

新規吸収促進剤 polyamidoamine (PAMAM) dendrimers を用いた 難吸収性薬物の消化管吸収性の改善

山本 昌

Improvement of Intestinal Absorption of Poorly Absorbable Drugs by Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers as Novel Absorption Enhancers

Akira YAMAMOTO

Department of Biopharmaceutics, Kyoto Pharmaceutical University, Misasagi Nakauchi-cho 5,
Yamashina-ku, Kyoto 607-8414, Japan

(Received May 21, 2010)

The intestinal absorption of hydrophilic drugs and macromolecular drugs is generally limited by their poor membrane permeability characteristics in the intestine. Therefore, absorption enhancers were usually adopted for improving the intestinal absorption of these poorly absorbable drugs. However, conventional absorption enhancers were generally more effective in the large intestine rather than the small intestine and absorption enhancers with high effectiveness in the small intestine is highly desirable. Based on the background, we focused on polyamidoamine (PAMAM) dendrimers as novel absorption enhancers and effects of PAMAM dendrimers on the intestinal absorption of poorly absorbable drugs were examined by an *in situ* closed loop method in rats. The absorption of 5(6)-carboxyfluorescein (CF), fluorescein isothiocyanate-dextran with an average molecular weight of 4000 (FD4) and calcitonin from the rat small intestine was significantly enhanced in the presence of PAMAM dendrimers. However, PAMAM dendrimers had almost no absorption enhancing effect on the small intestinal absorption of macromolecular drugs including fluorescein isothiocyanate-dextran with an average molecular weight of 10000 (FD10) and insulin. Furthermore, we evaluated the intestinal membrane damage with or without PAMAM dendrimers. PAMAM dendrimers at concentrations of 0.05% (w/v) and 0.1% (w/v) did not increase the activities of lactate dehydrogenase (LDH) and amounts of protein in the intestine. These findings suggested that PAMAM dendrimers at lower concentrations might be potential and safe absorption enhancers for improving absorption of poorly absorbable drugs from the small intestine.

Key words—intestinal absorption; polyamidoamine (PAMAM) dendrimer; absorption enhancer; drug absorption; absorption enhancement; intestinal toxicity

1. はじめに

薬物の投与経路のうち、経口投与は最も汎用されている投与経路であり、低分子で脂溶性の高い薬物の場合、比較的消化管吸収性が良好であるため、有用な投与経路として利用されている。しかしながら、薬物の中には水溶性が高い薬物や高分子性薬物も多く、これら薬物は消化管粘膜をほとんど透過しないため吸収性が悪いことが知られている。このような消化管からの吸収性が悪い薬物の例として、従来から、抗生物質、抗真菌薬、抗ウイルス薬などが

報告されている。

一方、近年、バイオテクノロジーの進展とともに高分子薬物を医薬品として利用する場合が増加しており、その代表例としてペプチド、タンパク性医薬品が挙げられるが、これらペプチド及びタンパク性医薬品も経口吸収性が不十分であることが問題となっている。すなわち、これら医薬品は、経口投与後、消化管内の消化酵素やタンパク分解酵素により速やかに分解を受け、極めて不安定なことや高い水溶性を有し高分子であるため消化管粘膜を透過し難いことが知られている。また、最近ではコンビナトリアルケミストリーやハイスループットスクリーニングなどを利用した新規医薬品候補化合物の探索、選択が行われているが、こうした新規医薬品候補化合物の開発段階で経口投与時に難吸収性や難水溶性

京都薬科大学薬剤学分野 (〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5)

e-mail: yamamoto@mb.kyoto-phu.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 129 年会シンポジウム S15 で発表したものを中心に記述したものである。

を示す化合物が急増しているのが現状である。したがって、これら医薬品の消化管吸収を改善する方法を新たに確立し臨床に応用することは、本医薬品の経口投与製剤を開発する上で極めて重要な課題の1つであると考えられる。

以上のように、難吸収性薬物の消化管吸収改善に関する研究は古くからある研究課題であるが、現在においても上述のように依然として様々なタイプの難吸収性薬物が増加しており、これら薬物の経口投与後の吸収率を改善するため、種々の方法が試みられている。これらの方法を大別すると、(1) 吸収促進剤などの製剤添加物の利用、(2) 薬物の分子構造修飾、(3) 薬物の剤形修飾などに分類できる。そこで本稿では、難吸収性薬物の消化管吸収改善に関して、(1)の方法に焦点を絞り、特に新規吸収促進剤である polyamidoamine (PAMAM) dendrimers による難吸収性薬物の消化管吸収性の改善に関する結果を中心に紹介する。

