

プロスタグランディン関連新規化合物 UF-021 の家兎眼内移行

渡辺千恵美¹⁾, 松元 俊²⁾, 金 恵媛¹⁾, 土坂 寿行¹⁾, 上野 隆司³⁾¹⁾東京女子医科大学附属第二病院眼科, ²⁾東京大学分院眼科, ³⁾上野製薬株式会社

要 約

プロスタグランディン (PG) 関連新規化合物, UF-021 点眼液の眼内移行ならびに色素親和性を, ³H をラベルした UF-021 を用いて検討した. 白色家兎および有色家兎の1眼に 0.12%³H-UF-021 水溶液を点眼した後, 10分から24時間の間隔をあけて家兎を殺し, 採血をおこなった後に眼球を摘出した. 摘出眼球は外眼筋, 結膜, 房水, 角膜, 虹彩, 前部強膜, 毛様体, 水晶体, 硝子体, 網脈絡膜, 後部強膜および視神経に分離し, 各組織の放射能残留量を液体シンチレーションカウンターで測定した. 白色家兎における UF-021 の組織内濃度は虹彩, 毛様体で40分, 房水では1時間後に最高値に達した. UF-021 の家兎眼への眼内移行は良好で, 角膜透過係数は, $2.9 \times 10^{-3} \text{cm/hr}$ と計算された. みかけの消失速度定数は, 0.21hr^{-1} , みかけの吸収速度定数は 1.28hr^{-1} であった. また, 有色家兎においても白色家兎と同様の結果が得られ, UF-021 に色素親和性はないものと考えられた. (日眼会誌 96: 335-339, 1992)

キーワード: UF-021, プロスタグランディン, 眼内移行, 薬物動態, 家兎

Ocular Penetration of UF-021, a New Prostaglandin Related Compound, in the Rabbit Eye

Chiemi Watanabe¹⁾, Shun Matsumoto²⁾, Keien Kin¹⁾,
Hisayuki Tsuchisaka¹⁾ and Ryuji Ueno³⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Tokyo Women's Medical College Daini Hospital²⁾Department of Ophthalmology, Tokyo University Branch Hospital³⁾Ueno Fine Chemicals Industry, Limited

Abstract

The ocular penetration and pigment affinity of topically applied UF-021, a newly developed prostaglandin-related compound, were investigated in rabbit eyes using ³H-labeled UF-021. Ten minutes to 24 hours after instillation of 0.12% of ³H-UF-021 solution into New Zealand white or pigmented rabbit eyes, the rabbits were sacrificed and the eyes were immediately enucleated. The extraocular muscles, conjunctiva, aqueous humor, cornea, iris, anterior and posterior sclera, ciliary body, lens, vitreous, retino-choroid complex, optic nerve were separated and blood samples were taken. The concentration of ³H-UF-021 in each sample was determined with a liquid scintillation counter. The peak concentration of UF-021 was obtained at 40 minutes and 1 hour after instillation in the iris-ciliary body and aqueous humor of albino rabbit. According to the pharmacokinetic analysis of the data, UF-021 showed good ocular penetration into the rabbit eye, and the permeability of the epithelial barrier for UF-021 was calculated to be $2.9 \times 10^{-3} \text{cm/hr}$. The apparent elimination rate

別刷請求先: 116 荒川区西尾久 2-1-10 東京女子医科大学附属第二病院眼科 渡辺千恵美
(平成3年6月28日受付, 平成3年7月31日改訂受理)Reprint requests to: Chiemi Watanabe, M.D. Department of Ophthalmology, Tokyo Women's Medical College, Daini Hospital, 2-1-10 Nishiogu, Arakawa-Ku 116, Japan
(Received June 28, 1991 and accepted in revised form July 31, 1991)

constant and the apparent absorption rate constant were also calculated to be 0.21 hr^{-1} and 1.28 hr^{-1} , respectively. The time course for ^3H -UF-021 concentration in the eye of pigmented rabbit was almost the same as that in the eye of non-pigmented rabbit, indicating that UF-021 did not bind to pigmented tissues. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96 : 335-339, 1992)

