

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：32659

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860127

研究課題名(和文)医薬品添加剤を利用した新規吸収促進技術の開発

研究課題名(英文)Development of novel absorption enhancing system using pharmaceutical excipients.

研究代表者

瀧沢 裕輔(Takizawa, Yusuke)

東京薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：40453807

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：使用用途別に分類した20種類の医薬品添加剤を用いて、基質薬物の消化管粘膜透過性に対する医薬品添加剤の影響を検討し、細胞間隙経路および細胞内経路の両経路を介した薬物の膜透過に対して、複数種の医薬品添加剤が影響を及ぼしていることを明らかにした。しかしながら医薬品添加剤の消化管粘膜への影響の作用機序の解明にまではいたらなかった。一方で、その影響が医薬品添加剤の特定の濃度での認められることや、小腸上部および下部で効果が異なり、部位差が存在することが認められた。本研究の成果は、医薬品添加剤の配合変化による製剤設計の最適化を図るうえで、有益な情報となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, I examined the effects of 20 kinds of pharmaceutical excipients on mucosal membrane permeability via paracellular and transcellular route in rat small intestine, and clarified that some of the pharmaceutical excipients changes membrane permeability of paracellular and transcellular marker. I examined the change of expression levels of membrane permeation regulating factors (claudin family, mucin family and galectin-3), however, did not lead to the identification of the site of action for the mucosal membrane of pharmaceutical excipients. On the other hand, the regional difference (jejunum and ileum) of the influence on pharmaceutical excipients was observed in rat small intestine. Moreover, the impact of pharmaceutical excipient was observed only at a specific concentration.

The results of this study will be useful information for the optimization of the formulation design by change of pharmaceutical excipients.

研究分野：生物薬剤学

キーワード：医薬品添加剤 消化管吸収 受動拡散 細胞内経路 細胞間隙経路

1. 研究開始当初の背景

医薬品添加剤とは、医薬品を製剤化するに際して、安定性、安全性あるいは均質性を確保する目的、さらには溶解促進、徐放化などの製剤機能を付加する目的で添加される物質であり、製剤の製造、流通、保存および使用中の品質を確保し、医薬品としての有用性を高めるために加えられるものである。医薬品添加剤は定義上その投与量において無害（不活性）でなければならない上に、その主薬の治療効果を妨げ、あるいは試験に支障をきたすものであってはならない。

しかし近年、無害と考えられてきた医薬品添加剤が、消化管上皮細胞に発現する P 糖タンパク質あるいは上皮細胞間隙経路などの薬物吸収の障壁と考えられているタンパク質群に作用し、薬物の体内動態に影響を及ぼす事が報告されている。さらに、本来同等とされている先発医薬品と後発医薬品とで、薬効に差が生じているとの報告もされている。

2. 研究の目的

先発医薬品と後発医薬品とで、薬効に差が生じる原因として、医薬品添加剤の種類が挙げられることから、本研究において、各種医薬品添加剤の消化管粘膜透過性への影響を解明すると同時に、それらの効果を利用することで、医薬品添加剤の薬物吸収制御因子への作用を用いた、これまでとは異なる新たな発想に基づく吸収促進技術を開発する。

3. 研究の方法

(1) 薬物の消化管吸収および体内動態に影響を及ぼしうる医薬品添加剤を取り上げ、ラットの空腸および回腸を用いた *in vitro* Sac 法による薬物の膜透過実験から、それらの影響の有無を検討し、薬物の体内動態に影響を及ぼしうる医薬品添加剤のラインアップの作成を目指す。また、薬物の膜透過に影響を及ぼした医薬品添加剤においては、その変動メカニズムを解明するために、Western blotting により、細胞間隙経路の制御因子である claudin family や、細胞内経路の律速因子と考えられている Mucin など、各種膜透過制御因子の発現量の変化を検討する。

(2) 次に、影響を及ぼす医薬品添加剤を用いた様々な投与量での検討を行い、投与量依存的な薬物の吸収量の増大が認められるかなどの相関性も検討することで、吸収促進剤として用いることができるかの可能性の検討を行い、医薬品添加剤による新規吸収促進技術の開発を目指す。

