

岐阜薬科大学博士（薬学）学位論文

経口ゼリー剤からの薬物放出制御技術
に関する研究

菱川 慶裕

2016年

目次

緒論.....	1
第1章　ゲルの網目構造と薬物放出特性の関係性評価.....	4
第1節　緒言.....	4
第2節　ゲル物性の評価.....	4
第3節　ゲルの網目構造解析.....	7
第1項　走査型顕微光散乱（SMILS）によるゲルの網目サイズ（架橋点間距離）の解析.....	7
第2項　走査型電子顕微鏡（SEM）によるゲルの網目サイズ（空孔径）の解析..	10
第4節　モデル物質の溶出プロファイル.....	13
第1項　カンテンゲル濃度の影響.....	13
第2項　キサントガム-ローカストビーンガムの混合比率の影響.....	13
第5節　小括.....	16
第2章　ゲル中の薬物拡散挙動の評価と制御.....	17
第1節　緒言.....	17
第2節　ゲル物性の評価.....	17
第3節　拡散挙動に影響を与えるモデル物質の特性.....	18
第1項　モデル物質濃度が拡散係数に及ぼす影響.....	18
第2項　モデル物質の分子量と拡散係数との関係性.....	21
第4節　ゲル構造と拡散係数との関係性評価.....	23
第1項　カンテンゲル構造と拡散係数との関係性.....	23
第2項　多成分ゲルによるモデル物質の拡散制御.....	24
第5節　モデル物質の極性と拡散挙動.....	25
第6節　各種モデル物質の溶出プロファイル.....	26
第7節　小括.....	30

第3章	経口ゼリー剤に対する薬物放出制御技術の適用可能性検討	31
第1節	緒言	31
第2節	味認識装置によるレボフロキサシンの評価	31
第1項	苦味応答センサーの選定	31
第2項	BT0 センサーにおけるレボフロキサシンの応答範囲	32
第3節	レボフロキサシン含有ゲルの苦味マスキング効果の評価	33
第4節	小括	35
第4章	総括及び考察	36
	実験の部	38
	略語表	45
	謝辞	46
	引用文献	47

結論

近年、服薬コンプライアンスや、アドヒアランスの向上を目指し、患者が容易に服用できる易服用性製剤の開発が盛んに進められている。そのいくつかの例として、口腔内崩壊錠^{1),2)}、フィルム製剤^{3),4)}及び経口ゼリー剤^{5),6)}などを挙げることができる。この中で、経口ゼリー剤に着目すると、1995年に日本国内で初めての製品が市場に出て以降、医療用、一般用を問わず、既に多くの製品が販売されるに至っている。また、2011年4月に施行された第16改正日本薬局方において、経口ゼリー剤が新たな剤形として製剤総則に収載されるなど、剤形の一つとしても広く認知されるようになってきた。

これまでの経口ゼリー剤に関する研究は、ゼリー剤が持つ適度な流動性と容易な咀嚼性に基づく服用性に着目し、医療現場における高齢者や嚥下困難者の服薬コンプライアンスを向上させる⁷⁾といった目的で、主に院内調剤としての活用が想定されたものであったと考えている。しかし、近年の製剤機械、製剤技術の進歩により、製品化を視野に入れたゼリー剤の研究も盛んに行なわれるようになってきた。すでに上市された例として、高アンモニア血症治療薬であるラクツロースを配合したカロリール®ゼリー、ラグノス®ゼリー、高カリウム血症治療薬であるポリスチレンスルホン酸カルシウムを配合したアーガメイト®ゼリー、抗ウイルス薬であるアシクロビルを配合したアシビル®内服ゼリー、アルツハイマー型認知症治療薬であるドネペジル塩酸塩を配合したアリセプト®内服ゼリーなどを挙げることができ、その有用性が示されている^{8)~12)}。しかしながら、これら多くの研究や市販されている製剤は、いまだゼリー剤の服用性や水なしで服用できるといった利便性に主眼が置かれており、ゲルから薬物が拡散によって放出する、即放性の製剤が中心となっていた。

一般的な製剤開発の潮流において、服薬コンプライアンスの向上を目指した易服用性製剤の開発と経口薬物療法の最適化を目指した放出制御製剤の開発とは、これまでそれぞれ独自に進化を続けてきたが、今後、易服用性と放出制御能の両機能を兼ね備えた次世代型の経口放出制御製剤のニーズがますます高まっていくことが予想されており、機能性に優れた製剤の開発が強く期待されている¹³⁾。経口ゼリー剤もその流れを受け、優れた服用性の特長はそのままに、薬効の効果的発現、また、副作用や用法・用量の軽減といった薬物放出制御を主体とした機能性の向上が望まれてくるものと考えられる。

経口ゼリー剤に放出制御的機能を付与するメリットとしては、前述のとおり、服薬回数や副作用の低減を挙げることができる。例えば、小児適用がある薬剤の場合、複数回の投与が必要であれば、在校時間内に患児自らで服薬管理を行うことになる。しかし、1日1回の服用とできれば、登校前の保護者の管理下において服用させることができるため、安全面や服薬コンプライアンスの向上が期待できる。既に徐放錠や徐放性顆粒として製品化されている抗てんかん薬のバルプロ酸ナトリウム、注意欠陥・多動性障害(AD/HD)治療薬のメチルフェニデート塩酸塩などにおいても、既存剤形が苦手な患児にとって服薬コ

ンプライアンスの向上につながると考えられる。また、高齢者においては、生理機能の低下や運動・感覚機能の低下に伴い、血液中の薬物濃度が高くなる傾向にあるため、副作用が出やすくなると考えられている^{14),15)}。日本老年医学会がまとめた「高齢者に対して特に慎重な投与を要する薬物のリスト」には多くの薬剤が掲載されているが、これらのうち、特に慢性疾患や継続的な服用が必要となる降圧薬（ニフェジピン）、抗パーキンソン薬（L-DOPA）などは服薬の負担軽減と安全性向上の面で有益であると考えられる。さらに、即放性のゼリー剤の場合でもある程度のマスキング効果は期待できる^{8),16),17)}が、合成抗菌剤であるレボフロキサシン水和物や鎮痙薬であるブチルスコポラミン臭化物など、強烈な苦味を有する薬物に対しては、マスキングが困難なケースも存在する。そのような場合に、服薬時のわずかな時間、ゲルからの放出を抑制できれば、マスキング効果の向上につながる可能性があり、利便性が高まるメリットがあると考えられる。

ゲルそのものに薬物放出制御能を付与する研究はこれまでに多く報告されており、活発に研究がなされている。例えば、温度変化によって、ゲルを膨潤・収縮させて薬物の放出量を制御するもの^{18)~20)}、グルコースなど特定の化学物質によってゲルの膨潤度が変わるもの^{21)~24)}、また、pH 応答性^{25)~27)}や磁場、超音波などの物理的刺激に応答する制御機構を持つもの^{28)~30)}などがある。一方で、経口摂取が可能なゼリー剤に放出制御能を付与する研究自体はそれほど多くはなく、カラギーナンゲルとアセトアミノフェンによるものなどがわずかに報告されているのみである^{31)~33)}。これは、放出制御能を付与できるようなゲル基剤のうち、経口摂取が可能な基剤が限られていること、また、将来的に製品化を視野に入れた応用的な研究の場合、医薬品添加物として認可されていることが必要であることなど、添加物としての安全性や許認可に伴うハードルが高いことが要因であると推察している。

そこで本研究では、これまでほとんど研究されていなかった経口ゼリー剤に薬物放出制御機能を付与させることを目的とし、天然高分子多糖の中でも医薬品添加物として認可されているカンテン（Ag）、キサントガム（Xa）及びローカストビーンガム（Lo）を用いて、そのゲル物性と網目構造の特徴を明らかにするとともに、薬物放出制御の可能性について検討を行った。

それぞれのゲル基剤によりゲルを設計し、ゲル物性と網目構造について評価した。Agゲル、Xa-Loゲルのいずれもゲル強度と網目サイズに反比例の関係が成立することを明らかにした。また、Xa-LoゲルはAgゲルと比べ非常に密な構造であることを確認した。これらゲル中にアセトアミノフェンを含有させ放出挙動を評価した結果、Xa-Loゲルで放出が遅くなったことから、放出特性は網目サイズの影響を受けることを明らかにした。

Agゲルを膜状化し、モデル物質の拡散挙動を評価した。Ag濃度とゲル強度には拡散係数の関連性は認められず、一定の値を示したのに対し、モデル物質の分子量を変えると分子量に反比例し、拡散係数が小さくなることを明らかにした。Agに対し、Xa-Loの配合比率を変えて拡散挙動を評価した結果、Xa-Loの配合割合に比例し、拡散係数も小さくな

ることを明らかにした。モデル物質を包含した 1cm³ の立方体に製したゲル（以降、ゲルキューブ）で放出特性を検証した結果、種々のモデル物質において Ag に対する Xa-Lo 量が多くなるほど、物質が遅く放出され、拡散係数の結果と相関することを明らかにした。

強い苦味を有するレボフロキサシンを Xa-Lo ゲル及び Ag ゲル中に包含し、苦味マスキング効果を確認した。味認識装置による評価では、Ag ゲルで苦味応答が認められたのに対し、Xa-Lo ゲルは苦味応答が認められず、有意にマスキング効果が得られていることを明らかにした。

Xa-Lo と Ag が構築するゲルの物性と網目構造ならびに拡散挙動を評価し、ゲル基剤の配合割合を変えることで、薬物放出を制御できることを見出した。また、実用面においても苦味マスキングを目的として有効に活用できることを明らかにした。本研究で得た知見は、包含させる薬物種に限定されることなく薬物放出制御ができるという点で、今後の経口ゼリー製剤設計において、有効な手法として活用が期待される。以下、各章において、研究の経緯及びその成果を詳述する。

なお、本論文は以下のとおり、既に公表した論文を総括したものである。

- 1) カンテンゲルおよびキサントタンガムーローカストビーンガム混合ゲルの網目構造と薬物放出特性.
菱川 慶裕, 垣野 由佳理, 古川 英光, 田原 耕平, 竹内 洋文,
高分子論文集, **72**, 57-63 (2015).
- 2) Control of drug diffusion behavior of xanthan and locust bean gum gel by agar gel.
Hishikawa Y., Kakino Y., Tsukamoto H., Tahara K., Onodera R., Takeuchi H.,
Chem. Pharm. Bull., in press (2016).

第1章 ゲルの網目構造と薬物放出特性の関係性評価

第1節 緒言

われわれは、経口ゼリー剤の研究・開発を行い、多くの製品を上市させてきた。その中で、経口ゼリー剤のゲル基剤としては、食品として汎用され、また、医薬品としても使用実績があることを主な理由として、カンテン (Ag)、キサントガム (Xa) 及びローカストビーンガム (Lo) を用いてきた経緯がある。Ag は食品の蜜豆カンテンに代表されるようにもろく崩れやすい物性を持ち、非常に味を感じやすい。一方、Xa-Lo 混合ゲルは、もちもちとした葛餅用の食感を有しており、味を感じにくい、ということを経口ゼリー剤の処方設計を行っている中で、これまでに経験的に感じていた。この違いはゲルを構築する際の物性の違いに起因するものと推察しているが、詳細な検討はなされておらず、この味の感じ方を明らかにした知見もない。

そこで、この3種類の天然高分子により構築されるゲル物性とその網目構造の関係性について評価を行うことにより、「味の感じ方」、つまり、ゲルからの物質の放出特性を知る上で、重要な知見を得ることが出来ると考えた。

本章では、Ag 及び Xa-Lo のゲルを構築するにあたり、配合濃度や配合比率を変化させることによるゲル物性の変化とそれらゲルが構築した構造特性との関連性を明らかにするため、破断応力測定、走査型顕微光散乱及び走査型電子顕微鏡などの手法を用いて解析を行った。また、ゲル中にモデル物質を添加し、ゲルからの物質の溶出性を測定することで、放出特性との関係性についても評価した。

第2節 ゲル物性の評価

Table 1-1 の配合に従って調製したゲルについて、その物性を評価した (Table 1-2)。Ag の濃度を 0.5 w/w%、1.0 w/w% 及び 1.5 w/w% と変えた場合、ゲル強度を示す破断応力が $2.3 \times 10^4 \text{ Pa}$ ~ $16.1 \times 10^4 \text{ Pa}$ へと変化し、Ag の濃度に応じて破断応力が高くなることがわかった。また、ゲルの弾力性を示す歪率については、25.2~36.4% であり、比較的早い歪率で破断していたことから、Ag ゲルに特有な脆く崩れやすい食感 (食品業界では「さくい」と表現される) を示す物性を有していることが確認された (Figure 1-1a)。一方、Xa と Lo の合計濃度を 0.6 w/w% で一定とし、Xa:Lo の配合比率を 1:4、1:1 及び 4:1 とした Xa-Lo 混合ゲルの破断応力と歪率について評価した。その結果、混合比率が 1:1 の場合が最も応力が高く、次いで、4:1、1:4 の順となることがわかった。これは、既に報告されている結果と一致していた³⁴⁾。また、ゲルの弾力性に関しては、歪率が 62.7~76.6% と非常に高く、Ag ゲルとは異なり、強い弾力性を有するゲルであることが確認された (Figure 1-1b)。

以降、これらの配合により調製されたゲルを用いて第1章の各種実験を行った。

Table 1-1 Comparison of gel formulas

Components	Contents (w/w%)					
	1-A	1-B	1-C	1-D	1-E	1-F
Agar	0.5	1.0	1.5	-	-	-
Xanthan gum	-	-	-	0.12	0.3	0.48
Locust bean gum	-	-	-	0.48	0.3	0.12
Powdered hydrogenated maltose starch syrup	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Ethyl-p-hydroxybenzoate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Purified water	p.q.	p.q.	p.q.	p.q.	p.q.	p.q.
Total	100	100	100	100	100	100

p.q., proper quantity

Table 1-2 Comparison of rheological properties of gels

Sample No.	1-A	1-B	1-C	1-D	1-E	1-F
Diameter of the plunger used for measurement (mm)	16	16	16	3	3	3
Breaking stress ($\times 10^4$ Pa)*	2.3	7.6	16.1	4.2	9.3	5.5
Strain rate (%)*	25.2	35.6	36.4	62.7	76.6	74.7

*Each value represents the average of three experiments.

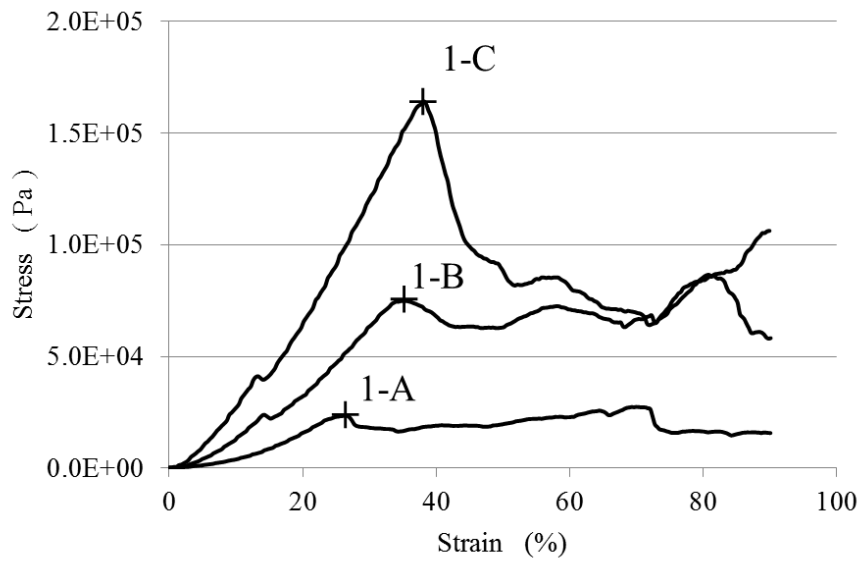


Figure 1-1a Stress-strain curves for agar gels. Each alphabet indicates the gel formulas in Table 1-1. The mark of “+” means breaking point of each gel.

