インフルエンザに対する吸入薬の開発

第一三株式会社・研究開発本部・プロジェクト推進部

小林 慶行*

Discovery of an inhaled and long-acting anti-influenza drug

Laninamivir octanoate (Inavir[®]) (1) was discovered as an inhaled anti-influenza drug by Daiichi Sankyo. It was launched for the treatment of influenza in October, 2010. Laninamivir octanoate (1) is the laninamivir (2) derivative with octanoyl moiety at C-9 position, which is a prodrug of laninamivir (2). This acylation to hydroxyl group at C-9 position of laninamivir (2) generated its drastic drug efficacy improvement for the treatment of influenza, and the prodrug shows its interesting drug profile such as "single administration for the treatment of influenza". In this review, I will introduce the discovery story on Laninamivir octanoate (1) and its interesting drug profile.

ラニナミビルオクタン酸エステル（イナビル[®]）(1) は吸入型インフルエンザ治療薬として第一三共で見出され、2010年10月に販売を開始した。その構造上の特徴はノイラミニダーゼ阻害剤・ラニナミビル(2)の側鎖C-9位の水酸基にオクタン酸を導入したプロドラッグという点である。このプロドラッグ化は薬効の劇的な改善を生み、“治療が1回で完結”するという大きな特徴を生み出した。本稿では、ラニナミビルオクタン酸エステル(1)の創製までの道のりと、その薬効プロファイルについて紹介する。

Yoshiyuki Kobayashi*

Keywords: Laninamivir octanoate, Laninamivir, prodrug, inhalation, single administration

はじめに

致死率約60%の高病原性H5N1型トリインフルエンザウイルスが出現した1990年代以降、人々のインフルエンザへの向き合い方は大きく変化している。特に2000年代に入り、この高病原性ウイルスによるインフルエンザパンデミックの恐怖についての議論が活発となり、パンデミックへの警戒感の高まりと共に人々のインフルエンザそのものに対する関心も高まっていった。2009年、人類はインフルエンザパンデミックを経験した。しかも、その原因ウイルスが、大方の予想を裏切り、季節性インフルエンザの主たる原因ウイルスであるH1N1型のブタ由来の新型インフルエンザウイルスであったことは、世の中に大きな衝撃を与えた。H1N1型ウイルスの変異はここ数年凄まじく、2008-9年にはタ

ミフル耐性株が、2009-10年にはパンデミックの原因となった新型ウイルスが出現し、さらにこの新型ウイルスのタミフル耐性株も既に出現している。このような環境のもと、いずれの亜型のインフルエンザウイルスにも効果を示す、いわゆる広域型インフルエンザ治療薬の重要性についての議論が活発となり、タミフル[®]（オセルタミビル）、リレンザ[®]（ザナミビル）に代表されるノイラミニダーゼ阻害剤がメディアの議論の対象としてよく取りあげられたことは記憶に新しい。ラニナミビルオクタン酸エステル（イナビル[®]）(1) は第一三共で見出された吸入型の抗インフルエンザ薬で、2010年10月より販売を開始した。その構造上の特徴はノイラミニダーゼ阻害剤の1つであるラニナミビル(2)の側鎖C-9位の水酸基にオクタン酸を導入したプロドラッグという点である（図1）。このプロドラッグ化はラニナミビルの薬効の劇的な改善に繋がり、結果、特徴的な“治療が1回で完結”というプロファイルを生み出

* Global Project Management Department, R&D Division, Daiichi Sankyo Co., Ltd

すに至った。本稿では、ラニナビルオクタン酸エステル(1)の創製までの道のりを、そのプロドラッグ化を中心に、更にはその薬効プロフィールについて概説する。¹⁾

図1 ラニナビルオクタン酸エステル(1)とラニナビル(2)

ラニナビル(2)の創製^{2),3)}

インフルエンザウイルスは、図2に示すように、感染後、糖たんぱく質であるヘマグルチニン(HA)のはたらきによって宿主細胞に吸着し、続いて侵入→脱殻→ゲノムリリース→複製→細胞表面上への出

芽→宿主細胞からの遊離を経て増殖する。この最後のウイルスが宿主細胞から遊離する過程ではたらく酵素がノイラミニダーゼ(NA)であり、ノイラミニダーゼ阻害剤はこの酵素の活性を阻害し、結果、ウイルス遊離、増殖を抑え、インフルエンザの治療を完結する(図2)。

