大腸デリバリー技術

——時間制御型大腸デリバリーカプセル——

丹羽希芳・高谷智宏・近藤真一郎・竹下陽子・高田寛治*

Preparation and evaluation of a time-controlled release capsule made of ethylcellulose for colon delivery of drugs

We have tried to exploit a time-controlled drug release system, a colon delivery capsule made of ethylcellulose (EC). Our colon delivery capsule is consisting of four parts, capsule body, cap, swellable substance and drug container. The cap, body and drug container were made of EC, which was water-insoluble polymer. At the bottom of the body, four micropores were made. The cap has different thickness and as adhered to the capsule body with concentrated EC solution. The drug release mechanism from the capsule was as follows. At first, as the gastrointestinal fluid penetrates through these micropores, the swellable substance such as low substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) swells gradually. When the cap cannot endure the swelling pressure, the cap disintegrates and the drug in the container is released from the capsule. This release time of the drug from the capsule, namely the lag-time, is utilized for the delivery of drug to the colon.

The lag-time was evaluated both *in vitro* and *in vivo* experiments using fluorescein as a model drug. In the case of an *in vitro* experiment, changing the cap thickness could control the release time of the drug. A good correlationship was obtained between the EC cap thickness and the release time of the drug. In the *in vivo* experiment, we administered three kinds of capsules having different cap thickness were administered to fasted beagle dogs. As an index of the release time of the drug from the capsule, the peak time (T_{max}) at which plasma fluorescein level reached to its maximum level was determined. There was a good correlationship between the mean T_{max} and the cap thickness.

Therefore, we may state that this time-controlled

release capsule will be useful for the colon delivery of drugs.

Kiyoshi Niwa・Tomohiro Takaya・
Shinichiro Kondo・Yoko Takeshita・

Kanji Takada*

key words : ethylcellulose, capsule,
time-controlled release,
swellable substance, release time

製剤の経口投与後、予め設定した時間に特定の部位へ薬物を放出するように設計することができれば、薬物を消化管下部すなわち大腸にまで送達することも可能となる。筆者らは、蛋白質性医薬品である G-CSF のラットにおける *in vivo* の実験系において¹⁻⁵⁾、その薬理作用の面からみた availability が、十二指腸内投与時よりも大腸内投与時のほうが高いという結果をすでに得ている。したがって、経口投与後、大腸にまでデリバリーできれば蛋白質性薬物の経口製剤化も夢ではなくなるといえる。また、大腸癌および大腸潰瘍のような局所的な大腸疾患の治療にも、大腸デリバリーの概念は有効となる。さらに、一定の周期性を持って日内変動を繰り返す、血圧や心拍数などに異常をきたす疾患や、就寝中あるいは早朝に高い血中薬物濃度を必要とする、喘息などの疾患の治療にも大腸デリバリー技術は有用となる。

以上の研究経緯から、筆者らは図1に示すような水不溶性高分子膜、薬物槽および膨潤層からなる放出時間制御型カプセル製剤を考案した。この製剤からの薬物の放出メカニズムとしては、まず水不溶性高分子である ethylcellulose (EC) を用いて作製したカプセルの底部に施した micropore (細孔) を消化管などの外部環境から透過して侵入してきた水により膨潤層が膨潤する。つぎに、その膨潤力により、EC 製カプセルポディーの内部に保持させている薬物槽 (drug container) が、

* Department of Pharmaceutics and Pharmacokinetic,
Kyoto Pharmaceutical University, Yamashina-ku,
Kyoto 607 京都薬科大学薬剤学教室
Offprint requests to : Kanji Takada

図1 Time-controlled colon delivery capsule made of ethylcellulose

EC製のcapを破裂させることにより薬物を放出するというステップを踏む。そこで、このような製剤においては薬物がまったく放出されない時間、つまり薬物の放出にラグタイムが生じる。このラグタイムの長さを制御することにより薬物の大腸デリバリーを試みた。

本論文においては、薬物の放出ラグタイムに影響を及ぼす種々の要因について検討を行い、*in vitro*における薬物の放出特性と、*in vivo*における血中薬物動態との間における相関性について、有意義な知見が得られたので報告する。

