S1-08

キトサンカプセルを用いた大腸特異的送達法による インスリンの吸収改善

京都薬大・製剤 ○山本 昌、東崎 英之、藤田 卓也、村西 昌三
アイセロ化学株式会社 寺部 亮、松本 隆幸、鈴木 勉

CHITOSAN CAPSULES FOR COLON-SPECIFIC DRUG DELIVERY:
IMPROVEMENT OF INSULIN ABSORPTION FROM THE RAT COLON

Akira YAMAMOTO¹, Hideyuki TOHZAKI¹, Takuya FUJITA¹, Shozo
MURANISHI¹, Akira TERABE², Takayuki MATSUMOTO² and Tsutomu
SUZUKI²

¹Department of Biopharmaceutics, Kyoto Pharmaceutical University,
Kyoto 607, Japan

²Aicello Chemical Company, Toyohashi 441-11, Japan

【目的】近年、微量で強力な生理活性を有するペプチドが数多く発見され、これら生理活性ペプチドを医薬品として疾病の治療に応用しようとする試みがなされている。しかしながら、こうしたペプチド性医薬品の投与法はほとんど全てが注射による投与に限られているのが現状である。そこで最近では経口投与後の生理活性ペプチドの吸収率を改善するため、種々のアプローチが試みられている。

大腸は解剖学的にみて消化管の下部に位置し、水、電解質の吸収や排泄物の貯留という生理作用を司っている。したがって、消化管の上部に位置する小腸に比較して消化酵素や胆汁、膵液などの分泌液の影響を受けにくく、生理活性ペプチドがこの部位で比較的安定に存在できると考えられる。そこで、経口投与された生理活性ペプチドを胃や小腸で分解酵素に曝されることなく大腸部に移行させるシステム、すなわち生理活性ペプチドの大腸特異的送達システムを開発することができれば、これらペプチドの経口投与後の吸収性を飛躍的に改善できるものと思われる。しかしながら、現在報告されているシステムは時間制御型やpH依存型の放出制御製剤が多く、経口投与後の消化管移動や消化管内のpHが変化した場合、大腸以外の部位で内容薬物が放出する可能性がある。一方、キトサンは、エビ、カニの甲羅から取れるキチンのアミノアセチル基を脱アセチル化した多糖類であり、従来から人工皮膚、手術用縫合糸、抗癌剤の高分子化修飾等に用いられている天然素材であるが、近年大腸に存在する各種腸内細菌により特異的に分解することが明らかになっている。

そこで本研究では生理活性ペプチドのモデルとしてインスリンを選択し、インスリンを封入したキトサンカプセルを経口投与し、インスリンの大腸特異的送達ならびに吸収性の改善を試みた。

【実験方法】

(1)キトサンカプセルの調製

キトサンカプセルは、アイセロ化学株式会社より供与されたものを用いた。経口投与後、カプセルが胃内で崩壊するのを防ぐため、カプセル表面にヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートで腸溶性コーティングを施した。

(2)キトサンカプセルの消化管移動実験

キトサンカプセルの消化管移動実験は、カプセルを経口投与後、経時的に開腹してカプセルの消化管内の存在位置を確認することにより行った。この際、胃、大腸、盲腸は1つの部位として評価したが、小腸の場合は全体を8つの部位に分割し、それぞれの部位におけるカプセルの個数を数えた。

(3)キトサンカプセルからの内容薬物の放出試験

キトサンカプセルからの内容薬物の放出試験は、カプセル内にモデル薬物である 5(6)-carboxyfluorescein (CF) を封入し、日本薬局方回転バスケット法により行った。試験液は、カプセルの経口投与後の消化管内移動を考慮して局方第1液、局方第2液、および33%腸内細菌液を用いた。

(4)キトサンカプセル経口投与後のインスリンの消化管吸収実験

In vivo 経口投与実験は、Wistar 系雄性ラット (200-270 g) に、エーテル麻酔下カニューレを用いてカプセルを経口投与することにより行った。カプセル内には薬物としてインスリン 20IU 及びタンパク分解酵素阻害剤として sodium glycocholate 9.75 mg, bacitracin 14.21 mg, soybean trypsin inhibitor (STI) 3 mg, aprotinin 4 mg をそれぞれ封入した。カプセル投与後、経時的に血液を頸静脈よりサンプリングし、遠心分離後、血漿中グルコース濃度をグルコース B テストワコーを用いて測定を行った。

【結果・考察】

(1) *in vivo* 消化管内移動実験

キトサンカプセルの経口投与後の消化管内移動を検討した結果、カプセルは経口投与後0-2時間目までは胃に、2-6時間目までは小腸部位に、6-12時間目までは大腸部位に存在し、12時間目以降は体外に排泄されることが明らかとなった。

(2)キトサンカプセルからの内容薬物の放出試験

Fig.1 は、5(6)-carboxyfluorescein (CF) 封入キトサンカプセルからの CF の放出-時間曲線を示したものである。リン酸緩衝液(PBS)中においては少量の CF の漏出がみられたが、カプセルの崩壊は見られなかった。これに対して、経口投与時の体内移動を考慮して0-2時間目までは局方第1液、2-6時間目までは局方第2液、6-12時間目までは腸内細菌液中で溶出試験を行った結果、カプセルが大腸部位に存在していると考えら

Fig.1 Release of CF from Chitosan Capsules by Japan Pharmacopoeia (J.P.) Rotating Basket Method

● : liquid 1 (J.P.) → liquid 2 (J.P.) → 33% suspension of cecal contents
○ : Phosphate buffered saline (pH 7.4)

Results are expressed as the mean ± S.E. of 2-4 experiments.

