

## 《若手研究者紹介》



## 難溶解性薬物の消化管内溶解性・吸収性の部位差と種差

田 中 佑 典\* Yusuke Tanaka

広島国際大学薬学部製剤学研究室

## 1. は じ め に

筆者が摂南大学薬学部3回生だった当時、薬剤学の講義は山下伸二教授および坂根稔康講師（現、京都薬科大学薬剤学分野准教授）が担当されていた。その時、筆者は医薬品がある病気に対して効果を発揮するためには、単に化合物が薬理効果を持っているかどうかだけでなく、化合物の体内での動き方も重要であることを初めて知り、薬剤学に非常に興味を持った。両先生の講義は非常に分かりやすく、学生への思いやりに溢れていた。そして、先生方からもっと指導を受けたいという思いから、薬剤学研究室への配属を希望した。薬剤学研究室は毎年抽選になるほどの人気の研究室であったが、筆者が3回生だった年は幸運にも薬剤学研究室への希望者が例年ほど多くなく、すんなりと配属が決まった。そして配属決定後、ある飲み会の席で山下先生から「研究には夢がある。大学院に進学せんか?」と誘われ、同大学院進学を決めた。山下先生は当時から薬物の消化管吸収に関する研究を活発にされていたので、大学院生を確保しなかったのだと思われる。ともあれ、倍率の高い薬剤学研究室へ運良く入れたことが、筆者が研究の道へと進むきっかけとなった。修士課程在籍時は、主に消化管内薬物濃度に基づいた消化管内水分量の評価および新規吸収性評価法の構築に

取り組み、修士（薬学）を取得した。そして、2006年に広島国際大学薬学部へ赴任し、長田俊治教授主宰の製剤学研究室で経口吸収・経口製剤の研究に携わることとなる。2007年には広島大学大学院医歯薬学総合研究科社会人博士後期課程に入学し、医療薬剤学研究室の高野幹久教授の下、難溶解性薬物のナノ粒子化の研究に従事し、博士（薬学）を取得した。実験は主に広島国際大学の方で行っていたため、広島大学には週1回通う程度であったが、そこで学んだことは多く、現在の筆者の研究に対する考え方の礎になっている。当研究室では現在、医療用インクの開発、先発/後発経口医薬品の溶出性の比較などの様々な研究を行っているが、本稿では筆者が最近主として取り組んでいる難溶解性薬物の消化管内溶解性・吸収性の種差と部位差に関する研究内容を紹介させて頂きたい。

## 2. 消化管内水分中の胆汁酸・リン脂質濃度の部位差

薬物の消化管内での溶解性および吸収性をより *in vivo* に近い条件で評価するため、消化管内水分中の胆汁酸やリン脂質濃度、pHなどを反映した人工腸液が開発されている。現在では、ヒトおよびイヌの空腹時における人工腸液、Fasted state simulated intestinal fluid (FaSSiF) と、摂食時における人工腸液、Fed state simulated intestinal fluid (FeSSiF) が大学、製薬企業において幅広く利用されている。しかしながら、これらの人工腸液は実際の小腸上部における水分の情報を基に調製されており、消化管下部の水分特性は十分反映されていない。経口投与された難溶解性薬物は、その大部分が未溶解のまま

\*2006年摂南大学大学院博士前期課程修了、同年広島国際大学製剤学研究室助手（現助教）、2010年広島大学大学院博士後期課程修了、博士（薬学）。受賞歴：第7回製剤研究フォーラムベストポスター賞、平成19年度日本薬学会中国四国支部学生奨励賞。趣味：スノボ、ボーリング、将棋。連絡先：〒737-0112 広島県呉市広古新5-1-1 E-mail: y-tanaka@ps.hirokoku-u.ac.jp

