薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
108 (11) 1093-1100 (1988)

ジメチル-β-シクロデキストリン複合体化によるメナキノ-4 の
経口投与時のバイオアベイラビリティの改善

堀内保秀,^a 菊池正彦,^a 平山文俊,^a 上釜兼人,^{*,a}
上野雅男,^b 井實孝則^b

熊本大学薬学部,^a 日清製粉(株)中央研究所^b

Improvement of Bioavailability of Menaquinone-4 by Dimethyl-β-
cyclodextrin Complexation Following Oral Administration

YASUhide HORIUCHI,^a MASAHiko KIKUCHI,^a FUMITOSHI HIRAYAMA,^a
KANETO UEKAMA,^{*,a} MASAO UENO,^b and TAKANORI IJITSU^b

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University,^a 5-1, Oe-honmachi,
Kumamoto 862, Japan and Research Center of Nisshin Flour Milling Co.,
Ltd.,^b 5-3-1, Tsurugaoka, Oi-machi, Iruma-gun,
Saitama 354, Japan

(Received June 13, 1988)

Aqueous solubility of menaquinone-4 (MK-4), a potent antihemorrhagic vitamin K₂, largely increased with heptakis(2,6-di-O-methyl)-β-cyclodextrin (DM-β-CyD), forming the higher-order complexes. By the analysis of phase solubility diagram, the stoichiometric ratio of the main complex was estimated to be 1 : 3 (MK-4/DM-β-CyD) with the stability constant of 46400 M⁻¹. Then, the 1 : 3 solid complex was prepared by the kneading method, and its dissolution, absorption, and pharmacological characteristics were compared with those of MK-4. The plasma levels of MK-4 after the oral administration to dogs and rats in the form of complex were significantly higher than the MK-4 alone, particularly in the cases of the fasted state and the lack of bile. When the complex was administered orally to rats under bile duct cannulation, MK-4 was absorbed through both portal and lymphatic routes. The oral administration of DM-β-CyD complex also attained the shortening of the blood-clotting time of MK-4 for warfarin-induced hypoprothrombinemic dogs. The enhanced bioavailability seemed to be mainly ascribable to the increase in dissolution of MK-4 by DM-β-CyD complexation.

Keywords—menaquinone-4; dimethyl-β-cyclodextrin; inclusion complex; stability constant; dissolution rate; prothrombin time; bioavailability

新生児の低プロトロンビン血症や外科手術時の出血予防及び治療などに用いられる脂溶性ビタミン K 類 (K₁, K₂) は極めて難水溶性であり, 空腹時の胆汁分泌の少ない状態, 胆道閉塞症, 脂肪吸収障害などの場合, 経口投与時のバイオアベイラビリティが極めて低く, また, 光や熱に不安定なことが知られている.^{1,2)} したがって, これら製剤特性の改善は実際製剤上重要な課題であり, 近年ビタミン K₁ については溶解性, 安定性, 吸収性の改善に関する検討が行われている.^{3,4)}

環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (cyclodextrin, CyD) は, その特異な包接作用により, 各種製剤特性向上のための薬物担体として広く利用されている.^{5,6)} なかでも CyD 包接に伴う医薬品のバイオアベイラビリティの向上, 粘膜刺激性の軽減などは主薬の投与量の減少や副作用の軽減につながるため, 近年活発に検討されている.⁷⁾ 一方, 最近では天然 CyD の物性を改良し機能性を高めるため, 種々の誘導体が開発されつつある.^{8,9)} 特に, β-CyD の 2 位と 6

Fig. 1. Chemical Structure of Menaquinone-4

位の水酸基をメチル化した heptakis(2,6-di-*O*-methyl)- β -CyD (DM- β -CyD) は β -CyD とは著しく異なる物性を有し、 β -CyD の欠点を補うホスト分子として製剤への有効利用が期待されている。¹⁰⁻¹²⁾ そこで本研究では、ビタミン K 類の中で経口投与時の薬理活性が高いとされているビタミン K₂ (menaquinone-4, MK-4, Fig. 1) について、DM- β -CyD との複合体形成に伴う MK-4 の溶解性の改善による経口投与時のバイオアベイラビリティの向上並びに吸収挙動の変化について検討を行った。

