

令和元年6月14日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07904

研究課題名(和文) 吸入時崩壊・膨潤型革新的吸入粉末剤の開発

研究課題名(英文) Development of novel dry powder inhalers with high performance which disintegrate and well in the lungs

研究代表者

岡本 浩一 (Okamoto, Hirokazu)

名城大学・薬学部・教授

研究者番号：00308941

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：吸入療法は、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患に代表される肺局所疾患治療に有用であるが、製剤の肺沈着率に問題がある。流動性・分散性・耐吸湿性に優れ、吸入時崩壊して肺深部に到達し、かつ短時間で膨潤することで肺深部に高効率で沈着する多孔性吸入粉末剤の製剤設計を行った。耐吸湿性、崩壊性、吸湿性を付与する添加剤を適切に混合し、噴霧急速凍結乾燥法で微粒化することで目的の製剤を調製できる可能性が示された。本研究は、吸入効率の高い吸入粉末剤開発の新たな方向性を示すものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

耐吸湿性に優れ吸入時に崩壊・膨潤する吸入粉末剤の概念はこれまでになく、学術的に吸入粉末剤の新たな方向性を示すものである。吸入療法は患者の吸入手技による吸入効率のばらつきが大きい。吸入効率が高い吸入粉末剤は吸入療法の個人差を抑えることができ、社会的に貢献できる。吸入療法は今後遺伝子や抗体医薬など高額な医薬品に拡大され可能性が高い。最深部送達率が高い吸入粉末剤を実用化することで、医療経済的にも貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Inhalation therapy is widely applied to treat pulmonary disorders such as asthma and COPD. However, low availability of an inhaled formulation at deep lungs is a problem to be solved. I designed several prototype porous formulations with high flowability, dispersibility, and antihygroscopicity, which are broken into tiny segments by inhalation, delivered deep into the lungs, and swell up for a short term to remain on the surface of lung epithelium at a high extent. It was suggested that spray-freeze-drying aqueous solutions composed of excipients contributing to antihygroscopicity, disintegrability, and hygroscopicity at proper compositions gave aimed powders. The present study is unique and shows a new strategy to develop dry powder inhalers with high performance.

研究分野：製剤学、薬剤学、薬物送達学、製剤設計学、吸入剤開発

キーワード：吸入粉末剤 多孔性微粒子 粒度分布 空気力学的質量中位径 耐吸湿性 崩壊性 当てはめ計算

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

呼吸器内へ直接かつ非侵襲的に薬物送達可能な吸入剤は、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患に代表される肺局所疾患治療に必要不可欠な製剤として広く認知されている。中でも吸入粉末剤は簡便性及び携帯性に優れる点から、近年研究開発が盛んに行われている。一般的に、吸入用微粒子の空気力学的粒子径は $1\sim 5\mu\text{m}$ であることが望ましいとされているが、幾何学的粒子径がこのような値を示す粒子は付着凝集性が高く、分散性が乏しい。そのため、市販化されている吸入粉末剤の多くは主薬微粒子を粗大粒子(キャリア)に物理的に吸着させることにより、付着凝集性および分散性の改善を行っているが、十分な肺送達性が達成されていないという報告がある。これらの課題を解決する方法として、適度な分散性を示す幾何学的粒子径および吸入に適した空気力学的粒子径の両方を有する低密度微粒子が注目されている。また、吸入粉末剤の吸入特性評価についてはアンダーセンカスケードインパクトなどの空気力学的分級装置に真空ポンプを接続して製剤を一定流量で吸引後、各ステージに沈着した製剤量を解析する方法が一般的である。しかし、この方法は製剤の品質管理に有用である一方で、ポンプの吸引パターンとヒトの吸入パターンとは異なるため、ヒトの肺送達性の評価ができるとは言い難い。

本研究開始前に報告者は吸入流量計を用いて健康人の吸入パターンの測定・解析を行い、その結果を基に、簡便な機構からなるヒト吸入パターン再現装置を独自に構築し、各種吸入剤の吸入特性評価を行ってきた[1]。その中で、噴霧急速凍結乾燥(SFD)法で調製した多孔性微粒子が、吸入気流中で崩壊する興味深い現象を発見した。吸入された空気は気道を通る際に加温・加湿され、気管分岐部分で温度が約 37°C 、相対湿度が約 100% になることが知られている。吸入粉末剤は耐吸湿性に優れていることが望ましいが、肺内は高湿度環境下であり、崩壊後の微粒子が吸湿・膨潤すれば、肺内に沈着することが期待できる。

