

薬物吸収制御因子の解析と吸収改善

木村聰城郎

Analysis of Factors Governing Drug Absorption and Their Improvement

Toshikiro KIMURA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka,
Kita-ku, Okayama 700-8530, Japan

(Received May 19, 2009)

Drugs have to be absorbed through various mucosal membranes including the gastrointestinal (GI) mucosa to express their systemic effects. However, there are a number of factors governing mucosal absorption of drugs and, for drugs with low bioavailability, the reason for the low bioavailability should be analyzed and clarified to improve the bioavailability. This review deals with the results of our biopharmaceutical studies to analyze factors controlling drug absorption and our trials to improve the absorption, especially from the GI tract and oral cavity.

Key words—drug absorption; mucosal membrane; gastrointestinal tract; transit rate; oral cavity; absorption enhancement

1. はじめに

各種粘膜に適用された薬物は、その粘膜を透過して吸収されてはじめて全身的な作用を発揮できる。各粘膜の薬物透過は、様々な因子によって制御されており、それらを解析して明らかにすることが、薬物吸収性の改善に必要と考えられる。筆者は、長年に渡って医薬品の吸収や新剤形の開発について研究を進めてきたので、本総説では、薬物吸収制御因子の解析と吸収改善に関する研究成果を、特に消化管と口腔粘膜について概説したい。

2. 水溶性薬物の消化管吸収

医薬品の消化管吸収は、消化管粘膜を単に脂質の層と考える pH-分配仮説により、ある程度説明できるとされ、1970 年頃、学会でも吸収分野の研究発表は非常に少なくなっていた。しかし、このようなマクロな視点からは多種多様な薬物の吸収特性を論ずるには限界があった。これに関してはまず、難吸収性と分類されている色素類についても、Fig. 1 に示すように、その吸収機構が極めて多様であることを明らかにすることができた。^{1,2)} 次には *p*-

aminobenzoic acid (PABA) とそのアセチル体 (Ac-PABA) の吸収の大きな違いについて検討を行い、PABA については、粘膜側から漿膜側への輸送が逆方向に比べて著しく大きく、濃度勾配に逆らった輸送系が寄与していること、³⁾ アセチル体については、粘膜上皮において排出方向への輸送系が存在すること (Fig. 2)⁴⁾ がその原因であることを明らかにすることができた。さらに、 β -ラクタム抗生物

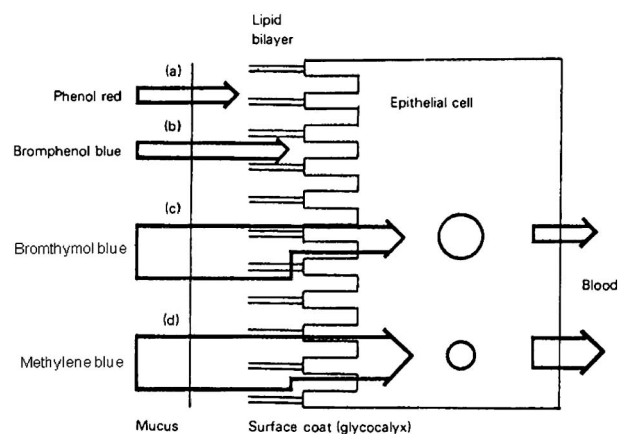


Fig. 1. Intestinal Absorption of Water-soluble Dyes

(a) phenol red, poor absorbability due to its low affinity to intestinal mucosa and poor lipid solubility. (b) bromphenol blue, ability to bind to brush borders but with poor transference. (c) bromthymol blue, extensive binding to brush borders and intracellular components. (d) methylene blue, extensive binding to brush borders but less intracellular accumulation.

岡山大学薬学部 (〒700-8530 岡山市北区津島中 1-1-1)

e-mail: kimura@pharm.okayama-u.ac.jp

本総説は、平成 20 年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

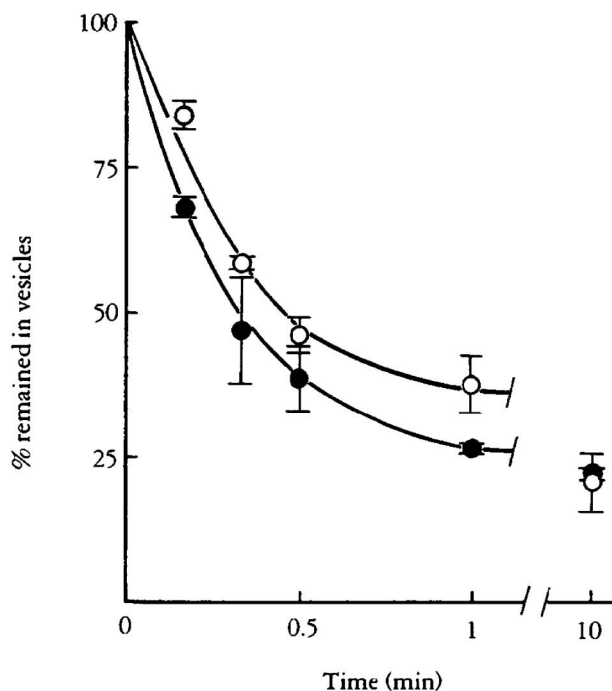


Fig. 2. Counter Transport Effect on Release of Ac-PABA from Preloaded Brush Border Membrane Vesicles⁴⁾

The membrane vesicle preloaded with 0.1 mM [¹⁴C]-Ac-PABA was diluted 11-fold into a medium which contained no drug (control) or 1 mM unlabelled Ac-PABA. ○, control; ●, addition of 1 mM Ac-PABA in outer medium.

質, 特にアミノペニシリン類の小腸からの吸収機構について検討し, それが特殊輸送機構によるものであり, 特にジペプチドの輸送系であることを明らかにした.⁵⁾ その後, 1994年にそのトランスポーターがクローニングされて, PEPT1であることが明らかにされ,⁶⁾ またP-糖タンパク質 (P-gp)⁷⁾を始めとする排出のトランスポーターも見い出されるなど, 分子生物学の急速な発展により, この分野の研究は大きく変わってきている。

3. Transcellular route (経細胞経路) と paracellular route (経細胞側路)

薬物吸収の研究に電気生理学的手法を導入した実験法は, 吸収経路を解析する有用な手段として幅広く利用されるに至り, この分野の研究に大きく貢献した。基本的には, イオン性の薬物の全膜透過速度 (J_t) のうち, paracellular route の透過速度 (J_d) のみが膜電位差 (V_t) に依存し, transcellular route の透過速度 (J_m) は膜電位差に無関係で, 全膜透過速度は(1)式のように表される, という Schultz と Zalusky⁸⁾ の仮説に基づいた解析法である。

$$J_t = J_m + J_d = J_m + {}_0J_d \cdot \exp\left(-\frac{zFV_t}{2RT}\right) = J_m + {}_0J_d \cdot \xi \quad (1)$$

ここで, ${}_0J_d$, z , F , R , T はそれぞれ, 短絡状態での J_d , イオン価数, ファラデー定数, 気体定数, 絶対温度である。

この解析法を用いて, sulfanilic acid (SA) の小腸粘膜透過性に及ぼす diclofenac sodium (DF) と disodium ethylenediaminetetraacetate (EDTA) の促進効果について, 促進経路の違いを明らかにすることができた。⁹⁾ すなわち, 4種類の異なる膜電位差に固定した条件で透過実験を行い, J_t を $\xi (= \exp(-zFV_t/2RT))$ に対してプロットしたところ, Fig. 3に示すような結果が得られた。具体的には, DFの場合は, 勾配も切片もともに有意に増大したので, paracellular route も transcellular route もともに透過促進したのに対し, EDTAは勾配のみ有意に増大させたことから, transcellular route には影響せず, paracellular route のみ透過促進したことを明らかにすることができた。

