

平成17年度

# 創薬等ヒューマンサイエンス研究

## 重点研究報告書

平成17年度

# 創薬等ヒューマンサイエンス研究

## 重点研究報告書

### 第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

### 第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

### 第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンスに関する研究

### 第4分野

創薬に係る臨床研究ならびに稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

### 第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

### 第6分野

医療材料および製剤設計技術の開発に関する研究

### 第7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

# 目 次

## 第1分野

### 課題番号

KH11001	バイオフィトニクスを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 …… 1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 …… 11
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(総合研究報告)	松田潤一郎 …… 13
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(平成17年度報告)	松田潤一郎 …… 17
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 25

## 第2分野

KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸(S1P)受容体(S1P3)の拮抗薬の開発	望月直樹 …… 31
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 …… 35
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 …… 47
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 …… 58
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 …… 66
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 …… 70
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 …… 77
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 …… 86
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析;癌予防および治療への応用	矢野友啓 …… 96
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 …… 102
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 …… 108
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 …… 113
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(総合研究報告)	野々垣勝則 …… 117
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(平成17年度報告)	野々垣勝則 …… 120

KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（総合研究報告）	田平 武 …… 124
KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（平成17年度報告）	田平 武 …… 129
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山 耕造 …… 134
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出 利光 …… 142
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島 正弘 …… 148
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木 哲朗 …… 152
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西 正孝 …… 156
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤 準一 …… 160
KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 167
第3分野		
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡 澄江 …… 175
KH31025	生薬及び漢方処方of科学的品質保証に関する研究	合田 幸広 …… 185
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 194
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美 健彦 …… 200
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里 勝利 …… 210
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山 行雄 …… 218
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクスの手法の開発に関する研究	斎藤 嘉朗 …… 226
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口 照英 …… 235
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 243
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（総合研究報告）	頭金 正博 …… 252
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（平成17年度報告）	頭金 正博 …… 257
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎 ナナ …… 261

KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 271
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 281
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 288
第4分野		
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	綱脇祥子 …… 307
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍児 …… 315
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 319
第5分野		
KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法（DLI）の実用化	藤原成悦 …… 327
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（総合研究報告）	安枝 浩 …… 336
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（平成17年度報告）	安枝 浩 …… 342
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字 …… 349
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 …… 359
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 …… 367
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 …… 372
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 …… 376
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 …… 383
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（総合研究報告）	竹森利忠 …… 387
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（平成17年度報告）	竹森利忠 …… 395
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 …… 401
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 …… 406

KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 …… 410
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 …… 418
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 …… 422
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 …… 428
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 …… 431
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（総合研究報告）	鈴木孝昌 …… 437
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（平成17年度報告）	鈴木孝昌 …… 442
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 …… 452
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 …… 459
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 …… 464
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（総合研究報告）	浅沼秀樹 …… 466
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（平成17年度報告）	浅沼秀樹 …… 471
第6分野		
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 …… 479
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 …… 500
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 …… 511
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（総合研究報告）	澁谷統壽 …… 516
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（平成17年度報告）	澁谷統壽 …… 524
第7分野		
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法の確立に関する研究	乾 賢一 …… 531
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 …… 540
KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究ーヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作りー（総合研究報告）	松浦成昭 …… 548

KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究－ヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作り－（平成17年度報告）	松浦成昭 …… 554
KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 559
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（総合研究報告）	森川 馨 …… 569
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（平成17年度報告）	森川 馨 …… 575
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 …… 591
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込型細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森静志 …… 601
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾和人 …… 611
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野泰雄 …… 617
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田康文 …… 628
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（総合研究報告）	小林真一 …… 634
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（平成17年度報告）	小林真一 …… 640

## 第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンス  
に関する研究



## 超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部  
吉岡澄江

難溶性薬物を高分子と共に非晶質分散体にすることによって、保存安定性および消化管吸収性の優れた非晶質製剤を調製する普遍的な方法を確立することを目指して、ポリビニルピロリドンなどの高分子による安定化メカニズムおよび製剤からの薬物の溶出挙動の解析を行った。