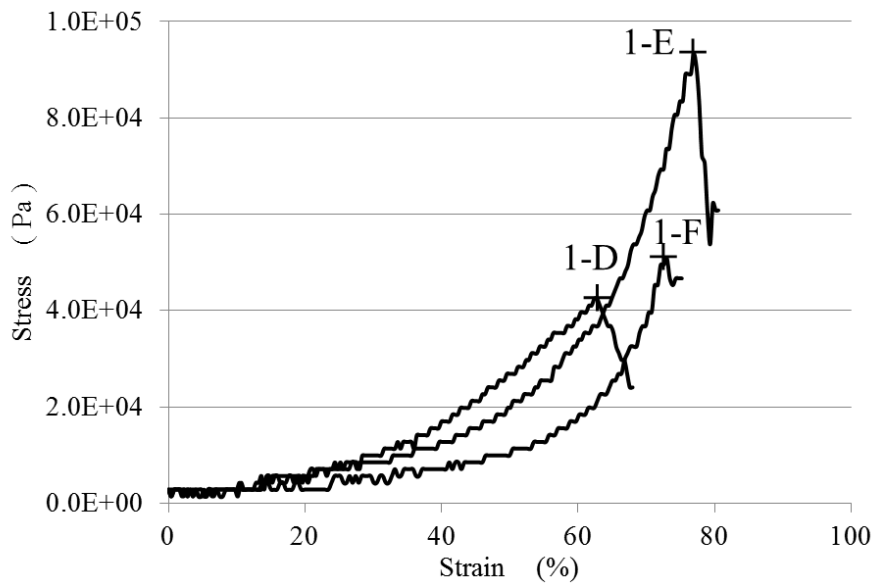


Figure 1-1b Stress-strain curves for xanthan gum - locust bean gum complex gels. Each alphabet indicates the gel formulas in Table 1-1. The mark of “+” means breaking point of each gel. Because it became hard to see that the wave pattern of the graph was piled up, the wave patterns were omitted after the breaking points.

第3節 ゲルの網目構造解析

第1項 走査型顕微光散乱 (SMILS) によるゲルの網目サイズ (架橋点間距離) の解析

ゲルの物性と薬物の放出特性との関係性を明らかにするため、まず、ゲルの網目構造の解析を行った。ゲルの網目構造を解析する代表的な方法としては、動的光散乱法、小角 X 線散乱法及び中性子散乱法などがあるが、いずれも試料を非破壊的に評価できるという点で優れている。しかしながら、小角 X 線散乱法は、ラボで所有しているような装置の X 線照射量では輝度が不足すること、また、中性子散乱法は特別な施設でしか測定できない等、手軽に測定できる装置ではない。本項では、動的光散乱法の原理を使いながら、ゲルサンプルの異なる箇所を連続的に多数測定することにより、非破壊でゲル内部の網目構造に見られる不均一性を考慮したアンサンブル平均相関関数が測定できる^{35),36)} という利点を有する走査型顕微光散乱 (Scanning Microscopic Light Scattering ; 略称 SMILS) によりゲルの網目構造の評価を行った (Figure 1-2)。

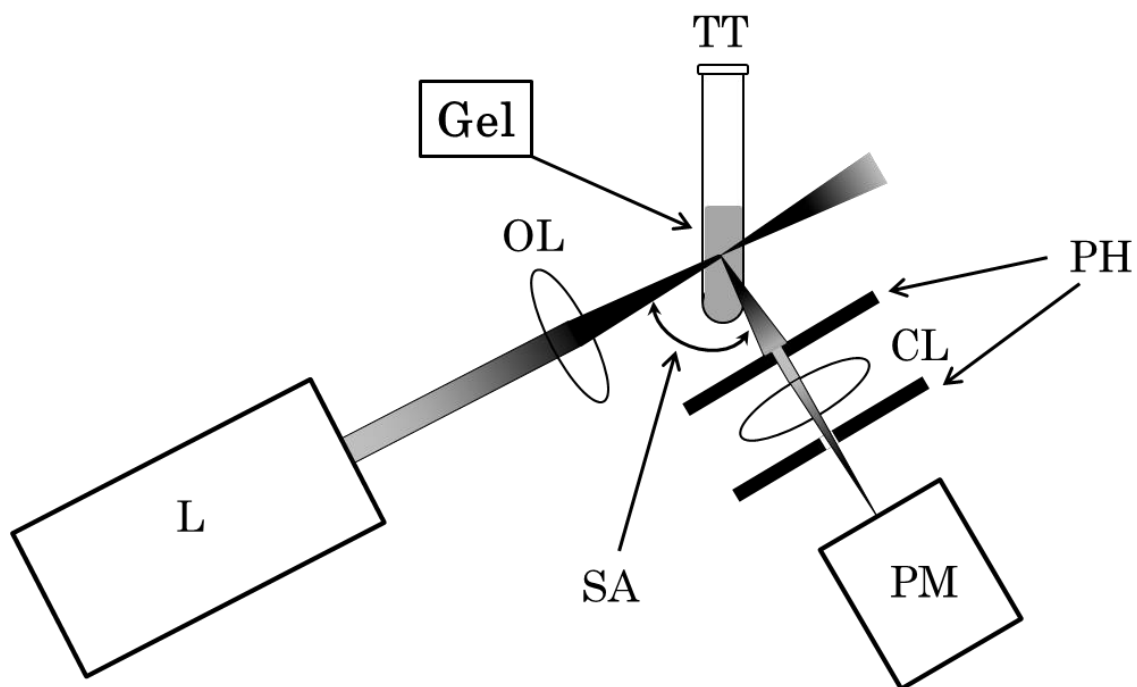


Figure 1-2 Schematic of scanning microscope light-scattering apparatus. TT: test tube, OL: objective lens with super-long-working distance, L: laser irradiation apparatus, PH: pinholes, CL: convex lens, PM: photomultiplier with preamplifier and discriminator counter, SA: scattering angle (The scattering angle was fixed at 90 degrees.)

SMILS により測定されたアンサンブル平均相関関数は、逆ラプラス変換によりアンサンブル平均の緩和時間分布 $P_{\text{en}}(\tau_R)$ を求め、その分布で得られた一番大きなピークの頂点の緩和時間 (τ_R) から次式 (1)~(3) により網目サイズを求めた³⁷⁾。

まず、SMILS による装置条件から散乱ベクトル(q)を定めた。

$$|q| = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad (1)$$

ここで、 n は、試料の屈折率、 λ はレーザー光波長、 θ は散乱角を示している。

$$D = \frac{1}{q^2 \tau_R} \quad (2)$$

さらに、 q と測定により得られた τ_R から拡散係数 D を求めた。

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (3)$$

Einstein-Stokes の式 (3) において、 k_B は Boltzmann 定数、 T は絶対温度、 η は溶媒の粘性率を示しているので、測定条件に従いそれぞれの値を代入し、網目サイズに相当する a (半径) を算出した。それぞれのゲルを測定することによって算出した各パラメータ値ならびに網目サイズの値 (2a) は Table 1-3 に示した。また、Ag ゲル (No. 1-B) と Xa-Lo 混合ゲル (No. 1-E) を測定した際の緩和時間 (τ_R) に対するアンサンブル平均の緩和時間分布 $P_{\text{en}}(\tau_R)$ のグラフを Figure 1-3 に例示した。

SMILS の測定原理は動的光散乱によるものであり、分子のブラウン運動から生じるレーザー光の揺らぎを検出している。そのため、SMILS によって測定された網目サイズは、以後、「架橋点間距離」と記載することとし、一般的にゲルの網目サイズとして認識されているゲルの「空孔径」とは区別することとした。

Ag ゲルにおいて、Ag の濃度を 0.5 w/w%~1.5 w/w%と高めた場合、算出された架橋点間距離は $2.25 \times 10^{-9} \text{ m}$ ~ $1.41 \times 10^{-9} \text{ m}$ へと逆に小さくなり、ゲルの破断応力と反比例することがわかった。これは、Ag 濃度が高くなることによりゲルの架橋点が増加し、架橋点どうしの間隔が狭くなったためであると推察した。

Xa-Lo 混合ゲルの場合も同様に評価した結果、破断応力と架橋点間距離には反比例の関係が成立していたが、特に、破断応力が最も高かった No. 1-E (比率 1:1) では架橋点間距

離が $4.37 \times 10^{-10} \text{ m}$ と非常に小さくなっていることがわかった。No. 1-B に比べ No. 1-E の破断応力は約 1.2 倍となっていたが、架橋点間距離については No. 1-E の方が $2a$ として約 1/4 の値で算出されている。そのため、同種ゲルどうしにおいて破断応力と架橋点間距離に反比例の関係は成立するが、種類の異なるゲル間での比較においては、関連性を論じることはできないと考えられた。

Table 1-3 The results of the distance between the crosslinking points analysed by SMILS of the various gels

Sample No.	1-A	1-B	1-C	1-D	1-E	1-F
τ_R [s]	8.23×10^{-6}	6.51×10^{-6}	5.15×10^{-6}	1.04×10^{-5}	1.60×10^{-6}	8.23×10^{-6}
$1/\tau_R$ [1/s]	1.22×10^5	1.54×10^5	1.94×10^5	9.62×10^4	6.26×10^5	1.22×10^5
q [1/m]	2.22×10^7	2.22×10^7	2.22×10^7	2.22×10^7	2.22×10^7	2.22×10^7
q^2 [1/m ²]	4.93×10^{14}	4.93×10^{14}	4.93×10^{14}	4.93×10^{14}	4.93×10^{14}	4.93×10^{14}
D [m ² /s]	2.46×10^{-10}	3.11×10^{-10}	3.93×10^{-10}	1.95×10^{-10}	1.27×10^{-9}	2.46×10^{-10}
a [m]	1.13×10^{-9}	8.91×10^{-10}	7.05×10^{-10}	1.42×10^{-9}	2.19×10^{-10}	1.13×10^{-9}
$2a$ [m]	2.25×10^{-9}	1.78×10^{-9}	1.41×10^{-9}	2.85×10^{-9}	4.37×10^{-10}	2.25×10^{-9}

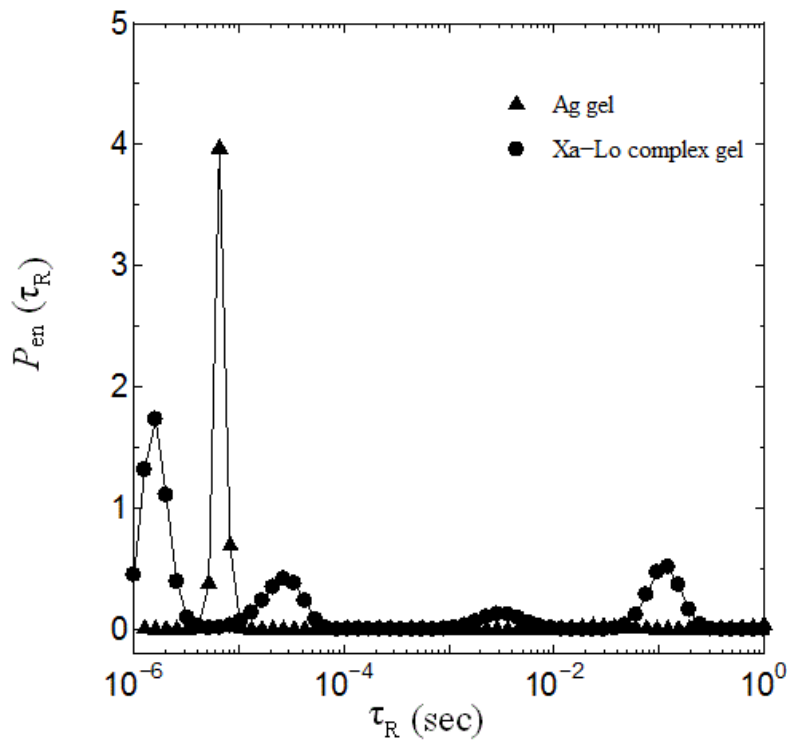


Figure 1-3 The comparison of $P_{en}(\tau_R)$, the distribution function of an ensemble-averaged relaxation time, of 1.0 w/w% agar gel (\blacktriangle) and 0.3 w/w% xanthan gum - 0.3 w/w% locust bean gum complex gel (\bullet). The distance between the crosslinking points of each gel was calculated from the value of the top peak of τ_R .

第2項 走査型電子顕微鏡 (SEM) によるゲルの網目サイズ (空孔径) の解析

第1項の実験において、Xa-Lo ゲルは Ag ゲルに比べ、架橋点間距離が短く、「密」な網目構造を構築していることを推察した。そこで、本項では、網目構造を視覚的に捉えるため、サンプル No. 1-B 及び 1-E のゲルについて、走査型電子顕微鏡 (SEM) による比較観察を行った。観察では、試料の前処理として汎用されるグルタルアルデヒドならびにタンニン-オスミウム法³⁸⁾による固定化法を用いた。一般的に、アルデヒドはタンパク質、オスミウムは二重結合を有する化合物の固定に用いられる方法であるため、多糖類で構成されるゲル試料の固定には不向きであると考えられている。しかしながら、多糖類に適した効果的な固定化法が見出されていないことから、常法に従い本法を実施した。また、試料の乾燥においては、エタノール脱水を行った後、特別な設備を必要とせず、操作が簡便で微細構造の保存性も良好といわれる t-ブチルアルコールによる凍結乾燥法³⁹⁾を用いた。

Ag ゲルの凍結乾燥物について SEM 観察した結果を Figure 1-4a, b に示した。倍率 10,000 倍 (Figure 1-4a) と 50,000 倍 (Figure 1-4b) で観察を行った結果、直径 20~50 nm 程度とみられる繊維が多数存在し、それらが互いに絡まりあって網目状の構造を構築

している様子が確認できた。また、黒く見える空隙箇所も多数認められた。これは、本来は水分を包含している箇所が脱水によって空隙となり、骨格となる多糖の分子のみが観察されているからであると考えられた。Agゲルを構成するアガロースの一本の分子鎖は直径6 nmと推定されており⁴⁰⁾、これらの分子鎖がゲル化の過程で二重らせんを形成し、さらには3次元の架橋構造を構築すると考えられている^{41)~43)}。また、3次元架橋構造を構成したアガロース分子鎖束の太さは20~40 nmであると報告されており⁴⁴⁾、本節において示した観察結果が近似していたことから、Figure 1-4a, bで観察された繊維は、アガロースの3次元架橋構造を構築している分子鎖束であると推察できた。

Xa-Lo混合ゲルの凍結乾燥物についてSEM観察した結果をFigure 1-4c, dに示した。倍率10,000倍(Figure 1-4c)と50,000倍(Figure 1-4d)で観察を行った結果、Agゲル凍結乾燥物の構造とは異なり、明確な網目構造は認められず、また、空隙のような箇所も観察されなかった。主として、50~100 nm程度の繊維が緻密に集合したような状態であった。Loは主鎖であるマンノースと側鎖であるガラクトースが4:1の比率で存在しており、側鎖の少ないスムーズ領域と呼ばれる部分でXaと強固に水素結合することで弾力の強いゲルを形成すると考えられている⁴⁵⁾。Agゲル凍結乾燥物のようないわゆる「網目構造」ではなく、繊維の束が密に集合したような構造が観察されたことは、Xa-Lo混合ゲルによる構造形成様式の違いによるものであるとわかった。

先に示したSMILSによる測定結果では、サンプルNo. 1-BのAgゲルにおける架橋点間距離は 1.78×10^{-9} mであり、サンプルNo. 1-EのXa-Lo混合ゲルでは 4.37×10^{-10} mであった。SEMならびにSMILSによる結果は、いずれもXa-Lo混合ゲルがAgゲルに比べて非常に密な構造であるということを示している点で一致していた。ただし、一般的にゲルの網目サイズと言えば、Agゲルにみられるような空孔部分(SEM写真の黒く見える箇所)の大きさを指すと考えられるが、SEM観察によるAgゲルのおおよその空孔径は数十~数百nmと大きく、SMILSにより得られた結果とは大きな乖離があった。これは、前述したようにSMILSによる測定が、空孔そのもののサイズを直接測定しているのではなく、多糖の分子鎖どうしが集まって架橋構造が構築された際の架橋点部分の揺らぎを検出し、架橋点間の距離として算出されているためであると考えている。また、Table 1-3に示した架橋点間距離は、Figure 1-3で示したような緩和時間分布における最もピークが高かった点の値のみを用いて算出したが、得られた値がいずれも3nm以下と非常に小さい値であったことから、物質の拡散に直接寄与している領域ではない可能性が推定された。

