

出國報告(出國類別：進修)

標靶投遞抗愛滋病毒藥物至腸道淋巴系統 以提升藥物療效

服務機關：國防醫學院三軍總醫院

姓名職稱：朱彥儒、衛材補給官

派赴國家/地區：英國諾丁漢

出國期間：107年9月28日至112年3月30日

報告日期：112年6月20日

摘要

HIV 自被發現以來，迄今其感染患者仍未能被完全治癒。臨床上雖已有針對該病毒生命週期而研發的抗反轉錄病毒治療藥物 (antiretroviral therapy)，但其效果有限，雖能有效抑制體內病毒量，但在病人停藥後，體內病毒量很快即會回升。其主要原因為 HIV 會在宿主體內淋巴系統及某些組織器官形成儲藏庫 (reservoir)，這也是目前被認為該病毒感染無法被根治的主要原因。其中，腸繫膜淋巴結 (mesenteric lymphatic nodes, MLNs) 為人體最大且最主要的淋巴系統，也是 HIV 病毒其中一個最重要的儲藏庫。若能將抗病毒藥物標靶投遞至 MLNs，即能在該部位達到高劑量的藥物濃度，並能完全清除 HIV 在此部位的儲藏庫。另一方面，由於 MLNs 為人體最大且最重要的免疫淋巴系統，提高此部位的藥物濃度能藉由淋巴循環將藥物遞送至全身，且能避開肝臟首度效應 (first-pass metabolism) 增加藥物吸收量，以達到將 HIV 完全根除的效果。

目次

第一章 研究背景及動機

第一節 研究背景

第二節 研究動機

第二章 研究過程

第一節 體外實驗及動物實驗

第二節 研究成果

第三節 國際學術會議

第四節 教學

第五節 藥廠合作計畫

第六節 著作發表

第三章 心得建議

第一章 研究目的及內容

職於 107 年 10 月 1 日至英國諾丁漢大學藥學院 (School of Pharmacy, University of Nottingham) 進修博士。本校於藥學領域方面為世界排名前 5 之藥學院，且鄰近於醫學中心 (Queen's medical centre, QMC)。所進行之研究為針對 HIV 感染之抗反轉錄病毒藥物進行腸道淋巴系統投遞，藉以提升淋巴系統內之藥物濃度及生體可用率進而改善治療效果。

