薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
109 (12) 932-937 (1989)

***N,N*-Dimethylcarbamoylmethyl α ,2-Dimethyl-5*H*-[1]benzopyrano[2,3-*b*]pyridine-7-acetate と各種添加剤との混合粉碎物の溶出特性とバイオアベイラビリティ**

山田一磨呂,* 川田美和子, 柴田紀行, 小川建志, 横部哲朗
吉富製薬株式会社中央研究所

Dissolution Properties and Bioavailability of Ground Mixture of *N,N*-Dimethylcarbamoylmethyl α ,2-Dimethyl-5*H*-[1]benzopyrano[2,3-*b*]pyridine-7-acetate with Various Pharmaceutical Ingredients

Ichimaro YAMADA,* Miwako KAWATA, Toshiyuki SHIBATA,
Kenji OGAWA and Tetsuo YOKOBE
Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd.,
Koiwai, Yoshitomi-cho, Chikugo-gun, Fukuoka, 871, Japan

(Received May 1, 1989)

Ground mixture of *N,N*-dimethylcarbamoylmethyl α ,2-dimethyl-5*H*-[1]benzopyrano[2,3-*b*]pyridine-7-acetate (**1**) with various pharmaceutical ingredients were prepared in order to investigate their dissolution behaviors and bioavailability.

Taking into account the weakly basic property of **1**, the dissolution rate was determined in the 2nd fluid (pH 6.8) of disintegration test, JP XI. Dissolution rates of the ground mixtures (1 : 1, w/w) of **1** with hydroxypropylcellulose-L (HPC-L), low substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) or lactose respectively, showed a significant increase compared with compound **1** alone.

Three kinds of experimental fine granules were prepared; type A: produced from ground mixture of **1**, HPC-L, L-HPC and lactose; type B: produced from physical mixture having the same composition as type A; type C: produced **1**, L-HPC and lactose. In these fine granules, only type A exhibited pH-independent dissolution profiles.

Bioavailability study was carried out in beagle dogs whose gastric acidity was controlled in advance to low levels by administration of omeprazole. The test was conducted in a cross over design. Reflecting their dissolution characteristics, type A granules showed better bioavailability than the others.

These results suggest that grinding is useful for the improvement of the dissolution property and bioavailability of **1**, a weakly basic compound.

Keywords—*N,N*-dimethylcarbamoylmethyl α ,2-dimethyl-5*H*-[1]benzopyrano[2,3-*b*]pyridine-7-acetate; ingredient; grinding; fine granule; dissolution; bioavailability; deconvolution; gastric acidity-controlled beagle dog

緒 言

N,N-Dimethylcarbamoylmethyl α ,2-dimethyl-5*H*-[1]benzopyrano[2,3-*b*]pyridine-7-acetate (**1**) は、プロドラッグ型の非ステロイド性抗炎症剤として開発中の化合物である。**1** 自身の薬理活性は弱いが、経口投与すると生体内では活性本体の α ,2-dimethyl-5*H*-[1]benzopyrano[2,3-*b*]pyridine-7-acetic acid (**M1**) に代謝され、薬効を発揮するとされている。¹⁾

弱塩基性化合物 ($pK_a=5.94$) である **1** は、酸性領域では易溶、弱酸性ないし中性領域では難溶な pH-溶解性プロフィルを有し、このような物性を反映して、胃酸度に依存したバイオアベイラビリティを示すことを明らかにした。²⁾

ヒトの胃内 pH は個体間で大きく変動しており、^{3,4)} しかも、加齢と共に低酸の個体の存在比率が増加するとされている。⁵⁾ したがって、**1** の製剤化にあたっては、胃酸度がバイオアベイラビリティに及ぼす影響を可能な

限り回避し得る処方を確認することが必要である。

そこで、難溶性薬物の溶解性向上のために用いられている混合粉碎法⁹⁾を1の製剤化に応用し、得られた混合粉碎物の溶出挙動と吸収特性について検討したので報告する。

実 験 の 部

試料 1) 被験化合物——1 及び M1 は、吉富製薬中央研究所で合成したものをを用いた。

2) 試薬——(±)-5-Methoxy-2-[[4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]sulfinyl]benzimidazole (omeprazole) は Hässle 社 (スウェーデン) より提供を受けた。その他の試薬は市販特級品を用いた。