実 験 の 部

試料及び溶媒 MK-4 は日清製粉(株)より、DM- β -CyD は東進ケミカル(株)より恵与されたものを使用した。その他の試薬類は、すべて市販特級品を用いた。溶媒としての水はイオン交換精製水を 2 回蒸留して用いた。

溶解度法 MK-4 の一定過剰量を共栓付試験管に入れ、種々の濃度の DM- β -CyD 溶液を添加して密栓し、溶解平衡に達するまで (25°C, 2 週間) 遮光条件下で振とうした。遠心分離後、上澄液を綿栓付ピペットでろ過し、メタノールで希釈後、MK-4 の吸収極大波長 (248 nm) における吸光度を測定して、検量線から MK-4 濃度を求めた。なお、本実験条件下では、MK-4 の分解は起こらないことを確認した。複合体の安定度定数は、前報¹³⁾に従って溶解度相図の上昇曲線部分より非線形最小自乗法とイタレーション法を組み合わせたプログラムにより解析した。

固体複合体の調製 モル比 1:3 の MK-4 と DM- β -CyD をメノウ乳鉢中で混和し、水を適量加え、ペースト状になるまで (約 40 min) 混練した。得られた複合体は室温で 3 日間減圧乾燥し、100 メッシュで篩過し、ふるい下部分の粉末を以下の実験に用いた。

熱分析 示差熱分析 (DTA) は、島津 DT-20B を用いて測定した。標準物質には α -アルミナを用い、昇温速度 10°C/min で操作した。

粉末 X 線回折 理学電機(株)製 Geiger Flex 2012 粉末 X 線回折装置を使用した。測定条件は以下の通りである。X 線源: Ni フィルター Cu-K α 線 (1.542Å), 管電圧: 30 kV, 管電流: 20 mA, 走査速度: 1°/min, 時定数: 1 s, 測定回折角 (2 θ): 5—25°。

溶出試験 粉末試料 (MK-4 50 mg 相当量) を 00 号ゼラチンカプセル (日局 XI) に充填した。溶出試験は日局 XI 溶出試験第二法 (パドル法) に準じて、遮光条件下で行った。検液は綿栓付ピペット及びミリポアフィルター® (i.d. 0.45 μ m) でろ過後、MK-4 の吸収極大波長 (248 nm) における吸光度を測定し、検量線から MK-4 濃度を求めた。測定条件は以下の通りである。溶出液: 日局第一液 (pH 1.2) 500 ml, パドル回転数: 100 r.p.m. 温度: 37°C。

ビーグル犬における *in Vivo* 吸収実験 実験動物——生後約 1 年の雄性ビーグル犬 (体重 13—15 kg) を投与前 12 時間絶食させて用いた。なお、ビーグル犬には水を自由に摂取させた。

投与方法——粉末試料 (MK-4 60 mg 相当量) を 000 号カプセル (日局 XI) 2 個に均等に充填し、水 100 ml と共に強制的に経口投与した。

採血——試料投与後、経時的に前肢静脈から 3.8% クエン酸ナトリウム 0.3 ml と共に血液 2.7 ml を採血後、遠心分離 (3000 rpm, 10 min) し、血漿を採取した。

血漿中 MK-4 濃度の測定——血漿 0.5 ml に精製水 0.2 ml, イソプロピルアルコール 0.8 ml, 内部標準物質 (ビタミン K₁), *n*-ヘキサン 4 ml を加えて振とう後、遠心分離し、上澄 3.0 ml を減圧留去後、残渣に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に用いた移動相と同一組成の混液 0.1 ml を加え、その 30 μ l を検液として下記の HPLC により MK-4 を定量した。

高速液体クロマトグラフィー ポンプ: 日本分光(株)製 BIP-1 型, カラム: Cica-Merck LiChrosorb Si-60 (5 μ m, 4 mm i.d. $\times$ 250 mm), 検出器: 日本分光(株)製 UVIDEC-100-V 型分光光度計 (測定波長: 270 nm), 移動相: 酢酸エチル/*n*-ヘキサン (2:98) 混液, 流速: 1.0 ml/min の条件下で測定した。

