

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4902964号  
(P4902964)

(45) 発行日 平成24年3月21日(2012.3.21)

(24) 登録日 平成24年1月13日(2012.1.13)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 31/202 (2006.01)	A 6 1 K 31/202
A 6 1 K 31/4725 (2006.01)	A 6 1 K 31/4725
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06

請求項の数 7 (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2005-99031 (P2005-99031)  
 (22) 出願日 平成17年3月30日(2005.3.30)  
 (65) 公開番号 特開2006-273798 (P2006-273798A)  
 (43) 公開日 平成18年10月12日(2006.10.12)  
 審査請求日 平成20年1月8日(2008.1.8)

(73) 特許権者 593106918  
 株式会社ファンケル  
 神奈川県横浜市中区山下町89番地1  
 (74) 代理人 100133905  
 弁理士 石井 良夫  
 (74) 代理人 100113837  
 弁理士 吉見 京子  
 (74) 代理人 100127421  
 弁理士 後藤 さなえ  
 (74) 代理人 100090941  
 弁理士 藤野 清也  
 (74) 代理人 100076244  
 弁理士 藤野 清規  
 (72) 発明者 佐藤 均  
 東京都荒川区南千住1-53-8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬物の代謝阻害剤とその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ドコサヘキサエン酸(DHA)からなる薬物の代謝阻害剤。

【請求項2】

薬物が経口投与用である請求項1に記載の代謝阻害剤。

【請求項3】

小腸におけるシトクロームP450 3A(CYP3A)による代謝を阻害する請求項1または2に記載の代謝阻害剤。

【請求項4】

薬物の有効成分がシクロスポリン又はサキナビルである請求項1~3のいずれかに記載の代謝阻害剤。

【請求項5】

薬物の有効成分と代謝阻害剤としてのドコサヘキサエン酸(DHA)とを含有することを特徴とする医薬品組成物。

【請求項6】

医薬品組成物が経口投与用である請求項5に記載の組成物。

【請求項7】

シクロスポリンあるいはサキナビルと代謝阻害剤としてのドコサヘキサエン酸(DHA)とを含有する医薬組成物。

10

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、薬物の代謝を阻害して薬物の吸収率を向上させる物質およびその使用に関する。

## 【背景技術】

10

## 【0002】

薬物（医薬品）の多くは、小腸におけるシトクロームP450 3A（CYP3A）などの酵素による代謝を受けることが知られている。この小腸において代謝を受けることが、薬物の小腸における吸収率を低下させ、低いバイオアベイラビリティと大きな個体間変動の原因に挙げられている。

一方、薬物の吸収を改善させるための方法として、薬物の小腸通過を該薬物の吸収が起こるに十分な時間遅らせるために有効な量の脂質を含む組成物を投与すること、該脂質として、オレイン酸などの脂肪酸を用いることが知られている（特許文献1）。

また、鼻粘膜など経粘膜での薬物の吸収促進剤として、多価不飽和脂肪酸を薬物に含有させることも知られている（特許文献2、特許文献3）。

20

しかしながら、DHAなどの多価不飽和脂肪酸が小腸における薬物の代謝を阻害する作用を有することは知られていない。

## 【0003】

【特許文献1】特表平11-505258号公報

【特許文献2】特開2000-128805号公報

【特許文献3】特開2001-240558号公報

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0004】

本発明は、小腸における薬物の代謝を阻害して、薬物の吸収率を向上させ高いバイオアベイラビリティを得るための手段を提供することを課題とする。

30

## 【課題を解決するための手段】

## 【0005】

本発明者は、DHAなどの多価不飽和脂肪酸が小腸における薬物の代謝をコントロール（抑制）できることを見出し、その多価不飽和脂肪酸の代謝抑制機能が、結果として小腸における薬物の吸収率を向上させ、高いバイオアベイラビリティに寄与することを見出して本発明に至った。また、本発明者は、DHAなどの多価不飽和脂肪酸が経口投与されても小腸まで分解されることなく到達することを思いがけず見出し、その代謝抑制機能を経口投与用の医薬品に応用できることを見出した。

さらに、本発明者は、DHAなどの多価不飽和脂肪酸によると薬物代謝が一定時間抑制されるが、一定時間経過後はその抑制能がなくなることを発見し、よって、多価不飽和脂肪酸を有効成分と共に用いた医薬品では、その有効時間をコントロールすることも見出した。さらにまた、多価不飽和脂肪酸によると薬物代謝が一定時間抑制されるので、医薬品の吸収部位への到達時間と代謝抑制時間とを合致させることによって、有効なバイオアベイラビリティを達成することができる。このような不飽和多価脂肪酸による一定時間の代謝抑制機能は経口投与用の医薬品において特に顕著な有用性を発揮できる。

40

従来、グレープフルーツジュースがシトクロームP450 3A（CYP3A）の代謝を阻害することで経口投与薬の吸収性を向上させることはよく知られている。しかし、グレープフルーツジュースによるCYP3A代謝阻害は、CYP3Aの酵素活性の完全な失活によるものであって、本来、CYP3Aにより代謝すべきものまですべて吸収させることになってしまうし、代謝阻

50

害が強くなりすぎるといふ危険性を伴うのに対して、本発明のDHAなどの多価不飽和脂肪酸による代謝阻害能は、上記のように一定時間有効であるので、このような危険性はない。

【0006】

すなわち、本発明は、次に関するものである。

- (1) 多価不飽和脂肪酸からなる薬物の代謝阻害剤。
- (2) 多価不飽和脂肪酸がドコサヘキサエン酸(DHA)からなる上記(1)記載の代謝阻害剤。
- (3) 薬物が経口投与用である上記(1)又は(2)に記載の代謝阻害剤。
- (4) 小腸におけるシトクロームP450 3A(CYP3A)による代謝を阻害する上記(1)~(3)のいずれかに記載の代謝阻害剤。
- (5) 薬物の有効成分がシクロスポリン又はサキナビルである上記(1)~(4)のいずれかに記載の代謝阻害剤。
- (6) 薬物の有効成分と代謝阻害剤としての多価不飽和脂肪酸とを含有することを特徴とする医薬品組成物。
- (7) 多価不飽和脂肪酸がドコサヘキサエン酸(DHA)からなる上記(6)記載の医薬組成物。
- (8) 医薬品組成物が経口投与用である上記(6)又は(7)記載の組成物。
- (9) シクロスポリンあるいはサキナビルと代謝阻害剤としての多価不飽和脂肪酸とを含有する医薬組成物。
- (10) 多価不飽和脂肪酸がドコサヘキサエン酸(DHA)である上記(9)記載の医薬組成物。
- (11) 薬物の代謝阻害剤としての多価不飽和脂肪酸の使用。
- (12) 薬物の代謝阻害剤としてのドコサヘキサエン酸(DHA)の使用。

【発明の効果】

【0007】

本発明によって、薬物の小腸における代謝を抑制でき、小腸における薬物の吸収率を向上させ高いバイオアベイラビリティを得ることができた。さらに、本発明によると、小腸における吸収率が低い薬物でも医薬品として使える可能性が生じるので、医薬品開発上のメリットは大きい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

以下には、本発明を詳細に説明するが、本発明は以下の説明によって限定されるものではない。

本発明の代謝阻害剤は、ドコサヘキサエン酸(DHA)、リノレン酸、 $\gamma$ -リノレン酸、アラキドン酸、レチオニック酸などの多価不飽和脂肪酸であるが、DHAが最も好ましい。

