

博士論文要旨

論文題目：経口製剤の品質・機能評価のための
in vitro 試験法の開発

申請者 _____ 政田 昂人

専攻分野 _____ 医療薬学

研究指導分野 _____ 薬物動態学

指導教員 _____ 山下 伸二

後発医薬品は、有効性・安全性が確認されすでに臨床的に用いられている新薬（先発医薬品）製剤との生物学的同等性（Bioequivalence、BE）を検証することにより、製造販売承認される。そのため、先発医薬品に比べて薬価が低く、主として患者負担の軽減や医療保険財政の改善に資することを目的として使用される。我が国でも、医療費の削減を目的として政府主導で後発医薬品の使用促進が進められ、すでにその数量シェアはほぼ 80%に達している。現在販売されている後発医薬品の多くは、2000 年代前半に開発された糖尿病、高血圧あるいは高脂血症などの生活習慣病薬に代表される経口剤である。したがって、今日、我が国の患者が日常的に服用している医薬品の少なくとも 70% 近くは、BE 試験によって治療学的に同等であるとみなされた後発医薬品ということになる。生活習慣病薬の多くは血糖値や血圧等のコントロールを目的とした対症療法薬であり、患者は大抵の場合一生服用を続ける。多くの患者が一生服用する薬であるが故、その品質は慎重に検証されるべきであり、後発医薬品の BE 試験はその意味で極めて重要な試験と言える。

経口製剤の場合、通常、ヒト BE 試験の前に *in vitro* での溶出試験を実施し、二つの製剤からの薬物溶出挙動が類似となるよう製剤の処方設計を行う。*In vitro* 試験の結果から、ヒト経口投与後の消化管内での製剤の崩壊、薬物の溶出および消化管からの吸収過程を精度よく評価するためには、試験の方法及びその条件は出来るだけヒト消化管内の生理的環境を反映したものであることが望ましい。しかし、日本薬局方に定められた現行の溶出試験で用いる試験液の組成や溶液量、さらにパドルの回転数などの試験条件は、ヒト消化管内の生理的条件とは大きく異なっており、製剤によっては *in vitro* での溶出性からヒトにおける BE を担保できない場合がある。近年、より *in vivo* に近い条件下で薬物の溶出性を評価することを目的として、ヒトの胃や小腸の

別紙 1

溶液組成を模した模擬溶液を用いた試験法、また複数の vessel を連結し薬物の胃から小腸への移行と溶出を同時に測定可能なシステム等が開発されているものの、*in vivo* での消化管吸収過程を完全に再現しているとは言い難い。またその様なシステムでは、コストやスループットなどの問題点が指摘されている。

そこで本研究では、胃から小腸に至る消化管内溶液の pH、組成、容量等の経時的な変化を反映した条件下で、製剤の崩壊、薬物の溶出とともに、小腸からの吸収過程を簡便に評価可能な *in vitro* システムの構築を試みた。まず、それぞれの過程に対応するシステムを構築し、最終的にそれらを組み合わせることで経口剤の BE を精度よく評価可能なシステムの開発を行った。以下、その有用性に関して検討を行った結果を記す。