Key words : UF-021, Prostaglandin, Ocular penetration, Pharmacokinetics, Rabbit

I 緒 言

従来眼科領域において、プロスタグランジン (PGs) は主に炎症を惹起し、眼圧を上昇させる作用を有すると考えられてきたが¹⁾、1971年 Starr²⁾により、 PGE_1 の眼圧降下作用が報告されて以来、緑内障治療薬として注目された。しかし、PGsは長時間にわたる眼圧降下作用を有する一方、一過性の眼圧上昇を示すことが報告され³⁾⁴⁾、また縮瞳や結膜充血、眼痛などの刺激症状が強く⁵⁾⁶⁾、全身的な副作用の発現も否定できないことから⁶⁾、未だ緑内障治療薬としては使用されていない。PGsはこれらの副作用が臨床で最も大きな問題であり、一過性眼圧上昇を示さない PGD_2 の開発も試みられたが⁷⁾、人眼においては十分な眼圧降下作用が得られなかった。以上のごとく PG 製剤の開発は困難をきわめたが、この度、局所的な刺激症状や一過性の眼圧上昇を示すことなく、長時間にわたって眼圧降下作用を発現する PG 関連化合物 UF-021 が開発された⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。UF-021 は緑内障治療薬として期待されるものであるが、点眼薬としての眼内動態は未だ明らかでない。本研究においては白色家兎および有色家兎眼を用いて UF-021 の眼内動態を調査し、同様に色素親和性についても検討を加えた。

II 方 法

1. 対象

実験動物は白色の New Zealand White Rabbit (日本エスエルシー) 48羽、有色の Dutch Rabbit (Camm Research Lab. Animals, U.S.A.) 20羽を用いた。動物はいずれも雄で月齢約3か月、体重は2.0~2.5 kgであった。購入後は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度40~70%、照明時間12時間、換気回数12回/時間の条件下で1週間以上飼育した。白色家兎は6羽づつ8群に、有色家兎は4羽づつ5群に分けて実験を行った。

2. 被験薬

UF-021 は化学名(+)-isopropyl Z-7-[(1R, 2R, 3R, 5S)-3,5-dihydroxy-2-(3-oxodecyl) cyclopentyl]

hept-5-enoate (上野製薬) で、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の代謝産物の誘導体であり、分子量は424.62である。実験には UF-021 のシクロペンタン環内の9番の炭素に ^3H をラベルし、 ^3H -UF-021 をトレーサーとして用いた。 ^3H -UF-021 の比放射能は $1.54 \times 10^8 \text{ Bq/mg}$ であり、高速液体クロマトグラフィーで測定した放射化学的純度は90%以上であった。被験薬は ^3H -UF-021 の0.12%水溶液で pH は5~7、浸透圧は200 mOsmであった。

3. 実験手技

家兎の片眼の結膜嚢内にマイクロビレットを用いて、被験薬 $35 \mu\text{l}$ (UF-021, $42 \mu\text{g}$) を1回点眼し、他眼は同量の基剤を点眼して対照とした。8群に分類した白色家兎は点眼後10分、20分、40分、1時間、2時間、4時間、8時間および24時間の各時点で、耳静脈にペントバルビタールナトリウムを過量投与することにより、可能な限り苦痛を与えずに死亡させた。また、5群に分類した有色の家兎は点眼後40分、2時間、4時間、8時間および24時間の各時点で、同様の処置を行った。ただちに大静脈より1.0 ml の採血を行い、生理食塩水を用いて両眼の結膜嚢内を対照眼、薬物投与眼の順で洗浄した。次に、眼瞼縁を皮膚側より切開して外眼筋および視神経をできるだけ長く眼球に付けた状態で、これを摘出した。摘出眼球より、脂肪組織、血液等の付着物をできるかぎり除去した。4直筋を眼球付着部より5 mm 採取した後、眼瞼および眼球結膜を分離した。テノン嚢および視神経周囲の硬膜を除去した後、眼球を再び生理食塩水で洗浄し、27 G 針で前房水を採取した。次に、サランラップ®でくるんだ眼球をアセトンドライアイス内で凍結し、解凍の過程で角膜輪部および輪部より3 mm の強膜を切開し、角膜、前部強膜を採取した。さらに解凍がすすむに従って、虹彩、毛様体、水晶体、硝子体、網脈絡膜、後部強膜および視神経に分離した。各組織は採取後、直ちに化学天秤で湿重量を測定した。

