

薬剤耐性マラリアに有望な 新規抗マラリア薬開発の現況

金 恵淑^{a*}, 片本 茜^a, 佐藤 聡^b, 綿矢有佑^c, 土居弘幸^d

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 ^a国際感染症制御学, ^d疫学・衛生学,
^b東京理科大学薬学部 生化学, ^c岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

キーワード: 薬剤耐性マラリア, ACT療法 (artemisinin-based combination therapy),
新薬開発, 環状過酸化, 標的分子

New antimalarial endoperoxides for drug-resistant *Plasmodium falciparum*: The current situation

Hye-Sook Kim^{a*}, Akane Katamoto^a, Akira Sato^b, Yusuke Wataya^c Hiroyuki Doi^d

^aDivision of International Infectious Diseases Control, ^dDepartment of Epidemiology, ^cOkayama University
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

^bDepartment of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

はじめに

マラリアは、ハマダラカが媒介する *Plasmodium* 属の原虫によって引き起こされる感染症で、年間2億人を超える感染者と62万人以上の人々がマラリアによって命を落とす世界三大感染症の一つである。世界的努力にも関わらず、マラリアのコントロールは現在でも困難である。1950年代から始まった薬剤耐性マラリアの報告は最新の抗マラリア薬であるアルテミシニンに至る広範囲で報告されており^{1,2)}、WHOがマラリアの治療法として推奨しているアルテミシニン系薬剤と他剤の併用療法であるACT療法 (artemisinin-based combination therapy) にも悪影響を及ぼす。このようにマラリアを取り巻く状況は暗い方向を向いており、新しい抗マラリア薬の開発は急務である。

当ラボでは1996年より、新しい抗マラリア薬を開発するための評価系を構築し、国内外の研究者と共同でシーズ化合物の中から、種々の候補化合物を見出した。その中で、マウスを用いた実験系で強い抗マラリア薬効と低い毒性を示す環状過酸化構造に注目し、構造—活性相関を調べた。過酸化構造を基本骨格とする500種の誘導体の中から過酸化構造を有する化合物群を見出した³⁻⁵⁾。そのうち、本稿では、図1で示す6-(1, 2, 6,

7-Tetraoxaspiro[7.11]nonadec-4-yl) hexan-1-ol (N-251) に焦点を当て、医薬品開発に必要な薬効と体内動態解析結果を紹介する⁶⁻⁸⁾。本研究は、臨床研究中核拠点における有望な創薬シーズとして開発中のものである。

環状過酸化 N-251の抗マラリア活性

N-251は分子内に過酸化構造を有するユニークな化合物である (図1の構造式)。培養熱帯熱マラリア原虫に対する抗マラリア活性はnMオーダーであり、ホスト (ヒト) のモデルとして用いたほ乳動物細胞に対しては μ Mオーダーで阻害活性を示し、その値からN-251はマラリア原虫に対して低濃度で強い抗マラリア活性を示す事が分かる。また、*in vivo*のネズミマラリア原虫を用いた感染モデル系においても経口投与、静脈内投与の両ルートで抗マラリア活性を示す。ACT療法の中心薬物であるアルテミシニンを比較とした結果、*in vitro*の値はN-251と同程度であるが、*in vivo*では投与ルートによって阻害能が異なる。アルテミシニンは肝代謝を受ける事が既に報告されており、静脈内投与の値が低いのは肝代謝を受けないためである。

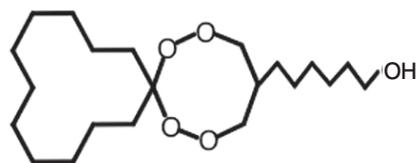
*In vivo*の薬効の値は異なる薬物の比較を目的としてデザインされた実験方法で、マウスにネズミマラリア原虫を感染させ、感染2時間後に評価する薬物を1日1回、連続4日間投与後、次の日に感染率の割合をコントロールの値と比較して算出するので、特定の時点での抗マラリア薬効のみを評価する方法である。マ

