抗HIV薬zidovudineの体内動態に関する研究

―Probenecid併用の影響―

上田 泰
東京慈恵会医科大学

松本 文夫・今井 健郎・桜井 磐
高橋 孝行・森田 雅之
神奈川県衛生看護専門学校付属病院*

斉藤 厚・重野 芳輝・伊良部勇栄
琉球大学第一内科

(平成3年8月1日受付・平成3年8月28日受理)

Zidovudine (AZT) の体内動態に対するprobenecidの影響をビーグル犬およびHIV-1抗体陽性者で検討したところ，つぎの結果をえた。

1. ビーグル犬ではprebenecidの併用により，C_{max}，AUCはAZTにおいて増大し，glucuronide conjugated AZT (GAZT) において減少した。

2. ヒトではprobenecidの併用によりAUCはAZT，GAZTとも増大し，その傾向はGAZTにおいて著しかった。

3. 尿中回収率はprobenecidの併用によりビーグル犬ではAZTは著減，GAZTはやや減少し，ヒトではAZTは微増，GAZTは減少した。

4. ProbenecidはAZTに対して肝でのグルクロン酸抱合を阻害し，AZT特にGAZTの尿細管での分泌を抑制することが示された。

5. ヒトではAZTのHIV-1 replication阻害発現濃度 (0.3～0.5 μg/ml) をこえる時間はprobenecidの併用により約2倍に延長した。

以上の成績からAZTの抗HIV効果が有効血中濃度持続時間と関連があるとすれば，probenecidの併用はHIVの増殖阻止効果をさらに向上する可能性を示唆するものであり，また使用量減量による副作用軽減の可能性も示唆された。

Key words: Zidovudine，体内動態，probenecid併用

HIV感染症の延命薬の一つとしてzidovudine (AZT) は広く使用されている[1)]。

しかし本剤には血液障害などの副作用の多発という欠点があり，使いにくい薬剤であり，この対策が種々検討されている。今回我々は本薬に対するProbenecidの薬理作用に着目し，AZTの体内動態におよぼす影響を調べるとともにAZTの減量による副作用の軽減の可否をさぐる目的で次のような検討を行った。

I. 材料および方法

1) 試　薬

AZTの5'-O-グルクロン酸抱合体である3'-azido-3'-deoxy-5'-β-D-glucopyranuronosylthymidine (GAZT) および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の内部標準として用いた3'位β-azido基の立体異性体である1-(3-azido-2,3-dideoxy-β-D-threo-pentofuranosyl) thymidineは日本ウエルカム社から供与をうけ，Probenecidは万有製薬製プロベネミド®を使用した。

2) AZTの濃度測定 (HPLC)

血漿中および尿中のAZTおよびGAZT濃度はGoodらの方法[2)]を一部改変した原らの方法[3)]で測定した。

* 横浜市磯子区汐見台1-6

3) ビーグル犬での検討

雄ビーグル犬6頭（投与前日体重10.5 kg～12.1 kg）を2群に分け，cross over法により検討した。第1回はAZTを100 mg，第2回はAZT 100 mg投与1時間前にprobenecid 250 mgを投与した。投与法はいずれも経口投与とした。採血は，投与直前，投与後15，30分，1，2，3，4および6時間目に橈側皮静脈より5 mlづつヘパリン下で行い，血漿サンプルをえた。尿は投与後0～2，2～4および4～6時間の尿を導尿で採取し，その全量を計測するとともに一部(2 ml）を尿サンプルとした。血漿，尿サンプルはいずれも測定時まで－70℃で保存した。

1回目投与の2週間後に，cross over法により2回目の投与を行った。

4) ヒトでの検討

当検討に参加の同意がえられた腎機能正常HIV-1抗体陽性患者2名を対象にAZT 200 mg（以下同量）単独経口使用およびAZT, probenecid（同時・1時間前500 mg）併用使用を行った（症例1，2）。さらに症例1においてはAZT使用1時間前にprobenecid 1000 mgを使用する試験も実施した。

