

## 16. 過飽和製剤処方最適化及び経口吸収性評価法の確立

森部 久仁一

千葉大学 大学院薬学研究院 製剤工学研究室

Key words : 過飽和, 非晶質, 結晶化抑制作用, HPMC-AS, NMR

### 緒言

近年、難水溶性薬物の消化管での溶解性・吸収性を改善する目的で過飽和を形成する非晶質固体分散体やナノ製剤が研究されている。過飽和状態とは、熱力学的に不安定な状態で、時間がたつと安定な状態（結晶の溶解度）に戻る。非晶質薬物を単独で溶解させると薬物過飽和状態が維持される時間は通常短い。一方、高分子添加剤（例：ヒプロメロースアセテートサクシネート（HPMC-AS）など）と共に薬物を非晶質化した固体分散体を用いることで過飽和維持時間が延長することが知られている。高分子による薬物過飽和安定化作用は薬物の吸収性に影響するがその詳細は不明である。さらに、固体分散体の物性に加えて消化管溶液成分、とくに脂質や胆汁酸に薬物が分配・可溶化するため、それが膜透過性に影響する。消化管溶液成分存在下で過飽和溶解した薬物の挙動を評価することで、複雑な薬物の膜透過機構が明らかになる。近年、溶解・膜透過過程を同時に評価するシステムも開発されてきた。本研究では、胆汁酸及び脂質を含む人工消化管溶液中における HPMC-AS の薬物結晶化抑制作用を評価した。さらに、薬物過飽和溶液の結晶化に伴う分子状態の変化を溶液 NMR 測定により追跡し、過飽和状態における薬物分子状態を評価した。

### 方法、結果および考察

#### 1. HPMC-AS による結晶化抑制作用

難水溶性薬物としてデキサメタゾン（DEX）を、結晶化抑制剤として HPMC-AS を用いた。HPMC-AS はアセチル基/サクシノイル基比の異なるものが市販されており、この比率が高いほど結晶化抑制作用が強い<sup>1)</sup>。今回は結晶化抑制作用が最も強い HF グレードを用いた。また消化管モデル溶液用の胆汁酸及び脂質としてタウロコール酸 Na (NaTC) 及び卵黄レシチン (egg-PC) を用いた。食餌人工腸液 (FeSSIF) は、ハンクス緩衝液 (HBSS, pH6.8) に NaTC 及び egg-PC を溶解させて調製した。HPMC-AS 溶液中に 100 mg/mL の DEX DMSO 溶液を 1% (v/v) 添加して DEX 過飽和溶液を調製した。その後、37 °C で振とうし、経過時間ごとに DEX 濃度を HPLC で定量した。Fig. 1 には HBSS 及び FeSSIF 中における HPMC-AS の結晶化抑制作用を評価した結果を示す<sup>2)</sup>。HBSS 溶液中では、平衡時の DEX 濃度は HBSS と比較して FeSSIF 中で改善した。胆汁酸及び脂質からなる複合ミセルに DEX が可溶化されたことが原因と推察した。

一方、HPMC-AS 含有 HBSS 溶液中では DEX 濃度低下が遅延し、DEX の結晶化抑制作用は HPMC-AS 濃度の上昇と共に増強した。HPMC-AS による薬物結晶化抑制作用は FeSSIF 中でも観察され、特に初期に HPMC-AS 含有 HBSS 溶液よりも強い作用が認められた。これは、複合ミセルへの可溶化による DEX 過飽和度の減少及び HPMC-AS による薬物結晶化抑制が共に働いたことが原因と考察した。