2. 製剤添加物(吸収促進剤)の利用

難吸収性薬物の経粘膜吸収を改善する1つの方法として、消化管やその他の吸収部位におけるこれら薬物の粘膜透過性を一過性上昇させる添加物を利用する場合が多い。こうした作用を有する添加物を総称して吸収促進剤 (absorption enhancers, absorption promoters) と呼ぶ。現在までに多くの物質が吸収促進剤として利用されているが、代表的なものには界面活性剤、胆汁酸、キレート剤、脂肪酸などが挙げられる。これらの吸収促進剤は、従来、消化管投与に対して用いられていたが、最近では、経鼻、経肺、口腔、直腸、経皮などの各種粘膜吸収経路からの難吸収性薬物の吸収改善に対しても利用されている。

Table 1 に難吸収性薬物の消化管吸収改善に利用される各種吸収促進剤の例を示しているが、ポリオキシエチレンラウリルエーテル、ラウリルマルトシドなどに代表される界面活性剤、グリココール酸、タウロコール酸、デオキシコール酸などの胆汁酸、サリチル酸、EDTA などのキレート剤、カプリン酸、ラウリン酸、オレイン酸などの脂肪酸が典型的な吸収促進剤として用いられている。^{1,2)} また、最近では、一酸化窒素供与体、ポリアミン類、キトサンオリゴマー、膜透過ペプチド及びクローディンモジュレーターなどの新しいタイプの吸収促進剤もいく

Table 1. Classification of Various Absorption Enhancers Used for Improving Intestinal Absorption of Poorly Absorbable Drugs

(1) 界面活性剤	ポリオキシエチレンエーテル類, ラウリル硫酸ナトリウム, サポニン, アルキルサッカライドなど
(2) 胆汁酸塩類	グリココール酸, タウロコール酸, デオキシコール酸など
(3) キレート剤	EDTA, サリチル酸ナトリウムなど
(4) 脂肪酸類	カプリン酸ナトリウム (C10), ラウリン酸ナトリウム (C12), オレイン酸, リノール酸, 混合ミセルなど
(5) その他	キトサン類, シクロデキストリン類, エナミン誘導体, <i>N</i> -アシルアミノ酸, 一酸化窒素供与体, ポリアミン類, ポリカチオン類 (ポリアルギニン, ポリエチレンジイミン), クローディンモジュレーター, デンドリマーなど

つか開発されている。³⁻⁹⁾

このように、吸収促進剤の利用は、難吸収性薬物の消化管吸収を改善する有用な方法の1つであると考えられるが、消化管に従来型の吸収促進剤を適用した場合、大腸における吸収促進効果が小腸に比べ顕著に発現することが一般的に報告されている。特に、脂肪酸の一種であるカプリン酸ナトリウムや非イオン性界面活性剤であるラウリルマルトシドなどの吸収促進剤の大腸における促進効果は、小腸に比べ極めて強いことが知られている。¹⁰⁾ しかしながら、薬物の消化管吸収性を効率よく改善するためには、消化管の中で広い表面積を有する小腸において強い促進効果を示す吸収促進剤が望ましく、こうしたタイプの促進剤の開発が期待されている。

最近、われわれは検討した新規吸収促進剤のうち、polyamidoamine (PAMAM) dendrimers が小腸特異的に薬物の吸収性を顕著に改善することを見出している。¹¹⁾ すなわち、dendrimer は中心から規則的に分岐した構造を持つ樹状高分子であり、最近、細胞内に遺伝子を導入するキャリアーとしての応用が注目されているが、これら dendrimers のうち、PAMAM dendrimers が小腸において難吸収性薬物の消化管吸収性に対し極めて優れた吸収促進効果を有することが明らかとなっている。

