

粒子設計を基盤とする新しい医薬品製剤に関する研究 Studies on Novel Pharmaceutical Preparations based on Particulate Design

竹内 洋文

Hirofumi TAKEUCHI

岐阜薬科大学

Gifu Pharmaceutical University

Abstract

Particulate design means particle size control or surface modification for preparing functional particles.

Preparation of composite particles is also included in this research category. This article demonstrates recent successful results on particulate design of liposomal particles for preparing novel drug delivery systems in oral, pulmonary and ocular administration of drug. These results demonstrated that surface modification of liposomes with polymers and their particle size control can much improve the drug delivery function of liposomal carriers. Each result in particulate design research may lead to effective drug delivery and development of non-invasive drug delivery system of liposomal systems. In the research of pharmaceutical powders for solid dosage form preparation, particle design of pharmaceutical excipients can improve the compaction property in the objective powder formulation. This result demonstrated a novel preparation method of oral disintegration tablets, which is one of the most interesting dosage forms as a new category of tablet for good patient compliance.

はじめに

最終的に投与される医薬品の形を剤形あるいは製剤と言ひ、それを調製することを製剤化と言ひ。医薬品の製剤化には様々な目的があり、その設計には粒子の設計・加工がキーになることが多い。最近の製剤開発の動向を見てもわかるように、その目的、形態は様々であり、求められる機能も多様化している。

薬物は体内に入って初めて効果を表すため、その投与方法の選択は重要である。その形態によって必要な粒子設計・加工は異なる。例えば、通常注射で直接体内に入れる必要がある薬物を、吸い込んで肺から吸収させる等の試みもなされている。その場合、吸い込んだ粒子がどこまで届くか、そしてどの程度吸収されるか等は粒子設計によって大きく左右される。

一方、最も一般的な剤形といえる錠剤の設計においてもその構成成分である粉体粒子の設計は重要である。圧縮成形の可否が医薬品添加剤の粒子設計・加工

により変化する場合もある。また、同じ錠剤でも、口腔内崩壊錠、チュアブル錠、トローチ剤など様々なものがあり、いずれの錠剤も異なる目的を有し、種々の工夫によって調製されている。この内、口腔内速崩壊錠は、口の中で速やかに崩壊し、嚥下を助ける工夫がされた錠剤であり、近年多くの製品が上市されている。嚥下困難な高齢者はもちろんのこと、水分の制限された患者などの利便性を考えた製剤であり、患者さんの利便性を第一とした剤形設計と言ひえる。

我々の研究室では、長年に亘り、微粒子から錠剤、顆粒の様な固形製剤の構成成分であるいわゆる粉体の設計まで、医薬品製剤を粒子設計の立場から研究してきた。本講では、その両者の代表的な研究、現在のニーズにマッチした新しい医薬品製剤研究を取り上げ紹介させて戴く。

1. 薬物微粒子キャリアーの設計

1.1 ポリマーコーティングリポソーム

生体成分あるいはそれと類似の機能を有するペプチドおよびタンパクは、医薬品として大きな注目を集めている。しかし、一般的に安定性に乏しく、また高分子であることから生体膜透過性も低い。それを薬剤として体内に投与するためには、これらの点を克服するための製剤設計が必要である。リポソーム、高分子ナノスフェアなどの微粒子キャリアーを用いる製剤化は、ペプチドおよびタンパク性薬物の生体内での安定化をもたらすと同時に、膜透過に対しても促進効果が期待されている。

我々は、微粒子キャリアーの一つであるリポソームを用いてペプチド性薬物の生体への投与方法に関して検討をしてきた。特に、リポソーム表面をポリマーで修飾することにより機能化することを企図し、いくつかの表面修飾手法、機能化を示すことに成功した。リポソームは表面電荷を自由に制御できること、水溶性高分子に導入した疎水基がリン脂質二重膜に貫入するこ

とを利用して、いくつかのポリマーを用いてリポソーム表面を修飾する手法を確立した¹⁾。代表的なポリマーコーティング手法を模式的に図1に示す。

これらのポリマーコーティングリポソームの機能に関して、以下に、研究事例を示す。

1.2 経口投与によるペプチド医薬品の消化管吸収

キトサンで表面修飾したキトサンコーティングリポソーム (CS-Lip) に期待された機能は消化管粘膜との親和性向上による付着性付与である。この機能は、経口投与後の消化管での粒子の滞留時間を増大させることに繋がると考えられた。実際、摘出したラット腸管を用い、そこに封入したリポソーム懸濁液の粒子数を封入直後、一定時間インキュベート後にコールターカウンターで計数して比較する *in vitro* 評価法を確立し、CS-Lip が最も大きな粘膜付着力を有していることを明らかにした^{2,3)}。