平成27年9月受理

*〒700-8530 岡山市北区津島中1-1-1

電話: 086-251-7975

E-mail: hskim@cc.okayama-u.ac.jp



6-(1,2,6,7-Tetraoxaspiro[7.11]nonadec-4-yl)hexan-1-ol
(N-251)

Compound	<i>P. falciparum</i> EC ₅₀ (M)	FM3A cell EC ₅₀ (M)	Selective Toxicity	<i>p.o.</i>		<i>i.v.</i>	
				ED ₅₀ (mg/kg)	ED ₉₀ (mg/kg)	ED ₅₀ (mg/kg)	ED ₉₀ (mg/kg)
N-251	2.3 × 10 ⁻⁸	8.0 × 10 ⁻⁶	348	15	40	22	45
Artemisinin	2.5 × 10 ⁻⁸	1.0 × 10 ⁻⁵	400	30	89	0.35	1.1

図1 新規抗マラリア候補・N-251の構造と抗マラリア薬効データ

マラリアを完治させるかどうかについては、マウスの血中にマラリア原虫が1%以上存在する時点で、薬物を投与し、目的によって投与回数、投与経路、投与期間、溶媒の改変などを行い、最適の投与条件下で完治効果を評価し、最低2ヵ月間モニターして完治有無を判定する。アルテミシニンは単剤では完治出来ない事が分かっており、そのため、ACT療法を推奨しているが、N-251は我々のグループで単剤でネズミマラリア原虫感染マウスを完治させる能力を有している事を明らかにした⁶⁻⁸⁾。N-251を臨床開発するためには安全性の試験が必須で、マウス、及びラットに対して最小致死量が2,000mg/kg (*p.o.*) 以上で、安全性試験で用いられる変異源性試験(-)、染色体異常(-)、中枢神経系異常(-)など、極めて毒性の低い化合物であることが判っている⁸⁾。

N-251の体内動態解析

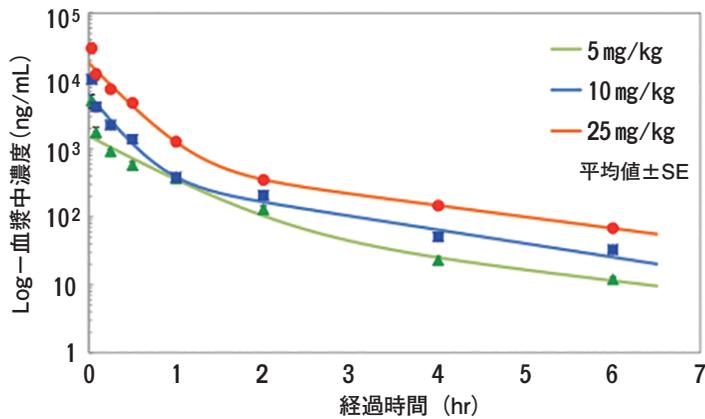
臨床試験に向けた研究として、動物を用いた体内動態解析や安全性試験などを行い、投与量や投与方法を検討し、人での体内動態や安全性を予測する必要がある。ヒトでの体内動態予測のための基礎データとして、マウスを用いた体内動態解析を行った。N-251はLC-MS/MSを用いた検出法を確立して測定した(検出感度:10nM)。図2は単回投与での急速静脈内投与結果で、測定したN-251の血漿中濃度を経過時間に対してプロットし、分布相とそれに続く消失相を有する、2-コンパートメントモデルを適用して解析した。算出したパラメータは図の下に示し、AUCは血漿中濃度-時間曲線の下面積で、血漿中に移行した薬物量の指標となる。MRTは薬物の平均滞留時間を表し、消失速度の指標で、V_{dss}は定常状態における分布容積を