分担研究者

(1)国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

阿曾幸男、宮崎玉樹

(2)塩野義製薬・生産技術研究所 製剤研究部

高倉朝子、林 隆志、村主 教行

(3)アステラス製薬 創剤研究所

水野真康、平倉 穰、田中和幸、北村 智

### A. 研究目的

コンビナトリアルケミストリーの発展とハイスループットスクリーニングの技術革新は、有効な薬理作用を有する医薬品シードを効率よく生み出すことを可能にした。しかし、このような医薬品シードの中には、溶解性が極端に悪いために、医薬品としての開発を断念せざるを得ない例が多数見られる。これら難溶性薬物の溶解度や溶解速度を高め、溶出特性を改善する汎用的な技術が開発されれば、新医薬品の効率的開発を大いに促進するものと考えられる。難溶性薬物の溶出特性を改善する手法としては、(1)薬物を可溶性の塩やプロドラッグにすること、(2)油性の基剤や界面活性剤により可溶化すること、(3)微粒子化、微細化によって表面積を増大することなどがあるが、適用可能な薬物の化学構造や界面活性剤などが制限されるという問題がある。一方、難溶性薬物の非晶質化は、高いエネルギー状態という非晶質の特異性に基づいて溶出特性を改善させる方法であり、薬物の構造に依らない普遍的で有用な手段である。しかし、非晶質は高いエネルギー状態にあるがゆえに、一般的に物理的状態が経時的に変化しやすいという特性を有することから、保存安定性に優れた非晶質製剤の製剤化のための技術を開発する

ことが緊急な課題となっている。本研究は、非晶質の特異性を決定する重要な要因であるダイナミクスの解析をとおして非晶質の物理的状態の詳細を明らかにするとともに、非晶質の特性を最適化する製剤技術を開発し、さらにその評価法を確立することによって、超難溶性薬物の効率的製剤化を実現することを目的とする。

具体的には、示差走査熱量計や微量熱量計等による熱分析法、NMR、誘電緩和スペクトル法など、非晶質製剤のダイナミクスの評価に有用な手法を用いて、非晶質の微視的および巨視的な物理的状態を解析するとともに、非晶質の経時的結晶化現象を速度論的および熱力学的に詳細に解析することによって、非晶質製剤の安定化の技術を開発する。特に、非晶質製剤の安定性が製剤の分子運動性によって強く支配されることが明らかになりつつあることを踏まえて、安定性を直接的に支配する分子運動を明らかにし、それを制御することによって非晶質製剤の安定化を図る手法を考察する。同時に、分子運動性のパラメータを用いて非晶質製剤の安定性を評価する方法を確立する。さらに、非晶質製剤からの薬物溶出挙動を詳細に解析して、優れた溶出性を生み出すべく非晶質の特性を最適化する技術の開発を目指す。

前年度は、①ポリビニルピロリドン(PVP)を添加したニフェジピンおよびフェノバルビタールの非晶質固体分散体において、薬物の結晶化を抑制するPVPの作用が、薬物のlocalな運動性を抑制する作用に起因することを $^{13}\text{C}$ -NMRで明らかにし、ガラス転移温度( $T_g$ )やエンタルピー緩和時間で表されるマトリックス全体の運動性の抑制に加え、localな運動性の抑制も非晶質の安定化に寄与する

ことを示唆する知見を得た。②また、PVP およびヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)と水難溶性薬物からなるモデル固体分散体において、Agingにより吸湿速度が抑えられ、固体分散体が安定化されることを、マイクロバランスによる吸湿性の測定から明らかにした。③さらに、ニフェジピン及びPVPからなる固体分散体からの薬物溶出挙動の検討によって、ニフェジピン含有率が20%までの固体分散体において速やかな過飽和溶解がみられ、また、分子量の小さいPVPの方が、高分子の溶出速度が速くより高濃度に薬物が過飽和溶解することを明らかにした。

本年度は、①ニフェジピン-PVP およびフェノバルピタール-PVP の非晶質固体分散体でみられた薬物の local な運動性の抑制による非晶質の安定化について普遍性を検討するために、固体分散体の添加剤として汎用される HPMC を用い、結晶化に対する安定化効果とマトリックス全体の運動性および薬物の微視的な分子運動性との関連を検討した。薬物モデルとしては、ニトレンジピンおよびニルバジピンを加えて普遍性を検討した。②また、難溶性薬物のモデル化合物として分子内にカルボニル基を有する FK783 を用い、親水性高分子である PVP および HPMC を用いて得られる固体分散体 (FK783-PVP および FK783-HPMC) のマトリックス全体、並びに local な分子運動性を DSC および FT-IR を用いて評価し、結晶化のしやすさとこれらの分子運動性との相関について検討した。さらに、分子量あるいは架橋構造の異なる PVP と FK783 との固体分散体につき、FK783 の結晶化に及ぼす添加剤の分子量や架橋構造の違いの効果をマトリックス全体および local な分子運動性の観点から評価した。③さらに、添加剤が製剤の溶出特性に与える影響を詳細に調査することにより、ニフェジピン含有率が高く、かつ溶出特性の優れた製剤の開発検討を行なった。

