直腸薬物送達を指向した新規潰瘍性大腸炎治療薬 ONO-4057 の生体粘膜付着性 Eudispert ゲル製剤^注

梅島啓之・原田貴弘・金 洛瑞・内田享弘・後藤 茂*

Application with bioadhesive Eudispert gel preparations containing ONO-4057, a new drug for ulcerative colitis, for rectal drug delivery

Eudispert hv hydrogel and xerogel preparations containing ONO-4057 (5-[2-(2-carboxyethyl)3-(6-(4-methoxyphenyl)-5E-hexenyl)oxyphenoxy]valeric acid), a new leukotriene B₄ antagonist, were prepared, and evaluated in rats following rectal administration of these preparations. For rectal administration of gel preparations, the absolute bioavailability of ONO-4057 was almost the same (approximately 30%) as that for oral administration (31%) and also quite low compared with those of Witepsol H-15 or PEG 2000 suppositories (37% and 56%). The residual amounts in the intestine and rectum tubes and the accumulative amounts in the intestine and rectum tissues of ONO-4057 following oral and rectal administrations of various preparations were measured. The results indicate that the residual and accumulative amounts of ONO-4057 for eudispert hv gel preparations increased 2~5 folds compared with administration of oral and two conventional suppositories. Accordingly, it is assumed that eudispert hv hydrogel and xerogel preparations have excellent staying properties in the lower part of rectum and can directly act to focus parts of ulcerative colitis by raising ONO-4057 concentrations in rectum and its tissue.

Hiroyuki Umejima・Takahiro Harada・

Nak-Seo Kim・Takahiro Uchida・

Shigeru Goto*

key words : Eudispert hv gel preparation, ONO-4057, residual amounts, accumulative amounts, entero-hepatic circulation

筆者らは、アクリル系高分子被膜素材である eudragit および eudispert 類にアルカリを添加す

図1 Chemical Structure of ONO-4057

ることにより形成されるゲルに着目し、このゲルを直腸投与が可能なレクタールゲル製剤として開発し、広範にわたる製剤学的検討を行ってきた¹⁻⁹⁾。すなわち、本製剤を直腸に適用した場合、このゲル製剤自体が有する生体粘膜付着性によりゲル製剤を直腸下部に長時間滞留させることが可能である。

ところで、ONO-4057 は、図1に示す化学構造を有する leukotriene B₄ antagonist で、現在、アレルギー性疾患治療剤として経口投与剤および軟膏剤として臨床試験が進行中であり、また、実験的潰瘍性大腸炎モデルラットを対象に溶液剤の経口投与、直腸投与において効果が確認されている¹⁰⁾。しかしながら、ONO-4057 を経口投与した場合は血中に薬物は検出されるにも関わらず、直腸内投与に比べ潰瘍性大腸炎に対して高投与量を必要とする¹⁰⁾。

一方、潰瘍性大腸炎の病因に関しては、現在までなが年にわたり追求がなされているにも関わらず、依然としてその本態は不明のままである。治療薬としては、現在頻用されているもののなかの一つにサラゾスルファピリジンがあるが、この薬の作用機序の詳細もいまだ完全に解明されているわけではない。しかしながら、この薬物は、大腸組織に親和性、蓄積性がいじりしいことから¹¹⁾

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University 九州大学薬学部薬理学教室

注：本報を“ゲル製剤の調製と評価(第9報)”とする

病変部への直接的な作用が考えられている。すでに述べたところであるが、今回対象とした薬物の経口投与では、薬効を引き出すには高投与量を必要とすることより、本薬物について、製剤設計を行う際は、なるべく大量でしかも長時間にわたり薬物を病変部に接触させる手段を講じることが効果的と考えられる。

本報告では、なが年当教室で検討をつづけてきたゲル製剤の直腸下部滞留性を利用し、直腸、結腸部位に薬物をなるべく大量に長時間滞留できるように試み薬効の向上化を図ったので、その結果について述べる。