表す。T_{1/2α}およびβは、それぞれ組織への分布、血漿中からの消失による半減期を示す。

その結果、どちらの値も小さく、生体内に速やかに分布し、血漿中からの消失も速いことが分かる。CLは全身クリアランスであり、薬物の血漿中からの排泄効率を示し、投与量に関係なく一定の値となる。5.10mg/kgではほぼ一定であるが、25mg/kgにおいては3.34(L/hr・kg)と、低下が見られた。図3は単回経口投与時の結果で、C_{max}, T_{max}共にいずれの投与量でも2時間となった。半減期は0.5~0.9時間と短く、静脈内投与の結果と同じく速やかに血漿中から消失していた。また、210mg/kg投与において、静脈内投与のときと同様にクリアランスの低下が見られ、図2の静脈内投与での結果をふまえて経口投与での生物学的利用は約23%であった。N-251の投与量とAUCを再度プロットしてみると、静脈内投与での5.10mg/kg、経口投与での30mg/kgから100mg/kgでは直線性が見られ、投与量依存的にAUCが増加することが分かる。一方、静脈内投与の25mg/kg、経口投与の210mg/kgではその直線からは外れる結果となり、クリアランスの飽和が起きていることが分かった(図4)。

マラリアの薬効試験を行う際には、感染状態での投与であるため健常時との比較が必要である。図5は感染率0.6%の感染マウスと健常マウスを用い、感染・非感染時のN-251の体内動態解析結果である。血漿中濃度推移は感染/非感染マウスで同様の推移を示し、各々パラメータも同程度であることから、健常状態のパラメータを感染時にも適用できることが分かった。

今まで紹介した内容は全て絶食時の体内動態結果である。摂食時は絶食時と比べ、最高血漿中濃度の低下とそれに伴うAUCの低下、それによってバイオアベ

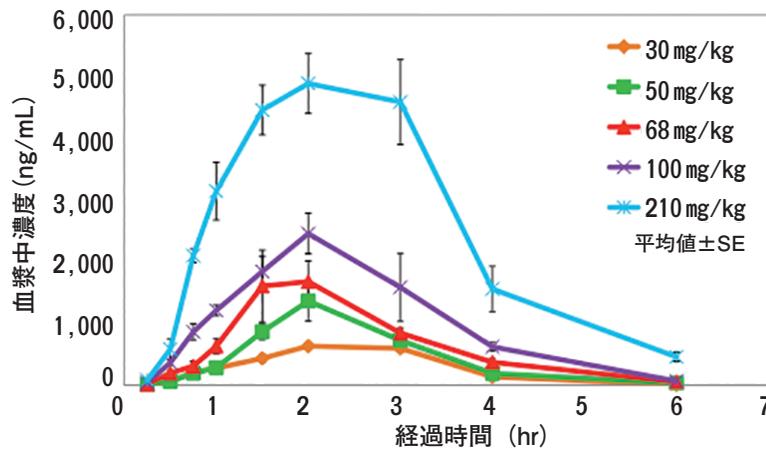


Dose (mg/kg)	5	10	25
AUC ($\mu\text{g/mL} \cdot \text{hr}$)	1.16	2.43	7.48
MRT (hr)	1.13	0.953	0.861
Vd _{ss} (L/kg)	4.85	3.93	2.88
T _{1/2α} (hr)	0.429	0.180	0.222
T _{1/2β} (hr)	1.99	1.50	1.79
CL (L/hr · kg)	4.29	4.12	3.34

AUC: 血漿中濃度-時間曲線下面積
 MRT: 平均滞留時間
 Vd_{ss}: 定常状態の分布容積
 T_{1/2 α} : 分布相 (α 相) 半減期
 T_{1/2 β} : 消失相 (β 相) 半減期
 CL: 全身クリアランス