採血は原則として使用直前，使用後15，30，45分，1，1.5，2，2.5，3および4時間目に肘静脈よりヘパリン下で行い，血漿サンプルを得た。尿は使用後0～2および2～4時間で蓄尿した。血漿および尿サンプルは100℃ 30分間煮沸して，HIV-1を不活化した。サンプルは測定時まで－70℃で保存した。

なお，GAZTの尿中回収率は，排泄量をAZT相当量に分子量換算して算定した。

II. 成　　績

1) ビーグル犬での成績

AZT単独投与時およびprobenecid併用投与時のAZTおよびその主たる代謝体のグルクロン酸抱合体であるGAZTの血漿中濃度の推移をFig. 1に示した。AZTおよびGAZTの最高血中濃度（C_{max}）と血中濃度曲線下面積（AUC: 台形法により算出）におよぼすprobenecidの影響をみると，AZT単独投与時のAZTのC_{max}，AUCはそれぞれ6.19 μg/ml，19.5 μg・h/mlであるのに対して，probenecid併用時のそれはそれぞれ7.33 μg/ml，31.2 μg・h/mlであり，明らかな増大を認めた。また，probenecid併用時の最高血中濃度到達時間（T_{max}）は2.0 hであり，AZT単独投与時の1.0 hより延長していた。一方，GAZTでの，AZT単独投与時のC_{max}，AUCはそれぞれ2.25 μg/ml，8.53 μg・h/mlであるのに対してprobenecid併用時のそれは，それぞれ1.63 μg/ml，7.30 μg・h/mlであり，AZTとは逆に減少傾向を示した。またprobenecid併用時のT_{max}は3.0 hであり，AZT単独投与時の2.0 hより延長していた（Table 1)。

AZTおよびGAZTの投与後6時間までの尿中回収率は，AZT単独使用時ではそれぞれ69.6％，11.1％であり，総計（AZT＋GAZT）80.7％が回収されたが，probenecid併用ではそれぞれ45.9％，8.2％，総計54.1％であり，明らかな減少を認めた

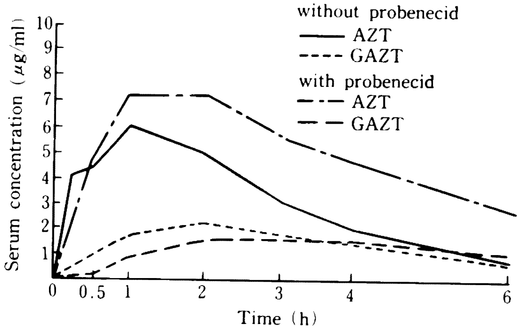

Fig. 1. Serum concentration of zidovudine (AZT) and glucuronide conjugated zidovudine (GAZT) in beagles (n＝6, cross-over).

Table 1. Effect of probenecid on the pharmacokinetics of zidovudine in beagles

	AZT			GAZT		
	C_{max}	T_{max}	AUC	C_{max}	T_{max}	AUC
AZT	6.19	1.0	19.5* ±3.26	2.25	2.0	8.53* ±2.72
AZT＋Probenecid	7.33	2.0	31.2 ±9.90	1.63	3.0	7.30 ±2.27

*mean±SD

AZT: zidovudine, GAZT: glucuronide conjugated zidovudine.

(Fig. 2)。

2) ヒトでの成績

HIV-1抗体陽性者（症例1）に(1) AZT 200 mg（以下同量）単独，(2) AZT probenecid 500 mg 同時使用，(3) AZT 使用1時間前 probenecid 500 mg 併用，AZT 使用1時間前 probenecid 1,000 mg 併用使用における AZT の体内動態におよぼす probenecid の影響を検討した。