このような状況下から、報告者は、吸入粉末剤の賦形剤として複数の糖及びアミノ酸を用い、SFD条件を制御することで、保存中は耐吸湿性に優れ、吸入気流中で崩壊・分散して肺深部に到達し、かつ呼吸器内での加温・加湿により膨張して肺深部に沈着するという、これまでに検討されたことのない独創的な吸入粉末剤開発の着想に至った。

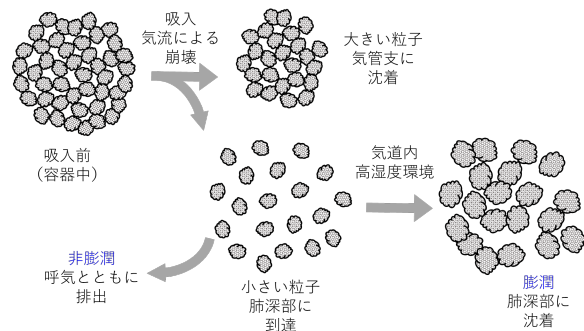


図1 吸入時崩壊・膨潤型吸入粉末剤の概念図

2. 研究の目的

- (1) **吸入時崩壊して生じる粒度分布の異なる2種の粉体の空気力学的質量中位径(MMAD)の算出**：粉体の粒度分布は経験的に対数正規分布に従い、アンダーセンカスケードインパクト(ACI)解析で得られるステージごとの回収率の積算値をカットオフ径の対数値に対してプロットすると直線が得られ、 50% 粒子径をMMAD、 $(84.3\% \text{粒子径}) / (50\% \text{粒子径})$ を幾何標準偏差(GSD)とする。しかし、吸入時崩壊する吸入粉末剤では対数正規プロットが曲線になる。そこで、崩壊性吸入粉末剤の吸入特性評価のために、崩壊率と崩壊後に生じる粒子径の異なる2種の粉体のMMADを算出するためのMMAD算出エクセル計算シートの開発を行った。
- (2) **耐吸湿性に優れ吸入時に崩壊・膨潤する吸入粉末剤の粒子設計**：(1)で用いた製剤は吸入時崩壊すると考えられたが、生じた小さな粉体は呼吸とともに排出される可能性があるサイズであった。一方、呼吸器内の相対湿度は 100% 近いことが知られている。そこで、吸入粉末剤の賦形剤として複数の糖及びアミノ酸を用い、SFD法により、保存中は耐吸湿性に優れ、吸入気流中で崩壊・分散して肺深部に到達し、かつ呼吸器内での加温・加湿により膨張して肺深部に沈着するという、これまでに検討されたことのない独創的な吸入粉末剤の開発を行った。
- (3) **短時間での製剤の膨潤性評価**：(2)で調製した粉末微粒子が肺内で短時間で吸湿膨潤することを検証するため、短時間高湿度曝露実験を行った。

3. 研究の方法

- (1) **吸入時崩壊して生じる粒度分布の異なる2種の粉体のMMADの算出**：SFD法で調製したロイシン(Leu)とマンニトール(Man)を賦形剤とする遺伝子含有吸入粉末剤[2]のACI解析データを用いた。この粉末剤での対数正規プロットは曲線となった。これは吸引した粉体の一部が崩壊し、粒子径が大きい粉体(MMAD_c及び幾何標準偏差(GSD_c)をMMAD_c及びGSD_cとする)と小さい粉体(MMAD_f及びGSD_f)が比率(1-R):Rで生じたと考えた。そこでACI解析で得られた8つの測定点(回収率の積算値)から、Excelの関数を用いて各ステージごとの下記A~Dの値を求め、Eが最小になるようなR、MMAD_c、GSD_c、MMAD_f、GSD_fをExcelのソルバー機能により求めた。