【0009】

本発明で用いられる薬物の有効成分としては、一般的に小腸におけるシトクロームP450 3A(CYP3A)などによる代謝を受け易く吸収し難いもの、あるいは有効成分が微量でシトクロームP450 3A(CYP3A)で完全に代謝されて薬効を発揮できないものであれば、何でもよい。例えば、シクロスポリンA(CyA)などのシクロスポリン、抗エイズ薬として知られているサキナビルなどが挙げられる。

【0010】

本発明の製剤の形態としては、例えば、粉末、散剤、顆粒、錠剤、カプセル、等の固形剤、溶液、懸濁液、乳剤などの液剤、凍結乾燥製剤等が挙げられ、これらの製剤は常套手段により調製することができる。

【0011】

以下の実施例1~5では、有効成分としてシクロスポリンA(CyA)を選び、CyAの小腸における吸収率がDHAによって亢進されるか否かを検討した。

実施例で用いた試薬等は、以下のとおりである。

【 0 0 1 2 】

< 試薬 >

シクロスポリン A (CyA) : ノバルディスファーマ株式会社

コーン油 (Wako)

cis - 4,7,10,13,16,19 - ドコサヘキサエン酸 (DHA) : SigmaD - 2534

ポリエチレングリコール 200 : Wako

麻酔薬エンフルラン : ダイナポット

シクロスポリン測定キットTDXFLX™ : Abbott

P - 糖タンパク質阻害剤PSC833 : ノバルディスファーマ株式会社

テストステロン : Wako208 - 08341

6 - 水酸化テストステロン : SigmaH - 2898

17 - メチルテストステロン : SigmaM - 7252

ヒト肝臓ミクロソーム : Gentest452161

アルブミン : Bovine SigmaA - 4503

【 実施例 1 】

【 0 0 1 3 】

< 小腸におけるシクロスポリン吸収率に対する D H A の影響 >

ラットにCyAを投与し、血中シクロスポリン濃度に対する D H A の影響を調べた。

( 試薬調製 )

経口投与の場合、CyAはコーン油に溶解する。D H A はコーン油に添加した ( 最終濃度 5 , 1 0 , 2 0 wt/vol% ) 。

静脈内投与の場合、CyAをエタノールで溶解した後、ポリエチレングリコール 200 に溶解した ( エタノールの最終濃度 1 0 vol/vol% ) 。

【 0 0 1 4 】

( 手術 )

220 ~ 250 g のWister系雄性ラット ( 日本医科学動物 ) を24時間絶食させ、エンフルラン麻酔下 ( 導入 5 %、維持 2 % ) で左後肢大腿動脈および大腿静脈にカニューレを施した。覚醒後、CyAを投与し、Bolmanケージにラットを固定した。

【 0 0 1 5 】

( 投与方法 )

経口投与の場合、CyAをコーン油に溶解して経口ゾンデで投与した。投与量は、5 mg/mL のCyA溶液を、ラット 1 kg 当たり 5 mg 投与した。D H A を添加する場合、最終濃度 5 , 1 0 , 2 0 wt/vol% でコーン油に添加した。

静脈投与の場合、投与 3 時間前に 1 ml/kg のコーン油 ( D H A を含む場合あり ) を経口投与し、CyAの 1 0 vol/vol% エタノール溶液の静脈内投与を行なった。D H A を添加する場合、コーン油に最終濃度 5 , 1 0 , 2 0 wt/vol% で添加した。

【 0 0 1 6 】

( 採血 )

CyA投与後、経時的にヘパリン採血を行なった。経口投与の場合、投与後 1 , 2 , 3 , 4 , 6 , 9 , 1 2 , 2 4 時間後に、静脈内投与の場合、投与後 0 . 1 6 7 , 0 . 5 , 1 , 2 , 4 , 8 , 1 2 , 2 4 時間後に、採血を行なった。

【 0 0 1 7 】

( 血中CyA滴定法 )

血液中のCyA量をシクロスポリン測定キットTDXFLX™ ( Abbott社 ) で行なった。

【 0 0 1 8 】

( 結果 )

コーン油 ( 基材 ) に溶解したCyAを経口投与したラット ( 個体数 6 ~ 7 ) の血中CyA濃度 ( 平均値 : mean ) を表 1 と図 1 に示した。なお、表1には、標準偏差 ( S D ) も併記した。CyAを経口投与したラットの血中CyA濃度は、既報の文献 ( Biochemical Pharmacology 6

10

20

30

40

50

3(4) : 777-783 (2002) Yokogawa K, Shimada T, Higashi Y, Itoh Y, Masue T, Ishizaki J, Asahi M, Miyamoto K., Modulation of *mdr1a* and *CYP3A* gene expression in the intestine and liver as possible cause of changes in the cyclosporin A disposition kinetics by dexamethasone) と同等の結果を示した。基材に D H A を添加した群では投与2時間目から D H A の添加量に応じて血中CyA濃度が上昇し、10および20wt/vol%のD H A を添加した群では有意に上昇した。

また、図1から明らかなように、D H A 添加による血中CyA濃度の上昇は、一過性である。

【表1】

Time (hr)	mean	mean	mean	mean	SD	SD	SD	SD
	Control	5%DHA	10%DHA	20%DHA	Control	5%DHA	10%DHA	20%DHA
1	115.0	182.5	160.5	182.3	55.7	80.6	107.3	96.5
2	431.6	606.1	665.4	941.5	192.7	282.9	516.2	564.3
3	751.8	1147.9	1393.9	1463.4	375.1	547.8	734.0	751.0
4	804.7	1022.5	1647.3	1538.9	406.6	460.4	403.7	679.6
6	683.2	836.6	1486.8	1417.1	389.8	325.4	280.5	391.8
9	436.3	569.9	1001.4	1046.6	247.8	216.7	271.1	304.6
12	314.4	429.1	751.5	798.7	179.2	184.1	234.7	239.9
24	111.7	169.0	286.8	321.4	71.0	88.7	127.1	110.4

10

CyAを静脈内投与したラット(個体数3~4)の血中CyA濃度は、前記の既報の文献と同等の結果を示した。D H A を予め経口投与した場合にも影響は認められなかった(表2及び図2)。

【表2】

Time (hr)	mean	mean	SD	SD
	Control	10%DHA	Control	10%DHA
0.167	4648.1	5147.5	251.5	418.7
0.5	4173.6	4253.3	254.2	343.0
1	3647.1	3670.5	207.5	242.2
2	3054.4	3343.5	241.0	331.0
4	2481.2	2324.7	168.6	154.1
8	1808.3	1741.7	133.8	130.7
12	1398.7	1425.87	52.2	178.0
24	588.7	639.7	60.8	67.5

20

30

この結果から、CyAの経口投与の場合には、D H A の添加で血中CyA濃度が有意に増加したのに対して、静脈内投与の場合は、D H A を添加しても影響がないことが分かった。

【実施例2】

【0019】

< D H A を予め投与した場合の影響 >

この実施例では、D H A を予め投与したときのCyA血中濃度に対する影響を調べた。

ラットにCyAを経口投与する3時間前に20wt/vol%D H A を投与した以外は、実施例1と同様の試験を行なった。

結果を図3に示す。D H A を予め投与した場合と、投与しない場合(コントロール)でCyA血中濃度に殆ど差異がない。

この結果から、予めD H A を投与したときには、CyAの経口投与においても、D H A 同時投与のような影響が現れないことが分かった。このことは、D H A の影響がグレープフルーツジュースのような持続性のものではなく、危険性が少ないことを示す。