3) 製剤用添加剤——乳糖 (HMS), ヒドロキシプロピルセルロース (HPC-L, 日本曹達), 低置換度ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC, 信越化学工業), D-マンニトール (協和醗酵), 結晶セルロース (アビセル PH101, 旭化成) 及びトウモロコシデンプン (日本食品化工) は日局 11 適合の市販品を用いた。

試験製剤の調製 1) 混合粉碎物——Table I に示す各種の製剤用添加剤と 1 とを、それぞれ 1:1 (w/w) の比率で自動乳鉢 (日陶科学製, ANM-150) 中に投じ、室温で 30 分間粉碎して混合粉碎物を調製した。乳鉢の回転速度は 120 rpm とし、乳鉢は乳棒と逆方向に 7 rpm の速度で回転させた。

2) 細粒剤——Table II に示す処方に従って調製した。

細粒剤 A: HPC-L, 乳糖, L-HPC 及び 1 を 0.5:1.2:0.3:1 (w/w) の比率で自動乳鉢中に投じ、1) 項記載の条件に従って混合粉碎物 (3 g) を調製した。得られた粉碎物に乳糖及び L-HPC を 3.0:6.3:0.7 (w/w) の比率で加えて軽く混合した。これに 2 ml の水を加え練合し、16 号フルイで篩過造粒した。これを 50°C で 2 時間乾燥した後、30 号フルイで篩過して調製した。

細粒剤 B: HPC-L, 乳糖, L-HPC 及び 1 を 0.5:1.2:0.3:1 (w/w) の比率で通常型の乳鉢中に投じ、軽く混ぜ合わせて物理的混合物 (3 g) を調製した。得られた混合物に乳糖及び L-HPC を 3.0:6.3:0.7 (w/w) の比率で加えて軽く混合した。これに 2 ml の水を加えて練合し、16 号フルイで篩過造粒した。これを 50°C で 2 時間乾燥した後、30 号フルイで篩過して調製した。

細粒剤 C: 乳糖, L-HPC 及び 1 を 5.5:3.5:1.0 (w/w) の比率で軽く混合した (10 g)。これに 9 ml の水を加えて練合し、16 号フルイで篩過造粒した。これを 50°C で 2 時間乾燥した後、30 号フルイで篩過して調製した。

粒子径の測定 平均粒子径の測定は空気透過法に従った。1 を約 1.3 g 秤量し、粉体比表面積測定装置 (島津製作所) を用いて平均粒子径を求めた。

示差走査熱量計 (DSC) による熱測定 DSC-20 及び SSC/580 型測定装置 (セイコー電子工業) を用いた。昇温速度は 10°C/min に設定した。

粉末 X 線回折 X 線回折装置 XD-610 型 (島津製作所) を用いた。CuK α 線, グラファイトモノクロメーターを用い、50 kV, 30 mA で測定した。

溶出試験 溶出試験は日局 11 溶出試験法第 2 法 (パドル法) により行った。試験試料は 1 換算で 30 mg 相当量とした。試験液には、pH 1.2 液 (日局 11 崩壊試験法 第 1 液), pH 4.0 液 (0.05 M 酢酸緩衝液) 及び pH 6.8 液 (日局 11 崩壊試験法 第 2 液), 各 900 ml を用いた。回転速度は 100 rpm に、液温は 37.0 $\pm$ 0.1°C に設定した。試験開始後、経時的に溶出液を 5 ml ずつ採取し、メンブランフィル

TABLE I. Dissolution Profiles of Compound 1 from Ground Mixtures^{a)} with Various Additives

Additive	(%) dissolved			
	10 min	20 min	30 min	60 min
Lactose	20	43	58	78
D-Mannitol	20	38	52	60
Avicel PH101	9	25	38	54
Corn Starch	6	18	29	50
L-HPC	39	56	63	71
HPC-L	48	59	71	80
Compound 1 alone	3	9	18	33

a) Compound 1-additives weight ratios of 1:1. Dissolution test was performed in 900 ml of the 2nd fluid (pH 6.8) of disintegration test, JP XI at 37°C. Each value represents the mean of 3 determinations.