れる6時間目以降に急激なCFの放出が見られ、カプセルが腸内細菌で特異的に崩壊することが明らかとなった。また、腸内細菌液中におけるキトサンカプセルの表面構造を電子顕微鏡を用いて撮影した結果からもカプセルの経時的な崩壊が観察された。これらの結果より、経口投与したキトサンカプセルは大腸部位に到達した後、大腸に存在する腸内細菌により崩壊し、内容薬物を放出することが示唆された。

(3)キトサンカプセル経口投与後のインスリンの消化管吸収実験

Fig.2は、インスリンおよび sodium glycocholate または bacitracin を封入したキトサンカプセルを経口投与した後の血糖値の経時変化について示したものである。インスリンおよびこれらタンパク分解酵素阻害剤を封入したカプセルを経口投与した場合、賦形剤のみを封入したカプセル、インスリンのみを封入したカプセルに比べ、顕著な血糖降下が観察された。また、インスリンおよび sodium glycocholate をゼラチンカプセルに封入し、経口投与した場合、若干の血糖値の低下が観察されたが、キトサンカプセルに比較するとその効果は弱いことが明らかとなった。更にインスリンに他のタンパク分解酵素阻害剤 (bacitracin, STI, aprotinin) を封入したキトサンカプセルにおいても血糖値の低下がみられた。

Fig.2 Concentration - Time Profiles of Glucose in Plasma after Oral Administration of Chitosan Capsules Containing Insulin with or without protease inhibitors

Results are expressed as the mean $\pm$ S.E. of 3 - 7 experiments.

a : Sodium glycocholate

【結論】

以上の結果より、次のような結論が得られた。

- (1)キトサンカプセルは経口投与後、0-2時間で胃に、2-6時間で小腸部位に、6-12時間で大腸部位に存在することが認められた。
- (2)キトサンカプセルは、大腸部位に存在する腸内細菌により特異的に崩壊し、内容薬物を放出することが明らかとなった。
- (3)インスリンを封入したキトサンカプセルを経口投与後、血糖値は顕著に低下し、その効果

は各種タンパク分解酵素阻害剤の併用により増強されることが認められた。

こうした知見より、キトサンカプセルは生理活性ペプチドの大腸特異的送達法を達成する上できわめて有用な素材となりうることが示唆された。

ABSTRACT

Recently, there is increasing interest in the targeting of these drugs to the colon because of the low activity of proteolytic enzymes in the colon. Therefore, many dosage forms such as a time controlled-release dosage form and a pH-sensitive coating dosage form were examined for the specific drug delivery to the colon. However, these approaches have recently been shown to lack site specificity, since the variability of pH and small intestinal transit time of these dosage forms were observed. On the other hand, chitosan, which is one of the polysaccharides widely distributed in nature, is known to be specifically degraded by microorganisms distributed in the colon. In this study, therefore, we prepared chitosan capsules containing insulin and examined the effectiveness of these capsules to colon-specific delivery of insulin.

The chitosan capsules containing CF or insulin were obtained from Aicello Chemical Co. Ltd (Toyohashi, Japan). The mean diameter and weight of these capsules were 3.5 x 1.6 mm and 1.2-1.5 mg, respectively. The surface of these capsules were coated with hydroxypropyl methylcellulose phthalate-4 and rosephthalate as enteric coating materials. The release studies of drug from the chitosan capsules were carried out using Japan Pharmacopoeia (J.P.) rotating basket method. 6-Carboxyfluorescein (CF), which was encapsulated in the chitosan capsules was used as a water soluble model compound. No release of CF from the capsules was observed in liquid 1 as an artificial gastric juice (pH 1) and liquid 2 as an artificial intestinal juice (pH 7). However, the release of CF was markedly increased in the presence of rat cecal contents. These findings suggested that the chitosan capsules were degraded by the microorganisms in rat cecal contents. The effectiveness of the chitosan capsules to the colon specific delivery of insulin was investigated by an in vivo absorption experiment. A marked decrease in plasma glucose levels was observed following oral administration of these capsules containing 20 IU insulin and Na-glycocholate, as compared with the capsules containing lactose or insulin only. In addition, the chitosan capsules containing insulin and Na-glycocholate were more effective for reducing the plasma glucose levels than the gelatin capsules containing the same components. Thus, this capsule may be a useful carrier for colon-specific delivery of peptides including insulin.

【参考文献】

- 1) T. Tenma et al., *Pharm. Res.*, **10**, 1488-1492 (1993)
- 2) E. Yodoya et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **271**, 1509-1513 (1994)
- 3) H. Asada et al., *J. Pharm. Sci.*, **84**, 682-687 (1995)
- 4) A. Yamamoto et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**, 14-18 (1994)
- 5) Y. Fukuda et al., *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 891-894 (1995)
- 6) T. Fujita et al., *Pharm. Sci.*, **1**, 231-234 (1995)
- 7) T. Okagawa et al., *Life Sci.*, **55**, 677-683 (1994)
- 8) A. Yamamoto et al., *Pharm. Res.*, **11**, 1496-1500 (1994)
- 9) H. Tohzaki et al., *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 929-931 (1995)