

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460039

研究課題名(和文) 医薬品の結晶転移を利用した放出制御製剤の開発

研究課題名(英文) Development of sustained release formulation by using crystal transition of active ingredient.

研究代表者

板井 茂 (Itai, Shigeru)

静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号：80453059

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：クラリスロマイシン(CAM)は常温において2種の結晶多形が存在するが準安定形結晶(Form₁)は水との接触により瞬時に安定形結晶(Form₂)および水和物(Form₃)に転移する。この性質を利用し、CAM高含有の0次放出徐放性製剤並びに胃内浮遊性製剤の開発に成功した。また、Form₁はForm₂を水分散・ろ過・乾燥あるいは高温熱処理(150℃)することにより得られる。この処理は原薬コストの増加につながるため、Form₁を原薬として使用し、製剤工程においてForm₁に結晶転移する製造方法を確立した。

研究成果の概要(英文)：Clarithromycin(CAM) has 2 crystal forms at ambient temperature and meta-stable crystal(Form₁) transforms to stable crystal(Form₂) and hydrate(Form₃) immediately by contact with water. By using this property, we succeeded in development of highly --loaded CAM sustained release formulation with 0-order manner and gastro-floating formulation. Form₁ can be obtained by dispersion in water-filtration-drying processes or heat treatment(150℃). Since these treatment lead to increase API cost, we tried and establish the transformation of Form₁ to Form₂ during the manufacturing process of CAM formulation.

研究分野：製剤設計、DDS

キーワード：sustained release gastro-floating Clarithromycin polymorphism

1. 研究開始当初の背景

クラリスロマイシン(CAM)は本邦で創製されたマクロライド系抗生物質であり、広範な抗菌スペクトルを有することから、呼吸器系や皮膚、耳鼻科領域の感染症及び、ヘリコバクタ・ピロリ除菌等、臨床現場での需要が極めて高い薬剤である。剤形としては成人用の錠剤、小児用ドライシロップが世界各国で使用されている。本剤は時間依存的な薬効を示すため、CAMを持続的に放出させる剤形が望まれているが、我国での用法・容量は200mg、1日2回投与であり、徐放性を付与した400mg 1日1回投与製剤は未だ開発されていない。また、米国ではCAMを1錠中に500mg含有する長円形の徐放性製剤が販売されているが、長径が19mmとサイズが大きく、服用性の面から問題を残す。ヘリコバクタ・ピロリは、消化性潰瘍、胃がんの第一原因と考えられており、現在、プロトンポンプ阻害剤、アモキシシリン、CAMの3剤併用療法が除菌の第一選択として適用されている。しかし、これらは経口吸収製剤であり消化管から吸収し、血液中に移行した後、胃部に到達し、ヘリコバクタ・ピロリを攻撃する。もし、胃内に長期滞留し、胃内で集中的に薬剤を投与出来れば、より少ない量で効率的な除菌が可能となることが考えられる。

応募者は、長年、このCAMの製剤開発に従事してきた。その中で、CAMの準安定形結晶であるFormが水溶液との接触により、瞬時に微細化され、安定型結晶のFormまたは三水和物のFormに転移することを見出した(Fig.1)。さらに、このFormあるいはFormを用いて錠剤を製錠したところ、Form製剤では崩壊剤である低置換ヒドロキシプロピルセルロースのみの添加により、用量依存的にCAMを放出したが、Form製剤では崩壊剤を増量してもCAMの放出は抑制されたままであった。準安定形であるFormの水への溶解度(11.8mg/mL)は安定形であるFormの溶解度(1.1mg/mL)に比べ約10倍高い。一般に薬物の溶解度が高い程、製剤の溶出(放出)性は増大するが、CAMの場合、それと矛盾する結果となった。この原因を解明するため、錠剤表面の接触角と液滴浸透速度を比較した。その結果、接触角には差が認められなかったが、液滴浸透速度はForm製剤がForm製剤に比べ、大幅に遅延した。また、Form製剤の放出試験中の表面を顕微鏡観察した結果、原薬と同様に微細な針状結晶(Form、Form)の析出が認められた。以上の検討より、Form製剤の放出の遅延は表面に緻密に析出した結晶が錠剤内部への外液の浸透を阻止することに起因すると考えられた。さらに、錠剤は製錠の際、空気を取り込むが、添加剤の選択や造粒法の工夫により、CAMが溶媒との接触によって、この空気を長時間保持した比重の軽い製剤が形成されることが考えられる。本研究では、このCAMの特異的な結晶転移現象を利用し、徐放化能を付与し

