

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：37401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590164

研究課題名 シクロデキストリンの超分子機能を用いた患者に優しいスーパージェネリック製剤の構築

研究課題名 Potential use of supramolecular cyclodextrins for the design of patient-friendly super-generic drug formulations

研究代表者

上釜 兼人 (UEKAMA KANETO)

崇城大学・薬学部・教授

研究者番号：90040328

研究成果の概要（和文）：

新規超分子素材であるHB- β -CyDと機能性素材のSangelose®を併用して次世代型口腔内崩壊錠への応用を企図して、HP- β -CyDや β -CyDと比較検討した。モデル薬物には第三世代のスルフォニル尿素系薬物であるグリメピリドを用いて、包接複合体形成による溶解性の改善、崩壊分散体の粘性低下による誤嚥の回避、薬物の徐放出による投与回数の低減など、利便性と安全性を高めた患者に優しいスーパージェネリック製剤の基本処方を構築した。

研究成果の概要（英文）：

2-Hydroxybutyl- β -CyD (HB- β -CyD) is a new hydroxyalkylated β -CyD derivative that has one more methylene group in the substituent of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CyD). Some physicochemical and biological properties of HB- β -CyD, such as surface activity, moisture sorption, hemolytic activity and solubilizing ability for poorly water-soluble drugs were studied in comparison with those of HP- β -CyD. Then, a combined use of various CyDs and stearyloxy ether of hydroxypropylmethylcellulose (Sangelose®) was investigated to improve usability of orally disintegrating tablets (ODTs). Glimepiride, a potent third generation hypoglycemic agent for type 2 diabetes was used as a model drug, because it is poorly water-soluble with long linear structure and biological half life is short. Solubility and NMR studies demonstrated that glimepiride formed water-soluble complexes with CyDs, where the magnitude of the stability constant increased in the order of HB- β -CyD > HP- β -CyD > β -CyD > γ -CyD > α -CyD. The solid complexes were prepared by kneading method and subjected to ODTs studies. The direct compression method was employed for preparation of ODTs, adjusting to appropriate disintegration time (around 40 sec) and hardness of the tablet (around 80 N). The *in vitro* characterization of ODTs provided that CyD reduced the viscosity of the bolus fluids after disintegration of the tablets, suggesting an ease of swallowing. Moreover, drug release study suggested that HP- β -CyD and HB- β -CyD were capable to controlling the release rate, for the design of sustained release type ODTs. These CyD-based new functions providing the changes in rheological properties and drug release rate can be useful for the development of patient friendly oral formulation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：親水性シクロデキストリン，包接複合体，グリメピリド，次世代型口腔内崩壊錠，嚥下性向上，放出制御，スーパージェネリック製剤

1. 研究開始当初の背景

近年、シクロデキストリン (cyclodextrin: CyD) の高機能化と医薬への有効利用に関する研究の進展はめざましく、薬物送達システム (DDS) の設計や通常製剤の処方改良に不可欠な存在となっている。とりわけ、難水溶性薬物のナノ粒子化、超分子複合体の解離平衡を利用した蛋白質性薬物の放出制御、CyD と機能性素材との併用による標的指向性複合担体の構築などは、新薬開発に匹敵する効果が期待される。本研究で対象とした代表的なヒドロキシアルキル化体である 2-hydroxypropyl- β -CyD (HP- β -CyD) や 2-hydroxybutyl- β -CyD (HB- β -CyD) は、難水溶性薬物の結晶形態や粒子径の制御用担体として有用性が認識されている。医薬品製剤への使用実績がある β -CyD や HP- β -CyD を用いて既存の医薬品の処方改良、投与形態・服薬コンプライアンス (矯味・矯臭、嚥下困難) や使用性の改善、高齢者・小児・障害者に優しい医薬品へ再開発などを推進することは、ライフサイクルマネジメントや医療経済の面からも意義深い。その際、CyD 添加によりバイオアベイラビリティの増大や新機能の発現など先発医薬品を上回る付加価値が得

られる場合は、生物学的同等性の確保に固執することなく、高付加価値製剤として発想を転換することが重要である。このような背景のもと、本研究では生体適合性と機能性に優れた各種 CyDs を用いて、患者に優しいスーパージェネリック製剤の構築を企図した。