4. 薬物吸収部位としての大腸の評価

従来, 大腸は薬物吸収部位としては重要視されておらず, 直腸部で吸収された薬物が一部肝初回通過効果を回避できることに注目されているに過ぎなかった。しかし, 難水溶性薬物や消化管を移動する徐放性製剤などでは小腸を溶解あるいは放出されずに通過した薬物が小腸で吸収されるか否かはバイオアベイラビリティを左右する重要な因子である。

大腸粘膜の基礎的構造は直腸の肛門に近い部分が重層扁平上皮となっている以外は小腸と同様で, 円柱状の上皮細胞が単層相接して被っている。しかし, 膜抵抗が小腸より著しく大きく, 細胞間の接合はより密である。また, 小腸のような無数の絨毛が存在せず, 若干のヒダが存在する程度であるため, 単位長さ当たりの表面積は小腸に比べて著しく小さくなっている。なお, 上皮に杯細胞が極めて多いことも特徴である。大腸管腔内には小腸のようにタンパク分解酵素など消化酵素の活性は高くないが, 一方, 非病原性の細菌が極めて豊富に存在する。大腸では静脈系にも大きな特徴がある。すなわち, 大腸の大部分の静脈は合流して胃・小腸の場合と同様門脈に至るが, 直腸下部の下腹部静脈及び下部直腸静脈は直接下大静脈から全身に循環する。したがっ

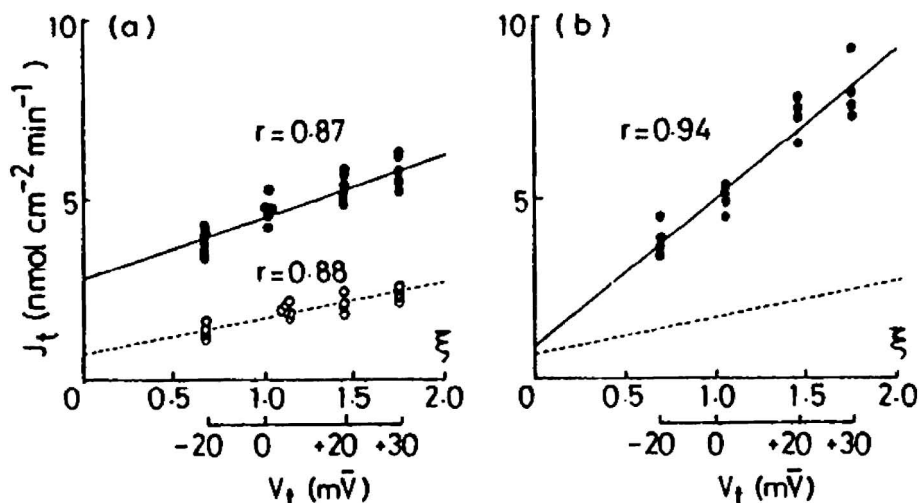


Fig. 3. Effects of Transmural Potential Difference (V_t) on the Flux Rates (J_t) of SA in the Presence of DF (a) or EDTA (b)⁹⁾
The dotted line represents the SA flux rate when no enhancer was added.

て、直腸下部から吸収された薬物は肝初回通過効果を回避できるとして注目されている。

大腸の機能は吸収よりむしろ粘液の分泌であるが、ナトリウムイオンの能動輸送や水の再吸収は盛んに行われる。薬物吸収は一般に受動輸送機構により行われ、pH-分配仮説に従う。しかし、大腸の場合その粘膜構造の違いから、小腸と異なった吸収特性が認められる。Figure 4 は分子量の異なる polyethylene glycol を用いて、極性物質の吸収の分子サイズ依存性を小腸と大腸で比較したものである。図から明らかなように、小腸では分子量 600 付近まで吸収が認められるのに対して、大腸では分子量 300 以上では吸収は困難である。¹⁰⁾ 極性物質の吸収経路としては細胞間隙を通るいわゆる paracellular route が考えられるが、両部位での透過可能な分子量すなわち分子サイズの差は細胞間隙の違いに基づいており、大腸で電気生理学的膜抵抗が大きいこととよく一致する。一方、transcellular route の透過性は薬物の親油性に左右されるが、小腸と大腸では吸収の親油性との関係に違いがみられる。Figure 5 は alkyl carbamate (R-O-CO-NH₂) のアルキル鎖 R が methyl から n-octyl までのものについてラット小腸¹¹⁾ と結腸¹²⁾ で求められた吸収速度定数を、オクタノールへの分配係数との関係としてプロットしたものである。小腸では methyl から n-butyl までは分配係数とともに吸収速度定数も増大するがそれ以上長いアルキル鎖で親油性が高くなっても吸収速度定数は逆に減少する。これに対して結腸ではすべての

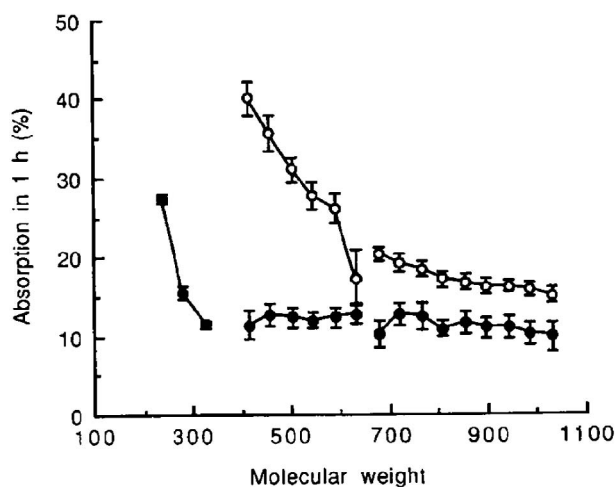


Fig. 4. Absorption of Different-sized Polyethylene Glycols from the Small or Large Intestine in Rats¹⁰⁾
○, small intestine; ●, large intestine. Results are expressed as the mean \pm SE of at least three experiments.

範囲で分配係数とともに吸収速度定数が増大し、注目すべきことに高親油性になると結腸でも小腸と同程度吸収されるようになる。これは小腸と大腸の粘膜の構造の違いにより起こるもので、粘膜近傍の非攪拌水層 (unstirred water layer) の厚さの差が原因であると推察される。¹⁰⁾ 直腸部粘膜の透過性は結腸部に比べてやや低い程度であるが、直腸下部から吸収された薬物は直接全身循環に入るため、肝初回通過効果を回避できるという大きな特徴がある。

大腸部位の特徴として、

- ① 小腸に比べてタンパク分解酵素の活性が低い

- め、ペプチド薬物などに対して適用可能である。
- ② 非病原性の細菌が極めて豊富に存在する。
 - ③ 移動に伴う希釈の程度を低くすることが可能である。
 - ④ 高濃度の吸収促進剤を局所粘膜に作用させることが可能である。
 - ⑤ 小腸粘膜に比べて吸収促進剤に対して高い感受性を示す場合が多い。
 - ⑥ 直腸下部から吸収された薬物は直接体循環血中に運ばれるため、肝初回通過効果を回避できる。などが挙げられる。ペプチド薬物は一般に胃や腸で分解され易く、止むを得ず注射による投与に頼ることになるが、生物学的半減期が短いため頻回の注射が必要となり、患者にとっては大きな苦痛である。肛門からの直腸投与のほかに、大腸放出システムの開発によりこのような薬物の経口投与が可能となれば患者の QOL 改善の面からもその意義は極めて大きい。吸収促進剤に関する研究と合いまって新投与

剤形の開発が期待される。

5. 消化管内移行速度と薬物吸収

一般に、薬物の吸収性は *in situ* 灌流法や *in situ* ループ法、あるいは簡単なコンパートメントモデルにより評価されていたが、それらによって得られる情報は通常、全消化管を平均化した吸収速度定数 k_a である。しかし、吸収性には部位差があり、各部位での滞留時間が全体としての吸収性に影響することになるため、消化管内移行速度が経口投与した薬物の吸収に大きく影響する。したがって、各部位での吸収性とそれぞれの部位への滞留性が経口投与した薬物の吸収動態の解析や血漿中濃度推移の評価に非常に重要である。

