

経口製剤開発のためのヒト経口吸収性評価システム

摂南大学薬学部薬剤学研究室

片岡 誠



1. はじめに

近年新たに上市される医薬品の内、経口投与製剤の割合は減少傾向にあるものの、その利便性や経済的観点から考えると、新規医薬品を経口投与製剤として開発することは特殊な医薬品を除いて第一選択である。しかしながら新たに合成される医薬品候補化合物の物性の悪さ(低水溶性、低膜透過性等)や代謝安定性などの問題から、経口投与後の生物学的利用率が低く薬効発現に必要な血中暴露が得られないことや、吸収に大きな個体内・個体間変動が観察されることなどの理由によって経口剤としての開発を断念するケースがある。その場合、製剤化の手法により候補化合物の吸収改善が望ましいと考えられる。したがって、効率的な経口投与製剤を開発するためには、創薬初期段階でヒトにおける吸収性を予測するとともに、最も有効な製剤化の手法についても十分に考察しておくべきと考えられる。そこで本ノートでは、著者らが考案した *in vitro* 経口吸収評価システムについて概説するとともに本システムの経口投与製剤開発への応用性に関して紹介したい。

2. 難溶性薬物の消化管吸収予測モデル

経口投与された薬物の消化管からの吸収に関するモデル式を下記に示した。

$$Fa \cdot D = \int_0^t C_{\text{intestine}} dt \cdot CL_{\text{perm}} = AUC_0^t \cdot CL_{\text{perm}}$$

全体の吸収量 ($Fa \cdot D$) は消化管内容液中に溶解している薬物濃度 ($C_{\text{intestine}}$) とその薬物の消化管上皮粘膜に対する膜透過クリアランス (CL_{perm}) との積、また、 $C_{\text{intestine}}$ の時間推移を表す曲線の消化管内滞留時間 (t) までの曲線下面積 (AUC_0^t) と CL_{perm} との積としても算出することができる。精密な Fa や血中濃度推移を予測するためには消化管各部位での溶解性や膜透過性の違いなど種々の要因を考慮する必要があるが、基本的に Fa は薬物の溶解性と膜透過性に関するパラメーターから推定可能である。そこで Johnson と Swindell は上式と同様な考えに基づいて化合物の溶解性と膜透過性からその化合物の最大吸収量 (maximum absorbable dose: MAD) の概念を提唱している¹⁾。MAD は、化合物が消化管内容液中に常に飽和溶解度で溶

解しているものと仮定しそれに化合物の膜透過性、吸収に関与する有効表面積さらに滞留時間を掛け合わせることで算出可能であり、創薬初期の溶解性と膜透過性データに基づいたヒト吸収性スクリーニングに有効であると考えられる。しかしながら、消化管内容中には様々な成分が存在しており、特に胆汁酸やレシチンなどの脂質は混合ミセルを形成し、脂溶性薬物をミセル中に取り込むことによってその溶出や溶解速度に大きな影響を及ぼすことが知られている。また、薬物の消化管からの吸収は、基本的には消化管内で溶解し free として存在している薬物濃度に依存すると考えられる(一部の化合物はミセル等から膜への直接分配もある)ことから²⁾、単にその様なミセルを含む溶液中で測定した見かけの溶解度を用いた場合、吸収予測に大きな誤差が生じる可能性が考えられる。さらに、難溶性薬物の吸収改善を目的とした製剤からの吸収を予測する場合にも、同様なことが懸念される。最近では、過飽和を利用した難溶性薬物の吸収改善が盛んに行われており、その吸収予測には過飽和状態の経時的変化を考慮する必要があると考えられる。

3. Dissolution/permeation system

著者らは前項で示した経口投与後の難溶性薬物の消化管吸収予測モデルに基づき、*in vitro* 経口吸収性評価システム (dissolution/permeation system, D/P システム) を構築した³⁾。本システムは図1のように、管腔側と漿膜側からなる chamber システムで、その間に消化管上皮細胞のモデル膜 (Caco-2 単層膜や MDCKII 細胞など) を装着して使用する。薬物を固形の状態で(製剤)で管腔側に添加した後、一定時間後に漿膜側に透過する薬物量は、上式で示した消化管から吸収された薬物量に相当すると考えられるた