A = 回収率の積算値(%)をNORM.S.INV関数により変換した確率変数

B = NORM.DIST関数により算出したMMAD_c及びGSD_cの粉体の回収率の積算値

C = NORM.DIST関数により算出したMMAD_f及びGSD_fの粉体の回収率の積算値

$D=B \times R+C \times (1 - R)$ の値を NORM.S.INV 関数により変換した確率変数

$E=$ ステージごとに求めた $(D - A)^2$ の合計値

(2) 耐吸湿性に優れ吸入時に崩壊・膨潤する吸入粉末剤の粒子設計：賦形剤として Leu を 84~99%、Man を 0~10%、

トレハロース (Tre) を 0~5%、蛍光色素としてフルオレセインナトリウム (FINa) を 1% 含有する粉末製剤を SFD 法で調製した。製剤処方と製剤名を表 1 に示す。製剤の幾何学的粒子径・粒度分布は、レーザー回折・散乱式粒度分布測定器 (LMS: LMS-2000e、SEISHIN ENTERPRISE Co., Ltd.) を用いて測定した。ACI を用いて吸入特性評価を行った。デバイス (Jethaler® リバース) からの放出率 (OE) を分散性の指標、デバイスから放出された薬物のうち Stage5 (カットオフ径 2.1 μm) 以降に到達した割合 (FPF5) を肺深部送達率の指標とした。37、相対湿度 50~95% での各 SFD 製剤の吸湿性を、動的水分吸着測定装置 (DVS) にて評価した。

(3) 短時間での製剤の膨潤性評価：(2) の DVS での吸湿挙動を評価は比較的長時間を要する。そこで、高湿度下での吸湿性が高い製剤 M5T1 を用い、短時間加湿時の膨潤性を評価した。短時間高湿度曝露法：SEM 台に貼付した製剤を 37 の水浴上の高湿度環境に短時間曝露し、曝露前後の粒子形状を SEM 観察し比較した。プレート加湿法：37 の恒温槽内で製剤 M5T1 を ACI に吸引後、各プレート上の粒子を採取し、ACI を再度組み立て、水蒸気を飽和させた高湿度の空気を 14 L 吸引後、各プレート上の粒子を採取し、加湿前後の粒子形状を SEM 観察した。ボックス内加湿法：37 の恒温槽内で、吸入器と ACI の間に設置した容積 17 L の容器 (乾燥又は高湿度環境) を通過した製剤 M5T1 の ACI 解析を行った。

表 1 吸入粉末剤の製剤処方 (%) と製剤名 (FINa を 1%、Leu を適量添加して全量を 100% とする)

	Tre				
Man		0	1	3	5
10		M10T0	M10T1	M10T3	M10T5
5		M5T0	M5T1	M5T3	M5T5
0		M0T0	M0T1	M0T3	M0T5

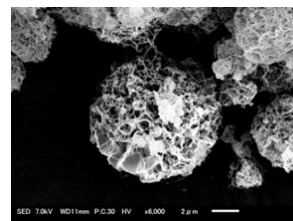


図 2 SFD 製剤の SEM 写真

4. 研究成果

(1) 吸入時崩壊して生じる粒度分布の異なる 2 種の粉体の MMAD の算出：調製した製剤の走査型電子顕微鏡 (SEM) 画像

を図 2 に示した。幾何学的粒子径が約 10 μm の中空多孔な球形粒子が得られた。シリンジで圧縮された空気を放出することによって容易に分散した。

吸入抵抗の異なる 3 種のデバイス (吸入抵抗：シングル < デュアル < リバース) の ACI 吸入後の沈着率を図 3 に示した。デバイスの吸入抵抗の高さに応じてより下部ステージに達し、高い肺深部到達率を示すことが示唆された。

このデータから作成した対数正規プロットは曲線となり、回帰直線による解析の信頼性が低いと考えられた。Excel のソルバー機能による当てはめ計算を行ったところ、理論曲線と実験データのフィッティングは良好であり、生じた大きい粉体と小さい粉体の粒度分布曲線を再現することができた (図 4)。全てのデバイスでの R 、 MMAD_c 、 GSD_c 、 MMAD_f 、 GSD_f の計算値を表 2 に示す。崩壊率はデバイスの吸入抵抗に依存して高くなり、リバースでは約 70% に達した。崩壊後生じる粉体の MMAD はデバイスの吸入抵抗に依存して