## B. 研究方法

### ①ニフェジピン-HPMC およびフェノバルピタール-HPMC 非晶質分散体の安定化とそのメカニズムの解析

フェノバルピタール-HPMC およびニフェジピン-HPMC 固体分散体は、フェノバルピタール(和光純薬フェノバルピタールナトリウムを中和後、アセトンから再結晶)あるいはニフェジピン(Sigma

製)と HPMC (Sigma 製)との種々の割合の混合溶液をスプレードライした後、DSC 中で約 190℃に加熱し、40℃/min の速度で冷却して調製した。

固体分散体の  $T_g$  および結晶化熱の測定は Modulated DSC によって測定した(温度の振幅は  $\pm 0.5^\circ\text{C}$ 、温度振動の周期は 100 秒、underlying heating rate は  $1^\circ\text{C}/\text{min}$ )。  $^{13}\text{C}$ -NMR は Varian Unity plus スペクトロメーター (400 MHz) を用い、27℃で測定した。ケミカルシフトの校正はヘキサメチルベンゼンのメチル炭素(17.3 ppm)を外部標準として用いて行った。スピン-格子緩和時間 ( $T_1$ )は Torchia の方法で測定した。

固体分散体の保存安定性は、(9:1)の比率のニフェジピンあるいはフェノバルピタールと高分子との固体分散体を五酸化リンの入った容器に入れ、60℃の一定温度で保存して測定した。薬物の結晶化熱から、試料中の非晶質薬物残存率を算出し、結晶化のタイムコースを作成した。

ニトレンジピンおよびニルバジピンの非晶質は溶融法で作製し、保存安定性を測定した。

### ②FK783-PVP および HPMC 固体分散体の安定化とそのメカニズムの解析

分子量の異なる PVP (K30, K90) と FK783 の固体分散体 (FK783-PVP) 並びに HPMC と FK783 の固体分散体 (FK783-HPMC) は、FK783 と PVP および HPMC(TC-5R)をそれぞれ  $\text{CHCl}_3$ 、 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/\text{CHCl}_3(1:1)$  混液に溶解し濃縮乾固した後 195℃で加熱融解し、液体窒素中で急冷することにより調製した。(添加剤濃度: 10%, 20%, 40%)

一方、架橋構造を有するクロスポビドンと FK783 の固体分散体(添加剤濃度 10%, 20%, 40%)は FK783 とクロスポビドンの物理混合品を 195℃に加熱後 50℃/min で冷却することにより調製した。

各固体分散体およびガラス転移温度以下で保存したそれぞれの試料につき、ガラス転移温度、エンタルピー緩和量、分子運動性、FK783-添加剤相互作用、結晶生成の有無などについて評価した。

### ③非晶質製剤からの薬物溶出挙動の解析

ニフェジピンと PVP のみ、あるいはさらに尿素(以下、Urea)、若しくはニコチン酸アミド(以下、NA)を共にエタノールに溶解した後、エバポレー

ターを用いて溶媒を除去したものを一晩減圧乾燥し、得られた固形物を錠剤粉碎機で粉碎した。粉末 X 線回折により固形物中のニフェジピンが非晶質化していることを確認した。

ニフェジピン結晶 100mg 及び、ニフェジピン 100mg を含有する固体分散体を 20 kN の圧力で圧縮成型し、直径 2cm のディスクとした。これらディスクを、蒸留水(900mL、37°C)を試験液とし、回転数が 50、100、200 rpm の 3 条件で溶出試験を行った。試験液中のニフェジピン濃度を溶液モニター装置で 1 分毎に測定して、ニフェジピンの溶出プロファイルを観察した。

(倫理面への配慮)

本研究は化学実験のみ実施したので、倫理面の問題は無い。

### C. 研究成果

#### ①ニフェジピン-HPMC およびフェノバルビタール-HPMC 非晶質分散体の安定化とそのメカニズムの解析

ニフェジピン-HPMC およびフェノバルビタール-HPMC 非晶質固体分散体は、DSC 昇温過程においてガラス転移によるベースラインの断絶と結晶化による発熱ピークを示した。フェノバルビタール、ニフェジピンいずれの場合も HPMC 含量が大きくなると  $T_g$  の上昇が見られたが、 $T_g$  の上昇は PVP に比べ小さかった。