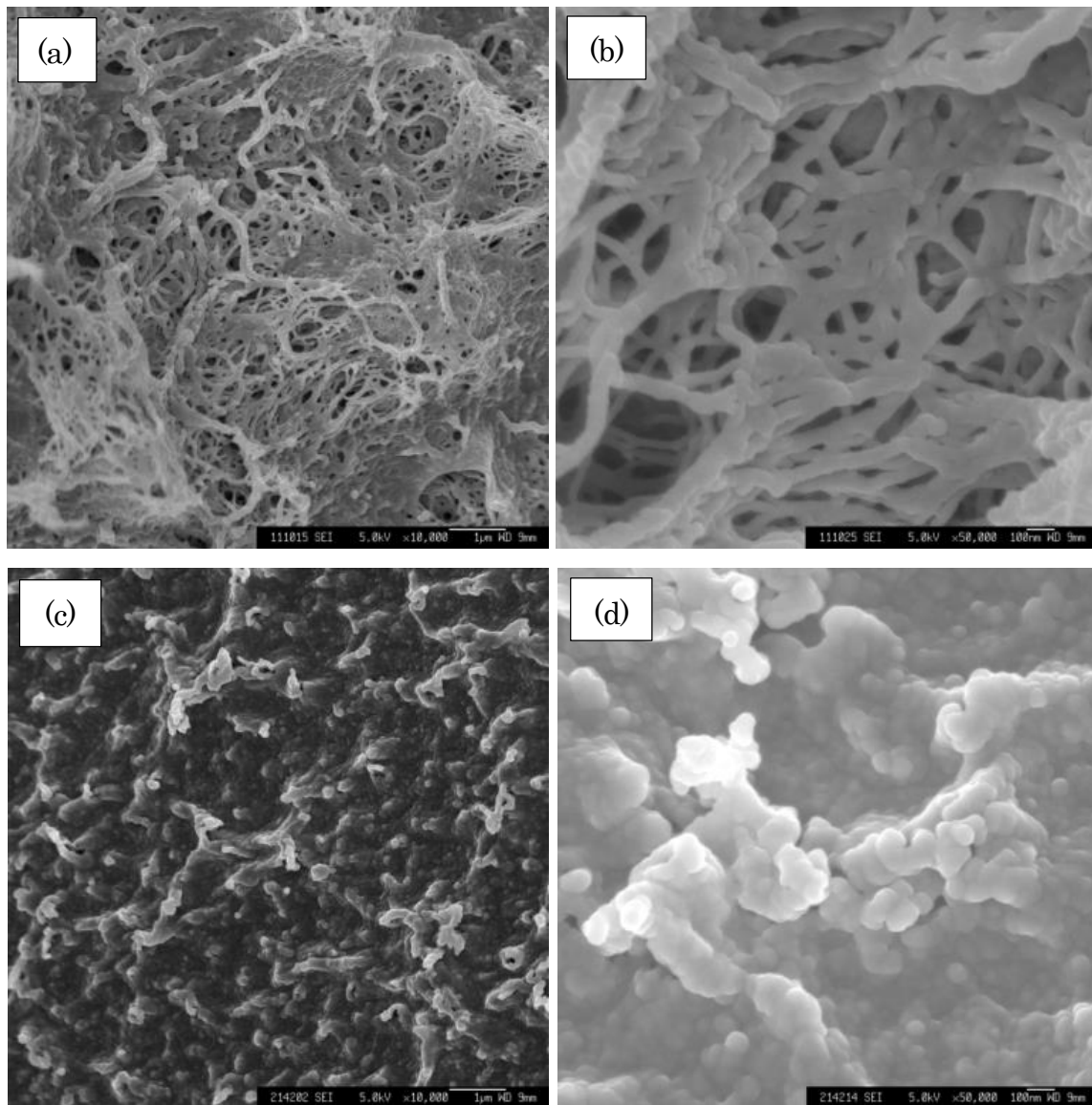


Figure 1-4 SEM images of a part of gel network structure.

1.0 w/w% agar : (a) magnification $\times 10,000$, (b) magnification $\times 50,000$.

0.3 w/w% xanthan gum - 0.3 w/w% locust bean gum complex gel : (c) magnification $\times 10,000$, (d) magnification $\times 50,000$. The accelerating voltage for SEM observation was 5.0 kV.

第4節 モデル物質の溶出プロファイル

第1項 カンテンゲル濃度の影響

サンプル No. 1-A から 1-C のゲル処方に対し、アセトアミノフェン (AAP) を添加してゲルキューブを調製した。この試料について、日本薬局方一般試験法、溶出試験法による装置 2 (パドル法) による試験を行った (Figure 1-5a)。Ag ゲルの場合、Ag 濃度に依存することなく AAP の溶出率は全て同様の挙動を示していた。また、Ag ゲルの溶出特性は、溶出初期の溶出速度が速く、時間の経過とともに溶出率の上昇速度が遅くなっていたことから、Figure 1-5a の X 軸を時間の平方根として再プロットした結果、Figure 1-5b に示したように、溶出 45 分付近までは累積溶出率と直線関係が成立しており、ゲル内の AAP が拡散によって移動するマトリックス型の放出特性を示すことがわかった。溶出 45 分以降の各時点における累積溶出率が Figure 1-5b に示した近似曲線から外れた。その原因は、AAP とゲルの網目構造との相互作用によるものと推定される。溶出結果より考察すると、ゲル中の AAP の多くが放出されて内部に残存する AAP 濃度が低下し、それによってゲルキューブのより内部から AAP 分子が長い距離を拡散移動することとなるため、AAP とゲルの網目構造との弱い相互作用の影響力が高まり、溶出率に反映したと推察できる。

Ag ゲルは Ag 濃度が高くなるにつれて破断応力が上昇し、逆に架橋点間距離が短くなるという傾向にあったが、AAP の溶出率は破断応力及び架橋点間距離に関係なく、ほぼ同様の結果を示していた。このことは、AAP が拡散により通過するであろう空孔部分のサイズ決定に Ag 濃度が関与していない、もしくは空孔径よりも十分に AAP 分子が小さいために影響を受けなかったものと推察した。

第2項 キサンタンガム-ローカストビーンガムの混合比率の影響

前項と同様に、配合 1-D~1-F の Xa-Lo ゲルについて、溶出試験を行った (Figure 1-5a)。Xa-Lo のトータルでの配合量は 0.6 w/w% で固定し、Xa と Lo の混合比率を変えることにより、溶出特性への影響を評価した。その結果、Xa:Lo の混合比率を 1:1 及び 4:1 としたゲルでは、溶出試験開始 15 分後から溶出速度はほぼ一定であった。このことから、測定した範囲においてはゲル内の AAP 濃度に溶出速度が依存しない 0 次放出を示すことがわかった。また、Xa:Lo が 1:4 のゲルでは、Figure 1-5b に示したように、累積溶出率が時間の平方根と直線関係にあり、マトリックス型の放出特性を有することが確認できた。

ゲルの物性において、Xa-Lo ゲルは、混合比率が 1:4、4:1 及び 1:1 の順で破断応力が高くなり、また、SMILS による架橋点間距離は逆に短くなる傾向を示したが、AAP の溶出率は、破断応力が高くなる (架橋点間距離が短くなる) につれ、低くなる傾向を示し、Ag の場合と明らかに異なっていた。第 3 節第 2 項で示した SEM 写真において、Xa-Lo ゲルの凍結乾燥物には明確な空孔が認められず、繊維状の束が集まったような構造であることを確認した。Xa-Lo ゲルにおいて、SMILS によって測定された架橋点間距離と溶出性に

関連性が認められたことから、ゲル中の AAP 分子の拡散に際しては、緻密に配置された繊維状の束の間隙を移動している可能性があることが推察された。

一般にゲルが硬くなると、網目構造が密になるため、拡散速度は低下すると考えられており、ゲルからの薬物放出も遅くなると想定されたが、異なる構造を構築するゲルでの比較においては、単にゲル強度の強弱によって拡散挙動（薬物の放出挙動）は評価できず、ゲルの網目構造の緻密さが大きく影響することがわかった。

以上のことから、Ag ゲルのような多くの空孔を持つ構造を形成する高分子多糖に対し、緻密な構造を形成する Xa-Lo を配合し、その割合を調整することによって、ゲルの緻密さを制御すれば、従来、即放性であった経口ゼリー剤の薬物放出を遅延させるような特性が付与されたゲルを得ることが可能になるものと推察された。

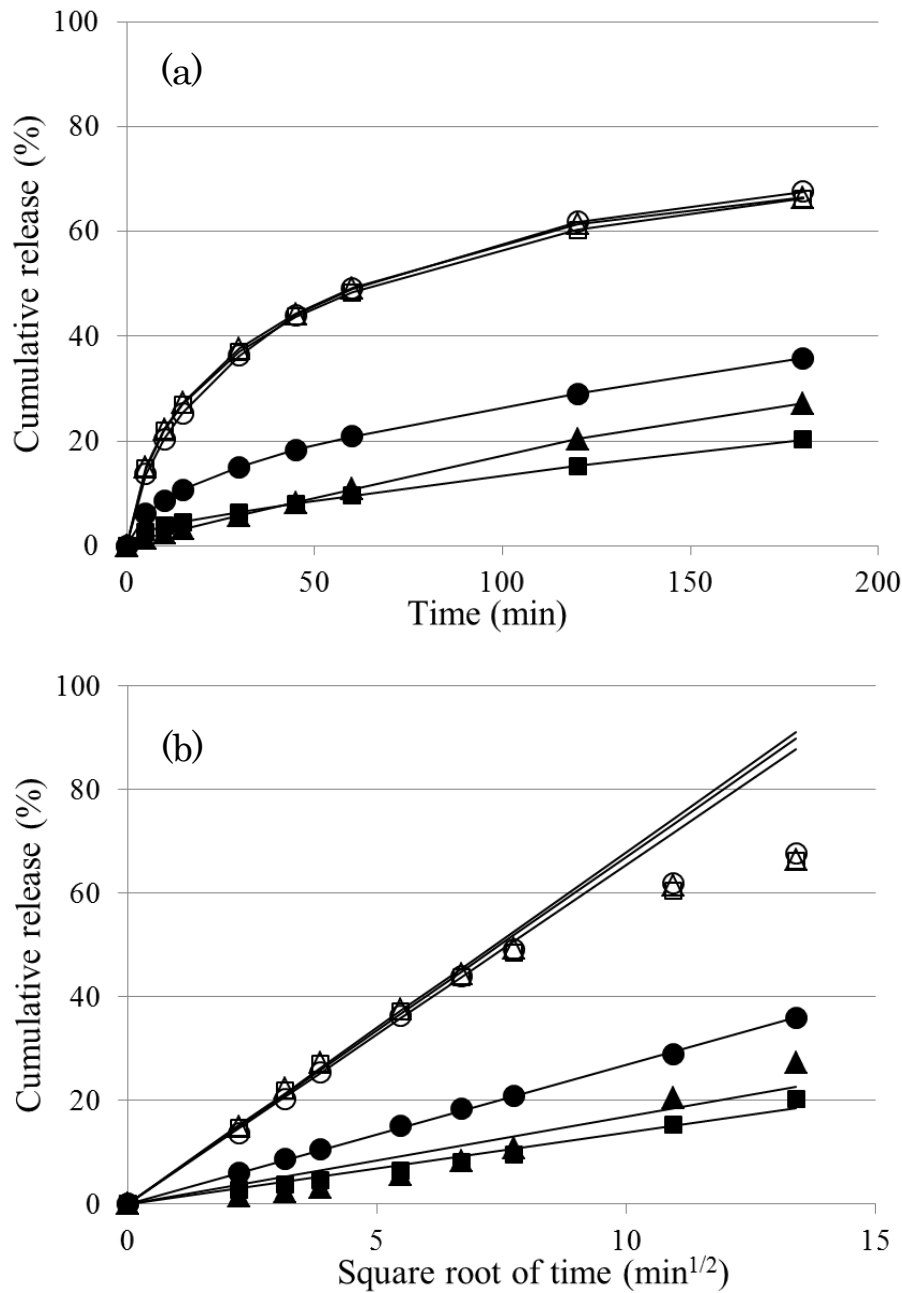


Figure 1-5(a) Dissolution test of acetaminophen from 1cm³ gel cube prepared with agar gel [0.5 w/w% (○), 1.0 %w/w (□) and 1.5 %w/w (△)], or prepared with xanthan gum- locust bean gum complex gel [0.12 w/w% : 0.48 w/w% (●), 0.3 w/w% : 0.3 w/w% (■) and 0.48 w/w% : 0.12 w/w% (▲)]. (b) Profile of cumulative release versus square root of time. Straight lines mean the linear approximation. The lines of agar gel plots are calculated by the cumulative release from 0 to 45min. Each value represents the average of three experiments.

第5節 小括

Ag ゲル及び Xa-Lo 混合ゲルを調製し、そのゲル物性と網目構造の関係について比較検討を行った。また、ゲルからの AAP の溶出特性についても評価し、天然高分子ゲルによる薬物放出制御の可能性について検討した。その結果、本章により以下の知見が得られた。

- 1) Ag 濃度に応じて破断応力は高くなったが、SMILS による架橋点間距離は逆に短くなっていったことから、網目構造は破断応力と反比例の関係にあった。
- 2) Xa-Lo 混合ゲルの場合、その配合比率が 1:1 の時、最も破断応力が高くなり、比率が 4:1 あるいは 1:4 とした場合、応力は低下した。Ag と同様に破断応力と架橋点間距離には反比例の関係が成立し、特に、破断応力が最も高くなった比率 1:1 の場合に非常に短い架橋点間距離を示した。
- 3) 破断応力が同等であっても、使用する高分子多糖の種類により架橋点間距離が異なっていたことから、網目構造の形成の仕方、密度に違いがあることが推察された。
- 4) SEM による空孔径の解析結果は、SMILS による架橋点間距離の測定結果と傾向が一致しており、Xa-Lo 混合ゲルは、Ag ゲルに比べ構造が非常に密であった。
- 5) Xa:Lo の比率が 1:1 と 4:1 のゲルについては、AAP の溶出は 0 次放出であり、Ag ゲル及び Xa:Lo が 1:4 のゲルではマトリックス型の放出特性を示した。
- 6) 溶出の速い Ag ゲルと溶出性の遅い Xa-Lo 混合ゲルとを組合せた複合ゲルを調製することにより、従来困難と考えられた天然高分子ゲルによる薬物の放出制御ができる可能性が明らかとなった。

第2章 ゲル中の薬物拡散挙動の評価と制御

第1節 緒言

前章における検討において、カンテン (Ag) とキサントランガム (Xa) -ローカストビーンガム (Lo) それぞれが構築するゲルの網目構造は、架橋点間距離や空孔径の大きさの点において違いがあり、Xa-Lo ゲルは Ag ゲルに比べ、非常に緻密な構造を取っていることが明らかとなった。この構造の違いについて、アセトアミノフェン (AAP) を添加したゲルキューブで溶出試験を行った結果、Ag ゲルよりも Xa-Lo ゲルにおいて溶出性が相対的に遅く、特に、Xa と Lo の配合比率が 1:1 の割合の場合が最も溶出性が遅いことが明らかとなった。このことにより、網目構造と溶出性に関連性があることが示された。さらに、溶出性の速い Ag ゲルに対し、溶出性の遅い Xa-Lo ゲルを添加すれば、溶出を遅延できる、すなわち、経口ゼリー剤の即放性の特性を変えることが出来る可能性が示唆された。

そこで、本章では、Ag 及び Xa-Lo それぞれ単独、また、Ag に対し、Xa-Lo の配合量を変えた複合ゲルを調製し、それらのゲル物性について評価した。また、ゲルを膜状化し、種々の物質が膜を透過する際の挙動に対し、拡散係数を測定することによりゲル物性と拡散挙動との関係性を精査した。拡散挙動の評価には、分子量の違いや水に対する溶解度(極性)が異なる性質を持つ物質を選定し、ゲル膜との相互作用の影響により、拡散係数に変化が認められるか確認した。さらに、ゲル膜におけるモデル物質の拡散挙動とゲルからのモデル物質の溶出特性との関係性を評価した。それにより、薬物放出制御能をもった経口ゼリー剤の設計への応用の可能性について検討した。

第2節 ゲル物性の評価

本節では、様々なゲル物性に対し、モデル物質の拡散挙動がどのように変化するかを確認することを目的として検討した。Table 2 に示した配合に従ってゲルを調製し、また、測定したゲル物性の結果を配合欄下段に示した。

ゲル物性の測定において、破断応力は測定時に使用するプランジャー径からゲルに接触する面積当たりで応力を算出するため、測定するプランジャー径を変えてもほぼ同様の測定結果が得られることが分かった。しかし、歪率については、プランジャー径が小さいほど早く破断する傾向にあったことから、プランジャー径の異なる結果を一律に議論することが出来ないと判断した。そのため、本節において、歪率を評価する場合は、同一プランジャー径で測定した場合の結果の範囲で言及することとした。

まず、Ag 濃度を 0.5 w/w%~1.5 w/w% と変えてゲルを調製した結果 (配合 2-A~2-C)、Ag 濃度に依存して破断応力は大幅に上昇し、歪率もわずかではあるが高くなることが分かった。続いて、1.0 w/w% Ag に Xa、Lo を合計量として 0.3 w/w% 添加した場合 (配合 2-D)、配合 2-B に比べ、破断応力は若干低下することがわかった。Xa、Lo の添加量合計を 0.6 w/w% で一定とし、Ag の濃度を 0.3 w/w%~0 w/w% まで変化させた場合 (配合

2-E~2-H) については、配合中の Ag 濃度が低くなるにつれ、破断応力も低下したが、歪率については逆に上昇する結果となった。

以降、これらの配合により調製されたゲルを用いて第 2 章に記載の各種実験を行った。

Table 2 Gel combined ratios and properties used in defined tests

Components	Content (w/w%)							
	2-A	2-B	2-C	2-D	2-E	2-F	2-G	2-H
Ratio (%) ^{*a}	0.0	0.0	0.0	23.1	66.7	85.7	92.3	100.0
Agar (Ag)	0.5	1.0	1.5	1.0	0.3	0.1	0.05	-
Xanthan gum (Xa)	-	-	-	0.15	0.3	0.3	0.3	0.3
Locust bean gum (Lo)	-	-	-	0.15	0.3	0.3	0.3	0.3
Powdered hydrogenated maltose starch syrup	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Ethyl-p-hydroxybenzoate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Purified water	p.q. ^{*b}	p.q.	p.q.	p.q.	p.q.	p.q.	p.q.	p.q.
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Diameter of the plunger used for measurement (mm)	16	16	16	8	1.5	1.5	1.5	1.5
Breaking stress ($\times 10^4$ Pa) ^{*c}	2.3 \pm 0.1	7.5 \pm 0.1	16.6 \pm 0.2	6.2 \pm 0.0	7.6 \pm 0.3	7.0 \pm 0.3	6.0 \pm 0.3	5.5 \pm 0.7
Strain rate (%) ^{*c}	25.7 \pm 0.8	37.1 \pm 0.6	37.3 \pm 0.8	25.7 \pm 0.7	44.2 \pm 1.3	80.5 \pm 0.6	84.0 \pm 0.8	93.2 \pm 2.7

*a Combined ratio of Xa and Lo to the total amount of spiked gel bases (Ag, Xa and Lo)

*b proper quantity

*c Each test had three runs, and the results are the mean \pm S.D.