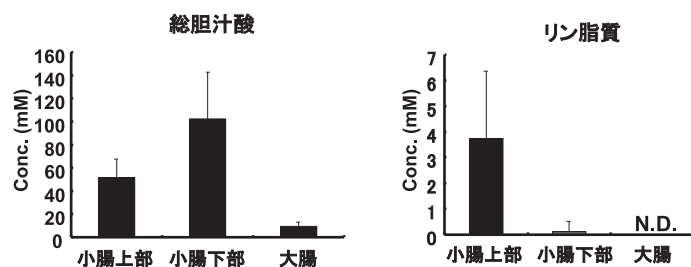


図1 ラット消化管各部位の総胆汁酸およびリン脂質濃度

消化管下部へ到達するケースが多いと考えられ、また、薬物の消化管内滞留時間は上部に比べて、下部において長いことから、難溶解性薬物の消化管下部での溶解挙動はその吸収により大きな影響を与えるものと予想される。そのため、消化管下部での薬物溶解性を評価することは、難溶解性薬物の消化管吸収性を精度良く予測・評価するためには極めて重要であると考えられる。そこで、消化管下部の人工腸液を調製し、消化管下部での薬物溶解性を評価することを目的として、ラット消化管各部位の胆汁酸・リン脂質濃度の評価を試みた。筆者は摂南大学大学院に在籍していた頃、「経口投与後の消化管内薬物濃度の解析」というテーマのもと研究に取り組んでおり、ラットの消化管内に滞留している水分を直接採取することにより *in vivo* における消化管内薬物濃度の評価法を確立した<sup>1)</sup>。本検討では、その手法を応用して、消化管内の胆汁酸およびリン脂質濃度の部位差を評価した<sup>2)</sup>。その結果、小腸上部、小腸下部および大腸内における水分中の総胆汁酸濃度はそれぞれ、約 50, 100, 10 mM と、小腸下部で最も高く、大腸で最も低い値となり、大きな部位差が観察された (図 1)。これは、胆汁酸が小腸下部へ移行するに従って濃縮されることにより、下部において濃度が上昇し、その後、回腸で高発現している apical sodium-dependent bile acid transporter (ASBT) により効率よく吸収されたため、大腸内では胆汁酸濃度が著しく低下したと考えられた。また、リン脂質においては小腸上部で最も濃度が高く (約 3.7 mM)、小腸下部、大腸ではほとんど検出されなかった (図 1)。これらの結果は、難溶解性薬物の消化管内での溶解性および、それに伴う吸収性には大きな部位差が存在することを示唆していると考えられる。

### 3. 消化管下部人工腸液を利用した難溶解性薬物の消化管吸収性予測

医薬品開発のできるだけ早い段階で候補化合物の消化管内での溶解性を評価し、その吸収性を予測することは極めて重要である。ラット消化管内水分の胆汁酸およびリン脂質濃度を測定した結果、それらには大きな部位差が存在することが明らかとなり (図 1)、難溶解性薬物の吸収性を精度良く予測するためには、消化管下部での薬物溶解性を評価することが重要であることが示唆された。しかしながら、現在では消化管下部での薬物溶解性を評価するための消化管下部人工腸液の利用はほとんど報告されていない。そこで、筆者は難溶解性薬物の消化管吸収性予測における下部人工腸液の有用性について検討を行った<sup>3)</sup>。本検討では、モデル薬物として、BCS class II に分類される griseofulvin (GF) を用い、その吸収性予測には Maximum Absorbable Dose (MAD) の式 ( $X_{a,t} = P \times S \times C_s \times t$ ) を利用した。 $X_{a,t}$  は時間  $t$  における消化管からの薬物吸収量、 $P$  は薬物の消化管膜に対する膜透過性、 $S$  は消化管内表面積、 $C_s$  は消化管内溶液における薬物の飽和溶解度、 $t$  は消化管内薬物濃度とその飽和溶解度で推移している時間である。本検討では、吸収の部位差を評価するため、消化管を小腸上部、小腸下部、大腸の 3 つの部位に分けた。そして、各部位における  $P$ ,  $S$ ,  $C_s$ ,  $t$  を評価することにより、それぞれの部位からの吸収量 ( $X_{a,upper,t}$ ,  $X_{a,lower,t}$  および  $X_{a,colon,t}$ ) を MAD の式から求め、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 ( $X_{a,total,t}$  ( $X_{a,upper,t} + X_{a,lower,t} + X_{a,colon,t}$ )) を算出した。さらに  $X_{a,total,t}$  を投与量で除すことにより、消化管吸収率 ( $F_a$ ) を評価した。