CS-Lip に代表的なペプチド薬物であるインスリン (糖尿病薬) を封入してラットに経口投与して、薬理効果 (血糖値の変化) が持続的に低下することを明ら

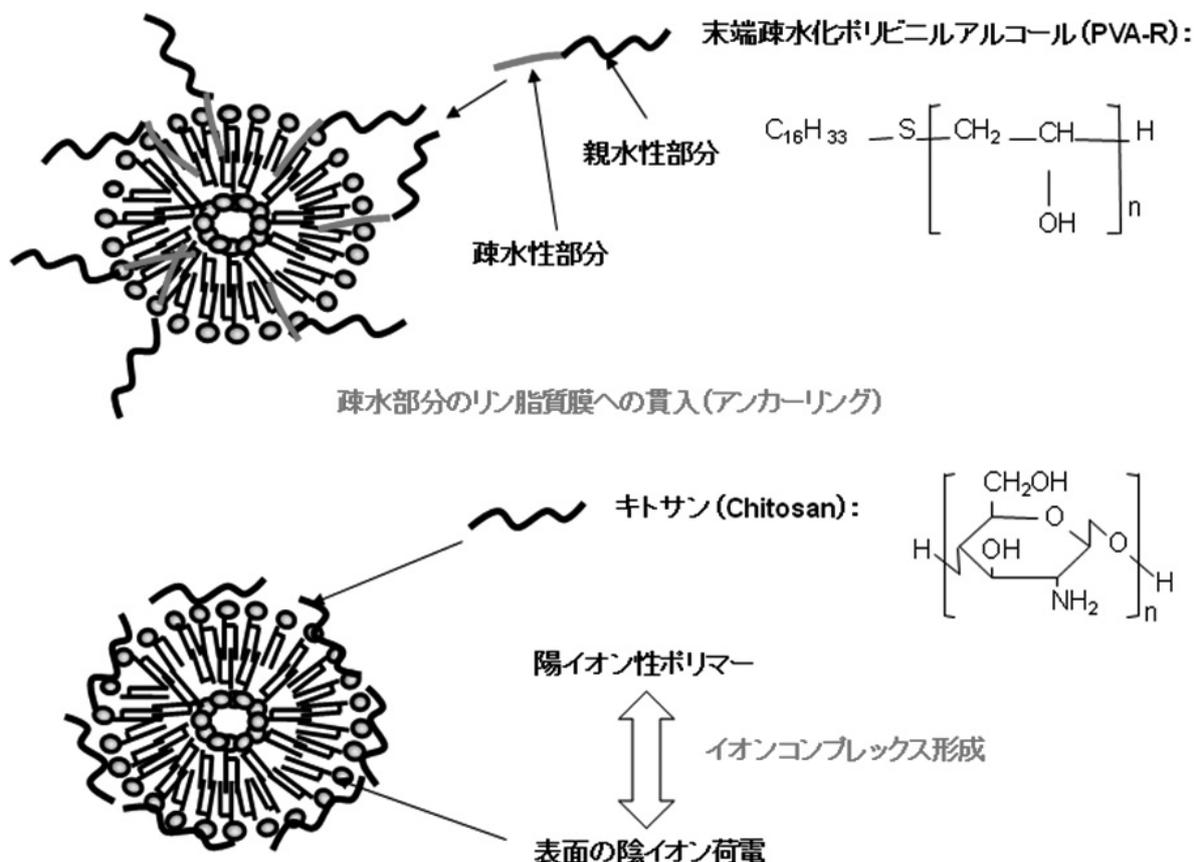


図1 代表的なポリマーコーティングリポソーム

かにした^{2,3)}。別のペプチド性薬物カルシトニンを封入した場合も、ラットに経口投与後の薬理効果（血中カルシウム濃度の低下）が確認された⁴⁾。いずれの場合も、ポリマー溶液に薬物を溶解して投与してもこのような効果は認められず、微粒子製剤化する必要性が確認されている。カルシトニンを封入したりポソームをサブミクロンサイズまで小さくして (ssLip)、同様な評価を行ったところその効果は向上した。さらに、キトサンでコーティング (CS-Lip) したものをサブミクロン化した場合 (ssCS-Lip) はその薬理効果が極めて長時間に渡って持続することが明らかとな