図2 ノイラミニダーゼ阻害剤の作用機序

糖鎖工学が注目を浴び始めた1995年、第一三共(当時、三共)はノイラミニダーゼ阻害に基づく抗インフルエンザ薬の探索研究を開始した(図3)。一般にノイラミニダーゼ阻害剤の分子構造は、シアロ糖鎖の加水分解の遷移状態をモチーフに設計され、そのタイプはザナミビル(3)に代表される吸入剤(局所投与型)とオセルタミビル(4)に代表される経口剤(全身投与型)とに二分される。研究グループはどちらの薬剤タイプを指向すべきかの議論・検討を重ね、¹⁾インフルエンザの標的患部が上気道や肺であることや、²⁾その標的への薬剤の高濃度暴露とそれに伴う早い薬効オンセットを期待し、吸入型(局所投与型)のザナミビル(3)をモチーフとして、探索研究を開始した。

探索研究初期ではノイラミニダーゼ阻害活性およ

びウイルス増殖抑制作用のさらなる改善を目的として、¹⁾C-4位グアニジル基よりも酵素と強い結合能を有する塩基性基の探索、²⁾C-5位のアセトアミド基に代わる官能基の探索、を行った。しかしながら、その構造活性相関の研究からは目的とするような高い生理活性を示す化合物を見出すことはできなかった。その後、側鎖のトリオール部の化学修飾を試みたところ、C-7位水酸基への修飾(デオキシ体(4)、フッ素化体(5))が酵素阻害活性、ウイルス増殖抑制の改善につながることを見出した。さらにアルキル化(Me(2), Et(6))などを試みたところ、同様な生理活性の向上が見られた。最終的には生理活性と生産効率などを考慮し、C-7位メトキシ体であるラニナミビル(2)を高次評価の対象化合物として選定した(図4)。

図3 第2世代抗インフルエンザ薬の探索に向けて

図4 構造活性相関(抜粋)

表1にランナミビル(2)の各種インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼに対する阻害活性を示した。ランナミビル(2)は、季節性のH1N1型ウ

ルスに対してはザナミビル(3)と同等以上、H3N2型ウイルスに対してはザナミビル(3)よりもやや弱めとなった。また、オセルタミビルカルボキシ

インフルエンザウイルス (亜型、ウイルス株)		検討株数	IC ₅₀ (nM)		
			ランナミビル (2)	ザナミビル (3)	オセルタミビル カルボキシレート (5)
A 型*	A/H1N1 型 (季節性)	11	2.09 (1.29–5.97)	1.38 (0.751–3.62)	1.26 (0.658–2.39)
	A/H3N2 型	15	14.2 (7.09–38.8)	7.33 (3.42–14.2)	1.33 (0.706–3.44)
B 型*		23	15.9 (10.4–31.4)	6.41 (3.55–12.0)	9.55 (3.09–15.6)
NA 亜型	N1–N9	9	1.81–27.9	1.40–11.5	0.925–3.65
パンデミック (A/H1N1) 2009	A/California/ 04/09	—	0.41	0.32	0.96
	国内株※	9	1.55 (1.21–1.75)	1.35 (1.19–1.55)	0.679 (0.607–0.831)
高病原性鳥インフルエンザ ウイルス (A/H5N1 型) *		3	0.29 (0.28–0.32)	0.15 (0.07–0.72)	0.35 (0.31–10)

※：中央値 (範囲)

Yamashita et al., Antimicrob. Agents. Chemother., 2009; 53 (1) : 186-192
Itoh et al., Nature, 2009; 460: 1021-1025
Kiso et al., PLoS. Pathog., 2010; 6 (2) : e1000786

表1 各種ウイルスに対するノイラミニダーゼ阻害作用 (*in vitro*)

レート(5) (オセルタミビル(4) の活性代謝物)との比較では、ラニナミビル(2) は季節性インフルエンザウイルスのいずれの亜型に対して阻害活性は弱めであったが、高病原性鳥インフルエンザ H5N1 型並びにパンデミックウイルスの新型 H1N1 型には同等以上の阻害活性を示した。なお、ここでは詳細は割愛するが、ラニナミビル(2) はオセルタミビル耐性インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼに対して非常に良い阻害活性を示し、ザナミビル(3) と比較しても同等以上の阻害活性を示している。続いて、

