

論文内容の要旨

パクリタキセルの HPLC 定量および ベラパミルとの相互作用に関する 分析化学的研究

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 生命薬科学専攻 米元治朗

[目的]

Paclitaxel (TXL) は種々のがんに適応され、近年注目を集めている抗がん剤であるが、今回、ヒト血液試料中の TXL の簡便な定量法を開発する目的で HPLC-UV 法を検討した。さらに、TXL 服用がん患者の血液試料中 TXL の定量に適用し、その有用性を確認した。

一方、治療の際に問題となる抗がん剤の多剤耐性の要因の 1 つである P-糖タンパク (Pgp) の阻害剤と TXL との併用療法が注目されているが、これらを併用した場合の速度論的相互作用を検討した報告は知られていない。そこで TXL および Pgp 阻害剤である Verapamil (VM) の同時定量法を新たに開発し、これをラット血漿中 TXL および VM の速度論的薬物相互作用の検討に適用した。

今後多くの抗がん剤と Pgp 阻害剤の併用治療が行われる可能性があることから、Pgp 阻害剤と抗がん剤との薬物相互作用を検討することが重要である。そこで、基礎的検討として HPLC-UV 法を用いて、Pgp の影響を受けると報告がされている 4 種の抗がん剤、Doxorubicin (DXR), Etoposide (VP-16), Vinblastine (VBL), Vincristine (VCR) と VM の同時定量法を試みた。

[結果および考察]

1) ヒトおよびラット血液試料中 Paclitaxel の HPLC 定量法の開発

ヒト血清および血漿を用いて、内標準法による添加検量線を作成したところ、0.015-30 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲において、いずれも良好な直線性を示した ($r \geq 0.999$)。検出下限 ($S/N=3$) はそれぞれ 10 ng/mL (血漿) および 9.5 ng/mL (血清) であった。また、正確さ (94.6-102.2%) および精度 (10.3% 以下) についても良好な結果が得られた。

ヒト血清または血漿試料から TXL を抽出する際の抽出溶媒の検討を行った。その結果、*tert*-butylmethyl ether (*t*-BME) を用いた場合に最大値が得られ、回収率は血清、血漿共に約 85% であった。

患者血液試料の測定： TXL 服用患者から投与 24 時間後に採血した試料を定量した結果、同患者の同一採血日の血清および血漿試料中における TXL 濃度はほぼ一致しており、両者の間に大きな差は見られなかった (Fig. 1)。

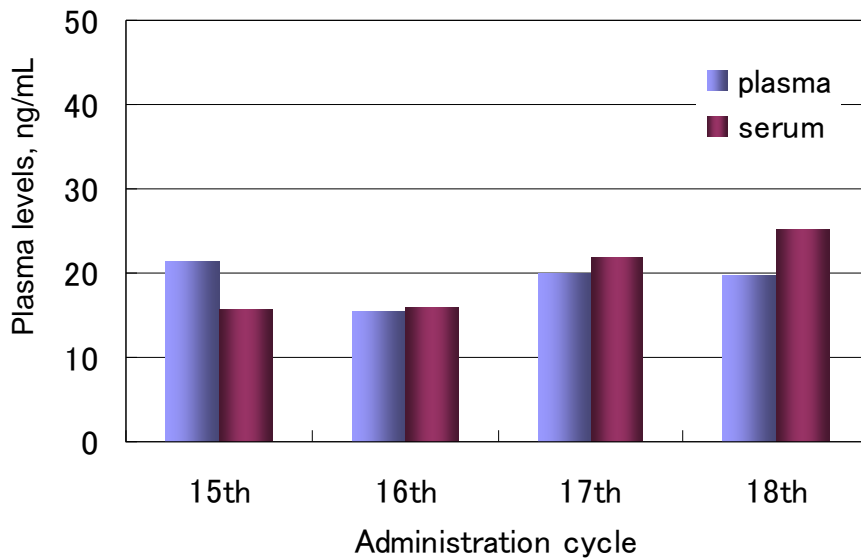


Fig. 1. TXL levels in patient's blood obtained 24 h after *i.v.* administration (70 mg/m²)

2) 抗がん剤 Paclitaxel とP-糖タンパク阻害剤 Verapamil の薬物相互作用に関する研究

TXL および VM の速度論的薬物相互作用を検討した。Wistar 系雄性ラット（体重 260-340 g）を用いて、投与量は 3 mg/kg (TXL) および 1.5, 5 mg/kg (VM) とした。薬物を投与後、ラットの血漿中 TXL および VM の濃度を経時的に測定した結果、投与後 420 分まで 0.03-12.5 μg/mL および 0.02-1.6 μg/mL の濃度範囲で定量することができた (Fig. 2)。TXL および VM の速度論的パラメータを算出した結果、VM を併用することによって TXL の血中からの消失が早まっている事が考えられた。

上記の結果から、VM の Pgp 阻害作用により組織内から血液側への排出阻害が起こり、血中濃度の低下および投与後の時間経過に伴う排出の遅延が要因として考えられた。