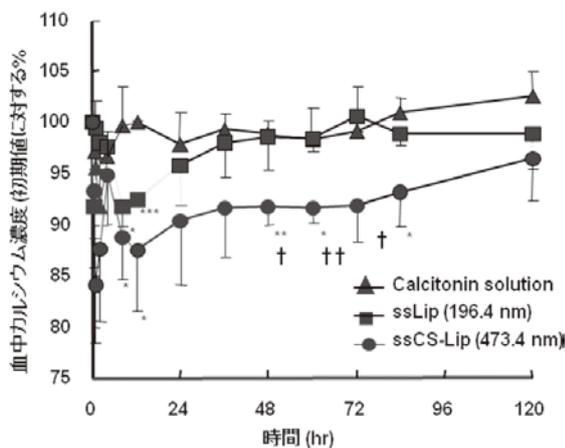


図2 カルシトニン封入微細リポソームをラットに経口投与した後の血中カルシウム濃度の変化

った^{5,6)} (図2)。

上述の実験結果に基づいて、消化管内での微粒子の挙動を詳細に評価した。そのために、脂溶性蛍光マーカー DiI を封入したりポソームをラットに投与後、腸管を取り出し、部位毎に切片を作成して共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) で観察した^{5,6)}。その一例として Fig.3に MLV リポソーム (Lip)、サブミクロン化リポソーム (ss-Lip)、それらをキトサンコーティングしたもの (CS-Lip および ssCS-Lip) の4種について、投与2時間後という同一な条件で、評価した結果を示す。これらの、CLSM 写真を比較すると、キトサンコーティングすることにより粒子の滞留性が向上していることが分かる。同様な実験を経時的にまた消化管各部位に関して行い比較した結果、ssCS-Lip は、Lip はもとより、CS-Lip, ss-Lip と比較して、より消化管上部に滞留する傾向が強いことが明らかとなった。また、図3から観察される特筆すべき点は、ss-Lip, ssCS-Lip に関しては粘膜内の basolateral 側に粒子の存在が確認されたことである。これらの観察は、粘膜内に粒子が浸入していることを強く示唆している。

粘膜付着に関しては、キトサンに限らずいくつかの水溶性ポリマーでもその特性を付与できることが明らかとなっている。最近の我々の研究では、ペクチンにその作用があることが判明しており、キトサンコーティングリポソーム同様に、カルシトニンの薬理効果の

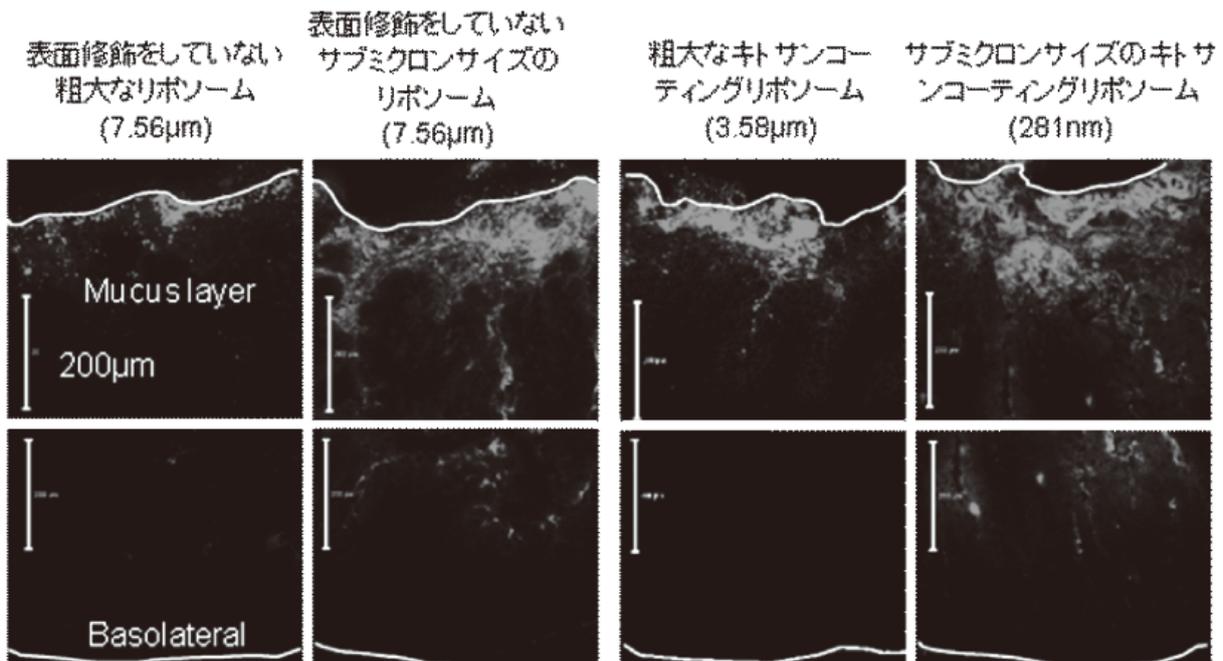


図3 ラットに蛍光色素 (DiI) 封入リポソームを経口投与2時間後の腸管断面 (空腸下部) の共焦点レーザー顕微鏡写真

持続を報告している⁷⁾。一方、レクチンのように、特異的な相互作用により消化管粘膜と結合する物質も報告されている。我々は、最近このレクチンを粘膜付着性ポリマーにコンジュゲートしてリポソーム表面修飾に用いその効果が増大することを明らかにしている⁸⁾。さらに、キトサン-アプロチニン、ポリアクリル酸チオール化なども特徴のあるリポソームの表面修飾を可能とし、類似の薬物送達機能があることも判明しつつある⁹⁻¹¹⁾。