筆者らは、消化管内移行速度と吸収過程を含む GI-Transit-Absorption (GITA) model を開発し、水溶液として経口投与した薬物の血漿中濃度推移の予測が可能であることを吸収特性の異なる薬物について示した。¹³⁾ さらにその後、GITA model は溶解過程を導入することにより固形剤にも適用可能であることを示した。¹⁴⁾ 以下に、GITA model による血漿中濃度推移の予測法を概説するとともに、吸収特性の異なる薬物に適用した血漿中濃度の予測及び吸収動態の解析例について示す。

5-1. GITA model¹³⁾ 概略は以下のとおりである。GITA model の開発にあたって、Fig. 6 に示すように消化管を 8 つの部位 (胃、十二指腸、空腸上部、空腸下部、回腸上部、回腸下部、盲腸、大腸) に分割し、非吸収薬物の部位間の移行は 1 次速度過程に従うと仮定した。部位 i から部位 $i+1$ への移行速度定数を k_i とし、その値は非吸収性のマーカーとして phenol red を用いて、ラットによる *in vivo* の移行実験から算出した。また、各部位における薬物の吸収も 1 次速度過程に従うとし

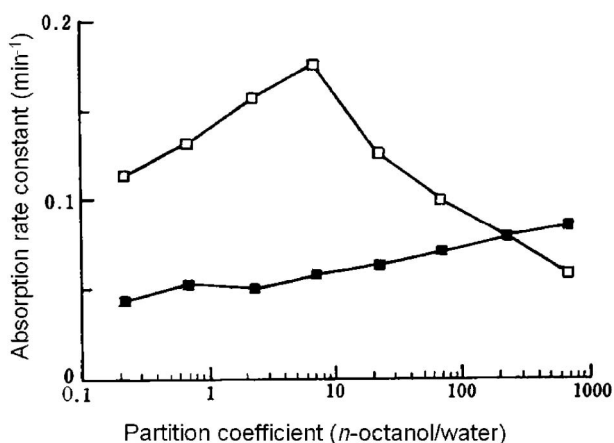


Fig. 5. Relationship between Partition Coefficients of Alkyl Carbamates and Their Absorption Rate Constants from the Small Intestine or Colon in Rats
□, small intestine; ■, colon. Data in references 11 and 12 were plotted.

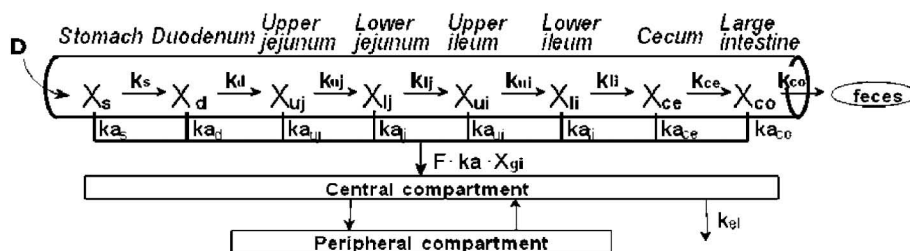


Fig. 6. GI-Transit-Absorption (GITA) Model¹³⁾

D, initially administered dose; X_i , amount of drug in segment i ; k_i , first-order transit rate constant from segment i ; k_{a_i} , first-order absorption rate constant for segment i ; k_{el} , first-order elimination rate constant from central compartment; F, bioavailability.

て、吸収速度定数 ka_i は *in situ* ループ法により求めた。部位 $i+1$ における薬物量を X_{i+1} とすると、 X_{i+1} の経時変化は部位 i から移行してくる薬物量 $k_i X_i$ と部位 $i+1$ から吸収と移行により消失する薬物量 $(k_{i+1} + ka_{i+1}) X_{i+1}$ の差で表される。

各部位における薬物量の時間推移はコンポリューション法により算出することができる。これに当該部位の吸収速度定数を乗ずることにより、各部位での吸収速度の時間推移を算出することができ、すべての部位での吸収速度の時間推移を累積したものが消化管全体からの吸収速度の時間推移となる。これを入力関数とし、別に静脈注射後の血漿中濃度の時間推移を重み関数としてコンポリューションすることにより、経口投与後、初回通過効果がない場合の予測血漿中濃度推移を得ることができる。

5-2. 適用例 Phenol red の移行実験から算出した絶食状態のラットにおける k_i (h^{-1}) は、以下の値であった：胃, 2.031；十二指腸, 28.748；空腸上部, 18.066；空腸下部, 4.206；回腸上部, 1.162；回腸下部, 0.464；盲腸, <0.0001 。¹³⁾ 小腸

での移行速度は、上部で非常に速く、下部へ行くほど遅くなっている。これらの k_i 値を用いて、吸収特性の異なる4種の薬物を経口投与後の血漿中濃度の経時変化を予測し、結果を実測値とともに Fig. 7 に示した。難吸収性の ampicillin (A), 吸収の良好な theophylline (B), トランスポーター PEPT1 が関与して、吸収が良好な cephalixin (C), これら3種の初回通過効果がない薬物については、いずれも実測値を良好に予測できていることが明らかである。一方、初回通過効果を受けることが知られている propranolol (D) については、実測値に対して高い血漿中濃度を予測しており、100%吸収されているにも係わらず、初回通過効果により70%が失われていることが計算できる。¹³⁾

肝初回通過効果を受ける薬物の血漿中濃度曲線の予測に関しては、腸粘膜での代謝を受けない *N*-methyltyramine については、90%以上の吸収が予測されるにもかかわらずバイオアベイラビリティが39.0%であるのを、ラット肝での *in vitro* 代謝実験から算出した肝臓でのアベイラビリティ (0.510)

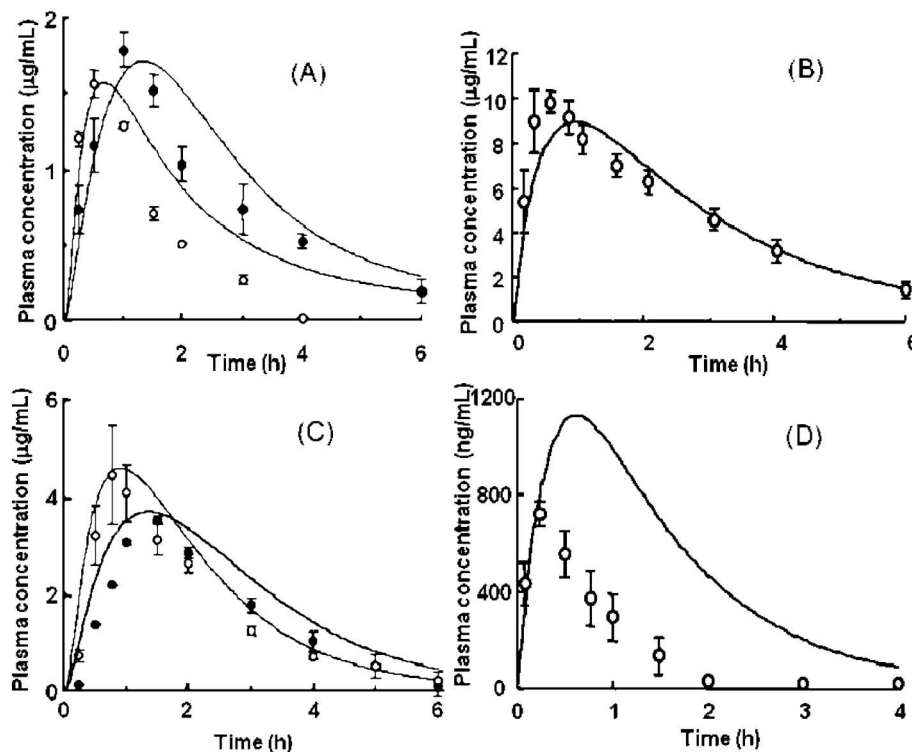


Fig. 7. Plasma Concentrations of Ampicillin (A), Theophylline (B), Cephalixin (C) and Propranolol (D) after Oral Administration in Fasted Rats

Ampicillin (30 mg/kg), aminophylline (5 mg/kg), cephalixin (5 mg/kg) and propranolol (5 mg/kg) were administered intragastrically as the aqueous solution. Predicted plasma concentration profiles are shown by solid lines. Experimental results are shown as means (open circles), with the vertical bar showing S.E. of more than three experiments. Closed circles are the results in rats pretreated with propantheline. Cited from Reference 13 with slight modification.