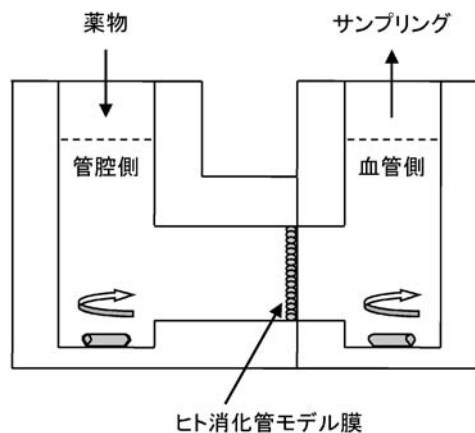


図1 D/P システムの模式図

溶液量：8 mL(管腔側)，5.5 mL(血管側)．溶液 pH：6.5(管腔側)，7.4(血管側)．攪拌速度：200 rpm，ヒト消化管モデル膜面積：1.77 cm²．

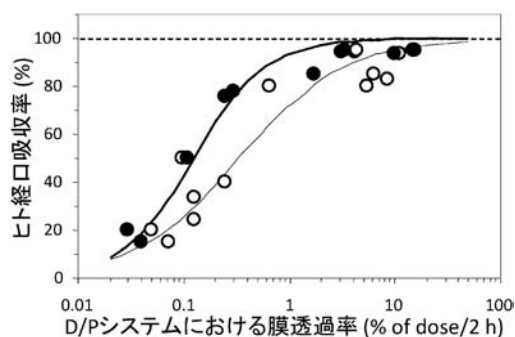


図2 D/Pシステムにおける膜透過率とヒト吸収率との相関
○：絶食時，●：摂食時。

め、本システムでの薬物添加量に対する膜透過量の割合である膜透過率(%)はFaと対応すると考えられる。また、特に難溶性薬物の場合、管腔側への薬物添加量は漿膜側に透過する薬物の割合(膜透過率)に大きく影響を与えるため、本システムへの薬物添加量は臨床(推定)投与量の1/100量と設定し、さらに管腔側溶液として絶食時及び摂食時のタウロコール酸とレシチンを添加した消化管モデル液(FaSSIF, FeSSIF)⁴⁾を基にD/Pシステム用に少し組成を変更した溶液(FaSSIF_{mod}, FeSSIF_{mod6.5})を適用し、絶食時と摂食時の消化管内における薬物溶解を再現している。また、薬物とタンパクとの結合を利用して漿膜側溶液中での溶解度を確保する(sink条件の維持)とともに、実験器具や膜への薬物の吸着を防止する^{5,6)}ことを目的として、ウシ血清アルブミンを4.5 w/v%の濃度で添加した生理的緩衝液(pH=7.4)を漿膜側溶液として用いる。様々な経口吸収特性を示す薬物をモデルとしてD/Pシステムで得られた膜透過率(% of dose/2 h)とヒト経口吸収率(Fa%)には図2に示したように絶食および摂食条件下共に良好な相関関係が認められており、これらの関係から難溶性薬物の経口吸収におよぼす食事の影響を評価することが可能となっている^{7,8)}。

4. 難溶性薬物の吸収の律速過程および線形性評価

経口投与後、溶解性の問題によって吸収が不完全となる様な難溶性薬物の場合、吸収の律速過程として以下の二つのケースが考えられる。

溶解度律速：溶解度自体が低いため、消化管内濃度が十分に上昇しない。

溶解速度律速：消化管内での製剤からの溶解速度が膜透過速度よりも遅い。

一般的に製剤処方最適化のためには、*in vitro* 溶出試験や実験動物を用いた *in vivo* 経口投与試験による評価が必要であると考えられるものの、上記の律速過程は、薬物

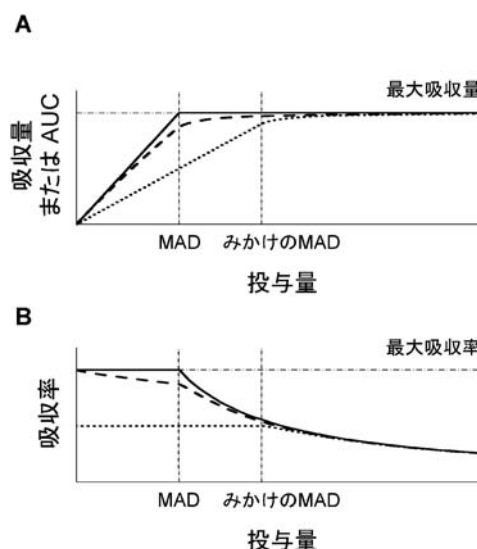


図3 MADのコンセプトに基づく投与量と吸収量(A)と吸収率(B)の関係

の溶解度、製剤からの溶出速度や投与量さらには消化管内溶液量などに影響されるため、実験動物種や試験条件によって律速過程がシフトすることが考えられる。したがって精度の高い吸収性評価を行うためには、ヒトにおける律速段階を正確に評価した上で製剤開発を行う必要がある。