薬理活性の測定 低プロトロンビン血症犬の調製——生後約 1 年の雄性ビーグル犬 (体重 13—15 kg) を用い、生理食塩水に溶解させた抗凝血薬ワーファリンナトリウム (1.0 mg/kg) を前肢静脈より静注し、実験的低プロトロンビン血症犬を作製した。⁴⁾

投与方法——粉末試料はそれぞれ MK-4 として 130 mg 相当量をカプセル (000 号) 2 個に分割・充填し、ワーファリン処理後 36 時間目に 100 ml の水と共に経口投与した。また、MK-4 の静脈内投与は市販のケイツー注射液® (エーザイ(株)) を用い、MK-4 として 13.0 mg 相当量を投与した。血液は経時的に採取し、血液凝固能を測定した。なお、ビーグル犬はいずれの場合も投与前 12 時間絶食させた。

血液凝固活性 (Prothrombin Complex Activity, PCA) の評価 PCA は血液凝固時間 (prothrombin time,

PT) を Quick 1 段法で測定することにより評価した.¹⁴⁾

PT 測定法——血液 2.7 ml をクエン酸ナトリウム 0.3 ml と共にビーグル犬の前肢静脈から採血し、遠心分離 (3000 rpm, 10 min) 後、血漿を分取した。その血漿 75 μ l を生理食塩水 75 μ l で希釈したものとプロトロンビン測定試薬シンプラスチン-A® (General Diagnostics Co.) 0.2 ml をそれぞれガラス試験管に入れ、ブレインキュベート (37°C, 3 min) した。インキュベート後、上記希釈血漿 0.1 ml を取り、プロトロンビン測定試薬中に添加後から凝血を生じるまでの時間を測定し、PT とした。

PT に対する PCA の標準曲線——ワーファリン処理前のビーグル犬から採血し、分離した血漿を正常血漿とした。生理食塩水による 2 倍希釈血漿を 100% PCA として、それを更に生理食塩水で希釈することにより PCA が 6.25, 12.5, 25.0, 50.0% の希釈血漿を調製し、それぞれの PT を測定して PCA 標準曲線を作成した。¹⁵⁾ この曲線を用いて各ビーグル犬の PT を PCA 値に変換した。

ラットにおける *in Vivo* 吸収実験 12 時間絶食した Wistar 系雄性ラット (体重 200—250 g) をペントバルビタール麻酔下、開腹後、Bollman らの方法¹⁶⁾により胸管リンパにポリエチレンチューブ (PE 50) を挿入結索し、リンパ液を採取した。また、胆汁非存在のラットを設定するため、薬物投与前にラットをエーテル麻酔下、常法に従い胆管にポリエチレンチューブ (PE 10) を挿入結索し、胆汁を体外へ導出させた。麻酔覚醒後、MK-4 として 10 mg/kg 相当量の粉末試料を生理食塩水 1 ml と共に強制的に経口投与した。リンパ液は 2 時間毎に回収し、薬物の蓄積量を測定した。血液は 2 時間毎に頸静脈より 0.6 ml 採取し、薬物濃度を測定した。

血漿及びリンパ液中の薬物濃度の測定 血漿の場合は、試料 0.3 ml に精製水 0.2 ml, イソプロピルアルコール 0.5 ml, 内部標準物質及び *n*-ヘキサン 4 ml を加えた。リンパ液の場合は、試料 0.5 ml に精製水 0.5 ml, イソプロピルアルコール 0.5 ml, 内部標準物質及び *n*-ヘキサン 4 ml を加えた。これらの混液を振とうし、上澄液について、前記ビーグル犬における血漿中薬物濃度の定量的場合と同様に MK-4 濃度を測定した。

