

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 3 日現在

機関番号：35413

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860133

研究課題名(和文) 難溶性薬物の消化管内溶解性部位差を考慮した新規薬物消化管吸収性予測法の構築

研究課題名(英文) Predicting effect of solubilizers on the oral absorption of a low soluble drug by considering the regional differences in membrane permeability and solubility

研究代表者

田中 佑典 (Tanaka, Yusuke)

広島国際大学・薬学部・助教

研究者番号：10435068

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本課題において、我々は吸収部位差に基づいた新規薬物消化管吸収性予測法の開発を試みた。その結果、消化管各部位の人工腸液を用いて予測したalbendazole(AZ)経口投与後の吸収率(Fa)は、in vivo Faと極めて近い値を示した。また、小腸上部人工腸液を利用して得られたAZ膜透過性および飽和溶解度のみを用いてFaを予測した場合、その値はin vivoにおけるFa値の2/3程度であった。また、可溶化剤による吸収性改善効果も各部位の人工腸液を利用することにより、予測精度の向上が認められた。以上、本研究は難溶性薬物の新規消化管吸収性予測法として極めて有用であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop a novel approach for predicting the oral absorption of low-solubility drugs and the effect of solubilizers by considering regional differences in solubility and permeability within the gastrointestinal(GI) tract using newly developed simulated upper and lower intestinal fluids. The solubility and permeability of AZ estimated using the upper and lower simulated GI fluids were about 15.8 and 34.3 g/mL and 3.9 and 3.3 ×10⁻⁵ cm/sec, respectively. When adding dimethyl sulfoxide and beta-cyclodextrin as solubilizers into the two simulated GI fluids, the solubility and permeability were almost unchanged in the both fluids. On the other hand, the AZ solubility was significantly increased by adding Vitamin E-TPGS while the permeability was to some extent decreased. The predicted Fa values using these solubility and permeability data were correspond closely to the in vivo data, and its absorption enhancement by solubilizers was also predicted accurately.

研究分野：生物薬剤学

キーワード：消化管吸収 吸収部位差 吸収予測

1. 研究開始当初の背景

経口投与と製剤の開発において、ヒトにおける消化管吸収性を前臨床試験の段階で精度よく予測することは開発の効率化を図る上で極めて重要である。

薬物の消化管吸収性の予測に関しては現在幅広く研究が行われており、現在では、薬物の消化管内での溶解性を評価するため、空腹時および、摂食時における人工腸液が開発されている。¹⁾しかしながら、これらの人工腸液は小腸上部のみより採取された水分中の胆汁酸やリン脂質濃度等の情報を基に作られている。消化管は非常に長い臓器であるため、薬物の溶解に影響を与える胆汁酸やリン脂質濃度には大きな部位差が存在すると考えられる。我々は、ラットの胃、空腸上部、空腸下部の各水分中における胆汁酸やリン脂質濃度を測定した結果、これらの濃度には大きな部位差が存在することを報告した。²⁾従って、小腸上部に存在する水分の情報を基に作製した人工腸液のみを使用して予測した管腔内での薬物溶解性および消化管吸収性は、十分な予測精度を誇っているとは言い難い。^{3,4)}

2. 研究の目的

本研究は消化管各部位に存在する水分中の種々成分濃度の情報を基に小腸上部および下部の人工腸液を開発し、消化管各部位での薬物溶解性の部位差を考慮した新しい消化管吸収性予測法を構築することである。

3. 研究の方法

モデル薬物

モデル薬物には代表的な難水溶性薬物である albendazole(AZ)を選択した。

ラットの上部人工腸液および下部人工腸液の作製

実際の消化管内総胆汁酸濃度、リン脂質濃度、pH を反映したラットの空腸上部人工腸液 (FaSSIF_{upper}) および下部の人工腸液 (FaSSIF_{lower}) を作製した。胆汁酸成分としてタウロコール酸、リン脂質成分として卵黄レシチンを使用した(図 1)。

図 1 ラットの絶食時小腸上部人工腸液 (FaSSIF_{upper})、および小腸下部人工腸液 (FaSSIF_{lower}) の組成

	タウロコール酸Na (mM)	卵黄レシチン (mM)	pH
FaSSIF _{upper}	50	3.7	7.0
FaSSIF _{lower}	100	0.1	7.0

AZ の消化管吸収性予測

AZ の吸収予測には Maximum Absorbable Dose (MAD) の式 ($X_{at} = P \times S \times Cs \times t$) を利用した。本検討では、吸収部位差を考慮するため、小腸上部および下部の 2 つの部位における P, S, Cs, t を評価し、それぞれの部位からの吸収

量を求め、それらを合計することにより消化管全体からの総吸収量を算出した。さらに総吸収量を投与量で除すことにより、消化管吸収率として予測した。各パラメータの具体的な評価法は以下の通りである。

Cs(薬物の飽和溶解度)：消化管各部位の新規人工腸液を利用して AZ の飽和溶解度を測定した。

P(薬物の小腸膜透過性)：各部位の人工腸液に AZ を溶解させ、各薬液をそれぞれ対応するラット消化管部位に注腸投与し、*in situ* closed loop 法により各部位の AZ 膜透過性を評価した。

S(小腸表面積)：消化管各部位の表面積は小腸の長さを直接測定することにより算出した。

t(消化管内薬物滞留時間)：ラットに AZ を経口投与した後の、消化管各部位の薬物濃度 時間推移を直接測定し、どの程度飽和溶解度が持続しているのかを評価した。

可溶化剤による AZ の消化管吸収性改善効果の予測

可溶化剤には一般的によく使用され、可溶化機序の異なるジメチルスルホキシド (DMSO)、β-シクロデキストリン(β-CD)、ビタミン E TPGS(TPGS)を用いた。これら可溶化剤を人工腸液に添加した状態で測定した AZ の P および Cs を MAD の式に当てはめることにより可溶化剤による AZ の吸収改善効果を予測した。

