

学術交流・研究推進プロジェクト 成果報告書

研究代表者 所属 製剤設計学研究室
職・氏名 助教・内山博雅

研究テーマ：難溶性薬物ナノ粒子の経肺投与後の吸収性に関して

研究期間：

2018年4月1日～2020年3月31日

研究担当者：

<本学>

研究代表者 内山 博雅 (大阪薬科大学・薬学部・助教)
研究分担者 長谷井 友尋 (大阪薬科大学・薬学部・准教授)

<共同研究機関>

研究分担者 戸上 紘平 (北海道科学大学・薬学部・准教授)

研究目的：

肺は表面積が非常に広く、また小腸上皮細胞に比べて肺胞上皮細胞は薄いことから、薬物の全身作用を目的とした投与ルートとして、これまでに研究が行われている。また、肺胞にはリン脂質や肺サーファクタントなどの界面活性剤が存在し、それらが薬物を溶解することで、難溶性薬物においても高い吸収性を示すことが報告されている。経肺投与により難溶性薬物の全身循環を期待する場合には、薬物が肺内に沈着後溶解し、肺胞上皮細胞を通過する必要がある。そのため難溶性薬物を経肺投与した後、肺内でどの程度溶解するのかを知ることは、薬物を全身循環させる上で非常に重要となる。しかしながら、経肺投与製剤における *in vitro* 溶出試験法は確立されておらず、肺は消化管に比べ溶解に寄与する溶解液が少ないにも関わらず、多くの論文において経口投与製剤で使用されるパドル法などが使用されている。そこで本研究では、新たな試みとしてラットの体内から得られる気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar Lavage Fluid: BALF) を精製後使用して、肺内での薬物溶解度を算出することを試みた。得られた薬物溶解度から肺内での飽和溶解度を推定した後、ラットに薬物を経肺投与することでラットにおける薬物の体内動態を評価した。

研究内容および研究成果：

モデル薬物として Pranlukast を含む 4 種類のモデル薬物を使用し、ラットから採取した BALF を精製した溶液を用いて、経肺投与後の難溶性薬物の溶解度の予測を行った (表 1)。中でも喘息治療薬として使用される Pranlukast の溶解度は、リン酸緩衝液 (Phosphate buffer solution: PBS) 中で 0.31 $\mu\text{g/mL}$ の溶解度であったのに対し、BALF 精製溶液中では、98.42 $\mu\text{g/mL}$ と顕著に高い溶解度を示した。これは、BALF 溶液中に存在する肺サーファクチンやリン脂質によって Pranlukast が可溶化されたためであると考えられた。そこで Pranlukast を本研究で検討する薬物とし、Pranlukast の経肺投与のため

の粒子の調製を湿式粉碎により行った。粉碎助剤として、ヒドロキシプロピルメチルセルロースを用いて湿式粉碎した Pranlukast の平均粒子径は 260 nm を示し、ナノ粒子の調製が確認できた。

表 1 PBS および BALF 溶液中での Pranlukast の溶解度

	Solubility in PBS ($\mu\text{g/mL}$)	Solubility in BALF ($\mu\text{g/mL}$)
Pranlukast	0.31 ± 0.05	98.42 ± 7.42
Ketoconazole	11.58 ± 1.97	26.19 ± 2.88
Itraconazole	0.05 ± 0.01	6.87 ± 1.05
Curcumin	0.24 ± 0.07	9.67 ± 1.44