材料と方法

(1) 薬物および試薬

ONO-4057 (5-[2-(2-carboxyethyl)3-{6-(4-methoxyphenyl)-5E-hexenyl} oxyphenoxy] valeric acid) は、小野薬品工業から供与されたものを使用した。Eudispert hv は Röh m Pharma 社の製品、Witepsol H-15 は丸石製薬の製品、polyethylene glycol (PEG) 2000 はナカライテスクの製品をそれぞれ使用した。その他の試薬および試料はすべて特級を使用した。

(2) 各種坐剤の調製およびレクタゲル製剤の調製

10% Eudispert hv hydrogel, xerogel (NaOH 5 mEq 添加、以下 hydrogel または xerogel と表記する) は、先の報告⁴⁾と同様に調製した。また対照坐剤として使用した Witepsol H-15, PEG 2000 坐剤はすべて熔融法により調製した。

(3) 動物実験

Wistar 系雄性ラット (7 週齢, 190~210 g) を実験前 48 時間絶食後、エーテルにより全身麻酔を施し 37°C に保持できる恒温板 (自家製) に背位に前後肢を固定し左右頸静脈を露出させ、ONO-4057 包含溶液 0.5 ml の静脈内、経口投与を行った。

一方、直腸投与に使用した ONO-4057 包含製剤は、いずれの場合も 1 個当りの重量が 0.2 g のものを用いた。投与量はいずれの経路の場合も ONO-4057 として 10 mg/kg に設定し、直腸投与の場合は製剤を肛門より 2 cm の部位に投与し、薬物の漏出を防ぐためアロンアルファ (東亜合成化学工業) を用い接着し、クリップで肛門部を閉じ

た。

投与後、右頸静脈より経時的に 0.3 ml の採血を行い、ただちに 12,000 rpm で 5 分間遠心分離し、0.1 ml の血漿試料を得た。

(4) ラット血漿中 ONO-4057 濃度の測定

HPLC 法により血漿中 ONO-4057 の測定を行った。すなわち、ラット血漿 0.1 ml に対し、内部標準物質水溶液 (イソアミルパラベン 5 μ g/ml) を 0.1 ml および 0.1 N HCl 水溶液を 0.1 ml 加えた。つづいて塩化メチレンを 8 ml 加え、20 分間振盪したあと、3,000 rpm (1,006 $\times$ g) で 15 分間遠心分離した。さらに、有機層を 6 ml 採取したあと、50°C の水浴上で蒸発乾固させ試料とした。定量時に ethanol, 0.1 ml で溶解させ 20 μ l を注入し測定した。

(5) ONO-4057 の消化管管腔内残存量ならびに直腸組織内蓄積量の測定

各種投与経路からの投与を行ったラットに対し、投与 4 または 8 時間後に瀉血致死させ、ただちに開腹し肛門から胃幽門部までを摘出した。この摘出腸管を肛門から盲腸入口までの直腸・結腸部、盲腸、盲腸から胃幽門部までと大きく 3 部位にわけ、それぞれに pH 7.4 リン酸緩衝液 1 ml を加え測定用の試料とした。これらの試料を vortex mixer により 30 秒間振盪し、3,000 rpm (1,006 $\times$ g) で 15 分間遠心分離後、上清 0.2 ml を採取した。この上清を用いラット血漿中 ONO-4057 濃度測定と同様に HPLC 法により ONO-4057 濃度を測定し、得られた値から消化管管腔内 (直腸部、盲腸部、消化管部と図中では表記) 残存量を算出し投与量に対する残存率として示した。つづいて直腸・結腸組織内薬物蓄積率は、上述の直腸・結腸部組織を遠心分離後に取り出し、新たに pH 7.4 リン酸緩衝液 1 ml を加えて細切後、ホモジナイザー (Ultra-Turrax T-25, イカ・ジャパン) により組織をホモジナイズし上述と同様な操作により、組織内の蓄積量を算出し投与量に対する蓄積率として示した。

