

OCT 薬の患者間薬効差異を減少させる新規製剤技術の戦略的構築

所属機関及び調査研究者名

主任研究者：静岡県立大学薬学部 准教授 尾上 誠良
(〒422-8526 静岡市駿河区谷田 52-1, Tel: 054-264-5633)

分担研究者：静岡県立大学薬学部教授 山田 静雄
(〒422-8526 静岡市駿河区谷田 52-1, Tel: 054-264-5631)

要旨

Dipyridamole (DP) は冠血管拡張作用や抗血小板作用を有し、冠状動脈疾患治療薬や血栓症の予防薬として臨床的に用いられている塩基性薬物である。DP の溶解度は pH に依存することが知られており、pH2 における溶解度が 100,000 $\mu\text{g/mL}$ 以上であるのに対し、pH7 では 5 $\mu\text{g/mL}$ まで低下する。この性質により、DP は主に上部消化管から吸収されるが、胃内 pH は加齢、*Helicobacter pylori* 感染症、抗潰瘍薬の使用などにより上昇し、低酸症と呼ばれる症状を呈することがある。低酸症病態下では DP の溶解性及び吸収性が低下するため臨床使用上の問題となっているが、本現象は OTC 薬として使用されている塩基性薬物にも認められ、塩基性薬物の中性領域での溶解性改善さらにはそれに伴う薬理活性の向上が重要な課題である。そこで本研究では、薬物拡散層における微小環境の pH (pH-microenvironment: pH_M) を制御する microenvironmental pH-modifier による pH 依存溶解特性改善技術を用い、低酸症病態下における DP の吸収性改善を指向した DP 顆粒製剤 (DPG) 開発を試みた。各 pH における DP の固有溶出速度の測定結果から、強い酸を用いることで DP の溶出挙動を強く改善できる可能性が考えられる。そこで、酸性度の異なる 10 種の pH-modifier を含む DPG を調製し、種々比較検討を推進した。各種 DPG の安定性ならびに溶出挙動を精査した結果、*p*-トルエンスルホン酸 (TS) が pH-modifier として最も効果的であることを示唆し、特に TS を 30% 含む DPG/TS30 が優れた特性を示した。低酸症モデルラットにおける体内動態を精査した結果、DPG/TS 投与群ではノーマルラットとほぼ一致する体内動態を示し、胃内 pH に依存しない薬物吸収を達成した。本知見より、塩基性薬物を含有する製剤に適切な acidic pH-modifier を加えることで、低酸症患者における塩基性薬物の薬物動態学的挙動を改善し、OTC 治療薬として効能を高める可能性があることを示唆した。

1. 調査研究目的

セルフメディケーションに大きく貢献する OTC 薬は在宅治療を可能にし、迅速な治療を実現することから医療経済学上の寄与も極めて高い。しかしながら、OTC 薬の効果は患者の胃内環境に大きく影響されるケースがあり、特に低酸症下における塩基性 OTC 薬の溶解性は非常に低くなることからその生物学的利用能や薬理活性が限定されることがある。

胃内 pH が低下した状態における塩基性医薬品の経口バイオアベイラビリティを改善するため、これまでに、固体分散体制剤、 β -cyclodextrin 包接化製剤、自己乳化型製剤及びマイクロ/ナノ粒子製剤などに関する研究が行われてきた [1-5]。しかしながら、微細化に伴う物性の変化、微細粒子の表面積の増大に起因する乏しい流動性や高い付着性、シクロデキストリン等の添加剤による組織刺激性、ハンドリングの悪さ等のリスクが懸念される他に、一般的にこれらの製剤は複雑な製造工程を必要とし、商業的に利用できる生産量を達成するにあたり問題が生じる可能性が考えられる。このような背景から、製造工程が平易でコストパフォーマンスに優れる pH-modifier を用いるアプローチに注目が集まっている [6-9]。本技術は、酸あるいは塩基を pH-modifier として用い、pH-microenvironment (pH_M) を最適化することで、pH 依存性の溶解度を持つ薬物の溶出挙動ならびにバイオアベイラビリティを改善するものである。しかし、多くの研究がなされている一方で、pH-modifier を適応した製剤の上部消化管 pH 上昇時における薬物動態学的挙動についてはほとんど明らかになっていない。

本研究では塩基性医薬品のモデル化合物として Dipyridamole (DP) を選択し、低酸症における低い吸収性を acidic pH-modifier による pH_M の制御により改善する DP 顆粒剤 (Dipyridamole granules: DPG) を新規に開発し、その物理化学的性ならびに薬物の体内動態について精査した。すなわち、まず DP 顆粒剤に適した acidic pH-modifier の選択を目的とし、10 種類の酸を acidic pH-modifier として用い、湿式造粒法にて各種 DPG を調製後、電子顕微鏡による形態観察、固体物性評価、安定性試験ならびに溶出試験を行い、各種 DPG の物理化学的特性を評価した。各種物性評価の結果から DPG に最適な acidic pH-modifier を選定し、Omeprazole 処理低酸症モデルラットを用いて、その体内動態を評価した。

2. 調査研究方法

2-1. 試薬

DP は Boehringer Ingelheim GmbH (Ingelheim, Germany) より提供された。Mannitol は Roquette GmbH (Frankfurt, Germany) より購入した。Hydroxypropyl cellulose (HPC) は IMCD Deutschland GmbH & Co. KG (Cologne, Germany) より購入した。フマル酸 (FA) は Bartek Ingredients Inc. (Ontario, Canada) より購入した。*p*-トルエンスルホン酸 (TS)、マレイン酸 (MLE)、塩酸、ギ酸アンモニウム及び酢酸アンモニウムは和光純薬工業 (Osaka, Japan) より購入した。メタノール及びアセトニトリル (HPLC グレード) は関東化学 (Tokyo, Japan) より購入した。L-酒石酸 (TA) は Tartarica Treviso S.R.L. (Villorba, Italy) より購入した。クエン酸 (CA) は Jungbunzlauer Ladenburg GmbH (Ladenburg, Germany) より購入した。アジピン酸 (AA) は 旭化成 (Tokyo, Japan) より提供された。DL-リンゴ酸 (MLI) は昭和化工 (Osaka, Japan) より提供された。コハク酸 (SA) は川崎化成工業 (Kawasaki, Japan) より提供された。L-アスパラギン酸 (D) 及び L-グルタミン酸 (E) は協和発酵バイオ (Tokyo, Japan) より提供された。その他の試薬は市販の特級規格品を使用した。

