

## 《若手研究者紹介》



## 難水溶性薬物の製剤化に関わる研究 —鼻腔投与製剤とシクロデキストリン化学そして固体分散体—

小 川 法 子\* Noriko Ogawa

愛知学院大学薬学部製剤学講座

## 1. はじめに

「薬剤学」との出会いは、大学入学当初であった。筆者は入学間もなく美術部に入部したが、部員不足の事情から入部とともに部長になり、美術部顧問の先生のもとへハンコをいただきにたびたび通うこととなった。その顧問が星薬科大学薬剤学教室高山幸三先生（現、同教室教授）であった。薬剤学教室を訪れる際に目にした経皮吸収の実験にびっくりしたことが思い出される。3年生へ進級し、「薬剤学」の講義を星薬科大学薬剤学教室教授永井恒司先生（現、公益財団法人永井記念薬学国際交流財団理事長）、同教室米谷芳枝先生（現、星薬科大学創剤構築研究室教授）よりご教授いただき、次第に薬剤学へ興味を持つこととなった。「薬剤学は薬剤師特有の学問」という永井先生の言葉は学部生であった筆者に薬剤学への興味を強く喚起するものであった。そして3年生の後期に薬剤学教室に配属されたことより、薬剤学研究への道に進むこととなった。今回このような寄稿の機会を与えていただき、本稿では筆者のこれまでの研究内容について紹介する次第である。

2. 難水溶性薬物・鼻腔投与実験系との出会い<sup>1-3)</sup>

卒業研究での筆者の研究テーマは「糖鎖修飾リポソームによる肝がん細胞へのターゲティング」であった。米谷先生のご指導のもと、当時修士2年であった川野久美先生（現、星薬科大学創剤構築研究室

助教）に付いて実験を行った。当時はすべてがものめずらしく、培養ヒト肝臓がん細胞（HepG2）の培養操作、ラットの肝細胞初代培養、リポソーム調製等の実験、実験データの整理方法、論文の書き方の基本などを学び、とても楽しかったことを覚えている。修士課程に進学するにあたり、研究テーマは大きく変わり「花粉症治療のための持続性鼻腔用軟膏の開発」となった。新しくいただいたこの研究テーマは、当時、同教室研究生であった秋山英郎氏より発案をいただき、米谷先生のご指導のもと、当時博士課程2年であった中村宏司博士（現、テルモ株式会社）より実験手技を教えていただいていた。

花粉症は、スギやヒノキなどの植物の花粉が原因となってアレルギー症状が引き起こされる病気であり、季節性アレルギー性鼻炎ともいわれる。鼻アレルギー治療用の鼻腔用製剤としては噴霧用の液剤や粉末剤が一般的であるが、筆者の研究テーマは鼻アレルギー治療を目的とした半固形の鼻腔用軟膏の開発であった。実験を始めるにあたって、何をどうするかという選択の連続となり、大海に放り出されたように思ったことを覚えている。いま思えば、色々と自由に選択できた非常に贅沢な研究テーマであった。製剤の主薬の選択、軟膏剤の基剤の選択、評価系について…初めての実験に筆者は悩みつづけた。はじめに主薬としてステロイド系抗炎症薬であるフルニソリドを用いることを決めた。このときから、筆者の難水溶性薬物との付き合いが始まった。軟膏剤の処方については、すぐにヒトに応用できる利点から、水性ゲル、親水軟膏、吸水軟膏および白色ワセリンという一般的な基剤を用いることとした。そして評価系をどうするかということに一番頭を悩ませた。鼻粘膜は非常に多くの血管を有するとともに高い透過性を持つことから、薬物の吸収に優れ、ま

\*2005年星薬科大学大学院博士後期課程修了、博士（薬学）取得。同年、星薬科大学薬品物理化学教室助手、2007年助教。2011年愛知学院大学薬学部製剤学講座助教。2005年日本薬剤学会第8回優秀論文賞受賞。好きな言葉：一期一会。趣味：美術館めぐり。連絡先：〒464-8650 愛知県名古屋千種区楠元町 1-100  
E-mail: noriko30@dpc.agu.ac.jp