先に紹介したMADの概念を用いて投与量と吸収量との関係をグラフに表すと図3Aの実線の推移を示すと考えられる。溶解度律速を示す薬物の吸収は、投与量=MADまでは吸収量は線形性を示すものの投与量がMADを超えると吸収量は常にMADとなる(点線)。一方、溶解速度律速を示す場合、溶解速度が遅いため投与量がMADを超えても線形性を示すが、吸収量がMADに到達後(投与量=みかけのMAD)以降では吸収量は常にMADとなる(破線)。当然のことながらMADは薬物の溶解度と膜透過性によって変動する。また、縦軸を吸収量から吸収率に変換した場合、図3Bのように溶解度律速を示す薬物の場合はMADを超えると吸収率は顕著に低下するものの、溶解速度律速では、投与量がみかけのMADを超えるまで吸収率は一定となる。そこで、D/Pシステムを用いて難溶性薬物の経口吸収過程における律速段階の評価ならびに吸収の線形性に関する予測を行った。

難溶性薬物の celecoxib や cilostazole は臨床投与量の範囲において投与量の増大にともなって吸収性(AUC/Dose)が低下することが知られている^{9,10)}。そこで両薬物の臨床製剤の粉砕物(各臨床投与量の1/100量)をD/Pシステム(FaSSIF_{mod}を適用)に添加し、管腔側での溶解過程および漿膜側への膜透過過程を測定した。その結果、両薬物共にD/Pシステムへの添加量の増大に伴って、溶解率も膜透過率も顕著に低下した(表1)。一方、難溶性であ

表1 D/P システムにおける溶解と膜透過におよぼす難溶性薬物の添加量の影響とヒト経口吸収の線形性予測

薬物	D/P システムによる <i>in vitro</i> 評価			ヒト経口吸収率予測	
	添加量 (mg)	溶解率 (% of dose/2 h)	膜透過率 (% of dose/2 h)	投与量 (mg)	吸収率予測値 (%)
Celecoxib	1	23.850 ± 1.096	0.415 ± 0.030	100	55
	4	6.992 ± 0.301	0.146 ± 0.010	400	32
	8	3.769 ± 0.030	0.078 ± 0.001	800	22
Cilostazol	0.5	9.797 ± 0.476	0.384 ± 0.047	20	53
	1	5.718 ± 0.271	0.224 ± 0.018	100	41
	2	3.020 ± 0.031	0.136 ± 0.014	200	31
Montelukast Sodium	0.02	83.498 ± 19.564	2.392 ± 0.233	2	85
	0.1	71.690 ± 6.863	1.655 ± 0.326	10	80
	0.5	40.595 ± 1.028	0.809 ± 0.034	50	69
Zafirlukast	0.1	64.557 ± 1.481	0.176 ± 0.019	10	36
	0.2	49.042 ± 2.920	0.156 ± 0.035	20	34
	0.4	54.700 ± 9.726	0.158 ± 0.030	40	34
	0.8	43.365 ± 3.520	0.152 ± 0.019	80	33

るものの臨床投与量の範囲内では線形性が確認されている montelukast sodium¹¹⁾ および zafirlukast¹²⁾ をモデルとして用いたところ, montelukast sodium では添加量の増加に伴う顕著な溶解率と膜透過率が観察されたが, zafirlukast の場合では添加量にかかわらずほぼ一定の溶解率と膜透過率を示した(表1). したがって celecoxib, cilostazole および montelukast sodium の D/P システムにおける膜透過は溶解度律速となっており, また, zafirlukast では溶解速度が膜透過過程の律速段階であると考えられた. 膜透過率(% of dose/2 h)を用いて図2の相関関係より算出した吸収率は, 表1に示したように celecoxib と cilostazole で投与量の増大に伴って顕著に低下すると予測された. また, montelukast sodium では低下したもののその程度は低かった. さらに, zafirlukast ではどの投与量でも吸収率が約35%程度で, 投与量にかかわらず一定になると評価された. 各投与条件下での吸収率予測値と臨床試験より報告されている各薬物の線形性との対応を求めたところ, D/P システムより予測された最低投与量時の吸収率予測値に対する各投与量時の吸収率予測値の割合と臨床試験での最低投与量時の AUC/Dose に対する各投与量時の AUC/Dose の割合との関係は図4に示すように全ての薬物で良好な関係を示した.