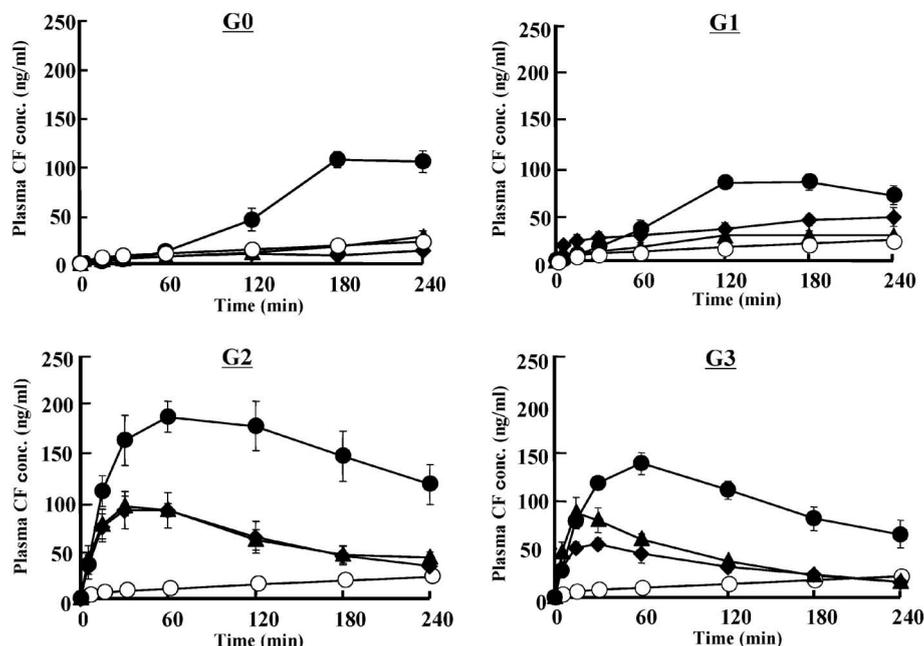


Fig. 1. Plasma Concentration-time Profiles of 5(6)-carboxyfluorescein (0.5 mg/kg) with PAMAM Dendrimers after Administration to the Rat Small Intestine by an *in Situ* Closed Loop Method

Results are expressed as the mean \pm S.E. of 3–5 experiments. Keys: (○), Control; (◆), PAMAM dendrimer (0.05% (w/v)); (▲), PAMAM dendrimer (0.1% (w/v)); (●), PAMAM dendrimer (0.5% (w/v)).

Table 2. Effects of PAMAM Dendrimers (G0–G3) on the Absorption of 5(6)-carboxyfluorescein (0.5 mg/kg) from the Small Intestine by an *in Situ* Loop Method

	C_{\max} (ng/ml)	T_{\max} (min)	$AUC_{0-240 \text{ min}}$ (ng/ml·min)	Enhancement ratio
Control	—	—	3300 \pm 151	—
G0 0.05% (w/v)	—	—	2090 \pm 419 ^{n.s.}	0.63
0.1% (w/v)	—	—	2990 \pm 387 ^{n.s.}	0.91
0.5% (w/v)	113.5 \pm 6.7	180.0 \pm 0.0	12900 \pm 518 ^{**}	3.9
G1 0.05% (w/v)	32.7 \pm 2.4	150.0 \pm 30.0	8140 \pm 1380 ^{n.s.}	2.5
0.1% (w/v)	43.4 \pm 17.3	160.0 \pm 20.0	4980 \pm 841 ^{n.s.}	1.5
0.5% (w/v)	90.9 \pm 5.2	150.0 \pm 17.3	13900 \pm 236 ^{**}	4.2
G2 0.05% (w/v)	95.5 \pm 17.9	40.0 \pm 10.0	14800 \pm 3130 [*]	4.5
0.1% (w/v)	99.1 \pm 9.3	50.0 \pm 10.0	15090 \pm 1580 ^{**}	4.6
0.5% (w/v)	200.2 \pm 19.1	80.0 \pm 20.0	36700 \pm 4390 ^{**}	11.1
G3 0.05% (w/v)	55.5 \pm 6.0	30.0 \pm 0.0	7880 \pm 1200 ^{n.s.}	2.4
0.1% (w/v)	87.8 \pm 15.8	20.0 \pm 5.0	9990 \pm 988 ^{**}	3.0
0.5% (w/v)	138.4 \pm 11.6	60.0 \pm 0.0	23600 \pm 2280 ^{**}	7.1

(**) $p < 0.01$, (*) $p < 0.05$, (n.s.) no significant difference, compared with the control. Mean \pm S.E., $n = 3-5$.