2. 研究の目的

(1)新規製剤素材としての HB- β -CyD の超分子機能の評価

HP- β -CyD は、 β -CyD の 21 個の水酸基に 2-ヒドロキシプロピル基がランダムに置換した位置異性体が混在する非晶質性のホスト分子である。平均置換度が 5 程度の HP- β -CyD は、広い温度範囲で高い水溶性を示し、生体適合性に優れることから、難水溶性薬物の製剤特性の改善に現在最も多く使用されている。一方、最近開発された HB- β -CyD は、ヒドロキシプロピル基にメチレン基 1 個を追加し、疎水空間が広がった誘導体であるが、医薬への応用に関する検討はほとんど行われていない。そこで本研究では、HB- β -CyD の物性や包接挙動に関する基礎的検討に基づいて機能性薬物担体としての有用性を明らかにすると共に、経口投与製剤や粘膜適用製

剤への用途拡大（薄膜形成性，分散性，粘弾性などの調節）の可能性について考察した。

(2)各種 CyD を用いた次世代型口腔内崩壊錠の製剤設計

本研究でモデル薬物に用いた第三世代のスルフォニル尿素系薬物であるグリメピリドは，重症低血糖の発生が少なく，ヘモグロビンエーワンシー（HbA1c）値の改善効果も良好なことから，2型糖尿病治療薬として現在最も汎用されている。2型糖尿病患者は高齢化に伴い増加することから，服用に便利で経済的な口腔内崩壊錠（ODTs）のジェネリック製剤が最近開発されている。本研究では，誤嚥の回避や投与回数の低減など，利便性を高めた次世代型ODTsの開発を企図して，親水性CyDと機能性製剤素材のSangelose®を併用して，患者に優しい製剤処方を構築した。具体的には，極めて難水溶性で，投与薬量が少なく（通常，1-2 mg），生物学的半減期が短い（約5時間）グリメピリドをモデル薬物に用いて，ODTsを直打法により調製し，口腔内で速やかに崩壊後，嚥下しやすく，分散粒子から主薬が徐々に放出するODTsを設計した。すなわち，親水性のβ-CyDsとグリメピリドの包接複合体形成を利用して，崩壊性，分散性，溶解性などに優れるODTs用基本処方を設計した。次に，ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）のヒドロキシプロピル基の一部にステアシル基（C18）を導入した疎水性のSangelose®を結合剤として使用した。Sangelose®のレオグラムは典型的な準粘性流動（quasi-viscous flow）を示すことから，本研究では，CyDの空洞サイズ，添加濃度，温度に応じてSangelose®の粘性が変化する現象を口腔内で崩壊したODTs分散物（bolus）の嚥下性向上に応用した。さらに，HP-β-CyDを含有するODTsは水に濡れると錠

剤の表面にゲル状の薄膜を形成するため，この現象を薬物の放出制御に利用した。

3. 研究の方法

(1) 新規製剤素材としての HB-β-CyD の有用性評価に関する主な検討方法

①溶解度相図：一定過剰量（5 mg）のグリメピリドをバイアル（1.5 mL）に入れ，種々の濃度の試料溶液 1 mL を加えて密栓し，25°C，125 rpm で 5 日間振盪した。1,000 x g で 5 分間遠心後，上清 0.5 mL を綿栓付きピペットで分取し，分光光度計を用いて吸光度を測定した。薬物濃度は UV 波長 232 nm の吸光度を測定し，検量線から算出した。

②粉末 X 線回折：試料をガラスセルに固定し，粉末 X 線回折装置を使用して測定した。測定条件は以下の通りである。X 線源：Cu-Kα 線（1.542 Å），管電圧：40 kV，管電流：40 mA，走査速度：1°/min，回折角：3 - 30°，スリット：1° - 1° - 0.15 mm。

③¹H-NMR スペクトル：グリメピリド（5 mM）および HB-β-CyD（D.S. 5.5）（2.5-15 mM）を 0.1 M ホウ酸ナトリウム/重水溶液に溶かし，核磁気共鳴装置（500 MHz）を使用して測定した。¹H 化学シフトは H₂O（δ: 4.70 ppm）のピークを用いて，テトラメチルシランからの低磁場シフトを ppm で表した（¹H の精度：約 ± 0.005 ppm）。

(2) CyDを用いた次世代型口腔内崩壊錠の製剤設計に関する主な検討方法

①ODTsの調製：グリメピリド，CyD，Sangelose®，賦形剤（乳糖，マンニトール，結晶セルロース），崩壊剤（クロスポビドン）を適宜組み合わせた粉末を乳鉢で混合後，IR 用打錠機を用いて直打法により，直径 7 mm，厚さ 3 mm，重量 150 mgの錠剤を調製した。