2-2. DP 顆粒剤の調製及び物性評価

DPG 及び 10 種の acidic pH-modifier をそれぞれ含む DPG は公知の湿式造粒法によって調製した。DP (1.5 g), mannitol (2.0 g) 及び酸 (1.5 g) を混合し、混合物に 5% HPC 溶液 (0.5 mL) を加え、乳棒と乳鉢を用いて造粒した。造粒された湿性顆粒を真空乾燥機 DP23 (ヤマト科学株式会社, Tokyo, Japan) を用い、60°C で 2 時間乾燥させ、乾燥後の造粒末を 1 mm 篩で篩過し、顆粒製剤を得た。調製した DPG の DP 含量は HPLC/UV を用いて測定した。HPLC/UV は Waters Alliance 2695 with Dual λ absorbance detector 2487 (Waters Corporation, Milford, MA, USA) を用いた。

2-3. 走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscopy; SEM)

DP 原薬、DP 顆粒剤の粒子形態及び表面状態を SEM により観察した。金属コーティングは施さず、VE-7800 (Keyence, Osaka, Japan) を使用して撮影した。

2-4. 粉末 X 線回折 (X-ray powder diffraction: XRPD)

XRPD パターンを Cu K α 線 (generated at 15 mA, 30 kV) を使用した Mini Flex II (Rigaku Corporation, Tokyo, Japan) を用いて測定した。データは $2\theta = 3\text{--}33^\circ$ で 0.1° 間隔で測定し、解析は $4^\circ/\text{分}$ の速度で行った。

2-5. 安定性試験

過酷試験では、各 DP 顆粒 1 g を 25 mL の褐色ガラスバイアルに入れ、高温高湿槽中で保存した。過酷条件は恒温高湿槽 SRH-15VEVJ2 (ナガノサイエンス, Osaka, Japan) を用い、 $40 \pm 2^\circ\text{C}/75 \pm 5\%$ relative humidity (RH), ならびに恒温槽 LH21-15M (Nagano Science Co. Ltd., Osaka, Japan) 中で $60 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。保存期間はどちらの条件とも 4 週間とした。光安定性試験では各 DPG を正確に DP として 50 mg 秤量し、25 mL の透明ガラスバイアル内に入れた。その後、ガラスバイアルを SUNTEST XLS+ (Atlas Material Technology LLC, Illinois, USA) 内に入れ、波長 300–800 nm の光を照射した (250 W/m^2 , 24 h, 25°C)。照射後の各サンプル中における DP 残存量を HPLC で測定した。

2-6. 溶出試験

溶出試験は溶出試験機 NTR-6100 (富山化学, Osaka, Japan) を用いて行った。DP 顆粒剤を DP 含有量として 50 mg となるよう正確に秤量し、900 mL の 0.05 M リン酸バッファー (pH6.8) ならびに 0.1 M 塩酸溶液 (pH1) が入ったベッセルに加え、パドル法 (50 rpm, 37°C , 12 h) により行った。サンプルは各時間で採取し、pH6.8 においては波長 298 nm, pH1 においては波長 283 nm の UV 吸光度からサンプル中の DP 濃度を算出した。また、過飽和度 (C/C_{eq}) は DP の溶解度 (C_{eq}) ならびにメディウム中の実際の DP 濃度 (C) から算出した。また、ロータリーディスク法を用いて pH1.1–6.0 の範囲における DP の水系溶媒における固有溶出速度 (intrinsic dissolution rate; IDR) を算出した。5 mg の DP を圧縮し、ディスクを形成させ、溶出試験に適合する試料ホルダー (SOTAX, Basel, Switzerland)

に取り付け、200 rpm で攪拌した。サンプルは UV 分光光度計を用いて定量した。固有溶出速度は濃度対時間プロットの直線部分の傾き、メディアウムの容積 (35 mL) 及び露出したディスクの面積 (直径: 2 mm) から算出した。

2-7. Omeprazole 処理低酸症動物モデルを用いた DP 顆粒剤の薬物動態評価

8-9 週齢 (体重: 307±38 g) の SD 系雄性ラット (日本エスエルシー, Shizuoka, Japan) を使用した。ラット用固形試料および飲料水を自由に与え、室温 24±1°C, 湿度 55±5%, 明暗サイクル 12 時間の条件下で飼育した。すべての動物実験は、静岡県立大学実験動物倫理委員会のガイドラインに準じて行った。

約 18 時間絶食させたラットに DP 顆粒剤 (10 mg-DP/kg body weight) を 10 mg-DP/mL の懸濁液とし、経口投与した。低酸症モデルラットは DP 投与の 1 時間前に omeprazole (30 mg/kg) を経口投与することで作製した。本研究では、Miyazaki らが確立した omeprazole 処理による低酸症モデルラットを [60] 使用し、DP 顆粒剤の体内動態を精査した。omeprazole 処理低酸症モデルラットは omeprazole を 30 mg/kg 経口投与することで 1 時間以内に胃内 pH が pH6 以上に上昇、その後 5 時間にわたり中性付近の pH を維持し、低酸症の病態を再現するものである [10-11]。DP 顆粒剤を経口投与後、各時間経過後においてラット尾静脈から約 200 µL 採血後、10000×g で 10 分間遠心分離し血漿を得た。得た血漿サンプルは測定まで -80°C で保存した。DP の濃度測定の際、血漿 50 µL にメタノール 100 µL を加え 3000 rpm で 10 分遠心分離した。遠心分離後のサンプルから得た上清を 0.2 µm のフィルターに通し、その溶液中の DP 量を UPLC/ESI-MS (Waters Acuity on UPLC system, Waters, Milford, MA, USA) で測定した。

