

原著論文

# ラット消化管における塩酸イリノテカン内封 高分子マイクロカプセルの吸収特性

小野 浩重<sup>1)</sup>, 米山 敏夫<sup>2)</sup>, 加地 弘明<sup>1)</sup>, 山崎 啓之<sup>3)</sup>, 有森 和彦<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 就実大学 薬学部 薬物療法設計学研究室, <sup>2)</sup> 旭化成株式会社 研究開発本部 製品技術研究所, <sup>3)</sup> 崇城大学 薬学部 医療薬剤学研究室, <sup>4)</sup> 宮崎大学医学部附属病院 薬剤部

## Effects of polymeric microcapsule containing irinotecan hydrochloride on the intestinal absorption in rats

Hiroshige Ono<sup>1)</sup>, Toshio Yoneyama<sup>2)</sup>, Hiroaki Kaji<sup>1)</sup>, Keishi Yamasaki<sup>3)</sup>, Kazuhiko Arimori<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> *Department of pharmacotherapy design, School of Pharmacy, Shujitsu University,*

<sup>2)</sup> *Product and Technology Institute, Corporate R & D, Asahi Kasei Co.,*

<sup>3)</sup> *Laboratory of Clinical Pharmaceutics, School of Pharmacy, Sojo University,*

<sup>4)</sup> *Department of Pharmacy, University of Miyazaki Hospital*

(Received 31 October 2014; accepted 27 November 2014)

---

**Abstract:** Irinotecan hydrochloride (CPT-11) is a prodrug which shows antitumor activity in the body after hydrolyzation of CPT-11 to SN-38, the activities of CPT-11 and SN-38 depend on their closed lactone ring forms. In order to remain the closed lactone ring forms, we attempted to prepare orally administrable microcapsule of anti-cancer agent CPT-11. The microcapsule using enteric polymer as a wall material was prepared by W/O/W emulsion-solvent evaporation method. Afterwards, we examined the pharmacokinetics of CPT-11 after oral administration of the microcapsule, intravenous and oral administrations of the solutions, to obtain the basal data for development of an oral dosage form. As a result, after the intravenous administration of CPT-11 solution, the plasma concentrations of CPT-11 decreased quickly, whereas the oral administrations of both microcapsule and solution resulted in gradual increase and prolongation of the plasma concentrations. The area under the plasma concentration-time curve (AUC) of SN-38 after oral administration of the microcapsule was higher compared with that after oral administration of CPT-11 solutions. These findings suggested that the microcapsule was useful for the oral dosage form of CPT-11.

Keywords: Irinotecan hydrochloride (CPT-11); intestinal absorption; microcapsule; lactone ring

---

## 緒言

塩酸イリノテカン (CPT-11) は、肺がん、子宮頸がん、卵巣がん、非ホジキンリンパ腫および手術不能または再発した胃がん・大腸がん・乳がんなどに対し、高い抗腫瘍活性と広い抗腫瘍活性スペクトルを有する抗がん薬であり、I型DNAトポイソメラーゼを阻害することによりDNA合成を阻害し、抗腫瘍活性を示す<sup>1,2)</sup>。CPT-11は主に肝ミクロソーム内のカルボキシエステラーゼにより加水分解を受けて活性代謝物(SN-38;7-ethyl-10-hydroxycamptothecin)に変換されて抗腫瘍効果を発揮するプロドラッグであるが、CPT-11およびSN-38は化学構造上、ラクトン環の可逆的開閉を生じ、酸性側では閉環体(ラクトン体)、アルカリ側では開環体(カルボキシル体)として存在する。CPT-11は投与段階ではラクトン体であるが、投与後は経時的にカルボキシル体に変換され、抗腫瘍効果が低下することが知られている<sup>3)</sup>。また、SN-38も類似の化学構造を有し、抗腫瘍活性を示す本体はラクトン体のSN-38であるが<sup>4)</sup>、SN-38はCPT-11に対して約1,000倍のトポイソメラーゼI阻害作用を有する<sup>5)</sup>。SN-38は肝臓でグルクロン酸抱合を受け、グルクロナイド(SN-38G)となって胆汁へ排泄される<sup>6)</sup>。

一方、小腸上皮細胞を用いたCPT-11およびSN-38の細胞内取り込みでは、ともにラクトン体に比べカルボキシル体での取り込み量が少なく、細胞内への取り込みがpHに依存することが示唆されている<sup>7)</sup>。これらの投与条件を考慮した場合、薬理活性が高いSN-38のラクトン体を高濃度維持した製剤の開発が望まれる。

