

シスプラチンおよび新誘導体の実験動物における 薬動学的解析

岡本 公彰・高尾亜由子・藤 川 浩
鶴見大学歯学部細菌学教室*

(平成2年2月8日受付・平成2年3月17日受理)

Cisplatin(CDDP)とその誘導体 254-S, NK-121, carboplatin(CBDCA)および DWA-2114 Rをウサギおよび sarcoma 180 (S.180) 担癌マウスに等毒性量投与し, 血中薬物動態を比較検討した。5 薬剤静注後の血中総プラチン (T-Pt) 濃度は, ウサギ, マウスいずれも 2 相性をなし, 急速に減少する α 相と比較的長時間持続する β 相を示し減少した。*In vivo* における血漿蛋白結合の強さは CDDP>DWA-2114 R>NK-121>CBDCA>254-S の順となり, *in vitro* の結果とはほぼ同様の成績を示した。各薬剤間の血漿蛋白結合率と薬動学的パラメーターの相互関係を調べると, 担癌マウスにおける T-Pt のクリアランス (Cl), ウサギにおける T-Pt および濾過性プラチン (F-Pt) の半減期 $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$, T-Pt の移行速度定数 K₁₂, K₂₁ が有意 ($P < 0.05$) に相関した。

Key words : CDDP, 新プラチン誘導体, 薬物動態, 蛋白結合率

Cisplatin (CDDP) は広い抗癌スペクトルと強い抗腫瘍性を有する画期的な薬剤であるが, 腎毒性, 悪心, 嘔吐, 耳毒性などの副作用が強い。そこで抗腫瘍活性の向上と副作用の軽減をめざし, 種々のシスプラチン誘導体が開発され, 現在臨床試験が行われている。

薬物と血漿蛋白との相互作用は, 薬物の体内動態あるいは効果発現と重要なかわりがある¹⁾。CDDP の作用機作は, leaving group の Cl 基が外れ, aquation を受け, ターゲットである DNA と cross links を起こし, 殺細胞性を示すと言われている。CDDP が結合する高分子化合物は DNA のみならず, 蛋白との反応も強く, 血漿蛋白と非可逆的に結合したプラチンは細胞内に取り込まれにくいせい²⁾か, 抗癌性は CDDP と比べきわめてわずかであることが報告されている^{2,3)}。

今回 CDDP と CDDP と比較し水溶性を増した 4 種の新プラチン誘導体 254-S, NK-121, carboplatin (CBDCA), DWA-2114R の各種実験動物における血中動態をしらべ, また血漿蛋白との相互作用について比較検討し, 若干の知見を得たので報告する。

I 方 法

1. 動物

JCL-ICR 雄性マウス (7 週齢) は日本クレア (株) より購入した。Sarcoma 180 (S. 180) 腫瘍は 10⁶個の

細胞を背部皮下に移植した後 14 日目のものを用いた。家兎は日本白色種, 平均体重約 3 kg のものを (株) 埼玉実験動物供給所より購入した。

2. 薬剤投与量および薬剤濃度の測定

各薬剤の投与量は, CDDP と毒性および効果が匹敵すると考えられる量を用いた (Table 1)。各投与薬剤中に含まれるプラチン量はマウスを例にとると各々, CDDP では 3.9, 254-S では 12.8, NK-121 では 17.8, CBDCA では 31.5 および DWA-2114 R では 25.7mg/kg となる。

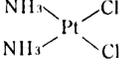
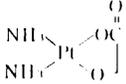
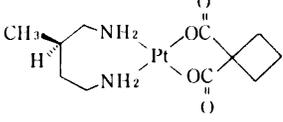
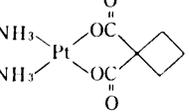
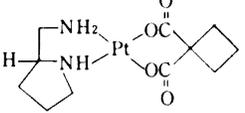
ウサギ (n = 3) は耳静脈より薬剤投与後, 5, 10, 30 分, 1, 2, 4, 7, 24, 72 時間および 1 週間にわたり, 反対側の耳動脈より採血し, S. 180 担癌マウス (n = 5) は尾静脈より薬剤投与後, ウサギ同様の時間経過でクロロホルム屠殺後心臓採血し, ヘパリン加血漿とした後 2 分し, 一方をセントリフリー MPS-3 (アミコン) を用いて遠心限外濾過し, 総プラチン (T-Pt) および濾過性プラチン (F-Pt) 画分のプラチン濃度を原子吸光法にて測定した。蛋白結合性プラチン (P-Pt) は T-Pt より F-Pt を減じて求めた。