結 果 と 考 察

MK-4 と DM- β -CyD との複合体形成

ビタミン K 類と DM- β -CyD との複合体形成について、溶解度法、示差熱分析及び粉末 X 線回折により検討した。Fig. 2 に DM- β -CyD 添加によるビタミン K 類の溶解度変化を示す。脂溶性のビタミン K₁ 及び MK-4 の溶解度相図は Higuchi ら¹⁷⁾の分離による A_P 形を示すことから、水溶液中において MK-4 は DM- β -CyD と高次の複合体を形成することが示唆された。一方、比較的水溶性のビタミン K₃ の溶解度相図は A_L 型を示し、モル比 1:1 の複合体形成が予想された。そこで、脂溶性ビタミンについては逐次的な高次複合体の形成を仮定して、前報¹⁸⁾に従いこの相図の曲線を非線形最小自乗法により解析し、高次複合体の安定度定数を算出した。Table I に示すように、MK-4 と DM- β -CyD とのモル比 1:3 の複合体の安定度定数が 46400 M⁻¹ と最も大きく、他の複合体の値は無視できるほど小さいことから、水溶液中では主に 1:3 の複合体を形成するものと考えられる。同様に、ビタミン K₁ と DM- β -CyD はモル比 1:2 の複合体形成が示唆された。このような組成比の相違は、ゲスト薬物の化学構造の差や側鎖の立体的な変化を微妙に反映しているものと考えられる。そこで、本研究ではモル比 1:3 の MK-4/DM- β -CyD 複合体を主な対象として、以下の検討を行った。

Fig. 3 は混練法により調製した複合体及び物理的混合物の粉末 X 線回折パターンを示す。物理的混合物の場合は、MK-4 及び DM- β -CyD の各特性ピークを反映した回折パターンが観察された。一方、複合体では各成分の特性ピークが消失し、異なる回折パターンを示すことから、固体状態における相互作用

Fig. 2. Phase Solubility Diagrams of Vitamin K-DM- β -CyD Systems in Water at 25°C

▲, vitamin K₁; ●, vitamin K₂ (MK-4); ■, vitamin K₃.

TABLE I. Solubilities of Vitamin K Analogues and Stability Constants of Their DM- β -CyD Complexes Calculated by Nonlinear Least-Squares Method in Water at 25°C

System	$S_0^{a)}$ (M)	$K_{1:1}^{b)}$ (M ⁻¹)	$K_{1:2}$ (M ⁻¹)	$K_{1:3}$ (M ⁻¹)	$K_{1:4}$ (M ⁻¹)
Vitamin K ₁	3.5×10^{-7}	410	21800	5	—
Vitamin K ₂ (MK-4)	6.7×10^{-8}	40	1100	46400	1
Vitamin K ₃	1.8×10^{-8}	120	—	—	—

a) Solubilities of vitamin K analogues in water at 25°C. b) $K_{1:n}$: stability constants of 1 : n (drug: DM- β -CyD) complexes.

Fig. 3. Powder X-Ray Diffraction Patterns of MK-4-DM- β -CyD Systems

a) MK-4 alone, b) DM- β -CyD alone, c) 1 : 3 physical mixture of MK-4/DM- β -CyD, d) 1 : 3 complex of MK-4/DM- β -CyD.

用が示唆された。Fig. 4 は MK-4/DM- β -CyD 系の示差熱分析 (DTA) 曲線を示す。MK-4 の融解に基づく 42°C 付近の吸熱ピークは、DM- β -CyD との物理的混合物には観察されるのに対して、複合体ではそのピークは消失した。

以上の溶解度法、粉末 X 線回折、DTA の結果から、MK-4 と DM- β -CyD との複合体形成が確かめられた。

固体複合体の溶解挙動

Fig. 5 はデンプンを賦形剤とした MK-4 及びそ

Fig. 4. DTA Thermograms of MK-4-DM- β -CyD Systems

a) MK-4 alone, b) DM- β -CyD alone, c) 1 : 3 physical mixture of MK-4/DM- β -CyD, d) 1 : 3 complex of MK-4/DM- β -CyD.

Fig. 5. Release Profiles of MK-4 from Capsules Containing MK-4 or Its DM- β -CyD Complex (Equivalent to 50 mg MK-4) in JP XI 1st Fluid at 37°C, Measured by the Paddle Method

○, MK-4; ●, DM- β -CyD complex.