を導入することにより、予測することに成功している。¹⁵⁾

Cephalexin については、小腸からの吸収に PEPT1 の関与が認められているが、Fig. 7(C) に示すように、各部位からの吸収を 1 次速度過程として、良好に *in vivo* の血漿中濃度推移を予測できている。後に、経口投与後の cephalexin の吸収動態への PEPT1 の寄与について評価した結果、実際に PEPT1 は cephalexin の全吸収の約半分に寄与しているが、PEPT1 の機能は受動拡散により補うことができることを明らかにしている。¹⁶⁾

薬物吸収に及ぼす消化管内移行速度の変化の影響を検討するため、あらかじめ propantheline を投与して消化管内移行速度を低下させたラットに薬物を投与した結果を Fig. 7 の (A) と (C) に示した。¹⁷⁾ 両薬物ともに propantheline 前処理により T_{max} の遅延が認められ、胃内容物排出速度 (GER) の遅延の結果が明らかである。一方、量的バイオアベイラビリティに関しては、吸収の良好な cephalexin で変化がなかったのに対して、難吸収性の ampicillin では 20%であったのが 37%へと顕著な増加が認められた。これは、吸収の良好な薬物は小腸ですべて吸収されているのに対して、難吸収性薬物の場合、吸収が不完全な状態で吸収部位である小腸を通り過ぎてしまうが、移行速度を遅延させることにより小腸での滞留時間を延長することができた結果と考えられる。このように、消化管内移行速度の変化は、吸収速度のみならず吸収量にも影響することがあることは注目すべきである。

また、GITA model を応用することにより、*in vivo* での吸収部位の推定が可能である。¹³⁾ Cephalexin について、*in situ* ループ法で求めた各部位の吸収速度定数 ka_i (h^{-1})¹³⁾ は、十二指腸から回腸下部に向かって、2.11, 2.27, 2.15, 0.90, 0.25 と低下するので、*in vivo* でも大部分小腸上部で吸収されると考えられがちであるが、Fig. 8 に示すように、実際には小腸上部の寄与は小さく、中部での吸収が大きいようである。これは、透過性の良好な小腸上部は移行速度が極めて速く滞留時間が短いためと考えられる。図には、propantheline 前処理により移行速度を遅延させると小腸上部での吸収の寄与が増すことも示されている。¹⁷⁾

5-3. 食事の影響 以上は、phenol red の移行

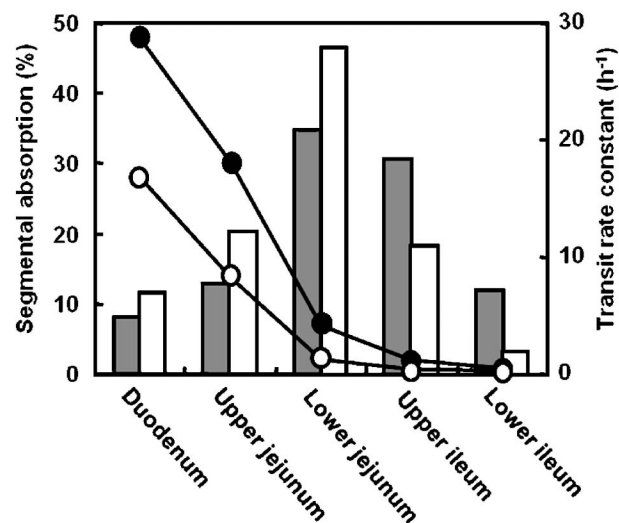


Fig. 8. Effect of GI Transit Rate on Substantial Absorption Site of Cephalexin after Oral Administration in Control Rats and Rats Pretreated with Propantheline¹⁷⁾

Segmental absorption: grey bar, control rats; open bar, rats treated with propantheline. GI transit rate constants: ●, control; ○, treated with propantheline.

実験により求めた平均的な移行速度定数 k_i を用いての解析であったが、非吸収性の diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA) の ^{99m}Tc ラベル体を薬物と同時に投与して、ガンマシンチグラフィによりその移行動態をモニターすれば、各個体での移行動態と吸収動態を関連させて解析することができる。¹⁸⁾ この方法によれば、関心領域をあまり細かく設定することは困難であるため、胃、空腸、回腸、大腸の 4 部位とすることになるが、摂食時の移行動態をモニターすることができる。解析の結果、摂食時には GER が著しく低下するが、小腸内の移行速度には顕著な差がないことが分かった。また、摂食時の GER にも個体差がみられるが、同時に投与した theophylline の血漿中濃度は各個体の移行パラメータを用いて予測した時間推移と極めて良好に一致することを明らかにすることができた。¹⁸⁾

5-4. ヒトへの適用 上述の ^{99m}Tc DTPA を用いた、ガンマシンチグラフィによる消化管内移行動態評価はヒトへも適用できた。¹⁹⁾ ヒトに theophylline と ^{99m}Tc DTPA を同時投与して、ガンマシンチグラフィにより移行動態をモニターし、胃、空腸、回腸、大腸の 4 部位の関心領域について移行速度定数を算出した。ヒトの小腸各部位からの吸収速度定数はラットの値から推察した値²⁰⁾を適用した。

Theophylline 静注後の血中濃度のパラメータは文献から得た 24 人のデータを解析して求めた値を適用した。その結果、各個体の絶食時、摂食時ともに実測値を良好に予測することができ、GITA model による予測が、ヒトへも適用可能であることが分かった。¹⁹⁾

5-5. 固形薬物投与の場合 経口投与した固形薬物は吸収される前に溶解しなければならない。筆者らは、固形薬物の移行及び溶解過程を基本的な GITA model に組み込むことにより、Biopharmaceutics Classification System (BCS) の class I (易溶解性・易吸収性) に分類される theophylline について、血漿中濃度の良好な予測が可能であることを報告した。¹⁴⁾ 一方、BCS class II (難溶解性・易吸収性) に分類される griseofulvin についても同様な方法で血漿中濃度の予測を検討し、溶解速度定数を求めるための溶媒が重要であり、新たに調製した溶媒を用いることにより、比較的良好に予測できることを明らかにした。²¹⁾ しかし、griseofulvin の血漿中濃度推移には個体差が著しく、その要因を検討した結果、小腸内移行速度、すなわち小腸内滞留時間のばらつきによることを明らかにした。²²⁾

5-6. 製剤による移行速度の制御 Propantheline 前処理により消化管内移行速度を遅延させて、吸収部位である小腸内への滞留時間を延長することにより難吸収性薬物の吸収が増大することは先に述べた。¹⁷⁾ 筆者らは、消化管内移行速度を制御する製剤の調製を検討し、polyvinyl alcohol のゲル小球体 (PVA-GS) を開発した。²³⁾ さらにそれに chitosan を加えることにより小腸内滞留性を増大させたゲル小球体 (CS/PVA-GS) を含めて、含有させた薬物の吸収への影響を検討した。その結果、吸収の良好な theophylline では、溶液投与時に比べて T_{max} は遅延するものの、ともに吸収はほぼ完全であったのに対して、難吸収性の ampicillin の場合、溶液投与時に 32% であったバイオアベイラビリティが PVA-GS で 39%、CS/PVA-GS で 49% と増大し (Fig. 9)、製剤による消化管内移行速度の制御で難吸収性薬物の吸収を増大させる可能性を示すことができた。²⁴⁾