そこで著者らは, これら難溶性製薬物の経口吸収における律速段階の評価と MAD との関係について次のように考察した.

Celecoxib, cilostazole: 吸収の律速段階は溶解度で, 投与量の増大に伴って顕著に吸収率が低下していたことから最低臨床投与量で既に MAD を超えている(図3中では

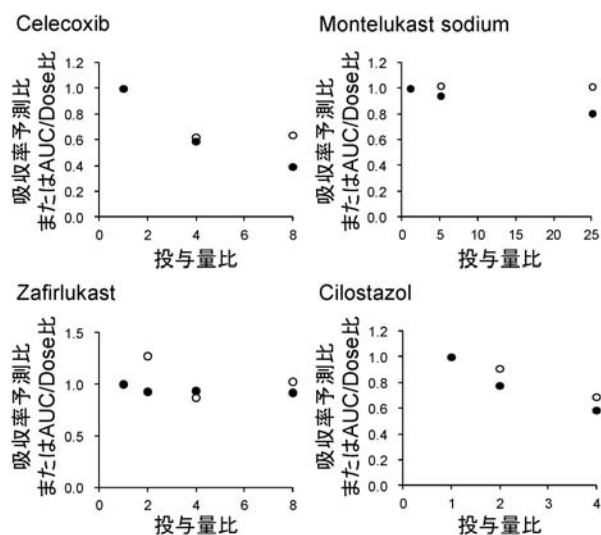


図4 難溶性薬物の吸収の非線形予測とヒト臨床データとの対応
○: AUC/Dose 比(ヒト臨床データ), ●: 吸収率予測比(D/P システム).

MAD 以上の領域)ものと推察された.

Montelukast sodium: 吸収の律速段階は溶解度であるが, 膜透過性が極めて高いため吸収率は比較的高いと考えられた. また, 最大臨床投与量の50 mg は MAD 以下であると考えられた.

Zafirlukast: 吸収の律速段階は溶解速度で, 最大臨床投与量の80 mg ではみかけの MAD 以下である(※ヒト経口吸収率は報告されていないため, ラットを用いた製剤から

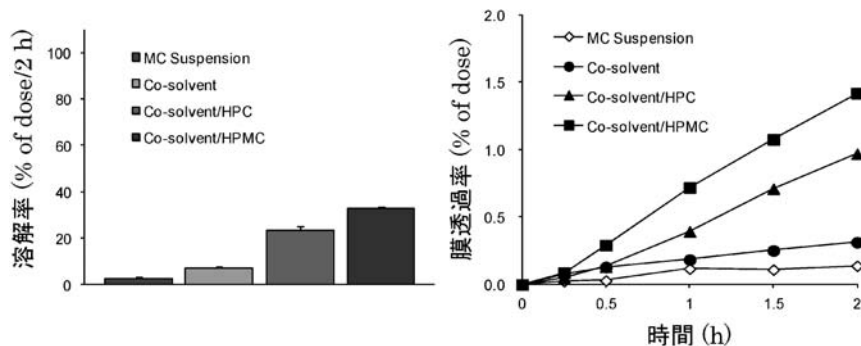


図5 Danazolの溶解と膜透過におよぼす製剤化の影響
薬物添加量：1 mg (danazol として).

の吸収率を可溶性溶液投与後のAUCと相対比較で算出したところ、製剤からの吸収率は約60%であり、ラットでは完全に吸収されないことが示されている).