材料と方法

(1) 試薬と薬物

今回の実験において、モデル薬物としては fluorescein (ナカライテスク) を用いた。水不溶性高分子として EC (規格 10G および 100G, 信越化学), 膨潤剤としては低置換度ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC; 規格 LH-11, LH-21 および LH-20, 信越化学) およびカルボキシメチルスターチナトリウム (CMS-Na, 木村産業) を用いた。ゼラチンカプセルは 00 号サイズ (吉田商店) を用いた。その他の試薬等は市販特級品を用いた。

(2) 放出時間制御型大腸デリバリーカプセルの調製

大腸デリバリーカプセルは図1に示すように、

図2 *In vitro* release times of time-controlled release capsules

図3 Relationship between thickness of EC(10G) cap and *in vitro* release time

EC製のcapおよびbodyと薬物コンテナからなっている。EC製のcapとbodyは重合度を異にする2種類のEC(capには10G, bodyには100G)を塩化メチレンとメタノールの混合溶液で溶解したのち、00号ゼラチンカプセル中に流し込むことにより作製した。またコンテナはガラス製シャーレに100GのEC溶液を流し込み、一昼夜放置後、出来たEC製フィルムを用いて円筒状のコンテナを作製した。EC製のbodyにまず膨潤剤を充填し、その上にEC製のコンテナを重ねた。最終的にEC製のcapをはめ、EC濃厚溶液でcapとbodyを接合した。

(3) *in vitro*における大腸デリバリーカプセルからの薬物の放出時間の測定

モデル薬物として、眼科領域において診断薬として用いられている fluorescein 12 mg をコンテ

図4 Plasma fluorescein concentration-time curves after oral administration of test capsules to beagle dogs

図5 Relationship between thickness of EC(10G) cap and fluorescein T_{max} in plasma after oral administration to beagle dogs

ナーに充填して調製したカプセルを用いた。第十二改正日本薬局方のパドル法により 100 rpm, $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の条件下で放出試験を行った。ビーグル犬の消化管内の通過状態と消化管内の pH 環境をシミュレートするために、試験開始 1 時間後に局方の第 1 液 (pH 1.2) から第 2 液 (pH 6.8) に溶出液を交換した⁶⁾。試験液中から経時的にサンプリングを行い、得られるサンプル中の fluorescein の濃度を分光光度計 (SHIMADZU UV240) により測定した。

(4) ビーグル犬における大腸デリバリーカプセルからの薬物の吸収時間の測定

12 時間絶食した 3 頭の雄性ビーグル犬 (体重 9.0~12.8 kg) に 6.0 ml の水とともに fluorescein を含有する試験カプセルを経口投与した (30 mg/10 kg)。投薬後、水の摂取は自由に出来るようにした。また 6 時間後に摂餌を行った。経時的に右外頸静脈より採血し、得られる血漿中の薬物濃度を蛍光分光光度計 (SHIMADZU RF500LC) により測定した⁷⁾。

結果と考察

(1) *in vitro* におけるカプセルからの薬物の溶出時間に影響を及ぼす要因に関する検討

大腸デリバリーカプセルからの薬物の放出に影響すると考えられる要因として、① EC 製 body の底に開けた細孔の数と大きさ、② 膨潤剤の種類と量、③ EC 製の cap の膜厚が考えられる。

まず EC 製 body の底部に開けた細孔について

は、その直径が $500 \mu\text{m}$ を越えると膨潤剤が漏れ出した。また、細孔の数を 1 個の場合と 4 個へと増加した場合とについて比較したところ、薬物の放出時間の変動が少なくなった。したがって、カプセル内への水の侵入が律速となる可能性がある 1 個の細孔を有する製剤よりも、4 個の細孔を有する製剤のほうが水分含量の低い大腸内では better なシステムであると考えられる。