Pranlukast の投与量として 15 μg (飽和溶解度の 5 分の 1)、45 μg (飽和溶解度相当)、225 μg (飽和溶解度の 5 倍) および 450 μg (飽和溶解度の 10 倍) を設定し、ラットに Pranlukast ナノ粒子を投与した。経肺投与後のラットの肺内での血中濃度の推移を図 1 に、図 1 および静脈注射から得られた薬物動態パラメータを表 2 に、経肺投与後 4 時間後に BALF 中に存在する Pranlukast 量およびマクロファージに取り込まれた Pranlukast 量の結果を表 3 に示す。表 3 から投与量の増大とともに、マクロファージへの取り込み、さらには肺内への沈着や BALF への移行量の増大が確認された。表 2 から飽和溶解度である 45 μg および飽和溶解度以下の 15 μg の投与では、Bioavailability に大きな差を認めず、約 60% と高い Bioavailability を示した。一方で、飽和溶解度以上の投与では Bioavailability に大きな低下が認められた。最高血中濃度到達時間は 15 μg および 45 μg の投与では 15 分であったのに対して、225 μg 以上の投与では 30 分と延長が確認された。さらに飽和溶解度以上の投与量を経肺投与した際に、血中濃度の消失過程に飽和が確認された。静脈注射の結果から、体内での代謝過程に飽和がないことは確認できていることから、BALF 溶液あるいは肺内に沈着した Pranlukast ナノ粒子が再溶解した後、吸収されることで消失過程が見かけ上飽和していると考えられた。以上の結果から、投与された Pranlukast ナノ粒子は、経肺後速やかに溶解し全身循環へと移行するが、過剰に投与された Pranlukast は、肺や BALF 中に存在した後、再溶解することで吸収が持続することが示された。肺においては、粒子の拡散などが起こりにくいため、肺に沈着した粒子からの再溶解する溶解速度が律速になると考えられた。

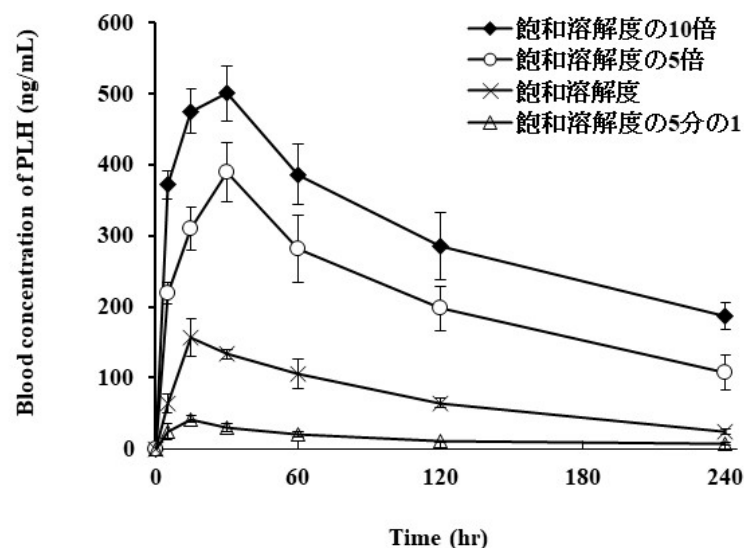


図 1 Pranlukast ナノ粒子経肺投与後の血中濃度推移

表 2 Pramlukast ナノ粒子経肺投与後の薬物動態パラメータ

C_{\max} (ng/mL)	T_{\max} (min)	AUC (ng・min/mL)	Bioavailability (%)
41.7 ± 4.7	15	3807.8 ± 229.4	59.58
156.7 ± 27.1	15	17956.2 ± 886.6	55.80
389.8 ± 41.3	30	51828.7 ± 4527.9	32.85
500.6 ± 38.1	30	75704.6 ± 4650.2	23.80

表 3 投与 4 時間後の各組織中に存在する Pramlukast の割合

	肺中	BALF (上清)	BALF (マクロファージ)	Bioavailability (%)
	投与量に対して (%)	投与量に対して (%)	投与量に対して (%)	
飽和溶解度の 5 分の 1 (9 µg)	10.6	14.3	2.3	59.58
飽和溶解度 (45 µg)	14.7	18.6	4.3	55.80
飽和溶解度の 5 倍 (225 µg)	22.2	21.3	12.2	32.85
飽和溶解度の 10 倍 (450 µg)	29.4	24.9	16.2	23.80

A549 (ヒト肺胞基底上皮腺癌細胞)および Calu-3 (ヒト気道上皮細胞)細胞を用いて、算出した膜透過係数および得られた肺内での溶解度を用いて、Gastro plus™により吸収性の予測を試みた。飽和溶解度となるように投与した際に、Gastro plus™によって算出される Bioavailability は 72 % となり、実測値の 55.8 % とは乖離が確認された。これは、肺内で薬物の溶解速度律速段階が存在することおよび、In vitro と In vivo における Pramlukast の膜透過係数に乖離があることが原因であると考えられた。本研究では、薬物の溶解度という点では、ある程度評価できたと考えられるが、今後は肺内での溶解速度を考慮した試験系を構築することが課題であると考えられる。

成果発表：

なし