以上のことからD/Pシステムを用いることによって、難溶性薬物の経口吸収に関する律速段階やMADの予測が可能であり、また、本予測は創薬早期からの第1相臨床試験や製剤化の方向性等に関して有益な情報を提供すると考えられる。

5. 難溶性薬物の製剤化による吸収改善とその評価

難溶性薬物の経口吸収の律速段階の解析に基づいた製剤開発が効率的であり、溶解度律速の薬物の場合には、界面活性剤や自己乳化型製剤などの手法が、また、溶解度律速の薬物の場合には、微粉化やナノクリスタルなどの手法が有効と考えられる。Buchらは、モデル薬物としてfenofibrateを用いて、固体分散体、ナノ粒子化、微粉化、エマルジョン製剤等を調整(一部市販品製剤を使用)し、D/Pシステムより製剤化による吸収改善効果の評価を行うと共に、ラットを用いた*in vivo*での経口吸収改善効果との対応を求めた¹³⁾。その結果、*in vivo*経口吸収改善効果(絶食条件下)とD/Pシステムより予測された各製剤からのfenofibrateの吸収率との間には絶食時、摂食時共に良好な関係が認められている。

近年では、過飽和を利用した難溶性薬物の経口吸収改善が数多く報告されている^{14,15)}。過飽和とは、溶質の飽和溶解度以上で溶質が溶媒に対して溶解している状態のことで、この状態は熱力学的に不安定であり、時間と共に飽和溶解度にまで低下する。しかしながら、この状態を経口投与後に消化管内で作成することによって難溶性薬物の経口吸収改善が可能である。また、水溶性高分子を添加し意図的に過飽和状態を持続させることによって、さらに吸収性が改善することも知られている¹⁶⁾。これらの手法は溶解度以上の状態を作り出すためMAD以上の吸収量が期

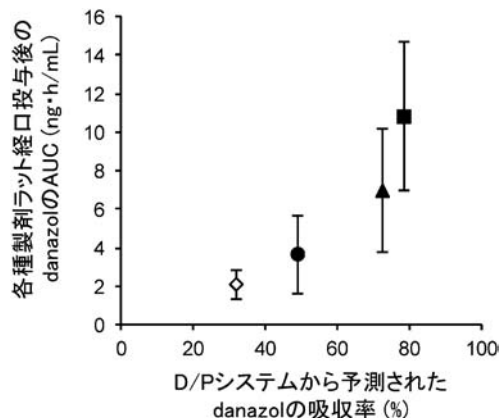


図6 各種製剤によるdanazolの*in vivo*経口吸収改善効果とD/Pシステムを用いた予測との関係

●: Co-solvent, ■: Co-solvent/HPMC, ▲: Co-solvent/HPC, ◇: MC suspension.

待される。そこで経口吸収の律速段階が溶解度と推定されるdanazolをモデル薬物として、polyethylene glycol 400を用いた可溶性製剤、また水溶性高分子であるhydroxypropyl cellulose (HPC)またはhydroxypropyl methylcellulose (HPMC)を添加した製剤も併せて調製し実験に用いた¹⁷⁾。コントロールとして用いた原末(メチルセルロース懸濁液)と比較して可溶性製剤では顕著な溶解率と膜透過率の増加が認められた(図5)。さらに可溶性製剤にHPCまたはHPMCを添加することによって、2時間後の溶解率・膜透過率ともに顕著に上昇しており、これらのことは、可溶性製剤添加後のdanazolの析出の抑制すなわち過飽和状態がより長く水溶性高分子によって持続されていたものと推察された。そこで、D/Pシステムで認められた経口吸収改善効果予測の妥当性を検証するために、ラットを用いて各製剤および原末(メチルセルロース懸濁液)からのdanazolの経口吸収性について検討した結果、図6に示すように両者の間には良好な関係が得られた。

6. おわりに

以上、D/Pシステムの概要から本システムを用いた難溶解性薬物の経口吸収性評価に関する知見を紹介した。現在、本システムを用いた経口吸収性評価法は、国内外問わず多くの製薬企業において実際の医薬品開発プロセスへ導入されつつある。今後、本システムが実際の医薬品開発の効率化ならびにより良い製剤の開発に大きく貢献することを願っている。

