

## 《若手研究者紹介》



## シクロデキストリン同士で形成される空間への薬物封入

東 顕 二 郎\* Kenjirou Higashi

千葉大学大学院薬学研究院製剤工学研究室

## 1. は じ め に

医薬品の溶解性や安定性は製剤中の医薬品や添加剤の分子状態に大きく影響される。そのため、製剤中に含まれる各成分の状態を分子レベルで正確に評価することは、品質管理及び製剤設計の観点から必要不可欠である。山本恵司教授が主宰されている千葉大学大学院薬学研究院 製剤工学研究室では、従来から一貫して『分子製剤学』に基づいた物性評価および製剤設計を行っている<sup>1)</sup>。筆者は学部4年次より製剤工学研究室にて、山本恵司教授、森部久仁一助教授(現准教授)、戸塚裕一助手(現岐阜薬科大学 准教授)のもとで研究生活をスタートさせた。自らの手で医薬品と添加剤を様々に組みあわせて設計した製剤を、分子レベルまでとことんその状態を解き明かしていく。優れた指導と多種多様の機器がある恵まれた環境のもと、分子製剤学研究の面白さに魅了され今日に至っている。

製剤工学研究室では、各人に与えられたテーマを遂行する責任を果たすのはもちろんであるが、学生発信の要望「他にもこれにもチャレンジしたい」「他の方法でもアプローチしたい」等は寛大に受け入れられる自由な雰囲気がある。研究の本流と異なる場合だったとしても興味深い事象が認められた際には、「この現象面白いからメカニズム追及してみた

\*2004年千葉大学薬学部卒業。2006年千葉大学大学院総合薬品科学専攻博士前期課程修了。2006年田辺製薬(現田辺三菱製薬)株式会社入社。2007年千葉大学大学院薬学研究院製剤工学研究室助教。2011年千葉大学大学院薬学研究院博士(薬学)取得。研究のモットー: 臆せずチャレンジする。趣味: 読書, 海外旅行。連絡先: 〒260-8675 千葉市中央区亥鼻 1-8-1  
E-mail: ken-h@chiba-u.ac.jp

ら?」と、むしろ先生方から積極的に推進される。

本コラムにて紹介させて頂く内容は、筆者が修士2年生の実験の予備検討を行っていた際にひょんなことから見出した事象を検討したものである。これまでの一般的な概念とは異なる事象であり、実験当初は我ながら非常に疑い深いものであった。現在ようやくその事象を把握しつつあるが、これも先生方の研究に対する懐の深さと原理原則に基づいたご指導の賜物と感謝している。シクロデキストリンが示す新しい可能性を分子製剤学の観点から検討した例として、参考までに一読して頂ければ幸いである。

## 2. 背 景

Cyclodextrin (CD) は D-glucose が  $\alpha 1 \rightarrow 4$  グリコシド結合で環状に連結したオリゴ糖の総称である (Fig. 1)。CD は構成する D-glucose の数に応じて  $\alpha$ -CD (6 個)、 $\beta$ -CD (7 個) 及び  $\gamma$ -CD (8 個) と呼ばれ、その包接能を利用した研究が広く行われてい

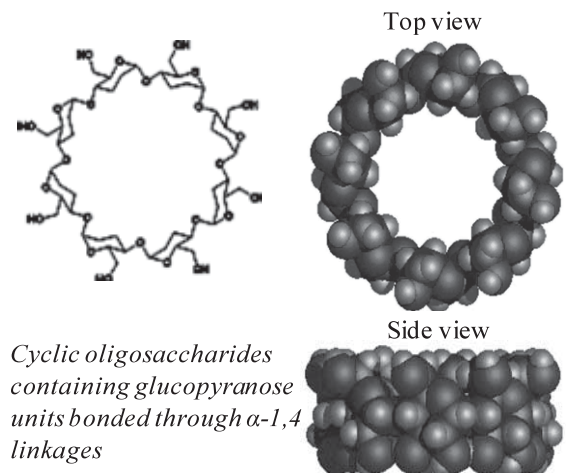


Fig. 1. Chemical structure of cyclodextrin.