3. 薬動学的パラメーターの算出

経時的に得られたプラチン濃度を 2 もしくは one-compartment model に当てはめ, 定法に従い薬動力学

*横浜市鶴見区鶴見 2-1-3

Table I. Cisplatin and its derivatives

		Molecular weight	I.D. ₅₀ (mg/kg)		Effective dose Mice (mg/kg)	Our dose* (mg/kg)	
			Mice	Rats		Mice	Rabbits
Cisplatin		300.05	17.1	8.5	4~8	6	2
254 S		303.20	55.0	24.0	20~40	20	6
NK-121		439.37	89.0	45.4	30~60	40	11
Carboplatin		371.25	149.5	102.2	50~100	60	20
DWA-2114 R		455.37	150.0	107.0	40~100	60	20

* Administration dose in this experiment.

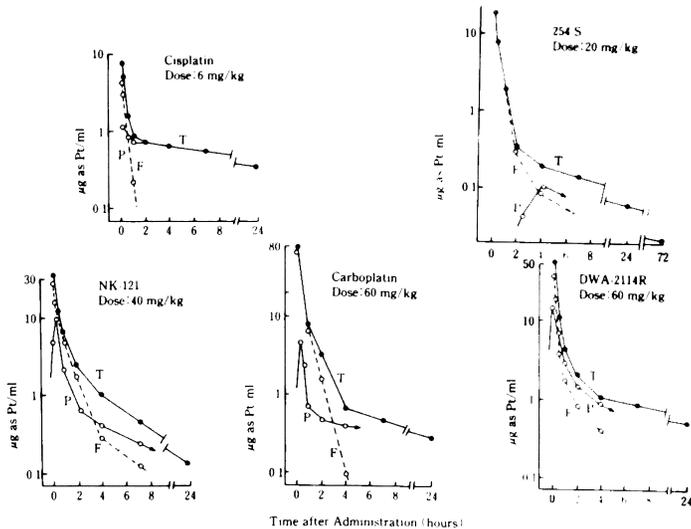


Fig. 1. Plasma levels of platinum after i.v. administration of cisplatin and its derivatives in sarcoma 180 bearing mice
T, total platinum; F, filtrable platinum; P, protein-bound platinum.

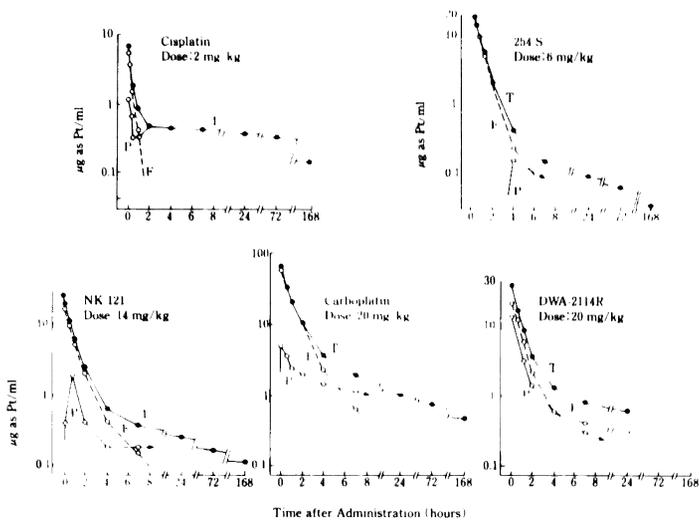


Fig. 2. Plasma levels of total and filtrable platinum after i.v. administration of cisplatin and its derivatives in rabbits
T, total platinum; F, filtrable platinum; P, protein-bound platinum.