4. 研究成果

(1) 使用用途別に分類した表 1 に示した 20 種類の医薬品添加剤を用いて、基質薬物の消化管粘膜透過性に対する医薬品添加剤の影響を検討した。医薬品添加剤の添加量は臨床的な消化管中濃度となるように下記のように

に設定した。【賦形剤】0.08、0.8 %、【崩壊剤】0.02、0.2 %、【結合剤】0.02、0.2 %、【放出制御剤】0.08、0.8 %、【滑沢剤】0.004、0.04 %。

表 1 本研究に用いた医薬品添加剤

| | | |
|--|---|--------------|
| Diluents (賦形剤) | methyl-β-cyclodextrin | M-β-CD |
| | lactose hydrate | LH |
| | corn starch | CS |
| | microcrystalline cellulose | MCC |
| Disintegrants (崩壊剤) | sodium carboxymethyl starch | SCMS |
| | low substituted hydroxypropyl cellulose | L-HPC |
| | crosscarmellose sodium | CSS |
| Binders (結合剤) | hydroxypropyl cellulose | HPC |
| | hydroxypropylmethyl cellulose | HPMC |
| | povidone (K29/32) | PVP (K29/32) |
| | povidone (K90) | PVP (K90) |
| | pullulan | - |
| Lubricants (滑沢剤) | talc | - |
| | stearic acid | SA |
| | calcium stearate | CS |
| | magnesium stearate | MS |
| | glyceryl monostearate | GMS |
| | soft anhydrous silicic acid | SAAS |
| Sustained release substrate (放出制御剤) | ethyl cellulose | EC |
| | Methyl cellulose | MC |

細胞間隙経路への影響：【賦形剤】M-β-CD 添加条件において、空腸における細胞間隙経路透過基質である 5-CF の膜透過は、M-β-CD の投与量（濃度）依存的に非添加群と比較して有意に増加した。しかしながら、回腸においては 0.08、0.8 % 共に有意な変化は認められなかった。また、LC、CS、MCC においては、両濃度において空腸・回腸ともに有意な変化は認められなかった。(Fig. 1)【崩壊剤】空腸においては、SCMC、L-HPMC、CCS の 3 種類全てにおいて、5-CF の膜透過は有意に増加した。さらに、これら 3 種類の効

果に投与量（濃度）依存性は認められず、0.02%で有意な増加が認められた。一方で、回腸においては、3種類全てにおいて両投与量（濃度）で5-CFの膜透過に有意な変化は認められなかった。(Fig. 2)

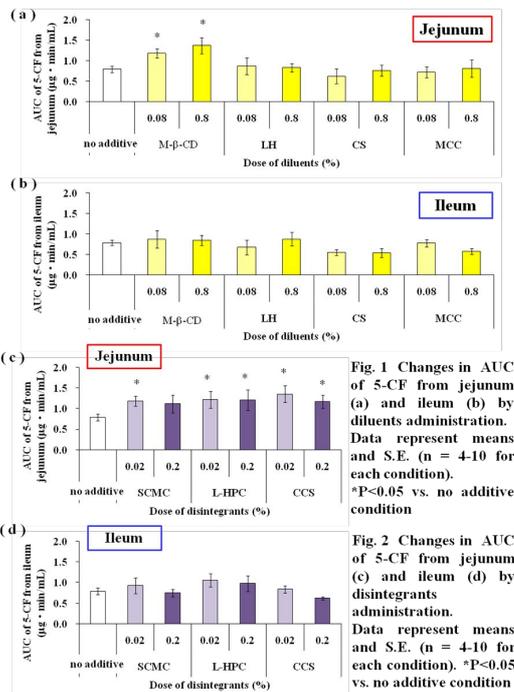


Fig. 1 Changes in AUC of 5-CF from jejunum (a) and ileum (b) by diluents administration. Data represent means and S.E. (n = 4-10 for each condition). *P<0.05 vs. no additive condition

Fig. 2 Changes in AUC of 5-CF from jejunum (c) and ileum (d) by disintegrants administration. Data represent means and S.E. (n = 4-10 for each condition). *P<0.05 vs. no additive condition