1.3 表面修飾リポソームの経肺投与への応用

肺は、消化管と同様吸収面積が大きく、上皮細胞の厚みも薄いことからペプチド性薬物の投与、吸収部位として大きな期待が寄せられている。そこで、経口投与時にペプチド性医薬の吸収性を改善した粘膜付着性(キトサン修飾)リポソームを、経肺投与製剤として応用することを試みた。カルシトニンを封入したキトサン修飾リポソームを用いてラットへ経肺投与を行った結果、経肺投与されたキトサン修飾リポソームは持続的に血中カルシウム濃度を低下させることが明らかとなった¹²⁾。肺は消化管とは異なり閉鎖系であるため、経口投与の場合と比べると未修飾のリポソームも持続的に効果を示したが、投与後24時間のカルシウム濃度で効果を比べると、キトサン修飾リポソームの方が、有意にその効果が大きく、また、持続性も大きいことが分かった。

いくつかの表面修飾リポソームの肺内挙動を評価し

たところ、キトサン及び部分疎水化ポリビニルアルコール (PVA-R) を表面修飾剤として用いたポリマーコーティングリポソームがそれぞれ特色のある挙動を示すことが明らかとなった(図4)。表面修飾リポソームをラットへ経肺投与した後、気管支肺胞洗浄液(BALF)及び肺組織中に残存するリポソームを定量し、それらの表面修飾リポソームの肺内投与後の挙動を比較した。その結果、キトサン修飾リポソームはBALFよりも肺組織に残留し、PVA-R修飾リポソームは逆にBALFにより多く残留することが明らかとなった。PVA-Rにより表面修飾したリポソームでは、PVAの立体的なコーティング層により生体との親和性が制御されていることが推定される。さらに、実際にカルシトニンを封入してこれらのポリマー修飾リポソームの薬理効果を評価したところ、いずれの場合においても薬理効果がより持続化することが明らかになっている。PVA-Rの場合には、薬物はリポソームに封入されたまま肺内に滞留し徐々に放出されるため、このような薬効の持続化を示したと現時点では結論している。

1.4 点眼による薬物の後眼部送達

後眼部に存在する網膜は、人がものを見るのに重要な役割をはたしており、この部分での疾患は視野狭窄、あるいは失明といった重篤な症状へと繋がる。わが国においても急速な高齢化に伴い緑内障、糖尿病網膜症、加齢黄斑変性症、網膜色素変性症などの後眼部