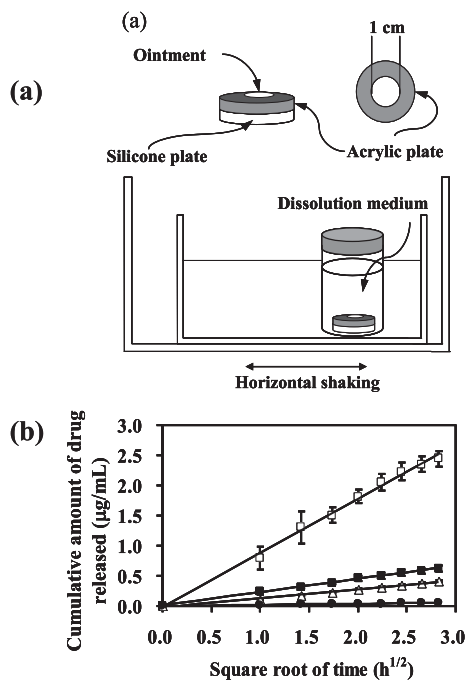


図1 軟膏剤の放出試験。(a) 模式図 (b) 軟膏からのフルニソリドの溶出挙動 (n=4). □, 水性ゲル; ■, 親水軟膏; △, 吸水軟膏; ●, 白色ワセリン. (引用文献1)より抜粋, 一部改変)

た投与後に薬物は鼻粘膜から速やかに消失するという特徴がある。一方で、鼻腔内に投与された製剤は、鼻の粘膜表層に存在する繊毛の作用により投与部位を速やかに通過し、後鼻腔から咽頭へ押し流されて食道へ排泄されるため、持続作用が得難く頻回投与が必要である。局所作用を目的とする薬物では、速やかな全身性の吸収は深刻な有害作用を惹起するとともに、局所作用の低下の原因となることがある。このため、鼻粘膜表層に製剤を長時間滞留させ、薬物を徐放化して炎症患部の薬物濃度を維持させることが最も目的に合った製剤設計であると考えられる。そこで、はじめに製剤の評価として放出試験を行うこととした。軟膏剤の放出試験は、日本薬局方に詳しく明記されていないことから、自作の放出試験装置で実験を行った(図1)。試験の結果、フルニソリドの放出は水性ゲル軟膏が最も速く、白色ワセリン軟膏が最も徐放化することが示された(図1)。そこで次に放出試験の結果を受けて、動物実験による評価を行うこととした。上述したように、鼻アレルギー治療用の鼻腔適用製剤の開発においては鼻粘膜表層に薬物を長時間滞留させ、炎症患部での薬物濃度を維持させることが重要であると考えられる。こういった製剤は全身に吸収されることによって効

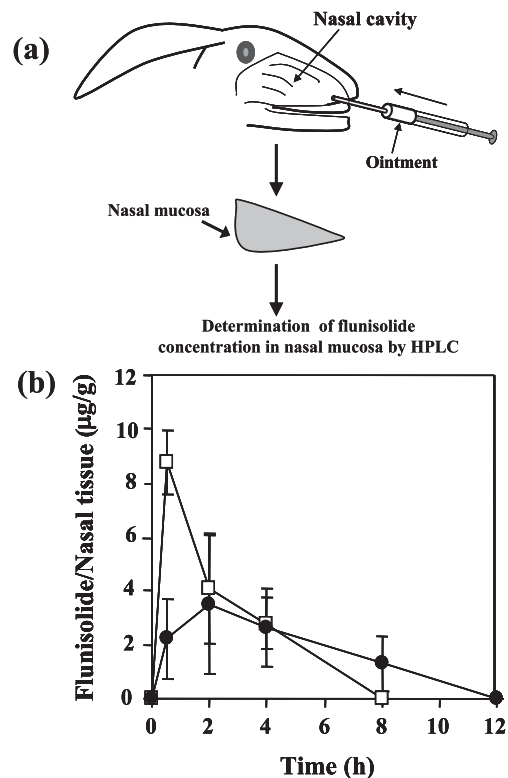


図2 軟膏剤投与後のウサギ鼻粘膜への薬物滞留性評価。(a) 方法模式図 (b) 投与後時間に対するウサギ鼻粘膜中薬物量 (n=4-6). □, 水性ゲル; ●, 白色ワセリン. (引用文献1)より抜粋, 一部改変)

