

平成21年 6月16日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18790029  
 研究課題名（和文） 温度応答性を付与した天然インテリジェント高分子を用いた  
 経口徐放性液剤の設計  
 研究課題名（英文） Design of oral sustained liquid formulation using natural  
 polysaccharides having thermo-responsive gelation property  
 研究代表者  
 伊藤 邦彦（ITO KUNIHICO）  
 北海道医療大学・薬学部・講師  
 研究者番号：10244857

研究成果の概要：液剤は服用しやすく、高齢者や嚥下障害患者に適している一方で、服用後の血中薬物濃度のコントロールが難しい。そこで、天然高分子のキシログルカンとペクチンを混合した液剤を設計したところ、この液剤は胃内の体温あるいは胃液中のイオンによってゲル化すると、胃内に長時間滞留して薬物放出を制御して血中濃度を一定に保つことから、服用性と薬物徐放性を兼ね備えた経口液剤として有用であることが示された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,000,000	0	2,000,000
2007年度	700,000	0	700,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	150,000	3,350,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：製剤学、経口徐放性液剤

## 1. 研究開始当初の背景

医薬品の経口製剤は服用が容易で、注射剤に比べて安全性も高いことから、一般に汎用される投与剤形である。しかし、医薬品製剤は一般に成人を対象に開発されており、小児や高齢者、脳疾患後遺症などによる嚥下障害を有する患者では、錠剤、カプセル剤といった固形製剤の服用には困難を伴うことが少なくない。

わが国が超高齢化社会を迎えつつあるなか、服用が容易な剤形（液剤、口腔内速溶性錠剤、ゼリー状製剤など）の開発が精力的に行われており、服用コンプライアンスの改善、ある

いはQOLの向上が期待されている。中でも経口液剤は、唾液分泌能が低下した高齢者にも服用しやすい剤形と言える。しかしその反面、従来の経口液剤では服用後の吸収性が高いため、有効血中濃度域に保つことが容易ではない。よって薬物治療の観点から、易服用性と薬物放出制御能を兼ね備えた経口液剤の開発が望まれる現状にあった。

## 2. 研究の目的

申請者が現在所属する研究グループでは、これまでに外部刺激に応答してゲル化する、所謂天然インテリジェント高分子多糖の性質

に着目して、液剤として服用後、胃内でゲル化して薬物放出を制御する、経口徐放性液剤の設計を行ってきた。すなわち、次世代型経口放出制御液剤の設計の一環として、外部刺激に応答する天然インテリジェント多糖として、温度応答性を有するキシログルカン多糖、ならびにイオン応答性を有するゲル化能に、温度応答性ゲル化能を付与した、いわゆるハイブリッド化天然インテリジェント高分子をマトリックスとした、経口徐放性製剤の開発を着想するに至った。

### 3. 研究の方法

#### (1) 実験材料

キシログルカン (ガラクトース除去率 45%) は、大日本住友製薬株式会社より供与されたものを使用した。ペクチンは GENU pectin type LM-104AS-J (エステル化度 31%、三晶) を使用した。アセトアミノフェン (ピリナジン) はアステラス製薬のものを用いた。その他の試薬は、全て特級試薬を用いた。

#### (2) 高分子溶液の調製

キシログルカン溶液、およびキシログルカン/ペクチン混合溶液は、65–70°C に加熱した超純水中に分散後、ホモジナイザーで攪拌 (室温下 2,000 rpm で 10 分間、氷冷下 2,000 rpm で 10 分間、さらに 3,000 rpm で 50 分間) して溶解・調製した。

#### (3) ゲル形成性の検討

温度応答性ゲル化能は、各種濃度のキシログルカン/ペクチン混合液剤 10 mL を、37°C で 10 分間放置した時にゲルを形成するか否かを肉眼的に観察した。また、イオン応答性ゲル化能は、日本薬局方第十五改正崩壊試験法第 1 液 (pH 1.2) 50 mL 中に高分子溶液 1 mL を滴下して、37°C で 10 分間静置後に形成したゲルの形状を肉眼的に観察した。