DSC の昇温時に観測される結晶化熱は、フェノバルビタール-HPMC 系ではフェノバルビタール-PVP 系と同様に高分子含量が高いほど減少し、HPMC による結晶化の抑制効果が大きくなったが、その抑制効果は PVP より小さかった。すなわち、PVP では 30% の含量でフェノバルビタールの結晶化に基づく発熱ピークが観測されないのに対し、HPMC では 50% でも結晶化ピークが観察された。

HPMC による結晶化抑制効果が PVP より小さいことは、ニフェジピン-HPMC 固体分散体でもみられた。PVP は 50% 含量で結晶化ピークを示さなかったのに対して、HPMC は 70% の含量においてもニフェジピンの結晶化ピークが観測された。

ニフェジピン-HPMC 固体分散体(9:1)を 60°C に保存したときのニフェジピンの結晶化のタイムコースを Fig.1 に示す。ニフェジピンの結晶化はニフェジピン単独より遅延するが、PVP との固体分散

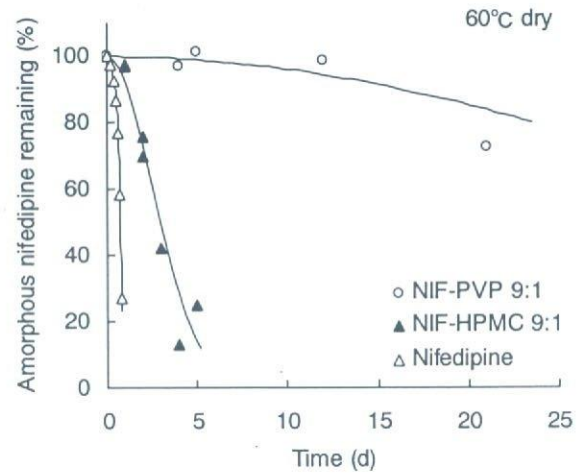


Fig. 1 Time-profiles of nifedipine crystallization at 60 °C.

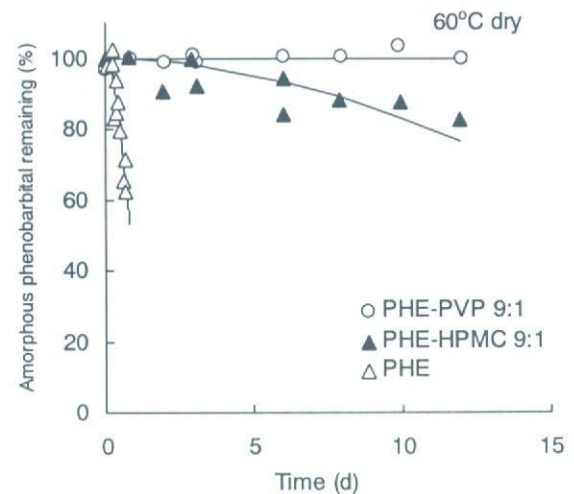


Fig. 2 Time-profiles of phenobarbital crystallization at 60 °C.

体よりは速く、HPMC の結晶化抑制効果が PVP より小さいことが確認された。同様にフェノバルビタール固体分散体においても PVP は HPMC に比べ結晶化抑制効果が大きいことが明らかとなった (Fig. 2)。ここで、ニフェジピンあるいはフェノバルビタールと HPMC との固体分散体は、薬物単独および PVP との固体分散体とほぼ等しい  $T_g$  を示したことから、これらの非晶質マトリックスの運動性には大きな差がないと考えられる。それにも関わらず、HPMC と PVP 間で安定化効果に差がみられたことから、 $T_g$  を指標としたマトリックスの運動性の抑制効果に加えてさらに他のメカニズムが安定化に寄与していることが示唆された。

添加剤が非晶質薬物に対して示す安定化効果のメカニズムをさらに詳細に考察するために、 $^{13}\text{C}$ -NMR によって薬物分子中の数種の炭素について  $T_1$  を測定した結果を Fig.3 に示す。フェノバルビ

タールのエチル基の炭素とベンゼン環の炭素の  $T_1$  は、HPMC あるいは PVP を添加しても大きな変化を示さなかったが、C-2、C-4 および C-6 のカルボニル炭素の  $T_1$  は、添加剤含量が増えるに従い大きくなった。測定された  $T_1$  は slow motional regime にあり、 $T_1$  の増大は運動性の低下を意味する。したがって、これらの炭素の運動性が添加剤によって低下していることが明らかになった。C-2、C-4 および C-6 のカルボニル炭素は添加剤と水素結合し、フェノバルビタール分子の local な運動性が低下していると考えられる。

