブ油剤経口投与後の血中 DDI 濃度

$42.4 \mu\text{moles/kg}$ を投与, 各点は平均値 \pm 標準誤差をあらわす。

□: C2-DDI, Δ : C8-DDI, ○: Bz-DDI
●: Suc-DDI

(Δ), および水懸濁 + 制酸剤(□)でラットに経口投与したあとの血中 DDI 濃度を示した。制酸剤としては, ラット 1 匹当たり乾燥水酸化アルミニウムゲル(4.5 mg)と水酸化マグネシウム(4.0 mg)を水 0.1 ml に懸濁させたものを DDI 投与 2 分前に投与した。DDI の経口投与では, 水懸濁剤とオリーブ油懸濁剤の間に差が観察されなかったが, 前処置として制酸剤を投与した場合は, バイオアベイラビリティの増加が観察された。制酸剤の併用は臨床的にも試みられているが, 胃内での DDI の分解抑制が吸収量の増加に影響したと考えられる。

図 3 に, オリーブ油を基剤として DDI プロドラッグを経口投与した際の血中 DDI 濃度変化を示す。DDI 自身の投与と比較すると吸収の遅延と血中濃度が持続する傾向が観察され, 特に水溶性の高い Suc-DDI を油性懸濁剤としたもので高い血中濃度の持続が得られた。なお, DDI と同時に各プロドラッグの血中濃度も測定したが, いずれも検出限界以下であった。

表 2 に, DDI とプロドラッグを水とオリーブ油を基剤にして経口投与した際の AUC と絶対的バイオアベイラビリティを比較して示した。投与

表 2 DDI とプロドラッグの AUC と絶対的の AUC と絶対的バイオアベイラビリティ (BA)

化合物	水		オリーブ油	
	AUC ($\mu\text{M}\cdot\text{min}$)	BA ^{*1)} (%)	AUC ($\mu\text{M}\cdot\text{min}$)	BA ^{*1)} (%)
DDI	68.2 \pm 7.0	15.2	76.1 \pm 4.6	17.0
制酸剤併用	118.7 \pm 26.5	26.5	ND	—
C2-DDI	51.7 \pm 6.7 ^{*2)}	11.5	94.0 \pm 42.3	21.0
C8-DDI	143.3 \pm 18.0 ^{*2)}	32.0	79.3 \pm 42.0	17.7
Bz-DDI	139.0 \pm 42.6 ^{*2)}	31.0	38.4 \pm 6.0	8.6
Suc-DDI	20.1 \pm 10.8 ^{*2)}	4.5	131.7 \pm 64.0	29.4

*1) DDI 水溶液 (42.4 $\mu\text{moles/kg}$) を静脈内投与した時の AUC 448.2 $\mu\text{M}\cdot\text{min}$ より算出

*2) 前報⁸⁾より引用

基剤に水を用いた場合には疎水性が高く、胃内でも固体で存在する割合が大きいと考えられる C8-DDI および Bz-DDI が高いバイオアベイラビリティを示したのに対して、オリーブ油では逆に親水性が高く、油性懸濁液として投与された C2-DDI および Suc-DDI が高い値を示した。疎水性プロドラッグは元来、溶解の抑制によって胃内での安定化を期待したデザインであるが、オリーブ油を投与基剤とした場合は基剤中に完全に溶解しており、このことがバイオアベイラビリティの低下に影響した可能性が考えられる。

一方、油性懸濁剤として投与された親水性プロドラッグでは、水溶液投与と比較してバイオアベイラビリティの上昇が観察されたが、同じく親水性の DDI 自身では水とオリーブ油間に差を認めないことから、その原因をたんに溶解性の違いとすることは出来ず、その機構解明にはプロドラッグの消化管内での酵素的加水分解速度やプロドラッグとして消化管粘膜を透過する速度を考慮した検討が必要と考えられる。

まとめ

DDI の化学的不安定性は、ヒポキサンチンとジデオキシリボース間の C-N 結合の不安定性に起因しており、DDI 分子の本質的安定性を向上させるようなプロドラッグデザインが困難であった。そこで、溶解性の変更による胃内での安定化とバイオアベイラビリティの向上を期待したプロドラッグを合成した。水を投与基剤とした場合には、設計どおり疎水性プロドラッグが高いバイオアベ

イラビリティを示したが、オリーブ油を用いた場合は逆に親水性プロドラッグのほうがすぐれた結果を示した。

この結果は、複数の化合物のなかから最良の候補物質を選択しようとする際に、最終的にどのような製剤設計を行うかを考慮することが重要であることを示していると考えられる。