2-8. 統計処理

各データの統計処理は、ANOVA 法を用いて分散分析を行った後、Fisher の最小二乗乗法によって統計学的処理を行い、危険率 5% 以下をもって有意とした。

3. 調査研究結果

3-1. DP 顆粒剤の調製

公知の湿式造粒法により DPG 及び各種 acidic pH-modifier を含む DPG を調製したところ、その製造性ならびに外観は酸の種類に応じて大きく異なった。すなわち、CA, TA, MLI, MLE 及び TS では湿式造粒後に飴状へと外観変化を認めた。この原因として、CA, TA, MLI, MLE 及び TS の水に対する溶解度がそれぞれ 206 mg/mL, 1,330 mg/mL, 558 mg/mL, 790 mg/mL ならびに 670 mg/mL と高く、故にこれら 5 種類の酸が造粒課程で結合剤として混合される HPC 溶液に溶解したことが可能性として考えられる。DPG 及び DPG/TS は直径が 25-50 µm の整った粒子を形成していることを電子顕微鏡観察で確認した (Fig. 1)。DPG/TA は直径 200-300 µm と大きく、表面の一部は溶解していた。また、DPG/MLE は乾燥後にもかかわらず、高い吸湿性のために飴状になった。

3-2. 安定性試験

40°C/75% RH の条件下で 2 週間保存した結果を Table 1 に示す. DPG/TA, DPG/CA ならびに DPG/MLI において, 潮解性に起因すると考えられる純度の減少が生じ, 試験後の純度はそれぞれ 47.7%, 38.0% 及び 21.9% であった. その他の製剤は結晶系の転移や分解を起こさず, 優れた安定性を示した. 次に, 過酷試験で安定性が確認された 6 種の製剤について光安定性試験を実施したところ, いずれの製剤も光分解を起こさず, 光に対しても安定であることを確認した.

3-3. 溶出試験

各種 DPG 製剤の 0.05 M リン酸緩衝液 (pH6.8) における溶出試験の結果及び一次溶解速度式から算出した初期溶解速度を Fig. 2A ならびに Table 1 にそれぞれ示す. DPG の初期溶出速度は $4.2 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, 最大溶出率は総薬物量の約 20% であった. また, DPG/SA, DPG/AA, DPG/D ならびに DPG/E の溶出挙動は DPG と同程度であった. 対照的に, DPG/TA, DPG/CA, DPG/MLI, DPG/FA ならびに DPG/TS の溶出速度は DPG と比較して 10 倍以上, 最大溶出量は 3 倍以上であった. また, 過飽和度は DPG/TA, DPG/C, DPG/MLI, DPG/TS 及び DPG/FA の過飽和度はそれぞれ 4.1, 3.9, 3.1, 3.1 及び 2.8 倍であり, いずれの製剤でも試験終了までその過飽和度を維持した. 一方, その他の酸を用いた製剤では DP の溶出を改善しなかった.

3-4. 固有溶出速度

ロータリーディスク法により測定した pH1.1-6 における DP の IDR を Fig. 2B に示した. pH2, pH3 ならびに pH4 における DP の IDR はそれぞれ $2.7 \text{ mg/cm}^2/\text{min}$, $0.62 \text{ mg/cm}^2/\text{min}$ 及び $0.05 \text{ mg/cm}^2/\text{min}$ であり, pH2 から pH4 にかけて大きく変動し, DP の溶解性に多大な影響を与えることを示唆した. ここで, 各 pH-modifier の酸性度を考慮すると, TA, CA, MLI, TS 及び FA 飽和水溶液の pH が 2 以下であるのに対し, その他の酸では 2 以上 (pH2.5-3.7) である. IDR 及び溶出試験の結果から DP の溶出挙動を改善するためには酸性度の高い pH-modifier を選択することが重要である可能性が考えられる. これまでの製造性, 安定性, 溶出挙動の試験結果を総合的に判断し, FA または TS が DPG に組み合わせる pH-modifier として適切であると考えた. そこで, TS の新規 acidic pH-modifier としての有用性について詳細な検討を行った.

3-5. pH-modifier 含量の最適化検討

DPG/TS の最適化を行うため, TS を 15% から 60% 含む製剤を調製し, 比較検討を行った (Table 2). DPG/TS15 及び DPG/TS22.5 は再現性よく調製可能であった. また, DPG/TS30 では湿式造粒後に一部が飴状になったが, 乾燥後は正常に乾燥した均一な顆粒を形成した. 一方, DPG/TS45 及び DPG/TS60 においては, 乾燥後にも製剤中に大径の顆粒が存在し, 不均一な外観が観察された. また, 40°C/75% RH 条件下の安定性試験において, DPG/TS45 及び DPG/TS60 では潮解性を認め, 純度が 80% に低下した.