まず、ラット絶食時小腸上部人工腸液 ( $F_aSSIF_{upper}$ )、小腸下部人工腸液 ( $F_aSSIF_{lower}$ ) および人工大腸液

表1 ラットの絶食時における小腸上部人工腸液 (FaSSiF<sub>upper</sub>), 小腸下部人工腸液 (FaSSiF<sub>lower</sub>) および人工大腸液 (FaSSCoF) の組成

	タウロコール酸 Na (mM)	コール酸 Na (mM)	デオキシコール酸 Na (mM)	卵黄レシチン (mM)	pH
FaSSiF <sub>upper</sub>	50	—	—	3.7	7.0
FaSSiF <sub>lower</sub>	100	—	—	0.1	7.0
FaSSCoF	—	4.5	4.5	—	6.6

表2 GF 25 mg 経口投与における各 Fa 値

	小腸上部	小腸下部	大腸	総吸収率
<i>In vivo</i> Fa の 3 時間値				20.8%
各人工腸液より算出した Fa	5.2%	12.4%	0.5%	18.1%
FaSSiF <sub>upper</sub> のみより算出した Fa	5.2%	6.3%	1.8%	13.3%

(FaSSCoF) を調製した (表 1). これらに含まれている胆汁酸, リン脂質濃度および pH の値は全て, 実測値に基づいている. 続いて, 消化管各部位の各パラメータ (P, S, Cs, t) について検討を行った. 消化管各部位のみかけの膜透過性は対応する人工腸液に GF を溶解させ *in situ* closed loop 法により, 飽和溶解度は Shake-Flask 法により評価した. 消化管各部位の飽和溶解度持続時間は, 経口投与後の消化管内 GF 濃度を測定することにより求め, みかけの表面積は小腸および大腸の長さを直接測り計算した.

各パラメータを用いて, 投与後 3 h における Fa を予測した結果を表 2 に示す. また, 比較のため, *in vivo* Fa 値および小腸上部の人工腸液を用いて評価した膜透過性および溶解度の値のみを利用して Fa をシミュレートした結果も合わせて示した. 3 時間における *in vivo* Fa の値は 20.8% であり, 各部位の人工腸液を用いて予測した Fa の 3 時間値 18.1% 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, Fa の 3 時間値は 13.3% と実測値の 20.8% からやや外れるという結果となった. 各部位の人工腸液を用いて予測を行った場合, GF 経口投与後 3 時間までの吸収率は小腸下部で約 12.4% と, 小腸下部で最も吸収されているという結果となった. 一方, FaSSiF<sub>upper</sub> のみを用いて予測を行った場合, 小腸下部での吸収率は 6.3% と小腸下部人工腸液を用いた場合と比べ半分程度低く, この過小評価が部位差を考慮しなかった場合の予測精度の低下につながったと考えられた. 本稿では誌面の関係上データは載せていないが,

BCS Class II の albendazole に関しても, 消化管下部人工腸液を利用することにより, その吸収性予測の精度向上が認められた. 従って, 小腸上部・下部および大腸の人工腸液を利用して, 難溶解性薬物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, 消化管吸収性を精度良く予測出来ることが示された.

#### 4. 難溶解性薬物の消化管内溶解性・吸収性の種差

薬物の体内動態に関する情報は, 薬の有効性と安全性を科学的に担保する上で必須であり, 前臨床においてもマウス・ラットからサルに至る各実験動物で新規医薬品候補化合物の体内動態の検討が行われる. 臨床試験の移行に際しては, 前臨床で得られた各動物の体内動態からヒトにおける動態が予測され, ヒトでの有効性と安全性を考える上での科学的根拠となる. しかしながら, 経口投与後の生物学的利用率 (Bioavailability ; BA) には, 各動物間とヒトとの間に大きな種差が存在することが知られている. これは, 経口投与後の BA が薬物の消化管内での溶解, 消化管膜を介した膜透過, 小腸・肝臓での代謝と極めて複雑な過程の総合的結果として得られる値であり, 各過程に動物間での種差が存在するためと考えられる. 従って, ある動物で良好な吸収を示した薬物が, ヒトにおいてほとんど吸収されず, 治療に十分な血中濃度を確保できないという事例がしばしば報告されている. これまでに, 経口 BA の種差の原因を明らかにするため, 様々な研究がなされているが, 薬物の膜透過性や小腸または肝臓での代謝の種差に関する報告は多数存在するものの, 消