各使用法による AZT の血漿中濃度推移を Fig. 3 に示す。

(1) AZT 単独使用

AZT 単独使用時では，T_{max} 0.5 h，C_{max} 1.51 μg/ml で鋭いピークを認め，その後は2時間値 0.11 μg/ml，4時間値 0.04 μg/ml で急激に減衰した。この時の血中半減期（$T_{1/2}$）は 0.60 h で，AUC は 1.18 μg·h/ml であった。

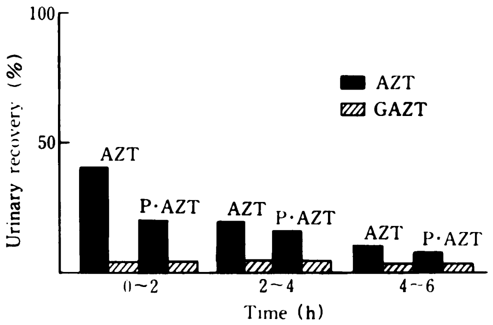

Fig. 2. Effect of probenecid on the urinary excretion of zidovudine (AZT) in beagles (n=6, cross-over).
P·AZT: probenecid (250 mg) was given 1 h before AZT administration.
Other abbreviations: see legend of Fig. 1.

(2) AZT, probenecid 同時併用

Probenecid との同時併用では AZT の C_{max} は単独使用時の 1.51 μg/ml に比べ 1.02 μg/ml と低下して，ビーグル犬とは異なった傾向を示したものの，$T_{1/2}$ 単独使用時の 0.60 h に比較して 0.77 h と延長傾向を認めた。2時間値は 0.30 μg/ml，4時間値は 0.06 μg/ml であった。また AUC は AZT 単独使用時 1.18 μg·h/ml であったのに対して，probenecid 同時使用では 1.41 μg·h/ml と増大傾向を示した。

(3) AZT 使用前 probenecid 併用

Probenecid の効果をより明確にする目的で，AZT 使用1時間前に，probenecid 500 mg, 1,000 mg を使

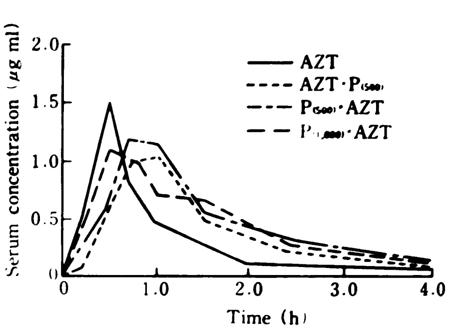

Fig. 3. Serum concentration of zidovudine (AZT) in human AZT·$P_{(500)}$: coadministration of AZT and probenecid (500 mg).
$P_{(500)}$·AZT: five hundred mg of probenecid was given 1 h before AZT administration.
$P_{(1000)}$·AZT: one thousand mg of probenecid was given 1 h before AZT administration.
Other abbreviations: see legend of Fig. 1.

Table 2. Effect of probenecid on the pharmacokinetics of zidovudine in humans

	AZT				GAZT			
	C_{max} (μg/ml)	T_{max} (h)	$T_{1/2}$ (h)	AUC (μg·h/ml)	C_{max} (μg/ml)	T_{max} (h)	$T_{1/2}$ (h)	AUC (μg·h/ml)
Case 1								
AZT	1.51	0.5	0.60	1.18	9.48	0.75	0.68	10.8
$P_{(500)}$·AZT[1)]	1.17	0.75	1.02	1.79	11.3	1.0	1.17	22.8
Case 2								
AZT	1.50	1.0	0.73	0.83	5.65	1.0	0.79	7.27
$P_{(500)}$·AZT[1)]	0.55	2.0	1.25	1.02	5.97	2.0	0.87	10.5

[1)] $P_{(500)}$·AZT: 500 mg of probenecid was given 1 h before AZT administration.
AZT, zidovudine; GAZT, glucuronide conjugated zidovudine.