#### (4) 粘度の測定

キシログルカン液剤及びキシログルカン/ペクチン混合液剤の粘度は、E 型粘度計 (TV-20H、model E、東機産業) にコーンローター (1° 34' × R24) を取り付けて測定した。液剤 1 mL を 5°C に保ったローター内に注入し、ずり速度 23–230 s<sup>-1</sup> で回転粘度を測定した。

#### (4) ゲル強度の測定

1.5% キシログルカン液剤及び 1.5% キシログルカン/0.5% ペクチン混合液剤をセルロースチューブ (Size 36/32、Viskase Co., Inc.) に 30 mL 封入し、第十五改正日本薬局方崩壊試験法第 1 液 (pH 1.2) 150 mL 中、37°C、24 時間透析してゲルを調製した。応力-ひずみ曲線の測定は、レオメーター (RHEOMETER CR-500DX、サン科学) を用い、試料台の上昇速度を 60 mm/min として測定した。試験開始後、ゲルが破断され応力が大きく低下する点における荷重をゲル強度とした。また、ゲル破断点までにアダプターが移動した距離を変

形とし、試料の厚みで除して歪みとした。

#### (6) *In vitro* 薬物放出試験

薬物 (アセトアミノフェン) の液剤からの放出実験は、拡散セル法を用いて行った。ドナーとレセプターの容積はそれぞれ 4 mL で、セルロース膜で区切られている。ドナー側に 1.0% アセトアミノフェンを含有する高分子溶液 4 mL を、レセプター側に同量の放出試験液を入れ、37°C、60 strokes/min で振とうし、経時的にレセプター側の放出試験液を採取した。試験液中の薬物濃度は分光光度計 (UV-1200、島津製作所) を用いて、244 nm における吸光度より算出した。なお、レセプター側の試験液は経口投与後を想定して、第十五改正日本薬局方崩壊試験法第 1 液 (pH 1.2) で 1 時間、引き続き第 2 液 (pH 6.8) で 5 時間の計 6 時間実施した。

#### (7) *In vivo* 経口投与実験

24 時間絶食させた (但し、水は自由に与えた) 体重 230–360 g の Wistar 系雄性ラットにウレタン麻酔 (1.0 g/kg, i.p.) し、気道カテーテルを挿入した。1.0% アセトアミノフェンを含有するキシログルカン液剤、キシログルカン/ペクチン混合液剤、及びペクチン液剤 1 mL をそれぞれ、ラット用胃ゾンデ (KN-349D、夏目製作所) を用いて経口投与した。投与後、頸静脈から経時的に 0.5 mL ずつ採血し、遠心分離 (12,000 rpm、3 min) して血漿を得た。なお、動物実験は北海道医療大学動物実験センターの指針を遵守して行った。

血漿中アセトアミノフェン濃度は HPLC (LC-10AS、SPD-10A、C-R6A、島津製作所) を用いて測定した。担体には逆相 ODS カラム (Inertsil-ODS、4.6×150mm、GL Science) を、移動相にはアセトニトリル-0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.0) =15:85 を、内部標準物質には 2-アセトアミドフェノールを用いて、流速 0.8 ml/min、検出波長 UV 254 nm で定量した。

#### (8) 胃内滞留性の評価

0.02% ブリリアントブルーで染色したキシログルカン液剤、キシログルカン/ペクチン混合液剤 1 mL をラットに経口投与し、一定時間後に胃を摘出し、ゲルの状態を観察した。なお、ゲル残存率は、胃内に滞留していたゲル重量を投与時の液剤重量で除して% とした。

### 4. 研究成果

#### (1) キシログルカン/ペクチン混合液剤のゲル化能

はじめに、キシログルカンとペクチンの最適混合比を検討した。1.0、1.5、2.0% のキシログルカンに 0–1.25% のペクチンを混合した液剤を調製し、37°C で 10 分間インキュベート後のゲル形成性を評価した (表 1)。