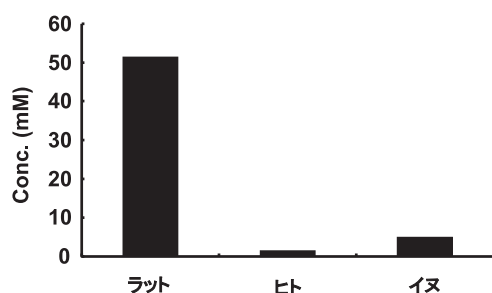


図2 絶食時における各動物の小腸上部内胆汁酸濃度

表3 絶食時における各動物の小腸上部内リン脂質濃度

動物種	リン脂質濃度
ラット	3.7 mM
ヒト	<LOQ (0.2 mM)
イヌ	<LOQ (0.05 mM)

LOQ: limit of quantification

化管内での薬物の溶解性の種差に関しては情報が乏しい。近年、合成される医薬品候補化合物は難溶解性であり、消化管からの吸収が溶解律速となることが知られている。消化管内での薬物の溶解は吸収の第1ステップであることから、消化管内での薬物の溶解性の種差を評価することは、薬物のヒトでの吸収を考える上で極めて重要であると考えられる。こうした経緯から、筆者は難溶解性薬物の消化管内溶解性・吸収性の種差に関する研究を立ち上げた<sup>4)</sup>。まず、薬物の消化管内での溶解に大きく影響を及ぼす要因である胆汁酸、リン脂質濃度について実験または文献を参照し、動物間で比較検討を行った(図2, 表3)<sup>2)</sup>。絶食時の小腸上部における総胆汁酸濃度はヒト・イヌと比較してラットで約50 mMと顕著に高く、次いでイヌ(約5 mM)、ヒト(約3 mM)の順であった。ラットで胆汁酸濃度が著しく高い理由の1つは、胆嚢がないためであると考えられるが、ヒトの摂食時(約15 mM)と比較しても、依然数倍高く、この生物学的意義は不明である。また、リン脂質濃度においてもラットで3.7 mMと著しく高い値であった。以上、胆汁酸およびリン脂質濃度の測定結果からは、難溶解性薬物の消化管内での溶解性はラットで最も高く、次いでイヌ、ヒトの順であると推察される。

続いて、各動物にGFを経口投与した後の吸収率(Fa)を表4に示した。イヌおよびヒトにおけるFa値は文献を参照した。ヒトに4.17 mg/kgのGFを経

表4 各動物におけるGF消化管吸収率(Fa)

動物種	投与量	Fa(%) ± S.D.
ラット	4.17 mg/kg	91 ± 27
	8.33 mg/kg	88 ± 12
ヒト	4.17 mg/kg	80
	8.33 mg/kg	40
イヌ	0.2 mg/kg	85
	2 mg/kg	47

口投与した時のFa値は80%であり、投与量を2倍(8.33 mg/kg)にした場合、そのFa値は40%に低下した。これは、投与量の増大により、消化管内水分中のGF濃度がその飽和溶解度近くまで到達し、それ以上溶解しない状態、すなわち溶解度律速にシフトしたためであると考えられる。一方、ヒトと同様に4.17および8.33 mg/kgのGFをラットに投与した場合、Fa値は共に約90%とヒトで観察されたようなFaの非線形は認められなかった。これは、ラットの消化管内胆汁酸・リン脂質濃度がヒトと比べて顕著に高く、高用量のGFにおいても消化管内で十分溶解したためであると考えられた。また、イヌの場合、消化管内胆汁酸およびリン脂質濃度はヒトよりも高いにもかかわらず、ヒトよりも低い投与量範囲(0.2–2 mg/kg)でFaに非線形が見られた。これは、絶食時のイヌの消化管内水分量がヒトと比べて低いなどの理由が考えられるが、この点に関しては、さらなる検討が必要である。