HPMC との固体分散体中のフェノバルビタール炭素の  $T_1$  は、PVP との固体分散体中の炭素の  $T_1$  より添加剤含量による変化が小さく、HPMC は PVP に比べてフェノバルビタールの local な運動性に及ぼす影響が小さいことが分かった。この結果は PVP が HPMC よりも非晶質フェノバルビタールを効率的に安定化することに関連していると考えられ、添加剤による薬物の local な運動性の抑制も安定化メカニズムの一つとして重要であることが明らかになった。

ニフェジピン分子の local な運動性に及ぼす HPMC の影響は、ニフェジピンのアミノ基に隣接する炭素が HPMC を構成するグルコースのアノマー炭素とオーバーラップして  $T_1$  の測定が不可能であるため、明らかにすることができなかった。しかし、前年度報告したように、PVP との固体分散体ではニフェジピン分子の local な運動性が抑制されることが確認されており、ニフェジピン-HPMC 固体分散体においても、フェノバルビター

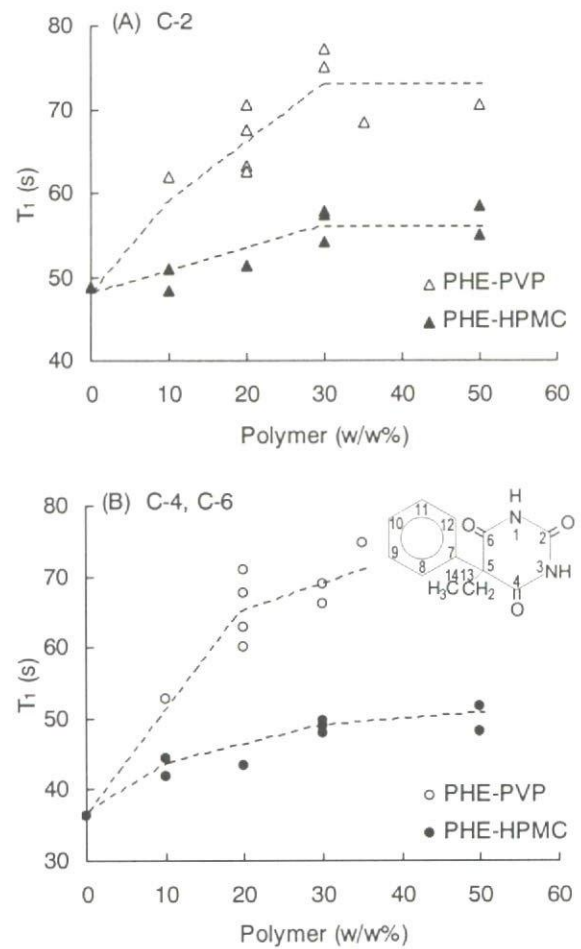


Fig. 3 Effect of polymer content on the  $T_1$  of phenobarbital carbons.

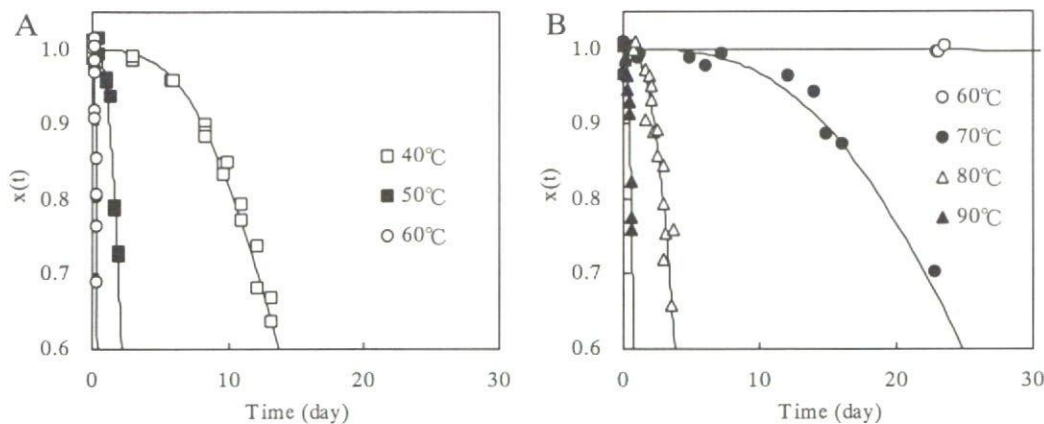


Fig. 4 Crystallization of nitrendipine (A) and nilvadipine (B)