1.0% キシログルカンに対してペクチンを添加すると、ゲル化は認められなかった。対して、1.5 及び 2.0% キシログルカンにペクチンを添加したところ、ペクチン濃度 0.75% 以下でゲル化が認められ、特にペクチン濃度 0.75% で、ペクチン未添加のキシログルカン液剤に比べて、より形状の優れたゲルを形成した。この結果から、キシログルカンの温度応答性ゲル化能は、過剰のペクチン添加により阻害される一方で、至適混合比が存在することが明らかになった。1.0% キシログルカンではキシログルカン濃度が低く、低濃度 (0.25%) のペクチンの存在下でも、キシログルカン分子間の凝集が阻害され、ゲル化しなかったと考えられる。一方、1.5 及び 2.0% キシログルカンは、低濃度 (0.75% 以下) のペクチンではゲルを形成したが、1.0% 以上のペクチン共存下では同様の理由により、ゲル化が妨げられたと考えられる。

表 1 キシログルカン/ペクチン混合液剤のゲル化能

ペクチン (%)	キシログルカン (%)		
	1.0	1.5	2.0
0	++	++	++
0.25	+	++	++
0.50	+	++	++
0.75	+	+++	+++
1.00	-	+	-
1.25	-	-	-

- : liquid, very easy to flow  
 + : liquid-like gel, flow less readily  
 ++ : gel, difficult to flow  
 +++ : strong gel, can not flow

ペクチンはイオン応答性ゲル化能を有し、pH 3.5 以下の酸性条件下でゲル化する。そこで、pH 1.2 の強酸性水溶液に 1.5% キシログルカン液剤及び 1.5% キシログルカン/0.75% ペクチン混合液剤を滴下したところ (図 1)、1.5% キシログルカン溶液は軟らかいゲルを形成した。これは、キシログルカンが温度に反応してゲル化するためには若干の時間を要するため、滴下後、試験液中で若干拡散した後にゲル化したためと考えられる。対して、1.5% キシログルカン/0.75% ペクチン混合液剤では、ビーズ状のゲルを瞬時に形成し、ペクチンのイオン応答性ゲル化能が混合液剤にも反映され、キシログルカン/ペクチン混合液剤は、温度及びイオンの双方に反応して、形状に優れたゲルを形成することが明らかになった。



1.5% xyloglucan

1.5% xyloglucan  
/0.75% pectin

図 1 強酸性 (pH1.2) 溶液中におけるキシログルカン/ペクチン混合液剤のゲル形成性

## (2) レオロジー的性質

液剤の流動性は、経口投与時の服用性と密接に関連する物性の一つで、図 2 は、キシログルカン液剤及びキシログルカン/ペクチン混合液剤の粘度を E 型回転粘度計により測定した結果である。

キシログルカン液剤は、キシログルカン濃度の増加に伴って粘度が上昇した。また、ずり速度の増加に伴い粘度が減少する、非ニュートン流動性を示した。対してキシログルカン/ペクチン混合液剤では、何れのキシログルカン濃度においてもキシログルカン液剤よりも粘度が大きくなるとともに、ペクチン添加によって粘度は増大した。

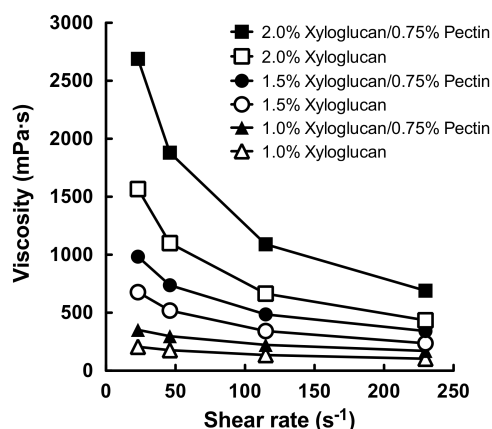


図 2 キシログルカン/ペクチン混合液剤の粘度

そこで、キシログルカン/ペクチン液剤の粘度に及ぼすペクチン濃度の影響を検討した。ずり速度  $23 \text{ s}^{-1}$  における粘度は、1.5 及び 2.0% キシログルカンではペクチン濃度 0.75% で最大値を示し、前述のゲル形成性の結果と一致した (図 3)。このことから、キシログルカンとペクチンの分子間には物理的相互作用が存在し、ゲル形成性に反映されることが示唆された。