Figure 1 は、各種世代 (generation) の異なる PAMAM dendrimers 及び 5(6)-carboxyfluorescein (CF) を小腸ループ内に併用投与した後の血漿中 CF 濃度時間推移を示している。その結果、難吸収性薬物のモデルである CF の小腸からの吸収性は、各種世代の PAMAM dendrimers の併用により増大し、中でも分岐数が 2 回及び 3 回である G2, G3 の

併用により CF の吸収が顕著に増大することが認められた。また、これら各種 PAMAM dendrimers 併用時における CF の AUC は有意に増大し、特に 0.5% G2 の併用により約 11 倍に増大することが明らかとなった (Table 2)。以上のことから、PAMAM dendrimers は、従来型の吸収促進剤があまり顕著な促進効果を発現しない小腸部位において極め

て強い促進効果を有することから、小腸で有効な新規吸収促進剤としての利用が期待できると思われる。

次に、PAMAM dendrimers の吸収促進効果が、対象となる薬物の分子量に依存するか否かを検討するため、平均分子量約 4000 の fluorescein isothiocyanate labeled dextran (FD4) 並びに平均分子量約 10000 の FD10 の小腸吸収性に及ぼす PAMAM dendrimers の影響について検討した。その結果、FD4 の小腸吸収性は、PAMAM dendrimers の併用により増大したが、FD10 では効果が認められず、PAMAM dendrimers の吸収促進効果は対象となる薬物の分子量に依存することが認められた。さらに、

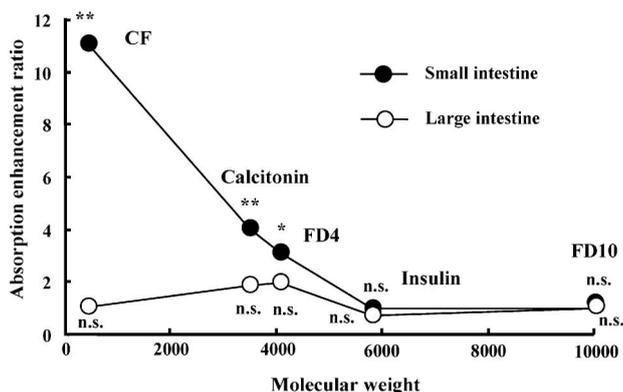


Fig. 2. Relationship between the Absorption Enhancing Ratios of G2 PAMAM Dendrimer (0.5% (w/v)) for Improving the Intestinal Absorption of Many Drugs and Their Molecular Weights in the Rat Intestine

Keys: (●), Small intestine; (○), Large intestine. Results are expressed as the mean \pm S.E. of 3–6 rats. (**) $p < 0.01$, (*) $p < 0.05$, (n.s.) no significant difference, compared with the control.

PAMAM dendrimers の吸収促進効果が、ペプチド性医薬品においても観察されるか否かを検討するため、インスリン並びにカルシトニンの小腸吸収性に及ぼす PAMAM dendrimers の影響について検討した。その結果、PAMAM dendrimers は、インスリンの小腸吸収性には影響しなかったが、カルシトニンの小腸吸収性は PAMAM dendrimers の併用により増大することが認められた。

以上の結果より、小腸並びに大腸における G2 PAMAM dendrimer の吸収促進比率と薬物の分子量との相関をとり、Fig. 2 に示した。図から明らかなように、小腸における G2 PAMAM dendrimer の吸収促進効果は、薬物の分子量が増大するにつれて低下することが認められた。また、大腸においてはいずれの薬物の吸収性に対しても G2 PAMAM dendrimer は促進効果を示さず、G2 PAMAM dendrimer の吸収促進効果は小腸に特異的であることが明らかとなった。

次に、一般に、吸収促進剤を臨床応用するためには、吸収促進剤の有効性(吸収促進効果)のみならず安全性(粘膜障害性)についても考慮することが必要であるため、小腸における G2 PAMAM dendrimer の粘膜障害性についても検討した。本研究では、小腸粘膜からの乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase, LDH) の遊離を指標として、G2 PAMAM dendrimer の消化管粘膜障害性を検討した。その結果、Fig. 3 に示すように、小腸において高濃度の G2 PAMAM dendrimer は LDH を増大させ、粘