(6) データ解析

最高血漿中濃度 (C_{max})、 C_{max} に到達する時間 (T_{max}) は、投与後の血漿中濃度-時間曲線より求め、 AUC_{0-24} および平均滞留時間 (MRT) は山岡ら¹²⁾の方法により算出した。

表 1 Pharmacokinetic parameters of ONO-4057 after intravenous, oral, and rectal administrations of ONO-4057 at a dose of 10 mg/kg to rats

iv, oral and rectal administrations	n	C_0 or C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (h)	MRT (h)	AUC_0^∞ ($\mu\text{g h/ml}$)	F^a (%)
Intravenous injection	4	122.44 ± 5.59	0	4.97 ± 0.44	73.00 ± 5.79	100
Oral	4	6.19 ± 1.45	0.40 ± 0.10	10.79 ± 0.28	22.96 ± 1.00	31.14 ± 1.21
PEG 2000	4	10.20 ± 1.95	0.75 ± 0.14	9.99 ± 1.20	40.73 ± 2.52	55.79 ± 3.45
Witepsol H-15	4	4.04 ± 1.17	2.50 ± 1.19	8.88 ± 0.44	27.14 ± 1.34	37.17 ± 1.34
Hydrogel (5mEq)	4	$1.60 \pm 0.27^{b,d,f}$	$8.30 \pm 2.62^{b,d}$	$12.90 \pm 0.31^{b,f}$	$20.55 \pm 2.19^{d,f}$	$28.15 \pm 3.00^{d,f}$
Xerogel (5mEq)	4	$1.15 \pm 0.14^{c,e,g}$	8.38 ± 3.39	$12.00 \pm 0.25^{c,g}$	$18.54 \pm 0.43^{c,e,g}$	$25.40 \pm 0.59^{c,e,g}$

n = number of animals. a) : $F = [\text{AUC}] \text{ oral or rectal} / [\text{AUC}] \text{ iv}$. b : oral solution versus Eudispert hv hydrogel. c : oral solution versus Eudispert hv xerogel. d : PEG 2000 versus Eudispert hv hydrogel. e : PEG 2000 versus Eudispert hv xerogel. f : Witepsol H-15 versus Eudispert hv hydrogel. g : Witepsol H-15 versus Eudispert hv xerogel. b - g : significant difference was observed between them, respectively ($p < 0.05$). Each value represents the mean $\pm$ SEM.

図 2 Concentrations of ONO-4057 in plasma after intravenous (○) and oral (●) administrations of ONO-4057 solution to rats

Each point and vertical line represents the mean and standard error respectively, for 4 rats.

有意差検定は Student' t test を用い, $P < 0.05$ を有意差ありと判定した.

結果と考察

(1) ONO-4057 溶液の静脈内投与ならびに経口投与

まず ONO-4057 の基礎的な体内動態を明らかにする目的で静脈内投与と経口投与を実施した. 本薬物はアルカリに対し溶解しやすいため, 5%

NaHCO₃ 水溶液 (pH 9.0) に薬物を溶解させ溶液の調製を行った. 得られた血漿中薬物濃度曲線を図 2 に示し, この血漿中薬物濃度曲線より得られた薬動学的パラメータを表 1 にまとめて示した.

いずれの投与経路においても, 投与 24 時間後の血中には薬物が比較的高い濃度を保っていることがわかった. すでに本薬物が腸肝循環することは認められているが¹⁰⁾, この血漿中薬物濃度曲線のパターンからもこの事実は窺える. また, 経口投与の際の絶対的バイオアベイラビリティ (BA) は 31% と低い値が得られ, 消化管吸収は良好とはいえない.