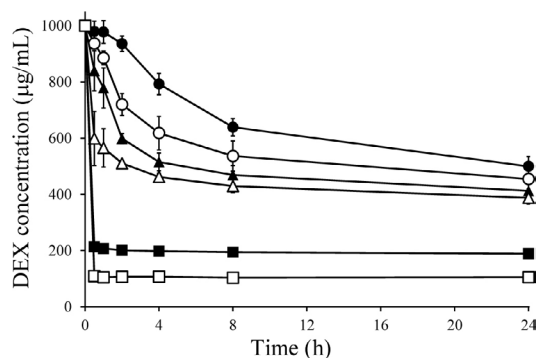


Fig. 1. Concentration profiles of DEX in HBSS containing HPMC-AS at (○) 2,000  $\mu\text{g/mL}$ , (△) 500  $\mu\text{g/mL}$ , and (□) 0  $\mu\text{g/mL}$ , and in FeSSIF containing HPMC-AS at (●) 2,000  $\mu\text{g/mL}$ , (▲) 500  $\mu\text{g/mL}$ , and (■) 0  $\mu\text{g/mL}$  ( $n = 3$ , mean  $\pm$  S.D.)

Initial DEX concentrations in each solution were 1,000  $\mu\text{g/mL}$ .

## 2. 溶液 $^1\text{H}$ NMR 測定

Fig. 2 には DEX の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを示す<sup>2)</sup>。HBSS 中と比較して、FeSSIF 中では DEX の Hc ピークの高磁場側シフトが認められた。バルク水中と比較して疎水的な環境であるミセル内部へ DEX が封入され、DEX ピークのケミカルシフト値が変化した。HPMC-AS が溶解した FeSSIF 中でも同様のケミカルシフト値の変化が認められ、その変化量は HPMC-AS を含まない溶液と同一であった。ケミカルシフト値の変化及び変化量は、ミセルへの薬物分配比を反映することから、複合ミセル中への薬物分配は HPMC-AS の共存の影響を受けないことが示された。またこの変化量は薬物の仕込み量に依存しないことから、FeSSIF 中に存在する複合ミセル中への DEX の分配は DEX の過飽和形成や HPMC-AS の結晶化抑制作用にかかわらず一定に保たれていることが明らかとなった。一方、HPMC-AS 添加により、薬物ピークのプロード化が認められ、HPMC-AS 共存下において DEX の分子運動性が抑制されていることが予想された。

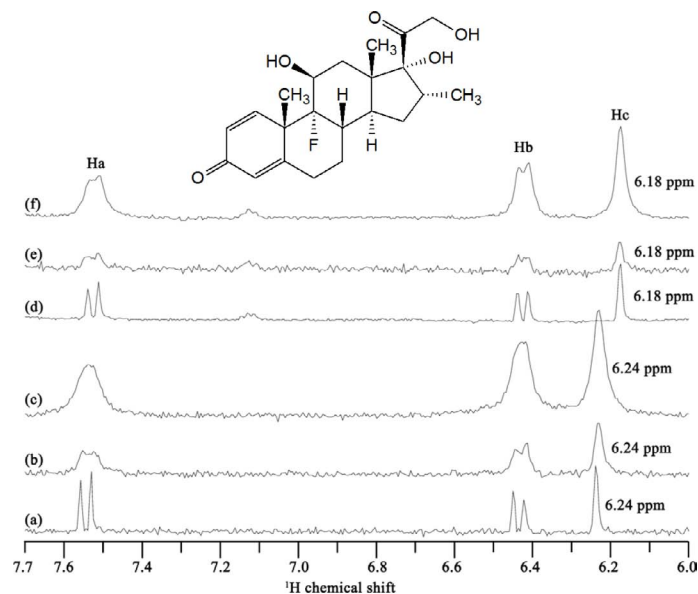


Fig. 2.  $^1\text{H}$  NMR spectra of DEX in (a, d) DEX ( $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ; undersaturated concentration of DEX), (b, e) DEX/HPMC-AS ( $100/2,000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ; undersaturated concentration of DEX), and (c, f) DEX/HPMC-AS ( $400/2,000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ; supersaturated concentration of DEX) solutions (a-c), (d-f) are the spectra obtained in HBSS and FeSSIF, respectively. Ha, Hb, and Hc represent peak assignments in the  $^1\text{H}$  NMR spectra of DEX.