的パラメーターを求めた⁴⁾。AUCの算定はtrapezoidal ruleを用いた。

4. *In vivo* および *in vitro* における血漿蛋白結合率

In vivo における血漿蛋白結合率は、薬剤をウサギおよびマウスに投与後のF-PtとT-Ptの血中濃度の比から算定した。

一方、*in vitro* の場合は、ヒトおよびウサギの新鮮血漿（最終濃度80%）と各薬剤（最終濃度10 µg/ml）の生食溶液を混合し、5分、1、4、24時間、37℃でincubateし、ただちにセントリフリーにて遠心濾過し、濾液のPt (F-Pt)を測定し、T-Ptに対するF-Ptの比率を求めた。

II. 結 果

1 S. 180 担癌マウスおよびウサギに single-dose shot 静注後の血漿中 Pt 濃度

Fig. 1はS. 180担癌マウスにsingle-dose shot静注後の血漿中T-Pt、F-PtおよびP-Ptを示す。T-Ptは5薬剤いずれも2相性をなして減少し、速やかに減少する α 相と24~72時間にわたりゆっくり下降する β 相を持つ。

F-Ptの α 相はT-Ptと同様の傾斜で速やかに減少し、時間の経過と共に β 相へ移行している。CDDPは見かけ上1相性に減少していた。

P-Ptは254-Sを除き、いずれも投与直後5~10分でピークとなり速やかに減少し、時間の経過と共にT

-Ptの β 相と同様に徐々に減少している。254-Sでは、投与2~4時間後にP-Ptのピークが現われている。

ウサギにsingle-dose shot静注後の血漿中Pt濃度曲線 (Fig. 2) はS. 180担癌マウス投与時と類似していた。T-Ptは2相性を示し、F-PtはT-Ptの α 相と同様な傾斜で速やかに減少し、DWA-2114 R, CBDCAでは時間の経過と共に β 相への移行がみられた。

P-Ptは同一のleaving groupを持つNK-121, CBDCA, DWA-2114 Rが類似した曲線を描き、薬剤投与30分後に最低値0.29 µg/mlとなった後再び増加傾向を示すCDDPおよび投与4時間後にピークが現われる254-Sとは異なっていた。

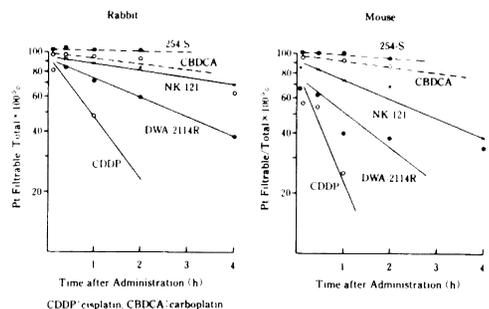


Fig. 3. Binding of cisplatin and its derivatives to rabbit and mouse (sarcoma 180 bearing) plasma *in vivo*

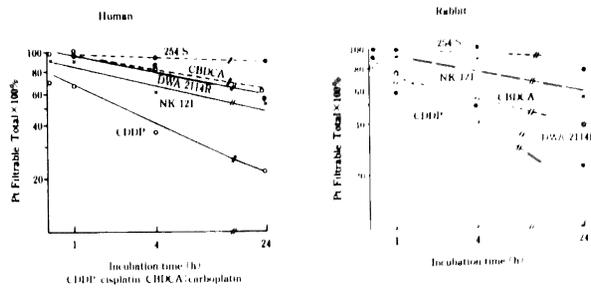


Fig. 4. Binding of cisplatin and its derivatives to human and rabbit plasma *in vitro*

Table 2. Pharmacokinetic parameters of platinum after administration of cisplatin derivatives in sarcoma 180 bearing mice