【実施例3】

40

50

## 【 0 0 2 0 】

< 動態パラメータに対する D H A の影響 >

実施例 1 と同様の方法でラットに CyA を投与し、投与後の薬物動態パラメータを測定した。

経口投与の場合、D H A 添加により AUC (薬物血中濃度 - 時間曲線下面積 : area under the blood concentration time curve) の値は添加用量に応じて高くなり、10 および 20 重量% の D H A を添加した群では有意であった。全身クリアランス Cl<sub>tot</sub>/F、分布容積 V<sub>dss</sub>/F の値は D H A の添加用量に応じて低くなり、10 および 20 重量% の D H A を添加した群では有意であった。半減期 T<sub>1/2</sub> に違いはなかった (図 4)。なお、AUC は、直線台形法によるものでソフトウェア Win NonLin (Pharsight Corp) を用いて処理した。

10

静脈投与の場合には、予め D H A を経口投与した場合にも AUC、Cl<sub>tot</sub>/F、V<sub>dss</sub>/F および T<sub>1/2</sub> に有意差はなかった (図 5)。

この結果から、CyA の経口投与の場合には、D H A の添加で薬物動態パラメータに有利な影響が現れるのに対して、静脈投与の場合には、D H A を添加しても影響がないことが分かった。

## 【 0 0 2 1 】

実施例 1 と 3 の結果から、D H A は小腸における CyA の吸収過程に影響し、肝臓における CYP3A4 の代謝に影響がないことが示唆された。そこで、次に、このことを検討するためにヒト及びラットの肝臓ミクロソームを用いた CyA の CYP3A4 による代謝に対して D H A が影響するかどうかの確認、P - 糖タンパク質を発現している C a c o - 2 細胞を用いた CyA の透過性に D H A が影響するかの確認を行なった。

20

## 【 実施例 4 】

## 【 0 0 2 2 】

< 代謝に対する D H A の影響 >

(肝ミクロソーム代謝実験)

ヒト及びラットの肝臓ミクロソーム (Gentest 社) によりテストステロン (15, 30, 100, 300 μM) を試験管内で 37、10 分間代謝させ、代謝物 (6-水酸化テストステロン) を HPLC で分離し溶出した。代謝反応時に D H A (10, 20, 30 μM) を添加した。

以下の式に SAAMII (Saam Institute のソフトウェア) を用いて、V<sub>max</sub>、K<sub>m</sub>、K<sub>i</sub> を求めた。

30

## 【 数 1 】

$$v = \frac{V_{\max} \times S}{K_m \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

V: 反応速度, V<sub>max</sub>: 最大反応速度, S: 基質濃度 (テストステロン)

K<sub>m</sub>: Michaelis 定数, I: 阻害剤濃度 (DHA), K<sub>i</sub>: 阻害定数

HPLC 条件は次のとおりである。

40

A液 水 : アセトニトリル : メタノール = 58 : 2 : 40

B液 水 : アセトニトリル : メタノール = 28 : 32 : 40

A、B液を用いてグラジエント溶出を行なう。

内部標準 : 17 - メチルテストステロン

カラム : Super - ODS (TOSOH)

温度 : 42

流速 : 1 mL / min

## 【 0 0 2 3 】

結果は、表 3 のとおりである。

【表 3】

ラット肝ミクロソームにおけるテストステロン代謝と DHA による代謝阻害に関する  
酵素速度論的パラメータ 括弧内は標準偏差(SD)値を示す)

パラメータ	算出値
V <sub>max</sub>	2.45 nmol/min/mg protein (+0.14)
K <sub>m</sub>	25.5 μM (+3.6)
K <sub>i</sub>	5.52 μM (+0.14)

10

ヒト肝ミクロソームにおけるテストステロン代謝と DHA による代謝阻害に関する  
酵素速度論的パラメータ 括弧内は標準偏差(SD)値を示す)

パラメータ	算出値
V <sub>max</sub>	9.15 nmol/min/mg protein (+0.63)
K <sub>m</sub>	66.3 μM (+7.9)
K <sub>i</sub>	7.83 μM (+1.48)

この結果から、肝臓によるテストステロン代謝に対する DHA の K<sub>i</sub> (阻害定数) はいず  
れも小さく、阻害効果が高いことが分かった。

20

## 【0024】

また、基質であるテストステロン濃度の逆数と代謝物である 6-水酸化テストステロ  
ンの精製速度の逆数をプロット (Line - Weaver Burk Plot) してその阻害形式を検討し  
た。その結果、DHA はヒトミクロソームを用いたテストステロンの代謝に対して濃度  
に応じて、競合的に阻害した (図 6)。

## 【実施例 5】

## 【0025】

<シクロスポリンの透過性に対する DHA の影響>

P-糖タンパク質を発現している Caco-2 細胞を用いて透過性の試験 (Caco-2 細胞を  
用いたトランスポートアッセイ) を行なった。

30

(細胞)

用いた Caco-2 細胞は、久光製薬株式会社から入手した ATCC 由来細胞であり、一週間に  
一度以上継代培養を行なう。継代は、直径 100 mm の培養用ディッシュ (IWAKI 3020  
- 100) に培養している Caco-2 細胞を PBS (-) で 2 回洗い、trypsin-EDTA で反応させディ  
ッシュからはがし回収した。遠心して細胞を濃縮した後、細胞数を数えた。最後に新しい  
ディッシュ 1 枚あたり 10<sup>6</sup> 個の細胞を播種した。トランスポートアッセイ用に Transwell  
(costar3402、ポアサイズ 3.0 μm、直径 12 mm) へ Caco-2 細胞を 1 well 当たり 6  
3000 個播種した。培養 1 週間後から 2~3 日に一度培養液の交換を行い、培養三週間  
前後にトランスポートアッセイを行なった。

40

## 【0026】

(Caco-2 細胞を用いたトランスポートアッセイ)

3 週間培養した Caco-2 細胞を用いて [<sup>3</sup>H]-CyA のトランスポートアッセイを行なっ  
た。トランスポート開始後 30、60、90 および 120 分後に transwell よりバッファ  
ーを一部採取して、液体シンチレーションカウンターで放射活性を測定した。

トランスポートアッセイ条件は次のとおりである。

Transwell (costar3402) : ポアサイズ 3.0 μm、直径 12 mm

トランスポート用バッファー : Hanks balanced salt solution (pH7.4)

0.1% BSA 存在下

CyA 濃度 : 50 nM (3 Ci / mmol)

50

PSC833濃度：10  $\mu$ M

DHA濃度：100  $\mu$ M

【0027】

P-糖タンパク質を発現しているCaco-2細胞を用いたCyAの透過性にDHAが影響するかどうかを、陽性対照にP-糖タンパク質阻害剤であるPSC833を置いて検討した。その結果、apical側からbasal側への輸送およびbasal側からapical側への輸送は時間に応じて直線的に認められた。これらの輸送に対し、PSC833はbasal側からapical側への輸送について阻害した。なおPSC833がapical側からbasal側への輸送について阻害しなかった原因については不明である。そこでDHAの評価は、basal側からapical側への輸送について行なった。その結果、DHA 100  $\mu$ Mはbasal側からapical側への輸送に対して影響しな

10

【表4】

Caco-2細胞のCyA輸送における膜透過クリアランス (CL<sub>m</sub>) 値  
(basal側からapical側への輸送)

処置群	CL <sub>m</sub> ( $\mu$ L/min/cm <sup>2</sup> )
control	90.2 $\pm$ 5.9
PSC833 10 $\mu$ M	45.8 $\pm$ 2.9
DHA 100 $\mu$ M	88.0 $\pm$ 2.6

(mean  $\pm$  S. D.)