②ODTsの製剤特性等の検討：硬度，磨損度，崩壊時間（ODTs専用崩壊試験器），粘度測定（円錐/平板式回転粘度計），走査型電子顕微鏡観察により評価した。

4. 研究成果

(1) 新規製剤素材としてのHB-β-CyD の有用性評価に関する主な検討結果

置換度の異なる HB-β-CyD を調製し、表面張力、吸湿特性、溶血活性、および難水溶性薬物に対する可溶化能を HP-β-CyD や両親媒性の 2,6-d-O-methyl-β-CyD (DM-β-CyD) の場合と比較検討した。以下に主な知見を要約する。

β-CyD と酸化ブチレンをアルカリ条件下で反応させ、セロハン膜で透析後、凍結乾燥してHB-β-CyDを調製した。生成物の分子量分布とヒドロキシブチル基の平均置換度 (D.S.) は MALDI-TOF Mass スペクトルにより推定した。なお、β-CyD と酸化ブチレンの混合比および反応時間を調節することによりD.S.を調整した。

②HB-β-CyD の表面張力は濃度の上昇および置換度の増加に伴い低下し、特に置換度6以上のHB-β-CyDはDM-β-CyDよりも大きな界面活性を示した。また、HB-β-CyD の吸湿性は疎水性が大きいヒドロキシブチル基の存在を反映して HP-β-CyD のそれよりも小さかった。

③HB-β-CyD は細長い構造をもつ難水溶性薬物に対して優れた可溶化効果を示し、置換度の増加に伴い可溶化能が増大した。一方、嵩高いステロイド骨格をもつ薬物に対しては立体障害を示した。

(2) CyDを用いた次世代型口腔内崩壊錠の製剤設計に関する主な検討結果

①グリメピリドとCyDの包接複合体形成溶解度相図は、天然CyD系でA_L型、高濃度のβ-CyD誘導体添加系でA_P型を示し、水溶性の複合体形成が示唆された。各相図の初期直線部分から算出したモル比1:1複合体のみかけの安定度定数はHB-β-CyD > HP-β-CyD > β-CyD > γ-CyD > α-CyDの順となり (表 1) , 疎水空間が広がったHB-β-CyDは最も安定な複合体を形成した。¹H NMRによる化学シフト変化の検討から、グリメピリドのシクロヘキサン環部位が包接に大きく関与すること

が示唆された (図 1) 。粉末X線回折による検討から、両ヒドロキシアルキル化β-CyDs はグリメピリドと非晶質性の固体複合体を形成し、速溶解性で、バイオアベリラビリティの向上が予期された。

表 1. グリメピリド/CyD複合体のみかけのモル比1:1の安定度定数, (溶媒:水, 温度: 25°C)

複合体	$K_c (M^{-1})$
α-CyD complex	280 ± 22
β-CyD complex	2,770 ± 160
γ-CyD complex	1,150 ± 130
HP-β-CyD complex	4,980 ± 510
HB-β-CyD complex	11,150 ± 270

数値: 平均値(n=3) ± 標準誤差

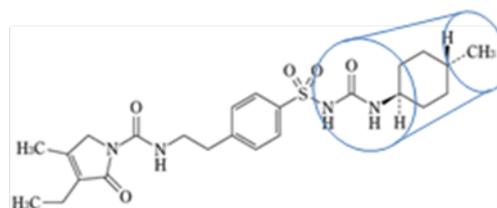


図 1. ¹H NMR 化学シフト変化から推定した1:1グリメピリド/ HB-β-CyD 複合体の包接模式図

②グリメピリド ODTs 処方の製剤特性

ODTsの基本特性である速やかな崩壊時間 (約 40 sec) と包装や一包化調剤などの機械的ストレスに耐えうる硬度 (約 80 N) を確保するため、スーパー崩壊剤 (クロスポビドン), 結合剤 (結晶セルロースまたは Sangelose®), 賦形剤 (マンニトール, 乳糖), 各種CyDの混合比を変えながら直接打錠法でODTsを調製した。各種物性値を精査した結果、α-CyDとβ-CyD系では目標とする硬度と短い崩壊時間を有するODTs処方を得られた。一方、γ-CyD, HP-β-CyD, HB-β-CyD系では硬度が若干大きくなり、崩壊時間も延長した。通常、口腔内で崩壊したODTsは唾液に