4. 放射能測定

試料は、サンプルオキシダイザー (306型, PACK-ARD, Downers grove, Illinois, U.S.A.) で酸化させ

表1 白色家兎, 薬物投与における0.12% ³H-UF-021点眼液の各組織内への移行量

組織	時間							
	10分	20分	40分	60分	2時間	4時間	8時間	24時間
角膜	16563±2108	13667±1071	10911±1231	8038±641	4632±482	1924±208	355±72	42±9
房水	320±33	632±85	968±80	1003±69	755±89	277±44	36±5	1±0
虹彩	244±39	524±86	1234±126	1207±125	1089±234	312±69	46±6	5±1
毛様体	206±40	485±85	871±153	707±93	633±74	269±77	27±3	4±1
結膜	8259±1464	8403±1608	5042±432	3424±441	1646±147	447±82	247±114	23±9
外眼筋	292±147	543±150	337±103	281±48	116±40	32±7	11±4	1±0
前部強膜	6385±748	3916±643	3612±233	2527±457	987±102	312±50	69±15	12±3
後部強膜	391±58	499±112	501±62	300±78	132±20	44±8	6±2	1±0
水晶体	11±2	4±1	14±3	12±2	17±2	10±1	7±1	7±1
硝子体	4±1	4±1	4±1	4±0	5±1	1±0	1±0	1±0
網脈絡膜	75±18	123±30	153±20	89±28	60±8	21±5	4±1	1±0
視神経	16±4	12±2	11±1	17±4	15±4	5±1	5±1	5±1
血液	20±2	35±7	35±10	6±2	2±0	2±1	1±0	0±0

(ng/g wet tissue) 平均 (Mean)±標準誤差 (SEM) n=48

た後, 液体シンチレーションカウンター (LS-5000 TA, BECKMAN, Irvine, California, U.S.A.) を用いて放射活性を測定した. クエンチングの補正は自動外部標準化法を用い, 測定結果は dpm で表示した. 比放射能より組織内の UF-021 当量を計算した.

III 結果

1. 白色家兎における UF-021 の眼内移行

白色家兎における実験結果を表1に示す. 数値は薬物投与と眼における UF-021 の各組織内濃度を経時的に示したものである. この中で角膜, 房水, 虹彩および毛様体の成績をまとめて図1に示す. UF-021 の角膜内濃度は, 10分後に最高値の 16,563 ng/g wet tissue に達し, その後は指数関数的に減少して 24 時間後には 42 ng/g wet tissue に低下した. 同様に房水では 1 時間後に最高値の 1,003 ng/g wet tissue に達し, 虹彩, 毛様体では 40 分後にそれぞれ 1,234 ng/g wet tissue, 871 ng/g wet tissue に達した. これらの組織内濃度はいずれも点眼後 2 時間は比較的高い値を保ち, その後指数関数的に減少して 24 時間後にはほぼ消失した.

その他の組織における成績は表1に示すごとく, 結膜では点眼 20 分後, 前部強膜では 10 分後, 外眼筋では 20 分後, 後部強膜および網脈絡膜では 40 分後に最高値に達した. 水晶体, 硝子体および視神経への移行は微量で, 測定値は 20 ng/g wet tissue 以下であった. 血液中の UF-021 の濃度は点眼 20 分後に最高値 38 ng/g wet tissue に達し, この値は同時刻に採取した水晶体, 硝子体および視神経の組織内濃度よりも高い値