つぎに②の膨潤剤に関しては、00 号カプセルの内容積から薬物槽の容積を差し引いたスペースを充填するのに必要な膨潤剤量は 120 mg と考えられた。そこでまず、LH-11 もしくは LH-21 規格の L-HPC 120 mg を単層にして、充填してカプセルを調製したところ、薬物の溶出時間は 1 時間以内に速やかに起こった。ところが、L-HPC (LH-20) の 120 mg を単層に充填した場合は逆に、12 時間以内に薬物は放出されなかった。そこで、LH-20 の 60 mg をベースにして、① LH-20 と LH-21、② LH-20 と LH-11、③ LH-20 と CMS-Na の組合せにして、計 120 mg の膨潤剤を重層にして充填した。これらのカプセル剤について放出時間を測定したところ、その放出時間に大きな差は認められなかった。以上の結果より、試験製剤として膨潤剤は LH-20 と LH-11 の組合せにし、細孔の数を 4 個とすることにした。

つぎに EC 製 cap の膜厚を $44.1(\text{mean}) \pm 2.9(\text{SE}) \mu\text{m}$, $65.7 \pm 1.5 \mu\text{m}$, $76.7 \pm 1.4 \mu\text{m}$ と変化させることにより作製した 3 種類の試験カプセルについて *in vitro* における放出性の検討を行った。図

2に示すように、カプセルに充填した薬物量の半量を放出するのに要する時間($T_{50\%}$)を測定したところ、おのおの 2.40 ± 0.15 h, 3.93 ± 0.09 h, 6.21 ± 0.18 h となった。このようにして求めた $T_{50\%}$ とその EC 製 cap の膜厚との関係を図3である。両者の間には良好な相関性が得られた(相関係数=0.948)。以上の結果より、一定の膨潤剤の種類と量の下においては、EC 製 cap の膜厚を変化させることにより、カプセルからの薬物の放出時間を良好に制御出来ることが明らかとなった。

(2) ビーグル犬における放出時間制御型大腸デリバリーカプセルからの薬物の吸収性の評価
一群3頭からなる3群のビーグル犬に3種類の異なる膜厚を有し、かつ *in vitro* での溶出時間がおのおの 1.63 h(膜厚= $39.1 \pm 2.3 \mu\text{m}$), 4.28 h(膜厚= $63.1 \pm 5.0 \mu\text{m}$), 5.67 h(膜厚= $75.5 \pm 4.1 \mu\text{m}$) である大腸デリバリーカプセルを経口投与した場合の、血漿中薬物濃度の時間的推移を示したのが図4である。

血漿中 fluorescein 濃度がピークに到達する時間(T_{max})の平均値はおのおの 2 h, 4 h および 7 h となり、用いた3種類の膜厚との間には、図5に示すようによい相関性が認められた(相関係数=0.957)。

これらの結果より、EC 製の cap の膜厚を変化させることにより、*in vivo* においてカプセルからの薬物の放出を制御することが可能であることが明らかとなった。薬物の経口投与後、ビーグル犬における大腸到達時間は 4~6 h と報告されている^{8,9)}ことから、平均 T_{max} が 4 h となる $63.1 \pm 5.0 \mu\text{m}$ の cap の膜厚を有するカプセルを用いれば、薬物の大腸デリバリーに有用であると考えられる。また、*in vitro* での薬物の平均放出時間が 8 h となる膜厚 $86.67 \pm 3.18 \mu\text{m}$ の cap や、平均放出時間が 10 h となる膜厚 $116.25 \pm 4.65 \mu\text{m}$ の cap を用いた場合には、ビーグル犬の消化管内では薬物は放出されず、翌日、糞便中にカプセルが回収された。したがって、この大腸デリバリーカプセルをヒトに用いる場合には、ヒトにおける薬物の大腸到達時間がビーグル犬とは異なることから、ヒトにおける生理的条件など^{10,13)}を考慮に入れての更なる研究が必要であると考えられる。

今回試作した放出時間制御型大腸デリバリーカプセルは、臨床的に使用実績のあるエチルセルロースを用いて作られており、大腸溶解性アゾポリマー^{14,15)}において懸念されている発癌性などの安全性に関する問題は否定できる。また、主薬として蛋白性薬物を用いる場合、大腸からの bioavailability を改善する必要がある。