用した成績では，C_{max}はそれぞれ，1.17 μg/ml，1.10 μg/ml，$T_{1/2}$はそれぞれ1.02 h，1.00 h，AUCはいずれも1.79 μg/mlであって，probenecid同時使用時の傾向がより強く表現された。特にAUCについては，AZT単独使用時の約1.5倍に増加しており，AZTの排泄遅延を示唆する成績がえられ，AZTの一定濃度以上の持続時間の延長が観察された（Table 2，Fig. 3）。

またHTLV-III（HIV-1）感染細胞（MT-4）におけるvirusのRNA replicationが，*in vitro*でほぼ完全に阻害される0.3 μg/mlの持続時間をみると[4]，AZT単独使用，probenecid同時使用，probenecid 500 mg前使用，同1,000 mg前使用でそれぞれ0.7 h，1.0 h，1.3 hおよび1.7 hであって，最大で2.4倍の延長をみた。

GAZTの血漿中濃度推移をTable 2，Fig. 4に示した。AZT単独使用，probenecid同時使用，

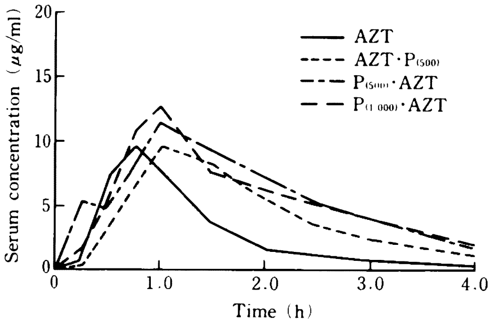

Fig. 4. Serum concentration of glucuronide conjugated zidovudine (GAZT) in human Abbreviations: see legend of Fig. 3.

Table 3. Effect of probenecid on the urinary excretion of zidovudine in human

Drug	AZT (UR%)[1]			GAZT (UR%)		
	0～2	2～4	0～4	0～2	2～4	0～4
AZT	6.93	1.31	8.24	47.8	13.3	61.1
AZT·P[2]	9.35	3.27	12.6	34.4	37.4	71.8
$P_{(500)}$·AZT[3]	7.65	4.81	12.5	−	−	−
$P_{(1000)}$·AZT[4]	9.90	1.08	11.0	42.3	10.0	52.3

[1]UR: urinary recovery.
[2]AZT·P: coadministration of AZT and probenecid.
[3]$P_{(500)}$·AZT: see footnote of Table 2.
[4]$P_{(1000)}$·AZT: 1,000 mg probenecid was given 1 h before AZT administration.
AZT: zidovudine, GAZT: glucuronide conjugated zidovudine.

probenecid 500 mg前使用，probenecid 1,000 mg前使用におけるC_{max}はそれぞれ9.48，9.52，11.3，12.8 μg/ml，$T_{1/2}$は0.68，0.79，1.17，1.39 h，AUCは10.8，16.2，22.8，22.3 μg·h/mlであり，ビーグル犬の場合とは逆の傾向の成績を認めた。

AZTおよびGAZTの0～4時間の尿中回収率は単独使用ではそれぞれ8.24％，61.1％，probenecid同時使用では12.6％，71.8％，probenecid 1,000 mg前使用では11.0％，52.3％であった（Table 3）。

症例2においては，症例1の再現性を検討するためにAZT単独使用とprobenecid併用使用の検討を行った。AZTおよびGAZTの血漿中濃度推移をTable 2に示した。

AZT単独使用およびprobenecid併用使用時のAZTのC_{max}はそれぞれ1.50 μg/ml，0.55 μg/ml，$T_{1/2}$は0.73 h，1.25 hであり，症例1の成績と同様の傾向を示した。また，GAZTは単独使用時，probenecid併用使用時にはそれぞれC_{max} 5.65 μg/ml，5.97 μg/ml，$T_{1/2}$ 0.79 h，0.87 h，AUC 7.27 μg·h/ml，10.5 μg·h/mlであり，症例1と同様の成績がえられた。