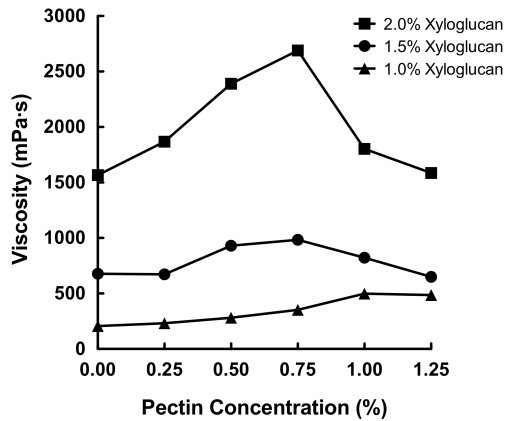


図3 キシログルカン/ペクチン混合液剤のずり速度  $23 \text{ s}^{-1}$ における粘度

図4は1.5%キシログルカン液剤及び1.5%キシログルカン/0.75%ペクチン混合液剤をpH 1.2の強酸水溶液中、 $37^\circ\text{C}$ で透析して調製したゲルについて、レオメーターを用いて測定して得られた応力-ひずみ曲線である。キシログルカンのゲルのゲル強度は  $1.7 \text{ kN/m}^2$ であったのに対し、0.75%ペクチンを添加すると  $7.8 \text{ kN/m}^2$ を示し、ゲル強度は約4.6倍増大した。また、ゲル破断点における歪み (strain) も大きくなったことから、キシログルカン/ペクチンゲルは、ペクチンを添加することによって、ゲル強度および弾性に優れたゲルを形成することが示された。

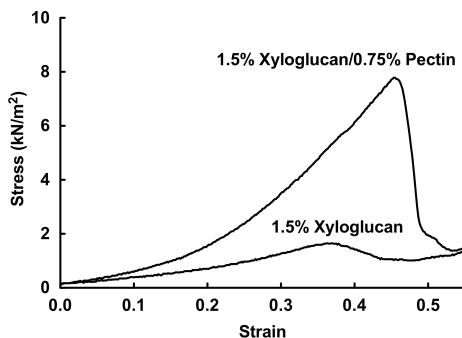


図4 キシログルカン/ペクチンゲルの応力-ひずみ曲線

### (3) in vitro 薬物放出性

1.5%キシログルカン液剤、0.75%ペクチン液剤、1.5及び2.0%キシログルカン/0.75%ペクチン液剤からの薬物放出性を拡散セル法により検討した (図5)。経口投与時を想定して、レセプター側の試験液は日本薬局方第十五改正崩壊試験法第1液 (pH 1.2) で1時間、引き続き第2液 (pH 6.8) で5時間、合計6時間実施した。なお、モデル薬物にはアセトアミノフェンを用いた。

0.75%ペクチン液剤は、試験液を第2液

に変えると、薬物放出の加速が見られた。これは、pHの増大によって $\text{H}^+$ 濃度が減少することでペクチンゲルはゾルに再転移し、薬物放出制御能が低下したためである。対して1.5%キシログルカン液剤、1.5及び2.0%キシログルカン/0.75%ペクチン混合液剤ではともにpH 1.2でゲルを形成した後、試験液がpH 6.8に変化しても薬物放出は制御された。なお、これらの液剤のゲル形状は測定開始6時間後も十分に保持されていた。さらに、これらの液剤の累積薬物放出量の推移はほぼ等しく、キシログルカン濃度の違い (1.5及び2.0%) による影響はみられなかった。従って、キシログルカン濃度は1.5%で十分なゲル化能と薬物制御能を有することから、以後の実験では、1.5%キシログルカン濃度で実験を行った。