た胃内浮遊性製剤を創製することを目的とする。

2. 研究の目的

CAMの準安定形結晶であるFormは水溶液との接触により、瞬時に微細化され、安定型結晶のFormまたは水和物のFormに転移する。この結晶転移を錠剤表面で惹起させることにより、緻密なFormまたはFormの析出が起き錠剤からの放出は制御される。本研究は(1)製剤中のFormIおよびFormの比率を変化した処方設計により、CAMの放出速度が任意に調節できるのではないかと、(2)表面に析出した微細化結晶が錠剤内部への外液の浸透を阻止し空気を内部に閉じ込めるのではないかとという仮説をもとに、ヘリコバクタ・ピロリ除菌を目的としたCAMを高濃度に含有する胃内浮遊性製剤の設計を企図したものである。さらにこの知見を元に、CAMForm製剤の低コスト製造方法と新規剤形の開発についても検討した。

3. 研究の方法

(1)結晶転移を利用したCAM高含有徐放性製剤の設計

添加剤としてヒドロゲルの性質を持つヒドロキシセルロース(HPCL)を40mg、ステアリン酸マグネシウム(St.Mg)2mg、CAMとしてFormとFormの比率を0:100から100:0に変化させた混合結晶200mgを1錠中に含有する1錠重量242mgの錠剤を直接打錠法により製した。得られた錠剤の溶出試験をpH6.5リン酸緩衝液中で実施した。

また、40%75RH及び24%40RH条件下で溶出の経時安定性を確認した。

(2)CAM胃内浮遊性製剤の設計

100%Form含有の錠剤は溶液中で長時間浮遊するため、胃内浮遊性製剤としての可能性が示されたが、高温における結晶転移により、溶出が経時的に増加することが考えられた。そこで攪拌溶融造粒法による製剤設計を試みた。処方はCAM75%に対し、グリセリンモノステアレート(GM)、トリグリセリンフルベヘネート(TR-FB)、ラブリワックス-10(LW)の熱溶融結合剤を各々20%、流動化剤としてタルク5%を用い、ラバーヒーター付高速攪拌機で製造した。得られた造粒物につき、熱溶融性結合剤の疎水性、流動性、円形度、強度、表面形状、浮遊性、薬物放出性、内部構造、ヘリコバクタ・ピロリ除菌効率、胃内滞留性を評価した。

(3)CAMForm製剤の低コスト製造方法と新規剤形の開発

市販製剤に使用されている安定形のFormは準安定形のFormを加熱処理あるいは水分散・ろ過・乾燥の工程を経ることにより、製造される。Form原薬を用いてForm錠剤の製造法を確立すれば、原薬コストを抑制できることになる。一方、Formはエタノールで再結晶することにより、低

コストで得られますが、逆に市販製剤に使用されている Form をエタノール溶媒で造粒、コーティングすると Form に転移してしまう。エタノールで湿式造粒しても相転移を起こさない技術が確立すれば、水不溶性高分子の使用による徐放性、腸溶性の付与といった新たな特性を持つ剤形の開発が可能になると考えられる。そこで、製剤の製造過程において Form を使用しても Form に転移し、また、溶媒としてエタノールを使用しても製造過程において Form に転移しない、添加剤のスクリーニングを実施した。添加剤として6種の界面活性剤と水溶性高分子を選択し、CAM に対し 30%の割合添加し、乳鉢中で、水あるいはエタノールを使用し、湿式練合・乾燥後、粉末 X 線回折で結晶形を確認した。

4. 研究成果

(1)結晶転移を利用した CAM 高含有徐放性製剤の設計

主薬中の Form I の割合の低下に伴い、薬物放出速度は増加した。一般に徐放性製剤の放出は 0 次であることが理想とされている。そこで得られた放出パターンを 0 次に回帰させたところ、Form の利率が 10~70%の間に亘り相関係数が 0.97 以上の値となり、Form の割合を変化させることにより薬物放出速度を容易に調節可能な 0 次放出型徐放性製剤が得ることができた。