我々はこれまでCPT-11の抗腫瘍効果の増強と副作用軽減を図った経口製剤の開発を目的とし、CPT-11含有water-in-oil-in-water(W/O/W)エマルジョンを調製して有用性を検討してきた<sup>8)</sup>。

本研究では高分子マイクロキャリアを利用したCPT-11内封マイクロカプセルを調製し、放出特性を評価した。また、本製剤経口投与後の

CPT-11および活性代謝物SN-38, SN-38Gの体内動態をCPT-11水溶液の経口投与(p.o.)および静脈内投与(i.v.)後の薬物動態と比較検討し、CPT-11含有経口製剤の有用性を評価した。

## 方法

### 1) CPT-11内封マイクロカプセルの調製

高分子マイクロカプセルは、最初にマイクロカプセルの壁膜材料であるヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネートとその溶媒である酢酸エチル溶液に内水相を形成するCPT-11の水溶液を入れ、ホモジナイザーで10,000 rpm, 5分間攪拌してwater-in-oil(W/O)エマルジョンを調製した。その後、アラビアゴムとカルボキシメチルセルロースを蒸留水に溶解した外水相に添加してW/O/Wエマルジョンを調製した。さらにエバポレーターで減圧し、油相の有機溶媒を外水相経由で蒸発除去する液中乾燥法により粒子化し、CPT-11内封高分子マイクロカプセルを調製した。

### 2) マイクロカプセルのCPT-11放出性

マイクロカプセルを酸性pH標準液(pH4.01)、日崩壊試験法の第2液、中性リン酸塩pH標準液(pH6.86)および蒸留水中で攪拌し、攪拌後直後、2分後、5分後、10分後のCPT-11濃度を高速液体クロマトグラフにより測定し、マイクロカプセルの溶解性およびCPT-11の放出性を評価した。

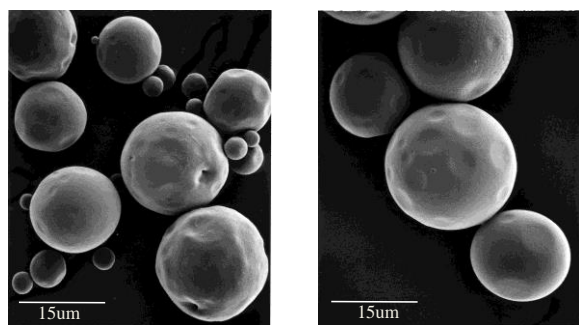
### 3) ラットにおける薬物動態の評価

ウイスター系雄性ラット(体重230~250g)の頸静脈に麻酔下でカニューレを挿入し、背部から覚醒した状態で採血できるように手術を施した。2日後、ラットにマイクロカプセル、CPT-11水溶液各々15 mg/kgをラット用経口ゾンデを用いて経口投与を行った。静脈内投与は、同量を頸静脈に挿入したカニューレより投与した。投与後15分、30分、45分、1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0時間に頸静脈より採血し、直ちにヘパリンリチウムを添加したチューブに採取して15,000 rpmで1分間冷却遠心した。その後、血漿50 μL

に同量のリン酸 0.146 mol/l を加えて攪拌処理し、高速液体クロマトグラフにて血漿中の CPT-11、SN-38 および SN-38G 濃度を測定した<sup>9)</sup>。得られたデータ値は平均値±標準偏差 (mean±S.D.) で表し、Student's-test を用いて統計学的処理を行った。なお、全ての動物実験に関しては就実大学薬学部動物実験指針に準じて計画、実施した。

**結果・考察**

電界放射型走査電子顕微鏡により、マイクロカプセルの形態を観察した(Fig.1)。生成したマイクロカプセルの表面は比較的滑らかでほぼ球形であった。また、界面活性剤テトラグリセロールモノオレエート(MO310)による表面形態の差は認められなかったが、平均粒子径 20μm の均一なマイクロカプセルが得られた。



Without surfactants      Surfactant in oil; MO310  
 Fig.1. Scanning electron photomicrographs of the microcapsule containing CPT-11.