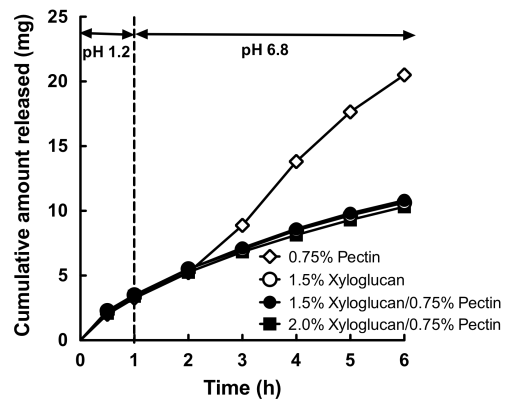


図5 in vitro 薬物放出性

### (4) in vivo 薬物吸収性

図6はアセトアミノフェン10 mgを含有する1.5%キシログルカン液剤、1.5%キシログルカン/0.75%ペクチン液剤、及び0.75%ペクチン液剤1 mLをWistar系雄性ラットに経口投与したときの血漿中アセトアミノフェン濃度推移である。また、この結果から算出した薬物動態パラメータを表2に示した。

0.75%ペクチン液剤をラットに経口投与すると消化管から速やかに吸収され、0.5時間で最高血中濃度 ( $4.9 \mu\text{g/mL}$ ) に達した。対して、1.5%キシログルカン液剤及び1.5%キシログルカン/0.75%ペクチン液剤を投与した場合、投与直後の急激な血漿中薬物濃度の上昇を抑制し、持続的な血中濃度パターンを示した。特に1.5%キシログルカン/0.75%ペクチン混合液剤では血漿中濃度の低下が抑制されるとともに、投与2時間後以降で1.5%キシログルカン液剤に対して有意に高い血漿中濃度を維持した。また、薬物動態学的パラメータでは、 $t_{\text{max}}$ 及び平均滞留時間 (MRT) の遅延、ならびに血中濃度-時間曲線下面積 (AUC) が有意に高い値を示し、量的

バイオアベイラビリティの増加が認められ、1.5% キシログルカン/0.75% ペクチン液剤は優れた薬物徐放性を示した。

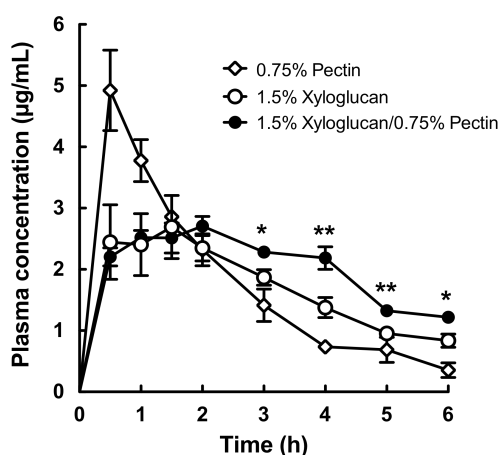


図6 キシログルカン/ペクチン混合液剤をラットに経口投与後の血漿中アセトアミノフェン濃度の推移

表2 薬物動態パラメータ

液剤	$C_{max}$ ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$t_{max}$ (h)	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ )	MRT (h)
0.75% ペクチン	4.92 $\pm$	0.50 $\pm$	10.53 $\pm$	1.93 $\pm$
	0.66 $\pm$	0.00 $\pm$	0.20 $\pm$	0.17 $\pm$
1.5% キシログルカン	2.98 $\pm$	1.58 $\pm$	10.15 $\pm$	2.58 $\pm$
	0.52 $\pm$	0.33 $\pm$	0.70 $\pm$	0.15 $\pm$
1.5%キシログルカン/0.75%ペクチン	2.92 $\pm$	2.08 $\pm$	12.05 $\pm$	2.79 $\pm$
	0.18 $\pm$	0.20 $\pm$	0.42* $\pm$	0.04 $\pm$