		Cisplatin	DWA-2114 R	NK-121	Carboplatin	254-S	Correlation***
Dose (as Ptmg/kg)		3.90	25.7	17.8	31.5	12.8	
$t_{1/2} \alpha$	T**	0.14	0.38	0.44	0.33	0.20	
	(h) F	0.21	0.18	0.47	0.11	0.18	
$t_{1/2} \beta$	T	20.15	20.05	8.39	18.00	11.51	
	(h) F	—	12.21	3.04	0.56	1.18	
K ₁₂ (h ⁻¹)	T	1.61	1.03	0.41	0.77	0.78	
K ₂₁ (h ⁻¹)	T	0.22	0.08	0.11	0.07	0.08	
K _{e1} (h ⁻¹)	T	0.27	0.76	1.05	1.28	2.60	
V _d (V1) (l/kg) T		0.36	0.61	0.57	0.51	0.29	
	(V2) (l/kg) T	4.07	7.51	2.25	6.21	2.83	
AUC	T	23.37	55.42	30.60	49.27	17.20	
	($\mu\text{gPt}\cdot\text{h}/\text{ml}$) F	1.54	25.54	17.04	34.08	14.38	
Cl	T	0.167	0.463	0.582	0.639	0.744	r = -0.94
	(l/kg/h) F	2.529	1.006	1.045	0.924	0.890	
Protein binding*		76	61	27	10	0	

* (1-free Pt/total Pt) × 100%, 1 h after administration.

** T, total platinum. F, filtrable platinum.

*** Relation between the protein binding ratios and the pharmacokinetic parameters (P < 0.05).

2. 血漿蛋白結合率

Fig. 3はウサギおよびS. 180担癌マウスに各薬剤投与後4時間までの *in vivo* の血漿蛋白結合率 (F-Pt/T-Pt × 100%) を示したものである。 *In vivo* における血漿蛋白結合率の強さは CDDP > DWA-2114 R > NK

-121 > CBDCA > 254-S の順であった。

一方, *in vitro* (ヒト, ウサギ新鮮血漿) においても *in vivo* と同様の成績を示し, CDDP が最も強く, 254-S が最も弱く, DWA-2114 R, NK-121, CBDCA は中間の値を示した (Fig. 4)。また, *in vivo* では F-Pt

は腎より速やかに排泄されるせいか、F Ptの減少は *in vitro* の結果よりやや速やかであった。

3. 薬動学的パラメーター

Table 2はS. 180担癌マウスにおける5薬剤の薬動学的パラメーターを示す。*In vivo* で得られた薬剤投与後1時間値の蛋白結合率 (Fig. 3) を基に、5薬剤を蛋白結合率の強い順に並べてある。半減期 $t_{1/2\alpha}$ はT-Pt, F-Ptとも同程度で、0.1~0.5時間の範囲内にあり、蛋白結合率の強いCDDPが最も短い。

T-Ptの $t_{1/2\beta}$ はCDDPで最も強く、約20時間で、蛋白結合率が弱くなるほど半減期は短くなる傾向にあった。移行速度定数K₁₂は蛋白結合が強いほど値は大きくなる傾向にあり、逆に消失速度定数K_{e1}は小さくなった。T-Ptの分布容積V₁は0.29~0.61 l/kgと一定していた。T-PtのAUCは17.2~55.4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ の範囲にあり、F-PtのAUCはCDDPで最も小さく、1.54 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ であった。T-PtのClはCDDPでは0.17 l

/kg/hと最も遅く、254-Sでは0.74 l/kg/hと最も速やかであり、血漿蛋白結合率と有意 (P<0.05) に相関し、蛋白結合が強いものほどClは遅く、他方これとは対照的にF PtのClは蛋白結合が強くなるに従い速くなる傾向がみられた。

同様にウサギにおける薬動学的パラメーターを示す (Table 3)。

ウサギではマウスに比べT-Pt, F-Ptの半減期 $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$ が長くなり、逆にClは小さくなっている。

5薬剤の血漿蛋白結合率と薬動学的パラメーターの関係はマウスの場合と類似しており、T PtとF-Ptの $t_{1/2\alpha}$ は蛋白結合が強くなるに従い α 半減期は短くなり、これとは対照的に β 半減期は長くなっていた。

移行速度定数K₁₂は蛋白結合率が高い薬剤ほど値は大きく (P<0.05)、速やかに組織に移行し、各薬剤のK₂₁はK₁₂よりも小さく、蛋白結合率が高いほどK₂₁とK₁₂の差は大きい。