る。薬学分野においては、CD 包接化合物は薬物の溶解性・吸収性改善、徐放化、安定化、味覚の改善などを目的として用いられている。その高い機能性を利用した製剤は世界中で 35 種類以上も上市されており、製剤開発において極めて重要な役割を果たしている。さらに、近年合成方法の著しい発展とともに各 CD の安価での入手が可能となったことから、今後の更なる発展が望まれている。実際に、食品分野、化粧品分野では CD の利用は顕著に広がっている。

薬物が CD と複合体を形成する場合、薬物は CD 空洞内に包接されるのが一般的である。一方、CD 結晶構造中には CD 空洞以外にも CD 同士で形成される空間にゲスト薬物が封入できるほどの比較的大きい分子空間が存在することが報告されており、その空間へ薬物を封入することができれば新しい CD 複合体の設計が可能になる。

本研究では、密封されたアンプル内で薬物とホスト化合物を加熱する密封加熱法を用いることで、ゲスト薬物が気相を介して  $\gamma$ -CD 同士で形成される空間へ封入可能となることを見出した。そして、上記の事象を利用し各種新規  $\gamma$ -CD 複合体の調製を行い、得られた複合体の構造を評価及びその製剤的応用について検討を行った。

### 3. Salicylic acid/ $\gamma$ -CD=4/1 複合体<sup>2)</sup>

密封加熱工程における  $\gamma$ -CD の水分量を変化させて調製した salicylic acid (SA) と  $\gamma$ -CD の密封加熱物 (SH) について各種物性評価を行った。UV 定量測定により複合体の化学量論比を算出した結果、 $\gamma$ -CD の水分含量が高い系の SH では SA/ $\gamma$ -CD = モル比 4/1 の複合体形成が認められた。4/1 複合体の構造を粉末 X 線回折 (PXRD) 測定により評価したところ、tetragonal-columnar 型の複合体様式をとることが明らかとなった。さらに、4/1 複合体中の SA の分子状態を固体 NMR 測定により評価したところ、2 種類の SA 分子状態が存在することが示された。 $\gamma$ -CD の空洞サイズを考えた場合、 $\gamma$ -CD の空洞内には多くても 2 分子の SA 分子しか封入できない。 $\gamma$ -CD の tetragonal-columnar 型においては  $\gamma$ -CD 同士で形成される空間にゲスト分子を封入できるチャンネル空間を有することが報告されており、この空間は  $\gamma$ -CD 1 分子に対して 2 分子の SA を十分封入可能で

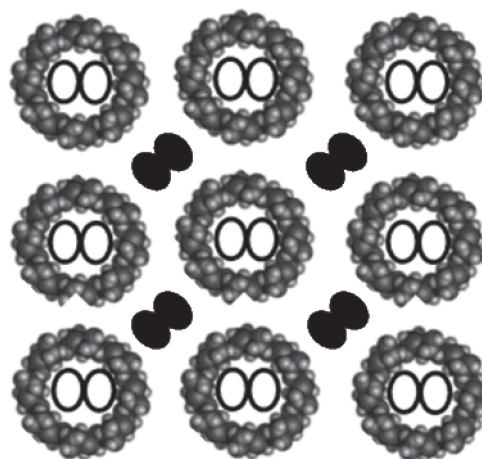


Fig. 2. Speculated structures of SA/ $\gamma$ -CD = 4/1 complex viewed from the top of  $\gamma$ -CD columns. ○: SA molecules included in the cavity, ●: SA molecules located between the intermolecular spaces of  $\gamma$ -CD columns.