マイクロカプセルを各種 pH 標準液中および蒸留水中で攪拌し、CPT-11 の放出性を評価した (Fig.2)。その結果, Fig.2 に示すように中性リン酸塩 pH 標準液 (pH6.86) では攪拌 2 分後から 80% 以上放出するが、酸性 pH 標準液 (pH4.01) および蒸留水中での CPT-11 の放出率は攪拌直後から 10 分後まで 2% 以下と有意に低く、酸性条件下ではほとんど放出しないことが判明した。以上の結果、本マイクロカプセルは外部の pH に依存し、胃内では放出が制御されて空腸以降の小腸で放出することが示唆され、腸溶性に適した製剤が

得られたものと考えられる。

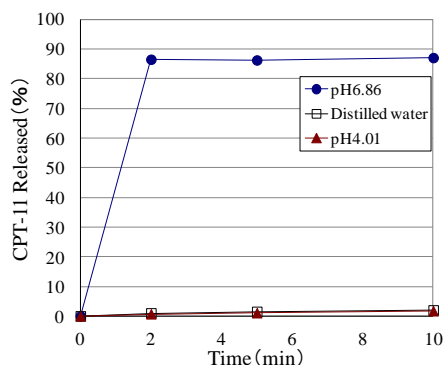


Fig.2. Release rates of CPT-11 from microcapsule into water at the various medium.

マイクロカプセル, CPT-11 水溶液の経口投与 (p.o.) および静脈内投与 (i.v.) 後の血漿中 CPT-11 濃度を測定した (Fig.3)。CPT-11 水溶液静脈内投与群では投与直後から血漿中濃度が増加し、その後著しく減少して投与 12 時間後にはピーク時の 2.3% まで減少した。

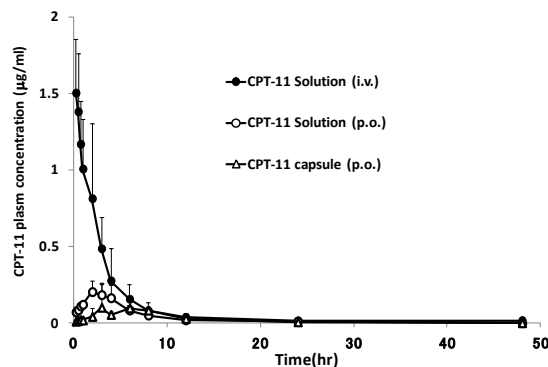


Fig.3. Time course of plasma CPT-11 concentration after i.v., p.o. and microcapsule administration. Each value is expressed as the mean±S.E. for 3~4 animals.

一方、CPT-11 水溶液経口投与群では投与 15 分後より徐々に血漿中濃度が増加し、投与後 30 分~1 時間まではマイクロカプセル投与群に比べて有意な増加を示し最高血中濃度到達時間 (Tmax) は投与後 2 時間であったが、その後は徐々に減少した。これに対し、マイクロカプセル投与

群では CPT-11 水溶液静脈内投与群や経口投与群に比べて血中濃度が低く、血漿中 CPT-11 濃度のピークは認められなかった。次に、CPT-11 と活性代謝物 SN-38 の体内動態を比較検討するため、マイクロカプセル、CPT-11 水溶液の経口投与および静脈内投与後の血漿中 SN-38 濃度を測定した。その結果、Fig.4 に示すように CPT-11 水溶液の静脈内投与群では投与 1 時間後で Tmax となりその後減少傾向を示した。一方、CPT-11 水溶液経口投与群及びマイクロカプセル投与群では投与 30 分後以降から徐々に血漿中 SN-38 濃度の増加傾向がみられ、CPT-11 水溶液経口投与群の Tmax は投与 45 分後、マイクロカプセル投与群の Tmax は投与 4 時間後であったが、すべての投与群において有意差はみられなかった。

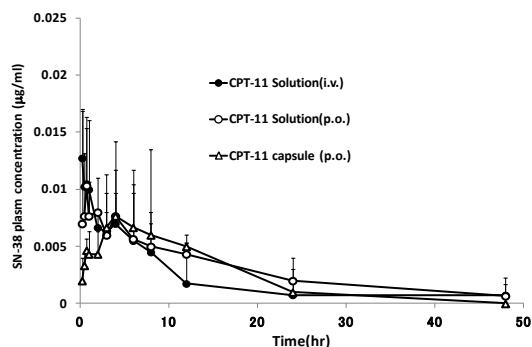


Fig.4. Time course of plasma SN-38 concentration after i.v., p.o. and microcapsule administration. Each value is expressed as the mean  $\pm$  S.E. for 3~4 animals.