1錠中に Form 200mg, HPCL 40mg, St. Mg 2mg 含有する錠剤につき 40%RH 及び 24%RH 条件下で溶出の経時安定性を確認した結果、3ヶ月保存後、24%RH 保存では、溶出の変化は全く認められなかったが、40%RH 保存では、Form の一部が Form に転移したため、薬物放出制御能が低下し、溶出速度が増加した。そこで CAM の結晶転移の温度依存性について解析した。Form を高温条件下で保存した結果、温度依存的に結晶転移速度は増大し、120℃では 10 分以内に、100℃でも約 80 分で Form の残存率が約 25%になった。時間(t)と結晶転移率(%)の関係を Weibull 分布式(Hancock-Sharp 式)に代入すると、すべての温度において直線となり、その傾き m は全て 2 に近い値となり、この結晶転移が Avrami-Erofeev の 2 次元核成長式で進行することが推定された。そこで、2 次元核成長式の右辺を時間 t に対しプロットする全ての温度で直線関係が成立し、その傾きより各温度における結晶転移速度を算出した。得られた速度定数をアレニウスプロットし、その傾きから結晶転移の活性化エネルギーを求めた結果、39.0Kcal/mol であった。この値を利用し各温度における転移速度定数 k と 3 年後の Form の残存率を予測した。その結果、25℃、20℃、15℃における 3 年後の Form の残存率は、それぞれ、94.4%、99.4%、99.9%であり、本徐放性製剤は 20℃以下に保存すれば、CAM の結晶転移 (Form Form) は起

きず、結晶多形混合錠の安定した溶出性が維持されることが、示唆された。

(2) CAM 胃内浮遊性製剤の設計

各結合剤の疎水性は接触角測定(1/2法)により評価した。測定の結果、GM と比較して、TR-FB と LW は有意に大きな接触角を示し、高い疎水性を有することが明らかとなった。

CAM 原末および、3種類の結合剤を用いて調製した造粒物の粉体物性を測定した結果、安息角では、CAM 原末の流動性が不良であったが、造粒物はやや良好から良好となり、原末と比較して流動性は大幅に改善された。また、3種類の造粒物間で安息角、円形度、強度の値に有意差は認められず、SEM 画像から、いずれのものも類似した形状を有していた。

造粒物の浮遊性を係数法により評価した結果、GM 造粒物は試験開始直後にほとんど沈降したのに対し、TR-FB および LW 造粒物は、24時間以上浮遊することが明らかとなった。

薬物放出速度においては、GM 造粒物は TR-FB 造粒物、LW 造粒物に比べ、早い薬物放出特性を示した。GM 造粒物は溶出試験器の底に沈むため、また他の結合剤に比べ濡れが良好であるため、有効表面積が増大し放出速度が増大したことが考えられた。

造粒物の内部構造を放射光 X 線 CT で画像化したところ、各造粒物の内部には空隙が確認され、空隙(voxel)比を比較したところ、TR-FB、LW 造粒物の空隙は GM 造粒物に比べ、2 倍程度、大きかった。

LW 造粒物につき、薬物放出試験中の内部構造を放射光 X 線 CT で画像化した。その結果、溶出の過程において、薬物溶出は造粒物表面から徐々におこるが、溶媒の浸透は極めて遅く、中心部の空隙に溶媒は浸入せず、空気を保持することで、低い粒子密度が維持され、長時間、浮遊性が維持されたものと思われた。

以上の検討より、TR-FB 及び LW 造粒物は、浮遊製剤として優れた性質を持つことが in vitro において明らかとなった。そこでそこで、LW 造粒物を用い、in vivo におけるピロリ菌除菌効果をコントロール(CAM を含まない試料)、CAM 懸濁液を対照とし、

ピロリ菌感染スナネズミを使用し実施した。投与 4 日目に胃を摘出し、ホモジナイズ、遠心分離後、上清を培養し、コロニーを計数することで除菌効果を評価した。その結果、CAM 分散液投与群では、コントロール群と比較して、ピロリ菌残存数の有意な低下は認められませんでした。LW 造粒物投与群においては、コントロール群、CAM 分散液投与群と比較して、ピロリ菌残存数の有意な低下が認められた。