第 3 節 拡散挙動に影響を与えるモデル物質の特性

第 1 項 モデル物質濃度が拡散係数に及ぼす影響

Table 2 に示した配合によりゲルを調製した場合、破断応力及び歪率が異なるゲルを得られることが確認できたため、それぞれのゲルにおけるモデル物質の拡散挙動を評価することとした。配合 2-B (1.0 w/w% Ag) に従って調製したゲル液を Figure 2-1 に示したホルダーに流し込み、拡散に寄与する部分の厚さが 2.0 mm、直径が 16 mm のゲル膜を作成した。ゲル膜中での拡散挙動を評価するために、モデル物質としてフルオレセインナトリウム (F-Na) を使用した。まず初めに、Figure 2-2 中の Cell 2 に添加する F-Na の添加初期濃度を 25~150 $\mu\text{mol/L}$ とし、F-Na の濃度が拡散係数に与える影響を確認した。その結果、Figure 2-3 に示したように、いずれの濃度においても、拡散係数は $2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{sec}$ 付近の一定の値を示した。拡散は、Fick の第一法則で説明されているように、拡散する分子の濃度勾配に依存して物質が移動する現象であるが、今回実験した F-Na の濃度範囲では、拡散係数にはほとんど影響しないことが分かった。

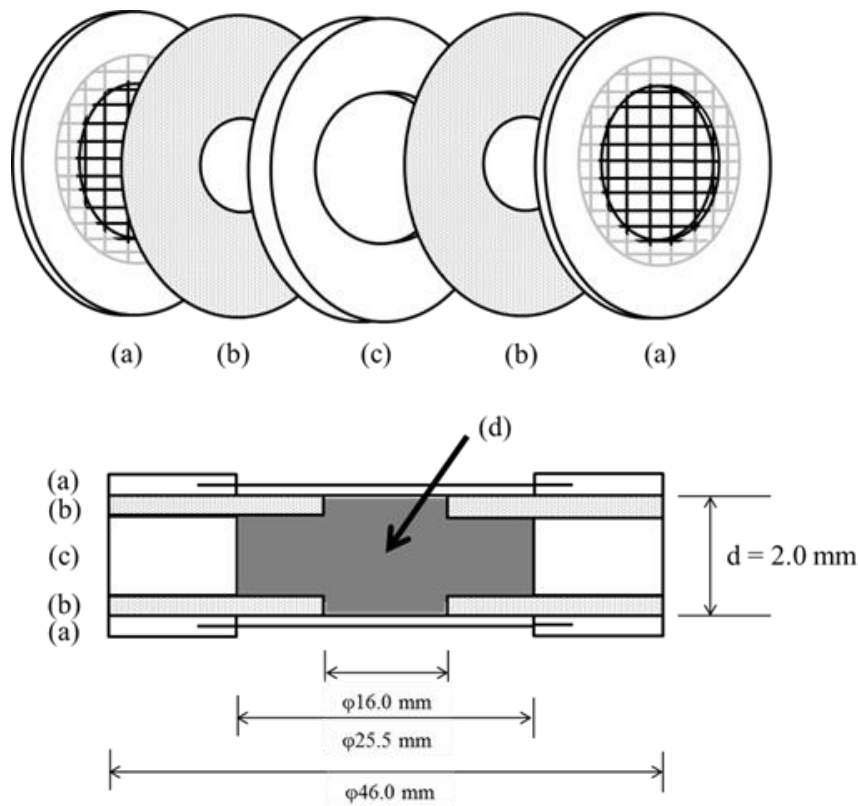


Figure 2-1 Structure of holder used to prepare gel membrane. (a) Silicon sheet. A mesh sheet was sandwiched between two silicon sheets (thickness, 0.5 mm) to compress the gel. The mesh and silicon sheets were glued together. (b) Gel Bond® film (thickness, 0.2 mm, Lonza) for agarose gel was glued onto the glass plate so that the hydrophilic surface of the film was touching the gel. (c) Glass plate (thickness, 1.6 mm) and two Gel Bond® films were glued together, and the gel solution was poured into the circular portion (at the center) to form a gel membrane. (d) Gel membrane (colored area) is indicated with an arrow. The effective diameter for diffusion of the model substance was $\phi 16$ mm, and the thickness of the gel was 2.0 mm.

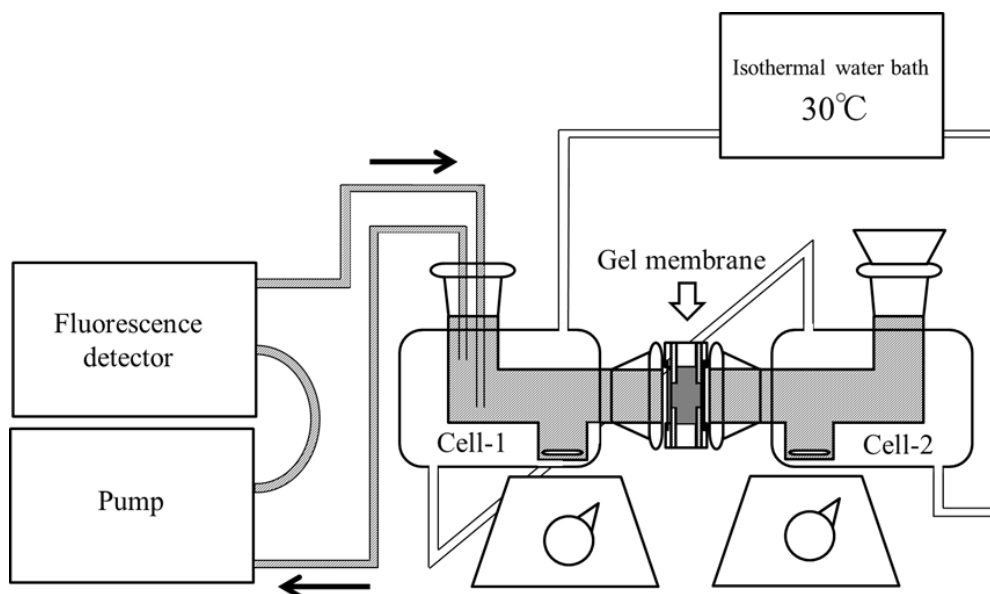


Figure 2-2 Device used to measure diffusion coefficient of gel membrane. A commonly available membrane permeability experimental device was used. The gel membrane was placed at the center of the right and left cells. Warm water from the isothermal water bath was allowed to circulate in the outer jacket part of Cell-1 and Cell-2, and the temperature was maintained at 30°C. The model substances, fluorescein sodium (F-Na), fluorescein isothiocyanate (FITC), and FITC-dextran (DEX) that could be determined using a fluorescence detector were analyzed as shown. Other model substances (AAP, SBA, PSA, and CPM) were directly sampled from Cell-1 dissolution solution at a predetermined interval (after sampling, water was added to make up the volume) and diffusion was determined using HPLC over time. The arrow indicates the flow direction of the test solution. AAP, acetaminophen; CPM, chlorpheniramine maleate; SBA, sodium benzoate; PSA, potassium sorbate; HPLC, high-performance liquid chromatography.

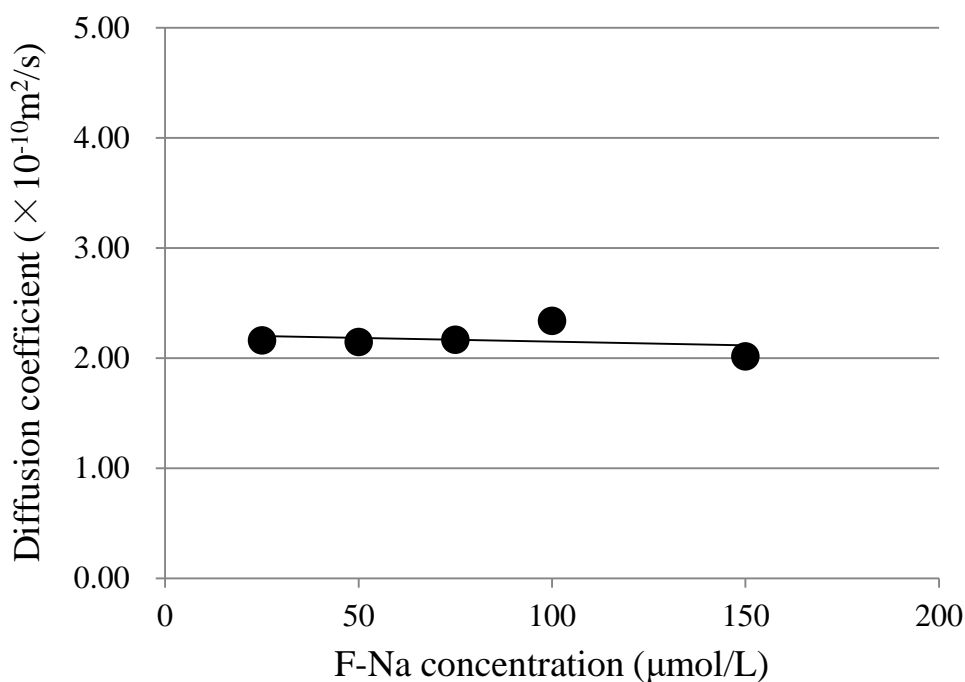


Figure 2-3 Effect of fluorescein sodium (F-Na) concentration on diffusion behavior in 1.0 w/w% agar (Ag) gel. Diffusion was tested using gel membrane prepared in accordance with combination 2-B (Table 2). The model substance, F-Na was added at an initial concentration range of 25–150 μmol/L in Cell-2. Diffused F-Na was detected in Cell-1, and diffusion coefficient was calculated. Data for the five plots are measured in a single run.

第2項 モデル物質の分子量と拡散係数との関係性

前項の結果より、F-Na の濃度が拡散係数に影響を与えない範囲が確認できたため、以降の実験では、モデル物質の初期添加濃度は 75 μmol/L とした。続いて、1.0 w/w% Ag のゲル膜（配合 2-B）に対し、モデル物質の分子量を変えた場合に拡散の挙動に違いが認められるかを確認した。モデル物質としては、フルオレセインイソチオシアネート（FITC；分子量 389.4）と、FITC に重合度の異なるデキストランを結合（FITC-DEX）し、分子量 4,400、10,000 及び 69,400 としたもの（分子量はいずれもメーカーの試験成績書による）を使用した。その結果、Figure 2-4 に示したように、FITC では、 $3.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{sec}$ 、FITC-DEX 4,400、10,000、及び 69,400 では、それぞれ、 2.5×10^{-10} 、 1.8×10^{-10} 及び $0.8 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{sec}$ であった。この値について、X 軸に分子量の対数を、また、Y 軸には拡散係

数を取りそれぞれの値をプロットすると、分子量と拡散係数には反比例の関係があることが分かった。一般的に、拡散する物質の分子量が大きくなるほど拡散係数は小さくなることが既に知られている。今回の Ag ゲル膜中におけるモデル物質の拡散挙動も、分子量が大きくなるにつれ、拡散係数が小さくなったことは、Ag ゲル膜中においてもモデル物質の拡散挙動の一般則が成立することが明らかとなった。しかし、医薬品に使用される薬物の大部分は分子量が 500~1,000 未満の低分子化合物である⁴⁶⁾ことを勘案すると、Ag ゲル単独において、濃度を変えるなどの配合調整を行うだけでは、これら薬物の拡散を制御することが困難であると考えられた。

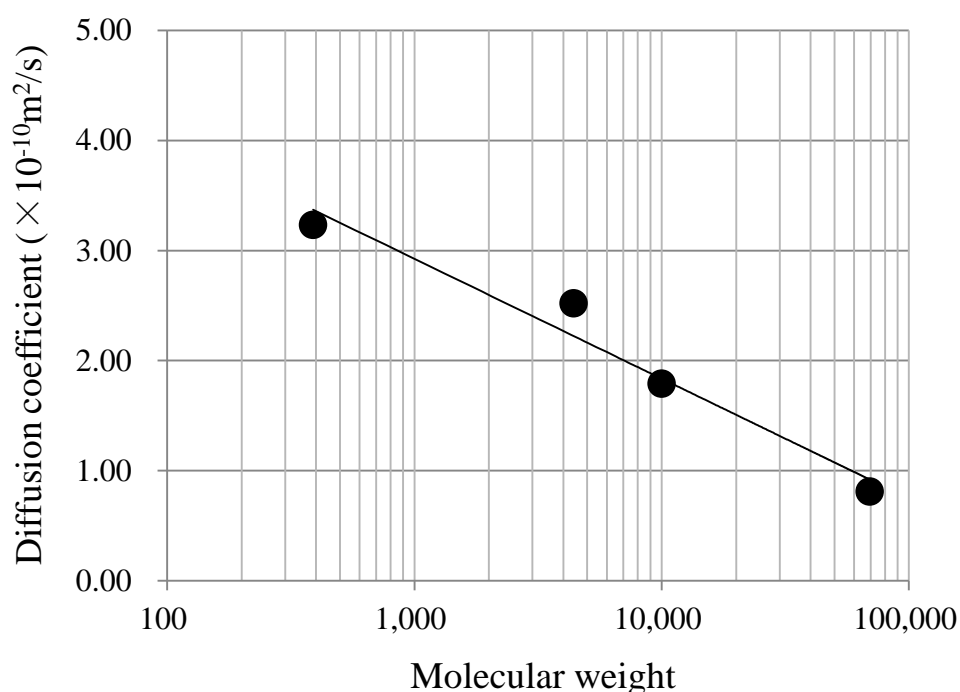


Figure 2-4 Effect of molecular weight of model substance on diffusion behavior in 1.0 w/w% agar (Ag) gel. X-axis is log-converted molecular weights of fluorescein isothiocyanate (FITC) and three sample of FITC-dextran (DEX, model substances, molecular weights, 389.4, 4,400, 10,000, and 69,400, respectively). Various model substances were added to Cell-2 at an initial concentration of 75 $\mu\text{mol/L}$. Data for the four plots are measured in a single run.