ウイルス増殖阻害活性を表 2 に示した。いずれのウイルス亜型に対してもラニナミビル(2) はザナミビル(3) やオセルタミビルカルボキシレート(5) よりも強い増殖阻害活性を示している。これらを総合的に判断し、ラニナミビル(2) はザナミビル(3) と比べて、*in vitro* 効果の改善が見られたと結論した。この結果は *in vivo* 効果にも反映され、インフルエンザ感染マウスの生存率を見る実験において、ラニナミビル(2) はザナミビル(3) に比べて、生存率の改善が見られた(図 5)。

インフルエンザウイルス (亜型、ウイルス株)		検討株数	IC ₅₀ (nM)		
			ラニナミビル(2)	ザナミビル(3)	オセルタミビル カルボキシレート(5)
A 型	A/H1N1 型 (季節性)	3	0.24-2.4	0.57-11	0.49-13
	A/H3N2 型	4	1.3-230	1.6-360	0.26-80
B 型		5	4.1-11	6.4-22	15-120
NA 亜型	N1-N9	9	0.26-2.5	0.58-3.6	0.093-0.88
パンデミック (A/H1N1) 2009	A/California/ 04/09	—	4.24 *	17.67 *	10.56 *

* : IC₉₀ (nM)

Itoh et al., Nature, 2009; 460: 1021-1025

表 2 各種ウイルスに対するウイルス増殖阻害作用 (in vitro)

図 5 ラニナミビル(2)の *in vivo* 薬効

ラニナミビルオクタン酸エステル(1) の発見⁴⁾

ザナミビル(3) は1日2回、5日間の吸入投与で治療を完結する。研究グループはこの投与回数とそれによる服薬コンプライアンス維持は難しく、加えて、この投与頻度は呼吸器系に症状が出るインフルエンザ患者にとっては、受け入れにくいものではな

いかと当初から考えていた。図 5 に示す *in vivo* 試験の結果は、ラニナミビル(2) とザナミビル(3) の間での薬効の改善を示す一方で、両者とも同様な薬効消失プロファイルを有することも示している。この結果は、研究グループに“ラニナミビル(2) も治療完結のためにザナミビル(3) と同様、多少の差はあれ複数回投与が必要となるのでは?” という思いを

抱かせた。その後、“如何にして投与回数を減らすか？” 加えて、“如何にしてザナミビル(3)の薬効を圧倒的に凌駕するか？” 研究グループは数々の議論を重ね、その結果、長鎖脂肪鎖、もしくは、長鎖脂肪酸を導入したラニナミビル(2)のプロドラッグに長時間持続的な薬効発現能を持たせることができるのではないかというアイディアにたどり着いた。その作業仮説は、1)吸入後、ラニナミビルプロドラッグの長鎖脂肪鎖とノイラミニダーゼ阻害剤の標的臓器である上気道や肺の表面との間に発生するであろう疎水性相互作用を利用して、薬剤をその標的臓器表面に長時間貯留させ、2)その後、臓器表面でのエステラーゼによる加水分解によって活性代謝物のラニナミビル(2)をプロドラッグ体から徐放的にリリースさせ、長時間持続的な薬効を発現させる、というものであった。研究グループは“1回投与での治療完結”を目標として掲げ、ラニナミビルプロドラッグの探索を開始した。図6にプロドラッグの探索方針を示す。修飾部位は側鎖トリオール部の1級水酸基とカルボン酸部分の2箇所とし、1級水酸基へは長鎖脂肪酸 (Type I プロドラッグ) を、カルボン

酸部分には長鎖脂肪鎖 (Type II プロドラッグ) を導入し、各々をマウス感染実験によって評価を行った。図7に Type I 型のプロドラッグの評価結果を示すが、ラニナミビル(2)と比べて、いずれのプロドラッグでも薬効の改善が見られ、特に、炭素数8 (C8) のオクタン酸エステル体 (ラニナミビルー C8) がラニナミビル(2) の薬効を最大化することがわかった (図7Aa, b)。さらに、ラニナミビルー C8 の治療効果をラニナミビル(2)、ザナミビル(3)と直接比較したところ、その治療効果の改善は顕著で、ラニナミビルー C8 のインフルエンザウイルス感染マウスの生存率はほぼ100% (図7B)³⁾、単回投与でも80%となった。続いて、Type II 型プロドラッグとラニナミビルー C8 との薬効比較を行った (表3)。感染8日目ではいずれも同様に優れた薬効を示したが、20日後の生存率で化合物間に差が見られ始め、ラニナミビルー C8 のみが全例生存という結果となった。これらを総合的に判断した結果、ラニナミビルー C8 (以下、ラニナミビルオクタン酸エステル(1))を更なる非臨床高次評価へ進めることとした。