以上の、消化管内移行速度と薬物吸収に関する詳細は、筆者らの総説²⁵⁾があるので、参照していただければ幸いである。

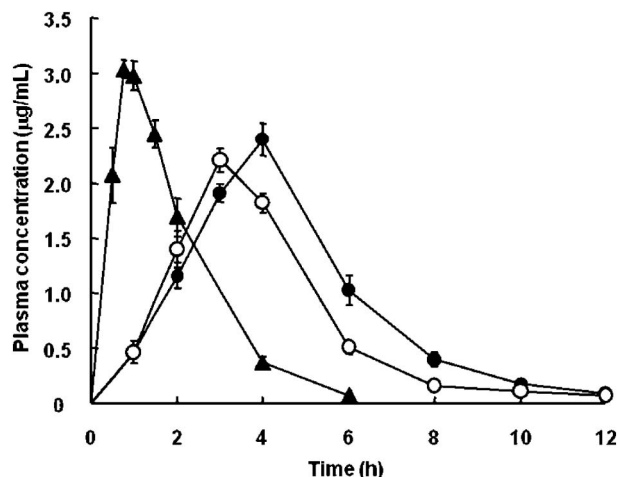


Fig. 9. Plasma Concentration of Ampicillin after Oral Administration of PVA-GS or CS/PVA-GS Containing Ampicillin²⁴⁾

Dose of ampicillin was 50 mg/kg. Results are expressed as means, with the vertical bar showing S.E. of more than three experiments. Key: ▲, solution; ○, PVA-GS; ●, CS/PVA-GS.

6. 粘膜障害性のない吸収促進剤

粘膜透過性が低いことが原因で吸収が不十分な薬物の吸収促進に吸収促進剤が用いられるが、粘膜障害性が問題で、実用化が困難であった。筆者らは、いくつかのアミノ酸の併用により、吸収促進効果を維持したままで、粘膜障害性を抑えることを見出し、その障害防御機構を明らかにするとともに、粘膜障害性のない吸収促進剤の開発に成功した。

6-1. 中鎖脂肪酸とアミノ酸の併用 これまで、製剤中に吸収促進剤として使用されて市販されるに至ったのは中鎖脂肪酸である sodium caprate (C10) が唯一であるが、筆者らは、C10 よりも sodium laurate (C12) の方が、幅広い分子量の薬物に対する吸収促進剤として有用であることを明らかにした。²⁶⁾ しかし、C12 を吸収促進剤として適用することによる粘膜への局所障害性が製剤開発への問題点であった。筆者らは、一部のアミノ酸 L-glutamine, L-arginine, L-methionineなどを併用することにより、吸収促進作用は維持しているにも係わらず粘膜障害防御作用があることを見出し、実用化の可能性が大きくなった。²⁷⁾ その作用機構についても検討を加え、特に L-glutamine については heat shock protein 70 の誘導効果が関与していること、²⁸⁾ 他のアミノ酸 L-arginine, L-methionine, taurine については C12 による粘膜上皮細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加

を抑制する効果,^{28,29)} C12により起こる histamine 遊離に対する抑制効果,²⁸⁾ さらには C12によるアポトーシスに対する抑制効果³⁰⁾などが関与している可能性を明らかにした。そして、実際に難吸収性薬物 rebamipide の大腸吸収を C12 と taurine を併用することにより、粘膜障害を伴うことなく促進することができることを示し,³¹⁾ さらに、それを実際の製剤である坐剤に適用することにも成功した。^{32,33)}

6-2. ポリアミン 経口投与製剤に適用可能な吸収促進剤として、ポリアミンについて検討した。Spermine (SPM) 及び spermidine (SPD) について検討したところ、ともに BCS class IV に属する rebamipide の吸収を促進するが、その効果は SPM の方が顕著であった。また、その効果には胆汁が必要であり、胆汁酸塩である sodium taurocholate (STC) 共存により、促進効果は大きく増大した。STC のみでは有意な促進効果を示さないことから、両者の作用は協奏的であると考えられる。その際、胃及び小腸の粘膜に障害性は全く認められず、安全な吸収促進剤であることが示唆された。^{34,35)} その作用機構については、解析中の段階であるが、上述の電気生理学的的手法により Caco-2 細胞層の rebamipide の透過促進経路を検討したところ、SPM と STC の併用による透過促進効果は、paracellular route のみならず、transcellular route にも認められた。³⁶⁾

7. 難溶性薬物の吸収促進

難水溶性が原因で吸収が困難な薬物が少なくない。筆者らは、様々な方法で、難水溶性薬物の経口投与後の吸収を促進することに成功している。

7-1. 脂質分散性製剤 Dolichol は、すべての哺乳類の臓器中に含まれるイソプレノイドアルコールであり、造血能増大効果があるので、貧血症の治療薬として期待されていた。しかし、本化合物は極めて難水溶性であり、ラット小腸 *in situ* ループ法による実験の結果、懸濁液として投与しても 1 時間に 4% 吸収されるにすぎず、経口吸収性の改善が望まれていた。筆者らは、大豆レシチンのリポソームとして投与することによりほぼ 10 倍の 39% にまで増大させることができた。³⁷⁾

脂溶性ビタミン *d*- α -tocopherol acetate (VEA) は、通常、大豆油に溶解させて投与されているが、これを中鎖脂肪酸トリグリセライドに溶解させたものをレシチンで分散させて経口投与したところ、

VE の血漿中濃度の T_{max} は遅延するが、AUC 増加量は大豆油溶液投与時の 1.5 倍に増大した。それに対して、polysorbate 80 (PS80) で分散させた製剤では AUC の増加量には変化が認められず、レシチンの有用性が示された。³⁸⁾ さらに詳細な検討を行ったところ、PS80 で分散させた場合は、門脈系とリンパ系の両経路で吸収されるのに対して、レシチンで分散させた製剤からはリンパ系のみから吸収されること、³⁸⁾ キロミクロンの形成が必須であることが分かった。³⁹⁾

7-2. 固体分散剤 難水溶性の薬物の可溶化の方法の 1 つとして、固体分散剤化がある。これは、難溶性薬物を分子レベルのサイズで水溶性高分子に分散させたものであるが、製品化には、無晶化した薬物を再結晶化させない包装技術を含む方法が必須である。⁴⁰⁾ 免疫抑制剤である tacrolimus は、溶解度が 1-2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と低いため、経口バイオアベイラビリティを高めるためには可溶化が必要であった。固体分散剤は通常、薬物と水溶性高分子がともに可溶性溶媒に溶解させて調製される。薬物と水溶性高分子である polyethylene glycol 6000 (PEG6000), polyvinylpyrrolidone (PVP) あるいは hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) をエタノールとジクロロメタンの混合溶媒に溶解させた後、溶媒を蒸発させて調製した固体分散剤の溶解速度を測定したところ、いずれも約 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の最高過飽和濃度にまで達した。⁴¹⁾ また、HPMC の固体分散剤をビーグル犬に経口投与したところ、結晶粉末に比べて AUC を 10 倍に増大させることが分かった。⁴¹⁾ しかし、ジクロロメタンを用いることは、環境上望ましくないので、ジクロロメタンを用いない固体分散剤の調製を検討した。その結果、tacrolimus が可溶性エタノールが、HPMC を溶解させることはできないが、膨潤させることができ、その状態でも固体分散剤を調製可能であることを見出した。このジクロロメタンを用いることなく調製した固体分散剤も同様な溶解挙動を示し、吸収促進も可能であった。⁴¹⁾