第一節 研究背景

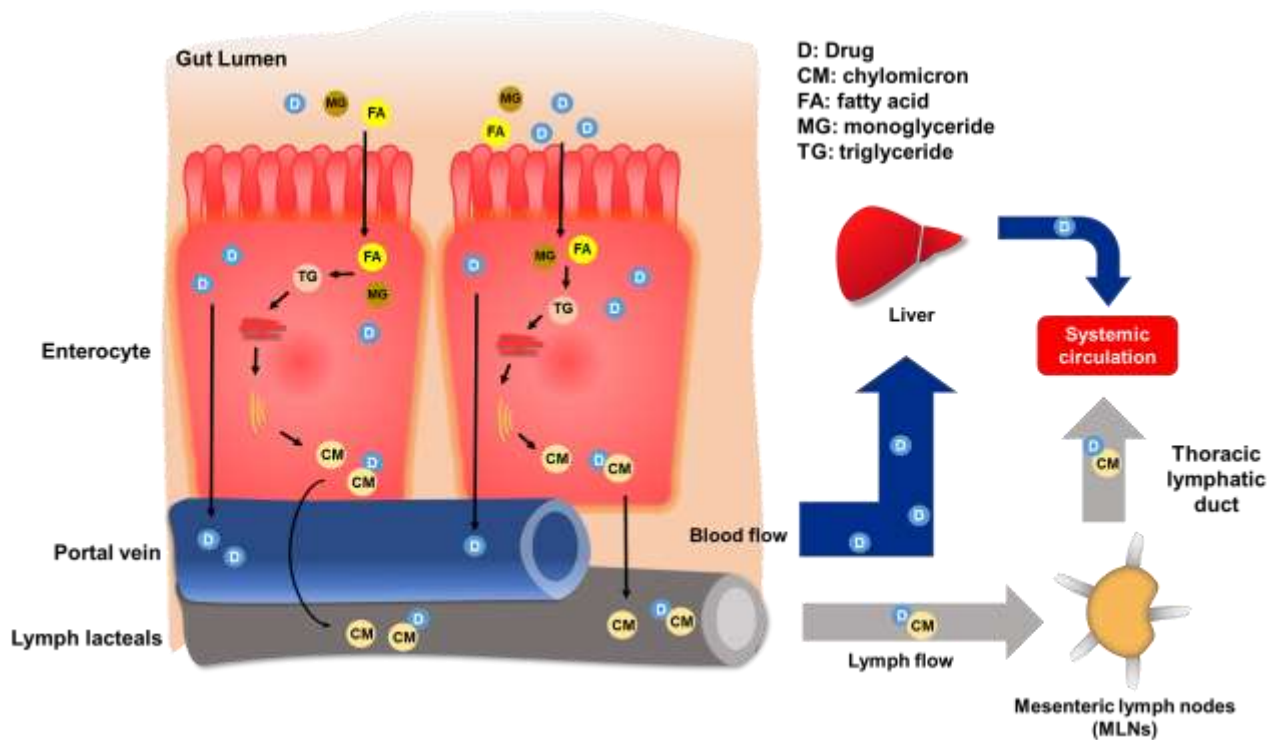
全球每年約有 3,770 萬人感染 HIV，68 萬人死於 HIV 感染相關疾病。即使在抗病毒藥物的治療下能有效抑制體內病毒量，但由於 HIV 在人體內形成的儲藏庫(reservoir)提升了將其完全根治的難度。該病毒主要作用機轉為癱瘓人體的免疫細胞及功能，導致宿主免疫力降低。而其中腸道中的淋巴組織為人體內最大且最重要的免疫系統，若能將藥物直接標靶至該處，則能提升藥物治療的效果，且能完全根除 HIV 在該部位的儲藏庫。

HIV 未能根治之主要原因為其在體內形成之 reservoirs 遍及全身。其中部分 reservoirs 為抗反轉錄病毒藥物難以到達之組織器官，進而限制藥物之作用，導致 reservoirs 內之病毒持續性複製。腸道淋巴組織 (gut-associated lymphoid tissues, GALTs) 為人體內最重要且最大之免疫系統組織，其包含之腸繫膜淋巴結(mesenteric lymph nodes, MLNs)為體內最大之淋巴結，亦為 HIV 主要之 reservoirs 之一。腸道淋巴運輸(intestinal lymphatic transport)為利用人體內生性之微脂粒(chylomicron, CM)將高脂溶性物質、藥物藉由腸道淋巴系統途經 MLNs 攜帶至全身血液循環。此途徑除可直接將脂溶性藥物標靶投遞至 MLNs 外，亦可避開肝臟首渡效應而提升藥物之生體可用率。

第二節 研究動機

本研究以將藥物標靶至腸道淋巴組織為主軸，並以其中抗反轉錄病毒藥物為樣本藥物進行實驗。嘗試利用以油為基底的藥物劑型口服投餵藥物至大鼠體內，並分析其血中藥物濃度及在腸繫膜淋巴結中藥物濃度，藉以評估其標靶至腸道淋巴組織之潛力。另再合成酯類前驅藥物