の DM- β -CyD 複合体をゼラチンカプセルに充填し、カプセルからの MK-4 の日局第一液中への溶出挙動を示す。MK-4 単独に比べて、DM- β -CyD 複合体化による著しい溶解性の改善が認められた。このような溶解性の改善には DM- β -CyD との複合体形成による MK-4 の溶解度の上昇、ぬれ、分散性の改善などが寄与しているものと推定される。

バイオアベイラビリティ

Fig. 5 の *in vitro* 溶出試験の結果から、MK-4 を DM- β -CyD 複合体として経口投与すると吸収性の増大が期待されるため、MK-4 単独又は DM- β -CyD 複合体を充填したゼラチンカプセルをビーグル犬に経口投与後の薬物の吸収挙動を比較した。MK-4 として 60 mg 相当量のデンプン混練物又は DM- β -CyD 複合体カプセルを 12 時間絶食したビーグル犬に経口投与後の平均血漿中 MK-4 濃度の経時変化を Fig. 6 に示す。投与後 1 時間以降の MK-4 の血漿中濃度は、薬物単独に比べて、DM- β -CyD 複合体で有意に増大した。Table II は Fig. 6 のデータを解析して得られた薬物動学的パラメータを示す。MK-4 単独に比べて、複合体投与により最高血漿中濃度 ($C_{\max}$) は 17 倍、血中濃度時間曲線下面積 (AUC) は 19 倍にそれぞれ増大し、DM- β -CyD 複合体化による顕著なバイオアベイラビリティの向上が認められた。

血液凝固活性

薬理効果の面から複合体形成に伴う MK-4 のバイオアベイラビリティを評価するため、低プロトロンビン血症ビーグル犬を用いて血液凝固活性を比較検討した。¹⁸⁾ Fig. 7 は 12 時間絶食したワルファリン誘発性低プロトロンビン血症ビーグル犬に MK-4 として 130 mg 相当量のデンプン混練物及び DM- β -CyD

Fig. 6. Plasma Levels of MK-4 Following the Oral Administration of MK-4 or Its DM- β -CyD Complex (Equivalent to 60 mg MK-4) to Dogs

○, MK-4; ●, DM- β -CyD complex. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 6 dogs.
a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$ versus MK-4.

Fig. 7. Coagulation Recoveries of Warfarin-Induced Hypoprothrombinemia Following the Oral Administration of MK-4 or Its DM- β -CyD Complex (Equivalent to 130 mg MK-4) to Dogs

△, control; ▲, i.v. injection (13 mg MK-4); ○, MK-4; ●, DM- β -CyD complex.
PCA, prothrombin complex activity; PT, prothrombin time. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 4 dogs.

TABLE II. Pharmacokinetic Parameters of MK-4 or Its DM- β -CyD Complex Following the Oral Administration (Equivalent to 60 mg MK-4) to Dogs

System	$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$t_{\max}$ (h)	AUC (h $\cdot$ $\mu\text{g/ml}$)
MK-4 ^{a)}	0.121 ± 0.031	2.6 ± 0.4	0.267 ± 0.050
DM- β -CyD complex	$2.085 \pm 0.282^c)$	1.9 ± 0.3	$5.154 \pm 1.018^b)$

a) Diluent: starch. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 6 dogs. b) $p < 0.05$ versus MK-4. c) $p < 0.01$ versus MK-4.

複合体を経口投与後の血液凝固活性値の経時変化を示す。なお、経口投与はワルファリンナトリウム 1 mg/kg を静注後最も活性値が低下する 36 時間目に行い、血液凝固活性 (PCA) はプロトロンビン時間 (PT) の測定により評価した。MK-4 単独投与では、投与後 4 時間目から活性が上昇し、以後徐々に回復するのに対して、DM- β -CyD 複合体の場合、投与後 1 時間目から急激に活性が上昇し、2 時間後で既に PCA 50% まで回復した。この複合体投与の結果は、MK-4 1 mg/kg を静注した際の活性値の上昇に類似した速効性のパターンを示すものである。

Table III は血液凝固活性値の正常値と異常値の境界を PCA 60% とし、¹⁰⁾ MK-4 投与直後から正常値まで回復するのに要する時間 (TPCA 60) を各試料

について算出した結果を示す。Table III から明らかなように、MK-4 単独では 27 時間となり、自然回復の 37 時間 (Table III の control 参照) と大差がないのに対して、複合体ではわずか 3.3 時間と MK-4 単独に比べて著しい作用の増強が認められた。このように、薬理効果の面からも DM- β -CyD 複合体化による MK-4 のバイオアベイラビリティの改善が確かめられた。