ルと同様のメカニズムによって安定化されていると考えられる。

ニトレンジピピンおよびニルバジピンの非晶質の結晶化速度は、Fig.4 に示すように、両者で大きく異なった。すなわち、ニトレンジピピンはニフェジピピンと同等の速度を示したが、ニルバジピンの結晶化速度は、同等の  $T_g$  をもつニフェジピピンよりも著しく遅く、マトリックスの運動性以外の要因が速度を支配することが明らかになった。

## ②FK783-PVP および HPMC 固体分散体の安定化とそのメカニズムの解析

FK783-PVP(K30)及びFK783-HPMC(添加剤濃度 10%)につき、DSC を用いて  $T_g$  の昇温速度依存性を測定し、VTF 式を用いてマトリックス全体の運動性を評価した。その結果、FK783-PVP(K30)の方がFK783-HPMCよりも大きな緩和時間を示し、マトリックス全体の分子運動性が低いことが判明した(Fig. 5)。一方、これら固体分散体の FT-IR を測定したところ、Fig. 6 に示すようにFK783のC=O伸縮振動がFK783非晶質よりも高波数側にシフトすることが確かめられた。高波数シフト成分の強度はFK783-PVP(K30)の方がFK783-HPMCより大きく、また添加剤濃度が高くなるに従い、その強度も増大した(Fig.7)。これらの結果はC=O結合の振動数が増大したことを示しており、FK783と担体の界面におけるFK783のlocalな運動性の増大が示唆された。一方、FK783-HPMCとFK783-PVP(K30)の結晶化のし易さを比較すると、HPMCのほうが高い結晶化抑制能を示したことから、FK783の結晶化はマトリックス全体の運動性よりも、薬物のlocalな運動性に支配されていることが示唆された。また、PVP K30より分子量が大きいPVP K90を用い同様に検討したところ、高波数シフトはPVP K30と同程度であった(Fig.7)。したがって、FK783のC=O基のlocalな運動性の程度は、PVPの分子量ではなくモノマー単位の化学構造により決定されると考えられた。

マトリックス全体の分子運動性に影響を与えると考えられるPVP分子量の、FK783の結晶化に対する効果を明らかにするため、FK783-HPMC、FK783-PVP(K30)およびFK783-PVP(K90)を40°C(約  $T_g-10^\circ\text{C}$ )で13時間保存したもののDSC曲線と、調製直後におけるDSC曲線の比較を行った。その結果、調製直後においてはいずれの試料も結

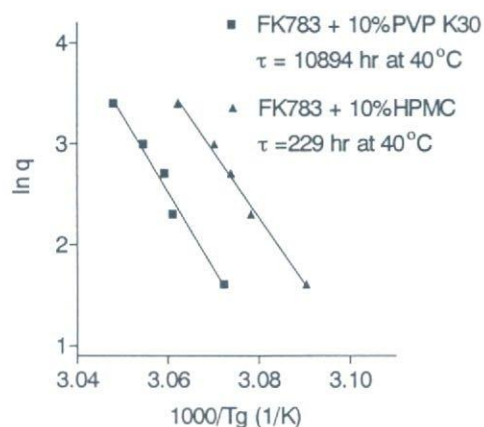


Fig. 5 Global molecular mobility of FK783-PVP K30 and FK783-HPMC solid dispersion (polymer conc.=10%).

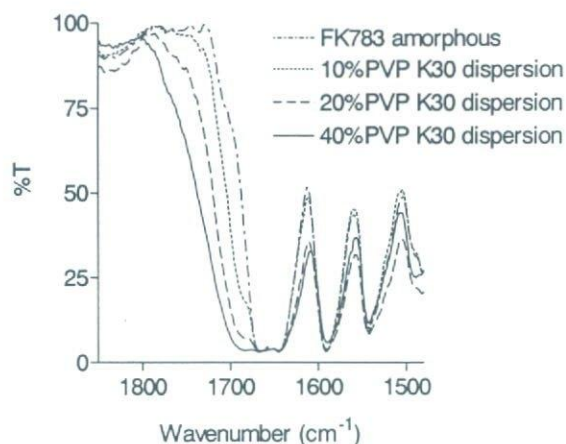


Fig. 6 FT-IR spectrum in the region of C=O stretching band, representing the polymer concentration dependence of the C=O band shift.