さらに、DPG/TS の溶出試験を行い、その結果を Fig. 3 に示した。0.1 M HCl 溶液 (pH1.0) における溶出試験 (Fig. 3A) では、DPG を含むすべての製剤で 15 分以内に約 100% の溶出率を達成し、DP の酸性条件下における優れた溶解性 (53.0 mg/mL) と整合性を示した。一方、pH6.8 における溶出試験 (Fig. 3B) において、DP の溶出率は約 9% であったが、DPG/TS15、DPG/TS30 及び DPG/TS60 の溶出率は DPG と比較してそれぞれ、2 倍、4 倍ならびに 6 倍に達した。また、過飽和度はそれぞれ 2.5、3.3 ならびに 5.5 倍であった。この結果から、TS の含量が多いほど DP の溶出挙動が改善することが示唆された。この傾向は TS 含量が多いほど pH_M をより強く制御できることに起因すると考えられる。以上の最適化検討の結果から、製造性、安定性ならびに溶出挙動に優れた特性を示した DPG/TS30 が最も適当な TS 含量を有する製剤であると考えた。

3-6. Omeprazole 処理低酸症動物モデルを用いた DPG/TS の薬物動態評価

DPG/TS30 が低酸症病態下の DP 体内動態を改善する可能性について精査するため、ラット及び低酸症モデルラットを用いて体内動態評価を行った。薬物投与後の血中濃度推移を Fig. 4 に、薬物動態学的パラメータを Table 3 に示した。ノーマルラットにおいて、DPG 及び DPG/TS30 を投与後の DP 濃度推移は類似しており、血漿 DP 濃度は速やかに上昇した。DPG 及び DPG/TS30 の C_{max} は 145.3 ± 19.9 ng/mL 及び 145.2 ± 15.48 ng/mL であり、 AUC_{0-3} の値はそれぞれ、 209.7 ± 29.9 ng · h/mL 及び 269.8 ± 23.75 ng · h/mL であった。DP を尾静脈投与後の AUC_{0-inf} の値を元に算出したバイオアベイラビリティは、それぞれ 27% 及び 33% であった。ノーマルラットの結果とは対照的に、omeprazole 処理低酸症モデルラットにおける DPG 投与群の血漿 DP 濃度はより低く、 C_{max} 及び AUC_{0-3} の値はそれぞれ 68.79 ± 9.9 ng/mL 及び 130.3 ± 23.5 ng · h/mL であった。一方、低酸症モデルラットに DPG/TS30 を投与した群では、ノーマルラットに DPG/TS30 を投与した群と比較し、 C_{max} 及び AUC_{0-3} に有意差は見られなかった。

4. 考察

はじめに、DP の中性付近における溶出挙動改善を目的とした DPG を開発するため、過去に acidic pH-modifier として用いることで DP の溶解性を改善した実績のある FA、CA 及び SA を含む 10 種類の酸を acidic pH-modifier としてそれぞれ含む DPG を調製した。本研究で使用した 10 種の酸の飽和水溶液の pH がすべて 4 以下であることを考慮すると、これらの酸が acidic pH-modifier として DP 周辺の pH_M を低下させ、DP の溶出挙動を改善する可能性が考えられる。DPG/CA、DPG/TA、DPG/MLI、DPG/MLE 及び DPG/TS は湿式造粒の課程で飴状になる性質を確認した。この原因として、これら 5 種類の pH-modifier が造粒課程で結合剤として混合される HPC 溶液に溶解したことが可能性として考えられる。続いて行った SEM による観察では、DPG/MLE の表面が乾燥後においても溶解している様子を観察した。これは MLE の高い吸湿性に起因すると推察される。以上の結果から、DPG/MLE を除く各種 DPG を得ることに成功した。

使用した酸の種類によって異なる溶出挙動が得られた理由を明らかにするため、

pH1.1-6 の範囲における DP の IDR を測定した。IDR は化合物に固有の溶解速度と定義され、pH-modifier による pH_M の制御による溶解性の改善と相関を示す可能性がある。その結果、pH2, pH3 ならびに pH4 における DP の IDR はそれぞれ 2.7, 0.62 及び 0.05 $mg/cm^2/min$ であり、pH2 から pH4 にかけて急激に低下していることが明らかとなった。過去の研究で、L.X. Yu らは IDR が 0.1 $mg/cm^2/min$ 以下の場合を難溶性に [12]、Zakeri-Milani らは 1 $mg/cm^2/min$ 以下の場合を難溶性に分類することを提案している [13]。これらの知見によると、pH3 以上における DP の IDR は比較的水に難溶であると考えられる。以上のことから、pH2-4 における pH_M の変化は DP の溶解性に多大な影響を与え、さらに、DP の溶出挙動を大きく改善するためには pH_M を pH3 以下にすることが重要である可能性を示唆した。従って、飽和水溶液の pH が 2 以下である TA, CA, MLI, TS 及び FA は DP の溶出挙動を改善するに十分な pH_M を与え、中性付近における DP の優れた溶出挙動につながった可能性が考えられる。

これまでに精査した製造性、安定性ならびに溶出挙動の結果に基づき判断すると、DPG/FA 及び DPG/TS が総合的に優れた製剤だと考えられる。また、この 2 つの製剤を比較すると、pH6.8 における最大溶出率は DPG/TS が DPG/FA よりも 1.2 倍高い。従って、TS は検討した 10 種の酸の中で、DP の pH-modifier として最も適切である可能性があり、低酸症病態下における DP の薬物動態学的挙動を改善する可能性が考えられる。そこで、DPG/TS の TS 含量の最適化を行うため、TS を 15-60% 含む DPG/TS を調製し、各種物性について評価を行った。各種 DPG/TS 調製において TS 含量が増加するほど、吸湿し飴状を呈するなどの問題が発生しやすい傾向にあった。乾燥後に均一に微細化した顆粒が得られたのは DPG/TS15, DPG/TS22.5 及び DPG/TS30 であり、DPG/TS45 及び DPG/TS60 においては、調製後の製剤中に大型の顆粒が混在した。加えて、DPG/TS45 及び DPG/TS60 は吸湿性を示し、安定性にも劣ることが示された。次に、各種 DPG/TS について溶出試験を行ったところ、中性条件において、TS 含量が多いほど DP の溶出挙動が改善することが示唆され、第 1 章で行われた DPG/FA の最適化検討と類似した傾向を示した。以上の最適化検討の結果から、製造性、安定性ならびに溶出挙動に優れた特性を有する DPG/TS30 が最も適当な DPG/TS であると考えた。