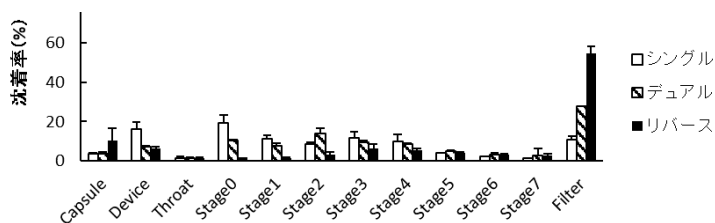


図 3 ACI による吸入特性評価

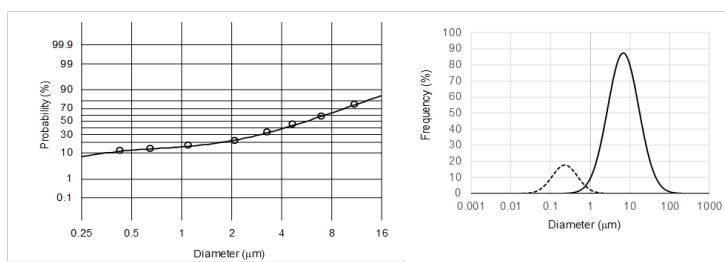


図 4 当てはめ計算による粒度分布解析：吸入時崩壊により粒度分布の異なる 2 種の粉体が生じたと仮定

表 2 粉末製剤の崩壊性評価 (n = 3, mean \pm S.D.)

吸入デバイス	シングル	デュアル	リバース
崩壊率 R (%)	14.6 \pm 0.5	36.3 \pm 11.6	69.5 \pm 4.4
MMAD_c (μm)	6.39 \pm 0.96	5.21 \pm 1.14	2.75 \pm 0.50
GSD_c	2.58 \pm 0.26	2.16 \pm 0.30	2.26 \pm 0.30
MMAD_f (μm)	0.26 \pm 0.09	0.20 \pm 0.06	0.18 \pm 0.05
GSD_f	1.59 \pm 0.48	2.20 \pm 0.80	1.67 \pm 0.17

小さくなった。したがって、崩壊後得られる大きい粉体は崩壊前の粉体と同じ粒度分布をもつものではなく、デバイスの性能に依存して一部崩壊して粒度が小さくなっていることが考えられる。また、小さい粉体の $MMAD_f$ は $0.5 \mu\text{m}$ 以下であり、一般に呼気とともに排出されるサイズであった。以上より、今回調製した粉末剤は吸入抵抗の高いデバイスを用いることで粒子径の小さな粉体を効率よく生じること、また本解析法が吸入時崩壊型吸入粉末剤の吸入特性評価に適用できることが示された。

(2) **耐吸湿性に優れ吸入時に崩壊・膨潤する吸入粉末剤の粒子設計**：SEM 観察により、調製した製剤はいずれも中空多孔な球形粒子であった。レーザー回折法により、いずれの製剤でも単一の粒度分布が観測された。 D_{50} は全ての製剤で $10 \mu\text{m}$ 前後の類似した値が算出された(表 3)。ACI での吸入特性評価では、製剤 M10T3 を除いて、Filter への製剤沈着が一番多く 20% を超えた。いずれの製剤でも Stage 3 の沈着率が高くなった(図 5)。Stage3 には中空多孔粒子、Stage7 には崩壊した断片が SEM 観察された。Man 無添加と比べて添加時は、崩壊率 R は 45% 程度から 50~60% に増加し、 $MMAD_c$ は $4.3 \mu\text{m}$ 程度から $3.5 \sim 4.0 \mu\text{m}$ に、 $MMAD_f$ は $0.35 \mu\text{m}$ 程度から $0.2 \mu\text{m}$ 台に減少した。また、Man 添加により FPF5 が増加することから、Man が粒子の崩壊に有用であることが示された。DVS を用いた検討では、Leu の割合が多いほど高湿度下でも優れた耐吸湿性を示した。Man のみの添加では吸湿性の変化は小さかったが、Man と Tre の添加により高湿度下での吸湿性は相乗的に高くなった(図 6)。以上より、Leu、Man 及び Tre の比率を調節することにより、保存時は耐吸湿性に優れ、肺内の高湿度環境下では吸湿する製剤が調製可能であることが示唆された。

表 3 SFD 製剤の幾何学的粒子径 (n = 3, mean ± S.D.)