Table 3. Pharmacokinetic parameters of platinum after administration of cisplatin derivatives in rabbits

		Cisplatin	DWA-2114 R	NK-121	Carboplatin	254-S	Correlation***
Dose (as Ptmg/kg)		1.30	8.56	6.22	10.5	3.84	
$t_{1/2\alpha}$	T**	0.22	0.56	0.61	0.87	0.69	r = -0.89
	F	0.23	0.52	0.53	0.66	0.63	r = -0.94
$t_{1/2\beta}$	T	140.72	139.04	99.80	102.34	91.11	r = +0.93
	F	-	35.12	-	2.52	-	
K ₁₂ (h ⁻¹)	T	2.96	1.03	0.78	0.58	0.49	r = +0.94
K ₂₁ (h ⁻¹)	T	0.18	0.03	0.02	0.03	0.02	r = +0.90
K _{e1} (h ⁻¹)	T	0.14	0.18	0.35	0.22	0.51	
V _d (V ₁) (l/kg)	T	0.17	0.26	0.29	0.19	0.23	
	(V ₂) (l/kg)	T	2.75	7.23	9.58	4.31	7.94
AUC	T	74.25	159.94	64.20	253.77	34.36	
	F	2.22	41.43	17.13	67.52	16.87	
Cl	T	0.018	0.054	0.097	0.041	0.112	
	F	0.584	0.207	0.364	0.156	0.228	
Protein binding*		52	30	11	8	0	

* (1-free Pt/total Pt) × 100%, 1 h after administration.

** T, total platinum. F, filtrable platinum.

*** Relation between the protein binding ratios and the pharmacokinetic parameters (P<0.05).

T-Ptの体液分画の分布容積 V_1 に対する組織分画の分布容積 V_2 の比はCDDPで16倍、254-Sでは35倍と蛋白結合が弱くなるに従いその比は大きくなる傾向があり、より組織へ分布しやすくなるものと思われる。

T-PtのAUCは投与量の多いCBDCAとDWA-2114Rが大きく、CDDPとNK-121はほぼ同じ、254-Sでは小さいか、投与量の差ほどAUCの差は大きくなかった。F-PtのAUCは反応速度の速いCDDPが最小であった。T-PtのプラズマClは0.018~0.112 l/kg/hの範囲にあり、蛋白結合の弱い薬剤ほど速い傾向がみられた。

III. 考 察

今回調べた5薬剤の構造は共に2価のプラチンを有し、leaving groupとしてCDDPはCl基、254-Sはグリコール酸残基、NK-121、CBDCA、DWA-2114R共にcyclobutane dicarboxylate基を有し、carrier ligandとして、CDDP、254-S、CBDCAは同一の NH_3 を有している(Table 1)。Leaving groupの開裂の速さが蛋白結合率、生体内動態に関与し、carrier ligandの差違は主として抗腫瘍スペクトラムに関与するものと考えられている。

CDDPと血漿蛋白との結合は、大部分アルブミンが占め、アルブミン分子中34番目のシステインと、アルブミン1 molにつき、約1~2 g原子のPtが結合することが知られている²⁾。アルブミンのヒトでの半減期 $t_{1/2\alpha, \beta}$ はそれぞれ0.6、11.2日と言われ、緩徐に血中より消失するが、抗癌性がきわめてわずかであるP-Ptが投与直後に比較的速やかに、時間の経過と共にT-Ptの β 相と同様の傾斜で緩徐にマウスやウサギの血中より減少する(Figs. 1, 2)ことは、アルブミンそのものとは異なる代謝を意味し、さらにヒトでのP-Ptの動態も、投与終了直後および3~5時間後にピークをとる2峰性を示す事実⁵⁾も含め、P-Ptの薬物動態は今後興味ある問題と思われる。

F-Ptの分子種のうち、グルタチオン等のSH基と反応しinactiveのものおよび強い腎毒性を示す未同定の代謝物等があり、HPLCを用いる分離同定が試みられている^{6,7)}。CDDPの場合post column HPLC法を用いてactiveな薬剤濃度を測定し、そのAUCを求めるとF-Ptの約半量とする報告⁸⁾もあり、今後bioassay等を含め、殺細胞性を直接反映する薬剤濃度測定法の開発が必要と思われる。