最後に、DPG/TS30 が低酸症病態下の DP 体内動態を改善する可能性について、ラット及び低酸症モデルラットを用い、その体内動態を精査した。比較検討のため、ノーマルラットに DPG 及び DPG/TS30 を経口投与したところ、いずれの製剤も血漿 DP 濃度が速やかに上昇し、 C_{max} , $T_{0.5}$, AUC_{0-inf} ならびに AUC_{0-3} の値に製剤間で有意差は無かった。この結果は DP の酸性条件下における溶出挙動、pH1 における DPG/TS30 の溶出試験の結果ならびにノーマルラットの胃内が酸性であることを考慮すれば、予測しうる結果である。対照的に、低酸症モデルラットにおける DPG 投与群の血漿 DP 濃度はノーマルラットと比較して有意に低い結果となった一方、DPG/TS30 投与群の DP 濃度推移はノーマルラットにおける濃度推移とほぼ一致した。この結果についても、pH6.8 における DPG/TS30 の溶出試験結果と整合性が取れていると考えられる。以上の結果は、TS を pH-modifier として用いた DP 顆粒製剤は DP の pH 依存性溶解特性を改善し、さらに、溶出挙動の改

善が高い胃内 pH を持つ低酸症患者における経口バイオアベイラビリティの改善につながることを示唆するものとする。

5. まとめ

本研究は塩基性薬物の問題点である低酸症病態下における低い吸収性及び経口バイオアベイラビリティのばらつきを pH-modifier による pH_M の制御により改善する新規製剤の開発を目的とした。製造性、安定性及び溶出挙動を考慮した結果、TS が DP 製剤の pH-modifier として適切である可能性が示され、その最適な薬物含量は約 30% 程度であることを確認した。低酸症モデルラットを用いた動物実験においても、DPG 投与群では血漿 DP 濃度がノーマルラットと比較して低下したのに対し、DPG/TS 投与群では、ノーマルラットの薬物動態学的挙動と一致する結果となった。本知見より、DP 製剤に適切な acidic pH-modifier を加えることで、低酸症患者における DP の薬物動態学的挙動を改善し、DP の治療薬としてのポテンシャルをさらに高める可能性があると共に、pH-modifier 技術を応用した有用な OTC 薬の開発に繋がると期待する。

6. 調査研究発表

6-1. 口頭発表

1. 谷口 智香, 井上 僚, 山下 和宏, 川端 洋平, 和田 耕一, 山内 行玄, 尾上 誠良, 山田 静雄 [Dipyridamole の低胃酸症モデルにおける経口吸収性改善を指向したソルトスクリーニング] 日本薬剤学会 第 27 年会 (神戸), 2012 年 5 月 24-26 日

6-2. 誌上発表

- 1) Chika Taniguchi, Ryo Inoue, Masashi Kato, Kazuhiro Yamashita, Yohei Kawabata, Koichi Wada, Shizuo Yamada, Satomi Onoue [New Dipyridamole Salt with Improved Dissolution and Oral Bioavailability under Hypochlorhydric Conditions] *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **in press**
- 2) Chika Taniguchi, Ryo Inoue, Yohei Kawabata, Kazuhiro Yamashita, Koichi Wada, Yukinori Yamauchi, Shizuo Yamada, Satomi Onoue [Novel formulations of dipyridamole with microenvironmental pH-modifiers for improved dissolution and bioavailability under hypochlorhydria] *International Journal of Pharmaceutics*, **434(1-2)**: 148-54 (2012)
- 3) Satomi Onoue, Ryo Inoue, Chika Taniguchi, Yohei Kawabata, Koichi Wada, Yukinori Yamauchi, Shizuo Yamada [Improved dissolution and pharmacokinetic behavior of dipyridamole formulation with microenvironmental pH-modifier under hypochlorhydria] *International Journal of Pharmaceutics*, **426(1-2)**: 61-6 (2012)

7. 引用文献

1. Chen, S., J. Zhu, F. Ma, Q. Fang, and Y. Li, Preparation and characterization of solid dispersions of dipyridamole with a carrier "copolyvidonum Plasdone S-630". *Drug Dev*

- Ind Pharm, 33, 888-99 (2007).
2. Rao, V.M., E.A. Zannou, and V.J. Stella, Design of Tablets for the Delayed and Complete Release of Poorly Water-Soluble Weak Base Drugs Using SBE(7M)-beta-CD as a Solubilizing Agent. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100, 1576-1587 (2011).
 3. Avdeef, A., M. Kansy, S. Bendels, and K. Tsinman, Absorption-excipient-pH classification gradient maps: sparingly soluble drugs and the pH partition hypothesis. *Eur J Pharm Sci*, 33, 29-41 (2008).
 4. Guo, F., H. Zhong, J. He, B. Xie, F. Liu, H. Xu, M. Liu, and C. Xu, Self-microemulsifying drug delivery system for improved oral bioavailability of dipyridamole: preparation and evaluation. *Arch Pharm Res*, 34, 1113-23 (2011).
 5. Sanganwar, G.P. and R.B. Gupta, Nano-mixing of dipyridamole drug and excipient nanoparticles by sonication in liquid CO₂. *Powder Technology*, 196, 36-49 (2009).
 6. Thoma, K. and I. Ziegler, Simultaneous quantification of released succinic acid and a weakly basic drug compound in dissolution media. *Eur J Pharm Biopharm*, 46, 183-90 (1998).
 7. Streubel, A., J. Siepmann, A. Dashevsky, and R. Bodmeier, pH-independent release of a weakly basic drug from water-insoluble and -soluble matrix tablets. *J Control Release*, 67, 101-10 (2000).
 8. Badawy, S.I. and M.A. Hussain, Microenvironmental pH modulation in solid dosage forms. *J Pharm Sci*, 96, 948-59 (2007).
 9. Siepe, S., W. Herrmann, H.H. Borchert, B. Lueckel, A. Kramer, A. Ries, and R. Gurny, Microenvironmental pH and microviscosity inside pH-controlled matrix tablets: an EPR imaging study. *J Control Release*, 112, 72-8 (2006).
 10. He, X., S. Kadomura, Y. Takekuma, M. Sugawara, and K. Miyazaki, A new system for the prediction of drug absorption using a pH-controlled Caco-2 model: evaluation of pH-dependent soluble drug absorption and pH-related changes in absorption. *J Pharm Sci*, 93, 71-7 (2004).
 11. Wada, I., et al., Expression of HSP72 in the gastric mucosa is regulated by gastric acid in rats-correlation of HSP72 expression with mucosal protection. *Biochem Biophys Res Commun*, 349, 611-8 (2006).
 12. Yu, L.X., A.S. Carlin, G.L. Amidon, and A.S. Hussain, Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. *Int J Pharm*, 270, 221-7 (2004).
 13. Zakeri-Milani, P., M. Barzegar-Jalali, M. Azimi, and H. Valizadeh, Biopharmaceutical classification of drugs using intrinsic dissolution rate (IDR) and rat intestinal permeability. *Eur J Pharm Biopharm*, 73, 102-6 (2009).