### 3. 薬物過飽和維持形成機構

経時的な薬物及び添加剤の溶解状態の変化はNMR測定により追跡できる<sup>3)</sup>。例えば難水溶性薬物であるクロルタリドン (CLT) と HPMC-AS の濃度を変えて溶解させた溶液の  $^1\text{H}$  NMR 測定を行った結果、①溶解した CLT の  $^1\text{H}$  ピークは薬物濃度に依存してシフトするが、CLT の分子運動性は HPMC-AS 非存在下ではほとんど変化しない、②CLT の分子運動性は HPMC-AS の添加量増加に伴い低下する、③HPMC-AS のピーク強度は薬物濃度の増加に伴い減少する、ことが明らかになった。HPMC-AS を含まない水溶液中では、過飽和溶解状態にある薬物は速やかに凝集を起こし、結晶核前駆体を形成する。結晶核前駆体中の薬物分子は結晶配列を有しておらず、エネルギーの高い状態にある。核前駆体から薬物分子が再配向により規則的に配列し、薬物結晶核が形成される。薬物結晶化抑制作用を有する HPMC-AS は、薬物過飽和溶液から薬物が核前駆体として凝集を起こす際に、薬物凝集体内部に取り込まれる。それにより核前駆体からの薬物結晶核への転移が抑制され、薬物結晶核生成が遅延する。また、結晶核生成の遅延により、核前駆体からの薬物の再溶解も促されるため、HPMC-AS は薬物の過飽和溶解状態を数日単位で維持する。一方、結晶核生成抑制作用に加えて、HPMC-AS は水溶液中において結晶成長抑制作用も示す。薬物結晶核生成及び結晶成長抑制作用の詳細な機構はまだ不明瞭な点も多いが、NMR を用いた溶解状態の評価は、薬物の吸収に寄与する分子を定量的に評価できる点が有用である。

固体分散体の処方検討では、固体分散体の分子状態を固体状態 NMR で評価し、溶解後の薬物の分子状態と比較することで、処方の最適化が可能となる。固体分散体でも、薬物が高分子に分子分散している場合とナノ結晶として分散している場合では、その後の薬物溶解量が大きく異なる<sup>4,5)</sup>。今後も各種 NMR 測定技術を駆使して評価を行うことで、益々の詳細な知見が得られることが期待される。

### 共同研究者

本研究の共同研究者は、千葉大学大学院薬学研究院の東頭二郎および植田圭祐である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) Ueda K, Higashi K, Yamamoto K, Moribe K. The effect of HPMCAS functional groups on drug crystallization from the supersaturated state and dissolution improvement. *Int J Pharm.* 2014;464(1-2): 205-13. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.01.005. PubMed PMID: 24440403.
- 2) Ueda K, Higashi K, Kataoka M, Yamashita S, Yamamoto K, Moribe K. Inhibition mechanism of hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate on drug crystallization in gastrointestinal fluid and drug permeability from a supersaturated solution. *Eur J Pharm Sci.* 2014;62:293-300. doi:10.1016/j.ejps.2014.06.007. PubMed PMID: 24953904.
- 3) Ueda K, Higashi K, Yamamoto K, Moribe K. Equilibrium state at supersaturated drug concentration achieved by hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate: molecular characterization using (1)H NMR technique. *Mol Pharm.*;12(4):1096-104. doi: 10.1021/mp500588x. PubMed PMID: 25723893.
- 4) Ueda K, Higashi K, Yamamoto K, Moribe K. In situ molecular elucidation of drug supersaturation achieved by nano-sizing and amorphization of poorly water-soluble drug. *Eur J Pharm Sci.* 2015;77:79-89. doi:10.1016/j.ejps.2015.05.027. PubMed PMID: 26036231.
- 5) Ueda K, Higashi K, Moribe K. Application of Solid-State NMR Relaxometry for Characterization and Formulation Optimization of Grinding-Induced Drug Nanoparticle. *Mol Pharm.* 2016 Mar 7;13(3):852-62. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00781. Epub 2016 Feb 18. PubMed PMID: 26855230.