果の発現が期待される薬剤ではないことから、通常実施される血中濃度を効果の指標とした手法よりも、奏効部位の薬物の分布を検討することが有用である。そこで、ウサギの鼻腔内に軟膏を投与し、粘膜中に移行した薬物量を定量し、製剤間の比較を行うこととした(図2)。実験の結果、白色ワセリンを基剤とする軟膏の投与では、薬物は粘膜に、より長時間滞留することが示唆された(図2)。以上より、鼻アレルギー治療用の軟膏基剤として白色ワセリンが有用であることを明らかとした。

以上より、白色ワセリンの有用性を明らかにできたが、放出試験での軟膏からのフルニソリドの放出挙動は、ウサギ粘膜中の薬物推移を定量的に説明し得るものではなかった。また、より良い軟膏基剤を選択するためにも、粘膜中の薬物推移に相関する放出実験系を確立することが望ましいと考えた。そこで次に、鼻粘膜への薬物の移行挙動を十分に反映し得る放出実験条件の最適化を試みた。放出実験は前述の図1に示した放出試験装置を用い、放出液の組成を最適化することで行った。軟膏の主薬に用いたフルニソリドが難水溶性薬物であることから、放出

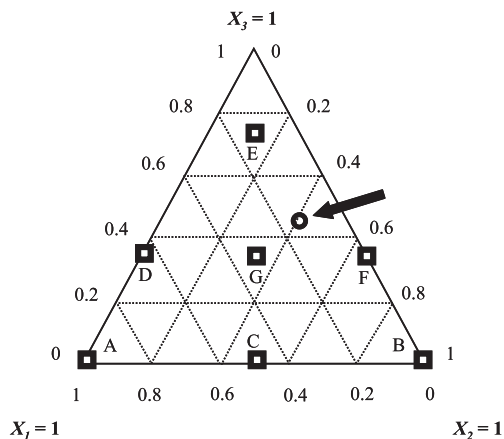


図3 放出液最適化に用いた7種の放出液組成：プロピレングリコール ( $X_1$ )，エタノール ( $X_2$ )，リン酸緩衝液 ( $X_3$ )。矢印：最適組成。(引用文献2)より抜粋，一部改変)

液組成にはフルニソリドを溶解するプロピレングリコールとエタノールを選択し，これらに緩衝液 (pH 7.4) を加えて，3成分の組成比の最適化を試みた (図3)。実験計画法に基づき，7種の放出液を調製し，放出試験を行った。各放出液中における薬物の放出挙動から，放出速度定数  $k$  を推定し，放出液組成と  $k$  値の関数関係を重調和スプライン補間により推定した結果，両者の関係を高精度に近似することができた。次に，多目的同時最適化法を適用し，鼻粘膜へのフルニソリド移行量の経時変化を反映する放出液組成を見出した。この放出液で得られた *in vitro* 放出パラメータとウサギ鼻粘膜滞留性を表す *in vivo* パラメータを比較した結果，両者間には良好な相関が得られ，*in vivo* の薬動的パラメータを反映し得る放出実験条件を確立することができた。この研究により，日本薬剤学会優秀論文賞を受賞し，このことは筆者にとって大変な励みとなった。

ウサギ鼻粘膜中の薬物滞留性で製剤の評価を行ったが，臨床応用を考える上では鼻腔用軟膏の治療効果を明らかにする必要がある。そこで次に，鼻腔用軟膏の薬理学的効果について検討した。鼻アレルギーの薬理学的評価方法としては，アレルギーモデル動物を用いた評価が一般的に行われるが，筆者らは簡便な方法としてヒスタミン水溶液を実験動物の鼻腔に流して鼻粘膜を刺激することにより起こる血管透過性亢進で評価することとした。実験の結果，フルニソリド含有製剤を投与しない対照群では，ヒスタミン灌流により鼻粘膜血管透過性亢進反応が見られ，この反応は，フルニソリドの懸濁液を投与して