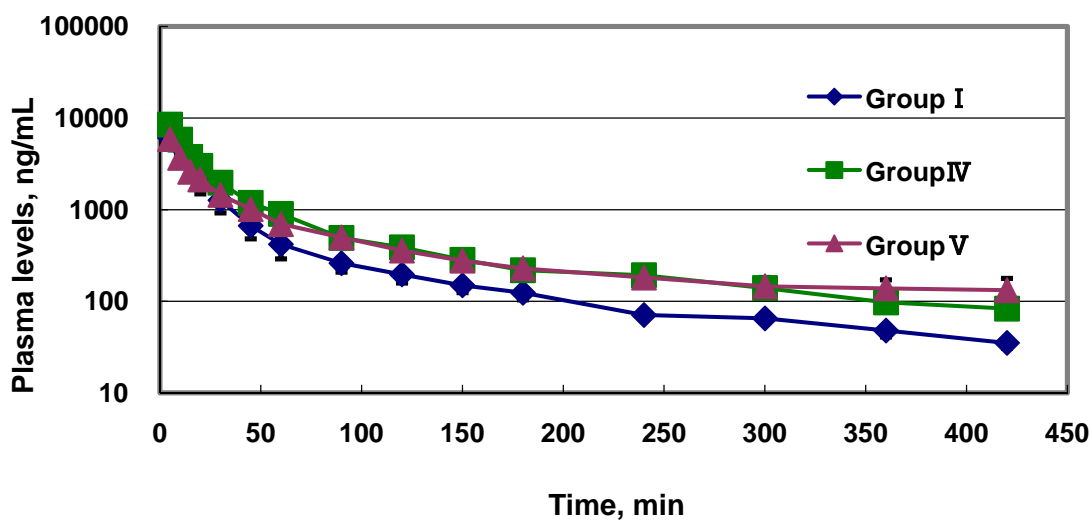


Fig. 2. Time course of TXL concentration in rat plasma after *i.a.* administration of TXL with VM. Data are expressed as mean ± SE. Samples: Group I : TXL 3 mg/kg; Group IV : VM 1.5 mg/kg + TXL 3 mg/kg; Group V : VM 5 mg/kg + TXL 3 mg/kg.

3) P-糖タンパク阻害剤 Verapamil と 4 種の抗がん剤の HPLC 同時分析法の検討

4 種の抗がん剤および VM の簡便な同時分析法を検討した。本法により 5 種の薬物を他の血液成分由来ピークの妨害なく、40 分以内に分離・定量することができた (Fig. 3)。各薬物の検出下限 (S/N=3) は 5-18 ng/mL であった。また、正確さおよび精度についても良好な結果が得られた。

血液から薬物を抽出する際の有機溶媒を検討したところ、*t*-BME と chloroform の混液を用いた場合に最も高い回収率 (>60%) が得られた。本法は簡便な液 - 液抽出により 4 種の抗がん剤および VM を同時分析することが可能であった。

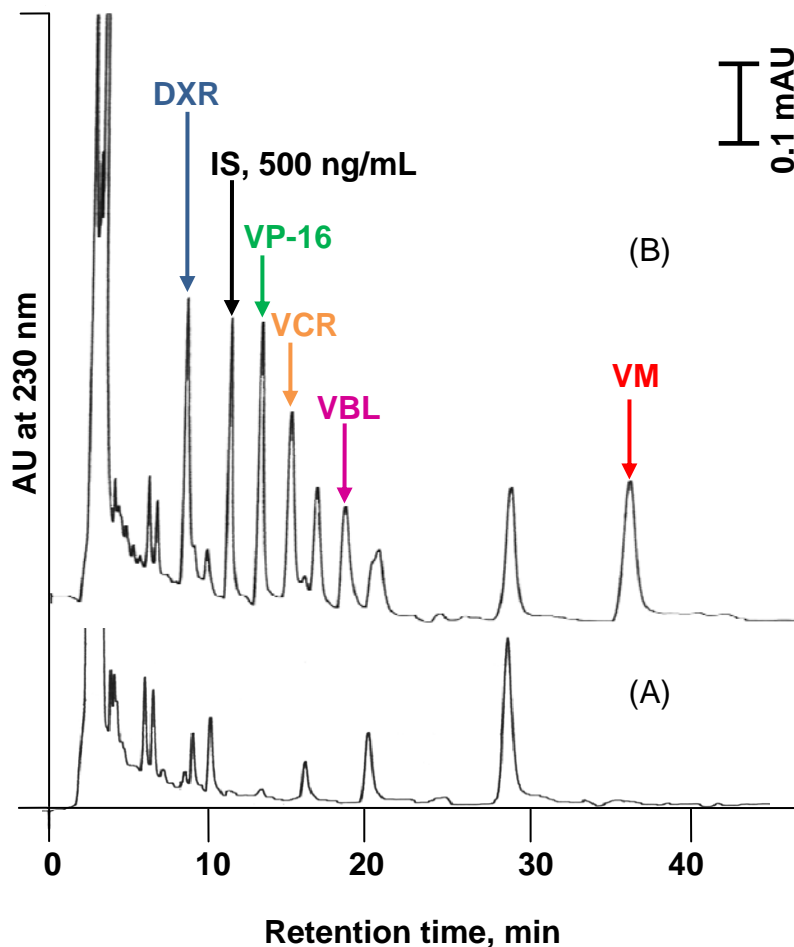


Fig. 3. Chromatograms of (A) rat plasma and (B) that spiked with anticancer drugs (500 ng/mL) and VM (500 ng/mL)

[結論]

本研究では、HPLC-UV 法による TXL および種々の抗がん剤の簡便で高感度な定量法を開発した。開発した方法はこれら抗がん剤の TDM や、薬物速度論的研究に適用が可能であるほか、Pgp 阻害剤等の併用療法時における薬物相互作用評価に有用である。したがってこれら抗がん剤の適正使用の一助になりえるものと期待する。