製剤名	$D_{50} \pm S.D. (\mu\text{m})$
M0T0	11.3 ± 0.1
M5T0	13.3 ± 0.0
M10T0	8.94 ± 0.31
M0T1	13.2 ± 0.2
M5T1	12.0 ± 0.3
M10T1	12.7 ± 0.1
M0T3	11.4 ± 0.0
M5T3	12.5 ± 0.1
M10T3	10.7 ± 0.0
M0T5	14.8 ± 0.0
M5T5	11.4 ± 0.1
M10T5	9.93 ± 0.02

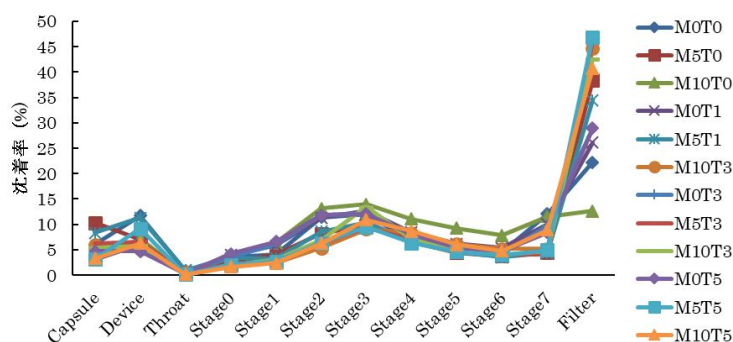


図 5 表 1 の製剤の ACI による吸入特性評価

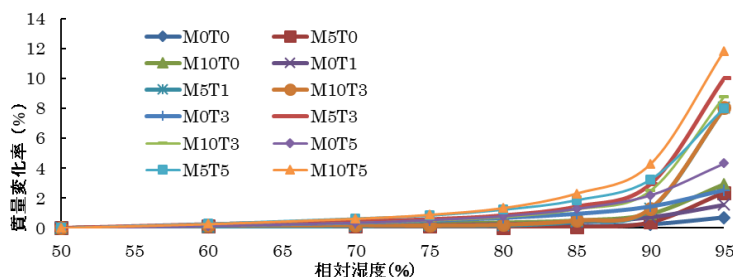


図 6 表 1 の製剤の DVS による吸湿性評価

図 7 では、吸入特性 (FPF5)、崩壊率 R、崩壊後の $MMAD_c$ 及び $MMAD_f$ 、吸湿性 (相対湿度 75% 及び 95%) に及ぼす製剤処方の影響を視覚化した。Man の含有率が高いほど FPF が高くなる、すなわち吸入特性が高くなる傾向が見られた。これは、Man の含有率が高いほど崩壊率は大きく、 $MMAD_c$ 、 $MMAD_f$ は小さくなる傾向と一致した。製剤の吸湿性は、Tre の含有率が高いほど高くなることが示唆された。Tre に Man が加わると相乗的に吸湿性が上がることも示唆された。一方、Leu の割合が多いほど耐吸湿性があることが示唆された。これらより、Leu は耐吸湿性 [3]、Tre は吸湿性を製剤に付与していることが考えられる。以上のことから、Leu、Man、Tre の比率を調節することによって、保存状態では耐吸湿性を示し、肺内環境下では吸湿性・膨潤性を示す製剤が調製可能であることが示唆された。この結果は「保存環境下では耐吸湿性を示し、肺内環境下で短時間で膨潤する製剤」を設計する上で重要な情報であると考えられる。製剤 M5T1 と同じ組成の物理混合 mM5T1 及び FINa を含有しない SFD 製剤 F0M5T1 とその物理混合物 mF0M5T1 の 4 つの試料の吸湿性を比較したところ、製剤 M5T1 が一番吸湿し製剤 F0M5T1、mM5T1、mF0M5T1 の順に吸湿性が低くなった。このことは、吸湿には中空多孔な製剤化が寄与するとともに、わずかに 1% の含有率である FINa の寄与が大きいことを示唆する。これは、製剤設計をする上で有益な知見であり、今後「肺内環境下で短時間で膨潤する製剤」を設計する上で、主薬の吸湿性も考慮する必要があると考えられる。

(3) **短時間での製剤の膨潤性評価**：短時間高湿度曝露法：高湿度環境に 10 sec 曝露することで膨潤した粒子が観察された(図 8)。ACI プレート上の粒子は、高湿度空気を短時間通