もほとんど抑制されなかった。一方，同含有水性ゲル軟膏および白色ワセリン軟膏は，いずれも投与後に鼻粘膜血管透過性亢進反応を有意に抑制し，薬理学的効果を示すことが明らかとなった。以上より，フルニソリドの鼻粘膜滞留性は軟膏として適用することで向上し，薬理学的効果も得られることが示された。

薬剤学教室に配属され，6年以上の年月を同教室で過ごした。同教室は永井先生が国際的に広く活躍され留学生を多く迎えていたこともあり，筆者が在籍した頃も多く留学生がおり，ともに学ぶことができた。筆者が大学4年生に進級する時分に高山先生が同教室の教授になられ，修士課程を修了する頃に米谷先生が創剤構築研究室の教授になられた。米谷先生が同研究室の教授になられた後は，武田 (森下) 真莉子先生 (現，神戸学院大学教授) にご指導いただいた。試行錯誤の繰り返しとなった大学院生時代であったが，高山先生をはじめとする先生方の親身のご指導のおかげで修了することができた。心より感謝している。また，薬剤学会主催で発足した「英語セミナー」に学生参加者として当初から参加し，そこでの出会いが現在の交流につながっていることは筆者の財産である。

### 3. シクロデキストリン化学・結晶学との出会い<sup>4,5)</sup>

博士課程を修了し，2005年4月より，星薬科大学薬品物理化学教室の助手の職をいただいた。同教室では上田晴久先生 (同教室教授) と遠藤朋宏先生 (現，星薬科大学放射線応用科学研究室准教授) が大環状シクロデキストリン (CD) について研究されており，先生方のご指導のもと，著者も CD に関する研究テーマに取り組むこととなった。

CD は環状糖類であり，難水溶性薬物を取り込み (包接し)，水へ溶解させる性質を有することより，食品，医薬品に広く用いられている添加剤である。当時，緩和医療における疼痛対策に焦点をあてた星薬科大学学術フロンティア事業が行われることとなり，筆者らは，CD を用いてがん疼痛治療に用いられるオピオイド鎮痛薬であるフェンタニルの物理化学的性質の改善を行うこととなった。フェンタニルはがん疼痛治療に用いられるオピオイド鎮痛薬であり，鎮痛作用はモルヒネの50倍から200倍の強さを持つといわれている。難水溶性薬物は，その溶解

性や安定性の改善などの利点から塩として用いられているものが多く、フェンタニルも注射剤には塩であるクエン酸フェンタニルが用いられている。がん性疼痛は、痛みのコントロールを行っていても強い痛みが起こることが知られている。この強い痛みを抑えるための臨時薬として、フェンタニルの経粘膜吸収製剤が求められ、数種が海外で上市されているが、いずれもクエン酸フェンタニルが用いられている。しかし、フェンタニル遊離塩基はクエン酸フェンタニルと比較して脂溶性が高いことから、フェンタニル遊離塩基の水溶性および分散性を改善することで、クエン酸フェンタニルよりも強い効果を示すことが期待される。そこで、筆者らはCDを用いてフェンタニル遊離塩基の物理化学的特性の改善、CDとフェンタニル遊離塩基の固体状態での相互作用について検討を行うこととした。本稿では後者について紹介する。難水溶性薬物の経口投与時の吸収速度や吸収率を高める手法として、薬物の非晶質化がある。非晶質固体は、固体中で分子や原子が規則正しく配列した結晶に対して、分子・原子の配列が三次元的な長距離秩序を持たず不規則なものである。非晶質固体は結晶に比べて不安定であるが、溶解性が高く、難水溶性薬物の経口投与時の吸収速度や吸収率を高めることができる。したがって難水溶性薬物の溶出特性を改善する目的で、薬物を非晶質化することはよく行われる方法である。しかし、非晶質の物性や挙動については未だに解明されていないことが多く、また非晶質製剤の設計を考える上でも、非晶質の固体物性を理解することは重要である。そこで、山本恵司先生（千葉大学大学院製剤工学研究室教授）、森部久仁一先生（同研究室准教授）、東頭二郎先生（同研究室助教）から固体NMR測定等による薬物分子の物性研究についてご指導とご協力をいただきながら、またThorsteinn Loftsson先生（アイスランド大学教授）からもご指導をいただきながら、CDとフェンタニル遊離塩基の混合粉碎を行い、固体状態での両者の相互作用について検討を行った。混合粉碎は、薬物結晶とCDや結晶セルロースなどの高分子を共に粉碎するもので、薬物を非晶質化する手法の一つとして知られている。フェンタニル遊離塩基はCDと混合粉碎することで非晶質化したが、恒温高湿度条件下の保存（調湿）により、結晶化が認められた。筆者らはこの現象に注目して、