図6 ラニナミビル(2)のプロドラッグ化

A) プロドラッグ化による薬効増強: 導入脂肪酸鎖の長さの影響

B) ラニナミビルオクタン酸エステル (1) の薬効

Yamashita et al., Antimicrob. Agents. Chemother., 2009; 53 (1): 186-192

図7 プロドラッグ化による薬効増強: 導入脂肪酸鎖の長さの影響 (Type I プロドラッグ)

ラニナミビルオクタン酸エステル (1)

ラニナミビル Type II プロドラッグ

ザナミビル (3)

R	マウスの生存数 / マウスの全数	
	感染 8 日後	感染 20 日後
ザナミビル (3)	3/12	0/12
ラニナミビルオクタン酸エステル (1)	12/12	12/12
13	(CH ₂) ₁₁ CH ₃	12/12
14	(CH ₂) ₁₃ CH ₃	10/12
15	(CH ₂) ₁₅ CH ₃	10/12

- Twelve mice were infected with Influenza A/PR/8/34(H1N1) virus.
- Compounds 21a-21g and Zanamivir were intranasally administered at doses of 0.3 mmol/kg 4h before and 4h, 17h after infection.

BMCL 2009 19, 2938-2940

表3: プロドラッグ化による薬効増強: 導入脂肪酸鎖の長さの影響 (Type II プロドラッグ)

何故、治療が1回完結なのか？^{5),6)}

チームが掲げた“1回投与での治療完結”の目標は、非臨床での単回投与試験（生存率80%）で具現化された。一方で、“一体、この現象はどのようにして起こったのか？”“疎水性相互作用の長期貯留性の発現への寄与は、実際、どの程度のものなのか？”など、この結果に関しての活発な議論や研究が行われた。この議論を大きく前進させたのはラニナミビルオクタン酸エステル(1)についての薬物動態研究であった。図8にラニナミビルオクタン酸エステル(1)の単回経鼻投与後の肺中濃度の推移を示した。このデータは非常に興味深く、標的臓器である肺にはプロドラッグ体であるラニナミビルオクタン酸エステル(1)としてではなく、活性代謝物のラニナミビル(2)として長期貯留していることがわかった。どのようにして薬効が持続するのかの謎解

きは今もなお続いているが、これまでの薬物動態研究のデータからは、1)ラニナミビル(2)よりも脂溶性が向上した化合物(1)が標的臓器の組織内、細胞内に取り込まれ、2)その細胞内のエステラーゼによる加水分解で生成した活性代謝物であるラニナミビル(2)の多くがそのまま細胞内に貯留することにより、より効果的にウイルスの細胞外放出、増殖が抑制され、結果、持続的薬効が発現するのではないかと考えている(図9)。また、ラニナミビル(2)は他剤と比較して、ノイラミニダーゼとの結合力が強いこともわかってきており(図10)、まだ仮説の域を完全には出していないが、これらの相乗効果で“1回投与での治療完結”を満たす薬剤プロファイルに至ったのではないかと考えている。これらは当初の仮説とは大きく違ってはいたものの、非常に興味深い現象である。

図8 ラニナミビルオクタン酸エステル(1)の単回経鼻投与後の肺中薬物動態

ラニナミビル投与の場合

ラニナミビルオクタン酸エステル投与の場合

図9 現在までに考えられているラニナミビルオクタン酸エステル(1)の作用機序

図10 ノイラミニダーゼ阻害薬のノイラミニダーゼからの解離速度

図 11 に季節性ウイルスを用いたマウス感染モデルにおけるリン酸オセルタミビル反復投与(10 回投与、経口)とラニナミビルオクタン酸エステル単回投与(経鼻)の薬効比較を示した。興味深いことにラニナミビルオクタン酸エステル単回投与はリン酸オセルタミビル反復投与と同様な延命効果を示した。このときの最低有効薬効量は、ラニナミビルオクタン酸エステル(1) が $18 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($= 0.037 \mu\text{mol}/\text{kg}$)、リン酸オセルタミビル(4) が 1 回あたりの投与量 $1.1\text{mg}/\text{kg}$ 、投与総量 $11\text{mg}/\text{kg}$ となり、ラニナミビルオクタン酸エステル(1) はリン酸オセルタミビル