(2) ONO-4057 包含 PEG 2000 および Witepsol H-15 坐剤の直腸投与

ONO-4057 の直腸投与と製剤化に際して, 基準に市販坐剤基剤である水溶性基剤の PEG 2000 ならびに油脂性基剤の Witepsol H-15 を選択して調製した 1% (w/w) ONO-4057 包含坐剤の直腸投与を実施した. その際の血漿中薬物濃度曲線を図 3 に, 血漿中薬物濃度曲線より得られた薬動学的パラメータを表 1 に示した. 両基剤間における違いは C_{max} (T_{max}) が PEG 2000 製剤では $10.15 \mu\text{g/ml}$ (0.8h) であったのに対し, Witepsol H-15 製剤では $4.04 \mu\text{g/ml}$ (2.5h) であり, T_{max} は遅延する傾向がみられた.

この理由としては, 本薬物が水溶性基剤中では溶解状態で存在し, 直腸吸収に際して速効的であるのに対し, 油脂性基剤中では分散状態で存在しているため, 直腸吸収に際しては薬物の溶解過程

図3 Concentrations of ONO-4057 in plasma after rectal administration of PEG 2000 (○) or Witepsol H-15 suppositories (●) containing ONO-4057 to rats

Each point and vertical line represents the mean and standard error respectively, for 4 rats.

図4 Concentrations of ONO-4057 in plasma after rectal administration of Eudispert hv hydrogel (○) or xerogel preparations (●) containing ONO-4057 to rats

Each point and vertical line represents the mean and standard error respectively, for 4 rats.

が律速になるためと考えられる。そして、PEG 2000 製剤の絶対的 BA は 55.8% であり、また、Witepsol H-15 製剤では 37.2% であり、PEG 2000 を用いるほうが吸収性はすぐれていた。

一方、Witepsol H-15 を用いた場合は経口投与の場合に比べて、絶対的 BA には大差のないことがわかった。

(3) ONO-4057 包含 Eudispert hv hydrogel および xerogel 製剤の直腸投与

ひきつづいて、1% (w/w) ONO-4057 包含 hydrogel および xerogel の直腸投与を行った。その際の血漿中薬物濃度曲線を図 4 に、血漿中薬物濃度曲線より得られた薬動学的パラメータは表 1 に示した。血漿中薬物濃度曲線のパターンは前項の市販坐剤基剤を用いて調製した製剤の場合と比較すると、さらに徐放化の傾向を示し、 C_{max} (T_{max}) はそれぞれ $1.60 \mu\text{g/ml}$ (8.3h), $1.15 \mu\text{g/ml}$ (8.4h) で、比較的小さな血漿中濃度値を示した。絶対的 BA は hydrogel 製剤で 28.2%, xerogel 製剤では 25.4% と市販基剤を用いて調製した場合よりも低い値であったが、この理由としては薬物自体の直腸下部での未吸収性または放出制御に起因する

不完全な吸収がまず考えられるところである。これまで述べてきたとおり、ゲル製剤を利用した場合は、市販基剤を用いて調製した場合と比較すると絶対的 BA は 1/2~4/5 程度の値となり、市販基剤を用いて調製した場合とゲル製剤の間で明らかに差異が認められた。

(4) ONO-4057 包含 PEG 2000, Witepsol H-15 坐剤, Eudispert hv hydrogel および xerogel 製剤の直腸投与 4, 8 時間後における消化管腔内薬物残存率および消化管下部組織内薬物蓄積率の測定

潰瘍性大腸炎を指向する製剤設計を行うに際し、病変部にいかに薬物を高濃度かつ長時間作用させるかということとは大きな問題であろう。すなわち、消化管内の薬物残存量ならびに消化管組織内分布量も併せて測定することは、上記の事実を示すための指標となりうるものと考えられる。そこで、各種薬物包含坐剤の直腸投与ならびに溶液の経口投与後、4, 8 時間における空腸、回腸、結腸、直腸内薬物残存量を定量し評価と考察を行った。直腸および結腸を主体にした消化管下部と、盲腸、そして盲腸より上部の部分である消化管上

図5 Residual percentage (residual amounts/dose, %) of ONO-4057 in luminal contents in the rectum, cecum and intestine and total, 4 (■) or 8 (▨) h after oral (A) and rectal administrations of PEG 2000 (B), Witepsol H-15 (C) suppositories, Eudispert hv hydrogel (D) and xerogel (E) preparations to rats

Total means the percentage of sum of residual amounts in rectum, cecum and intestine to dose.