第4節 ゲル構造と拡散係数との関係性評価

第1項 カンテンゲル構造と拡散係数との関係性

異なる Ag 濃度によって調製されたゲルが F-Na の拡散係数に与える影響を評価した。Table 2 の配合 2-A~2-C で得られたゲル膜に対し、F-Na の拡散係数を算出した結果、Figure 2-5 に示したように Ag 濃度を変えても拡散係数は、いずれも $2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{sec}$ 付近の一定の値を示すことが分かった。配合 2-A~2-C で得られたゲルは、その破断応力がそれぞれ 2.3×10^4 、 7.5×10^4 及び $16.6 \times 10^4 \text{ Pa}$ であり、Ag 濃度 0.5 w/w% と 1.5 w/w% での破断応力を比較した場合、約 7 倍の差がある。第 1 章に示した研究結果において、Ag 濃度を高くすると破断応力は高くなるが、逆に、ゲルの網目構造を構成する架橋点間距離が短くなり、網目構造が密になること、しかし、これらゲル中に包埋した AAP の放出特性は、Ag 濃度に依存せず、同じ挙動であったことを明らかにした⁴⁷⁾。今回の F-Na の拡散係数の結果は、第 1 章の研究結果とも符合しており、Ag ゲルの濃度が高くなり網目構造が密になっても F-Na の拡散を阻害しない十分なサイズの網目構造（空孔径）を有しており、拡散に影響しなかったものと推察した。

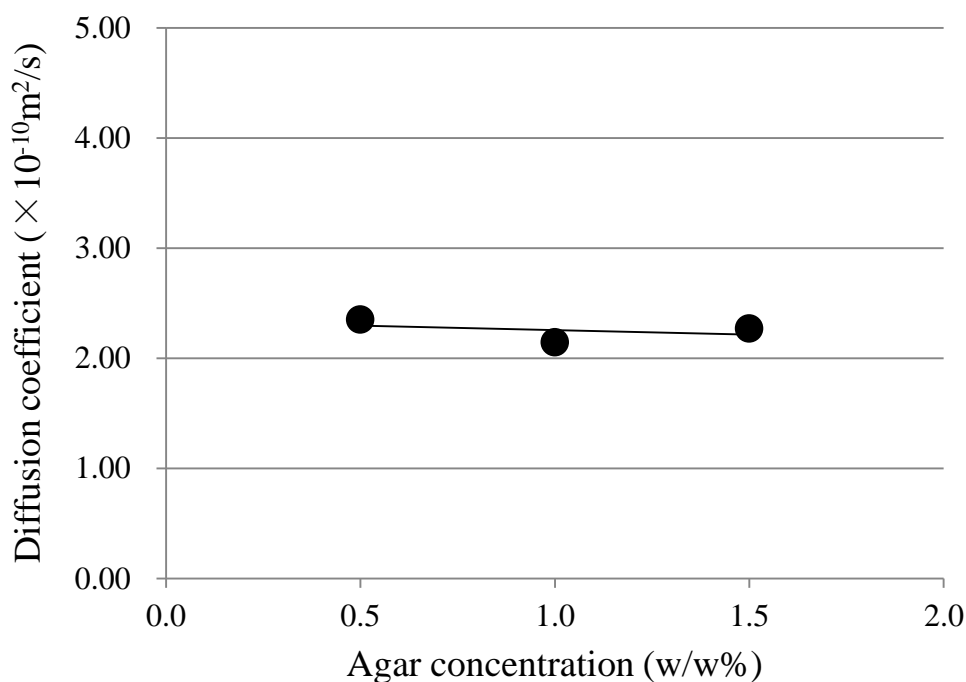


Figure 2-5 Effect of concentration of agar (Ag) gel on fluorescein sodium (F-Na) diffusion behavior. Gel was prepared with different Ag concentrations in accordance with combinations 2A–2C (Table 2) and F-Na diffusion coefficient was calculated. The initial spike concentration F-Na to Cell-2 was $75 \mu\text{mol/L}$ based on the tests described in Figure 2-3. Data for the three plots are measured in a single run.

第2項 多成分ゲルによるモデル物質の拡散制御

第1項の実験において、Ag濃度を変えてもF·Naの拡散係数に相違は認められず、モデル物質の分子サイズに対し、ゲルの網目構造が十分に大きい可能性があることを推察し、Agゲル単独で低分子化合物の拡散挙動を制御することは困難であることが示唆された。そこで、Agに対し、より緻密な網目構造を構築するXa·Lo混合ゲルの配合割合を変えることにより、拡散挙動を変化させることが可能かを確認した。検討に使用したゲル膜は、配合2-B及び2-D～2-Hにしたがって調製したものであり、モデル物質にはF·Naを使用した。Figure 2-6に示した結果のとおり、ゲル基剤全量に対するXa·Loの配合比率が高くなるにつれ、拡散係数が小さく、すなわち、拡散速度が低下することが分かった。これは、Agゲルが構築する粗い構造に対し、Xa·Loが配合されたことで、Agの構造に緻密さが加わり、分子が通過し難くなったものと推察した。また、この結果より、Agゲルに対し、Xa·Loの配合量を変化させれば、低分子化合物の拡散挙動を一定の範囲内で制御できることが分かった。

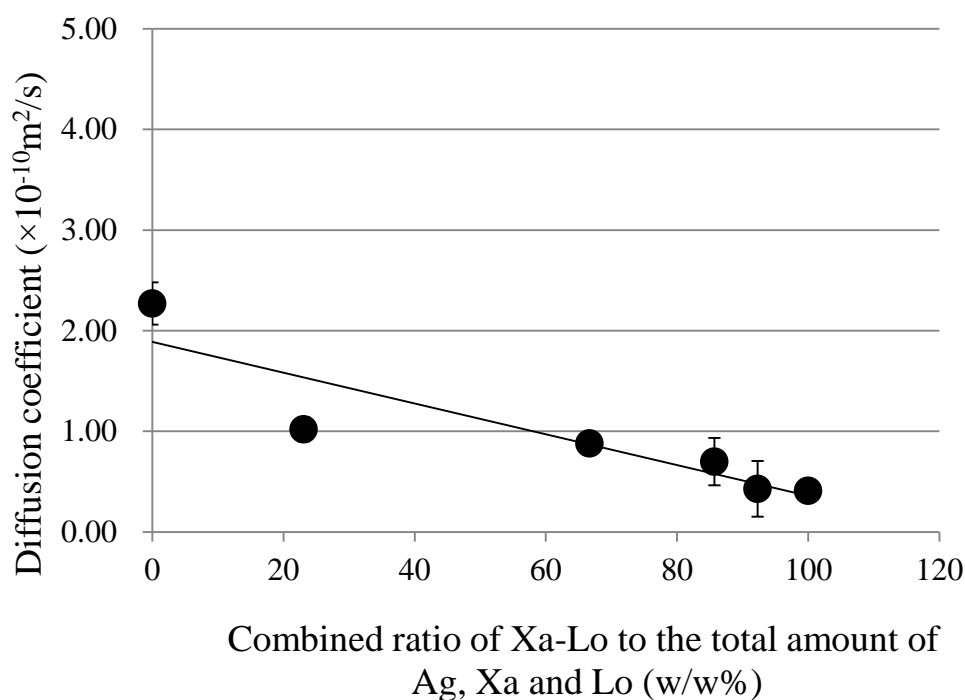


Figure 2-6 Effect of Xa-Lo combined ratio on fluorescein sodium (F-Na) diffusion.

X-axis is the proportions of xanthan gum (Xa) and locust bean gum (Lo) to total combined ratios of agar (Ag), Xa, and Lo gel bases (corresponding to combinations 2-B and 2-D-2-H in Table 2). Specifically, 0 w/w% is combination of Ag 1.0 w/w% only (combination 2-B), and 100 w/w% is total of 0.6 w/w% of Xa and Lo (combination 2-H). The model substances were added to Cell-2 for initial concentrations of 75 $\mu\text{mol/L}$. Values are the mean \pm S.D. of three runs.

第5節 モデル物質の極性と拡散挙動

第4節第2項で示した F-Na を使用した実験では、Ag に対する Xa-Lo の配合割合を変えることにより、拡散係数が変化することが明らかとなった。そこで、異なるモデル物質でも拡散係数が変化するかを確認するため、AAP とソルビン酸カリウム (PSA) を選択した。AAP、PSA はいずれも分子量がほぼ同じ、約 150 程度の化合物であり、水に対する溶解度が 1.4 g/100mL⁴⁸⁾ 及び 58.2 g/100 mL⁴⁹⁾ (いずれも 20°C の場合) と異なっている。これらの化合物は、拡散に際し、ゲルとの何らかの相互作用が働き、挙動に違いが認められるか確認することを意図して選定した。これら化合物に対し、前記同様に Ag 及び Xa-Lo

の配合比率を変えたゲル膜での拡散挙動を測定した結果、Figure 2-7 に示したように、両化合物ともに、Xa-Lo の配合比率が高くなるにしたがい、拡散係数は小さくなる反比例の関係にあることが分かった。また、測定結果をプロットした各点より求めた近似直線の傾きは両化合物でほぼ同様であり、化合物の極性の違いによる差異も認められなかった。

以上の結果から、拡散させる化合物の極性が異なった場合であっても、同様に拡散挙動を変化させることが明らかとなった。

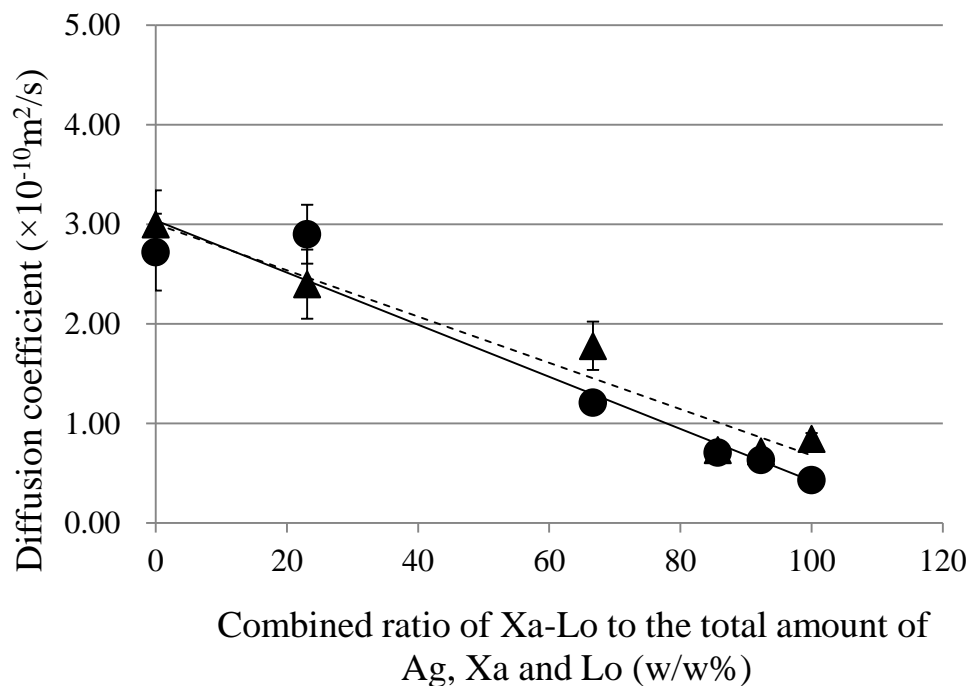


Figure 2-7 Effect of different combined ratios of xanthan gum (Xa)-locust bean gum (Lo) on diffusion of different model substance. X-axis shows combined ratios of Xa, Lo to the total amount of Ag, Xa, and Lo. ● straight line, AAP, model substance; and ▲ and dotted line, PSA. Model substances were added to Cell-2 to initial concentrations of 75 $\mu\text{mol/L}$ for both tests. Values are the mean \pm S.D. of three runs. AAP, acetaminophen; PSA, potassium sorbate.

第6節 各種モデル物質の溶出プロファイル

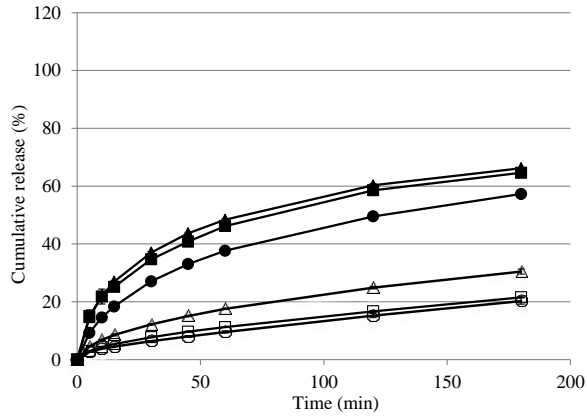
ゲル膜での検討において、異なる極性（水に対する溶解度）を持つ化合物に対し、拡散係数を変化させることができた。そこで、前節までに得られた知見を、経口ゼリー剤の薬

物放出制御技術として応用できるかを検証するため、ゲルキューブからのモデル物質の溶出挙動について評価した。配合 2-B 及び 2-D~2-H に従って調製し、その中にあらかじめ各種モデル物質を配合したゲルキューブを作製して溶出試験を行った。モデル物質は、AAP、PSA、安息香酸ナトリウム (SBA)、クロルフェニラミンマレイン酸塩 (CPM) とした。供試ゲルキューブは、表面積の違いによる溶出率への影響を排除するため、1 cm³ の立方体とした。結果は Figure 2-8 (a)~(d) に示した。Ag のみのゲルと比べ、Xa-Lo のみのゲルでは 4 種類のモデル物質の溶出率がいずれも大きく低下することが確認できた。また、Ag に対する Xa-Lo の配合割合が高くなるにつれ、溶出率は低くなる傾向にあることも分かった。

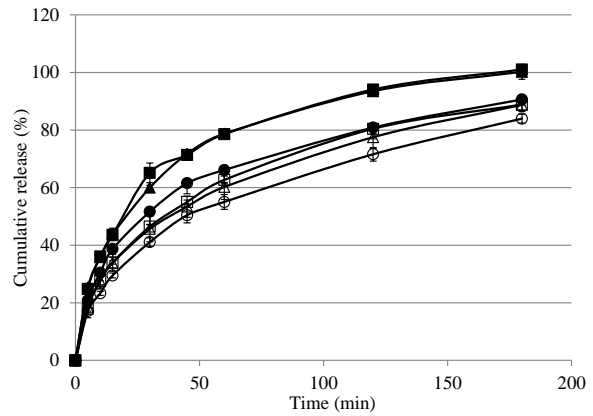
溶出曲線において、ゲルからのモデル物質の溶出量が一定となり、直線的になり始めた最初のポイント (30 分後) における各モデル物質の溶出率を Ag 及び Xa-Lo の配合比率に応じてプロットした。その結果、Figure 2-9 に示したように、ゲル基剤中の Xa-Lo の配合割合が高くなるにつれて、溶出率も低下する反比例のグラフとなることが分かった。これは、Figure 2-6 及び 2-7 で示した拡散係数の挙動と同様であった。また、溶出率は、PSA > SBA > CPM > AAP の順に相対的に高くなっており、モデル物質の水に対する溶解度の高さと同じ順序になっていたことから、ゲルからの物質の溶出性は、物質の極性によって影響を受けるものと推察した。溶出試験を行った時と同じ 37°C における各モデル物質の 100 mL あたりの水に対する溶解度は、PSA 59.8 g、SBA 58.0 g、CPM 49.7 g 及び AAP 2.0 g であった。

Figure 2-7 の結果において、化合物の溶解度の違いに依らず、拡散係数はほぼ同様であったことを第 5 節で示した。一方で、Figure 2-8 及び 2-9 に示した溶出試験の結果では溶出率が化合物の溶解度、すなわち極性の影響を受けていることを推察し、矛盾が生じているような結果となった。これは、拡散係数の測定において、Cell-2 の中に十分な濃度の化合物を含んでおり、ゲル膜中の化合物の拡散挙動が一定の状態になった時点の評価しているのに対し、溶出試験では、あらかじめゲルの中に化合物を規定濃度で内在し、溶出試験液である水の中に、攪拌されながら化合物が放出され、ゲル内の化合物濃度が徐々に低下し、放出量も低下していくという試験法の違いからくるゲル中の拡散挙動の相違により生じたものと考えている。詳細については、さらなる研究で今後明らかにしたい。

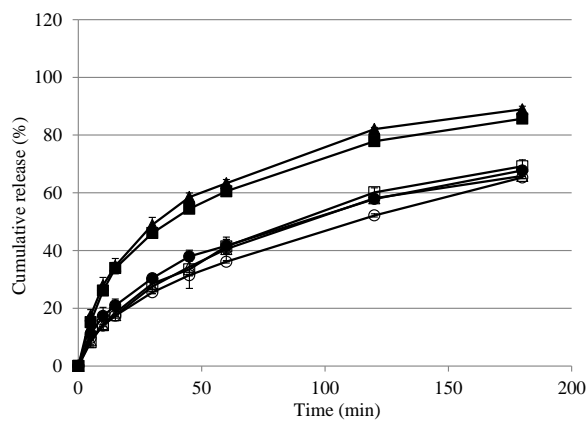
(a) AAP



(b) PSA



(c) CPM



(d) SBA

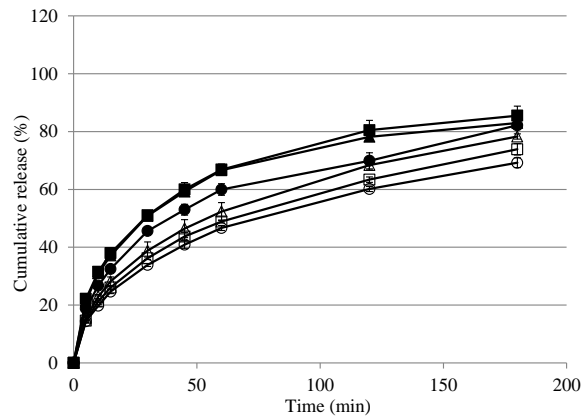


Figure 2-8 Dissolution test of various model substances. Gels were prepared in accordance with sample combinations 2-B and 2-D-2-H (Table 2) and formulated into 1 cm³ cubes for dissolution test using the JP Paddle method. Test solution was water, with rotation at 50 rpm. Results of model substances (a) AAP, (b) PSA, (c) CPM, and (d) SBA are shown. Symbols indicate combined ratio of xanthan gum (Xa)-locust bean gum (Lo) to total amount of agar (Ag), Xa, and Lo. ▲, 0.0%; ■, 23.1%; ●, 66.7%; △, 85.7%; □, 92.3%; and ○, 100.0%. Values are mean ± standard deviation (SD) of three determinations. AAP, acetaminophen; CPM, chlorpheniramine maleate; SBA, sodium benzoate; PSA, potassium sorbate.