TABLE II. Formulae of Experimental Fine Granules

Granule	A ^{a)}	B ^{b)}	C ^{c)}
Compound 1	1.0	1.0	1.0
Content of ingredient (g)	HPC-L	0.5 ^{d)}	0.5
	Lactose	1.2	—
	L-HPC	0.3	—
	Lactose	6.3	5.5
	L-HPC	0.7	3.5
Total	10.0	10.0	10.0

a) Ground mixture. b) Physical mixture. c) Conventional preparation. d) Ground for 30 min.

ター (Advantec Toyo, 0.45 μm) でろ過後, UV-スペクトロフォトメーター (島津製作所, Shimadzu UV-240) を用いて, pH 1.2 液の場合は 310 nm, その他の試験液では 277 nm の検出波長にて溶出量を測定した。試験は, 各種試験液について, それぞれ 3 回ずつ行った。測定値に良好な再現性が認められたので, 平均値を用いた。

実験動物 体重 10.5–12.5 kg の雄性ビーグル犬 (2 才) を 6 匹使用した。既報⁷⁾に従い, 投薬 1 時間前に omeprazole を 1 mg/kg 静脈内投与して胃酸度を低胃酸 (pH 6.0 以上) に調整した。ビーグル犬は, 薬物投与前 24 時間から試験終了時まで絶食させた。ただし, 水は自由に摂取させた。

バイオアベイラビリティ試験 胃酸度調整ビーグル犬を 1 群 2 匹の 3 群に分け, 3×3 のクロスオーバー法による試験を実施した (Table III)。細粒剤 A, B 及び C を 1 換算で 30 mg 相当量となるよう硬カプセル (日局 11, No. 4) に充填し, それぞれの群のビーグル犬に水 30 ml と共に経口投与した。休薬期間は 1 週間とした。

3×3 のクロスオーバー法による試験の 1 週間後に M1 の静脈内投与試験を実施した。1 換算で 10 mg/5 ml/dog 相当量となるよう, M1 を 0.1% 重炭酸ナトリウム水溶液に溶解させ, 6 匹のビーグル犬の前肢静脈内へ投与した。

採血は, 投与後 0.25 (静脈内投与のみ) 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 8.0 及び 12.0 時間に行った。採血後, 直ちに遠心分離し, 得られた血漿を測定時まで -18°C で凍結保存した。

血漿中薬物濃度の測定 活性本体である M1 を測定対象とした。既報²⁾に従い, 高速液体クロマトグラフィーを用いて, 血漿中の M1 濃度を測定した。

薬物動態の解析 時間に対して血漿中濃度をグラフにプロットし, グラフから最高血漿中濃度 (C_{max}) 及び最高血漿中濃度に到達するまでの時間 (T_{max}) を求めた。投与後 12 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積 ($AUC_{0-12\text{h}}$) は台形法により算出した。また, 消化管からの累積吸収率はデコンボリューション法⁸⁾により算出した。平均体内滞留時間 ($MRT_{0-12\text{h}}$) は山岡ら⁹⁾の統計学的モーメント法により次式から求めた。

$$MRT_{0-12\text{h}} = \int_0^{12\text{h}} t \cdot C_p dt / \int_0^{12\text{h}} C_p dt$$

統計解析 交差配置分散分析を用いて, C_{max} , T_{max} 及び $AUC_{0-12\text{h}}$ の有意差検定を行った。 $MRT_{0-12\text{h}}$ についてはペアード t 検定を行った。

結 果 と 考 察

化合物 1 の平均粒子径は約 7.7 μm であった。

各種の混合粉碎物からの 1 の溶出速度を Table I に示す。1 は中性領域で難溶な溶出性を示すので, 試験には pH 6.8 液を用いた。HPC-L, L-HPC 及び乳糖との混合粉碎物に顕著な溶出改善が認められた。これら 3 種の添加剤の物性及び用途を考慮して, Table II に示す処方に従い, 10% 細粒剤 A, B 及び C をそれぞれ調製した。各種試験液における細粒剤 A, B 及び C からの 1 の溶出速度を Fig. 1 に示す。細粒剤 A からの 1 の溶出は, いずれの pH の溶出試験液中でも速やかであった。一方, 細粒剤 B 及び C からの 1 の溶出は, pH 依存性を示し, pH 1.2 液中では速やかであったが, pH 4.0 及び 6.8 液中では著しく遅延した。また, 化合物 1 のみを自動乳鉢内で粉碎したもの (平均粒子径 4.7 μm) に各種添加剤を加えて調製した細粒剤の溶出は, 細粒剤 B 及び C とほぼ同じパターンを示し, pH 4.0 及び 6.8 液中での溶出性の改善は認められなかった。これらの結果は, 1 の製剤化に際して混合粉碎法を利用すれば, 原体が本来保有する pH 依存性の溶出特性を改善し得ることを示唆している。