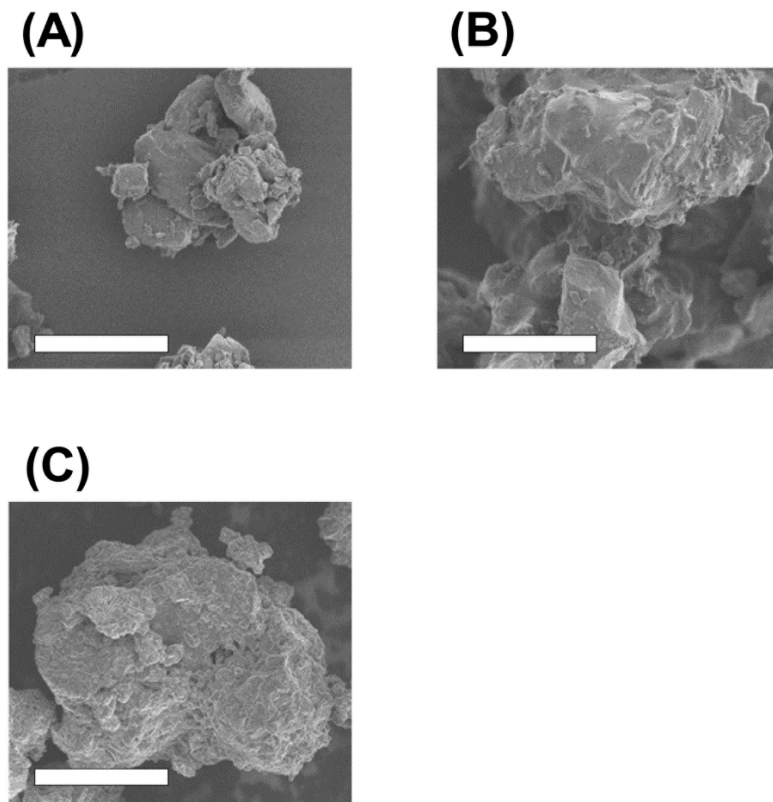


Fig. 1 Morphological observation of dipyrindamole granule using scanning electron microscopy.

(A) DPG, (B) DPG/TA and (C) DPG/TS. Each bar represents 25 µm.