【結合剤】0.02% HPCの添加により、空腸・回腸両部位において5-CFの膜透過は減少し、0.2% HPCでは両部位において5-CFの膜透過に増加が認められた。一方でHPMCにおいては、回腸において0.02%で5-CFの膜透過に減少傾向が認められたが、有意な変化は認められなかった。0.02および0.2% PVP (K29/32)添加条件においては、空腸・回腸ともに5-CFの膜透過に増加傾向が認められ、回腸においては投与量（濃度）依存的な有意な増加が認められた。またPVP (K90)添加では、回腸において0.02%で有意な減少が認められたが、0.2%では有意な増加が認められた。一方、空腸においては変化が認められなかった。(Fig. 3)【放出制御剤】ECとMCの両投与量（濃度）において、回腸では5-CFの膜透過に有意な変化は認められなかったが、空腸においては、0.08% ECおよび0.8% MCにおいて5-CFの膜透過に有意な増加が認められた。(Fig. 4)【滑沢剤】SA、CSおよび0.004% MS添加条件下では、空腸・回腸共に5-CFの膜透過に有意な変化は認められなかったが、0.04% MS添加条件において、空腸・回腸共に有意な増加が認められた。0.004% GMS投与条件下では、空腸でのみ有意な5-CFの膜透過亢進作用が認められたが、回腸および0.04%では変化が認められなかった。同様に、SAAS投与条件下でも、空腸において0.04%で有意な増加が認められたが、他の条件では変化が認められなかった。(Fig. 5)

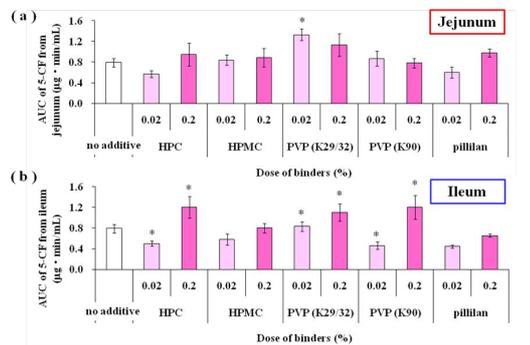


Fig. 3 Changes in AUC of 5-CF from jejunum (a) and ileum (b) by binders administration. Data represent means and S.E. (n = 4-10 for each condition). *P<0.05 vs. no additive condition

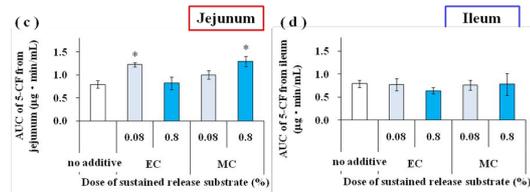


Fig. 4 Changes in AUC of 5-CF from jejunum (c) and ileum (d) by sustained release substrate administration. Data represent means and S.E. (n = 4-10 for each condition). *P<0.05 vs. no additive condition

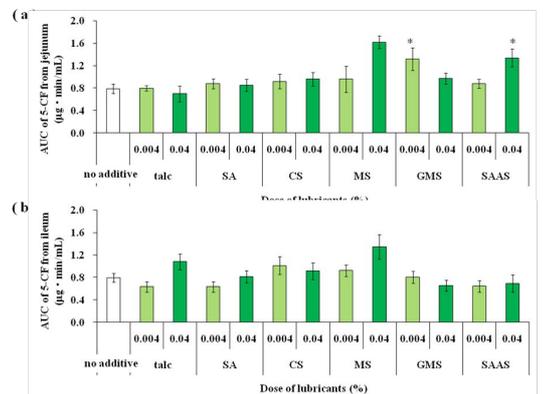
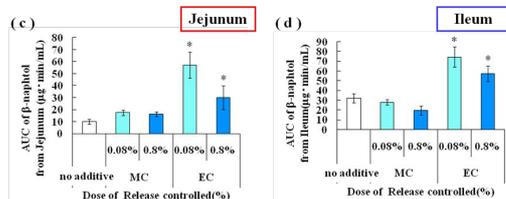
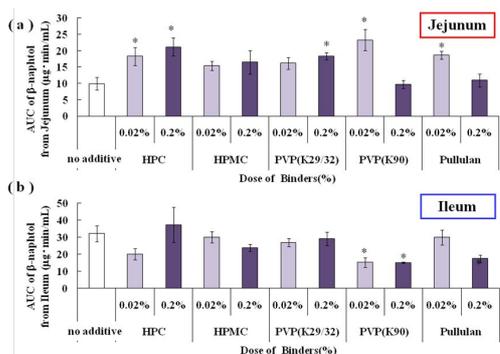
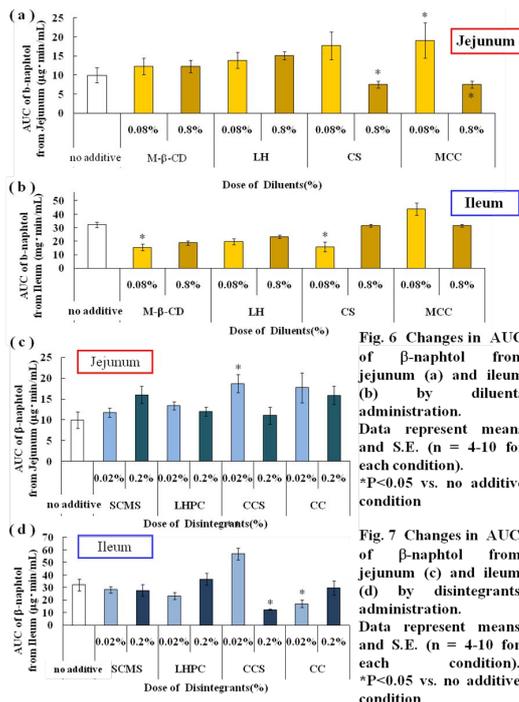


