

# シクロデキストリン結合体を利用した抗炎症薬 および抗癌剤の大腸送達システムの構築と評価

熊本大学大学院薬学教育部 生命薬科学専攻 医療薬学講座 製剤設計学分野 有働功一

シクロデキストリン (CyDs) の水酸基に薬物を共有結合させた薬物/CyD 結合体は、胃や小腸で分解されず、大腸で分解して薬物を放出する大腸送達性プロドラッグである。臨床利用を想定した場合、難病である炎症性腸疾患や悪性疾患である大腸癌領域への大腸送達性薬剤のニーズは高い。本研究では、薬物/CyD 結合体の遅延放出特性に着目して、放出時間制御型製剤の設計を企図した。炎症性腸疾患への応用を想定しモデル薬物には非ステロイド系抗炎症薬ケトプロフェン (KP) を用いて  $\alpha$ -CyD とのエステル結合体を調製し、ラット組織ホモジネート中、酵素溶液中およびラット経口投与後の KP/ $\alpha$ -CyD 結合体の薬物放出挙動などを検討した。さらに、KP と CyDs の包接複合体および製剤添加物との固体分散体を調製し、KP/ $\alpha$ -CyD 結合体と併用した場合の薬物放出挙動ならびに抗炎症効果を検討した。一方、大腸癌治療の現場では化学療法の外来治療への移行に従い、QOL や利便性、医療経済学の観点から有効で副作用の少ない経口製剤の開発が望まれている。本研究では、CyD 結合体の特性を利用して5-フルオロウラシル (5-FU) の大腸特異的送達システムの構築を企図した。まず、5-FU の誘導体である 5-FU-1-AA を合成し、 $\beta$ -CyD とのアミドおよびエステル結合体を調製した。次に、ヒト結腸腺癌由来である Caco-2 細胞を用いて 5-FU、5-FU-1-AA の抗細胞増殖作用の検討を行った。さらに、結合体 (主にエステル結合体) の *in vitro* 薬物放出挙動を酸・アルカリ液中、酵素溶液中、ラット盲腸内容物懸濁液を用いて検討した。さらに、エステル結合体をラットに経口投与後の体内動態を検討した。以下に本研究で得られた知見を総括する。

- 1)  $\alpha$ -CyD の 6 位 1 級水酸基の 1 個をトシル化し、KP ナトリウムを反応させて KP/ $\alpha$ -CyD 結合体を調製した。FAB マスならびに  $^1\text{H}$ -、 $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルによる検討から、KP/ $\alpha$ -CyD 結合体は  $\alpha$ -CyD の 6 位 1 級水酸基の 1 個に KP がモル比 1 : 1 でエステル結合していることを確認した。
- 2) KP/ $\alpha$ -CyD 結合体は、ラット小腸粘膜・大腸粘膜ホモジネート中、全血中および pH 6.8 リン酸緩衝液中ではほとんど KP を放出しなかったが、盲腸内容物中では速やかに KP を放出した。
- 3) KP/ $\alpha$ -CyD 結合体は、 $\alpha$ -アミラーゼ (*Aspergillus oryzae* 由来 (EC 3.2.1.1)) により速やかに分解したが、KP は出現しなかった。また、KP/ $\alpha$ -CyD 結合体の異性体間で分解速度に違いが見られた。カルボキシルエステラーゼ (*Porcine liver* 由来 (EC 3.1.1.1)) を作用させても KP/ $\alpha$ -CyD 結合体の分解や KP の放出は観察されなかった。一方、予め  $\alpha$ -アミラーゼを作用させた後、カルボキシルエステラーゼを作用させると速やかに KP を放出した。
- 4) KP/ $\alpha$ -CyD 結合体をラットに経口投与すると、約 4 時間のラグタイムを経て血漿中濃度が上昇する遅延放出パターンを示し ( $t_{\max} = 6.7$  時間)、KP の吸収率は KP 単独に比べて著しく増大した。
- 5) KP/2-ヒドロキシプロピル- $\beta$ -CyD (HP- $\beta$ -CyD) 複合体と KP/ $\alpha$ -CyD 結合体を併用した場合、KP/HP- $\beta$ -CyD 複合体と KP/ $\alpha$ -CyD 結合体それぞれのパターンを直接反映した反復放出型を