分散していわゆる食塊(bolus)となり、咽頭、食道を経て胃に送り込まれる。その際、各過程におけるbolusの量、粘度、温度、味などが嚥下神経に影響を及ぼすことが知られている。高齢化に伴い、唾液の分泌量は減少し、粘度も高くなるため、嚥下機能は低下する。そこで、今回調製したODTsの崩壊後の懸濁液を濾過し粘度を測定すると、CyDを添加したSangulose®を含有する処方では粘度の顕著な低下が観察され、嚥下性向上が示唆された。

③Sangulose®/CyD系の粘性変化機構の検討

上記ODTs懸濁液の粘性低下機構を解明するため、円錐・平板式回転粘度計を用いてSangulose®/CyD系の各種レオロジー特性を検討した。Sangulose®水溶液のレオグラムは、その鎖状高分子構造に由来して典型的な準粘性流動(quasi-viscous flow)を示し、剪断速度の増加に伴い粘度やチキソトロピー性が低下した。そこで、Sangulose®水溶液にCyDを添加すると、ステアリル基同士の疎水相互作用が減弱し、粘度が有意に減少した。次に、一定の剪断速度でSangulose®の粘度に及ぼす各種CyDの空洞サイズの影響を調べると、 α -CyD > β -CyD \approx HP- β -CyD \approx HP- β -CyD > γ -CyD の順に粘性が変化した(図2)。 α -CyD系で粘性低下効果が最も大きく観察されたのは、¹³C NMR化学シフト変化の検討から、Sangulose®のステアリル基に α -CyDの空洞サイズが最も強く相互作用することによるものと推定された。さらに、測定温度を変えながらSangulose®の粘度に及ぼすCyDの影響を調べると、相互作用の弱い γ -CyD系では温度上昇に伴い複合体が解離して粘度が増大し、37°C付近でピークを示した。このようなsol/gel変換現象は、点眼剤、坐剤、注射剤などにおいて局所的な温度感受性を利用した薬物放出速度の制御への応用が期

待される。

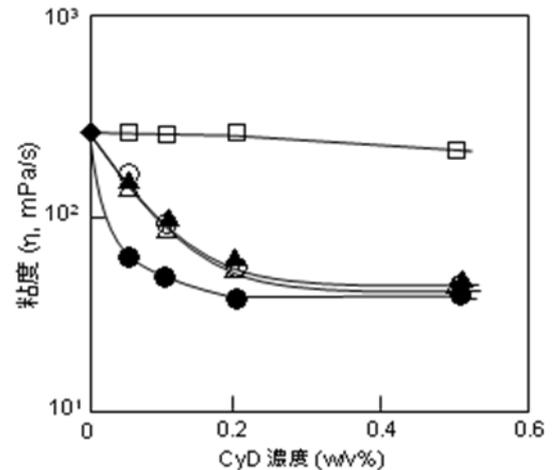


図2. Sangulose®水溶液(0.5 wt%)の粘度に及ぼすCyD濃度の影響(温度:37°C, 剪断速度:1/50 sec.).
◆: Sangulose® alone, ●: α -CyD, ○: β -CyD, □: γ -CyD, ▲: HP- β -CyD, △: HB- β -CyD

④グリメピリドの放出挙動に及ぼすCyDの影響

図3に示すように、 β -CyDを含有する錠剤の表面に微量の水(約5 μ L)を滴下すると、直ちにひび割れが発生したことから、崩壊しやすいODTsであることは明白である。一方、HP- β -CyDを含有する錠剤は、水を滴下すると錠剤表面にゲル状の薄膜を形成し、ひび割れの進行が抑制された。これが崩壊時間延長の要因となって薬物は徐放出するものと推察される。HB- β -CyD系もゲル状の薄膜を形成する傾向が見られたが、比較的高い硬度を反映して、薬物放出時間は最も遅延した。このように、錠剤の表面が水に濡れると、薄膜形成やCyDと薬物、Sangulose®, 他の添加剤間で競合包接や分子間相互作用が起こりやすくなり、それに伴い錠剤物性や薬物放出挙動が様々に変化するものと推察される。

本研究で得られた上記知見から、CyDの種類や添加濃度を適切に選択して使用することにより、ODTsの硬度、崩壊時間、崩壊後のbolusの粘度(嚥下性)、薬物放出時間などを制御可能なことが示唆された。