20

【0028】

以上の実施例4および5の結果から、DHAによるCyAのバイオアベイラビリティ向上は、P-糖タンパク質を介したのではなく小腸におけるCyP3A4を阻害した結果であることが示唆された。

以上から、薬物の吸収率を高めるためのDHAを用いたdrug delivery system(DDS)の可能性が明らかになった。

DHAが生体に対して毒性を有さないことも考え合わせると、DHAの使用は臨床的に有効である。

【実施例6】

30

【0029】

<多価不飽和脂肪酸の代謝に対する影響>

DHA以外にも含む多価不飽和脂肪酸について、代謝阻害能を試験した。対照として、飽和脂肪酸、1価の不飽和脂肪酸についての試験も行なった。

実施例4と同様にしてラット肝ミクロソームを用いてテストステロンの代謝を行い、代謝物(6-水酸化テストステロン)濃度を測定した。脂肪酸濃度50  $\mu$ M、テストステロン濃度15  $\mu$ M、温度37℃で、10分間代謝を行なった。

表5には、それぞれの脂肪酸を阻害剤として用いるときの、6-水酸化テストステロン(6-OHT)濃度を、脂肪酸を添加しないときの6-水酸化テストステロン(6-OHT)濃度に対する比で示した。

40

【表 5】

## 飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の比較

飽和脂肪酸		一価不飽和脂肪酸		多価不飽和脂肪酸	
基質	6β OHT 試料/ 6β OHT 対照	基質	6β OHT 試料/ 6β OHT 対照	基質	6β OHT 試料/ 6β OHT 対照
カプリン酸	0.95	ウンデセン酸	0.91		
パルミチン酸	1.03			リノレン酸	0.17
ステアリン酸	1.02	オレイン酸	0.53	γ-リノレン酸	0.17
				アラキドン酸	0.42
アラキン酸	0.99			レチオニック酸	0.17
ベヘン酸	0.75	エルカ酸	0.36	DHA	0.06

表 5 の結果から飽和脂肪酸では代謝阻害能がないのに対して、不飽和脂肪酸では代謝阻害能が見られ、不飽和脂肪酸でも、リノレン酸、 $\gamma$ -リノレン酸、アラキドン酸、レチオニック酸、DHA などの多価不飽和脂肪酸になるとさらに代謝阻害能が高くなることが分かる。さらに、表 5 から多価不飽和脂肪酸では DHA が最も高い代謝阻害能を示すことが分かった。

## 【実施例 7】

## 【0030】

< 小腸におけるサキナビル吸収率に対する DHA の影響 >

以下の実施例では、CyA に代えてサキナビル ( HIV プロテアーゼ阻害剤 ) について試験した結果を示す。

実施例 1 と同様にして、ラットにサキナビルを投与し、血中サキナビル濃度に対する DHA の影響を調べた。

図 8 には、サキナビルを 50 mg/kg 経口投与したラット ( 個体数 4 ~ 7 ) のサキナビル血中濃度を示した。DHA を添加した群では投与 2 時間目から DHA の添加量に応じて血中サキナビル濃度が上昇し、10 %wt/vol% の DHA を添加した群では有意に上昇した。図 8 から明らかなように、DHA 添加による血中サキナビル濃度の上昇は、一過性であった。

一方、図 9 には、サキナビルを 10 mg/kg 静脈内投与したラット ( 個体数 5 ) のサキナビル血中濃度を示した。DHA を予め経口投与した場合にも影響は認められなかった。

この結果から、サキナビルについても、CyA と同様、経口投与の場合には、DHA 添加で血中濃度が有意に増加したのに対して、静脈内投与の場合には、DHA を添加しても影響がないことが分かった。

## 【実施例 8】

## 【0031】

< DHA を予め投与した場合の影響 >

この実施例では、DHA を予め投与したときのサキナビル血中濃度に対する影響を調べた。

3 匹のラットにサキナビル ( 50 mg/kg ) を経口投与する 3 時間前に 10 wt/vol% DHA を投与した以外は、実施例 1 と同様の試験を行なった。

結果を図 10 に示す。図 10 には 3 匹のラットの平均値と標準偏差とを示した。DHA を予め投与した場合と、投与しない場合 ( コントロール ) でサキナビル ( SQV ) 血中濃度に殆ど差異がない。

この結果から、予め DHA を投与したときには、サキナビル経口投与によるときでも、DHA 同時投与のときのような影響が現れないことが分かった。このことは、実施例 2 と

10

20

30

40

50

同様に、DHAの影響がグレープフルーツジュースのような持続性のものではなく、危険性が少ないことを示す。

【実施例 9】

【0032】

<動態パラメータに対するDHAの影響(サキナビル)>

実施例1と同様の方法でラットにサキナビルを投与し、投与後の薬物動態パラメータを測定し、結果を表6に示した。

【表6】

動態パラメータへのDHAの影響(サキナビル投与)

10

パラメータ	経口投与		
	Control (without DHA) (n=7)	5%DHA (n=4)	10%DHA (n=9)
AUC <sub>∞</sub> (μg·h/mL)	0.72 ± 0.27	1.16 ± 0.36	3.09 ± 0.44 **
T <sub>1/2</sub> (h)	1.50 ± 0.19	1.96 ± 0.47	1.96 ± 0.39
Cl <sub>tot</sub> /F, Cl(L/h/kg)	122.6 ± 32.9	82.4 ± 46.7	24.6 ± 9.2 *
V <sub>dss</sub> /F, V <sub>dss</sub> (ml/kg)	271.5 ± 79.8	280.9 ± 19.4	55.4 ± 13.2

20

パラメータ	静脈内投与	
	Control (without DHA) (n=5)	10%DHA (n=5)
AUC <sub>∞</sub> (μg·h/mL)	2.22 ± 0.47	2.34 ± 0.42
T <sub>1/2</sub> (h)	1.50 ± 0.18	2.63 ± 1.25
Cl <sub>tot</sub> /F, Cl(L/h/kg)	5.31 ± 0.97	5.15 ± 1.31
V <sub>dss</sub> /F, V <sub>dss</sub> (ml/kg)	12.4 ± 3.2	15.6 ± 4.72

30

平均値 ± SEM. \* 有意差 (p<0.05) . \*\* 有意差 (p<0.01).