第 1 章 消化管内での薬物の移行及び膜透過を評価するための *in vitro* system

胃から小腸への製剤の移行に伴う薬物の溶出・溶解過程を簡便に測定することを目的として、製剤を含む vessel 内の溶液の pH、組成及び容量を経時的に変化させることで、製剤や薬物自体を移動させることなくその消化管内移行を再現する Stomach-to-Intestine Fluid Changing system (SIFC system) を構築した。SIFC system では、絶食時の胃モデル液 (FaSSGF (pH 1.6, 4.0)) 中に薬物を添加した後、絶食時の小腸モデル液 (FaSSIF) を濃縮した pre-FaSSIF を一定速度で注入することにより、vessel 内の溶液を最終的に pH 6.5 の FaSSIF とすることで胃から小腸への移行過程を再現した。その有用性を検証するため、ヒト BE 試験における最高血中濃度 (C_{max}) の個体内変動と SIFC system での薬物の溶解挙動との関係を調べた。 C_{max} の個体内変動が小さい Pioglitazone では、FaSSGF の pH やその後の pH の変化パターンの違いに関わらず、全ての条件で FaSSIF 中の溶解濃度推移に差は認められなかった。一方、 C_{max} の個体内変動が大きい Terbinafine では、FaSSGF の pH の違いによって最終的な薬物溶解濃度に有意な差が観察され、胃内 pH の違いが個体内変動の要因の 1 つであることが示唆された。また、高投与量時に大きな個体内変動を示す Telmisartan について、その市販製剤を用いた検討を行った。製剤では原薬に比べ Telmisartan の溶解濃度が明らかに高くなり、これは製剤中に含まれる pH 調整剤の効果であると考えられた。また、投与量の増加に伴って溶解濃度の変動が大きくなったことから、SIFC system によって、薬物の吸収における個体内変動、及び変動に対する投与量や製剤化の影響を評価可能であると考えられた。

次に、薬物の小腸における膜透過過程を評価する目的で、side-by-side 型のチャンバーを用いた膜透過評価システムの構築を試みた。申請者らの研究室では、すでに薬物の小腸での溶解と膜透過の過程を同時に測定可能な Dissolution/Permeation system (D/P system) を開発しており、多くの製薬企業で創薬初期の化合物の吸収評価に利用されている。D/P system はヒト小腸のモデル膜として Caco-2 細胞単層膜を用いるた

別紙 1

め、その培養に時間および専用の施設が必要となる。そこで、より簡便な膜透過性評価システムとして、receiver 側を octanol とし、donor と receiver チャンバーの間に親水性 filter を装着した Biphasic D/P system (BiDP system) を構築した。BiDP system でのヒト吸収率の予測性を評価するため、8 種類の薬物について、2 時間までの透過量から予測した吸収率と *in vivo* ヒト吸収率との相関性を観察した。その結果、BiDP system の予測性が D/P system と同等以上であったことから、本システムは、薬物の吸収性を簡便かつ定量的に評価可能であり、製剤開発の様々な場面で利用可能と考えられた。

第 2 章 経口製剤の生物学的同等性評価を目的とした新たな *in vitro* system

経口製剤の BE を *in vitro* で評価することを目的として、第 1 章で構築した SIFC system と BiDP system を組み合わせた新たなシステム (BE チェッカー) を考案した。BE チェッカーでは、FaSSGF を入れた donor 側底部に製剤を適用後、胃から小腸への移行を溶液の pH や容量の変化によって再現すると同時に、octanol を満たした receiver 側への薬物の透過量を測定することで、小腸からの薬物の吸収性を評価する。またこの時、FaSSGF の pH や pre-FaSSIF の注入速度、donor 側でのパドルの回転数を変化させることによって、胃内 pH、胃排出時間および胃や小腸での攪拌力の違いによる薬物吸収の個体間/個体内変動についての検討が可能であると考えられる。

まず、BE チェッカーにおいてヒト消化管内の生理的環境を再現するための試験条件の評価を行った。製剤からの溶出や膜透過が pH の影響を受けない Metoprolol を用いて、パドルの回転数と溶出プロファイルの関係を調べた結果、回転数を 50~200 rpm と設定することでヒトの胃・小腸の攪拌力が反映されることが示された。次に、pre-FaSSIF の注入速度について、弱塩基性薬物である Dipyridamole の製剤を用いた検討を行った。FaSSGF の pH を 1.6、pre-FaSSIF の注入時間を 10 分間とした時、パドル回転数 200 rpm では初期の速やかな溶解および FaSSIF 中での過飽和溶解が観察されたのに対し、50 rpm、100 rpm では過飽和溶解は確認されず receiver 側への透過量も低い値となった。一方、pre-FaSSIF の注入時間を 20 分間とした場合、パドルの回転数に関わらず Dipyridamole の過飽和溶解が観察され、透過率も高く推移した。これらの結果は、胃からの排出速度や胃内での攪拌力が異なる患者では Dipyridamole の吸収が大きく変動する可能性を示唆するものと考えられた。また、Dipyridamole の吸収率は胃内 pH の高い患者で有意に低下することが報告されていることから、初期の FaSSGF の pH の影響を調べた結果、pH が高くなるほど Dipyridamole の溶解および透過率が低くなった。以上、様々な実験条件を組み合わせることにより、BE チェッカーを用いて消化管の生理的環境の異なる患者における薬物の吸収性、さらには製剤の BE に及ぼす生理的条件の影響を簡便に評価出来ることが明らかとなった。