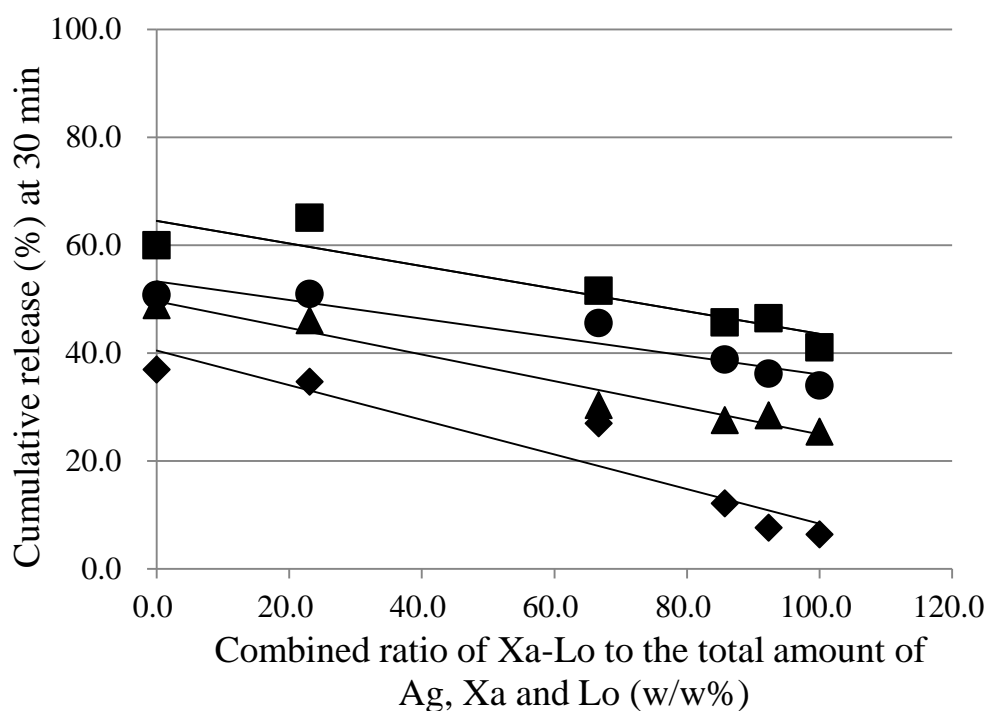


Figure 2-9 Dissolution rate of model substances at dissolution time of 30 minutes.

Y-axis shows mean dissolution rates at the first point (30 min) where dissolution rate became constant for tested model substances [Figure 2-8(a)–(d)]. X-axis shows combined ratios of xanthan gum (Xa) and locust bean gum (Lo) to total amount of agar (Ag), Xa, and Lo gel base. Data on Y-axis were plotted as a function of X-axis. Model drugs: ■, PSA; ●, SBA; ▲, CPM; and ◆, AAP. AAP, acetaminophen; CPM, chlorpheniramine maleate; SBA, sodium benzoate; PSA, potassium sorbate.

第7節 小括

Ag ゲル及び Xa-Lo ゲルそれぞれにおいて、配合を変えて異なる物性を持つ各種ゲルを調製し、ゲル物性と拡散との関係性について調べた。また、Ag ゲルに対する Xa-Lo の配合割合を変えることにより、種々のモデル物質の拡散係数ならびに溶出特性がどのように変化するかを調べた。その結果、以下の点が明らかとなった。

- 1) Ag ゲル濃度を変化させるとゲルの破断応力は7倍程度変化したが、F-Na の拡散係数に変化は認められなかった。従来、ゲル濃度を高めると網目サイズが小さくなると言われていたが、Ag ゲルの網目サイズは、F-Na の拡散係数に変化を与えるようなサイズではない (F-Na 分子が網目を自由に通過できるほど大きい) と推察した。
- 2) Ag ゲルに対し、異なる分子量を持つ FITC-DEX の拡散係数を測定した結果、分子量に反比例し拡散係数が小さくなった。つまり、拡散する物質の分子量が大きければ Ag ゲルでも拡散挙動を変化させることができると分かった。しかし、医薬品の多くは分子量 500~1,000 未満の低分子化合物であるため、Ag ゲルのみで薬物の放出制御を行うことは困難であると推察した。
- 3) Xa、Lo を併用した混合ゲルにおいては、F-Na の拡散係数は Ag ゲルの場合よりも小さくなった。また、Ag に対し Xa-Lo の配合を変えて調製したゲルでは、Xa-Lo の配合割合に応じて拡散係数が小さくなった。以上のことから、Ag ゲルと Xa-Lo 混合ゲルそれぞれ単独で得られる拡散係数の範囲内であれば、低分子化合物であっても放出制御できることが明らかとなった。
- 4) AAP と PSA において、Ag に対し、Xa-Lo の配合割合を変えたゲルそれぞれでの拡散係数の挙動に差異は認められなかったことから、化合物の水への溶解性 (極性) は拡散挙動に影響しないことを確認した。
- 5) AAP、PSA、CPM 及び SBA の4種の薬物で溶出試験を実施した結果、いずれの場合も拡散係数の挙動と同様に、Ag に対し Xa-Lo の配合割合を増やすことで溶出率が低くなることが分かった。また、溶出率は、薬物の水への溶解性 (極性) に依存して高くなる傾向が認められており、拡散係数の挙動と矛盾していた。モデル物質の膜透過とモデル物質をあらかじめ包含しているゲルキューブとで物質の拡散、放出性の挙動が異なるためと推察した。

第3章 経口ゼリー剤に対する薬物放出制御技術の適用可能性検討

第1節 緒言

第2章で示したように、Ag に対する Xa-Lo の配合割合を変えることで、拡散の挙動や放出特性が変化することを明らかにした。そこで、この特性を経口ゼリー剤の製剤設計に応用することを視野に入れ、まず、苦味マスキングへの活用可能性について検討した。苦味を有する医薬成分としてはレボフロキサシン (LVFX) を選定した。

LVFX はニューキノロン系の合成抗菌剤に分類されており、グラム陰性菌及びグラム陽性菌に対し、幅広い抗菌スペクトルを有するため、多くの細菌感染症に治療効果を示す有用な薬物として知られている^{50), 51)}。しかし、非常に強い苦味を有しているために、高齢患者が服用し易いとされる経口ゼリー剤などの製剤化を困難にしている。第2章の検討で行った溶出特性評価において、Figure 2-8 で示したようにゲル基剤の配合により溶出性に差が生じることを確認している。そのため、この溶出性の違いが LVFX の苦味マスキングに有効なレベルであるかどうか、本章において検証することとした。

第2節 味認識装置によるレボフロキサシンの評価

第1項 苦味応答センサーの選定

ゲル基剤の違いによる LVFX の苦味マスキング効果を評価するため、人の口中で味を感じる状態を機械的に測定できる味認識装置 (TS-5000Z ; (株) インテリジェントセンサーテクノロジー、神奈川、日本) を使用した^{52), 53)}。味認識装置では、各種味 (旨味、甘味、酸味、渋味、塩味及び苦味) を評価するためのセンサーが用意されており、味質に応じて反応性の高いセンサーを使用することとなる。医薬品の味を味認識装置で評価する手法は近年、多くの報告例があり^{54)~58)}、特に、製剤の味に関する経時安定性の評価や、製剤設計時の苦味マスキングの評価で活用されている。本研究においては、苦味に応答するセンサーのうち、LVFX への苦味を正確に評価するため、AN0 (塩基性苦味)、AC0 (塩基性苦味) 及び BT0 (塩酸塩苦味) の3種のセンサーの中から LVFX の苦味に対する応答性の強いセンサーを選定することとした。人の官能評価で後に残る味を示す CPA 値 (Change of membrane Potential by Adsorption) を指標として、LVFX 希釈溶液の応答電位を測定して評価し、その結果を Table 3 に示した。センサーの応答性は、AN0 及び AC0 センサーはいずれの濃度においてもほぼセンサーの応答電位に変化が認められず、一定の値を示した。一方、BT0 センサーは LVFX 濃度が 0.005 w/w%, 0.05 w/w% の場合は、応答電位に変化が認められなかったが、0.5 w/w% 濃度において、-5.31mV の応答電位を示し、他の濃度とは異なり LVFX に反応していることが明らかとなった。よって、以後の実験では BT0 センサーにて評価することとした。

Table 3 Estimation of responsible sensor to bitterness of levofloxacin

Sensor type	Concentration of LVFX (w/w%)		
	0.005	0.05	0.5
AC0	-0.17 ± 0.25 mV	-0.37 ± 0.18 mV	-0.71 ± 0.07 mV
AN0	-0.19 ± 0.08 mV	-0.24 ± 0.07 mV	0.26 ± 0.11 mV
BT0	-0.04 ± 0.06 mV	0.05 ± 0.13 mV	-5.31 ± 1.07 mV

Each test had three runs, and the results are the mean ± S.D.

第2項 BT0 センサーにおけるレボフロキサシンの応答範囲

前項において、BT0 センサーはLVFX に対する CPA 値の応答性が高いことを確認した。そこで、BT0 センサーの応答性が LVFX の苦味の強弱、つまり、LVFX の濃度に依存して応答するかを確認するため、0.33M KCl 溶液にて LVFX を 0.1 w/w%~0.5 w/w% の濃度に希釈し、CPA 値による応答電位を測定した。その結果、Figure 3-1 に示した通り、0.2 w/w% までは、ほぼ応答電位が 0mV とセンサーに対する応答性を示さなかったものの、0.25 w/w%~0.5 w/w% までは、負の応答電位が濃度依存的に発生し、LVFX 濃度と応答電位に反比例の関係があることを確認した。したがって、LVFX の苦味の強弱を BT0 センサーで評価可能であることが明らかとなった。

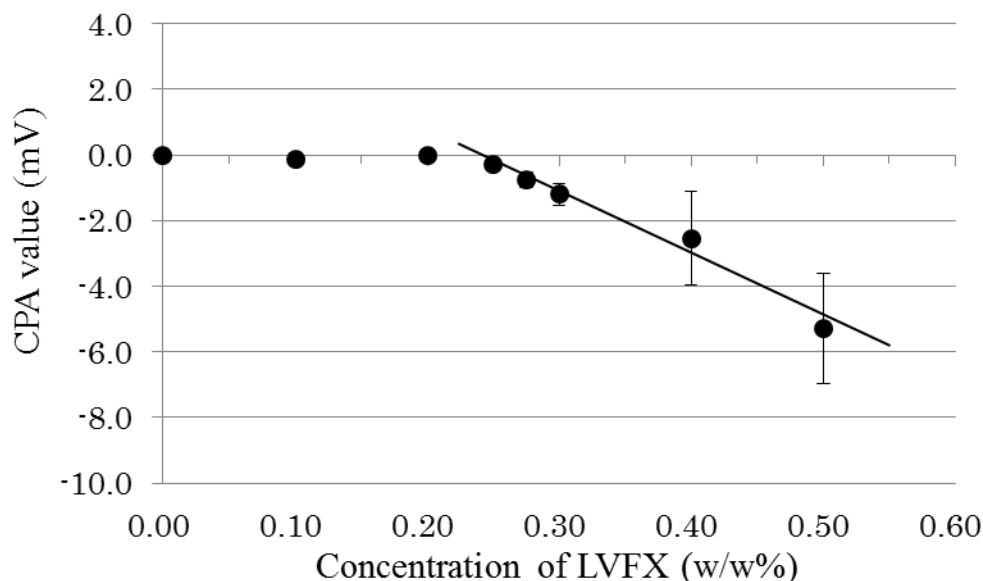


Figure 3-1 Estimation of responsible range for levofloxacin (LVFX) using BT0 sensor. CPA value was tested with BT0 sensor. The concentration range of LVFX was measured in 0–0.5 w/w%. Each test had three runs, and the results are the mean \pm S.D.

第3節 レボフロキサシン含有ゲルの苦味マスキング効果の評価

LVFX の苦味マスキング効果を確認するため、溶出性の速いゲルの例として第 2 章の Table 2 で示した配合 2-B を、また、溶出性の遅いゲルの例として配合 2-H を選定し、それぞれの処方中に LVFX を添加して得られたゲルの味について、味認識装置を用いて試験を行った。人の口中でゲルが咀嚼された状態を再現するため、ゲルを 10mL 容量のシリンジに詰め、直径約 2mm の先端からゲルを押し出して崩れた状態とし、そのゲルを 50mL の 0.33M KCl 溶液中に入れ、一定時間ごとに溶液をサンプリングした。LVFX の苦みは、CPA 値を指標として応答電位を測定した。OD 錠の崩壊性や味を評価する場合において、アメリカ食品医薬品局 (FDA) におけるガイダンス⁵⁹⁾ がよく参照されている。そこで、本研究においてもガイダンスで示されているように 30 秒後の状態を指標として、サンプリング液の苦味を評価した。その結果、Figure 3-2 に示したように配合 2-B では -0.44 mV、配合 2-H では 0.07 mV という結果であった。測定に使用した BT0 センサーは LVFX 濃度依存的にマイナスの応答電位が強くなることを前節において確認しており、配合 2-H に対し、配合 2-B の方が、マイナスの応答電位が強かったことから、LVFX 溶出量が多い、つまり苦味を強く感じると認識していることが分かった。また、測定結果について対応のな

いt検定を行ったところ、有意な差が認められた ($p < 0.01$)。

この味認識装置で得られたセンサー応答の差異は、ヒトが口中で苦味を感じる状態を明確に反映しており、配合 2-Hの方が明らかに LVFX の苦味を感じにくく、官能的にも十分にマスキング効果が得られていることも確認した。また、ここでは結果を示していないが、2-B の CPA 値は、10 秒後～60 秒後まで直線的に負の応答が増加していたのに対し、2-H は 60 秒後でも CPA 値はほぼ 0 で応答性を示さなかった。したがって、2-H のゲルは、口中で 60 秒程度咀嚼していても十分にマスキング効果が認められることがわかった。

以上の結果から、拡散速度や溶出特性の相違を把握することで、医薬成分の苦みマスキングにも応用できることが明らかとなった。

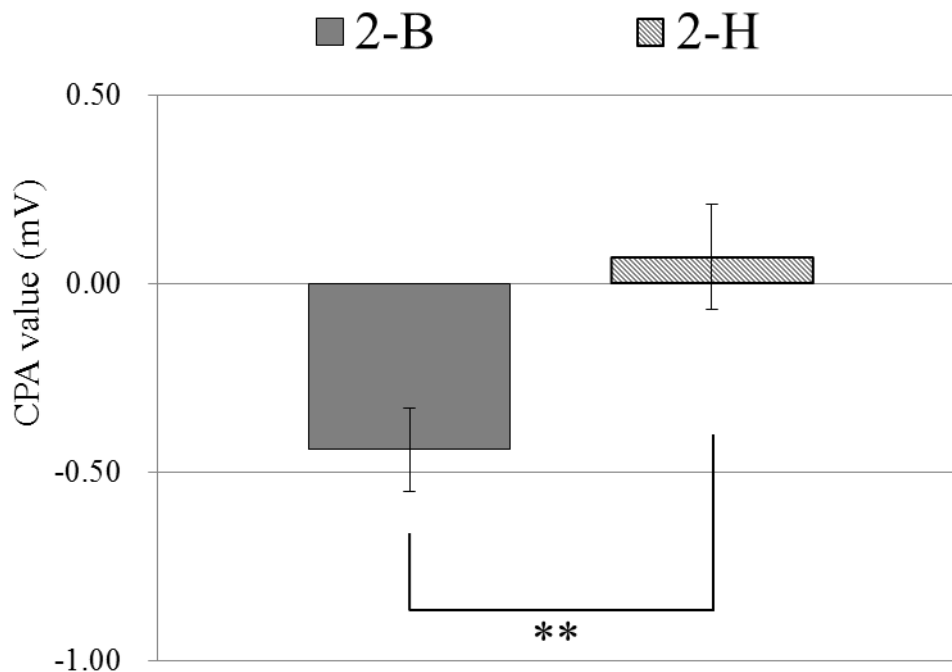


Figure 3-2 Bitterness evaluation of gel containing levofloxacin (LVFX) using taste sensor. Gel prepared in accordance with Combinations 2-B and 2-H containing LVFX (except ethyl-p-hydroxybenzoate) was used for bitterness evaluation using taste sensor. The sensor was a BT0 with established responses to LVFX, and its response potential was plotted on Y-axis. Each test had three runs, and the results are the mean \pm S.D., $**p < 0.01$.