CDDPは主として腎臓より、大部分F-Ptとして尿中に排泄され、腎毒性の軽減のためhyperhydrationが行われている。Furosemideの使用は腎毒性緩和の

効果が疑わしいという報告もある⁹⁾。胆汁内排泄¹⁰⁾も報告されているが腸肝循環に与える影響は明らかでない。CDDPの代謝は胆汁状態¹¹⁾により異なるとの報告もある。

血中蛋白結合の薬物体内動態に与える影響は、薬の性質によって異なり複雑である¹²⁾。

本実験で調べた5種の薬剤のウサギおよびマウスにおける蛋白結合率は、薬剤の水溶性¹³⁾が増すにつれ少なくなり、さらに蛋白結合が強いほどT-Ptの β 半減期が延長し、Clは遅くなり、腎より排泄されにくく、長時間体液、組織内に滞留することが明らかとなった。また蛋白結合が弱くなると、分布容積 V_1 に対する V_2 の比が大きくなり、より薬剤は血中から組織へ分布しやすい傾向を示した。

馬島¹⁴⁾は、患者にNK-121、DWA-2114R投与4時間後の蛋白結合率を算定すると、DWA-2114Rでは22%、NK-121では0%と報告している。また、佐々木ら¹⁵⁾は患者にCDDP、254-S、CBDCAを各100、80および450 mg/m²投与後のT-Pt、F-PtのAUCを報告している。このデータから各薬剤のT-Ptに対するF-PtのAUCの比率を計算すると、各々13.5、79.5、83.8%となり、本実験のマウス、ウサギで得た各薬剤の蛋白結合の強さの結果とはほぼ一致した。

CBDCAの血漿蛋白との結合は、CDDPとは異なり一部可逆的に結合し、ラットでは20%程度¹⁶⁾。ヒトでは10%以下¹⁷⁾であり、T-PtのプラズマClはCDDPの約5倍速く、逆にF-PtのClはCDDPの40~50%ほどとの報告がある^{16,18)}。

今回比較した5種類のシスプラチン誘導体のうちleaving groupの異なるCDDPと254-Sがかなり異なった薬物動態を示し、同じleaving groupを有するNK-121、CBDCA、DWA-2114Rは共通性が多いがcarrier ligandの差によりそれぞれの間にも微妙な差違が観察された。

謝 辞

本研究の一部は文部省がん特別研究組織助成金「馬場班」によった。なお、薬物を御供与、薬剤濃度測定に御助力下さいました日本化薬(株)、塩野義製薬(株)、プリストル・マイヤーズ(株)、中外製薬(株)に深謝いたします。

文 献

- 1) 藤田 浩: 抗癌剤の薬理動態 第3章シスプラチン, pp 23~35, メディカルレビュー社, 1986
- 2) GONIAS S L, PLZZO S V: Complexes of serum albumin and cis-dichlorodiammineplatinum (II). J Biol Chem 258: 5764~5769, 1983
- 3) TAKAHASHI K, SEKI T, NISHIKAWA K, MINAMIDE S,