ある。このことから、4/1 複合体においては、CD の空洞内及び空洞同士で形成される空間の両方に SA が 2 分子ずつ封入されていると考えられた (Fig. 2)。CD の空洞以外の空間にゲスト化合物を封入した報告例は非常に限られており、4/1 複合体は SA 2 分子を  $\gamma$ -CD 同士で形成される空間に封入しているという点で非常にユニークである。本研究で見出された知見は、新規 CD 複合体の創生、他の CD 複合体の構造解明、CD 複合体形成メカニズムの理解につながると期待される。

### 4. 薬物/ $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane 複合体<sup>3)</sup>

CD の空洞内にポリマーを包接した “CD-polypseudorotaxane” は、その特有の構造及び電気的・機械的特性から新しい機能性材料として様々な分野で注目を集めている。しかし、CD-polypseudorotaxane 中の CD 空洞内はポリマーで占有されており薬物を封入できる空間が存在しない。そのため、薬学分野における CD-polypseudorotaxane の研究・応用は非常に限られていた。ここでは、polyethylene glycol 2000 (PEG)/ $\gamma$ -CD からなる polypseudorotaxane に密封加熱法を用いて SA を封入した新規 CD 複合体の調製を行った。

複合体の調製は 2 段階ステップにより行った (Fig. 3)。まず、共沈法により PEG/ $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane を調製した。次に、SA と得られた PEG/ $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane を密封加熱することによ

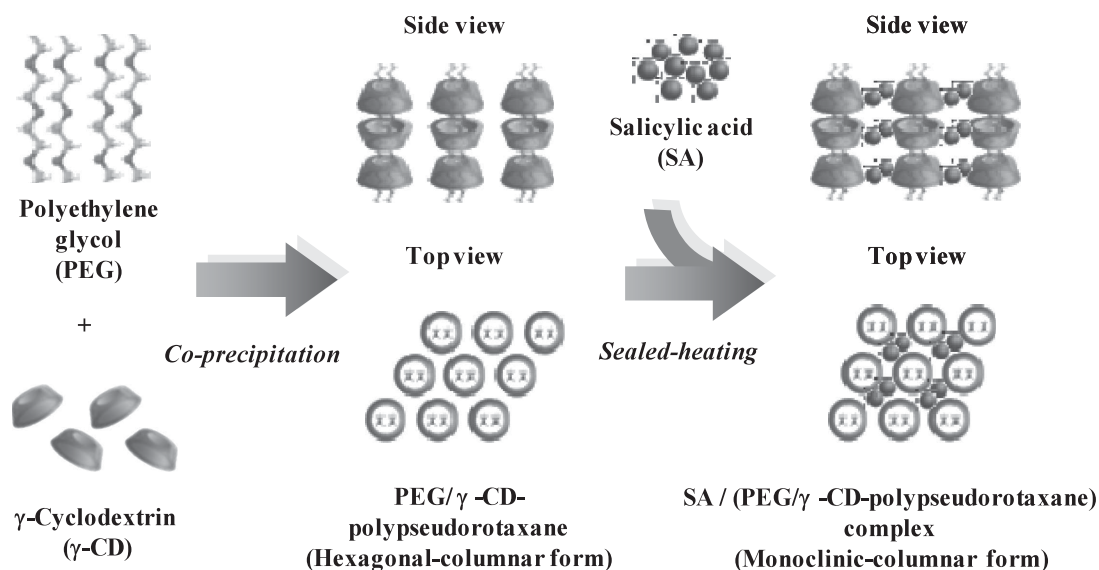


Fig. 3. Strategy for preparing a novel CD complex composed of SA and PEG/ $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane.

り SA/(PEG/ $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane) 複合体を調製した。PXRD 測定の結果より、得られた複合体の構造は  $\gamma$ -CD の monoclinic-columnar 型であり、構造中には、 $\gamma$ -CD 1 分子に対し SA が 2 分子封入されることが示された。密封加熱前の PEG/ $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane の構造は hexagonal-columnar 型であり、monoclinic-columnar 型への転移は  $\gamma$ -CD 同士で形成される空間の増大を意味している。このことから、新規複合体においては SA が  $\gamma$ -CD の column 同士で形成される空間に存在していると推察された。溶出試験の結果、SA と PEG/ $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane の複合体形成に伴い SA の溶解速度は有意に上昇することが示された。本手法を用いることにより、薬物、ポリマー及び CD の種類を変えた他の新規薬物/(ポリマー/CD-polypseudorotaxane) 複合体も調製可能であり、新しい薬物封入担体としての応用が期待できる。