経口投与の場合、DHA添加によりAUCの値は添加用量に応じて高くなった。全身クリアランスCl<sub>tot</sub>/F、分布容積V<sub>dss</sub>/Fの値はDHAの添加用量に応じて低くなり、半減期T<sub>1/2</sub>に違いはなかった。

40

静脈投与の場合には、予めDHAを経口投与した場合にもAUC、Cl<sub>tot</sub>/F、V<sub>dss</sub>/FおよびT<sub>1/2</sub>に有意差はなかった。

この結果から、サキナビルの経口投与の場合には、DHAの添加で薬物動態パラメータに有利な影響が現れるのに対して、静脈投与の場合には、DHAを添加しても影響がないことが分かった。

【0033】

実施例6と7の結果からCyAの場合と同様に、DHAは小腸におけるサキナビルの吸収過程に影響し、肝臓におけるサキナビルの代謝に影響がないことが示唆された。そこで、

50

次に、このことを検討するためにラットの肝臓ミクロソームを用いたサキナビルのCYP3A4による代謝に対してDHAが影響するかどうかの確認を行なった。

【実施例10】

【0034】

<代謝に対するDHAの影響(サキナビル)>

実施例3と同様にラットの肝臓ミクロソーム(Gentest社)によりサキナビル(1.95, 6.3, 13 μM/L)を試験管内で37、10分間代謝させ、代謝物をHPLCで分離し溶出した。代謝反応時にDHA(10, 50, 100, 200, 500 μM)を添加した。CYP3A4の代表的阻害剤として知られているケトコナゾル(Ketoconazol)を陽性対照として用いた。結果を図9に示した。図11において縦軸はサキナビル代謝物の量であり、値が低いほど代謝が阻害されていることを示す。図11からDHAの添加によってサキナビルの代謝が濃度依存的に阻害されることが分かった。500 μMのDHAは、1 μMのケトコナゾルとほぼ同じ阻害活性を示し、DHAは比較的強力なCYP3A4代謝阻害活性を示すことが分かった。

10

【産業上の利用可能性】

【0035】

本発明のDHAによると、薬物の小腸における代謝を抑制でき、小腸における薬物の吸収率を向上させ高いバイオアベイラビリティを得ることができた。

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図1】経口投与時の血中CyA濃度に対するDHAの影響を示す。

【図2】静脈内投与時の血中CyA濃度に対するDHAの影響を示す。

【図3】DHAを予め投与した場合の血中CyA濃度に対する影響を示す。

【図4】CyA経口投与後の薬物動態パラメータに対するDHAの影響を示す。

【図5】CyA静脈内投与後の薬物動態パラメータに対するDHAの影響を示す。

【図6】ヒト肝ミクロソームを用いたテストステロンのCYP3A4代謝に対するDHAの影響を示す。

【図7】Caco-2細胞におけるCyAのbasal側からapical側へのトランスポートに対するPS C833およびDHAの影響を示す。

【図8】経口投与時の血中サキナビル濃度に対するDHAの影響を示す。

【図9】静脈内投与時の血中サキナビル濃度に対するDHAの影響を示す。

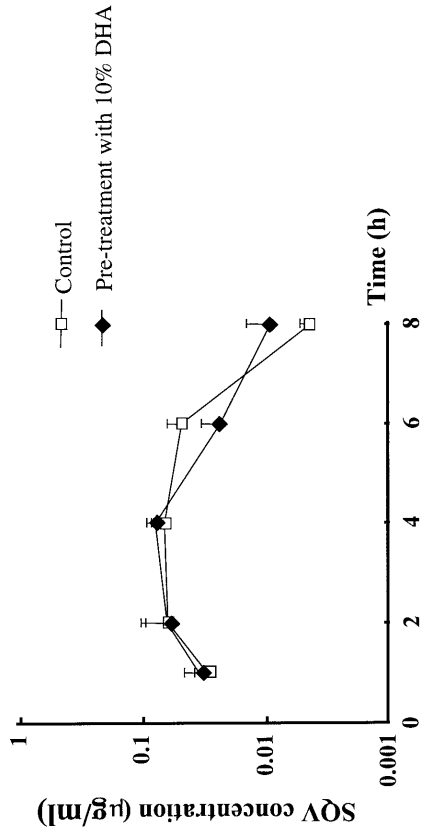
【図10】DHAを予め投与した場合の血中サキナビル濃度に対するDHAの影響を示す。