このピロリ菌除菌効率の差異と、胃内滞留性との関係を明らかにするために、胃内滞留性の簡易測定を行いました。CAM 分散液

もしくは LW 造粒物をスナネズミに経口投与し、2 または 4 時間後の胃内の CAM 濃度から胃内残存率を算出した。その結果、LW 造粒物は CAM 分散液と比較して、2 時間後の残存率が有意に高く、4 時間後においても有意傾向が認められました。結論として、LW 造粒物は分散液よりも長時間胃内に留まることで、ピロリ菌に対して高い除菌効果を示したものと考えられた。

(3) CAMForm 製剤の低コスト製造方法と新規剤形の開発

界面活性剤としてラウリル硫酸 Na (SDS)、大豆レシチン (LCT)、シヨ糖脂肪酸エステル (SFE)、ポリソルベート 80 (PS80)、ステアリン酸ポリオキシル 40 (POS40)、水溶性高分子としてマクロゴール 400 (PEG400) を用いた造粒物につき、結晶の転移を確認した結果、PS80、POS40 を添加した場合、造粒溶媒として、水、エタノールのどちらを用いても製造過程において Form から Form の転移が促進された。また、PEG400 を添加した場合も造粒溶媒として、水を使用した場合、Form から Form の転移が確認された。さらに、Form をエタノールで造粒した場合、PEG 400 を添加することにより、製造中に Form への転移を抑制することがわかった。以上、ポリオキシル鎖 (-CH₂CH₂O-) を有する添加剤とともに湿式練合することで、CAM の初期結晶および練合溶媒に依存することなく常に Form 製剤を得ることが出来た。製剤の製造工程における結晶転移を利用した本製造方法は低コスト CAM 製剤、新剤形の開発につながる事が考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

1) Noguchi, S., Takiyama, K., Fujiki, S., Iwao, Y., Miura, K., Itai, S.,
"Polymorphic transformation of antibiotic clarithromycin under acidic condition"
Journal of Pharmaceutical Sciences, 103 (2)(2014), 580-586.

2) Aoki, H., Iwao, Y., Uchimoto, T., Noguchi, S., Kajihara, R., Ishida, M., Takahashi, K., Terada, Y., Suzuki, Y., Itai, S.,
"Fine granules showing sustained drug release prepared by high-shear melt granulation using triglycerin full behenate and milled microcrystalline cellulose"
International Journal of Pharmaceutics, 478(2)(2015) 530-539.

3) Aoki, H., Iwao, Y., Mizoguchi, M., Noguchi, S., Itai, S.,
"Clarithromycin highly-loaded gastro-floating fine granules prepared by high-shear melt granulation can enhance the efficacy of Helicobacter pylori eradication"
European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 92 (2015) 22-27.

4) Fujiki, S., Watanabe, N., Iwao, Y., Noguchi, S., Mizoguchi, M., Iwamura, T., Itai, S.,
"Suppressed release of clarithromycin from tablets by crystalline phase transition of metastable polymorph form I"
Journal of Pharmaceutical Sciences, 104(2015) 2441-2644

5) Nozawa, K., Iwao, Y., Noguchi, S., Itai, S.,
"Effect of surfactants or a water soluble polymer on the crystal transition of clarithromycin during a wet granulation process"
International Journal of Pharmaceutics, 405(2015) 204-217

6) Watanabe, M., Mizoguchi, M., Aoki, H., Iwao, Y., Noguchi, S., Itai, S.,
"Saturated fatty acids and fatty acid esters promotes the polymorphic transition of clarithromycin metastable form I crystal"
International Journal of Pharmaceutics, 512(2016) 108-117

7) Inukai K., Takiyama K., Noguchi S., Iwao Y., Itai S.,
"Effect of gel formation on the dissolution behavior of clarithromycin tablets"
International Journal of Pharmaceutics, 521, 33-39 (2017).