\*  $p < 0.05$ , compared with 1.5% xyloglucan

ブリリアントブルーで染色した 1.5% キシログルカン液剤及び 1.5% キシログルカン/0.75% ペクチン液剤（薬物非含有）をラットに 1 mL 投与し、0.5 及び 3 時間後の胃内のゲルの状態を観察した（図 7）。投与 0.5 時間後では、1.5% キシログルカン液剤及び 1.5% キシログルカン/0.75% ペクチン混合液剤はそれぞれ 93.4%、101.7%のゲルが胃内に滞留しており、どちらの液剤も投与後、速やかかつ効率良く胃内でゲル化することが確認された。投与 3 時間後、1.5% キシログルカン液剤のゲル残存率は 45.8%で、経時的なゲルの消失が示唆されたのに対して、1.5% キシログルカン/0.75% ペクチン混合液剤では 88.2%と、高いゲル残存率を示した。ペクチン添加によるゲル形成性の向上が、ラット胃内の生理学的条件下においても反映されることが示唆された。

以上、図 6 で示された 1.5% キシログルカン/0.75% ペクチン混合液剤の薬物徐放性は、胃内で強固なゲルを形成することでゲルの胃内滞留時間及び残存率が増加すると同時に、ゲルが薬物拡散のバリアーとして働くことにより、優れた薬物徐放性を示したものと考えられる。

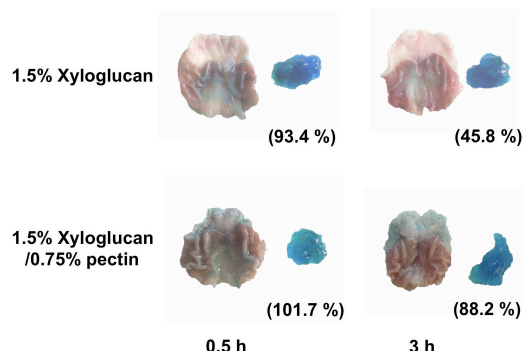


図7 液剤投与後のラット胃内に滞留したゲルの形状

#### (5) 総括

本申請課題では、温度応答性ゲル化能を有するキシログルカンと、イオン応答性ゲル化能を有するペクチンを混合した液剤を経口投与すると、胃内環境において高い滞留性と薬物放出制御能を併せ持つゲルを形成し、薬物徐放性を示すことを見いだした。

本混合液剤は、温度及びイオンの複数の外部刺激応答性を有することで、個々の患者によって異なる多様な胃内環境に対応した徐放性液剤としての実用化が期待できる。本混合液剤は pH 5 でもゲル化することをすでに確認しており、日本人高齢者に多いとされる無酸症患者にも対応できるものとする。また、本混合液剤は適度な粘度を有し、嚥下障害患者の服用性の向上及び誤嚥防止が期待できる。

今回得られた知見をもとに、高齢者や嚥下障害患者の服用性と薬物放出制御をより最適化した混合液剤の設計及び最適化が、本研究の今後の課題になるものとする。

#### 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 1 件）

- ① Itoh K., Yahaba M., Takahashi A., Tsuruya R., Miyazaki S., Dairaku M., Togashi M., Mikami R., Attwood D., In situ gelling xyloglucan/pectin formulations for oral sustained drug delivery, Int. J. Pharm., 356, 95-101, 2008, 査読有。

〔学会発表〕(計3件)

- ①矢羽羽雅行、伊藤邦彦、高橋亮江、鶴谷玲和、宮崎正三、温度およびイオン応答性を有するキシログルカン多糖／ペクチン混合系経口徐放性液剤の評価、日本薬学会第127年会、富山、2007年3月
- ②鶴谷玲和、矢羽羽雅行、高橋亮江、伊藤邦彦、宮崎正三、大樂真健、三上了三、富樫美津雄、キシログルカン／ペクチン混合系の経口徐放性液剤としての有用性の評価、日本薬学会北海道支部第129回例会、札幌、2007年5月
- ③鶴谷玲和、伊藤邦彦、高橋亮江、畠山智明、宮崎正三、大樂真健、三上了三、富樫美津雄、温度およびイオン応答性ゲル化能を有するキシログルカン混合液剤の調製と評価、日本薬学会第128年会、横浜、2008年3月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊藤 邦彦 (ITO KUNIHICO)  
北海道医療大学・薬学部・講師  
研究者番号：10244857