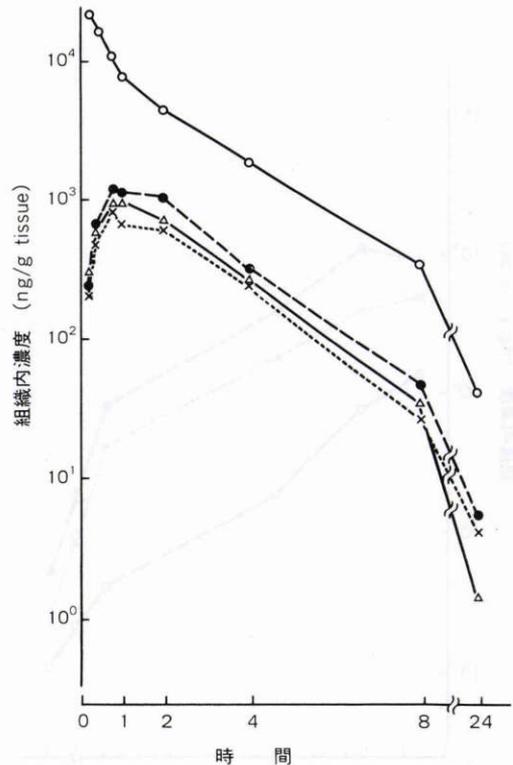


図1 白色家兎における UF-021 点眼後の組織内濃度の移行.

—○—角膜, —△—房水, —●—虹彩, —×—毛様体中の UF-021 当量濃度の平均値 (n=6) SEM は平均値のマークにかかっている.

表2 有色家兎, 薬物投与における $0.12\%{}^3\text{H}\text{-UF-021}$ 点眼液の各組織内への移行量

組織	時間				
	40分	2時間	4時間	8時間	24時間
角膜	8544±883	5438±671	2246±139	539±62	54±12
房水	845±126	816±95	398±19	70±12	1±0
虹彩	894±209	1037±311	385±14	72±13	5±1
毛様体	515±95	401±43	184±15	39±6	2±1
結膜	3406±522	1153±225	335±73	223±85	31±8
外眼筋	133±51	110±83	16±2	39±33	4±2
前部強膜	2961±432	1027±161	379±23	103±10	14±5
後部強膜	390±129	129±29	36±8	11±4	3±1
水晶体	6±2	7±1	9±2	8±1	5±1
硝子体	1±1	1±1	1±1	1±0	0±0
網脈絡膜	135±33	77±21	17±2	4±1	1±0
視神経	21±7	7±1	3±1	2±0	2±1
血液	10±3	4±1	4±2	1±0	1±0

(ng/g wet tissue) 平均(Mean)±標準誤差(SEM) n=20

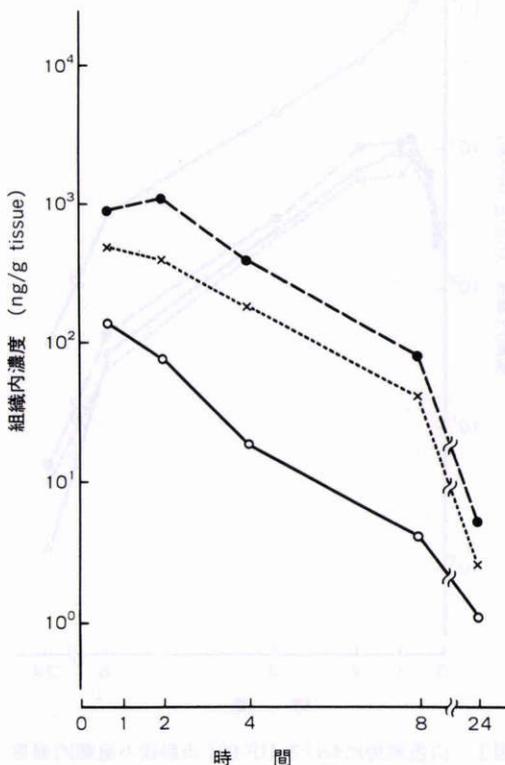


図2 有色家兎におけるUF-021点眼後の組織内濃度の移行。

—●—虹彩, ---×---毛様体, —○—網脈絡膜中のUF-021当量濃度の平均値(n=4) SEMは平均値のマークにかくれている。

であるが, 点眼後1時間を経過すると急速に減少して, 24時間後には眼球のいずれの組織よりも低い値を示した。

なお, 対照眼におけるUF-021の組織内濃度はいずれの場合も血中濃度より低く, 虹彩, 毛様体, 網脈絡膜, 外眼筋など比較的血流の豊富な組織に多く認められたが, その最高値は網脈絡膜における13 ng/g wet tissueであった。