Fig. 5 Changes in AUC of 5-CF from jejunum (a) and ileum (b) by lubricants administration. Data represent means and S.E. (n = 4-10 for each condition). *P<0.05 vs. no additive condition

細胞内経路への影響：【賦形剤】M-β-CD添加条件において、回腸における細胞内経路透過基質であるβ-naphtholの膜透過は、M-β-CDの投与量（濃度）が低濃度の場合に減少した。しかしながら、高濃度では有意な変化は認められなかった。CSにおいては空腸で高濃度の場合に、回腸では低濃度の場合に共に膜透過が減少した。MCCにおいては、両濃度において空腸でのみ有意な変化が認められた。LHでは有意な変化は見られなかった。(Fig. 6)【崩壊剤】CCS添加条件では、空腸・回腸共に低濃度でβ-naphtholの膜透過は有意に増加した。しかしながら、高濃度では回腸部において有意な減少が認められた。また、CCでは回腸部において低濃度で有意な減少が認められた。SCMS、LHPCでは空腸・回腸共に有意な変化は認められなかった。(Fig. 7)【結合剤】HPCの添加により、空腸でのみβ-naphtholの膜透過は両濃度で増加した。PVP(K29/32)では空腸部において高濃度で膜透過が増加した。しかしながら、回腸部では変化が認められなかった。PVP(K90)では空腸では低濃度でのみ膜透過の増加が認められ

た。しかしながら、回腸では両濃度において減少が認められた。プルランでは空腸において低濃度で増加が、回腸部において減少が認められた。HPMC においてはどの条件下でも変化は生じなかった。(Fig. 8)【放出制御剤】MC の両投与量(濃度)において、空腸・回腸共に変化は認められなかった。EC では空腸で β -naphthol の膜透過に有意な変化が認められた。回腸部では高濃度の場合においてのみ減少が認められた。(Fig. 9)



【滑沢剤】 talc, SA において、空腸では膜透過に変化は認められなかったが、回腸部において有意に減少が認められた。CS では空腸部において高濃度において増加が認められた。MS、GMS、SAAS 投与条件下では、全ての添加物で回腸において低濃度条件下で有意な減少が認められた。しかしながら空腸部での変化は MS 空腸において低濃度でのみ有意な β -naphthol の膜透過亢進作用が認められた。(Fig. 10)

意な減少が認められた。しかしながら空腸部での変化は MS 空腸において低濃度でのみ有意な β -naphthol の膜透過亢進作用が認められた。(Fig. 10)