#### 5. 2 種類の薬物を封入した新規 3 成分 $\gamma$ -CD 複合体<sup>4,5)</sup>

$\gamma$ -CD 空洞内及び  $\gamma$ -CD 同士で形成される空間に異なる 2 種類の薬物を封入した新規 3 成分  $\gamma$ -CD 複合体を調製し、その構造評価を行った<sup>4)</sup>。 $\gamma$ -CD の空洞内及び空洞同士で形成される空間に封入する薬物として、それぞれ flurbiprofen (FBP) 及び SA を用いた。新規 3 成分複合体は SA と FBP/ $\gamma$ -CD 包接化

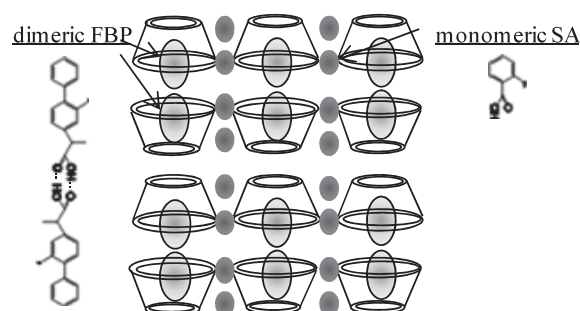


Fig. 4. Speculated structure of SA/(FBP/ $\gamma$ -CD) ternary complex as viewed from side of  $\gamma$ -CD columns.

合物を密封加熱することにより調製した。PXRD 測定の結果、SH において新規複合体の形成が認められ、またその構造は  $\gamma$ -CD の monoclinic-columnar 型であり FBP 1 分子が  $\gamma$ -CD 空洞内に包接されているのに加えて、SA 2 分子が  $\gamma$ -CD 同士で形成される空間に存在していると考えられた (Fig. 4)。3 成分複合体中の SA 及び FBP の詳細な分子状態を検討するために、<sup>13</sup>C 固体 NMR 測定を行った (Fig. 5)。3 成分複合体中の薬物のピークは、SA 結晶及び FBP/ $\gamma$ -CD 包接化合物中の FBP と比較し大きく変化するのが観察された。SA についてはピークのブロード化に加えてカルボニル炭素が高磁場シフトしており、これは単量体として  $\gamma$ -CD 同士で形成される空間に封入されたためと考えられた。一方、FBP の場合は、3 成分複合体中の FBP のピークの形状及び化

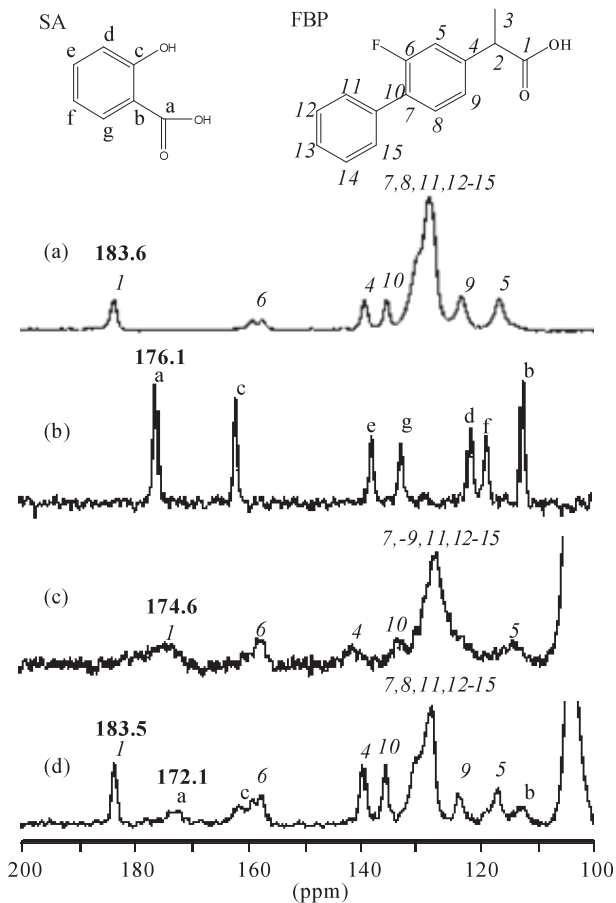


Fig. 5.  $^{13}\text{C}$  solid state NMR spectra between 100 and 200 ppm for (a) FBP, (b) SA, (c) FBP/ $\gamma$ -CD inclusion complex, (d) SA/(FBP/ $\gamma$ -CD) ternary complex.