第4節 小括

天然高分子ゲルを用いた経口ゼリー剤に薬物放出制御能を付与すること、また、実用的にも利用可能な技術とすることを最終的な目標とし、前記2章において検討を行ってきた。その中で得られた知見をもとに、本章では苦みの強いLVFXを含むゲルを調製し、苦味マスキングが可能か検討を行った。苦味マスキングが達成されたかを確認するために、味認識装置による味覚センサーで評価した。本章により明らかとなった知見を以下に示した。

- 1) 味認識装置において、苦味に応答するセンサー3種 (AC0, AN0 及び BT0) を評価した結果、LVFX に対しては BT0 センサーにおける CPA 値の応答性が特異的に高いことがわかった。
- 2) LVFX 濃度 0.25 w/w%~0.5 w/w%の範囲内において、CPA 値と負の相関が認められ、BT0 センサーによって苦味強度を測定可能であることが明らかとなった。
- 3) 溶出性の速かった Ag ゲル (配合 2-B) と溶出性が遅かった Xa-Lo ゲル (配合 2-H) に対し、LVFX を添加してゲルから放出される LVFX の苦味強度を BT0 センサーにて評価した結果、Ag ゲルの試験液では時間とともに LVFX の苦味強度が上昇する結果となったが、Xa-Lo ゲルの試験液は BT0 センサーによる応答がほとんど認められないことがわかった。
- 4) OD 錠に関する FDA のガイダンスで示されているように、口中での 30 秒後の状態を模した試験液を BT0 センサーにより評価した結果、前述の通り、Ag ゲルの試験液は応答性を示したのに対し、Xa-Lo ゲルの試験液は応答しなかった。この応答性の違いは統計的にも有意であった。また、この違いは人の官能においても同様の結果であり、Xa-Lo ゲルでは LVFX の強い苦みに対し、十分な苦味マスキングができることが明らかとなった。

第4章 総括及び考察

近年における世界規模での高齢化率の上昇に伴い、医薬の分野においては、服薬コンプライアンスやアドヒアランスの向上を目的とした易服用性製剤の開発が盛んに進められている。中でも経口ゼリー剤は、適度な流動性と容易な咀嚼性から嚥下機能が低下した高齢者でも服用し易い優れた剤形の一つとして注目されている。また、優れた服用性に加え、薬物の放出制御能のような機能性を持たせ、医薬品としての付加価値を向上させた製剤に発展させていくことが今後、期待されている。本研究では、優れた服用性を有しつつ、ゲルからの薬物放出制御が可能な経口ゼリー剤を設計することを目指し、研究を行った。

医薬品添加物として使用実績のあるカンテン (Ag)、キサentanガム (Xa) 及びローカストビーンガム (Lo) の混合比率を変えて様々な物性を有するゲルを設計し、ゲル物性と網目構造の違いを明らかにした。また、ゲルを膜状に製し、膜を透過する種々のモデル物質の拡散係数から、モデル物質の分子量や極性の違いが拡散挙動に及ぼす影響を明らかにした。それにより、汎用性のある薬物放出制御技術としての活用可能性があることを明らかにした。さらに、ゲルに起因する薬物放出特性の違いを利用し、レボフロキサシンの苦味マスキングが可能であることを明らかにし、機能性を付与した経口ゼリー剤として製品化を見据えた有用な技術と成り得ることを示すことが出来た。

以下に、本研究により得られた知見を要約する。

1. ゲルの網目構造と薬物放出特性の関係性評価

ゲル物性と網目構造との関係性、また、網目構造と薬物放出挙動の関係性を評価するため、検討を行った。Ag ゲル、Xa-Lo ゲルのいずれの場合もゲル強度と網目サイズに反比例の関係が成立することを明らかにした。また、Xa-Lo ゲルは Ag ゲルと比べ非常に密な構造であることを確認した。これらゲル中にアセトアミノフェンを含有させて放出特性の評価を行った結果、Xa-Lo ゲルで放出性が遅くなったことから、ゲルからの薬物放出は網目サイズの影響を受けることを確認し、また、放出性の速い Ag ゲルと組み合わせることで、薬物放出挙動が制御できる可能性を見出した。

2. ゲル中の薬物拡散挙動の評価と制御

Ag ゲルを膜状化し、モデル物質の拡散挙動を評価した。Ag 濃度とゲル強度は比例関係にあったが、拡散係数との関連性は認められず、一定の値を示した。一方、モデル物質の分子量を変えると分子量に反比例し、拡散係数が小さくなることを明らかにした。つまり、Ag ゲル単独では低分子化合物の拡散を制御することは困難であることを示した。また、Ag に対し、Xa-Lo を配合する比率を変えて拡散挙動を評価した結果、Xa-Lo の配合割合に比例し、拡散係数が小さくなることを明らかにした。さらに、モデル物質を包含したゲルキューブで放出特性を検証した結果、種々のモデル物質のいずれにおいても、Ag に対

し、Xa-Lo の配合割合が多くなるほどモデル物質の放出が遅くなることを確認した。これまで即放性を示していたゲルにおいて、放出性を遅延させるようにコントロールできることが明らかとなり、汎用性の高い制御技術と成り得ることを示した。

3. 経口ゼリー剤に対する薬物放出制御技術の適用可能性検討

強い苦味を有するレボフロキサシンを Xa-Lo ゲル及び Ag ゲル中にそれぞれ添加し、苦味マスキング効果を確認した。味認識装置による評価では、Ag ゲルで苦味応答が認められたのに対し、Xa-Lo ゲルは苦味応答が認められず、有意にマスキング効果が得られていることを示し、実用的な技術として利用可能であることを明らかにした。

以上、Xa-Lo と Ag が構築するゲルの物性と網目構造ならびに拡散挙動を評価し、ゲル基剤の配合割合を変えることで、薬物放出を制御できることを見出した。また、実用面においても苦味マスキングとして有効に活用できることを明らかにした。本研究で得た知見は、ゲル中に包含する薬物種に限定されることなく薬物放出制御ができるという点で、今後の経口ゼリー剤の製剤設計において、非常に有効な手法として活用が期待される。

今回の研究で得られた知見をもとに具体的な製品化を視野に入れ、経口ゼリー剤に放出制御能を持たせることで有用性が高まると考えられる薬物を選定し、その薬効に応じた意味のある薬物の放出制御性を付与することが可能となるか、また、*in vivo* における挙動においても制御が可能となるかなど、実用化に向けての研究をさらに進め、本技術を発展させていきたいと考える。

実験の部

第1章の実験

1.1. 材料

1.1.1. ゲルの調製

ゲルを調製するための添加物として、カンテン (Ag)、キサントガム (Xa ; 伊那食品工業 (株)、長野)、ローカストビーンガム (Lo ; 三晶 (株)、大阪)、粉末還元麦芽糖水アメ (三菱商事フードテック (株)、東京) 及びパラオキシ安息香酸エチル (上野製薬 (株)、大阪) を使用した。

1.1.2. モデル薬物

溶出試験用のモデル薬物として、アセトアミノフェン (AAP ; Sigma-Aldrich. Inc., MO, 米国) を使用した。

1.2. ゲルの調製方法

ゲルは、次のとおり調製した。Table 1 の配合に従い秤量した Ag または Xa 及び Lo を溶解しづらい粉末塊 (ダマ) が形成しないように粉末還元麦芽糖水アメの一部とあらかじめ粉末混合した。これを精製水に徐々に加えて分散させた後、水浴で 95°C となるように加熱して 15 分間攪拌しながら完全に溶解させた。その後、残りの粉末還元麦芽糖水アメ及びパラオキシ安息香酸エチルを加え、精製水で質量補正を行った。溶解液の温度が 85°C 以上であることを確認 (85°C 以下の場合は再度加熱) し、30 分間の殺菌を行った後、それぞれの実験の目的に合わせ、各種測定容器に必要量を充てんし、室温で固化後、実験に供した。

1.3. 各種測定

1.3.1. ゲル強度の測定

ゲル強度は次の条件により測定した。なお、試料は物性測定用容器 (約 26mL 容量のポリプロピレン製 (上部 ϕ 40 mm、底部 ϕ 35 mm、高さ 30 mm)、Sarstedt AG & Co., ドイツ) に約 10 mL のゲル調製液を充填し、室温で固化後、測定に供した。

ゲル強度の測定には、クリープメーター ((株) 山電、RHEONER RE-3305、東京) とフルスケールが 20 N のロードセルを使用した。ゲルの測定温度は室温とした。円筒形プランジャーにより (Ag の測定は ϕ 16 mm、Xa-Lo 混合ゲルの場合は ϕ 3 mm)、1 mm/sec の圧縮速度で試料の厚みの 95% まで圧縮して得られた応力-歪曲線から、ゲルの破断点の応力ならびに歪率を記録した。

1.3.2. 走査型顕微光散乱 (SMILS) によるゲルネットワークの測定

調製したゲルのネットワーク構造を解析するため、古川らが開発した走査型顕微光散乱 (Scanning Microscopic Light Scattering ; 略称 SMILS) ^{35),36)} により次の条件で測定を行った。なお、測定試料はリムなし試験管 (ϕ 10 mm \times 70 mm、旭ガラス (株)、東京) にゲル調製液を約 3 mL 充填し、室温で固化後、使用した。

測定条件は、温度 30.0°C、散乱角 90° 及びレーザー光波長 532 nm とした。また、試験管に充填されたゲルの高さ方向に 300~500 μ m ステップで位置を変えて 16~31 点の測定を行い、ゲル全体の性質を反映したアンサンブル平均の緩和時間分布 $P_{en}(\tau_R)$ を求めた。測定後の網目サイズの算出 ³⁷⁾ については、第 3 節において詳述した。

1.4. ゲルの走査型電子顕微鏡 (SEM) による構造解析

2 v/v% グルタルアルデヒドを含む 0.1 mol/L カコジル酸緩衝液 (pH 7.4) 中で、ゲルを 4°C 一晩浸漬した。その後、1 w/v% タンニン酸を含む 0.1 mol/L カコジル酸緩衝液 (pH 7.4) 中に 4°C 1 時間浸漬した。浸漬後、0.1 mol/L カコジル酸緩衝液で 30 分間 \times 4 回の洗浄を行い、最後に、2 w/v% 四酸化オスミウムを含む 0.1 mol/L カコジル酸緩衝液中で、4°C 2 時間浸漬した。続いて、ゲルを脱水するために、50 v/v%、70 v/v%、90 v/v% 及び 100 v/v% のエタノールを用いて徐々に水分をエタノールに置換した。50 v/v% と 70 v/v% エタノールは 4°C で 30 分、90 v/v% エタノールは室温で 30 分、100 v/v% エタノールは室温で 30 分間を 4 回繰り返し、最後に 100 v/v% エタノールの状態で、室温一晩放置した。その後、ゲル中のエタノールは室温で t-ブチルアルコールに置換した。まず初めに t-ブチルアルコール : エタノール (1:1) で 1 時間の置換を行い、続いて 100 v/v% t-ブチルアルコールで 1 時間 \times 3 回の置換を行った。その後、4°C で凍結させ、真空乾燥を行った。真空凍結乾燥後のサンプルは、オスミウムプラズマコーター (日本レーザー電子 (株)、NL-OPC80NS、愛知) を使って、約 60 nm のオスミウムの薄膜でコーティングした。各種処理を行ったサンプルは、走査型電子顕微鏡 (日本電子 (株)、JSM-6340F、東京) を用い、加速電圧 5.0 kV の条件で観察し、適宜、観察倍率を変えて観察画像をデジタルファイルとして保存した。

1.5. アセトアミノフェン (AAP) の溶出試験

Ag 及び Xa-Lo 混合ゲルのそれぞれの配合に対し、67.5 μ mol/mL となるように AAP を添加し (精製水で全体質量を補正)、1.2. で示した手順に従って、ゲルを調製した。その後、1 cm³ のキューブ型モールドに流し込んだ後、室温で固化させて試料とした。この試料について、日本薬局方一般試験法、製剤試験法の項に記載されている溶出試験法 装置 2 (パドル法) に従い、溶出試験器 (富山産業 (株)、NTR-6000、東京) を用いて 37°C で試験を行った。パドル回転数は 50 rpm、試験液は 900 mL の水とし、一つのベッセルに

対し、試料を 1 個投入して一定時間ごとに試験液のサンプリングを行った。サンプリングにより得られた溶出試験液は ACQUITY UPLC system (Waters Corp., MA, 米国) により分析を行った。分析用カラムは、ODS カラム (HSS TS 1.8 μ m 2.1 \times 150 mm、Waters Corp., MA, 米国) を使用し、移動相として、リン酸(2 \rightarrow 1000) : アセトニトリル(8:2)、流速 0.20 mL/min、カラム温度 40 $^{\circ}$ C の条件で分析を行い、5 μ L のサンプルをアプライして溶出されてくるアセトアミノフェンを 245 nm の波長で検出した。また、ゲル中の保存剤として添加しているパラオキシ安息香酸エチルを排除するため、アセトアミノフェンが溶出した後、移動相を 80 v/v% アセトニトリルに切り替えてカラムを洗浄した。アセトアミノフェン濃度は、別途、濃度既知のアセトアミノフェンを同条件にて分析を行い、得られた検量線から算出した。

第2章の実験

2.1. 材料

2.1.1. ゲルの調製

ゲルを調製するために、ゲル基剤として、カンテン (Ag)、キサントガム (Xa ; いずれも伊那食品工業 (株)、長野、日本)、及び Lo (三晶 (株)、大阪、日本) を使用した。また、その他の添加剤として、粉末還元麦芽糖水アメ (三菱商事フードテック (株)、東京、日本)、パラオキシ安息香酸エチル (上野製薬 (株)、大阪、日本) を使用した。

2.1.2. モデル物質

各種試験におけるモデル物質は次のものを使用した。フルオレセインナトリウム (F-Na)、フルオレセインイソチオシアネート (FITC)、デキストランを結合したフルオレセインイソチオシアネート (FITC-DEX 4,400、10,000 及び 69,400 ; DEX の後に表記する数字は平均分子量を示す)、アセトアミノフェン (AAP ; いずれも Sigma-Aldrich, Inc., MO, 米国)、安息香酸ナトリウム (SBA ; (株) 伏見製薬所、香川、日本)、ソルビン酸カリウム (PSA ; MC フードスペシャリティーズ (株)、東京、日本)、マレイン酸クロロフェニラミン (CPM ; 東京化成工業 (株)、東京、日本) 及びレボフロキサシン水和物 (LVFX ; Teva API Japan LTD., 東京、日本)。

2.2. ゲルの調製方法

ゲルは、次のとおり調製した。Table 2 の配合に従い秤量した Ag または Xa 及び Lo を溶解しづらい粉末塊が形成しないように粉末還元麦芽糖水アメの一部とあらかじめ粉末混合した。これを精製水に徐々に加えて分散させた後、水浴で 95°C となるように加熱して 15 分間攪拌しながら完全に溶解させた。その後、残りの粉末還元麦芽糖水アメ及びパラオキシ安息香酸エチルを加え、精製水で質量補正を行った。溶解液の温度が 85°C 以上であることを確認 (85°C 以下の場合は再度加熱) し、30 分間の殺菌を行った後、得られたゲル調製液は、実験の用途に応じて必要量を所定の容器に分注し、一晚室温で固化させた後、使用した。

2.3. 各種測定

2.3.1. ゲルの物性測定

ゲルの物性は次の条件により測定した。なお、試料は物性測定用容器 (約 26 mL 容量のポリプロピレン製 (上部 φ 40 mm、底部 φ 35 mm、高さ 30 mm、Sarstedt AG & Co., Nümbrecht、ドイツ) に約 10 mL のゲル調製液を充填し、室温で固化後、測定に供した。

ゲル強度の測定には、クリープメーター ((株) 山電製、RHEONER RE-3305、東京、

日本) とフルスケールが 20 N のロードセルを使用した。ゲルの測定温度は室温とした。円筒形プランジャー (各測定で使用したプランジャー径は Table 2 に記載) により、1 mm/sec の圧縮速度で試料の厚みの 95~100%まで圧縮して得られた応力-歪曲線から、ゲルの破断応力ならびに歪率を記録した。