以增加該藥物之脂溶性，再配合純油溶劑口服投餵至大鼠體內，評估其投遞至腸道淋巴系統之效果。同時分析該前驅藥物在血中及淋巴組織中有效藥物釋放程度。



第二章 研究過程

第一節 體外實驗及動物實驗

進行動物實驗前，需先經過體外實驗評估，並篩選適合藥物以減少動物之使用數量。首先為評估實驗藥物之乳糜微粒(chylomicron)結合率。由於經由口服所吸收的物質在腸細胞內有兩種吸收途徑。第一種為最常見之經由肝門靜脈吸收，此途徑吸收之物質大部分為水溶性較高或較小分子。另一種為腸道淋巴吸收，通常為脂溶性較高且為大型分子主要吸收途徑。乳糜微粒則主要透過此途徑將三酸甘油酯輸送至全身儲藏。此途徑會經由腸道淋巴循環，流經腸繫膜淋巴結，最後自胸管(thoracic duct)進入人體血液循環，避開肝臟首度代謝。而脂溶性藥物則是會與乳糜微粒結合，進入腸道淋巴系統。因此，藉由體外評估藥物與乳糜微粒之結合率能初步篩選適合做淋巴投遞之藥物。另外，藥物於油中的溶解度也是評估其是否能進行淋巴投遞之指標，有研究指出，藥物需具備 2 種特性才可能有淋巴投遞的潛力：1.其親油性(lipophilicity)必須大於 5；2.其於油中的溶解度必須大於 50mg/mL。而本研究在投餵藥物至大鼠體內時，所使用之劑型即為油，故實驗藥物必須是能溶於此劑型之化合物。再者，投餵油脂亦能促進體內乳糜微粒形成，進而加速藥物淋巴吸收之效果。經由體外實驗篩選合格之實驗藥物進行動物實驗。將藥物溶於油內，並口服投遞至大鼠體內，再經由頸靜脈導管於特定時間點取血進行藥物血中濃度分析。另外再收集大鼠之腸繫膜淋巴結進行藥物濃度分析以評估其淋巴投遞之效果。

前驅藥物部分為於母藥本身羥基上進行酯化反應，接合長鏈(C>12)脂肪酸提升前驅藥物之脂溶性進而增加與 CM 之結合率。前驅藥物合成後，藉由一系列體外試驗(藥物與人/大鼠之微脂粒結合率、腸液及淋巴液之穩定性，及長鏈脂肪酸之溶解度)篩選最佳之前驅藥物進行動物實驗，以評估前驅藥物於經口服大鼠體內藉由腸道淋巴運送將母藥標靶投遞至 MLN 之結果。

第二節 研究成果

經由體外及動物實驗後，實驗藥物雖然有足夠的親油性及油溶性，且與乳糜微粒有 60%的結合率，但在口服投遞後，其在腸繫膜淋巴結內之藥物濃度不如預期之顯著。說明單獨使用油

類劑型不足以有效投遞脂溶性藥物至腸淋巴系統。因此，化學結構之修飾以合成酯類前驅藥物結合油類劑型之投遞將為未來研究之方向。

經合成 6 個前驅藥物(C12-C18, C18:1, C18:2)，並經體外試驗篩選出之前驅藥進行大鼠體內藥物動力學(pharmacokinetic)及藥物分布學(biodistribution)試驗。雖以油基質口服投遞試驗藥物顯著提升母藥標靶至 MLN 之選擇性，但該前驅藥於腸內未能有效吸收，造成口服生體可用率不佳。