【図11】ラット肝ミクロソームを用いたサキナビルのCYP3A4代謝に対するDHAの影響を示す。

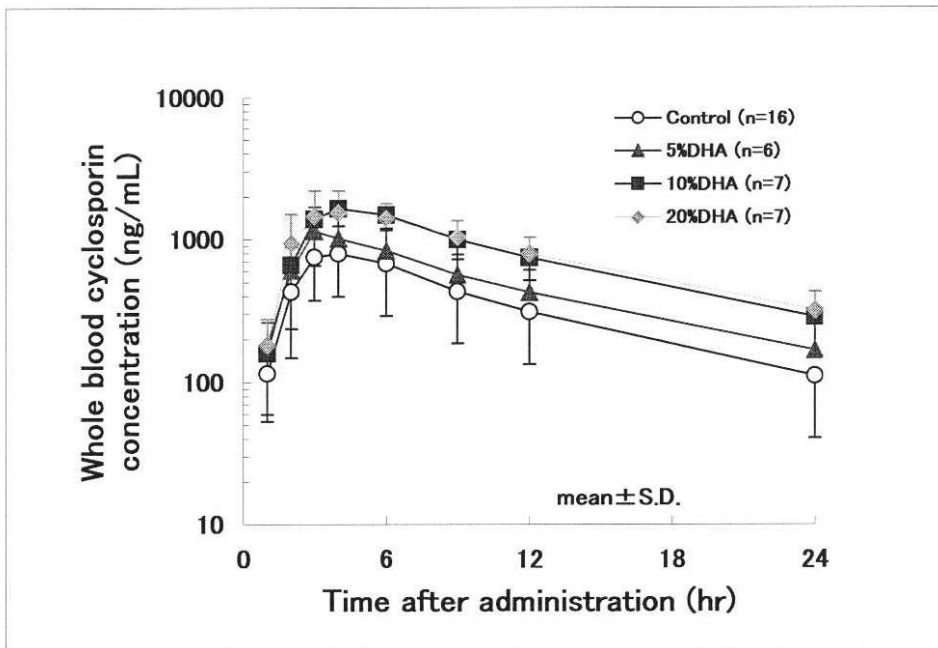
20

30

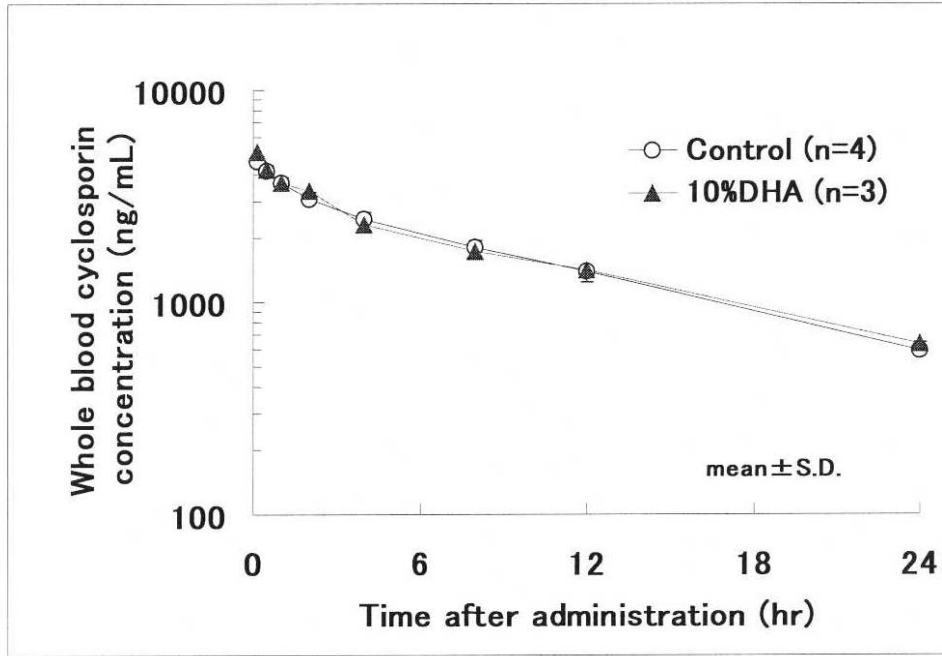
【 図 10 】



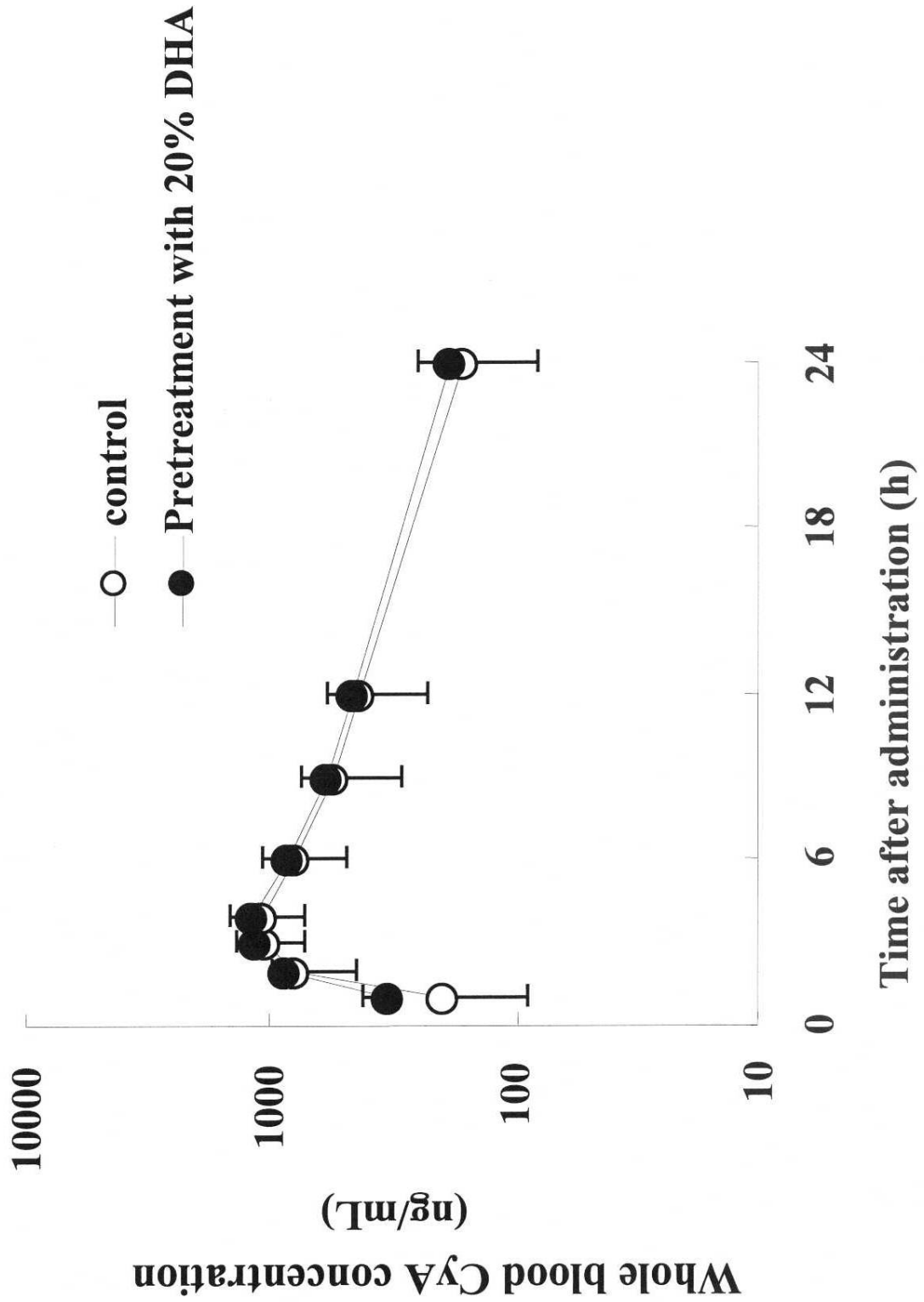
【 図 11 】