次に、実際にヒトでの BE が確認されている普通錠と口腔内崩壊錠 (OD 錠) を用い

別紙 1

て製剤間差の評価を試みた。新たな試験 protocol として、OD 錠が胃に到達する前に唾液中あるいは摂取した水分中で崩壊する過程を再現するため、まず蒸留水中で製剤を incubate した後、濃縮した FaSSGF を添加して胃内溶液とした。弱塩基性薬物である Naftopidil の製剤、フリバス®錠（普通錠）とフリバス®OD 錠からの薬物の溶出と透過率の時間推移を比較したところ、パドルの回転数が 100 rpm の場合には両製剤からの透過率プロファイルに類似性が確認された。しかし、パドルの回転数を 50 rpm と遅くした場合には、pre-FaSSIF の注入速度に関わらず、OD 錠からの溶出・透過が普通錠よりも高くなった。これは OD 錠の崩壊が極めて速いことに起因する現象で、胃の攪拌力が弱い患者では、これら二つの製剤が非同等となる可能性を示唆するものである。したがって、健常成人で BE と判定された製剤であっても、高齢者や胃に疾患を有する患者などの特殊な患者集団では、その使用に際して十分な注意が必要と考えられた。

第 3 章 OD 錠を水なし条件で服用した場合の BE 評価

OD 錠は服用後、口腔内で速やかに崩壊するため、服用時に水を摂取することなく容易に嚥下可能な製剤である。OD 錠の BE 試験では、水とともに服用、及び水なしで服用の二つの条件で BE を確認する必要がある。本章では、BE チェッカーを改良し、水なし服用時の薬物の溶出および透過率を評価可能なシステムを構築した。新たなシステムでは、唾液の分泌量等を考慮して donor 側底部の胃溶液量を 5 mL とした。水あり条件でのフリバス®錠と水なし条件でのフリバス®OD 錠からの Naftopidil の溶出、透過率を比較したところ、pre-FaSSIF の注入速度を同じとした場合には OD 錠からの透過率が明らかに低くなった。その理由として、ヒト BE 試験で水なし服用後の最高血中濃度到達時間が水あり服用時と比べて遅くなっていることから、胃排出速度に違いがあると考えられた。そこで、水なし条件での pre-FaSSIF の注入時間を水あり条件の 1.5 倍に設定した結果、二つの製剤からの薬物透過率は類似と判定された。さらに、Naftopidil と同じ弱塩基性薬物である Memantine、及び弱酸性薬物の Pitavastatin の普通錠と OD 錠について同様な試験を実施したところ、いずれの製剤についても薬物の透過プロファイルが類似と判定された。これらの結果より、BE チェッカーを応用することで、これまで *in vitro* での評価が困難とされてきた水なし条件下での OD 錠からの薬物の溶出と膜透過を簡便に評価可能であることが示された。

以上、ヒト消化管内の薬物の生理的環境変化を再現した *in vitro system* である BE チェッカーを構築するとともに、本システムを用いることによって経口製剤の胃から小腸への移行に伴う薬物の溶出および膜透過を簡便に評価可能であることを示した。また、製剤の BE を評価する上で BE チェッカーの有用性を明らかとした。BE を含めて医薬品の品質を適正に検証するためには、多くの科学的エビデンスが必要である。

別紙 1

今後本研究で構築したシステムを用いた多くの研究を実施することによって、高い品質をもった医薬品の安定供給に貢献できることを期待する。