そこで、投与 12 時間後までの活性代謝物 SN-38 に及ぼすマイクロカプセルの製剤特性を検討した。その結果、Fig.5 に示すように投与 3 時間後までは CPT-11 の水溶液経口投与群と静脈内投与群の血漿中 SN-38 濃度は同程度であったが、それ以降は経口投与群の方が高く投与 12 時間後では有意な増加を示した。一方、マイクロカプセル投与群の血漿中 SN-38 濃度は、投与 0.5 時間後では CPT-11 水溶液静脈内投与群に比べて有意に低かったが、投与 6 時間後以降は CPT-11 水溶液

静脈内投与群や経口投与群を上回り、徐放性が認められた。

これまでの報告によると、CPT-11 から SN-38 への変換率を比較した場合、CPT-11 水溶液の静脈内投与に比べて経口投与の方が高く、特に経口投与では静脈内投与に比べ SN-38 のラクトン体の割合が高いことが知られている<sup>10)</sup>。今回、我々は CPT-11 含有経口製剤としてマイクロカプセルを用いて本製剤の有用性を検討した。その結果、CPT-11 水溶液の経口投与においてマイクロカプセルは活性代謝物である血漿中 SN-38 濃度の向上に寄与する知見が得られ、抗腫瘍効果の増強において有用であることが示唆された。

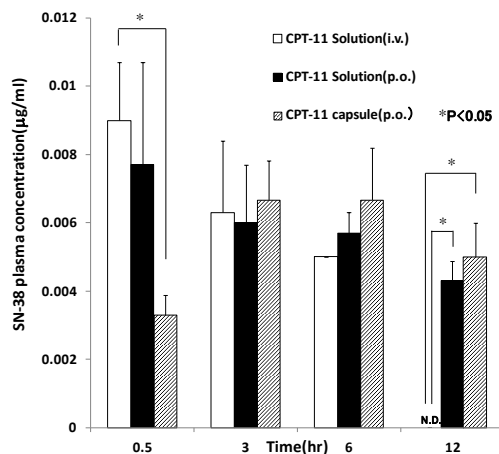


Fig.5. Plasma concentration profiles of SN-38 at 0.5 h, 3 h, 6 h, 12 h after i.v., p.o. and microcapsule administration. Each value is expressed as the mean  $\pm$  S.E. for 3~4 animals.

SN-38 は主に肝臓でグルクロン酸転移酵素により UDP-グルクロン酸抱合を受けて不活化され、細胞毒性をもたないグルクロン酸抱合体 SN-38G に変換され、胆汁中より排泄されるか一部は体循環から尿中に排泄されるが、腸管内に排泄された SN-38G は腸内細菌が持つ  $\beta$ -グルクロニダーゼにより脱抱合されて SN-38 となり、その一部は腸肝循環を受けて下痢を引き起こすことが報告されている<sup>11,12)</sup>。また、CPT-11 投与時の副作用の発生頻度は、骨髄機能抑制による白血球減少

が最も高いが、下痢の発生頻度は抗悪性腫瘍薬の中では最も高いことが知られている。そこで、血漿中 SN-38G 濃度を測定して SN-38 濃度-時間推移について比較検討した。その結果、Fig.6 に示すように CPT-11 静脈内投与群は投与直後より減少したのに対し、CPT-11 水溶液経口投与群およびマイクロカプセル投与群では投与 12 時間後まで増加傾向を示し、その後徐々に減少した。その際、CPT-11 水溶液経口投与群は投与 12 時間後までマイクロカプセル投与群より血漿中 SN-38G 濃度が高く、12 時間後以降はマイクロカプセル投与群の方が高かった。その要因として、カプセル化による徐放効果により血漿中への移行が遅延した結果、CPT-11 から SN-38 に変換する酵素であるカルボキシルエステラーゼや SN-38 から SN-38G に変換するグルクロン酸転移酵素の影響が軽減されたことによるものと考えられる。

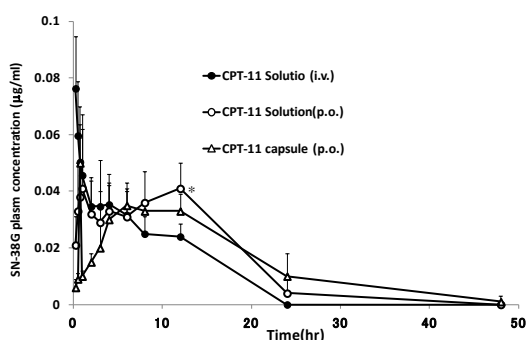


Fig.6. Time course of plasma SN-38G concentration after i.v., p.o. and microcapsule administration. Each value is expressed as the mean  $\pm$  S.E. for 3~4 animals. \*:  $P < 0.05$  vs CPT-11 solution(i.v.)