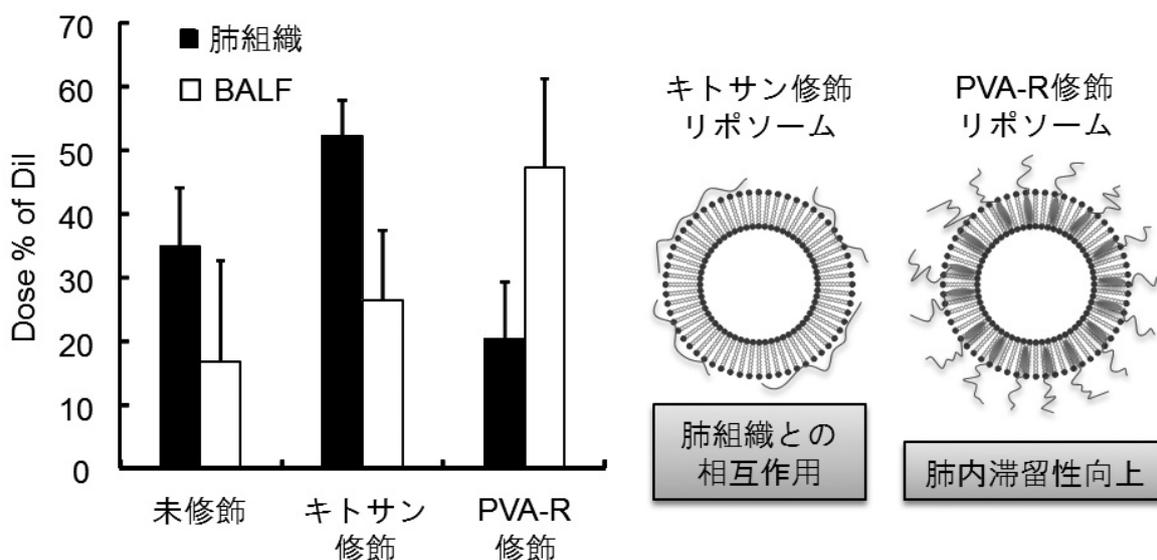


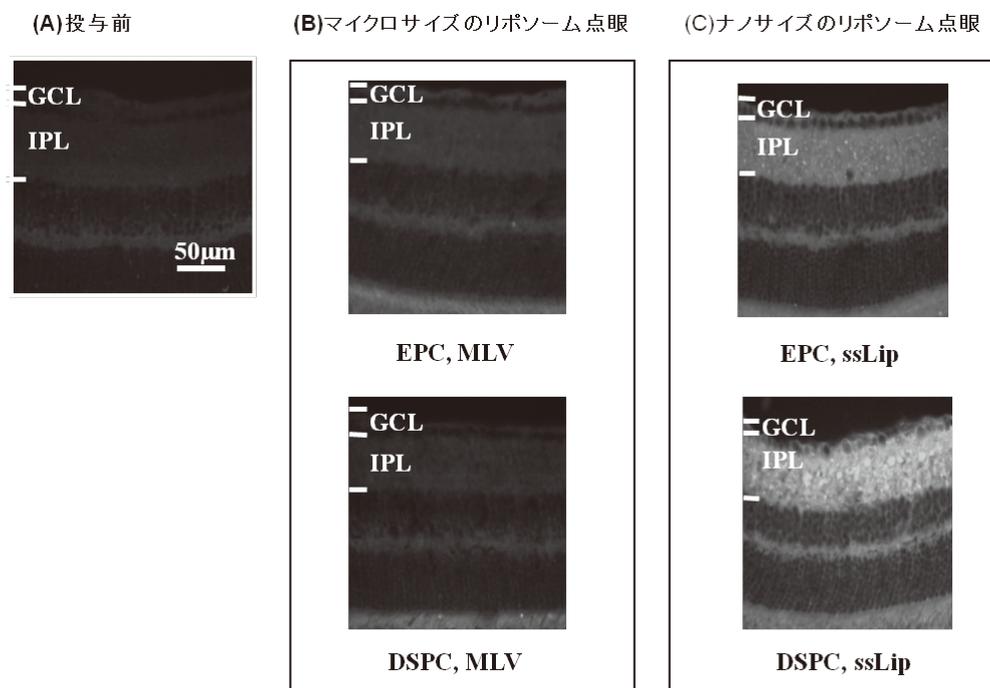
図4 ラットへ経肺投与後の表面修飾リポソームの肺内挙動

疾患が急増し（推定潜在患者数1000万人）、有効な薬物療法が望まれている。後眼部への薬物送達が必要な場合には、現在は、眼の硝子体内へ直接薬物溶液を注射する侵襲的投与方法が主体であり、点眼では後眼部に薬物を送達できないと言われている。眼球への注射は、眼球に傷をつけること、繰り返し投与した場合の副作用の回避が難しいことなどの多くの問題を抱えている。

前述の経口投与後のリポソーム微粒子の挙動の解析に基づき、点眼製剤にもこの知見を応用することを検討している。培養細胞を用いた *in vitro* 試験において眼粘膜においても同様な微粒子薬物キャリアーの効果があることを確認した上で、実際にマウスを用いて蛍光マーカーを封入したリポソーム懸濁液を点眼し、網膜を観察したところ、ナノサイズのリポソーム粒子は後眼部に届いていることが示された¹³⁾。図5にその一例を示すが、リポソーム粒子のサイズ、脂質の種類（リポソームの硬さ）を制御することによりその程度が異なることがわかっている。

点眼リポソームに関してもポリマー表面修飾による粒子設計が有効であることも分かりつつある¹⁴⁾。一つ

は、リポソーム内に抗炎症薬のジクロフェナクナトリウムを封入する際に、酢酸カルシウム勾配法により、ほぼ全量の薬物を内水相に封入した DSPC リポソームを調製することができたが、粒子径が増大する傾向にあり、一部のリポソームの凝集が認められた。そこで、PVA や部分疎水化PVA (PVA-R) で表面修飾することにより、薬物封入時に生じるリポソームの凝集を抑制することができ、粒子径を約100 nm にすることができた。これまでの検討で、眼内移行においては、粒子径を小さくする程効果が高いことが判っており、この表面修飾により送達効率を確保できている。もう一つは、眼表面と積極的に相互作用すると考えられるポリマーでナノサイズのリポソームを表面修飾して滞留性を高める可能性を検討している。現在までの検討で、ポリ-L-リジン (PLL) を適正な濃度で使用すると、リポソーム粒子の凝集を起さず、表面修飾可能なことが判っている。また、PLL の分子量に関しても最適なもの (PLL15000 (MW ; 15000-30000)) があることも明らかになっている。これまでの検討では、生体の相互作用の点では、分子量の大きい方が有利であったが、点眼の場合は、送達効率の粒子径への



GCL : ganglion cell layer 神経節細胞層
IPL : inner plexiform layer 内網状層

図5 蛍光マーカー（緑色）を封入したリポソームをマウスに点眼して30分後に観察した網膜の共焦点レーザー顕微鏡画像

依存度が大きく、あまり分子量が大きすぎると多少の凝集が起こることが原因となり送達効率が低下したものの考えている。

2. 口腔内崩壊錠設計のための粒子設計

口腔内崩壊錠の設計は、今最も注目を集めている固形製剤の研究である^{15, 16)}。我々も、粒子設計を基本にして、新しい調製法、それを形作る賦形剤、結合剤の研究を行ってきた。