Each horizontal bar represents the mean and standard error respectively, for 3 to 4 rats.

部の3つの部位にわけ、それぞれの部位での薬物の残存量を投与量に対する残存率として図5にまとめて示した。

投与4時間後において比較すると、全残存率は約40～50%の値を示し剤形間に顕著な差はみられなかったが、結果的に経口投与ならびに市販基剤を用い調製した直腸投与では、投与4時間後ですでに消化管上部にかなりの量の薬物が移動、消化管内の広範な領域にわたり分布していることが明らかとなった。

一方、hydrogel ならびに xerogel 製剤では、4時間後、なお消化管下部に比較的多くが残存し、8時間後にはやや移動しているがそれでも残存量は大きく(経口投与ならびに市販基剤を用い調製した場合にくらべ約2倍量)、比較的長時間にわたり、薬物を直腸ならびに結腸部位に滞留できる可能性があることがわかった。

これらの結果は、筆者らがすでに報告した事実⁴⁾、すなわち市販坐剤基剤である Witepsol なら

びに PEG 2000 を用い調製した場合は、投与2時間後で結腸ならびに盲腸より上部に基剤が広がるということ、また特に PEG 基剤の場合は、直腸分泌液を吸収して容積が増加することにより急激に消化管が膨潤し、薬物が移行しやすくなるという報告¹³⁾により説明できるものと思われる。

上述したように、ゲル製剤を用いると薬物をより比較的多量かつ長時間にわたり消化管下部に滞留させうることが明らかとなった。

さらにもう一つの問題、消化管粘膜組織中蓄積性の程度を、組織をホモジナイズ後薬物を定量することにより検討した。図6には投与4時間後ならびに8時間後における蓄積率(投与量に対する蓄積量%)を示した。その結果、経口投与4,8時間後においてはわずか4%以下の蓄積率であったのに対し、PEG 2000 坐剤を用いた場合は、その約3倍の値、Witepsol H-15 坐剤では約7倍の値と高く、本薬物は直腸経路から用いたほうが結腸や直腸の粘膜組織蓄積性についてはより効果的と思

図6 Accumulative percentage (accumulative amounts/dose, %) of ONO-4057 in rectal tissue homogenates, 4 (■) or 8 (▨)h after oral and rectal administrations of PEG 2000, Witepsol H-15 suppositories, Eudispart hv hydrogel and xerogel preparations to rats

Each horizontal bar represents the mean and standard error respectively, for 3 to 4 rats.
 a : oral solution versus Eudispart hv hydrogel.
 b : oral solution versus Eudispart hv xerogel.
 c : PEG 2000 versus Eudispart hv hydrogel.
 d : PEG 2000 versus Eudispart hv xerogel.
 e : Witepsol H-15 versus Eudispart hv hydrogel.
 f : Witepsol H-15 versus Eudispart hv xerogel.
 a-f : Significant difference was observed between them, respectively ($P < 0.05$).