これまで CPT-11 を含有した様々な DDS 製剤が構築され、その有用性が評価されている。ポリ乳酸・グリコール酸共重合体を用いて調製した CPT-11 含有マイクロカプセルをラットに腹腔内投与した研究では、CPT-11 溶液を静注あるいは腹腔内注射した場合よりも高い CPT-11 濃度を示し、抗腫瘍活性を示す SN-38 を高濃度維持して

いることが報告されている<sup>13)</sup>。CPT-11 の経口製剤の開発は、欧米で既に臨床試験段階まで進んでおり、経口投与によるメリットとして、副作用の軽減、利便性、投薬経費の軽減などが考えられる。CPT-11 のような低分子量の抗がん剤の経口製剤化において、高分子や微粒子をキャリアとして利用することは有用であり、キャリアとなるナノ粒子の表面設計が重要なファクターになると考えられている<sup>14,15)</sup>。

本研究では腸溶性高分子を壁膜としたマイクロカプセルを調製した結果、外部の pH に依存してカプセルが溶解し、腸管の pH 条件で CPT-11 を放出することがわかった。また、本製剤をラットに経口投与して体内動態を検討した結果、有意差は得られなかったが CPT-11 水溶液の経口投与群に比べて SN-38 濃度の増加傾向が確認され、徐放化により CPT-11 から SN-38 への変換が保持されることが示唆された。本研究はラットを用いたものであり、代謝酵素であるカルボキシルエステラーゼがヒトとは異なることから SN-38, SN-38G への変換については単純に比較できないが、CPT-11 水溶液の経口および静脈内投与後の血漿中 CPT-11 濃度の推移から、CPT-11 含有製剤を評価する上で有用であると考えられる。CPT-11 は薬物代謝酵素チトクローム P450 3A4(CYP3A4)により、不活性代謝物である APC (7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin)に変換されることが知られており、今後は CYP3A4 の影響も考慮した上で SN-38 濃度を維持したキャリアの製剤設計を行う必要がある。

#### 引用文献

- 1) Haisang Y-H., Herzberg R. et al., *J. Biol. Chem.*, 260, 14873-14878(1985).
- 2) Kawato Y. et al., *Cancer Res.*, 51(16), 4187-4191(1991).
- 3) Wani M.C., Ronman P. E. et al., *J. Med. Chem.*, 23,

- 554-560(1980).
- 4) Rivory L.P., Chatelut E. et al., *Cancer Res.*, 54, 6330-6333(1994).
- 5) 田口鐵男, 塩酸イリノテカン(CPT-11). 癌治療・今日と明日, 16, 37-40(1994)
- 6) Iyer L., Kung C.D. et al., *J. Clin. Invest.*, 101, 847-854(1998).
- 7) Kobayashi K., Bouscarel B. et al., *Int. J. Cancer*, 83, 491-496(1999).
- 8) Yoneyama T., Saito M, Nakashima T, *Proceeding of The 36<sup>th</sup> SPG Forum*, 54-57(2001).
- 9) Ito T., *YAKUGAKU ZASSHI*, 126(9) 723-735 (2006)
- 10) Donald L. Drengler, John G. Kuhn. et al., *J. Clin. Oncol.*, 17(2), 685-696(1999).
- 11) Takasuna k., Hagiwara T., Hirohashi M., Kato M. et al., *Cancer Res.*, 56, 3752-3757(1996)
- 12) Iyer L., King C.D., Whiting P.F., et al., *J. Clin. Invest.*, 101, 847-854(1998)
- 13) Machida Y., Onishi H., Kurita A., Hata H., Morikawa A., Machida Y., *J. Cont. Rel.*, 66, 159-175(2000)
- 14) Ishihara T., Goto M., Kanazawa H., et al., *J. Pharm. Sci.*, 98, 2357-2363(2009)
- 15) Ishihara T., Kubota T., Choi T., et al., *Int. J. Pharm.*, 375, 148-154(2009)