第三節 國際學術會議

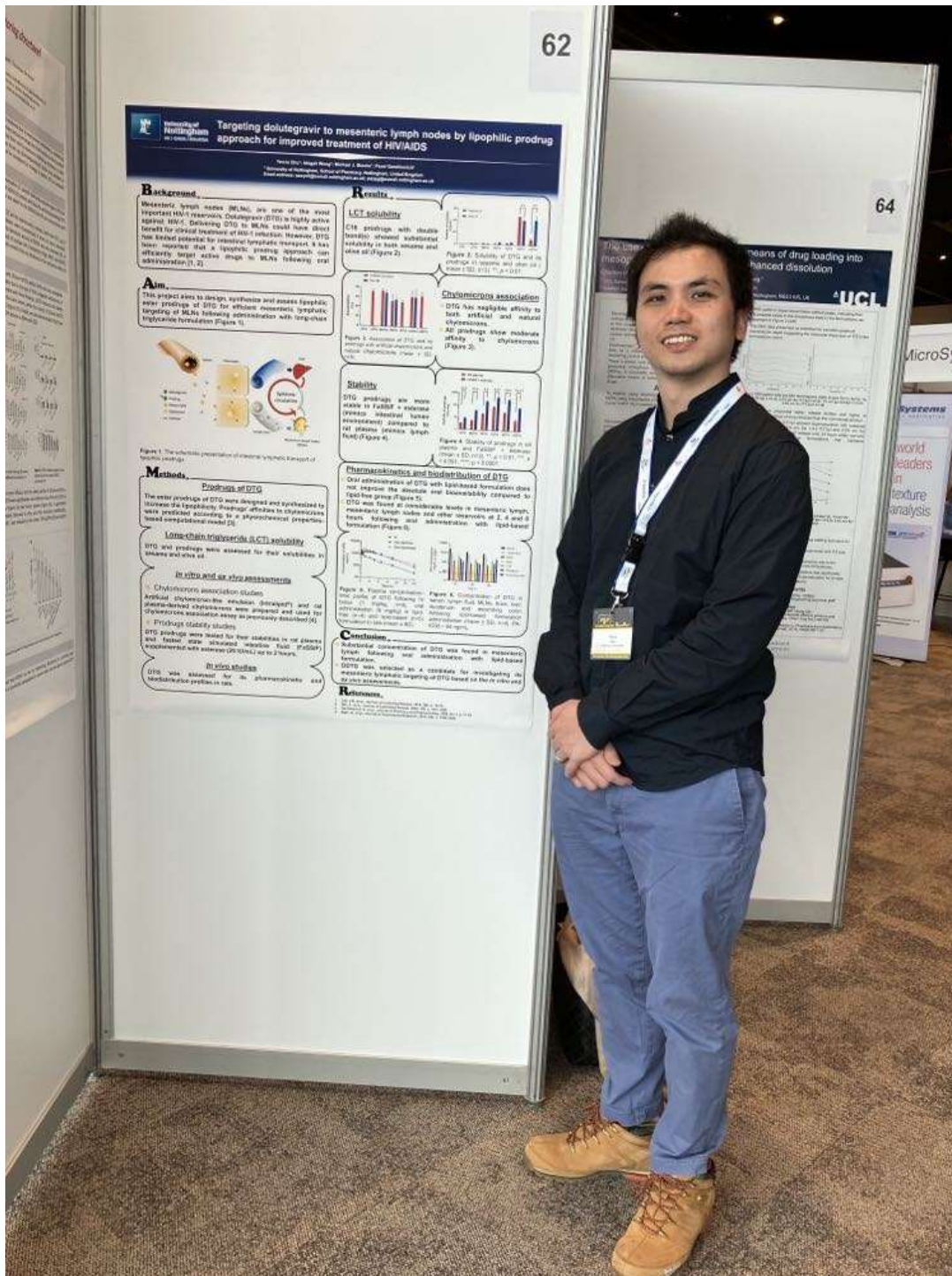
指導老師建議嘗試張貼研究成果海報於 PhysChem FORUM 18 國際學術性研討會(2019 年於德國法蘭克福)，該研討會是由賽諾菲藥廠主辦，舉辦於其德國廠區內部之會議中心，會議期間邀請各藥廠之研究人員、大學相關教授進行一系列之 seminar，內容有關目前最新之標靶藥物投遞等相關研究及未來趨勢與發展。



至德國法蘭克福參加 PhysChem FORUM 18 與指導老師及實驗室夥伴合影

另於 2020 年參加 AIDS2020 國際學術研討會，並於會中進行研究相關報告。因 COVID-19 疫情改線上進行。

於 2022 年至荷蘭參加 13th Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology，並進行海報張貼及簡報。



於荷蘭鹿特丹年參加 13th Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology 張貼海報

第四節 教學

因諾丁漢大學藥學院大學部學生學程規劃，每一年皆有 3 個月實驗室課程，由分配到的指導老師負責學生的實驗室課程規劃，並須於 3 個月內完成一小型研究計畫，並於期末張貼海報且撰寫論文通過口試。本實驗室歷年皆受分配 3-4 員大學部學生參予實驗室相關實驗，指導老師再將學生分配給博士班學生負責大學部學生之實驗規劃、教學及學習進度管制，並於每兩周召開一次會議，確認學生之學習進度。