文 献

- 1) Mitsuya, H., Broder, S.: Inhibition of the *in vitro* infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy associated virus (HTLV-III/LAV) by 2', 3'-dideoxynucleosides. Proc. Natl. Acad. Sci. 83: 1911-1915, 1986.
- 2) Dournon, E., Rozenbaum, W., Michon, C., Perronne, C., De Truchis, P. et al.: Effect of zidovudine in 365 consecutive patients with AIDS or AIDS-related complex. Lancet 2: 1297-1302, 1988.
- 3) Boucher, C. A. B., Tersmette, M., Lange, J. M. A., Kellam, P., De Goede, R. E. Y. et al.: Zidovudine sensitivity of human immunodeficiency viruses from high-risk, symptom-free individuals during therapy. Lancet 2: 585-590, 1990.
- 4) Kawaguchi, T., Ishikawa, K., Seki, T., Fukushima, S., Nakano, M. et al.: Studies on 2', 3'-dideoxy-2', 3'-didehydropyrimidines. II. N₄-Benzoyl-2', 3'-dideoxy-2', 3'-didehydrocymidine as a prodrug of 2', 3'-dideoxy-2', 3'-didehydrocymidine (DDCN). Chem. Pharm. Bull. 37: 2547-2549, 1989.
- 5) Kawaguchi, T., Hasegawa, T., Seki, T., Juni, K., Saneyoshi, M.: Ester prodrugs of 2', 3'-dideoxy-2', 3'-didehydrothymidine (D4T). Int. J. Pharm. 58: R1-3, 1990.
- 6) Kawaguchi, T., Ishikawa, K., Seki, T., Juni, K.: Ester prodrugs of zidovudine. J. Pharm. Sci. 79: 531-533, 1990.
- 7) Kawaguchi, T., Endoh, H., Seki, T., Juni, K.: Plasma concentration of zidovudine in rats via oral administration of its ester prodrugs. J. Pharm. Sci. 80: 404-405, 1991.
- 8) Kawaguchi, T., Hasegawa, T., Seki, T., Miyakawa, A., Saneyoshi, M. et al.: Prodrugs of 2', 3'-dideoxyinosine (DDI): Improved oral bioavailability via hydrophobic esters. Chem. Pharm. Bull. (in press).
- 9) Seki, T., Kawaguchi, T., Sugibayashi, K., Juni, K., Morimoto, Y.: Percutaneous absorption of azidothymidine in rats. Int. J. Pharm. 57: 73-75, 1989.
- 10) 川口健夫, 関 俊暢, 從二和彦: 全身作用を目的とする zidovudine 経皮吸収製剤の開発に関する基礎的検討. Chemotherapy 38: 897-901, 1990.
- 11) Seki, T., Toeda, C., Kawaguchi, T., Sugibayashi, K., Morimoto, Y. et al.: Enhanced transdermal

- delivery of zidovudine in rats and human skin. Chem. Pharm. Bull. 38 : 3086-3089, 1990.
- 12) Seki, T., Kawaguchi, T., Juni, K. : Enhanced delivery of zidovudine through rat and human skin via ester prodrugs. Pharm. Res. 7 : 948-952, 1990.
 - 13) 川口健夫, 長谷川哲也, 遠藤浩孝, 関 俊暢, 実吉峯郎・他 : 抗レトロウイルス薬 2', 3'-didehydro-3'-deoxythymidine (D4T) およびそのエステルプロドラッグの経皮吸収性. Drug Delivery System 6 : 57-60, 1991.
 - 14) Seki, T., Kawaguchi, T., Juni, K., Sugibayashi, K., Morimoto, Y. : Sustained transdermal delivery of zidovudine via controlled release of penetration enhancer. J. Contr. Rel. 17 : 41-48, 1991.
 - 15) Kawaguchi, T., Hasegawa, T., Juni, K., Seki, T. : Rectal absorption of zidovudine. Int. J. Pharm. 77 : 71-74, 1991.
 - 16) Kawaguchi, T., Hasegawa, T., Seki, T. (発表準備中).
 - 17) Anderson, B. D., Wygant, M. B., Xiang, T. X., Waugh, W. A., Stella, V. J. : Preformulation solubility and kinetic studies of 2',3'-dideoxypurine nucleosides : potential anti-AIDS agents. Int. J. Pharm. 45 : 27-37, 1988.
 - 18) Hartman, N. R., Yarchoan, R., Pluda, J. M., Broder, S., Johns, D. G. et al. : Pharmacokinetics of 2',3'-dideoxyinosine in patients with severe human immunodeficiency infection. II. Clin. Pharmacol. Ther. 50 : 278-285, 1991.