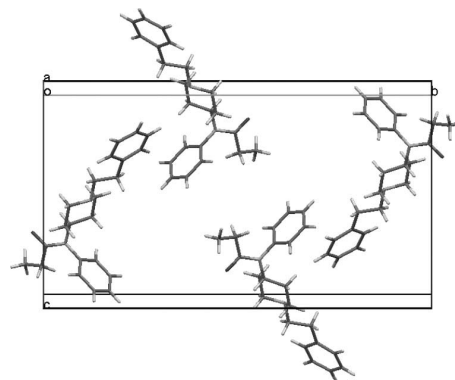


図4 フェンタニル遊離塩基の単結晶構造

混合粉碎による非晶質試料と恒温高湿度条件下で非晶質試料を保存して調製した調湿試料について、粉末X線回折測定や固体NMR測定等の物性評価、計算科学的な手法による検討を行った。フェンタニル遊離塩基とCDを加圧せずに混合した物理混合物においては、調湿によりそれぞれの化合物の結晶化が進んだが、混合粉碎試料においては、非晶質固体を調湿することにより新規の結晶化が生じた。本研究では、この新規の結晶はCDによるフェンタニルの包接複合体であることを明らかとし、さらに、この包接構造に関する知見を得ることができた。また、フェンタニル遊離塩基の結晶構造が解明されていなかったことから、星薬科大学薬品物理化学教室の長瀬弘昌先生（現、同教室准教授）よりご指導、ご教授いただき、単結晶の作成に挑戦した結果、幸運なことに結晶を得ることができ、さらには単結晶X線構造解析に成功した（図4）。単結晶X線構造解析は、現在も続けており、ライフワークの一つにしていきたいと考えている。他に、抗精神病薬を用いた研究、複合体結晶の単結晶X線構造解析も行っているが、現在投稿している段階なので、また機会を改めて紹介できれば幸いである。

薬品物理化学教室では、薬物とCDの分子レベルでの相互作用について研究するにあたり、物性評価や計算科学的な手法、単結晶X線構造解析等によるアプローチについて学ぶことができた。また、助手、助教として、実習や卒論生、大学院生の指導等で教育に携わることになり、未来の薬剤師、薬学研究者の人生に関わるのだと実感した月日でもあった。