参考文献

- 1) Johnson, K. C. and Swindell, A. C.: Guidance in the setting of drug particle size specifications to minimize variability in absorption. *Pharm. Res.*, **13**: 1795–1798 (1996).
- 2) Yano, K., Masaoka, Y., Kataoka, M., Sakuma, S. and Yamashita, S.: Mechanisms of membrane transport of poorly soluble drugs: role of micelles in oral absorption processes. *J. Pharm. Sci.*, **99**: 1336–1345 (2010).
- 3) Kataoka, M., Masaoka, Y., Yamazaki, Y., Sakane, T., Sezaki, H. and Yamashita, S.: *In vitro* system to evaluate oral absorption of poorly water-soluble drugs: simultaneous analysis on dissolution and permeation of drugs. *Pharm. Res.*, **20**: 1674–1680 (2003).
- 4) Galia, E., Nicolaidis, E., Horter, D., Lobenberg, R., Reppas, C. and Dressman, J. B.: Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs. *Pharm. Res.*, **15**: 698–705 (1998).
- 5) Yamashita, S., Furubayashi, T., Kataoka, M., Sakane, T., Sezaki, H. and Tokuda, H.: Optimized condition for prediction of intestinal drug permeability using Caco-2 cells. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **10**: 195–204 (2000).
- 6) Saha, P. and Kou J. H.: Effect of bovine serum albumin on drug permeability estimation across Caco-2 monolayers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **54**: 319–324 (2002).
- 7) Kataoka, M., Masaoka, Y., Sakuma, S. and Yamashita, S.: Effect of food intake on the oral absorption of poorly water-soluble drugs: *in vitro* assessment of drug dissolution and permeation assay system. *J. Pharm. Sci.*, **95**: 2051–2061 (2006).
- 8) Kataoka, M., Itsubata, S., Masaoka, Y., Sakuma, S. and Yamashita, S.: *In vitro* dissolution/permeation system to predict the oral absorption of poorly water-soluble drugs: effect of food and dose strength on it. *Biol. Pharm. Bull.*, **34**: 401–407 (2011).
- 9) Davies, N. M., McLachlan, A. J., Day, R. O. and Williams, K. M.: Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of celecoxib: a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor. *Clin. Pharmacokinet.*, **38**: 225–242 (2000).
- 10) Bramer, S. L., Forbes, W. P. and Mallikaarjun, S.: Cilostazol pharmacokinetics after single and multiple oral doses in healthy males and patients with intermittent claudication resulting from peripheral arterial disease. *Clin. Pharmacokinet.*, **37** (Suppl. 2): 1–11 (1999).
- 11) Ohnishi, A., Ito, M., Toyoki, T., Uchiyama, N., Ochiai, H., Hara, K. and Kamei, T.: A phase I study of MK-476 (montelukast sodium), a new cysteinyl leukotriene receptor 1 antagonist. *J. Clin. Ther. Med.*, **17**: 443–470 (2001).
- 12) Ohnishi, A. and Toyoki, T.: Phase I study of ICI 204,219 (Zafirlukast, Accolate®), a cysteinyl-leukotriene (LT) receptor antagonist in Japanese healthy adult males: single-dose study. *J. Clin. Ther. Med.*, **16**: 1059–1077 (2000).
- 13) Buch, P., Langguth, P., Kataoka, M. and Yamashita, S.: IVIVC in oral absorption for fenofibrate immediate release tablets using a dissolution/permeation system. *J. Pharm. Sci.*, **98**: 2001–2009 (2009).
- 14) Kennedy, M., Hu, J., Gao, P., Li, L., Ali-Reynolds, A., Chal, B., Gupta, V., Ma, C., Mahajan, N., Akrami, A. and Surapaneni, S.: Enhanced bioavailability of a poorly soluble VR1 antagonist using an amorphous solid dispersion approach: a case study. *Mol. Pharm.*, **5**: 981–993 (2008).
- 15) Chokshi, R. J., Zia, H., Sandhu, H. K., Shah, N. H. and Malick, W. A.: Improving the dissolution rate of poorly water soluble drug by solid dispersion and solid solution: pros and cons. *Drug Deliv.*, **14**: 33–45 (2007).
- 16) Guzmán, H. R., Tawa, M., Zhang, Z., Ratanabanangkoon, P., Shaw, P., Gardner, C.R., Chen, H., Moreau, J. P., Almarsson, O. and Remenar, J. F.: Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations. *J. Pharm. Sci.*, **96**: 2686–2702 (2007).
- 17) Kataoka, M., Sugano, K., da Costa Mathews, C., Wong, J. W., Jones, K. L., Masaoka, Y., Sakuma, S. and Yamashita, S.: Application of dissolution/permeation system for evaluation of formulation effect on oral absorption of poorly water-soluble drugs in drug development. *Pharm. Res.*, **29**: 1485–1494 (2012).