MK-4 の吸収経路に及ぼす DM- β -CyD の影響

脂溶性のビタミン K 類は絶食時においてほとんど吸収されないが、摂食時においては分泌された胆汁により薬物が可溶化され、主にリンパ系を介して吸収されることが知られている。²⁰⁾ しかしながら、Fig. 6 及び 7 に示すように、絶食時において DM- β -CyD 複合体投与により高い血漿中濃度と薬理効果の増強が観察された。これは主に DM- β -CyD 複合体化による薬物の溶解性の向上による吸収量の増大に起因するものと考えられるが、その際 DM- β -CyD が薬物の吸収経路にもなんらかの変化を及ぼす可能性が示唆される。そこで、MK-4 の吸収経路に及ぼす DM- β -CyD の影響についての予備的知見を得るため、胸管リンパを導出したラットを用いて、胆汁存在下及び非存在下における MK-4 の血漿中濃度とリンパ移行量を比較検討した。

Fig. 8 は、胆汁分泌状態の正常なラットに MK-4 及び DM- β -CyD 複合体を経口投与後の MK-4 の血漿中濃

TABLE III. Coagulation Recoveries of Warfarin-Induced Hypoprothrombinemia Following the Oral Administration of MK-4 or Its DM- β -CyD Complex (Equivalent to 130 mg MK-4) to Dogs

System	TPCA 60 ^{a)} (h)	<i>t</i> -test ^{b)} <i>p</i>
Control	36.6 $\pm$ 0.9	—
Injection (i.v.) ^{c)}	0.9 $\pm$ 0.1	—
MK-4 ^{d)}	27.0 $\pm$ 4.2	<0.01
DM- β -CyD complex	3.3 $\pm$ 1.1 ^{e)}	<0.01

a) TPCA 60: time required for PCA to return to 60%.
b) Versus control. c) Dose equivalent to 13 mg MK-4.
d) Diluent: starch. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 4 dogs. e) *p* < 0.01 versus MK-4.

Fig. 8. Plasma Levels (a) and Cumulative Amount of MK-4 in Lymph (b) Following the Oral Administration of MK-4 or Its DM- β -CyD Complex (Equivalent to 10 mg/kg MK-4) to Rats

○, MK-4; ●, DM- β -CyD complex. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 3 rats.

度並びにリンパへの移行量の時間推移を示す。MK-4 及び DM- β -CyD 複合体いずれの場合も、MK-4 は血漿中にはほとんど検出されなかった。しかしながら、リンパ液中にはいずれの場合も検出され、その移行量は DM- β -CyD の方が MK-4 単独よりもわずかに多くなる傾向が見られた。

次に、消化管内に胆汁の存在しない条件を設定するため、ラットの胆管を導出し胆汁を体外へ排泄させながら、Fig. 8 と同様の検討を行った。Fig. 9 から明らかなように、薬物単独投与では血漿中及びリンパ液中に MK-4 は検出されなかった。しかしながら、溶解性に優れる DM- β -CyD 複合体投与では、MK-4 の吸収が見られ、Fig. 8 の胆汁存在時とは明らかに異なる血漿中への MK-4 の移行が観察された。

以上の結果に基づいて、消化管内における MK-4 の溶解性並びに吸収経路に及ぼす DM- β -CyD 包接の影響を

Fig. 9. Plasma Levels (a) and Cumulative Amount of MK-4 in Lymph (b) Following the Oral Administration of MK-4 or Its DM- β -CyD Complex (Equivalent to 10 mg/kg MK-4) to Rats under Bile Duct Cannulation

○, MK-4; ●, DM- β -CyD complex. Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 3 rats.