試験に用いた細粒剤には多量の添加剤が配合されているので, 1 の物性の変化について検討することは困難である。そこで, Table I 収載の混合粉碎物の中で, 最も良好な溶出特性を示した HPC-L との粉碎物について DSC 及び粉末 X 線回折の測定を行った。なお, 比較対象用に, 化合物 1 単独及び HPC-L との 1:1 の物理的

TABLE III. Design of Cross-over Study

Group No.	Experimental preparations			Dog body weight (kg)	
	Ex-1	Ex-2	Ex-3		
I	A	B	C	1) 11.0	2) 12.0
II	C	A	B	3) 10.5	4) 11.5
III	B	C	A	5) 11.0	6) 12.5

Fig. 1. Dissolution Profiles of Compound 1 from Experimental Fine Granules A, B and C Using the Paddle Method at Various pH

●, pH 1.2; ▲, pH 4.0; ■, pH 6.8.

Fig. 2. DSC Thermograms of Three Preparations

1, compound 1 alone; 2, physical mixture of 1 and HPC-L (1:1, w/w); 3, ground mixture of 1 and HPC-L (1:1, w/w).

Fig. 3. Powder X-Ray Diffraction Patterns of Three Preparations

1, compound 1 alone; 2, physical mixture of 1 and HPC-L (1:1, w/w); 3, ground mixture of 1 and HPC-L (1:1, w/w).

混合物についても検討した。DSC 及び粉末 X 線回折の測定結果をそれぞれ Fig. 2 及び 3 に示す。3 者間の DSC 及び粉末 X 線回折パターンに大きな差は認められず、混合粉碎による 1 の溶出特性の改善に非晶質化が寄与している可能性は否定された。水に極めて難溶なジフェニルヒダントインやグリセオフルビンについては、薬物の非晶質化が、溶出特性を大幅に改善する上で必須とされている。^{6a,10)} しかし、これらの化合物に比べて溶解性に富む 1 については、非晶質化は不可欠な要因ではないものと考えられる。なお、1 の混合粉碎品の溶出性改善のメカニズムについては、別途報告する予定である。

溶出試験結果との相関性を検討する目的で、バイオアベイラビリティ試験を実施した。1 は中性領域では難溶であるため、²⁾ 試験には胃酸度を低胃酸に調製したビーグル犬を用いた。細粒剤 A, B 及び C を経口投与した後の平均血漿中薬物濃度推移を Fig. 4 に、薬物動態値を Table IV にそれぞれ示す。細粒剤 A は細粒剤 B 及び C に比べて、投与初期に高い血漿中濃度推移を示した。 C_{max} , T_{max} 及び AUC_{0-12h} を比較項目として、交差配置分散分析を行った結果、いずれの項目にも群又は持込み効果は認められず本試験の妥当性が証明された。更に、 C_{max} 及び AUC_{0-12h} については、細粒剤 A の方が細粒剤 B 及び C に比べて、それぞれ有意に高い値を示した。しかし、 T_{max} 及び MRT_{0-12h} については危険率 5% で 3 者間に有意差は認められなかった。

Fig. 4. Mean Plasma Concentrations of M1 after Oral Administration of Experimental Fine Granules A, B and C at a Dose of 30 mg in Gastric Acidity-controlled Beagle Dogs

●, A; ▲, B; ■, C.

消化管からの1の吸収挙動を詳細に解析する目的で、デコンボリューション法による解析を行った。細粒剤 A, B 及び C の累積吸収率を Fig. 5 に示す。いずれの製剤においても消化管からの吸収は投与後4時間ではほぼ終了していた。細粒剤 A, B 及び C の投与後4時間までの累積吸収率は、それぞれ約 81, 51 及び 42% であった。化合物 1 をビーグル犬に経口投与した際の AUC_{0-12h} 値は、10 mg/kg の投与量まで原点を通る直線性が認められているので、これらの累積吸収率の差は初回通過効果によるものではなく、消化管内での不完全溶解によるものと思われる。