2-コンパートメントモデル解析により算出

図2 N-251の急速静脈内投与時の体内動態



Dose (mg/kg)	30	50	68	100	210
C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	0.63	1.36	1.68	2.46	4.89
AUC ($\mu\text{g/mL} \cdot \text{hr}$)	1.68	2.70	3.94	6.18	15.7
MRT (hr)	2.46	2.43	2.42	2.44	2.70
T _{1/2} (hr)	0.507	0.691	0.752	0.650	0.929
CL (L/hr · kg)	17.9	18.5	17.2	16.2	13.4
F (%)	23.0	22.3	23.9	25.5	30.9

C_{max}: 最高血漿中濃度
 T_{max}: 最高血漿中濃度到達時間
 F: 生物学的利用能

モーメント解析により算出

図3 N-251の経口投与時の体内動態

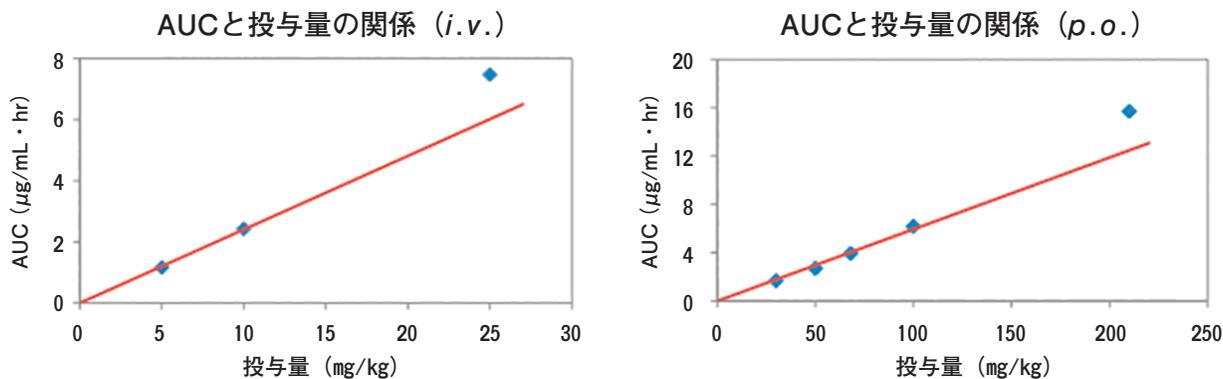


図4 N-251の経口・静脈内投与時の投与量とAUC

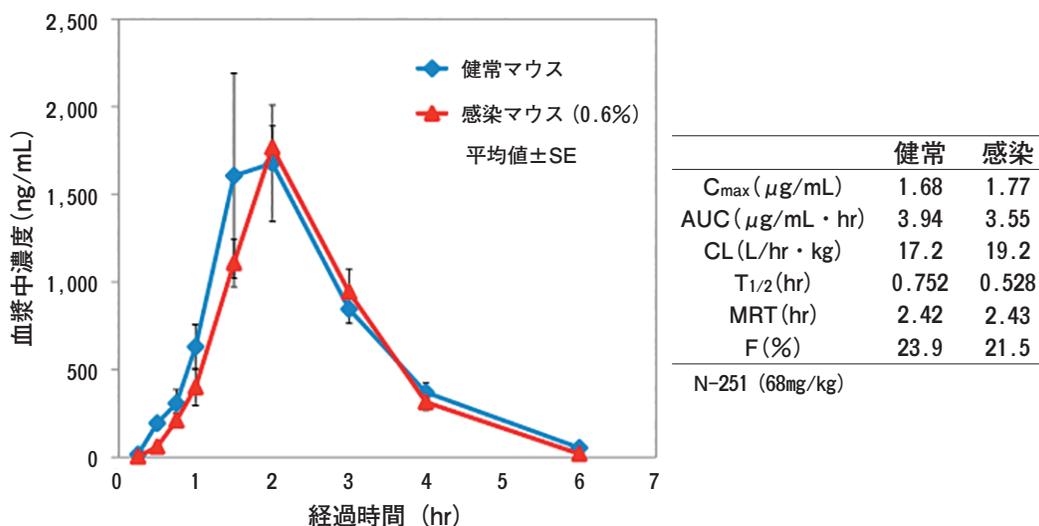


図5 感染・非感染時のN-251の体内動態

イラビリティが絶食時の6割まで低下する結果となり、今後、N-251を投与する際に食物との関連についても考慮する必要がある。

おわりに

環状過酸化N-251の抗マラリア活性については論文等で報告しているが、N-251の動物での体内動態解析の結果をピックアップして述べるのははじめてである。ヒトとマウスの種差を考慮したより正確な予測のために、臨床試験に向けた基礎データとして本稿で紹介した内容に加え、血漿タンパク結合率や血球分配率、生物学的利用能の改善を目的として、吸収や代謝の過程についてさらに研究を進め、より安全で、服用しやすい剤形や投与方法の検討が必要であると考えられる。

WHO 提唱のアルテミシニンをベースにした ACT

療法にも耐性を示すマラリア原虫の出現と耐性域の拡大は今までのマラリアの薬の歴史から十分に想像できる。いち早く新しい抗マラリア薬を開発して臨床の現場で使用するように、シーズ化合物の臨床開発研究に拍車をかけたい。

大学発の創薬シーズ、しかも化学合成による新規化合物を地球規模の感染症対策に資するものとするためには、今後も臨床研究中核拠点の Mission として研究開発を進めるものである。

文 献

- 1) Payne D : Spread of chloroquine resistance in Plasmodium falciparum. Parasitol Today (1987) 3, 241-246.
- 2) Noedl H, Socheat D, Satimai W : Artemisinin-resistant malaria in Asia. N Engl J Med (2009) 361, 540-541.
- 3) McCullough KJ, Nonami Y, Masuyama A, Nojima M,