2. 有色家兎におけるUF-021の眼内移行

有色家兎における実験結果を表2に示す。数値は薬物投与眼におけるUF-021の各組織内濃度を経時的に示したものである。この中で虹彩, 毛様体および網脈絡膜の成績をまとめて図2に示す。各組織におけるUF-021の動態は白色家兎における結果と同様の傾向を示し, 虹彩における最高値は点眼2時間後に1,037 ng/g wet tissue, 毛様体では40分後に515 ng/g wet tissue, さらに網脈絡膜では40分後に135 ng/g wet tissueに達した。

3. 薬物速度論的解析

白色家兎を用いた実験において, 角膜および房水中の薬物動態を薬物速度論¹¹⁾を用いて解析した。点眼直後におけるUF-021の角膜内濃度は, 図1に示した薬物濃度の経時変化を外挿して, 1.46×10^3 ng/gと計算された。また, 角膜体積を0.08 ml, 角膜面積を2 cm², 涙液からの薬剤の消退率を6 hr⁻¹と仮定して¹¹⁾UF-021の角膜上皮透過性(K_{ep}値)を求めると, 2.96×10^{-3} cm/hrと計算された。さらに, 角膜および前房の2-compartment modelを用いて前房内の薬物動態の解析¹¹⁾を行った結果, みかけの消失速度定数は0.21 hr⁻¹, みかけの吸収速度定数は1.28 hr⁻¹と計算された。

有色家兎を用いた実験では, 各実験眼数が4眼で, 薬物速度論的解析が行えず, みかけの消失速度定数, みかけの吸収速度定数は算出されなかった。しかし, 各組織内濃度の, 経時的な変化を比較すると, 白色家兎と大きな差はなく, 同様の傾向がみられた。

IV 考 按

本実験にトレーサーとして用いた ${}^3\text{H}\text{-UF-021}$ は, ${}^3\text{H}$ がシクロペンタン環内の9番の炭素に結合しているため, 眼内で加水分解をうけにくく, 代謝が行われても ${}^3\text{H}$ ははずれにくい。従って, UF-021そのものの眼内動態が追跡できるものと考えられる。

角膜上皮透過性は, 薬物の眼内移行を規定する上で

重要な因子であり、本実験で算出されたUF-021の K_{ep} 値は約 $3.0 \times 10^{-3} \text{cm/hr}$ であった。この値はBitoら¹²⁾の報告から計算したPGF₂αメチルエステルの K_{ep} 値、 $2.88 \times 10^{-3} \text{cm/hr}$ とほぼ同程度であり、UF-021の眼内移行はPGF₂αメチルエステルと同等と考えられた。更に従来の報告から、Mishima¹¹⁾が種々の抗緑内障点眼薬の K_{ep} 値を算出した結果、チモロールは $1.4 \sim 3.8 \times 10^{-3} \text{cm/hr}$ 、ピロカルピンは $0.5 \sim 1.9 \times 10^{-3} \text{cm/hr}$ 、エピネフリンは $0.1 \times 10^{-3} \text{cm/hr}$ とされており、本実験で得られたUF-021の K_{ep} 値はチモロール値と同程度で、抗緑内障点眼薬の中では良好な眼内移行を示した。また、房水中での薬剤動態を示す指標として、みかけの消失速度定数およびみかけの吸収速度定数を求めた結果、UF-021の成績は他の緑内障治療薬に比べて小さい値が得られた。すなわち、白色家兎眼において計算されたUF-021のみかけの消失速度定数 0.21 hr^{-1} は、ピロカルピンの $1.1 \sim 1.4 \text{ hr}^{-1}$ 、チモロールの 0.6 hr^{-1} ¹¹⁾よりも小さく、UF-021の眼内からの消失が比較的遅いことを示している。また、UF-021について計算されたみかけの吸収速度定数は 1.28 hr^{-1} で、ピロカルピンの $6.3 \sim 8.1 \text{ hr}^{-1}$ 、チモロールの 3.8 hr^{-1} ¹¹⁾と比較して小さかった。