7-3. 湿式粉碎 難溶性薬物の経口投与製剤において、食事により吸収が増大する現象が知られている。これは摂食により分泌される胆汁酸塩類の界面活性作用による溶出速度の増加に起因すると言われている。したがって製剤技術により薬物溶出速度を十分高めることができれば、食事の影響が回避あ

るいは軽減されると考えられる。筆者らは、難溶性の抗血小板剤 cilostazol をモデルとして食事の影響を受けにくい製剤処方を検討した。Cilostazol の溶出速度を高める手法としては、原末の微粉碎が適していると考えた。市販製剤に用いられているハンマーミル粉碎原末のメジアン径は約 $10\ \mu\text{m}$ 、これに対しジェットミル粉碎品及び湿式粉碎品 (NanoCrystal) のメジアン径は $2\ \mu\text{m}$ 及び $0.2\ \mu\text{m}$ であった。Cilostazol の *in vitro* 溶出速度は原末粒子径の減少に伴い顕著に増大した。空腹下及び食後の小腸を再現した biorelevant media による溶出試験の結果、原末粒度の減少に伴い、溶出速度に及ぼす食事の影響が軽減された。これらの粉碎品を懸濁液としてビーグル犬に経口投与した結果、cilostazol のバイオアベイラビリティは原末粒子径の減少に伴い、量的にも速度的にも増大することが判明した。そしてハンマーミル懸濁液及びジェットミル懸濁液では食後投与においてバイオアベイラビリティが増加するが、NanoCrystal 懸濁液では摂餌の影響がほとんどないことを確認した。⁴²⁾ 次に、NanoCrystal を用いて錠剤を調製し、ビーグル犬における経口吸収性を評価した。その結果、NanoCrystal 錠は cilostazol のバイオアベイラビリティを大きく改善し、摂食の影響を大幅に軽減する製剤であることを明らかにした。⁴³⁾

7-4. Self-microemulsifying Drug Delivery System

難水溶性薬物 ciclosporin の経口製剤としてマイクロエマルジョン製剤 (商品名：ネオーラル) がある。マイクロエマルジョン製剤とすることにより、食事の影響を少なくし、安定な吸収が可能となっている。

Griseofulvin の結晶粉末を経口投与後の吸収には大きな個体間変動があり、その吸収動態における大きな個体間変動の主な原因は *in vivo* 溶解挙動にあると考えられることは上述のとおりである。筆者らは、*in vivo* 溶解挙動を改善するために、溶解性を改善する製剤学的手法である self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) を利用した製剤を調製し、griseofulvin のバイオアベイラビリティの改善と共に吸収動態における個体差の軽減を試みた。SMEDDS 製剤の調製にあたって、oil に capryol 90 を、surfactant に cremophor EL を、cosurfactant に carbitol を選択し、titration study によりマイクロ

エマルジョンを形成する処方を検討した。その結果、capryol 90: cremophor EL/carbitol の混合比 3:7 が最適であることが分かり、粉末経口投与時に観察された溶解過程に依存する大きな個体間変動を軽減し、かつバイオアベイラビリティの改善に成功した。⁴⁴⁾

8. 薬物吸収部位としての口腔

口腔粘膜は、胃腸管・肝の初回通過効果を回避できる薬物吸収部位であり、経口投与でバイオアベイラビリティの低い薬物に対する注射に代わる投与部位として期待できる。26年前、筆者らは、薬物の口腔粘膜吸収を手がけ始めた。それまでは薬物溶液を口に含んで一定時間後に残存する薬物量との差を吸収量とする方法 (バツカル吸収試験) 以外に詳細な情報がみられず、未知の点が多かったので、小動物ハムスターで検討することとした。ヒトの口腔は機能も構造も異なる多種多様な粘膜からなり複雑なので、その角質化粘膜の薬物透過機構を解明することとし、ハムスター頬袋を用いた研究を行った。その結果、角質化粘膜の薬物透過機構は受動拡散であり、pH-分配仮説に従うことを明らかにした。⁴⁵⁾ また、ハムスターの口腔内はすべて角質化しているが、口腔内の6つの異なる部位へ固定した小さいセルに salicylic acid を投与して血漿中濃度を測定したところ、部位により大きな差が認められ、その部位差は角質層の厚さに由来していることを明らかにした。⁴⁶⁾ さらに、透過促進剤の作用機構に関するもかなりの基礎的情報を得ることができた。^{47,48)}

上述のように、ヒトの口腔は機能も構造も異なる多種多様な粘膜からなり複雑であり、ハムスターでの実験結果を単純に外挿することはできない。筆者らは、ヒトの口腔内各部位に適用可能な還流セルを開発して、アルキル鎖長の異なるパラベン類をモデル薬物として、薬物吸収動態の部位差を検討した。その結果、粘膜への取り込みにはほとんど部位差がみられないが、血流への移行速度、言い換えれば粘膜への滞留性が上皮の厚さに依存して部位によって大きく異なることを明らかにした。⁴⁹⁾ 舌下錠とバツカル錠が目的に応じて使い分けられているのは極めて合理的であり、貼付剤の開発に当たっても目的に応じて適用部位を考慮する必要があることを示唆している。

このような口腔粘膜からの薬物吸収機構は受動拡

散によるものとされていたが、上述のバツカル吸収試験により、nicotinic acid, nicotinamide,⁵⁰⁾ thiamine,⁵¹⁾ glutathione⁵²⁾ など栄養物質が特殊輸送機構で吸収されていることが発表された。筆者らも1992年、既に消化管から能動輸送で吸収されることを明らかにしていたセフェム系抗生物質である cefadroxil がヒト口腔から特殊輸送機構で吸収されることを発表した⁵³⁾ ことを手始めに、口腔粘膜における特殊輸送機構の解明を手がけることとした。

まず、glucose についてバツカル吸収試験を行ったところ、Fig. 10 に示すように、D-glucose はL-体に比べて吸収が良好で、飽和現象が認められたことから、D-glucose の吸収に関与する特殊輸送機構の存在が示唆された。⁵⁴⁾ 次に、上述のヒトの口腔内各部位に適用可能な還流セルを用いて吸収の部位差を検討した結果、舌背及び舌腹部でD-glucose がL-体に比べて吸収が良好で、飽和現象が認められた。⁵⁴⁾ さらに詳細な検討を行うため、ボランティアの頬及び舌背から単離した細胞への取り込みを検討した。これらの細胞は、それぞれ臼歯及び前歯で粘膜を数回こすることにより簡単に単離できる。その結果、両細胞ともに、D-glucose の取り込みはL-体に比べてはるかに大きく、飽和現象が認められ、還流セルでは認められなかった頬の細胞にもD-glucose のトランスポーターの存在が見い出された (Fig. 11).⁵⁵⁾ 代謝阻害剤や各トランスポーターの基質による阻害実験の結果、Na⁺/glucose 共トランスポーター

SGLT1 及び促進拡散トランスポーター GLUT 1-3 の関与が示唆され、ウエスタンブロットの結果、両口腔粘膜細胞に SGLT1 及び GLUT1-3 が発現していることが確認された。⁵⁵⁾ しかし、それらトランスポーターは細胞自身の栄養補給を目的として取り込むためのもので、上皮細胞層の透過、すなわち吸収のためには機能していない可能性が考えられた。その点を明らかにするためには上皮細胞層の透過を検討する必要がある。筆者らは、歯学部との共同研究

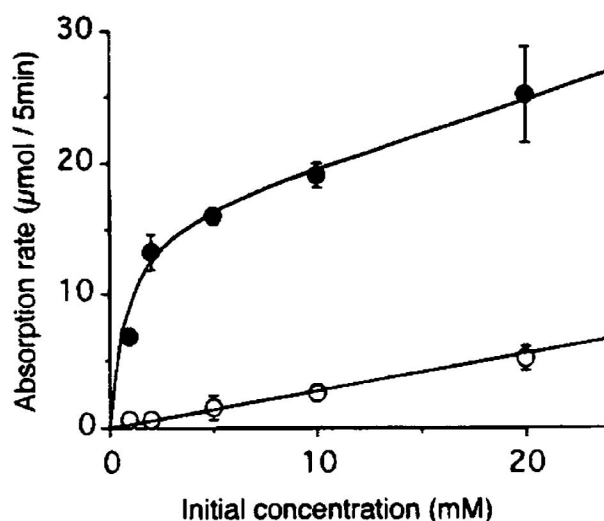


Fig. 10. Concentration Dependency of Absorption Rate of D- and L-glucose from Human Oral Cavity⁵⁴⁾

The absorption was examined by the buccal absorption test method for 5 min using 10 ml of D-glucose (●) and L-glucose (○) solutions. Results are expressed as the mean \pm S.E. of three experiments.