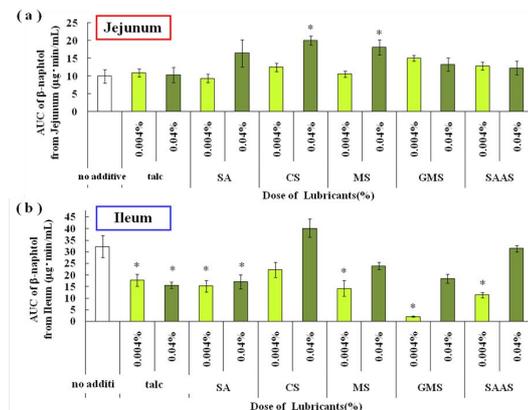


Fig. 5 Changes in AUC of β -naphthol from jejunum (a) and ileum (b) by lubricants administration. Data represent means and S.E. (n=4-10 for each condition). *P<0.05 vs. no additive condition

(2) 医薬品添加剤の消化管粘膜透過性に与える影響に、部位差が存在するかかの検討を行った。細胞間隙経路を介した膜透過に対しては、医薬品添加剤の消化管粘膜への影響は、小腸上部(空腸)と下部(回腸)とで異なることが示された。(Fig. 1-10) また、それらの影響は空腸の方が受けやすい傾向が認められた。一方、細胞内経路を介した膜透過に対しては、医薬品添加物の用途別で傾向が異なると思われる。(Fig. 1-10)

(3) 各経路を介した消化管粘膜透過性に影響を及ぼした医薬品添加剤において、その変動機構を明らかにするために、claudin family や mucin などの各種吸収制御因子のタンパク発現変動を検討したが、有意な変動は認められなかった。従って、本研究において、各種医薬品添加剤が消化管粘膜透過性を亢進、および抑制する両方の効果を有することを明らかにしたものの、医薬品添加剤の消化管粘膜への影響の作用機序の解明にまではいたらなかった。

本研究の成果は、医薬品添加剤の配合変化による製剤設計の最適化を図るうえで、有益な情報となると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 7 件)

瀧沢裕輔、古屋貴人、後藤希望、相澤裕貴、岸本久直、富田幹雄、林 正弘、医薬品添加剤の腸管膜透過性に対する影響 - Paracellular route における検討 -、日本薬剤学会第 28 回年会、2013 年 5 月 23 日、ウインクあいち(愛知県・名古屋市)

相澤裕貴、瀧沢裕輔、古屋貴人、後藤希望、岸本久直、富田幹雄、林 正弘、医薬品添加剤の腸管膜透過性に対する影響 -

Transcellular route における検討 - 、日本薬剤学会第 28 回年会、2013 年 5 月 23 日、ウインクあいち（愛知県・名古屋市）

瀧沢裕輔、古屋貴人、相澤裕貴、後藤希望、坂本隼哉、古野友香、岸本久直、井上勝央、富田幹雄、林 正弘、細胞間隙経路を介した膜透過に対する医薬品添加剤の影響、日本薬物動態学会第 28 回年会、2013 年 10 月 10 日、タワーホール船堀（東京都・江戸川区）

相澤裕貴、瀧沢裕輔、古屋貴人、後藤希望、坂本隼哉、古野友香、岸本久直、井上勝央、富田幹雄、林 正弘、細胞内経路を介した膜透過に対する医薬品添加剤の影響、日本薬物動態学会第 28 回年会、2013 年 10 月 10 日、タワーホール船堀（東京都・江戸川区）

瀧沢裕輔、岸本久直、井上勝央、各種医薬品添加剤の小腸粘膜透過性に与える影響、第 57 回日本薬学会関東支部大会、2013 年 10 月 26 日、帝京大学板橋キャンパス（東京都・板橋区）

岸本久直、瀧沢裕輔、井上勝央、薬物の小腸粘膜透過性に対する各種医薬品添加剤の影響、日本薬剤学会第 29 回年会、2014 年 5 月 22 日、大宮ソニックシティ（埼玉県・さいたま市）

Yusuke Takizawa, Hisanao Kishimoto, Takahito Furuya, Katsuhisa Inoue. Changes in drug absorption by pharmaceutical excipients in rat small intestine. 19th North American International Society for the Study of Xenobiotics Meeting/ 29th Japanese Society for the Study of Xenobiotics Meeting. 19 Oct. 2014, San Francisco (USA).

6 . 研究組織

(1)研究代表者

瀧沢 裕輔 (TAKIZAWA, Yusuke)

東京薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：40453807