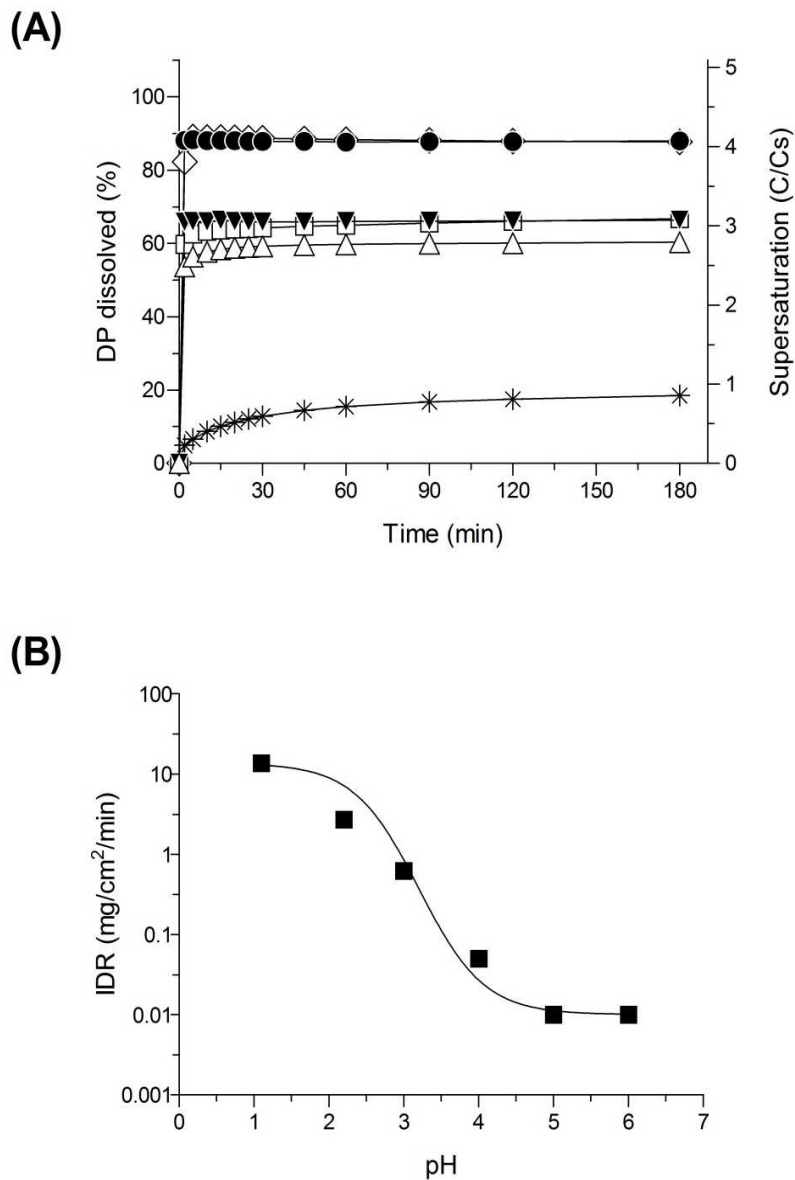


Fig. 2 Dissolution characterization of dipyridamole. (A) Dissolution profiles of dipyridamole granule formulations at pH6.8. *, DPG; ●, DPG/TA; ◇, DPG/CA; ▼, DPG/MLI; □, DPG/TS; and △, DPG/FA. Degrees of supersaturation are expressed as measured concentration of dissolved DP (C) versus equilibrium solubility of DP (Cs). Each bar represents mean±SD of 3 independent experiments. (B) Intrinsic dissolution rate of DP.

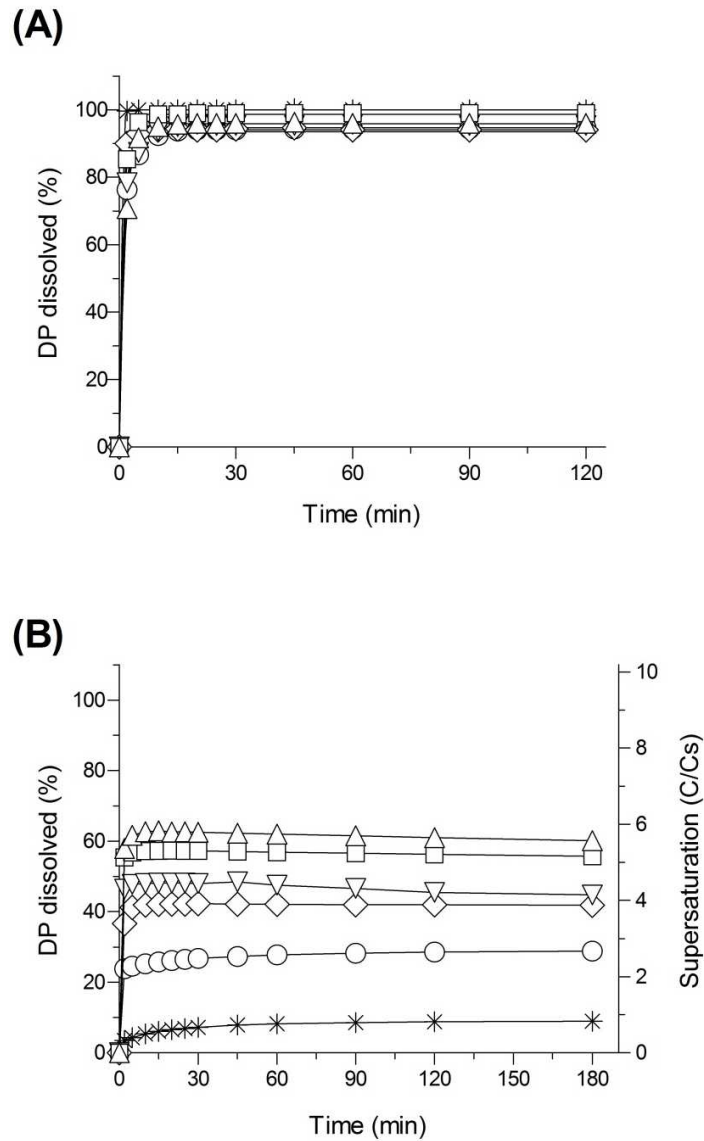


Fig. 3 Dissolution profiles of dipyridamole granule formulations at (A) pH1.0 and (B) pH 6.8.

* , DPG; ○, DPG/TS15; ◇, DPG/TS22.5; ▽, DPG/TS30; □, DPG/TS45; and △, DPG/TS60.

Degrees of supersaturation are expressed as measured concentration of dissolved DP (C) versus equilibrium solubility of DP (Cs). Each bar represents mean±SD of 3 independent experiments.