#### 4. 粉体工学との出会い

2011年4月より、縁あって、愛知学院大学薬学部

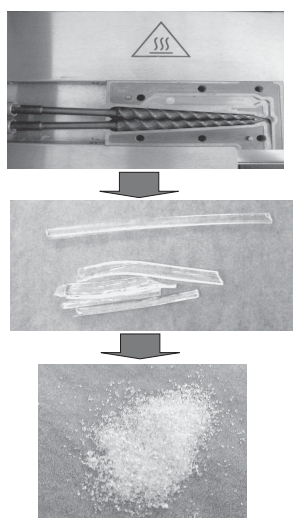


図5 加熱熔融混練法（二軸エクストルーダー）による固体分散体の調製

製剤学講座の助教の職をいただいた。筆者は、大学院生の時分に川島嘉明先生（同講座教授）が岐阜薬科大学に在任中に編集幹事をされた「粒子設計工学」を拝読し、川島先生の粒子設計ワールドに興味を抱いていた。学生時代には、将来、同講座に所属することになるとは想像もできなかった。人の縁の不思議を思い感謝している。現在は、川島先生、山本浩充先生（現、愛知学院大学薬学部製剤学講座教授）にご指導いただきながら、機能性基材を用いた粉体設計等の研究を行っている。特に本稿では、難水溶性薬物の溶解性改善を目的とした新規機能性基材を用いた固体分散体の設計について紹介する。固体分散体は、薬物を固体状態の不活性な担体中に微粒子または分子状態で分散させたもので、難水溶性薬物の可溶化に有用である。固体分散体の調製方法として、凍結乾燥法、粉碎法、噴霧乾燥法、加熱熔融混練法などがあるが、筆者らは汎用されている噴霧乾燥法と加熱熔融混練法で固体分散体粒子を作製している。噴霧乾燥法は薬物と不活性担体をエタノールなどの有機溶媒や水に溶解して、噴霧し、瞬間的に乾燥を行うものであり、比較的スケールアップが容易で大量生産にも適している。また、加熱熔融混練法は薬物と不活性担体を所定の温度で加熱、熔融、混練し、押し出して固体分散体を得る方法である（図5）。この方法は有機溶媒や水といった溶媒を用いないことから、製剤調製において問題となる残留溶媒がないという利点を持ち、また環境に配慮した調製方法でもある。これまでに、数種の新規機能性基材および添加剤を用いて固体分散体粒子の設計を行

い、難水溶性薬物の可溶化に成功し、現在、安定性評価等、種々の物性評価を行っている。詳細は、現在、検討を重ねている段階なので、また機会を改めて紹介できれば幸いである。固体分散体は薬物を固体状態の不活性な担体中に分散させたものであるが、不活性担体の特性、添加剤や調製方法等によって、その製剤特性は異なり、大変興味深い。愛知学院大学で粒子設計、粉体工学に出会い、これからその奥深さを楽しみながら探求していきたいと考えている。

## 5. おわりに

薬剤学研究の道に進んでから、筆者はこれまでに、リポソーム、鼻腔投与製剤、シクロデキストリン、単結晶 X 線構造解析、固体分散体と、比較的多岐にわたった研究経験の機会をいただいている。特色が異なる研究分野、研究テーマはそれぞれ興味深く、筆者にとって、こうした研究テーマに取り組んでこられたことは、今後の糧になると考えている。これからも柔軟に他分野を含めて興味を持ちながら、粉体設計をはじめとする研究に挑戦していきたい。また、近年開発される医薬品の多くが難水溶性であることもあるが、研究テーマは異なっても難水溶性薬物に関する研究に携わることが多かった。難水溶性薬物に関わる研究から得た、薬物の製剤化に必要な技術や知識も活かして、患者の役に立てるような製剤設計、薬剤学研究を行っていきたい。

## 引用文献

- 1) 小川法子, 中村宏司, 秋山英郎, 森下真莉子, 亀井淳三, 米谷芳枝, 高山幸三, 花粉症治療を目的とした flunisolide 含有持続性鼻腔用軟膏の開発. *薬剤学*, **62**, 161–168 (2002).
- 2) N. Ogawa, M. Morishita, K. Takayama, T. Nagai, Quantitative evaluation of *in vitro* release medium to predict transfer of flunisolide into nasal mucosa of rabbits from ointments, *STP Pharma Sci.*, **13**, 259–263 (2003).
- 3) N. Ogawa, M. Morishita, K. Takayama, Pharmacological effects of flunisolide nasal ointments on experimental allergic rhinitis, *Drug Delivery System*, **20**, 138–144 (2005).
- 4) N. Ogawa, K. Higashi, H. Nagase, T. Endo, K. Moribe, T. Loftsson, K. Yamamoto, H. Ueda, Effects of cogrinding with  $\beta$ -cyclodextrin on the solid state fentanyl, *J. Pharm. Sci.*, **99**, 5019–5029 (2010).
- 5) N. Ogawa, H. Nagase, T. Endo, T. Loftsson, H. Ueda, Crystal structure of fentanyl base, *X-ray Structure Analysis Online*, **25**, 83–84 (2009).