2.3.2. ゲル膜中のモデル物質の拡散評価

2.3.2.1. ゲル膜の拡散係数測定

ゲル膜は、Tokita の方法⁶⁰⁾ を参考に Figure 2-1 のゲルホルダーにて作成した。また、拡散の測定は、Figure 2-2 に示した市販の膜透過実験装置 (PERMCELL™ KH-55 型; (株) ビードレックス、福岡、日本) を使用した。

ゲル膜は、膜透過実験装置の左右の Cell の中央に配置し、その両側に Cell 内の試験液が漏出しないようシリコンシートで挟み込んでクリップで固定した。両側の Cell には試験液である精製水を 48 mL ずつ入れた。この状態で試験液が 30℃となるように恒温水槽の水を Cell 外側のジャケット部分にポンプで送液・循環し 30 分間以上保温した。

Cell 2 には、モデル物質を実験の目的に応じて所定量添加し、Cell 内の溶液量が 50 mL となるようにした。もう一方の Cell 1 にも同量の精製水を加え、膜に圧力差が生じないようにした。モデル物質を添加した時点で試験開始とし、Cell 1 の試験液をポンプで循環させて F-Na、FITC 及び FITC-DEX の場合は蛍光検出器 (RF-10A 型; 株式会社島津製作所、京都、日本) によりモニタリングしながら、蛍光強度 (励起波長: 490 nm、蛍光波長: 520 nm) を記録した。その他のモデル物質については、一定時間ごとに Cell 1 から試験液をサンプリングし (サンプリング後は 30℃に保温した精製水を補液)、各試験液を ACQUITY UPLC system (Waters Corp., MA, 米国) で分析した。モデル物質の濃度は別途作成した検量線から算出した。

2.3.2.2. 拡散係数の算出

ゲル膜を通して移動してくるモデル物質の拡散係数はタイムラグ法により算出した⁶⁰⁾。

2.3.2.1. で示した方法により、Cell 1 に拡散したモデル物質の濃度を経時的に測定してグラフ化した。検出初期に描かれる下に凸のプロットの後には、拡散してくるモデル物質濃度が定常状態となり直線となった領域の直線の傾きから濃度が 0 となるように外挿した時の時間をタイムラグ (t_L) として決定した。各種実験から得られたタイムラグとゲル膜の厚さ (2.0 mm) を次式 (1) に代入し、拡散係数を求めた。

$$D = \frac{d^2}{6 \times t_L} \quad (1)$$

D ; ゲル膜中におけるモデル物質の拡散係数 (m^2/sec)

d ; ゲル膜の厚さ (m)

t_L ; タイムラグ (sec)

2.4. モデル物質の溶出試験

配合 2-B 及び 2D~2-H に対し、 $83.3 \mu\text{mol/L}$ となるようにモデル物質 (AAP、SBA、PSA 及び CPM) を添加し、2.2. で示した手順に従ってゲルを調製した。その後、 1 cm^3 のキューブ型モールドに流し込んだ後、室温で固化させて試料とした。この試料について、日本薬局方一般試験法 溶出試験法装置 2 (パドル法) に従い、溶出試験器 (富山産業 (株)、NTR-6000、東京、日本) を用いて 37°C で試験を行った。パドル回転数は 50 rpm 、試験液は 900 mL の精製水とし、一つのベッセルに対し、試料を 1 個投入して一定時間ごとに試験液のサンプリングを行った。サンプリングにより得られた溶出試験液は ACQUITY UPLC system (Waters Corp., MA, 米国) により分析を行い、別途、濃度既知のモデル物質を分析して得られた検量線から溶出した物質の濃度を算出した。

2.5. モデル物質の溶解度測定

2.1.2. 項に記載したモデル物質 4 種 (AAP、SBA、PSA 及び CPM) について、 37°C の水 100 mL における溶解度を測定した。測定は、溶解度測定法として汎用されるフラスコ振とう法⁶¹⁾を参考にした。 37°C で飽和した溶解液は紫外・可視分光光度計 ((株) 日立ハイテクサイエンス、U-2900 型、東京、日本) を用い、別途、濃度既知のモデル物質を分析して得られた検量線から飽和溶液の濃度を求め、溶解量を算出した。

第3章の実験

3.1. 味覚センサーによるゲルの味覚評価

3.1.1. 味覚センサーの選定

人の口中で味を感じる状態を機械的に測定できる味認識装置 (TS-5000Z ; (株) インテリジェントセンサーテクノロジー、神奈川、日本) を使用して LVFX の苦味を測定した^{52), 53)}。センサーには、ヒトが感じる苦みに応答するように調製されている AN0 (塩基性苦味)、AC0 (塩基性苦味) 及び BT0 (塩酸塩苦味) を使用した。センサーの LVFX に対する応答性について、人の官能評価で後に残る味を示す CPA 値 (Change of membrane Potential by Adsorption) を指標として応答電位を測定するため、0.33M KCl で LVFX の 0.005, 0.05 及び 0.5 w/w% の希釈溶液を作り測定した。測定は各 3 回ずつ行い、平均値を算出して評価した。

3.1.2. BT0 センサーにおける LVFX の応答範囲

0.33M KCl で LVFX の 0.1, 0.2, 0.25, 0.275, 0.3, 0.4 及び 0.5 w/w% の希釈溶液を作り、各希釈液に対し、BT0 センサーにて CPA 値を測定した。測定は各 3 回ずつ行い、平均値を算出してセンサー応答値と LVFX 濃度との関係性を評価した。

3.1.3. ゲルから放出される LVFX の測定

BT0 センサーを使用し、ゲルから放出される LVFX の CPA 値を測定した。第2章の Table 2 に示した配合 2-B と配合 2-H を選定し、LVFX として 25 w/w% を含む 1 cm³ のキューブ状に固めたゲル調製し、測定に供した。なお、Table 2 の配合のうち、センサーへの応答を避けるため、パラオキシ安息香酸エチルは添加しなかった)。ゲルは 10 mL のシリンジ (テルモ (株)、東京、日本) に詰め、内径約 2 mm の先端から押し出してゲルを崩した後、崩れたゲルをセンサーの応答液である 0.33M KCl 50 mL の中に投入し、300rpm で攪拌しながら、一定時間ごと (10 秒、15 秒、30 秒及び 60 秒) にサンプリングして測定した。

3.1.4. 統計的解析手法

3.1.3. で測定した結果について、対応のない t 検定を行い有意な差があるかどうかを検定した。

略語表

AAP	アセトアミノフェン
Ag	カンテン
CPA	change of membrane potential by adsorption
CPM	クロルフェニラミンマレイン酸塩
FITC	フルオレセインイソチオシアネート
FITC-DEX	デキストラン結合フルオレセインイソチオシアネート
F-Na	フルオレセインナトリウム
Lo	ローカストビーンガム
LVFX	レボフロキサシン
PSA	ソルビン酸カリウム
SEM	走査型電子顕微鏡
SBA	安息香酸ナトリウム
SMILS	走査型顕微光散乱
Xa	キサントガム

謝辞

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました恩師 岐阜薬科大学製剤学研究室 教授 竹内 洋文先生に深甚なる謝意を表します。

本研究遂行にあたり御指導、御鞭撻を賜りました岐阜薬科大学製剤学研究室 准教授 田原 耕平先生、助教 小野寺 理沙子先生に深謝いたします。

本研究の遂行に関し、種々の貴重な御助言を賜りました山形大学大学院ソフト&ウェットマター研究室 教授 古川 英光先生に深謝いたします。また、実験にご協力いただいた同研究室 学生諸氏に感謝いたします。

本研究全般にわたり協力いただきました大蔵製薬株式会社研究開発部 垣野 由佳理 課長、塚本 帆史氏ならびに同部各位に感謝いたします。

引用文献

- 1) Velmurugan S., Sundar V., *Int. J. Chem. Pharm. Sci.*, **1**, 1-12 (2010).
- 2) Abay F.B., Ugurlu T., *J. Pharm. Drug Devel.*, **3**, 1-8 (2015).
- 3) Ankita K., Pramod K.S., Nayyar P., *Int. J. Pharm Sci. Res.*, **5**, 92-95 (2014).
- 4) Prakruti M.A., Gangurde A.B., Pranali V.A., *Ijppr. Human*, **3**, 183-203 (2015).
- 5) Dixit A.S., Parthasarathi K.K., Hosakote G.S., *Curr. Drug Ther.*, **6**, 79-86 (2011).
- 6) Katakam P., Varanasi M.S., Hwisa T.N., Assaleh H.F., Adiki K.S., Avula R.P., *Asian J. Pharm.*, **8**, 241-249 (2014).
- 7) 虎石 顕一, 中村 規子, 由井 蘭 陽一, 森 真弓, 山田 正紀, 高橋 司, 黒川 美智子, *病院薬学*, **24**, 479-483 (1998).
- 8) 佐々 隆之, 斎藤 昌三, 庵 政志, 鶴沼 直雄, *新薬と臨床*, **44**, 1139-1161 (1995).
- 9) 福田 善弘, 西田 直生志, *医薬ジャーナル*, **36**, 178-181 (2000).
- 10) 高島 孝次郎, 水野 賀夫, 有田 光一, 五十嵐 茂幸, 潮木 保幸, *医療薬学*, **30**, 584-587 (2004).
- 11) 向井 秀樹, 宮川 俊一, 岩田 充, 鎌田 英明, 衛藤 光, *薬理と治療*, **29**, 347-361 (2001).
- 12) 原田 務, 安岡 光一, 櫻井 真帆, 村瀬 司, 大脇 孝行, *薬学雑誌*, **135**, 249-254 (2015).
- 13) 岡田 弘晃, 中村 康彦監修, “経口投与製剤の製剤設計と製造法”, 日本薬剤学会製剤技術伝承委員会編, (株)じほう, 東京, 2013, pp. 300-312.
- 14) 京谷 裕之, 佐藤 悦子, 鈴木 花織, 藤崎 明希子, 鈴木 敏夫, *日病薬誌*, **37**, 475-478 (2001).
- 15) 鈴木 花織, 佐藤 悦子, 京谷 裕之, 藤崎 明希子, 鈴木 敏夫, *日病薬誌*, **37**, 479-482 (2001).
- 16) 福田 善弘, 西田 直生志, *医薬ジャーナル*, **36**, 2300-2303 (2000).
- 17) 坂下 裕子, 櫻井 正太郎, 谷古宇 秀, 石塚 英夫, 柳川 忠二, *Pharm Tech Japan*, **19**, 2367-2377 (2003).
- 18) Kaneko Y., Yoshida R., Sakai K., Sakurai Y., Okano T., *J. Membr. Sci.*, **101**, 13-22 (1995).
- 19) Huffman A. S., Afrassiabi A., Dong L. C., *J. Control. Release*, **4**, 213-222 (1986).
- 20) Yoshida R., Sakai K., Okano T., Sakurai Y., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **31**, 2339-2345 (1992).
- 21) Kost J., Horbett T.A., Ratner B.D., Singh M., *J. Biomed. Mater. Res.*, **19**, 1117-1133 (1985).

- 22) Ishihara K., Kobayashi M., Shionohara I., *Macromol. Rapid Commun.*, **4**, 327–331 (1983).
- 23) Kitano S., Kataoka K., Koyama Y., Okano T., Sakurai Y., *Macromol. Rapid Comm.*, **12**, 227-233 (1991).
- 24) Shiino D., Murata Y., Kataoka K., Koyama Y., Yokoyama M., Okano T., Sakurai Y., *Biomaterials*, **15**, 121-128 (1994).
- 25) Dong L. C., Hoffman A. S., *J. Control. Release*, **15**, 141–152 (1991).
- 26) Siegel R. A., Pitt C. G., *J. Control. Release*, **33**, 173–188 (1995).
- 27) Baker J. P., Siegel R. A., *Macromol. Rapid Commun.*, **17**, 409–415 (1996).
- 28) Sawahata K., Hara M., Yasunaga H., Osada Y., *J. Control. Release*, **14**, 253-262 (1990).
- 29) Kwon I. C., Bae Y. H., Okano T., Kim S. W., Berner B., *Makromol. Chem.*, **33**, 265–277 (1990).
- 30) Kwon I. C., Bae Y. H., Kim S. W., *Nature (London)*, **354**, 291–293 (1991).
- 31) Kawasaki N., Ohkura R., Miyazaki S., Uno Y., Sugimoto S., Attwood D., *Int. J. Pharm.*, **181**, 227-234 (1999).
- 32) Miyazaki S., Takahashi A., Itoh K., Ishitani M., Dairaku M., Togashi M., Mikami R., Attwood D., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **35**, 780-787 (2009).
- 33) Miyazaki S., Ishitani M., Takahashi A., Shimoyama T., Itoh K., Attwood D., *Biol. Pharm. Bull.*, **34**, 164-166 (2011).
- 34) Whistler R.L., BeMiller J.N., “Industrial gums: Polysaccharides and their derivatives 3rd ed”, Academic Press Inc., San Diego, CA, USA, 1993, pp. 211-213.
- 35) 古川 英光, 堀江 一之, *高分子論文集*, **59**, 578-589 (2002).
- 36) Furukawa H., Horie K., Nozaki R., and Okada M., *Phys. Rev. E: Stat., Nonlinear, Soft Matter Phys.*, **68**, 031406-1 - 031406-14 (2003).
- 37) 野瀬卓平, 堀江一之, “若手研究者のための有機・高分子測定ラボガイド”, 金谷利治編, (株) 講談社, 東京, 2006, pp. 206–215.
- 38) Murakami T., *Arch. Histol. Jpn.*, **35**, 323-326 (1973).
- 39) Inoue T. and Osatake H., *Arch. Histol. Cytol.*, **51**, 53-59 (1988).
- 40) Obrink B., *J. Chromatogr. A*, **37**, 329-330 (1968).
- 41) Rees D. A., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **24**, 267-332 (1969).
- 42) Rees D. A., *Biochem. J.*, **126**, 257-273 (1972).
- 43) Arnott, S. A, Fulmer, Scott W. E., Dea I. C. M., Moorhouse R. and Rees D. A., *J. Mol. Biol.*, **90**, 269 -284(1974).
- 44) 種谷 真一, 木村 利明, 長坂 慶子, *日本食品科学工学会誌*, **46**, 543 -546 (1999).
- 45) 大本 俊郎, *FFI J.*, **208**, 935-942 (2003).

- 46) Alain L.W., Hans B., "Allergic reactions to drugs", Springer-Verlag, Berlin, 1983, pp. 37.
- 47) 菱川 慶裕, 垣野 由佳理, 古川 英光, 田原 耕平, 竹内 洋文, 高分子論文集, **72**, 57-63 (2015).
- 48) International Programme on Chemical Safety (IPCS), INCHEM, "PARACETAMOL": <<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics1330.htm>>, cited 16 November, 2015.
- 49) O'Neil M.J., Smith A., Heckelman P.E., Obenchain Jr. J.R., Gallipeau J.A.R., D'Arecca M.A., Budavari S., "The Merck Index 13th ed.", Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA, 2001, pp. 7746.
- 50) Tanaka M., Otsuki M., Une T., Nishino T., J. Antimicrob. Chemother., **26**, 659-666 (1990).
- 51) Fujimoto T., Mitsuhashi S., Chemotherapy, **36**, 268-276 (1990).
- 52) Takamatsu R., Toko K., Takeguchi H., Kawabata A., Sensor Mater., **13**, 179-187 (2001).
- 53) Uchida T., Kobayashi Y., Miyanaga Y., Toukubo R., Ikezaki H., Taniguchi A., Nishikata M., Matsuyama K., Chem. Pharm. Bull., **49**, 1336-1339 (2001).
- 54) Okamoto M., Sunada H., Nakano M., Nishiyama R., Asian J. Pharm Sci., **4**, 1-7 (2009).
- 55) Harada T., Uchida T., Yoshida M., Kobayashi Y., Narazaki R., Ohwaki T., Chem. Pharm. Bull., **58**, 1009-1014 (2010).
- 56) Anjiki N., Hosoe J., Fuchino H., Kiuchi F., Sekita S., Ikezaki H., Mikage M., Kawahara N., Goda Y., J. Nat. Med., **65**, 293-300 (2011).
- 57) Haraguchi T., Miyazaki A., Yoshida M., Uchida T., J. Pharm. Pharmacol. **65**, 980-987 (2013).
- 58) Uchida T., Yoshida M., Hazekawa M., Haraguchi T., Furuno H., Teraoka M., Ikezaki H., J. Pharm. Pharmacol., **65**, 1312-1320 (2013).
- 59) U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), "Guidance for Industry Orally Disintegrating Tablets", December 2008, <<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070578.pdf>>, cited 7 June, 2016.
- 60) Tokita M., Jpn. J Appl. Phys., **34**, 2418-2422 (1995).

61) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No.105 “Water Solubility” (Adopted by the Council on 27 July, 1995):
<<http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948185.pdf>>, cited 18 May, 2016.