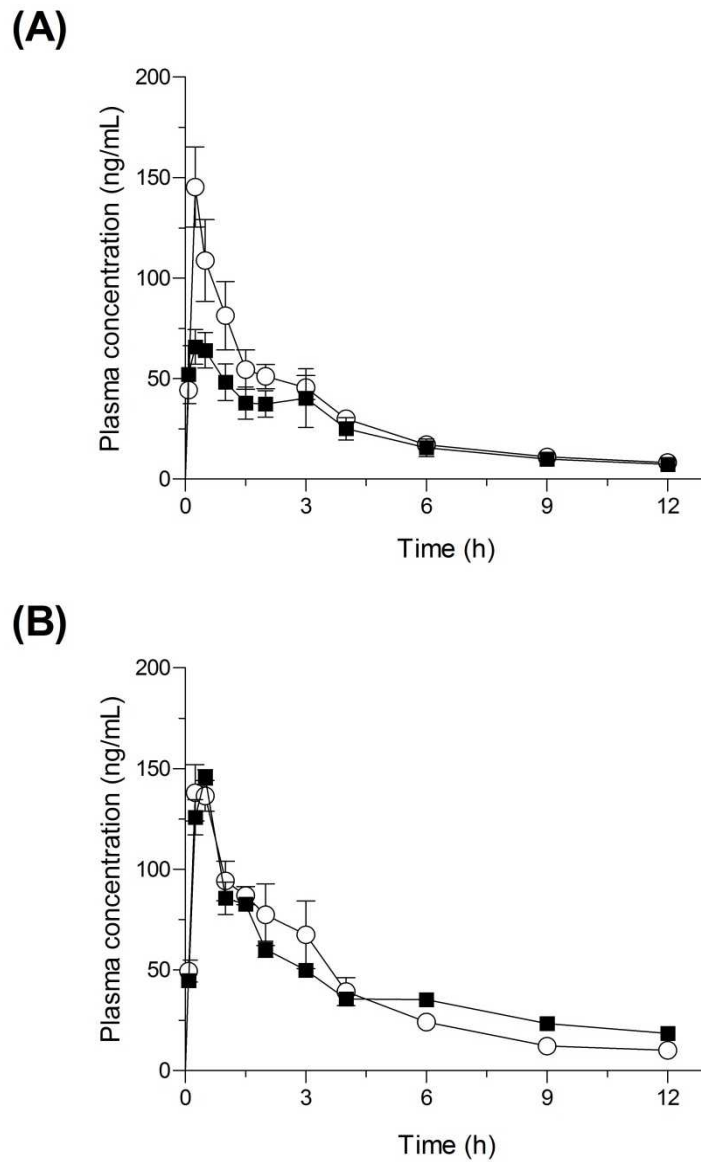


Fig. 4 Plasma dipyrindamole concentrations in normal and hypochlorhydric rats after oral administration of dipyrindamole granule. (A) DPG (p.o., 10 mg DP/kg) and (B) DPG/TS30 (p.o., 10 mg DP/kg). ○, normal rats; and ■, hypochlorhydric rats. Data represent mean±SE of 4 experiments.

Table 1 The results on preparation and stability study of dipyrnidamole granule.

DP granule with acid (DPG/acid)	Stability Test/Purity (%)				Dissolution test at pH6.8	
	Initial	40°C/75% RH, 2W	60°C, 2W	Photostability ¹⁾	Initial dissolution rate (h ⁻¹)	Max drug dissolved level (% of total)
DPG	96.9	96.5	96.3	96.7	4.2×10 ⁻²	20
DPG/TA	96.5	47.7 ²⁾	5.7 ²⁾	not analyzed	7.3×10 ⁻¹	89
DPG/CA	94.9	38.0 ²⁾	9.5 ²⁾	not analyzed	6.8×10 ⁻¹	85
DPG/MLI	82.1	21.9 ²⁾	6.4 ²⁾	not analyzed	5.5×10 ⁻¹	69
DPG/TS	101.4	99.6	95.9	99.4	5.0×10 ⁻¹	69
DPG/SA	97.2	96.4	95.7	96.0	6.7×10 ⁻²	20
DPG/AA	99.0	98.4	98.1	100.8	5.0×10 ⁻²	19
DPG/FA	99.5	98.1	97.9	98.3	4.5×10 ⁻¹	60
DPG/D	98.9	96.7	98.1	96.3	3.3×10 ⁻²	20
DPG/E	98.0	96.3	98.5	97.8	3.3×10 ⁻²	20

1) UV and visible light irradiation (250 W/m² for 24 h).

2) Granule deliquesced during storage.

Table 2 The results on preparation and stability study of dipyridamole granule with *p*-toluenesulfonic acid.

DP Granules with TS (TS ratio %)	Appearance of the granule		Stability/Purity (%)			Photostability ¹⁾ Purity (%)
	After granulation	After drying and milling	Initial	40°C/75% RH, 4W	60°C, 4W	
DPG	Wet granule	Dried granule	98.3	98.1	97.7	99.7
DPG/TS15	Wet granule	Dried granule	100.5	101.8	99.9	100.4
DPG/TS22.5	Wet granule	Dried granule	98.3	96.4	99.1	97.2
DPG/TS30	Partly candy-like	Dried granule	101.5	95.2	99.7	101.4
DPG/TS45	Candy-like	Dried granule with lump	103.8	86.7 ²⁾	102.0	101.9
DPG/TS60	Candy-like	Dried granule with lump	101.8	81.1 ²⁾	96.6 ²⁾	100.9

1) UV and visible light irradiation (250 W/m² for 24 h).

2) Granule deliquesced during storage.

Table 3 Pharmacokinetic parameters of dipyridamole granules following oral administration in normal and omeprazole-treated rats.

	API. (3 mg/kg; i.v.)	DPG (10 mg/kg; p.o.)		DPG/TS30 (10 mg/kg; p.o.)	
		Normal rats	Omeprazole-treated rats	Normal rats	Omeprazole-treated rats
C_{\max} (ng/mL)	716.4±72.1	145.3±19.9	68.8±9.9	145.2±15.5	148.2±3.3
T_{\max} (h)	0	0.25	0.25	0.38±0.07	0.44±0.06
$T_{1/2}$ (h)	0.24±0.02	2.46±0.49	3.54±0.98	3.36±0.68	2.75±0.13
AUC (ng · h/mL)	434.7±96.9	395.3±15.3	313.7±63.1	476.2±68.9	505.6±4.7
AUC ₀₋₃ (ng · h/mL)	384.2±97.9	209.7±29.9	130.3±23.5	269.8±23.8	237.5±8.7
Oral BA (%)	---	27.3	21.7	32.9	34.8
Oral BA ₀₋₃ (%)	---	16.4	10.2	21.1	18.5

C_{\max} : maximum concentration; $T_{1/2}$: half-life; and AUC: area under the curve of plasma concentration; BA: bioavailability. Values are expressed as means±SE from 4 experiments.