なお症例1は1990年6月からT4細胞（CD4）数が100/mm^{3}以下となり，AIDSの発症が危惧されたことから，本試験実施後の同年9月1日から1回AZT 200 mg，probenecid 500 mg 1日2回の併用使用療法により経過観察中であるが，約1年後の現在AIDSの発症をみることもなく，副作用の出現もみていない。

III. 考　　察

HIV感染者のAIDS発症防止やAIDS患者の延命にAZTが効果的であることはすでに多くの研究者によって確かめられている[1]。AZTには造血器障害，神経筋毒性，発熱などの副作用があり，使用方法や使用量に関する種々の検討がなされ，少量使用の有用性[5]，probenecidの併用効果などが検討されている。特にprobenecidについてはAZTの腎排泄機序が糸球体沪過および尿細管分泌であることからその排泄抑制効果による有効濃度維持時間の延長，使用量の減量の可能性を示唆する成績がKornhauser[6]をはじめ2，3の研究者により報告されている[7,8]。

Probenecidは有機アニオンの尿細管分泌阻害作用[9]と肝でのグルクロン酸抱合阻害作用を有する[10]が，特にpenicillinなど血中においてアニオンとして存在する薬物に対して，その尿細管分泌を抑制することからAZTに対してはアニオンとして存在する

のGAZTの尿細管分泌抑制とAZTの肝でのグルクロン酸抱合抑制が発揮されることが考えられている[7,8]。

今回の我々の犬の検討ではAZTでのC_{max}, AUCの増大とGAZTでのC_{max}, AUCの減少を認め, probenecidのAZTに対する肝での代謝抑制を示唆する成績がえられ, またprobenecid併用時におけるAZTの尿中回収率の減少はAZTのC_{max}, AUCの増大に関与することが推定された。

ヒトの検討では, probenecid併用におけるAZTでのAUCの増大と尿中回収率の増大傾向は体内のAZTの増量を示し, またAZTの肝での代謝抑制を示唆するものと考える。またGAZTでのC_{max}, AUCの増大と尿中回収率の減少はGAZTの尿細管分泌抑制を示す成績であり, probenecidが他の有機アニオン同様GAZTについてもその尿細管分泌を抑制することが認められた。

これらの成績は犬とヒトではAZTに対するprobenecid効果が異なり, 犬ではAZTに対する肝での顕著な代謝抑制効果とAZTの尿細管分泌抑制効果がみとめられ, ヒトではAZTの肝での代謝抑制効果はみられるものの, 犬より小さく, GAZTの尿細管分泌抑制効果については犬と異なり, その影響は大きいことを示している。

AZTのヒトにおける抗HIV-1効果は0.5 μg/mlで完全に発揮され, 濃度依存的でないことが示されている[4]。我々の検討では, probenecidを併用することによって, このAZTの有効濃度は単独使用より約2倍に延長することが示唆されたが, Collierら[5]の副作用軽減のための減量使用の有用性を考慮すると, probenecidの併用はAZTの減量と使用間隔の延長に役立つものと思われる。また, もしAZTの副作用が最高血中濃度依存性であれば, 副作用の軽減の可能性も示唆される。

ただ, probenecidの薬理作用には動物種差があり, さらにヒトにおいてprobenecid併用時にC_{max}が低下する傾向が認められたが, この成績についてはAZTの吸収速度の抑制が可能性として想定されるものの, Mirandeら[7]はprobenecid (500 mg), AZTとの1日3～4回時間差併用によってC_{max}, AUC, $T_{1/2}$などの明らかな増大を確認しているので, 今後はさらにprobenecidの適正併用方法の検討が必要と思われた。

謝 辞

本研究の実施にあたり, ご協力を頂いた日本ウエルカム社および住友製薬加藤益弘氏に感謝いたします。

なお, 本論文の要旨は第65回日本感染症学会総会(1991年4月, 大阪) にて発表した。

文 献

1) Fischl M A, Richman D D, Grieco M H, et. al.: The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex: a double blind, placebo-controlled trial. N. Eng J Med 317: 185～191, 1987