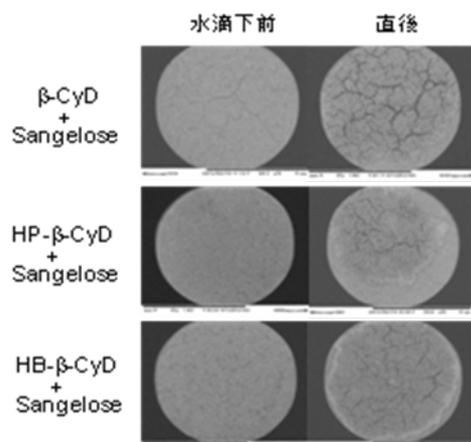


図3. 微量の水分(0.5 μ L)を滴下前, 直後の各種ODTs鏡表面の走査型電子顕微鏡写真(x25)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

① T. Ishiguro, E. Morishita, D. Iohara, F. Hirayama, K. Wada, H. Arima, K. Motoyama, K. Uekama, Some pharmaceutical and inclusion properties of 2-hydroxybutyl- β -cyclodextrin derivative, *Int. J. Pharm.*, 査読有, Vol. 419, 2011, 161-169.

(DOI:10.1016/j.ijpharm.2011.07.044)

② N. Ono, Y. Miyamoto, T. Ishiguro, K. Motoyama, F. Hirayama, D. Iohara, H. Seo, S. Tsuruta, H. Arima, K. Uekama, Reduction of bitterness of antihistaminic drugs by complexation with β -cyclodextrin, *J. Pharm. Sci.*, 査読有, Vol. 100, 2011, 1935-1943.

(DOI: 10.1002/jps.22417)

③ D. Iohara, F. Hirayama, K. Higashi, K. Yamamoto, K. Uekama, Formation of stable hydrophilic C₆₀ nanoparticles by 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *Mol. Pharm.*, 査読有, Vol. 8, 2011, 1276-1284.

(DOI: 10.1021/mp20024v)

④ D. Iohara, M. Hiratsuka, F. Hirayama, K. Takeshita, K. Motoyama, H. Arima, K. Uekama, Evaluation of photodynamic activity of C₆₀/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin nanoparticles, *J. Pharm. Sci.*, 査読有, Vol. 101, 2012, 3390-3397.

(DOI: 10.1002/jps.23045)

⑤ D. Iohara, K. Yoshida, K. Yamaguchi, M. Anraku, K. Motoyama, H. Arima, K. Uekama, F. Hirayama, Cyclodextrin-induced change in crystal habit of acetylsalicylic acid in aqueous solution, *Cryst. Growth Des.*, 査読有, Vol. 12, 2012, 1985-1991.

(DOI: 10.1021/cg201691c)

⑥ 上釜兼人, シクロデキストリンを基盤にした新規製剤設計へのアプローチ, *薬学雑誌*, 査読有, 132巻, 2012, 85-105.

(DOI: 10.1248/yakushi.132.85)

〔学会発表〕(計4件)

① K. Uekama, F. Hirayama, D. Iohara, Design and evaluation of cyclodextrin-based drug delivery system, 77th Annual Meeting and International Symposia of the Korean Society of Food Science and Technology (KoSFoST), June 18, 2010, Incheon, Korea.

② K. Uekama, F. Hirayama, D. Iohara, Novel approach of cyclodextrin-based pharmaceutical formulation, 6th Asian Cyclodextrin Conference, September 1, 2011, Canberra, Australia.

③ K. Uekama, F. Hirayama, D. Iohara, T. Ishiguro, Novel approach of cyclodextrin-based drug delivery system, 2nd Asian Pharmaceutical Science and Technology Symposium, September 19, 2011, Xian, China.

④ K. Uekama, F. Hirayama, M. Anraku, D. Iohara, T. Ishiguro, M. Nakabayashi, Modification of solid state properties of drug molecules by amphiphatic 2-hydroxybutyl- β -cyclodextrin, 16th International Cyclodextrin Symposium, May 7, 2012, Tianjin, China.

〔図書〕(計3件)

① 上釜兼人他編, 最新製剤学(第3版), 廣川書店(株), 2011, 3-41.

② 上釜兼人他著, 製剤学(第6版), 南江堂(株), 2012, 66-73, 93-98.

③ 有馬英俊, 本山敬一, 東大志, 上釜兼人(山本昌・監修) シクロデキストリンを用いた難水溶性薬物の溶解性ならびに吸収性の改善, "難吸収性薬物の吸収性改善と新規投与製剤の開発", シーエムシー出版(株), 2012, 8-17.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pharm.ph.sojo-u.ac.jp/~dio/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上釜 兼人 (UEKAMA KANETO)

崇城大学・薬学部・教授

研究者番号：90040328

(2) 研究分担者

庵原 大輔 (IOHARA DAISUKE)

崇城大学・薬学部・助手

研究者番号：40454954