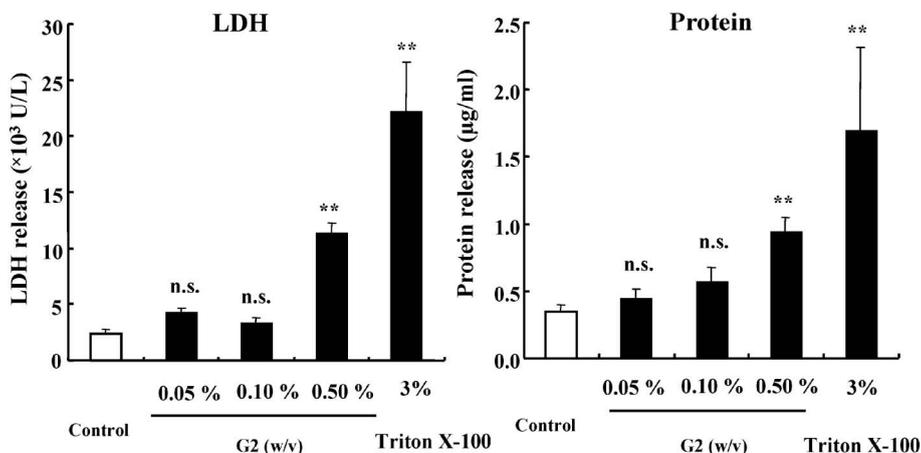


Fig. 3. Membrane Toxicity of G2 PAMAM Dendrimer in the Rat Small Intestine

The membrane toxicity of G2 PAMAM dendrimer in the rat small intestine was determined by measuring the activities of LDH and the amounts of protein released from the intestinal membranes. Results are expressed as the mean \pm S.E. of 3–6 experiments. (**) $p < 0.01$, (n.s.) no significant difference, compared with the control.

膜障害性を惹起することが認められたが、その値は positive control である Triton X-100 と比べ極めて低いことが認められた。また、0.1-0.5% の G2 PAMAM dendrimer では LDH の遊離はほとんど観察されず、低濃度の G2 PAMAM dendrimer の小腸粘膜障害性は極めて軽微であることが認められた。したがって、低濃度の G2 PAMAM dendrimer は、有効かつ安全性に優れた吸収促進剤になる可能性があると思われる。

3. おわりに

以上、本稿では、PAMAM dendrimers による難吸収性薬物の消化管吸収性の改善に関する概略を中心に述べてきた。これら難吸収性薬物の各種消化管吸収改善法は、現在いまだ動物実験の段階であるが、今後、こうした基礎的知見を踏まえてこれら難吸収性薬物の経口吸収製剤を始めとする経粘膜吸収製剤の開発が期待される。また今後、医薬品候補化合物の探索段階で難吸収性、難水溶性を示す化合物が数多く探索される可能性があると考えられるが、このような製剤学的に開発が難しい化合物をうまく製剤化して新薬開発につなげていくかは極めて重要な課題であり、本分野の研究の進展が期待される。特に、今後ポストゲノム時代を迎えて新規タンパク、遺伝子及び細胞などの次世代型の高分子性薬物が医薬品として数多く開発されることが予想されるが、これら新規医薬品の有効性や安全性を考慮した最適な投与形態の開発が重要になるとと思われる。

REFERENCES

- 1) Lee V. H. L., Yamamoto A., *Adv. Drug Delivery Rev.*, **4**, 171-207 (1990).
- 2) Lee V. H. L., Yamamoto A., Kompella U. B., *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **8**, 91-192 (1991).
- 3) Yamamoto A., Tatsumi H., Maruyama M., Uchiyama T., Okada N., Fujita T., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **296**, 84-90 (2001).
- 4) Fetih G., Habib F., Okada N., Fujita T., Attia M., Yamamoto A., *J. Control. Release*, **106**, 287-297 (2005).
- 5) Gao Y., He L., Katsumi H., Sakane T., Fujita T., Yamamoto A., *Int. J. Pharm.*, **354**, 126-134 (2008).
- 6) Gao Y., He L., Katsumi H., Sakane T., Fujita T., Yamamoto A., *Int. J. Pharm.*, **359**, 70-78 (2008).
- 7) Miyake M., Minami T., Hirota M., Toguchi H., Odomi M., Ogawara K., Higaki K., Kimura T., *J. Control. Release*, **111**, 27-34 (2006).
- 8) Morishita M., Kamei N., Ehara J., Isowa K., Takayama K., *J. Control. Release*, **118**, 177-184 (2007).
- 9) Kondoh M., Masuyama A., Takahashi A., Asano N., Mizuguchi H., Koizumi N., Fujii M., Hayakawa T., Horiguchi Y., Watanabe Y., *Mol. Pharmacol.*, **67**, 749-756 (2005).
- 10) Fetih G., Lindberg S., Itoh K., Okada N., Fujita T., Habib F., Artursson P., Attia M., Yamamoto A., *Int. J. Pharm.*, **293**, 127-135 (2005).
- 11) Lin Y., Fujimori T., Kawaguchi N., Tsujimoto Y., Nishimi M., Dong Z., Katsumi H., Sakane T., Yamamoto A., *J. Control. Release*. (in press)