職每年亦被分配為實驗室指導老師負責學生之實驗課程安排、教授及相關學習進度規劃。指導學生之研究計畫則依本身之研究進度擬定如下：

第一年：建立 HPLC 之藥物分析條件及方法。

第二年：進行藥物於大鼠體內之藥物動力學、藥物分布實驗，並依所建立之 HPLC 藥物分析方法進行藥物於血液及組織器官內濃度之定量實驗。

第三年：文獻閱讀及文章撰寫(因 COVID-19 疫情，取消所有實驗室之實體課程)。

第四年：進行合成之前驅藥物之體外試驗(藥物與人/大鼠之微脂粒結合率、腸液及淋巴液之穩定性，及長鏈脂肪酸之溶解度)，以篩選合格之藥物進行動物體內實驗。



指導大學部學生 Joanne 完成畢業論文

除本校藥學院大學部學生，碩士班學生亦有 6 個月實驗室課程，因本實驗室之研究領域較為特殊及有趣，故為碩士生熱門選擇之一。職亦參與指導碩士生之實驗室相關研究計畫擬定、執行、海報製作、論文撰寫及成果報告之評估。另除本校之學生，亦有與歐洲相關大學之學生交換合作計畫(Tor Vergata)，亦曾參予指導交換學生至本實驗室進行之研究計畫。



碩士班學生 Charles(中)與實驗室同事(左)。

第五節 藥廠合作計畫

因本實驗室研究領域旨在標靶投遞藥物至相關淋巴系統以提升免疫治療藥物之療效，另所採取之途徑 intestinal lymphatic transport 亦可增加藥物之生體可用率，故英國藥廠 AstraZeneca 於 2018 年與本實驗室簽訂為期 3 年之合作計畫，期望能提升目前相關注射抗癌症藥物之口服生體可用率。該計畫已於 2021 年正式完成相關研究，成果刻正撰寫文章準備投稿於國際期刊。

第六節 著作發表

歷經一年半的實驗，趕在新冠疫情爆發前完成第一階段之研究 Oral administration of tipranavir with long-chain triglyceride results in moderate intestinal lymph targeting but no efficient delivery to HIV-1 reservoir in mesenteric lymph nodes，並投稿且刊登至 International Journal of Pharmaceutics (IF:5.875)。另外，參與其他實驗室夥伴之研究也分別以第二及第三作者刊登於國際期刊。另有第二階段之研究成果刻正投稿中。

第三章 心得及建議事項

職由衷地感謝國防部軍醫局鈞長以及醫院長官、師長的栽培與支持，讓職可以無後顧之憂全力進行研究攻讀博士。然而，2020 年受到 COVID-19 疫情影響，以致於研究工作有所延宕。職所進行之研究為較特殊之研究，據指導教授所言，目前僅有兩間實驗室從事淋巴投遞等相關研究。雖職現致力於 HIV 治療藥物之研究，但淋巴投遞途徑可應用範圍廣泛，其中包含免疫相關疾病之治療如癌症。職過去多是從事行政相關的工作，跨足到學術界感覺最大的不同是，指導教授給予非常彈性的工作時間，但要求高品質的工作產出及邏輯性的計劃工作，鼓勵創新的思考，這幾年也累積一些教學、研究助理、文章撰寫、指導學生及研究計畫管理等能力。期望未來能繼續從事研究相關工作，將國外所學帶回國內實驗室，並儘可能尋找建教合作之機會，提升現有藥物之療效及口服生體可用率，改善醫療品質及病人服藥順從性。

很榮幸能於英國諾丁漢大學藥學院攻讀博士班，本校藥學院於藥學領域為全球排名第 8 位，在藥物化學、藥物劑型設計及藥物投遞方面皆有卓越的成果，其教學模式為引導式教學，每位博士生除主要指導教授外，皆會另外安排一位以上不同領域(皆與博士研究內容有關)之指導教授共同指導，並每月與學生進行會議了解研究進度並適時指導未來研究方向。依研究課題需要，學生將進行跨領域學習及實驗。另外，每年舉辦一次博士候選人資格考試，由口試委員進行一對一答辯，以確認學生學習進度及其是否符合博士候選人資格。建議未來派訓藥學相關領域之學員可將本校納入考量。



返國前與指導老師及實驗室夥伴餐敘合影