筆者らは、蛋白性薬物のモデルとして G-CSF を用いて経口製剤化の研究を行ってきているが¹⁻⁵⁾、有機酸であるクエン酸と非イオン型界面活性剤である HCO-60 を併用することにより、G-CSF の経口投与後、その薬効を十分に引き出すことが可能なことを示してきている。したがって、溶出促進技術、吸収改善技術および加水分解阻害技術を併用することにより、蛋白性薬物の経口製剤化に本大腸デリバリーカプセルが貢献できるものと考えられる。

文 献

- 1) Takada, K., Tohyama, Y., Oh-hashii, M., Yoshikawa, H., Muranishi, S. et al.: Is recombinant human granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF) orally available in rats?. Chem. Pharm. Bull. 37: 838-839, 1989.
- 2) Ushirogawa, Y., Nakahigashi, Y., Kiriya, A., Takada, K.: Effect of organic acids, trypsin inhibitors and dietary protein on the pharmacological activity of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor(rhG-CSF) in rats. Intn. J. Pharmacol. 81: 133-141, 1992.
- 3) Takaya, T., Niwa, K., Takada, K.: Pharmacological effect of recombinant human colony-stimulating factor(rhG-CSF) after administration into rat large intestine. Intn. J. Pharmacol. 110: 47-53, 1994.
- 4) Takada, K., Nakahigashi, Y., Tanaka, T., Kishimoto, S., Ushirogawa, Y., Takaya, T.: Pharmacological activity of tablets containing recombinant human granulocyte colony-stimulating factor(rhG-CSF) in rats. Intn. J. Pharmacol. 101: 89-96, 1994.
- 5) Takada, K., Ushirogawa, Y.: Effect of pH, dietary proteins and trypsin inhibitors on the hydrolytic rate of human granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF) by rat digestive enzymes. J. Pharmacobio-dyn. 14: 363-370, 1991.
- 6) Kraeling, M. E. K., Ritschel, W. A.: Development of a colonic release capsule dosage form and the absorption of insulin. Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol. 14: 199-209, 1992.

- 7) Kjaergaard, J.-J., Dideriksen, K., Mourits-Andersen, T. : Some aspects of the pharmacokinetics of fluorescein in normal and in diabetic subjects. *Int. J. Microcirc. Clin. Exptl.* 2 : 191-197, 1983.
- 8) Anderson, A. C., Good, L. S. • eds. : The beagle as an experimental dog. The Iowa University Press, Iowa City, 1970, p 226-231.
- 9) Mizuta, H., Kawazoe, Y., Haga, K., Ogawa, K., Yokobe, T. : Determination of small intestinal transit time in beagle dogs using salicyl-azosulfapyridine. *Yakugaku Zasshi* 109 : 760-765, 1989.
- 10) Hardy, J. G. : Colonic transit and drug delivery. Drug delivery to the gastrointestinal tract.(eds. Hardy, J. G., Davis, S. S., Wilson, C. G.), John Wiley and Sons, Chichester, 1989, p 75-81.
- 11) Dressman, J. B. : Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharmaceut. Res.* 3 : 123-131, 1986.
- 12) Friend, D. R. • ed. : Oral colon-specific drug delivery. CRC Press, 1992.
- 13) Smith, P. L., Wall, D. A., Gochoco, C. H., Wilson, G. : (D)Routes of Delivery : (5)Oral absorption of peptides and proteins. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 8 : 253-290, 1992.
- 14) Saffran, M. G. S., Kumar, G. S., Savariar, C., Burnham, J. C., Williams, F., Neckers, D. C. : A new approach to the oral administration of insulin and other peptide drugs. *Science* 233 : 1081-1084, 1980.
- 15) Kopecek, J. : Reactive copolymers of N-(2-hydroxypropyl)-methacrylamide with N-methacryloylated derivatives of L-leucine and L-phenylalanine I. Preparation, characterization and reaction with diamines. *Macromol. Chem.* 178 : 2169-2173, 1977.