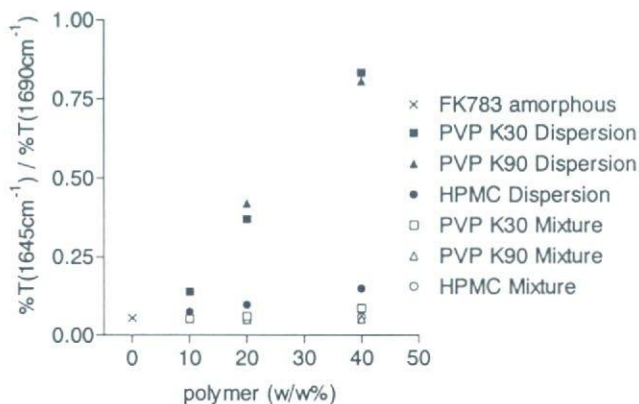


Fig. 7 The ratio of %T at  $1645\text{ cm}^{-1}$  to that at  $1690\text{ cm}^{-1}$ , representing the degree of the band shift in FT-IR spectrum.

晶化あるいは融解に基づくピークは認められなかったが(Fig.8)、40℃13時間保存品の場合はFK783-PVP(K90)のみFK783の結晶化と融解に基づく発熱および吸熱ピークを示した(Fig.9)。すなわち、分子量の大きいPVP K90の方が結晶化抑制能が低いことが判明した。また、FK783-PVP(K90)の40℃保存品で検出された結晶化、並びに融解ピークの熱量が等しかったことから、FK783-PVP(K90)は40℃で13時間保存した期間においては結晶の核生成過程にあったと推測される。このように、固体分散体の結晶化抑制能がマトリックス全体の分子運動性から予想されるものと異なった要因は、一定の高分子濃度においては分子量の大きいPVP K90分散体の方がK30よりもPVP鎖の末端にあるヒドロキシル基、アルデヒド基、ヒドロキシイソプロピル基等の数が少ないことによると考えられる。以上のように、FK783の結晶化の程度はFT-IRで確認されたFK783のC=O基のlocalな運動性に加え、FT-IRでは検出されない高分子鎖末端の極性置換基の多寡によって影響を受けることが示唆された。これらの結果から、非晶質製剤の安定化のためにはマトリックス全体の分子運動性と同時にlocalな分子運動性、ならびに担体の極性置換基の制御が重要であることが確かめられた。

一方、直鎖状PVPとは3次元構造ならびに末端の置換基の環境が異なるPVPであるクロスポビドンの、FK783の結晶化に及ぼす影響を確かめるため、FK783-クロスポビドン分散体を調製し、直鎖状のPVP K30を用いて調製された固体分散体と結晶化抑制能を比較した。その結果、PVP K30の方がクロスポビドンよりも結晶化を抑制することが判明した。そこで、各固体分散体の $T_g$ をCauchman-Karaszの式にあてはめ、その物理状態を評価したところ、直鎖状のPVP K30を含む固体分散体の $T_g$ はCauchman-Karasz式に良好にあてはめられたのに対し、FK783-クロスポビドン固体分散体は添加剤濃度によらずほぼ一定の $T_g$ を示した(Fig.10)。したがって、FK783-クロスポビドン固体分散体の方が結晶化し易い傾向を示したのは、FK783とクロスポビドンとの相容性がほとんどなく、FK783は単体の非晶質と同様の状態にあるためであることが示唆された。これらの結果から、物理化学的に安定な固体分散体を調製するには、薬物と担体のモノマー単位の化学構造

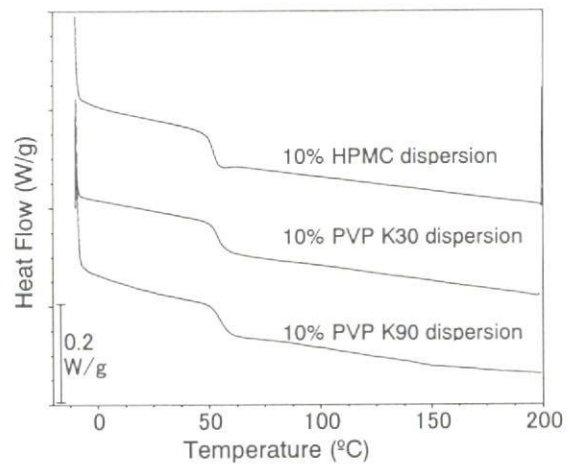


Fig. 8 DSC curves of freshly prepared FK783 · 10% polymer solid dispersions.