学シフト値が2量体で存在するFBP結晶のものと類似しているのが観察された。このことから、単量体として $\gamma$ -CDに包接されていたFBPは、3成分複合体形成時に2量体へと構造変化することが示唆された。

3成分複合体の応用性を評価する目的で、ketoprofen (KPF) 及び naproxen (NPX) をそれぞれCDの空洞内及び空洞同士で形成される空間に封入するゲスト薬物として用い検討を行った。その結果、SA (KPF/ $\gamma$ -CD) 3成分複合体及びNPX (FBP/ $\gamma$ -CD) 3成分複合体の形成が認められ、他の薬物からなる3成分複合体も調製可能であることが示された。

3成分複合体の製剤的応用を検討する目的で、NPX/(FBP/ $\gamma$ -CD) 3成分複合体について溶出試験を行い、その溶解特性を評価した (Fig. 6)<sup>5)</sup>。NPX結晶とFBP/ $\gamma$ -CD包接化合物の物理的混合物 (PM) では、FBPが初期の段階でほぼ全てが溶出されるのが

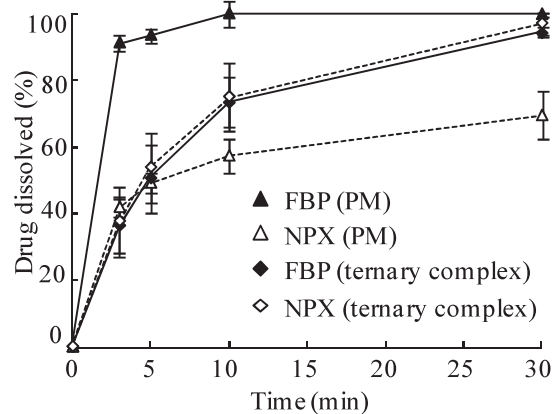


Fig. 6. Dissolution profiles of FBP and NPX from PM (crystalline NPX and FBP/ $\gamma$ -CD inclusion complex) and ternary complex in pH=4.0 acetate buffer ( $n=3$ , mean  $\pm$  S.D.).

観察された。これはFBPが $\gamma$ -CD空洞内に包接されているためと考えられた。一方PM中のNPXは結晶として存在しているため、ぬれ性が悪く遅い溶出が観察された。3成分複合体では、FBPの溶出は遅く、NPXの溶出は速くなり、NPXとFBPの溶出速度がほぼ完全に一致するのが観察された。これは、複合体化することでFBP/ $\gamma$ -CD包接化合物及び $\gamma$ -CD同士で形成される空間に存在するNPXが同時に放出されるためと考えられた (Fig. 7)。新規3成分CD複合体は特異的な溶解特性を示すことから、今後、新しい薬物放出担体としての応用が期待される。

## 6. おわりに

密封加熱法を用いることにより、ゲスト分子を $\gamma$ -CD同士で形成される空間に封入した各種新規 $\gamma$ -CD複合体の調製に成功した。新規 $\gamma$ -CD複合体は、いずれも特異的な構造を示しており、今後その特性を生かした新しい薬物封入・放出担体としての発展が期待される。特に、薬物/( $\gamma$ -CD-polypseudorotaxane) 複合体についてはrotaxaneの特異的性質を活用した複合体設計により、持続性放出又は刺激 (pH, 温度, 光) 応答性放出などの機能性薬物放出制御担体としての応用が可能と推察される。今後、薬物を封入する手段として密封加熱法以外の調製法 (混合粉碎法, 溶媒留去法, 超臨界流体を用いた方法等) を適用できれば、多種多様の薬物への応用が可能になる。また、 $\gamma$ -CDとサイズの異なる $\alpha$ -CD及び $\beta$ -CDに応用することにより、形成される複合体の