(4) の総投与量ベースで約 600 倍の治療効果を示した。同様な結果は高病原性鳥インフルエンザ H5N1 型並びにパンデミックウイルスの新型 H1N1 型の臨床分離株を用いたマウス感染実験でも見られている。これらの結果とザナミビル(3) との薬効比較も考え合わせ、非臨床ではラニナミビルオクタン酸エステル単回投与は既存薬の反復投与と同様な薬効を示し、季節性のみならずパンデミックウイルスに対しても単回投与で治療効果を示すと結論づけた。これまでの結果を踏まえ、ラニナミビルオクタン酸エステル(1) は開発候補品として選定され、この後、臨床試験へ進むことになった。

図 11 ラニナミビルオクタン酸エステル (CS-8958) (1) 単回 vs リン酸オセルタミビル(4)反復比較 - 治療効果、マウス生死 -

臨床試験

非臨床でラニナミビルオクタン酸エステル(1)が高い治療効果を示したことから、“臨床でも同様な効果を示すのでは”と、周囲の期待が高まった。この状況下で、ラニナミビルオクタン酸エステル(1)について、1回投与による成人対象第Ⅲ相臨床試験(MARVEL試験、国際共同治験として、日本、台湾、韓国、香港で実施)、並びに9歳以下の小児対象の第2/3相臨床試験を、2008～09年のオセルタミビル耐性H1N1型ウイルスが流行したシーズンに実

施した。MARVEL試験はインフルエンザ罹病時間をプライマリーエンドポイントとして、ラニナミビルオクタン酸エステル40mg、20mg各単回投与群とリン酸オセルタミビル75mg×2回/日×5日間投与群とのインフルエンザ治療効果の非劣性を検証するものであり、同試験においては図12に示すように目的とする非劣性が検証された⁹⁾。また、小児対象試験も非常に良好な結果をおさめ¹⁰⁾、結果、2010年10月にイナビル[®](成人、小児適用)として上市され、現在、医療現場で使用されている。

図12 成人対象第Ⅲ相国際共同試験(MARVEL試験) - インフルエンザ罹病時間 -

プロドラッグ化が薬剤プロファイルの向上のためのパワフルな手法であることはもはやいうまでもない。今回、ラニナミビル(2)の側鎖水酸基に対する長鎖脂肪酸の導入によるプロドラッグ化で見い出されたラニナミビルオクタン酸エステル(1)が、薬剤としては究極のプロファイルともいえる“1回投与による治療完結”を実現したことで、研究グループはプロドラッグ化のはかりしれない威力を実感した。これは医薬品の研究開発に携わる者としては非常に貴重な体験であり、将来の創薬研究のための大きな糧になるであろう。ラニナミビルオクタン酸エステル(1)は、現在、イナビル[®]としてインフルエンザ医療の第一線に立っている。今後も、プロドラッグ化で得られた“1回で治療完結”のプロファイルを基に、インフルエンザ治療に大きく貢献し、更にはパンデミック対策など社会貢献の一端を担えるよう、医療現場で大きく成長することを期待したい。

- 1) Review:
 - a) M. Yamashita; *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*. 2010, 21, 71-84 and therein.
 - b) Y. Kobayashi; *MedChem News*, 2010, 21, No.3 (August) and therein.
- 2) T. Honda, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, 12, 1921-1924
- 3) M. Yamashita, *et al*, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2009, 53, 186-192
- 4) T. Honda, *et al*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 2983-2940
- 5) K. Koyama, *et al*, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2009 53, 4845-4851
- 6) M. Kiso, *et al*, *PLoS Pathog.* 2010, 6, e1000786
- 7) Y. Itoh *et al*, *Nature*, 2009, 460, 1021-1025
- 8) S. Kubo, *et al*, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2010, 54, 1256-1264
- 9) A. Watanabe *et al*, *Clin. Infect. Dis.*, 2010, 51, 1167-1175
- 10) N. Sugaya *et al*, *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 2010; 54, 2575-2582