2.1 シリカ複合化粒子を利用した口腔内速崩壊錠設計

口腔内崩壊錠の新しい設計法として、低成形性賦形剤粉体の一部を多孔性シリカと共に噴霧乾燥し複合化(コンポジット化)する手法を開発した。このコンポジット粒子をもとの低成形性粉体に適量混合することにより成形性を大きく改善できることを明らかにしている¹⁷⁻²⁰⁾。この原理を用いて新しい簡便な口腔内崩壊錠の設計法を提案した²¹⁾。

エリスリトールは極めて成形性の低い糖アルコールである。このエリスリトールにコンポジット粒子(10%w/w)、種々の崩壊剤(2, 5, 10%)及び滑沢剤のステアリン酸マグネシウム(0.2%)を混合して直接打錠した。得られた錠剤の硬度は、添加する崩壊剤の種類、添加量により多少の変化が確認された。例えば、崩壊剤としてcl-PVP, Ac-Di-Sol及びCMC-Caを用いた場合、含量10%では錠剤の引張強度が低下した。しかし、いずれも1.0MPa以上の実用上十分な引張強度を保持していた。これらの圧縮特性を評価したところ、引張強度が低下した際には錠剤の空隙率も増大していたため、引張強度の減少は崩壊剤の弾性回復のためと推察された。崩壊特性を評価したところ、図6に示すように、崩壊剤としてクロスポビドン(cl-PVP)を10%添加した処方、約15秒と最も短い口腔内崩壊時間を示した。

これらの知見に基づき、cl-PVPを10%添加した口腔内速崩壊錠に数種のモデル薬物を処方した。薬物の添加により錠剤の引張強度が若干低下したが、圧縮圧を150MPaに増大させることによりいずれの薬物を用いた場合でも口腔内崩壊時間14~20秒、錠剤の引張強度1.2~1.7MPa程度と十分な崩壊性と強度を有した口腔内崩壊錠を調製することができた。

2.2 賦形剤と崩壊剤の共粉碎による粒子設計

口腔内崩壊錠に最も汎用されている崩壊剤クロスポビドンには粒子径の異なるグレードがある。この内、最も粒子径の小さいグレード(CL-M)は、同一処方と比べると他のグレードに比較すると崩壊時間が遅くなる²²⁾。さらに、その吸湿性も相対的に高く、保存時の経時変化が大きいことも知られている。この問題を解決するため、賦形剤として用いるマンニトールが経時安定性に優れることを利用して、CL-Mと共粉碎することで錠剤特性を改善することを試みた。その結果、錠剤処方中の10%分のマンニトールを等量のクロスポビドン(CL-M)と振動ボールミルで共粉碎し、残りのマンニトールと混合し打錠することで、40℃、RH75%の保存条件下でも、崩壊特性、硬度の変化を著しく改善できることを見出した²³⁾。

2.3 結合剤の粒子設計

成形性に乏しい医薬品粉体、賦形剤から錠剤を調製するときには、結合剤を処方するのが普通である。口腔内崩壊錠の場合は、結合剤によって速やかな崩壊特性を損なうことが懸念される。そこで、我々ではできるだけ少量の結合剤で効率よく成形性を向上させる方針で検討を進めた。その結果、噴霧乾燥法あるいはハイパルコン法を用いて粒子径を極めて小さくすることにより、少量の添加で成形性を高め得ることを明らかにした²⁴⁾。粒子径の異なるHPC-Lおよびそれを結合剤として低成形のエリスリトールを打錠し、硬度を評価した結果を図7に示す。図中SD噴霧乾燥により製した粒子である。図からわかるように、粒子径の小さい噴霧乾燥品(SD-1, SD-2)では市販グレードのHPC-L(C-f, C-s)よりはるかに硬度が高くなった。一方、錠剤の崩壊特性は大きな差異はなかった。噴霧乾燥法によってより硬度が高くなったのは、結合剤の混合時にその球状の形態からより均一な混合ができたためと推定している。

おわりに

医薬品製剤設計の基本となる粒子設計に関し、微粒子設計、粉体粒子設計のそれぞれの代表的な我々の研究を紹介した。最初に述べたように、医薬品製剤はますます多様化しており、ここに述べた研究はほんのその一面を捉えているにすぎない。薬学の基本である、患者さんのための製品開発、そのための研究という基