Chart 1. Possible Absorption Behaviors of MK-4 after Oral Administration of MK-4 or Its DM- β -CyD Complex to Rats in the Presence or Absence of Bile

Chart 1 に模式化し考察した。すなわち、胆汁分泌時において、MK-4 は胆汁により混合ミセルを形成して吸収され、その際 MK-4 はカイロミクロンに取り込まれてリンパ系へ移行するものと推察される。一方、複合体投与の場合は MK-4 単独と同様の挙動を示すが、DM- β -CyD 複合体化による溶解性の向上のため、吸収量は増大するものと考えられる。

次に、胆汁非存在下における MK-4 単独投与の場合、胆汁による混合ミセルが形成されないためほとんど吸収が起こらず、バイオアベイラビリティは著しく低下する。一方、複合体の場合、MK-4 の溶解性の向上により吸収量は増大し、更に、その吸収経路は胆汁分泌状態とは異なり、門脈系へもある程度移行するものと予想される。これらの要因が、Fig. 7 のような薬理効果の増強に複雑に関与しているものと推定されるが、詳細な機構については今後更に検討を加える必要がある。

総 括

以上述べたように、MK-4 は DM- β -CyD との水溶性の複合体を形成し、顕著な溶解性の改善が認められた。また、ビーグル犬を用いた *in vivo* 吸収実験並びに血液凝固活性の評価実験から、複合体を経口投与時の MK-4 のバイオアベイラビリティの改善に伴うプロトロンビン時間の著しい短縮が認められた。更に、胆管を導出したラットによる吸収挙動の検討に基づいて、複合体投与時においてはリンパ系に加えて門脈系を介した吸収が認められた。その結果、初回通過効果により MK-4 は肝代謝を受ける際に、薬理活性を発現し^{21,22)} 速効性を示すものと予測された。これらの知見は、脂溶性ビタミン類を DM- β -CyD 複合体として経口固形製剤に応用する際に、特に吸収の悪い空腹時や胆汁欠損状態においても注射剤に匹敵するほどのバイオアベイラビリティが得られることを示唆するものである。

謝辞 本研究の一部に協力された大藺知子嬢に深く感謝致します。

引 用 文 献

- 1) 高松正剛, 島村佳成, 伊前克彦, 国立裕之, 清水達夫, ビタミン, **59**, 318 (1985).
- 2) 勝井五一郎, ビタミン, **38**, 81 (1968).
- 3) M. Nagata, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *J. Pharm. Pharmacol.*, **40**, 85 (1988).
- 4) M. Nagata, T. Yotsuyanagi, M. Nonomura, K. Ikeda, *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 527 (1984).
- 5) J. Szejtli, "Cyclodextrin and Their Inclusion Complexes," Akadémiai Kiadó, Budapest, 1982.
- 6) K. Uekama, M. Otagiri, "CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier System," Vol. 3, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp. 1—40.
- 7) 上釜兼人, 前田照利, 有馬英俊, 入江徹美, 平山文俊, 薬誌, **106**, 1126 (1986).
- 8) D. Duchéne ed., "Cyclodextrin and their industrial uses," Editions de Santé, Paris, 1987, pp. 395—439.
- 9) J. Pitha, J. Milecki, H. Fales, L. Pannell, K. Uekama, *Int. J. Pharm.*, **29**, 73 (1986).
- 10) J. Szejtli, *J. Incl. Phenom.*, **1**, 135 (1983).
- 11) K. Uekama, *Pharm. Int.*, **6**, 61 (1985).
- 12) 菊池正彦, 上釜兼人, 薬誌, **108**, 156 (1988).
- 13) K. Uekama, Y. Horiuchi, M. Kikuchi, F. Hirayama, M. Ueno, T. Ijitsu, *J. Incl. Phenom.*, **6**, 167 (1988).
- 14) A. J. Quick, *Am. J. Med. Sci.*, **190**, 501 (1935).
- 15) M. Nagata, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 813 (1986).
- 16) J. L. Bollman, J. C. Cain, J. H. Grindlay, *J. Lab. Clin. Med.*, **33**, 1349 (1948).
- 17) T. Higuchi, K. A. Connors, *Ad. Anal. Chem. Instrm.*, **4**, 117 (1970).
- 18) T. D. Bjornsson, P. J. Meffin, S. E. Swezey, T. F. Blaschke, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **210**, 322 (1979).
- 19) A. Yacobi, L. B. Wingard Jr., G. Levy, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 868 (1974).
- 20) R. Blomstrand, L. Farsgren, *Z. Intern. Vitaminforsch.*, **38**, 45 (1968).
- 21) R. E. Olsen, J. W. Suuttie, *Vitam. Horm.*, **35**, 59 (1977).
- 22) R. G. Bell, P. Stark, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **72**, 619 (1976).