[学会発表](計 11 件)

1) 板井茂、渡邊成実、藤木定弘、岩尾康範、野口修治
"クラリスロマイシンの結晶転移を応用した新規徐放性製剤の設計と評価"
日本薬学会第 134 年会 (熊本) 講演要旨集, p.185, 2014 年 3 月 30 日. (Poster 発表: 演題番号 30amL-043)

2) 野口修治、梶原隆介、内本武亮、藤浪友加里、岩尾康範、板井茂
"攪拌溶融造粒法により製造した製剤微粒子の内部構造"
日本薬剤学会第 29 年会 (大宮) プログラ

ム集, p.56, 2014年5月20日. (Poster
発表: 演題番号 P20-03)

3) 青木肇、岩尾康範、野口修治、板井茂
"攪拌溶解造粒法によるクラリスロマイシン
高含有胃内浮遊性粒子の設計と評価"
日本薬剤学会第29年会(大宮)プログラ
ム集, p.56, 2014年5月20日. (Poster
発表: 演題番号 P20-06)

4) 青木肇、溝口緑理、岩尾康範、野口修
治、板井茂
"ヘリコバクタ・ピロリ除菌を目的とした
クラリスロマイシン高含有胃内浮遊性粒
子の設計と評価"
第60回日本薬学会東海支部 総会・大
会 2014(鈴鹿)講演要旨集, p.55, 2014
年7月5日(口頭発表: 演題番号 D1530)

5) 青木肇、溝口緑理、岩尾康範、野口修
治、板井茂
"攪拌溶解造粒法を用いたクラリスロマ
イシン高含有胃内浮遊性微小粒子の設計
と評価"
製剤機械技術学会第24回大会(名古
屋)講演要旨集, p.186, 2014年10月8
日. (Poster 発表: 演題番号 学04)

6) 溝口緑理、青木肇、岩尾康範、野口修
治、板井茂
"クラリスロマイシンの除菌効果増強を
目的とした薬物高含有胃内浮遊性粒子の
設計と評価"
日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬
学会東海支部 合同学術大会 2014(静岡)
講演要旨集, p.73, 2014年11月9日. (口
頭発表: 演題番号 C-33)

7) 青木肇、溝口緑理、岩尾康範、野口修
治、板井茂
"攪拌溶解造粒法を用いた Clarithromycin
高含有胃内浮遊性粒子の設計と評価"
日本薬学会第135年会(神戸)講演要旨
集, p.120, 2015年3月27日. (口頭発表:
演題番号 27R-pm03S)

8) 板井茂、滝山圭、岩尾康範、野口修治
"カルボン酸塩によるクラリスロマイシ
ンの放出抑制効果"
日本薬剤学会第30年会(長崎)講演要旨
集, p.60, 2015年5月21日. (Poster 発
表: 演題番号 P21-15)

9) 渡邊美笛、溝口緑理、青木肇、岩尾康
範、野口修治、板井茂
"クラリスロマイシン/脂質 mixture にお
けるクラリスロマイシン結晶転移メカニ
ズムの解明"
日本薬学会第136年会(横浜)プログラ
ム集, p.111, 2016年3月28日(口頭発

表: 演題番号 28M-pm05S)

10) 犬飼晃基、瀧山圭、岩尾康範、野口
修治、板井茂
"クラリスロマイシンのゲル化による溶
出挙動への影響とゲル形成機構に関する
研究"
日本薬剤学会第31年会(岐阜)プログラ
ム集, p.42, 2016年5月19日(口頭発表:
演題番号 19B1-3)

11) 渡邊美笛、岩尾康範、野口修治、板井
茂
"飽和脂肪酸や脂肪酸エステルが薬物の結
晶転移に与える影響"
日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬
学会東海支部 合同学術大会 2016(岐阜) プ
ログラム集, p.94, 2016年10月30日(口頭
発表: 演題番号 E-19)

〔図書〕(計 1件)

1) 岩尾康範、藤木定弘、渡邊成実、野口
修治、板井茂
"クラリスロマイシン準安定形結晶を利用
した徐放性製剤開発と胃内浮遊製剤への
応用"
化学工業(化学工業社), Vol. 65, No. 6,
29-35, 2014.

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

名称: クラリスロマイシン製剤の製造方法
発明者: 板井茂、野口修治、岩尾康範、野
沢健児、青木肇
権利者: 静岡県公立大学法人
種類: 特許
番号: 特願2014-197259
出願年月日: 2014年09月26日
国内外の別: 国内

取得状況(計 1件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
板井茂 (ITAI Shigeru)

静岡県立大学・薬学部・教授
研究者番号：80453059

(2)研究分担者
岩尾 康範 (IWAO Yasunori)
静岡県立大学・薬学部・准教授
研究者番号：3043022

野口 修治 (NOGUCHI shuji)
東邦大学・薬学部・教授
研究者番号：602378263

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
()