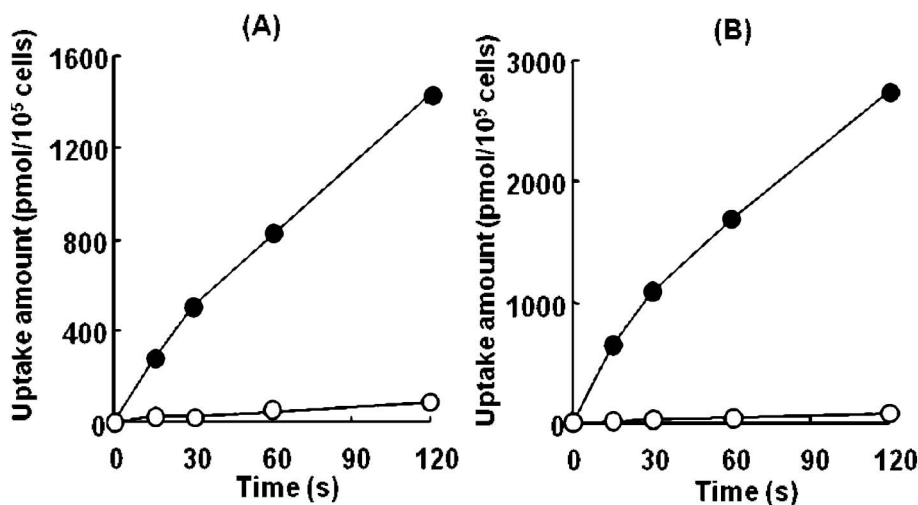


Fig. 11. Uptake of D- and L-glucose by Isolated Cells of Human Buccal Mucosa (A) and Dorsum of Tongue (B)⁵⁵⁾

Initial concentration of glucose was 0.1 mM. Key: ●, D-glucose; ○, L-glucose. Results are expressed as the mean with a vertical bar showing the S.E. of four experiments. The bars are hidden behind symbols.

として、手術により摘出した口腔組織の提供をお願いして、重層への培養を検討した。この際、適正な医療行為の結果摘出した組織で、廃棄する運命にあるものであっても、それを研究に用いるために歯学、薬学の両学部の倫理委員会で承認を受けた後、患者のインフォームドコンセントを採りつける手続きをとった。検討の結果、ヒト口腔粘膜上皮細胞の重層への培養に成功し、輸送実験を行うことができた。その結果、重層の細胞は単離した細胞と同様なD-glucoseの取り込み挙動を示すが、トランスポーターは細胞自身の栄養補給のために取り込むばかりでなく、上皮細胞層の透過、すなわち吸収のためにも機能することを明らかにすることができた (Fig. 12).⁵⁶⁾ その後、先にバツカル吸収試験で明らかにしたセフェム系抗生物質の吸収に関与するペプチドトランスポーターが口腔粘膜上皮細胞に発現して、重層細胞層の透過に機能していることも認めており、今後はトランスポーターを利用した薬物の口腔粘膜吸収の改善も期待できる。

薬物吸収部位としての口腔粘膜の特徴は、

- ① 胃腸管・肝の初回通過効果を回避できる。
- ② 投与が簡単である。
- ③ 痛みを伴わない。
- ④ 血管系に富む。

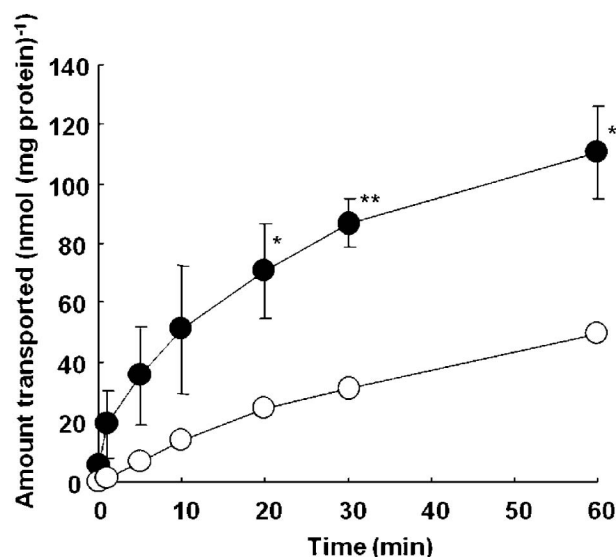


Fig. 12. Time Course of Glucose Transport across Cultured Stratified Cell Layer of Human Oral Mucosal Cells⁵⁶⁾

●, D-glucose; ○, L-glucose. Results are expressed as the mean \pm S.D. of three experiments. Initial concentrations of D- and L-glucose were 0.5 mM. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, compared with L-glucose.

- ⑤ 効果発現が速やか。
 - ⑥ 刺激性が少なく、回復も早い。
 - ⑦ コンプライアンスがよい。
- などが挙げられる。

9. おわりに

以上、粘膜を介した薬物吸収の制御因子の解析と吸収改善に関する研究成果を、特に消化管と口腔粘膜について概説した。経口投与は患者に最も受け入れられやすい投与経路であるが、経口投与で期待するバイオアベイラビリティが得られない薬物が少なくない。これに対処するためには、バイオアベイラビリティが低い原因を解析して明らかにし、克服する方法を見い出さなければならない。有効で安全な薬物療法のために、われわれの研究分野の果たす役割は大きいと考えている。

謝辞 以上は、筆者が京都大学薬学部薬剤学教室及び岡山大学薬学部薬剤学教室に在籍した44年間に手がけた薬物の粘膜吸収に関する研究成果の一部である。本稿を終えるにあたり、薬剤学を1から教えて頂いた恩師故掛見喜一郎先生、故瀬崎仁先生、又、薬物投与の最適化の概念を教えて頂いた故Takeru Higuchi先生に深甚なる謝意を表します。又、終始有益なご助言を頂いた小西良士先生に衷心より感謝いたします。共に研究を遂行してきた、中村純三、安原真人、黒崎勇二、山下伸二、檜垣和孝、大河原賢一の諸氏、さらに京都大学薬学部薬剤学教室、岡山大学薬学部薬剤学教室で実験の一部に協力して頂いた卒業生諸君に感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Nakamura J., Yoshizaki Y., Yasuhara M., Kimura T., Muranishi S., Sezaki H., *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 683-690 (1976).
- 2) Nakamura J., Yoshizaki Y., Yasuhara M., Kimura T., Muranishi S., Sezaki H., *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 691-697 (1976).
- 3) Yasuhara M., Kobayashi H., Kurosaki Y., Kimura T., Muranishi S., Sezaki H., *J. Pharm. Dyn.*, **2**, 177-186 (1979).
- 4) Yasuhara M., Kimura T., Sezaki H., *J. Pharm. Dyn.*, **6**, 888-891 (1983).
- 5) Kimura T., Endo H., Yoshikawa M., Muranishi S., Sezaki H., *J. Pharm. Dyn.*, **1**,