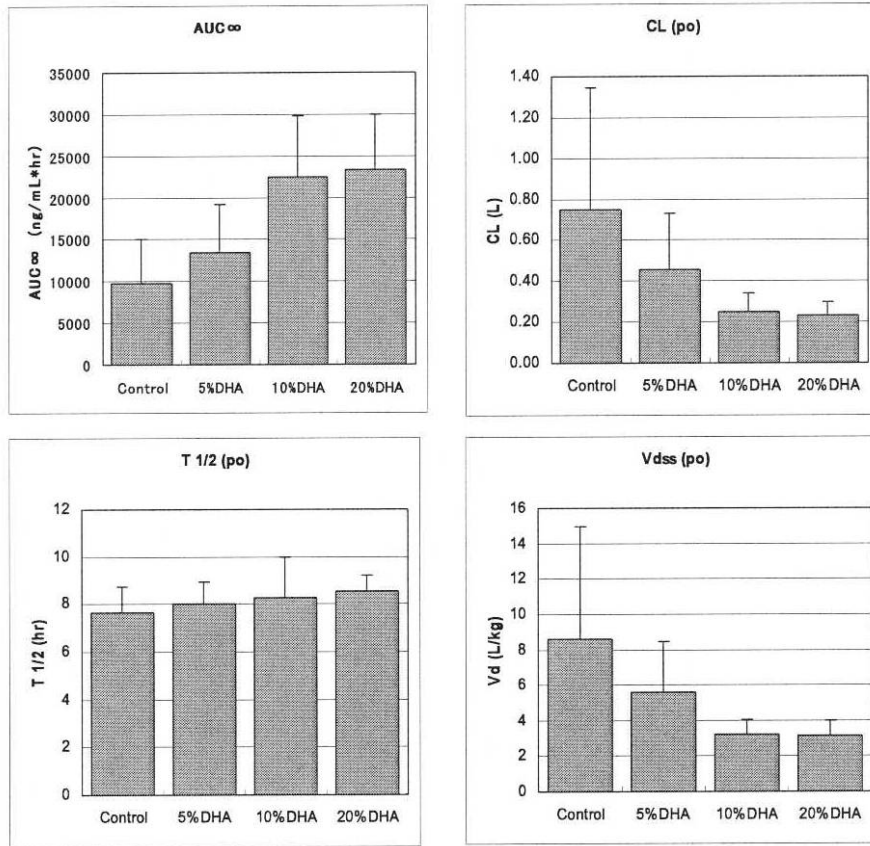
【 図 2 】



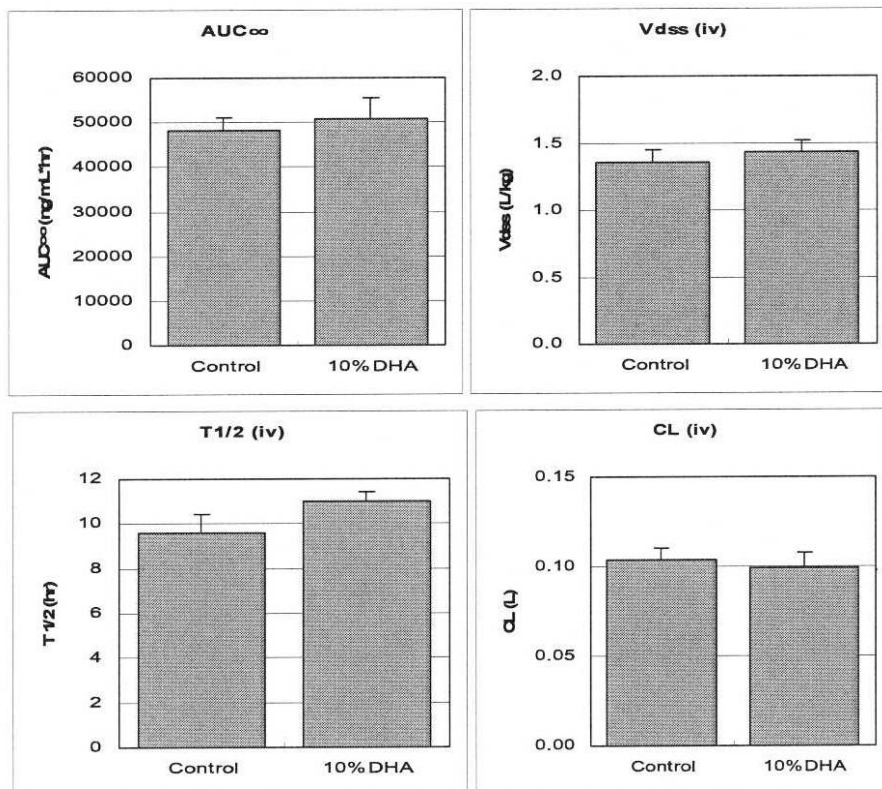
【 図 3 】



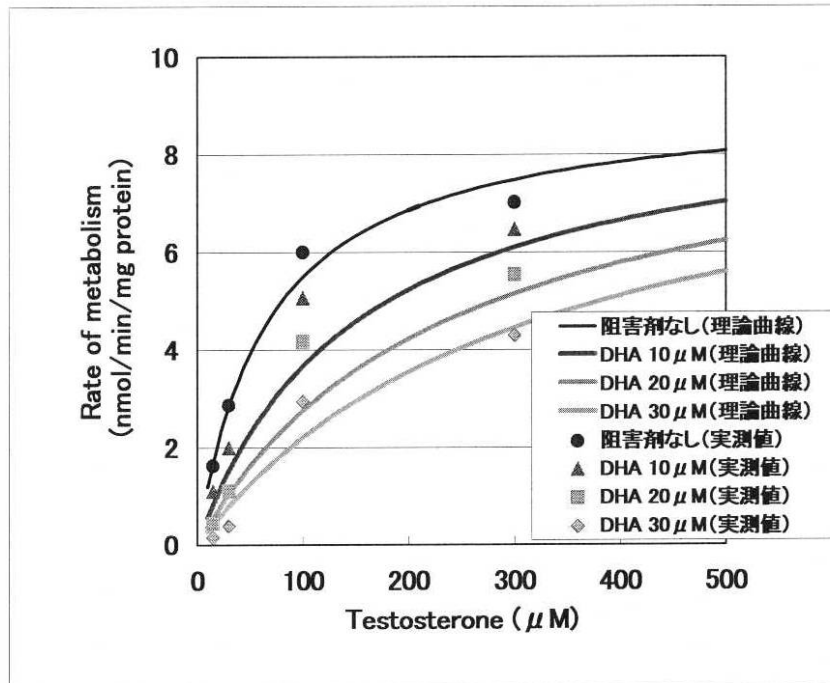
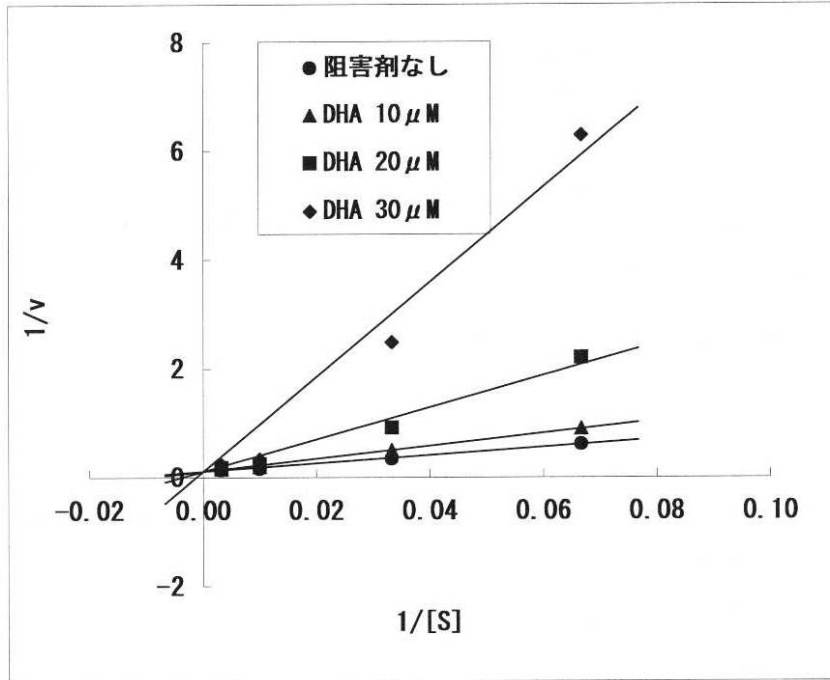
【 4 】