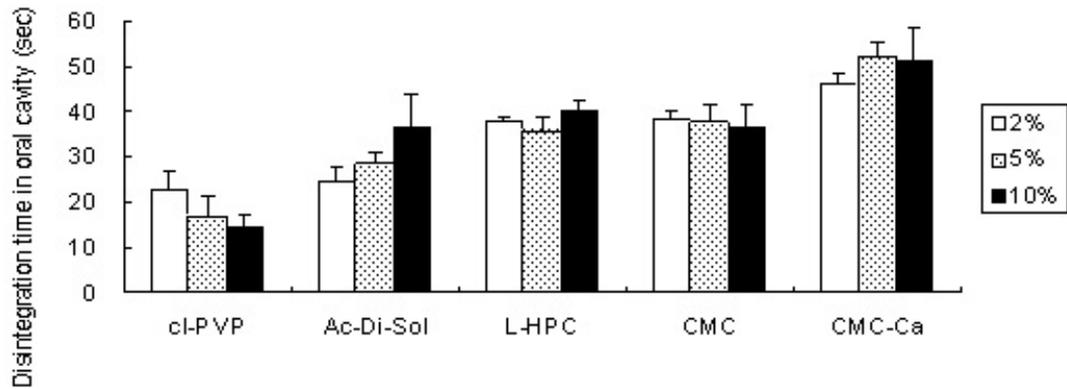


図6 シリカコンポジット粒子法により調製した口腔内速崩壊錠の崩壊時間に及ぼす崩壊剤の種類の影響 (図中の%は崩壊剤の含量を示す)

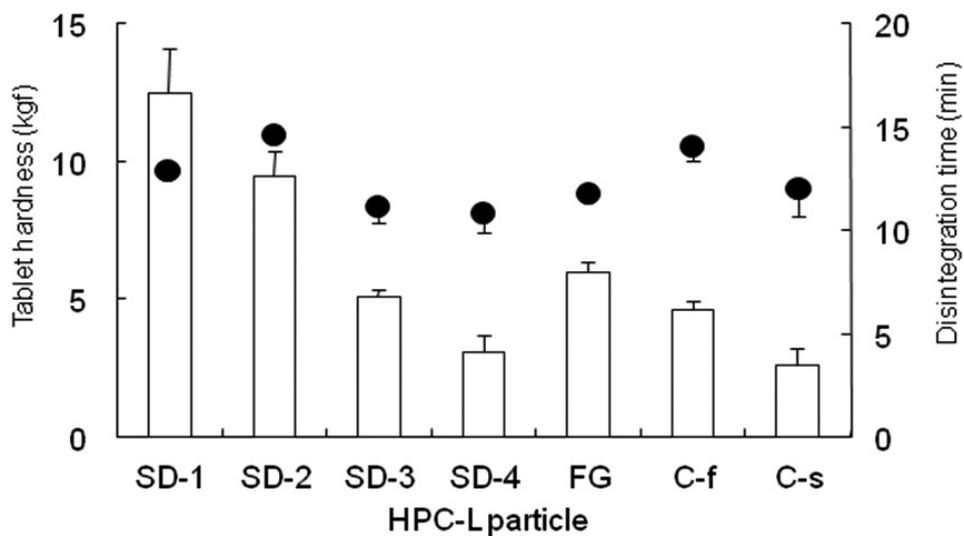


図7 粒子径の異なる HPC-L を結合剤として調製したエリスリトール錠剤の硬度と崩壊時間

表1 微粒化した HPC の粒子径

HPC-L	Particle size (μm)					
	D ₁₆		D ₅₀		D ₈₄	
SD-1	4.8	± 0.1	10.5	± 0.6	20.8	± 1.3
SD-2	14.1	± 0.5	27.1	± 1.6	47.8	± 4.3
SD-3	30.9	± 1.4	55.1	± 3.0	114.3	± 25.6
SD-4	55.3	± 3.7	121.5	± 15.0	197.4	± 14.4
FG	7.5	± 0.9	20.3	± 2.5	43.0	± 5.9
C-f	21.7	± 1.0	54.1	± 1.7	93.3	± 15.9
C-s	41.0	± 2.4	103.6	± 6.7	192.9	± 14.7

本方針の下に今後も研究室の同僚，学生，及び共同研究関係者と共に研究を進展させていきたい。ここに紹介した研究を初め，これまで一緒に研究に関わってくださった関係諸氏に紙面を借りて御礼申し上げたい。