次に、対照眼におけるUF-021の組織内濃度は薬物投与眼の100~1,000分の1と極めて小さな値であった。中でも血流が豊富な組織で比較的高値を示し、血液中の薬剤濃度が最高値に達する時刻に一致してこれらの組織でも最高値が得られた。また、その値は血液中濃度よりも若干低いことから、UF-021は血流を介して対側眼に移行するものと考えられた。なお、β-遮断薬であるカルテオロールを1眼に点眼した後の対照眼における薬物組織内濃度は薬物投与眼の数10分の1と報告されており¹³⁾、UF-021の対照眼中の濃度は、これと比べて極めて低かった。PGF₂αは肺循環を1回経るとその90%以上が分解されるが、UF-021はPGF₂αの代謝産物の誘導体であり、PGF₂αと同様の代謝経路を有するため、速やかに代謝が行われたものと考えられた。

また、色素親和性に関しては、有色家兎と白色家兎に同等の成績が得られ、UF-021に色素親和性はないと考えられた。以上のごとく、UF-021は点眼後、速やかに家兎眼の眼内に移行し、眼内組織や色素細胞への

蓄積は見られなかった。

文 献

- 1) 増田寛次郎：眼とプロスタグランディンズ。臨眼 31: 747-757, 1977.
- 2) Starr MS: Further studies on the effects of prostaglandin on intraocular pressure in the rabbit. *Exp Eye Res* 11: 170-177, 1971.
- 3) Kass MA, Podos SM, Moses RA, et al: Prostaglandin E₁ and aqueous humor dynamics. *Invest Ophthalmol* 11: 1022-1027, 1971.
- 4) Stern FA, Bito LZ: Comparison of the hypotensive and other ocular effects of prostaglandin E₂ and F₂α on cat and rhesus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22: 588-598, 1982.
- 5) Giuffre G: The effects of prostaglandin F₂α in the human eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 222: 139-141, 1985.
- 6) 清水孝雄：アラキドン酸カスケード。Modern Physician 7: 343-348, 1987.
- 7) Goh Y, Araie M, Nakajima M, et al: Effect of topical prostaglandin D₂ on the aqueous humor dynamics in rabbits. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 227: 476-481, 1989.
- 8) 上野隆司, 三輪直人, 久能祐子, 他：プロスタグランジン関連新規化合物UF-021の動物における眼圧下降作用。日眼会誌 94(抄録): 136, 1990.
- 9) 土坂寿行, 手塚ひとみ, 金 恵媛, 他：プロスタグランジン関連新規化合物UF-021の眼圧下降作用と作用機序。日眼会誌 94(抄録): 137, 1990.
- 10) 高瀬正彌, 南波久斌, 谷野 洸, 他：プロスタグランジン関連新規化合物UF-021の健常人および原発開放隅角緑内障に対する眼圧下降作用, 安全性ならびに臨床評価。日眼会誌 94(抄録): 138, 1990.
- 11) Mishima S: Clinical pharmacokinetics of the eye. Procter lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21: 504-541, 1981.
- 12) Bito LZ, Baroody RA: The ocular pharmacokinetics of eicosanoids and their derivatives. 1. Comparison of ocular eicosanoid penetration and distribution following the topical application of PGF₂α, PGF₂α-1-methylester and PGF₂α-1-isopropyl ester. *Exp Eye Res* 44: 217-226, 1987.
- 13) 藤尾直希, 北沢克明: 白色家兎における¹⁴C- Carteolol 点眼後の眼内組織への移行。日眼会誌 88: 236-241, 1984.