- 262–267 (1978).
- 6) Fei Y. J., Kanai Y., Nussberger S., Ganapathy V., Leibach F. H., Romero M. F., Singh S. K., Boron W. F., Hediger M. A., *Nature*, **368**, 563–566 (1994).
 - 7) Thiebaut F., Tsuruo T., Hamada H., Gottesman M. M., Pastan I., Willingham M. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 7735–7738 (1987).
 - 8) Schultz S. G., Zalusky R., *J. General Physiol.*, **47**, 567–584 (1964).
 - 9) Yamashita S., Saitoh H., Nakanishi K., Masada M., Nadai T., Kimura T., *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 512–513 (1985).
 - 10) Kimura T., Sudo K., Kanzaki Y., Miki K., Takeichi Y., Kurosaki Y., Nakayama T., *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 327–333 (1994).
 - 11) Houston J. B., Upshall D. G., Bridges J. W., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **189**, 244–254 (1974).
 - 12) Wood S. G., Upshall D. G., Bridges J. W., *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**, 638–641 (1978).
 - 13) Sawamoto T., Haruta S., Kurosaki Y., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Pharmacol.*, **49**, 450–457 (1997).
 - 14) Kadono K., Yokoe J., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **17**, 307–315 (2002).
 - 15) Kimura T., Iwasaki N., Yokoe J., Haruta S., Yokoo Y., Ogawara K., Higaki K., *Drug Metabolism Disp.*, **28**, 577–581 (2000).
 - 16) Hironaka T., Itokawa S., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *Pharm. Res.*, **26**, 40–50 (2009).
 - 17) Haruta S., Iwasaki N., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1081–1085 (1998).
 - 18) Haruta S., Kawai K., Jinnouchi S., Ogawara K., Higaki K., Tamura S., Arimori K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **90**, 464–473 (2001).
 - 19) Haruta S., Kawai K., Nishii R., Jinnouchi S., Ogawara K., Higaki K., Tamura S., Arimori K., Kimura T., *Int. J. Pharm.*, **233**, 179–190 (2002).
 - 20) Yuasa H., “Science for Evaluation and Improvement of Drug Bioavailability,” ed. by Sugiyama Y., Gendaiiryosha, Tokyo, 1998, pp. 229–245.
 - 21) Fujioka Y., Kadono K., Fujie Y., Metsugi Y., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Control. Rel.*, **119**, 222–228 (2007).
 - 22) Fujioka Y., Metsugi Y., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *Int. J. Pharm.*, **352**, 36–43 (2008).
 - 23) Kimura T., Murakami T., Ogawa M., Kurosaki Y., Nakayama T., *Drug Delivery System*, **7**, 441–445 (1992).
 - 24) Sugimoto K., Yoshida M., Yata T., Higaki K., Kimura T., *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 1202–1206 (1998).
 - 25) Kimura T., Higaki K., *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 149–164 (2002).
 - 26) Higaki K., Yata T., Sone M., Ogawara K., Kimura T., *Res. Comm. Mol. Pathol. Pharmacol.*, **109**, 231–240 (2001).
 - 27) Yata T., Endo Y., Sone M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **90**, 1456–1465 (2001).
 - 28) Endo Y., Hanada K., Miyake M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **91**, 730–743 (2002).
 - 29) Okuda T., Kadotsuji K., Takayama C., Hanada K., Mukaizawa F., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **95**, 2256–2265 (2006).
 - 30) Takayama C., Mukaizawa F., Fujita T., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, in press (2009).
 - 31) Miyake M., Oka Y., Minami T., Toguchi H., Odomi M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **92**, 911–921 (2003).
 - 32) Miyake M., Kamada N., Oka Y., Mukai T., Minami T., Toguchi H., Odomi M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Control. Rel.*, **99**, 63–71 (2004).
 - 33) Miyake M., Minami T., Oka Y., Kamada N., Yamazaki H., Kato Y., Mukai T., Toguchi H., Odomi M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *Biol. Pharm. Bull.*, **29** (2), 330–335 (2006).
 - 34) Miyake M., Minami T., Hirota M., Toguchi H., Odomi M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Control. Rel.*, **111**, 27–34 (2006).
 - 35) Miyake M., Minami T., Toguchi H., Odomi M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Control. Rel.*, **115**, 130–133 (2006).

- 36) Mukaizawa F., Taniguchi K., Miyake M., Ogawara K., Odomi M., Higaki K., Kimura T., *Int. J. Pharm.*, **367**, 103–108 (2009).
- 37) Kimura T., Takeda K., Kageyu A., Toda M., Kurosaki Y., Nakayama T., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 463–466 (1989).
- 38) Kimura T., Fukui E., Kageyu A., Kurohara H., Kurosaki Y., Nakayama T., Morita Y., Shibusawa K., Ohsawa S., Takeda Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 439–441 (1989).
- 39) Fukui E., Kurohara H., Kageyu A., Kurosaki Y., Nakayama T., Kimura T., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **12**, 80–86 (1989).
- 40) Sugimoto I., Sasaki K., Kuchiki A., Ishihara T., Nakagawa H., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4479–4488 (1982).
- 41) Yamashita K., Nakate T., Okimoto K., Ohike A., Tokunaga Y., Ibuki R., Higaki K., Kimura T., *Int. J. Pharm.*, **267**, 79–91 (2003).
- 42) Jinno J., Kamada N., Miyake M., Yamada K., Mukai T., Odomi M., Toguchi H., Liversidge G. G., Higaki K., Kimura T., *J. Control. Rel.*, **111**, 56–64 (2006).
- 43) Jinno J., Kamada N., Miyake M., Yamada K., Mukai T., Odomi M., Toguchi H., Liversidge G. G., Higaki K., Kimura T., *J. Control. Rel.*, **130**, 29–37 (2008).
- 44) Kimura T., Fujioka Y., Fujie Y., Metsugi Y., Hironaka T., Ochi M., Ogawara K., Higaki K., Abstract for 34th Annual Meeting and Exposition of the Controlled Release Society, # 702 (2007).
- 45) Kurosaki Y., Aya N., Okada Y., Nakayama T., Kimura T., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **9**, 287–296 (1986).
- 46) Kurosaki Y., Takatori T., Nishimura H., Nakayama T., Kimura T., *Pharm. Res.*, **8**, 1297–1301 (1991).
- 47) Kurosaki Y., Hisaichi S., Hamada C., Nakayama T., Kimura T., *Int. J. Pharm.*, **47**, 13–19 (1988).
- 48) Kurosaki Y., Hisaichi S., Hong L., Nakayama T., Kimura T., *Int. J. Pharm.*, **49**, 47–55 (1989).
- 49) Kurosaki Y., Yano K., Kimura T., *Pharm. Res.*, **14**, 1241–1245 (1997).
- 50) Evered D. F., Sadoogh-Abacian F., Patel P. D., *Life Sci.*, **27**, 1649–1651 (1980).
- 51) Evered D. F., Mallet C., *Life Sci.*, **32**, 1355–1358 (1983).
- 52) Hunjan M. K., Evered D. F., *Biochim. Biophys. Acta*, **815**, 184–188 (1985).
- 53) Kurosaki Y., Nishimura H., Terao K., Nakayama T., Kimura T., *Int. J. Pharm.*, **82**, 165–169 (1992).
- 54) Kurosaki Y., Yano K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **87**, 613–615 (1998).
- 55) Oyama Y., Yamano H., Ohkuma A., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Pharm. Sci.*, **88**, 830–834 (1999).
- 56) Kimura T., Yamano H., Tanaka A., Matsumura T., Ueda M., Ogawara K., Higaki K., *J. Pharm. Pharmacol.*, **54**, 213–219 (2002).