参考文献

- 1) Takeuchi H., Kawashima Y. (1994): Pharmaceutical research on liposome and lipid microsphere as a drug carrier. *Hyoumen*, 32, 423-429.
- 2) Takeuchi H., Yamamoto H., Niwa T., Hino T., Kawashima Y.: Mucoadhesion of polymer-coated liposomes to rat intestine in vitro, *Chem Pharm Bull.* 42: 1954-1956 (1994).
- 3) Takeuchi H., Yamamoto H., Niwa T., Hino T., Kawashima Y.: Enteral absorption of insulin in rats from mucoadhesive chitosan-coated liposomes, *Pharm Research* 13: 896-901 (1996).
- 4) Takeuchi H., Matsui Y., Yamamoto H., Kawashima Y.: Mucoadhesive properties of Carbopol or chitosan-coated liposomes and their effectiveness in the oral administration of calcitonin to rats, *J Control Release* 86: 235-242 (2003).
- 5) H. Takeuchi, H. Yamamoto, Y. Kawashima: Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery, *Adv Drug Delivery Reviews* 47: 39-54 (2001).
- 6) Takeuchi H., Matsui Y., Sugihara, H., Yamamoto H., Kawashima Y.: Mucopenetration of submicron-sized, chitosan-coated liposomes designed for oral administration of peptide drugs. *Int. J. Pharm.* 303, 160-170 (2005).
- 7) N. Thirawong, J. Thongborisute, H. Takeuchi and P. Srimornsak Improved intestinal absorption of calcitonin by mucoadhesive delivery of novel pectin-liposome nanocomplexes, *J. Controlled Release*, 125 (3): 236-245 (2008).
- 8) M. Werle, A. Makhlof, H. Takeuchi, Carbopol-lectin conjugate coated liposomes for oral peptide delivery. *Chem. Pharm. Bull.*, 58 (3), 432-4, (2010).
- 9) M. Werle, H. Takeuchi, Chitosan-Aprotinin coated Liposomes for Oral Peptide Delivery: Development, Characterisation and In Vivo Evaluation, *Int. J. Pharm.*, 370 (1-2): 26-32. (2009).
- 10) M. Werle, K. Hironaka, H. Takeuchi: Development and in vitro characterization of liposomes coated with thiolated poly (acrylic acid) for oral drug delivery, *Drug Dev Ind Pharm.* 35: 209-215 (2009).
- 11) M. Werle, H. Takeuchi, A. Bernkop-Schnurch, Modified chitosans for oral drug delivery; *J. Pharm. Sci.*, 98, 1643-1656 (2009).
- 12) Murata M., Nakano K., Tahara K., Tozuka Y., Takeuchi H., *European J. Pharm. and Biopharm.*, 80, 340-346 (2012).
- 13) K. Hironaka, Y. Inokuchi, Y. Tozuka, M. Shimazawa, H. Hara, H. Takeuchi: Design and evaluation of a liposomal delivery system targeting the posterior segment of the eye. *J. Control. Release.*, 136, 247-253 (2009).
- 14) Fujisawa T, Miyai H, Hironaka K, Tsukamoto T, Tahara K, Tozuka Y, Ito M, Takeuchi H. Liposomal diclofenac eye drop formulations targeting the retina: Formulation stability improvement using surface modification of liposomes. *Int J Pharm.* 436: 564-567, 2012.
- 15) 竹内洋文 (監修): 「医薬品製剤化方略と新技術」シーエムシー出版, (2007).
- 16) PLCM (耕薬) 研究会編: すべてがわかる 口腔内崩壊錠ハンドブック, じほう (2012).
- 17) Takeuchi, H., S. Nagira, H. Yamamoto, Y. Kawashima: *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 15, 177-182 (2005).
- 18) Takeuchi, H., S. Nagira, H. Yamamoto, Y. Kawashima: *Chem. Pharm. Bull.*, 53, 487-491 (2005).
- 19) 谷村信爾, 柳楽 慎介, 山本浩充, 竹内洋文, 川島嘉明, 第42回粉体に関する討論会講演論文集, 132-135 (2004).
- 20) 谷村信爾, 川添博義, 山本浩充, 竹内洋文, 2005年度粉体工学会秋期研究会講演要旨集, 99-100 (2005).
- 21) 谷村信爾, 竹内洋文, 山本浩充, 川島嘉明, 第22回製剤と粒子設計シンポジウム講演要旨集, 273-

276 (2005).

- 22) 勝野英里, 竹内淑子, 田原耕平, 竹内洋文 :
PLCM (耕薬) 研究会 第7回シンポジウム講演
要旨集, 1-5 (2013).
- 23) Katsuno E., Tahara K., Takeuchi Y., Takeuchi
H. : Powder Technology, accepted (2013).
- 24) 谷村信爾, 川添博義, 山本浩充, 竹内洋文 : 粉体
工学会誌, 43, 648-652 (2006).

Captions

- Fig. 1 Schematic presentation of polymer-coated
liposomes
- Fig. 2 Profile of plasma calcium level after
intra-gastrical administration of sub-
micronized liposomes containing calcitonin
- Fig. 3 Confocal laser scanning micrographs of

Jejunum lower part in intestinal tract at 2 hr
after intra-gastrical administration of various
liposomes (Lips)

- Fig. 4 Behavior of polymer-coated liposomes
administered in lung of rats
- Fig. 5 Retinal images of frozen sections of eye bowl
with fluorescence microscopy 30min after
administration of liposomes containing
fluorescence marker
- Fig. 6 Effect of the type of disintegrant on
disintegration time of oral disintegrating
tablets prepared with silica composite
particles
- Fig. 7 Hardness and disintegration time of oral
disintegrating tablets of erythritol prepared
with HPC-L as a binder