- IWABUCHI M, ONO M, NAGAMINE S, HORINISHI H : Antitumor activity and toxicity of serum protein-bound platinum formed from cisplatin. Jap J Cancer Res (Gann) 76 : 68~74, 1985
- 4) YAMAOKA K, TANIGAWARA Y, NAKAGAWA T, UNO T : Pharmacokinetic analysis program (multi) for microcomputers. J Pharmacobio-Dyn 4 : 879~885, 1981
- 5) 黒瀬高明, 佐々木敏江, 望月雅子, 安田雅弘, 山崎俊彦, 笹川 基, 田中耕平, 半藤 保 : 薬理動態からみたシスプラチンの腎尿細管再吸収について。日癌治 24 : 1229~1237, 1989
- 6) ANDREWS P, WUNG W, HOWELL S B : A high-performance liquid chromatographic assay with improved selectivity for cisplatin and active platinum (II) complexes in plasma ultrafiltrate. Anal Biochem 143 : 46~56, 1984
- 7) DELEY-YATES P T, MCBRIEN D C H : Cisplatin metabolites in plasma, a study of their pharmacokinetics and importance in the nephrotoxic and antitumor activity of cisplatin. Biochem Pharmacol 33 : 3063~3070, 1984
- 8) 木下雅文, 他 : 未変化体シスプラチンの定量と体内動態解析への適用。薬物動態 3 : 662~663, 1988
- 9) DUMAS M, DE GISLAIN C, D'ATHIS P, CHADOINT-NOUDEAU V, ESCOUSSE A, GUERRIN J, AUTISSIER N : Evaluation of the effect of furosemide on ultrafiltrable platinum kinetics in patients treated with cis-diamminedichloroplatinum. Cancer Chemother Pharmacol 23 : 37~40, 1989
- 10) 須田雅夫, 伊津野脩 : Cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) の人尿液および胆汁内排泄について。癌と化学療法 13 : 3180~3185, 1986
- 11) LITTEBERT C L, MAGIN R : Alterations in plasma pharmacokinetics of cisplatin in tumor bearing rats. Cancer Chemother Pharmacol 22 : 1~4, 1988
- 12) 杉山雄一 : 薬物体内動態の基礎 3) 蛋白質結合と薬物動態。治療学 18 : 759~765, 1987
- 13) 田代田鶴子 : Cisplatin 誘導体開発の現況と問題点。癌と化学療法 16 : 1358~1365, 1989
- 14) 馬島 尚 : 白金錯体誘導体。癌と化学療法 16 : 1373~1377, 1989
- 15) SASAKI Y et al. : Pharmacokinetics of (glycolato-O, O')-diammine platinum (II), a new platinum derivative, in comparison with cisplatin and carboplatin. Cancer Chemother Pharmacol 23 : 243~246, 1989
- 16) SHIDDIK Z H, NEWELL D R, BOXALL F E, HARRAP K R : The comparative pharmacokinetics of carboplatin and cisplatin in mice and rats. Biochem Pharmacol 36 : 1925~1932, 1987
- 17) GAVER R C, DEEB G : High-performance liquid chromatographic procedures for the analysis of carboplatin in human plasma and urine. Cancer Chemother Pharmacol 16 : 201~206, 1986
- 18) LAZNÍČKOVÁ A, FILIPOVÁ M, LAZNÍČEK M, DROBINK J, SVOBODA D, KVĚTINA J : Comparative pharmacokinetics of four platinum cytostatics in rats. Neoplasma 34 : 173~181, 1987

PHARMACOKINETICS OF CISPLATIN AND NEW CISPLATIN ANALOGUES IN EXPERIMENTAL ANIMALS

MASAAKI OKAMOTO, AYUKO TAKAO and HIROSHI FUJITA

Department of Bacteriology, School of Dental Medicine, Tsurumi University,
2-1-3 Tsurumi, Tsurumi-ku, Yokohama 230, Japan

An equi-toxic dose of cisplatin (CDDP) and its analogues, 254-S, NK-121, carboplatin (CBDCA) and DWA-2114 R, was administered to rabbits and sarcoma 180 (S. 180) bearing mice, and their pharmacokinetics were compared. After i. v. administration of 5 drugs to both experimental animals, the total platinum (T-Pt) was lost from the plasma in two phases, a rapid α -phase, followed by a slow β -phase. The intensities of protein binding *in vivo* were strong in the order of CDDP > DWA-2114 R > NK-121 > CBDCA > 254-S, and similar results were obtained *in vitro*. The protein binding ratios for each drug correlated significantly ($P < 0.05$) with the pharmacokinetic parameters, as did the clearances of T-Pt and filtrable platinum (F-Pt) in S. 180 bearing mice, the half-lives ($t_{1/2\alpha}$ and $t_{1/2\beta}$) of T-Pt and F-Pt, and the rate constants (K 12 and K 21) of T-Pt in rabbits.