AZ の *in vivo* 吸収性評価

AZ 経口投与後の血漿中濃度推移より AZ の Fa の実測値を評価し、本予測法の妥当性を評価した。

4. 研究成果

小腸上部および下部の表面積の算出 (S_{upper}, S_{lower})

消化管を摘出して長さを測定したところ、小腸は約 72.2cm であった。本研究では小腸上部と下部の長さを、それぞれ 36.1cm とし、小腸半径 0.18cm を用いてみかけの表面積を計算した。その結果、小腸上部および下部の表面積は 40.8cm² であった。

小腸上部および下部の AZ 飽和溶解度の評価 (Cs_{upper}, Cs_{lower})

上部および下部の人工腸液における AZ の飽和溶解度はそれぞれ約 15、34 μg/mL であった。各人工腸液に種々可溶化剤を加えた場合、DMSO(10%) およびβ-CD(1.5%) ではほとんど溶解度の改善は見られなかったが、TPGS(2%) 添加では、上部で約 1.5 倍、下部で約 1.3 倍の溶解度の改善が見られた。

小腸上部および下部の AZ 膜透過性の評価 (P_{upper} , P_{lower})

ラット小腸上部および下部における AZ 膜透過性はそれぞれ 4×10^{-5} および 3.2×10^{-5} cm/sec であった。各人工腸液に種々可溶化剤を加えて膜透過性を測定した場合、TPGS 添加で若干の膜透過性の減少が見られたが、いずれの可溶化剤も AZ の膜透過性に大きな影響は与えなかった。

小腸上部および下部における AZ の滞留時間の評価 (t_{upper} , t_{lower})

実際の小腸上部および小腸下部の水分中における AZ 飽和溶解度はそれぞれ約 15、30 μ g/mL であった。これは、各人工腸液における溶解度の値とほぼ同じであった。消化管内 AZ 濃度は小腸上部では投与後平均的に約 1.0h、小腸下部では投与後約 2.5 時間まで飽和溶解度近くで推移していることが示された。そこで、小腸上部および下部の消化管内 AZ 滞留時間 t_{upper} および t_{lower} はそれぞれ 1.0、2.5h とした。

AZ の消化管吸収性予測

MAD の式より 4 mg の AZ 投与時の小腸上部、下部および総吸収率 (F_a) を予測した。また、比較のため、小腸上部の人工腸液のみを用いて評価した膜透過性および溶解度の値を用いて F_a をシミュレートも行った。

可溶化剤非添加の場合、各部位の人工腸液を用いて予測した F_a 値は約 12.6% であった。血漿中 AZ 濃度から算出した *In vivo* における F_a 値は約 14.3% であり、予測値と非常に近い値となった。一方、小腸上部の人工腸液のみを用いてシミュレートした場合、 F_a の予測値は 8.0% と実測値からやや外れるという結果となった。

また、DMSO (10%) および β -CD (1.5%) を用いた場合、*in vivo* F_a の改善は見られなかった。これら可溶化剤を各人工腸液に添加して予測した F_a 値も可溶化剤非添加時とほぼ同様の値となった。

一方、TPGS (2%) 添加では、AZ の F_a は 21% に改善した。また、予測値においても同様の吸収改善率が示された。

以上、小腸上部および下部の人工腸液を利用して、AZ の膜透過性および溶解度の部位差を評価することにより、消化管吸収率 (F_a) を精度良く予測することが可能であり、その予測精度は小腸上部の人工腸液のみを利用した場合より高くなった。

本研究は簡単な *in vitro* 実験で *in vivo* での薬物消化管内溶解性・吸収性を予測するため、無駄な臨床試験の回避、開発期間の短縮さらには医療費の削減に貢献できると

考えられ、優れた新薬の開発に大きなインパクトを与えると期待される。

<引用文献>

- 1) Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. Galia E, Nicolaidis E, Hörter D, Löbenberg R, Reppas C, Dressman JB. *Pharm Res*, 15, 698-705. 1998.
- 2) Regional Differences in the Components of Luminal Water from Rat Gastrointestinal Tract and Comparison with Other Species. Tanaka Y, Hara T, Waki R, Nagata S. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 15(4): 510-518. 2012.
- 3) Biorelevant dissolution testing to predict the plasma profile of lipophilic drugs after oral administration. Nicolaidis E, Symillides M, Dressman JB, Reppas C. *Pharm Res*. 18(3):380-8. 2001.
- 4) Using biorelevant dissolution to obtain IVIVC of solid dosage forms containing a poorly-soluble model compound. Lue BM, Nielsen FS, Magnussen T, Schou HM, Kristensen K, Jacobsen LO, Müllertz A. *Eur J Pharm Biopharm*. 69:648-57. 2008.

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)

[雑誌論文](計 件)

[学会発表](計 2 件)

日本薬剤学会第 29 年会
19th North American ISSX AND 29th JSSX Meeting

[図書](計 件)

[産業財産権]
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 佑典 (TANAKA, Yusuke)
広島国際大学・薬学部・助教
研究者番号：10435068

(2) 研究分担者

長田 俊治 (NAGATA, Shunji)
広島国際大学・薬学部・教授
研究者番号：00412354

(3) 連携研究者

()

研究者番号：