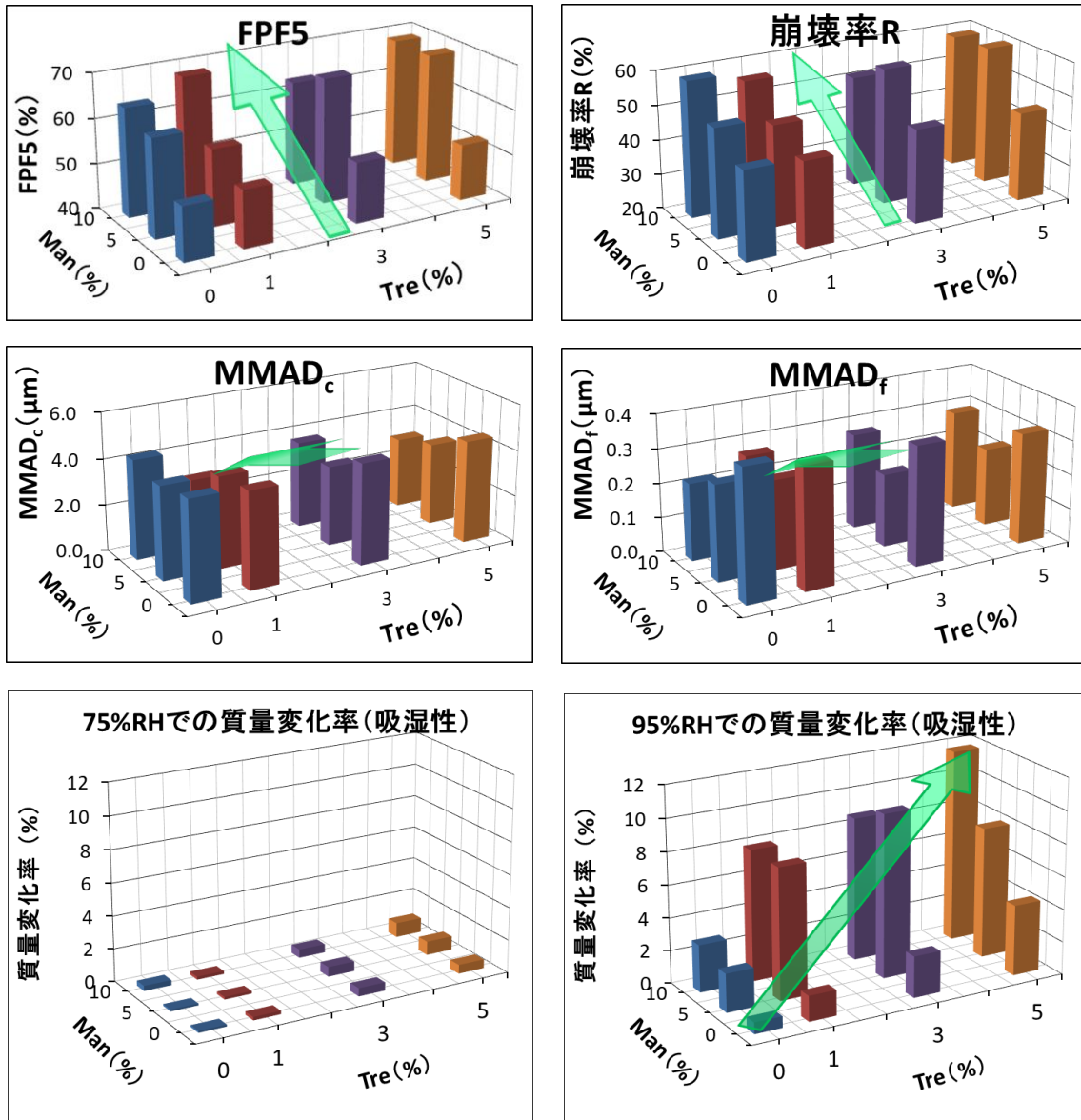


図7 製剤処方が FPF5、崩壊率 R、崩壊後の MMAD_c 及び MMAD_f、吸湿性(相対湿度 75%及び 95%) に及ぼす影響

過させることにより中空多孔性が失われ、膨潤した(図9) 乾燥容器通過時と比べて高湿度容器通過時は、沈着ピークは上部ステージ側にシフト(Stage4、5 Stage3)し(図10) FPF5 は半減(51% 23%)したことから、粒子が高湿度容器内の空気に短時間曝露されることで吸湿・膨潤することが示唆された。ヒトが吸入した場合、高湿度の肺深部で幾何学的粒子径が増大し、排出されにくくなると考えられる。以上、今回調製した粉末製剤が短時間高湿度に曝露されることで膨潤することが示唆された。