2) Good S S, Reynolds D J, Miranda P D: Simultaneous quantification of zidovudine and its glucuronide in serum by high performance liquid chromatography. J Chromatog, 431: 123～133, 1988

3) 原 弘, 石田 孝, 河原 隆: 高速液体クロマトグラフィーによる血清, 尿中アジドチミジンおよびアジドチミジングルクロン酸抱合体の測定。投稿予定。

4) Nakashima H, Matsui T, Harada S, et. al.: Inhibition of replication and cytopathic effect of human T cell lymphotropic virus Type III/lymphadenopathy-associated virus by 3'-azido-3'-deoxythymidine *in vitro*. Antimicrob Agents Chemother 30: 933～937, 1986

5) Collier A C, Bozzette S, Coombs R W, et. al.: A pilot study of low-dose zidovudine in human immunodeficiency virus infection. N Eng J Med 323: 1015～1021, 1990

6) Kornhauser D M, Petty B G, Hendrix C W, et. al.: Probenecid and zidovudine metabolism. Lancet August 29: 473～475, 1989

7) Miranda P D, Good S S, Yarchorn R, et. al.: Alteration of zidovudine pharmacokinetics by probenecid in patients with AIDS or AIDS-related complex. Clin Pharmacol Ther 46: 494～500, 1989

8) Hedaya M A, Elmquist W F, Sawchuk R J: Probenecid inhibits the metabolic and renal clearances of zidovudine (AZT) in human volunteers. Pharmaceut Res 7: 411～417, 1990

9) Weiner I M, Mudge G H: Inhibitors of tubular transport of organic compounds. In the pharmacological basis of therapeutics (7th ed.) Gilman A G, Goodman L S, Rall T W, Mural F ed. 920～925, 1985

10) Smith P C, Lanjendijk P N, Bosso J A, et. al.: Effect of probenecid on the formation and elimination of acyl glucuronides: studies with zomepirac. Clin Pharmacol Ther 38: 121～127, 1985

THE PHARMACODYNAMICS OF ZIDOVUDINE ESPECIALLY ON THE EFFECT OF PROBENECID CO-ADMINISTRATION

Yasushi Ueda
Tokyo Jikei University School of Medicine

Fumio Matsumoto, Takeo Imai, Iwao Sakurai, Takayuki Takahashi and Masayuki Morita
Kanagawa Prefectural Nursing and Hygienic School Hospital,
1-6 Shiomidai Isogo-ku Yokohama, Japan

Atsushi Saito, Yoshiki Shigeno, Yuei Irabu
First Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Ryukyu University

We investigated the effect of probenecid on the pharmacokinetics of zidovudine (AZT) in beagle dogs and HIV-1 positive patients and obtained the following results.

1. In beagle dogs the maximum concentration (C_{max}) and the area under the curve (AUC) of AZT increased with the co-administration of probenecid. In contrast, the C_{max} and AUC of AZT's metabolite, glucuronide conjugated AZT (GAZT), decreased with the probenecid co-administration.

2. In HIV-1 positive patients the AUCs of both AZT and GAZT increased with probenecid co-administration. This increased AUC was more marked with GAZT

3. The urinary excretion of AZT and GAZT was also affected by this probenecid treatment. After probenecid administration, the urinary recovery rate of both AZT and GAZT decreased in beagle dogs, while in patients that of AZT increased sightly and GAZT decreased.

4. These results indicate that probenecid may inhibit the glucuronide conjugation of AZT in the liver and prevent the tubular secretion of AZT and especially GAZT in the kidney.

5. The concomitant use of probenecid doubled the duration of AZT levels above the lowest inhibitory concentration (0.3—0.5 μg/ml) of HIV-1 replication in the patients.

The above results suggest that if the effect of AZT is related to the duration of the effective blood concentration, probenecid co-administration may enchance the inhibitory effect of AZT on HIV replication. The results also show the possibility of reducing the dose of AZT with co-administration of probenecid and thus a decrease in the adverse effects of AZT.