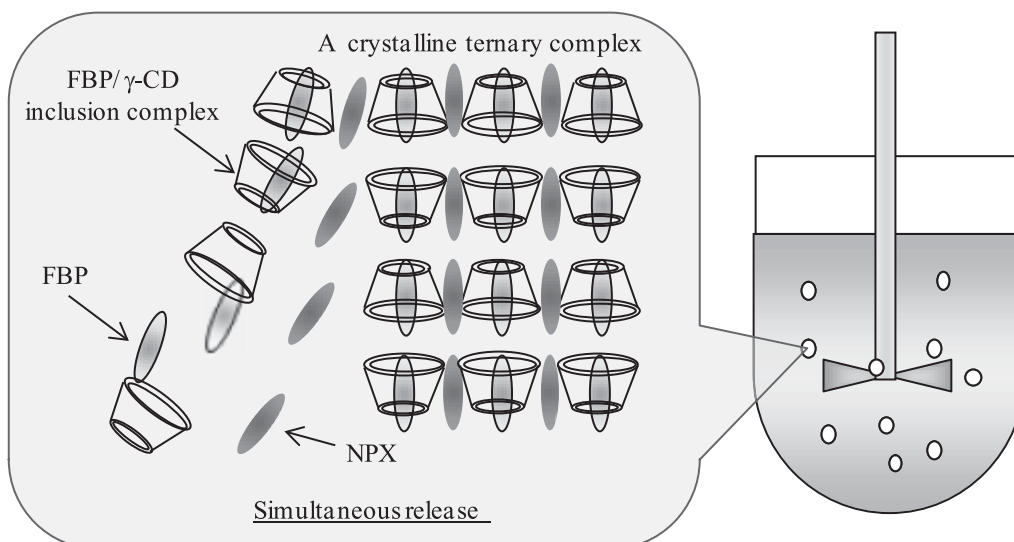


Fig. 7. Schematic representation of the dissolution of NPX (FBP/γ-CD) ternary complex.

種類はさらに広がると期待できる。本研究で見出した新規 CD 複合体の発展は、薬学領域のみならず、食品・化粧品・香料などさまざまな分野に利用できると考えられ、今後より幅広い発展が望まれる。

本研究を行うに際して、終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました山本恵司教授、森部久仁一准教授、戸塚裕一准教授に深甚なる感謝の意を表すとともに、有益なる御助言と御協力を賜りました、出浦小織様及び藁谷美香様をはじめとする製剤工学研究室卒業生の皆様に深く感謝の意を表します。

#### 引用文献

- 1) K. Yamamoto, W. Limwikrant, K. Moribe, Analysis of molecular Interactions in solid dosage forms; challenge to molecular pharmaceuticals, *Chem. Pharm. Bull.*, **59**, 147–154 (2011).
- 2) K. Higashi, Y. Tozuka, K. Moribe, K. Yamamoto, Salicylic acid/γ-cyclodextrin 2/1 and 4/1 complex formation by sealed-heating method, *J. Pharm. Sci.*, **10**, 4192–4200 (2010).
- 3) K. Higashi, S. Ideura, H. Waraya, K. Moribe, K. Yamamoto, Incorporation of salicylic acid molecules into the intermolecular spaces of γ-cyclodextrin-polypseudorotaxane, *Cryst. Growth Des.*, **9**, 4243–4246 (2009).
- 4) K. Higashi, S. Ideura, H. Waraya, K. Moribe, K. Yamamoto, Structural evaluation of crystalline ternary γ-cyclodextrin complex, *J. Pharm. Sci.*, **100**, 325–333 (2011).
- 5) K. Higashi, S. Ideura, H. Waraya, W. Limwikrant, K. Moribe, K. Yamamoto, Simultaneous dissolution of naproxen and flurbiprofen from a novel ternary γ-cyclodextrin complex, *Chem. Pharm. Bull.*, **58**, 769–772 (2010).