(4) 総括: 「耐吸湿性に優れ吸入時に崩壊・膨潤する吸入粉末剤」の概念実証を目的とし、本研究を行った。その結果、3種の添加剤(Leu: 耐吸湿性の付与、Man: 崩壊性の付与、Tre :

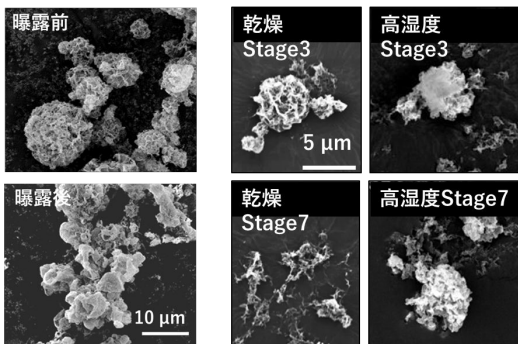


図8 短時間高湿度曝露法

図9 プレート加湿法: 高湿度では膨潤

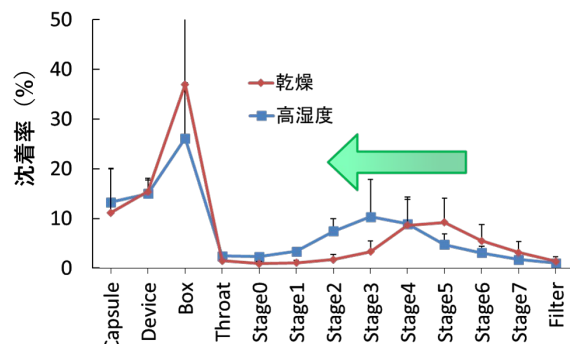


図10 ボックス内加湿法: 乾燥空気通過時と比べて高湿度空気通過でグラフは左にシフト

吸湿・膨潤性の付与)を適切な比率で配合し、SFD 製剤化することにより、保存時の耐吸湿性に優れ、吸入時に崩壊して肺深部に効率よく到達し、高湿度の肺深部において短時間で吸湿・膨潤・沈着する吸入粉末剤を調製できる可能性が示された。本研究は、吸入効率の高い吸入粉末剤開発の新たな方向性を示すものである。吸入療法は患者の吸入手技による吸入効率のばらつきが大きい。吸入効率が高い吸入粉末剤は吸入療法の個人差を抑えることができ、社会的に貢献できる。吸入療法は今後遺伝子や抗体医薬など高額な医薬品に拡大され可能性が高い。最深部送達率が高い吸入粉末剤を実用化することで、医療経済的にも貢献できる。今後、崩壊率及び崩壊後の粒子径・吸湿性をより厳密に制御するための処方改を進め、投与する薬剤の作用部位に応じ、気道内の適切な部位に製剤を送達・沈着できる吸入粉末剤開発を進める予定である。

<引用文献>

1. Daiki Hira et al., Pharm. Res., 27, 2131-2140 (2010)
2. Kei Miwata et al., Mol. Ther. Nucleic Acids, 12, 608-706 (2018)
3. Hiroko Otake et al., Chem. Pharm. Bull., 64, 239-245 (2016).

5. 主な発表論文等

[学会発表](計 3件)

山盛彬子, 奥田知将, 岡本浩一: 乳糖キャリアーを使用した吸入粉末剤におけるステアリン酸マグネシウムによる主薬の送達性改善. 日本薬剤学会第 34 年会(富山) 2019 年 5 月 17 日.

山盛彬子, 柴田あゆみ, 奥田知将, 服部 登, 岡本浩一: 吸入時崩壊型吸入粉末剤の崩壊率及び空気力学的質量中位径の算出. 日本薬学会第 139 年会(千葉) 2019 年 3 月 23 日.
柴田あゆみ, 石田早佑理, 藤原大輝, 奥田知将, 岡本浩一: 耐吸湿性に優れ吸入時に崩壊・膨潤する吸入粉末剤の粒子設計. 第 35 回製剤と粒子設計シンポジウム(大津) 2018 年 10 月 25 日.

[産業財産権]

出願状況(計 1件)

名称: 吸入粉末剤及びその評価方法

発明者: 岡本浩一、奥田知将

権利者: 学校法人名城大学

種類: 特許

番号: 特願 2018-187498

出願年: 平成 30 年

国内外の別: 国内

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。