- Kim H, Wataya Y : Synthesis, Crystal structure and antimalarial activity of novel 1,2,5,6-tetracycloalkanes from 2,3-dihydroperoxy-2-phenylnorbonate. *Tetrahedron Lett* (1999) 40, 9151-9155.
- 4) Kim H, Tsuchiya K, Shibata Y, Wataya Y, Ushigoe Y, Masuyama A, Nojima M, McCullough KJ : Synthetic methods for unsymmetrically-substituted 1,2,4,5-tetroxanes and of 1,2,4,5,7-pentoxocanes. *J Chem Soc Perkin Trans* (1999) 1, 1867-1870.
- 5) Kim H, Begum K, Ogura N, Wataya Y, Nonami Y, Ito T, Masuyama A, Nojima M, McCullough KJ : Antimalarial activity of 1,2,5,6-tetraoxacycloalkanes and 1,2,5-trioxacycloalkanes. *J Med Chem* (2003) 46, 1957-1961.
- 6) Masuyama A, Wu J, Nojima M, Kim H, Wataya Y : 1,2,4,5-Tetraoxan cycloalkanes : Synthesis and antimalarial activity. *Mini-Reviews Med Chem* (2005) 5, 1035-1043.
- 7) Sato A, Hiramoto A, Morita M, Matsumoto M, Komichi Y, Nakase Y, Tanigawa N, Hiraoka O, Hiramoto K, Hayatsu H, Higaki K, Kawai S, et al. : Antimalarial activity of endoperoxide compound 6-(1,2,6,7-tetraoxaspiro [7.11] nonadec-4-yl) hexan-1-ol. *Parasitol Int* (2011) 60, 270-273.
- 8) Sato A, Kawai S, Hiramoto A, Morita M, Tanigawa N, Nakase Y, Komichi Y, Matsumoto M, Hiraoka O, Hiramoto K, Tokuhara H, Masuyama A, et al. : Antimalarial activity of 6-(1,2,6,7-tetraoxaspiro [7.11] nonadec-4-yl) hexan-1-ol (N-251) and its carboxylic acid derivatives. *Parasitol Int* (2011) 60, 488-492.