続いて、GF懸濁液経口投与後の消化管内濃度を測定することにより、ラット消化管内でどの程度GFが溶解しているのかを評価した(図3)。図中の点線はヒトおよびイヌのFaSSIF中におけるGFの飽和溶解度を示している。4.17 mg/kg投与後の小腸上部におけるGF濃度は平均的に約25 µg/mL、小腸下部では約30 µg/mLであった。また、倍量(8.33 mg/kg)投与した場合、GFの消化管内濃度は小腸上部、下部共に2倍近く上昇した。従って、ラットにおいて、この投与量範囲ではGFの吸収は溶解度に律速されていないことが示された。一方、ヒトおよびイヌのFaSSIF中におけるGFの飽和溶解度はそれぞれ約13, 16 µg/mLとラットと比較して低い値であった。従って、ヒトおよびイヌではラットと比較して、投与量の増加により、消化管内薬物濃度がその飽和溶解度に到達しやすく、Faに非線形が現れやすいものと考えられた。

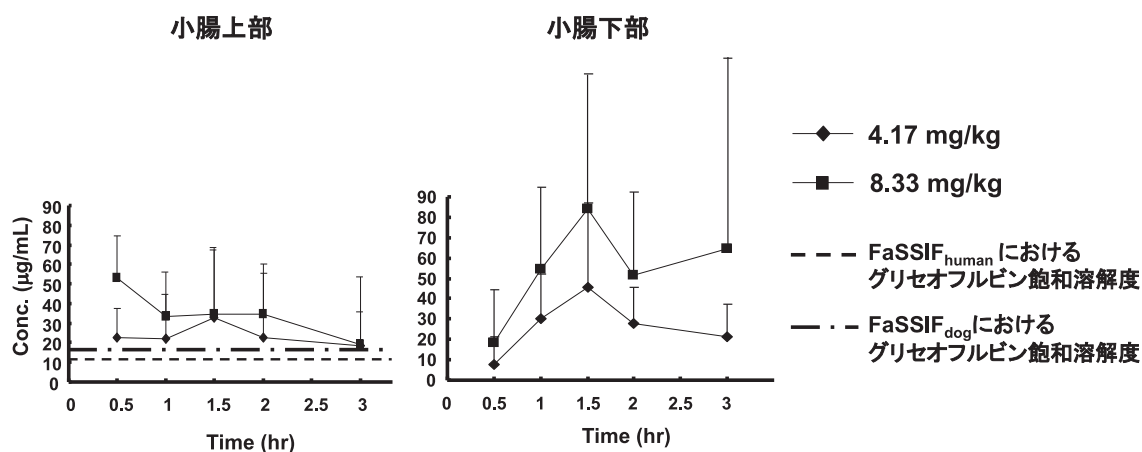


図3 懸濁液経口投与後のラット消化管内GF濃度-時間推移

## 5. おわりに

本稿では、筆者が最近取り組んできた研究について、ダイジェストながら紹介させて頂いた。筆者はこれまで経口吸収、ナノ粒子、生物学的同等性など様々な研究に取り組んできたが、これらの研究を進める中で、多くの諸先生方に出会い、ご指導頂くことが出来た。こうして培った経験が現在、筆者が研究を進める上での礎になっている。今後もこうした経験を活かして、経口吸収の研究に邁進して行きたいと考えている。

終わりに臨み、これまでの研究に際して終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました摂南大学薬学部薬剤学研究室 山下伸二教授、広島大学大学院医歯薬学総合研究科 医療薬剤学研究室 高野幹久教授および広島国際大学薬学部 製剤学研究室 長田俊治教授を始め多くの先生方ならびに修了生、卒業生に深甚なる謝意を表します。

## 引用文献

- 1) Y. Masaoka, Y. Tanaka, M. Kataoka, S. Sakuma, S. Yamashita, Site of drug absorption after oral administration: Assessment of membrane permeability and luminal concentration of drugs in each segment of gastrointestinal tract, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **29**, 240–250 (2006).
- 2) Y. Tanaka, T. Hara, R. Waki, S. Nagata, Regional differences in the components of luminal water from rat gastrointestinal tract and comparison with other species, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **15**, 510–518 (2012).
- 3) Y. Tanaka, K. Tagawa, T. Baba, R. Waki, S. Nagata, Prediction of oral absorption of low-solubility drugs by using rat simulated gastrointestinal fluids: The importance of regional differences in membrane permeability and solubility, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **17**, 106–120 (2014).
- 4) Y. Tanaka, R. Waki, S. Nagata, Species differences in the dissolution and absorption of griseofulvin and albendazole, Biopharmaceutics Classification System class II drugs, in the gastrointestinal tract, *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **28**, 485–490 (2013).