われる。

一方、ゲル製剤の場合、hydrogel 製剤の直腸投与では4時間後の蓄積率は41.9%、8時間後は28.9%の値とかなり高く、PEG 2000 および Witepsol H-15 坐剤の場合と比較して実に2～5倍の値を示した。このような高い蓄積率は本製剤が潰瘍性大腸炎の病変部に対し効果的に直接作用できる可能性を示すものと考えられた。

今回の検討により、市販基剤を用いた坐剤の直腸投与または経口投与の場合にくらべ、ゲル製剤の直腸下部滞留性を利用することでより多量の薬物を長時間にわたり直腸ならびに結腸の病巣に送達できる可能性を示唆するものであり、ゲル製剤は初回通過効果回避ならびに薬物の直腸吸収促進を目的とした場合のみならず、潰瘍性大腸炎に対して局所的な直腸・結腸疾患に有効性を示す直腸投与基剤になりうるものと思われる。

今回は、正常ラットを用いた検討にとどまって

おり、本製剤の将来における利用の可能性を想定するにすぎなかったが、今後は、病態モデルを用いた病理学的および薬理学的評価を行い、この基剤の有用性をさらに追求していく必要があるものと思われる。

本研究に際し、薬物の ONO-4057 を提供していただいた小野薬品工業株式会社に深く感謝します。

文 献

- Goto, S., Kawata, M., Suzuki, T., Kim, N.-S., Ito, C. : Preparation and evaluation of eudragit gels. I : Eudragit (acrylic resins) organogels containing drugs as rectal sustained-release preparations. J. Pharm. Sci. 80 : 958-961, 1991.
- Kawata, M., Suzuki, T., Kim, N.-S., Ito, C., Kurita, A., Miyagoe, Y., Goto, S. : Preparation and evaluation of eudragit gels. II : *In vivo* release of salicylic acid, sodium salicylate, and ketoprofen from eudragit L and S (acrylic resins) organogels. J. Pharm. Sci. 80 : 1072-1074, 1991.
- 金 洛瑞, 川田昌和, 後藤 茂 : 脳内微小循環改善薬 pentoxifylline を包含した制御放出型レクタールゲル製剤の調製と評価. DDS 5 : 231-236, 1990.
- Kim, N.-S., Kawata, M., Uchida, T., Goto, S. : Preparation and evaluation of eudragit gels. III : Rectal gel preparations for sustained release of pentoxifylline. J. Pharm. Sci. 81 : 537-540, 1992.
- Kim, N.-S., Ito, T., Kawata, M., Uchida, T., Goto, S. : Preparation and evaluation of eudragit gels. IV : Rectal gel preparations for sustained release and avoidance from first-pass metabolism of propentofylline. J. Pharm. Sci. 81 : 904-907, 1992.
- Kim, N.-S., Umejima, H., Ito, T., Uchida, T., Goto, S. : Preparation and evaluation of eudragit gels. V : Rectal gel preparations for sustained release and avoidance from first-pass metabolism of lidocaine. Chem. Pharm. Bull. 40 : 2800-2804, 1992.
- Umejima, H., Kim, N.-S., Ito, T., Uchida, T., Goto, S. : Preparation and evaluation of eudragit gels. VI : *In vivo* evaluation of eudispart hv hydrogel and xerogel containing salicylamide. J. Pharm. Sci. 82 : 195-199, 1993.
- 梅島啓之, 金 洛瑞, 足達敬子, 内田享弘, 後藤 茂 : サリチルアミド包含レクタールゲル製剤の中空坐剤への応用. 薬剤学 52 : 249-254, 1992.
- Umejima, H., Kikuchi, A., Kim, N.-S., Uchida, T., Goto, S. : Preparation and evaluation of eudragit gels. VIII : Rectal absorption of 5-fluorouracil from eudispart hv gels in rats. J. Pharm. Sci. submitted.
- 小野薬品工業(株)開発研究所内資料
- 砂原茂一, 植木昭和・監 : 消化器疾患. 臨床薬物治療

- 学大系, 13. 情報開発研究所, 東京, 1988, p 218-225.
- 12) Yamaoka, K., Nakagawa, T., Uno, T. : Statistical moments in pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 6 : 547-558, 1978.
- 13) Tsuchiya, S., Hiura, M., Matsumaru, H. : Studies on absorption of suppositories. VII : Effect of the amount of base on absorption of sulfonamides from rabbit rectum. *Chem. Pharm. Bull.* 25 : 667-674, 1977.