このように、低胃酸の厳しい条件下での試験においても、細粒剤 A は優れた吸収特性を示しており、1 の製剤化に際し混合粉碎法を利用することの有用性が立証された。

酸性領域で易溶、弱酸性ないし中性領域で難溶な pH-溶解性プロファイルを有する薬物は、消化管内での溶解部位が胃内に限定されるため、胃酸度に依存したバイオアベイラビリティを示す。1 も同様の物性を有しており、胃酸度に依存したバイオアベイラビリティを示すことを既に明らかにした。²⁾ このような薬物の製剤化に際しては、ヒトの胃内 pH の変動を十分考慮しなければならない。¹¹⁾ 今回、著者らは、1 の製剤化研究に混合粉碎法を利用したところ、pH 非依存性の溶出特性及び吸収挙動を示す製剤を試製することができた。細粒剤 A のバイオアベイラビリティは胃酸度の影響を受け難く、無酸あるいは低酸のヒトに経口投与しても高い値を示すものと推察される。

TABLE IV. Pharmacokinetic Parameters of M1 after Oral Administration of Experimental Fine Granules A, B and C in Gastric Acidity-controlled Beagle Dogs

Parameter	Fine granule		
	A	B	C
T_{max} (h)	1.1 $\pm$ 0.7	1.0 $\pm$ 0.4	1.0 $\pm$ 0.6
C_{max} (μ g/ml)	2.89 $\pm$ 0.95	1.42 $\pm$ 0.29 ^{a)}	1.32 $\pm$ 0.26 ^{c)}
AUC_{0-12h} (μ g·h/ml)	6.58 $\pm$ 1.24	4.63 $\pm$ 0.83 ^{b)}	4.08 $\pm$ 0.73 ^{c)}
MRT (h)	3.2 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.6	4.1 $\pm$ 0.5

Each value represents the mean $\pm$ S.D. of 6 dogs.

a) Comparison of A vs. B was statistically significant ($p < 0.01$). b) Comparison of A vs. B was statistically significant ($p < 0.05$). c) Comparison of A vs. C was statistically significant ($p < 0.01$).

Fig. 5. Systemic Absorption Percentage of Experimental Fine Granules A, B and C Estimated by the Deconvolution Method

●, A; ▲, B; ■, C.

引用文献及び注

- 1) 川崎和幸, 山田一磨呂, 大江孝範, 鶴田峯生, 安永幸広, 今吉朋憲, 寺沢道夫, 後藤一洋, 薬誌, **109**, 827 (1989).
- 2) I. Yamada, T. Goda, M. Kawata, H. Mizuta, K. Ogawa, T. Yokobe, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3372 (1989).

- 3) 飯沼滝一, 遠山富也, 薬剂学, **21**, 48 (1961).
- 4) P. Finholt, S. Solvang, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 1322 (1968).
- 5) H. Ogata, A. Aoyagi, N. Kaniwa, A. Ejima, K. Suzuki, T. Ishioka, M. Morishita, K. Ohta, Y. Takagishi, Y. Doi, T. Ogura, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **7**, 656 (1984).
- 6) a) K. Yamamoto, M. Nakano, T. Arita, Y. Takayama, Y. Nakai, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1484 (1976);
b) 山本恵司, 松田州司, 中野真汎, 有田隆一, 仲井由宣, 薬誌, **97**, 367 (1977); c) 気賀沢和男, 丸山孝一, 田中 旬, 渡辺一夫, 薬誌, **101**, 733 (1981); d) Y. Nakai, *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **12**, 1017 (1986).
- 7) I. Yamada, H. Mizuta, T. Goda, H. Haga, K. Ogawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2539 (1989).
- 8) 花野 学, “ファーマコキネティクス—演習による理解—入門編,” 南山堂, 東京, 1987, p. 189.
- 9) K. Yamaoka, T. Nakagawa, T. Uno, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **6**, 547 (1978).
- 10) K. Yamamoto, M. Nakano, T. Arita, Y. Nakai, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **2**, 487 (1974).
- 11) a) 緒方宏泰, “最近の製剤技術とその応用 I,” 医薬ジャーナル社, 大阪, 1983, p. 145; b) H. Ogata, N. Aoyagi, N. Kaniwa, M. Koibuchi, T. Shibazaki, A. Ejima, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **20**, 166 (1982).