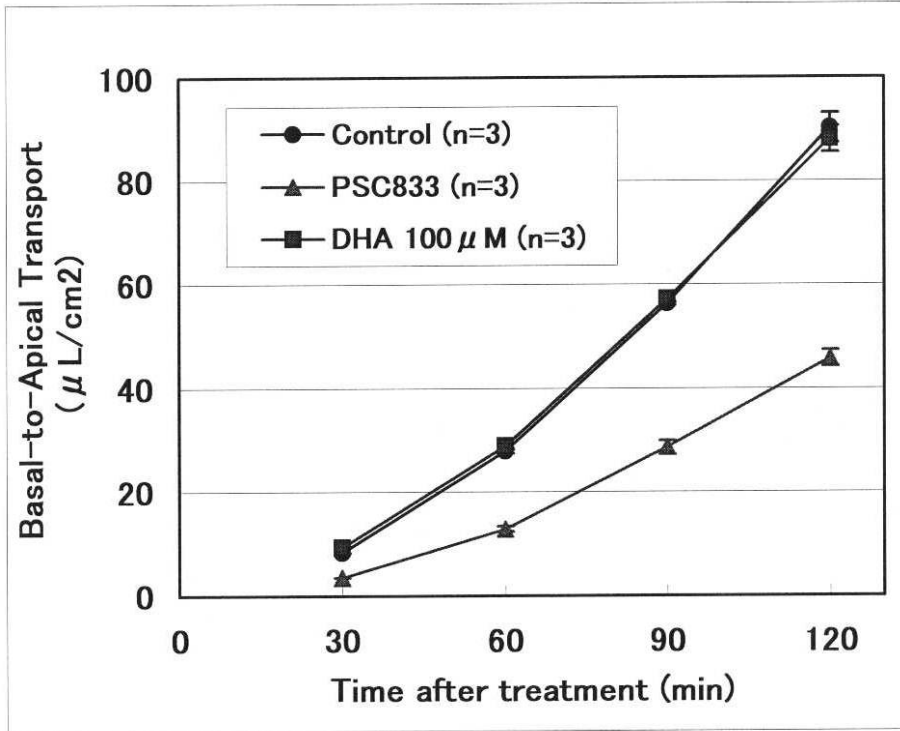
【 5 】



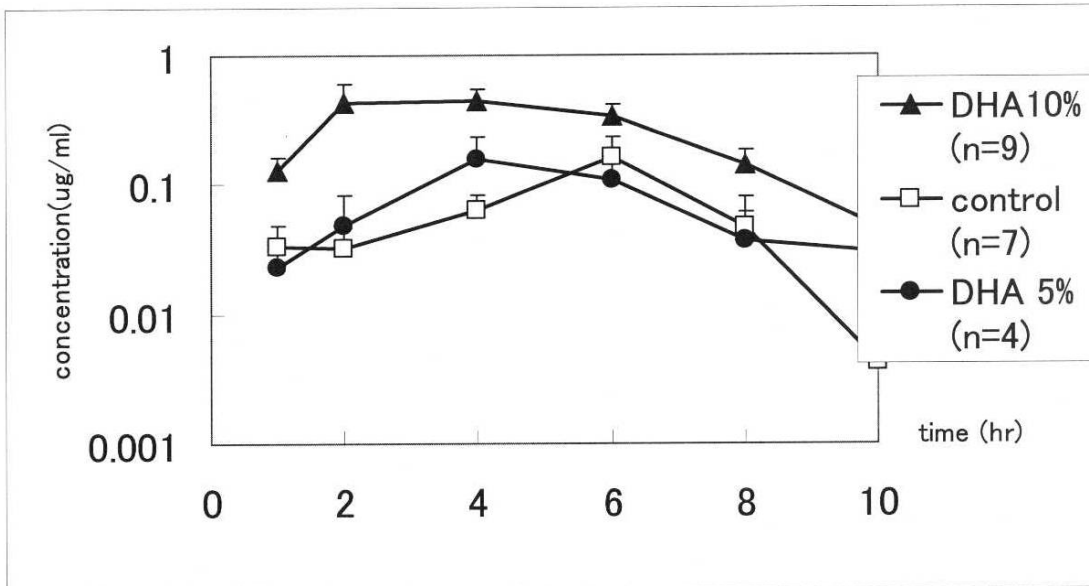
【 図 6 】



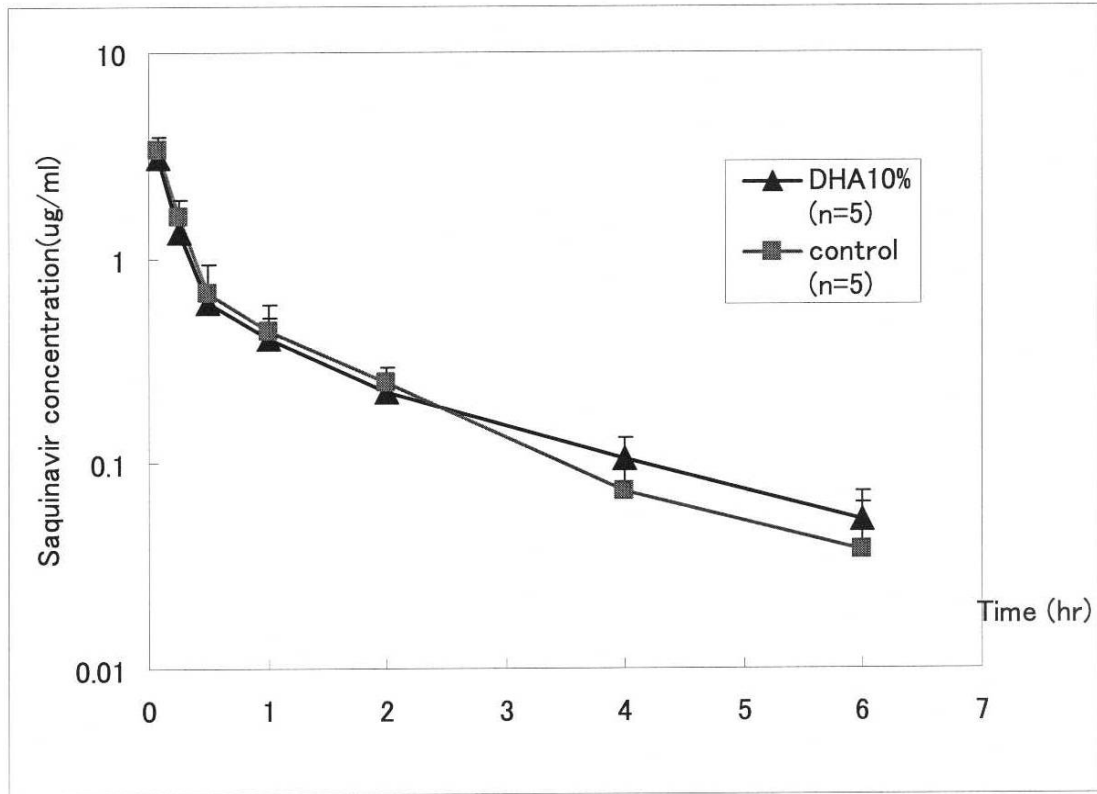
【 図 7 】



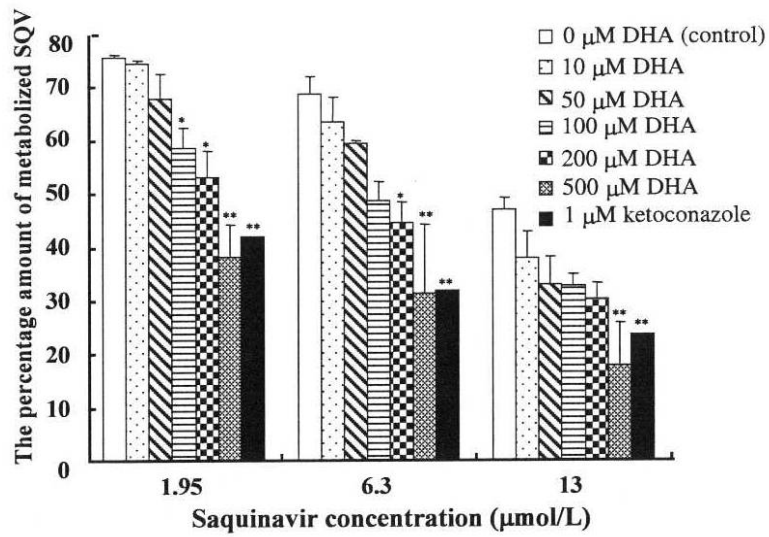
【 図 8 】



【 9 】



【 11 】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
<b>A 6 1 P 43/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P	43/00	1 0 5
		A 6 1 P	43/00	1 1 1
		A 6 1 P	43/00	1 2 1

審査官 瀬下 浩一

(56)参考文献 特開平 1 0 - 0 2 9 9 3 8 ( J P , A )  
 特表 2 0 0 1 - 5 1 5 0 3 5 ( J P , A )  
 PETERSON,D.A. et al , Triple-bonded unsaturated fatty acids are redox active compounds  
 , Lipids , 2 0 0 1 年 , Vol.36, No.4 , p.431-433  
 LEFEVRE,G. et al , Pharmacokinetic interaction trial between co-artemether and mefloqui  
 ne , European Journal of Pharmaceutical Sciences , 2 0 0 0 年 , Vol.10, No.2 , p.141-151

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 6 1 K 3 1 / 2 0 2  
 A 6 1 K 3 1 / 4 7 2 5  
 A 6 1 K 3 8 / 0 0  
 A 6 1 P 3 1 / 1 8  
 A 6 1 P 3 7 / 0 6  
 A 6 1 P 4 3 / 0 0  
 C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )  
 J S T P l u s / J M E D P l u s ( J D r e a m I I )