示した。一方、KP/エチルセルロース (EC) 固体分散体と KP/ $\alpha$ -CyD 結合体を併用した場合、一定の血漿中 KP 濃度を少なくとも 24 時間は持続した。

- 6) カラゲニン誘発足蹠浮腫モデルを用いて各製剤の抗炎症効果を評価した結果、KP の抗炎症効果と血漿中 KP 濃度との間に相関がみられた。また、KP/EC 固体分散体と KP/ $\alpha$ -CyD 結合体を併用すると、血漿中 KP 濃度を反映して長時間にわたり抗炎症効果を示した。
- 7) 5-FU-1-AA/ $\beta$ -CyD アミド結合体は、ヒドロキシスクシンイミド (HONSu) およびジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) で活性化した 5-FU-1-AA とアミノ化  $\beta$ -CyD を脱水縮合させて調製した。また、5-FU-1-AA/ $\beta$ -CyD エステル結合体は、TEA を触媒として CDI で活性化した 5-FU-1-AA と  $\beta$ -CyD を脱水縮合し調製した。FAB マスならびに  $^1\text{H}$ -、 $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルによる検討から、今回調製した 5-FU-1-AA/ $\beta$ -CyD 結合体は  $\beta$ -CyD の水酸基の 1 個に 5-FU-1-AA がアミドあるいはエステル結合を介して共有結合した新規化合物であることが確かめられた。
- 8) Caco-2 細胞における 5-FU、5-FU-1-AA およびアミド結合体の抗細胞増殖効果およびそれに及ぼす  $\beta$ -CyD の影響を検討した結果、5-FU-1-AA は、5-FU に比べて活性は弱いものの、抗細胞増殖効果を持つことが示唆された。また、 $\beta$ -CyD は 5-FU および 5-FU-1-AA の抗細胞増殖作用にあまり影響しないこと、アミド結合体自身は抗細胞増殖効果を示さないことが明らかとなった。
- 9) 胃、大腸、小腸を想定した酸・アルカリ液中においてエステル結合体の半減期はそれぞれ 500 h、38 h、17 h であり、pH 1.2、6.8、7.4 の水溶液中では加水分解を受けにくいことが示唆された。 $\alpha$ -アミラーゼ溶液中においてアミドおよびエステル結合体は徐々に分解し、4 時間後の残存率はそれぞれ約 30%、約 20% であった。一方、カルボキシエステラーゼ溶液中ではエステル結合体の分解は確認されなかった。次に、アミラーゼにより  $\alpha$ -CyD 環が開裂して生じた少糖類結合体にカルボキシエステラーゼを添加すると、5-FU-1-AA が放出された。また、エステル結合体はラット盲腸内容物懸濁液中において、約 9 時間後に薬物を 100% 放出した。
- 10) 5-FU をラットに経口投与後 5-15 分に最高血漿中濃度を与え、その後速やかに減少し、約 1 時間後には消失した。一方、5-FU-1-AA/ $\beta$ -CyD エステル結合体を投与すると、24 時間まで 5-FU-1-AA の血中移行はほとんど観察されなかった。5-FU 単独を投与 0.5 時間後の小腸:大腸の濃度比は約 7.5 : 1 であり、5-FU は、大腸に比べ小腸に多く存在した。一方、5-FU-1-AA/ $\beta$ -CyD エステル結合体を経口投与 24 時間後の大腸の薬物濃度は、小腸に比べて約 5.3 倍高く、大腸内で 5-FU-1-AA が選択的に放出されているものと推定された。

以上述べたように、KP/ $\alpha$ -CyD 結合体の遅延放出特性を利用すると、様々な薬物放出パターンを有する経口 DDS 製剤の構築が可能なが示唆された。また、経口投与により 5-FU-1-AA/ $\beta$ -CyD 結合体は大腸内で選択的に 5-FU-1-AA を放出することが示された。これらの知見は薬物と CyD との結合体を利用した有用な放出時間制御型製剤の設計を行う際の基礎資料になるものと考えられる。