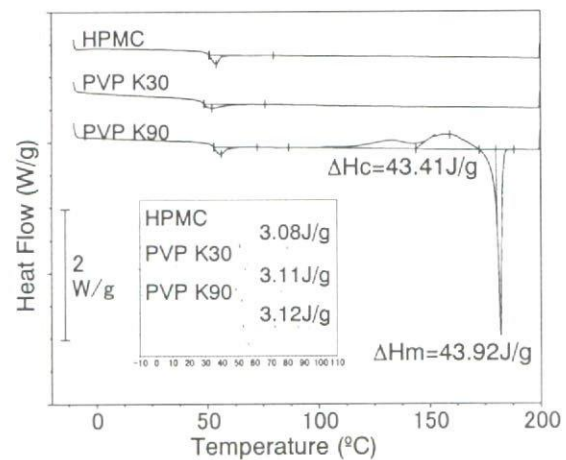


Fig. 9 DSC curves of · 10% polymer solid dispersions aged at 40°C for 13 hours.

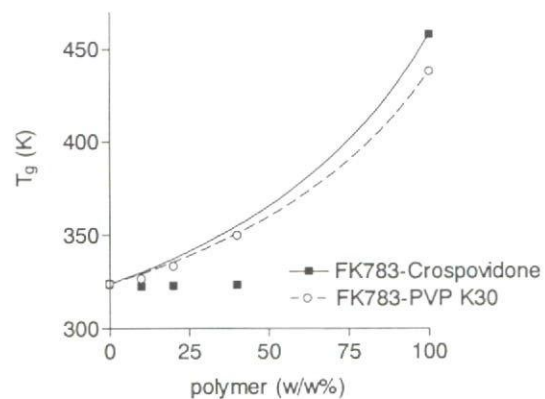


Fig. 10 The polymer concentration dependence of  $T_g$ s. (Symbol: measured  $T_g$ s, Line: theoretical Cauchman-Karasz equation)

に基づく相互作用や、担体の高分子鎖末端の置換基を確認することに加え、担体の3次元構造に分散した状態を把握することが重要であると考えられる。

### ③非晶質製剤からの薬物溶出挙動の解析

ニフェジピン結晶、ニフェジピン-PVP 固体分散体の溶出挙動を回転ディスク法(100rpm)で調べた。ニフェジピン結晶の溶出速度は極めて遅く、180分までに飽和溶解度に達しなかった。これに対し、薬物含有率が6~20%のニフェジピン-PVP 固体分散体(ニフェジピン/PVP 比: 6/94、10/90、20/80)ではニフェジピンが速やかに過飽和溶解した。一方、薬物含有率が30%の固体分散体(ニフェジピン/PVP 比: 30/70)では、溶出試験開始後に製剤表面で薬物が析出し、試験前は非晶質製剤であるにもかかわらずニフェジピンの溶出速度は遅かった(Fig. 11)。この固体分散体について、ディスク回転数が50、100、200rpmの3条件で溶出試験を行なったところ、回転速度を200rpmに上げた場合のみ、薬物が過飽和溶解した。このことから、試料の溶解過程において、試料表面近傍の拡散層における薬物の析出速度が速いために一部が析出していると推察された。また、薬物とPVPの2成分からなる固体分散体においては、溶出性が改善される薬物含有率に上限のあることが示された。

そこで、薬物含有率30%の固体分散体の溶解性を改善するために、これまでに確立した固体分散体からの薬物溶出モデルに基づき以下の(a)、(b)のアプローチを考えた。(a)溶出速度の速い添加剤を配合し、製剤全体の溶出速度を上げる、(b)薬物可溶化能が高い添加剤を配合し、拡散層における薬物の析出速度を遅くする。

まず、溶解速度が速い添加剤として、Urea及びNAを選定した。PVP、Urea、NAの固有溶解速度はそれぞれ7.3、210、142 mg/cm<sup>2</sup>/minであった。非晶質製剤からの薬物溶出速度は、一般に薬物の種類に関係なく、製剤中の添加剤の溶出速度と等しいことが知られており、Urea又はNAを配合した固体分散体からの溶出速度は、PVPのみを基剤とした固体分散体よりも速くなることが推測された。次に、添加剤の可溶化能を調べるため、PVP、Urea及びNA水溶液へのニフェジピンの溶解度を調べた。全ての添加剤において、添加剤濃度に比例してニフェジピンの溶解度が増加する傾

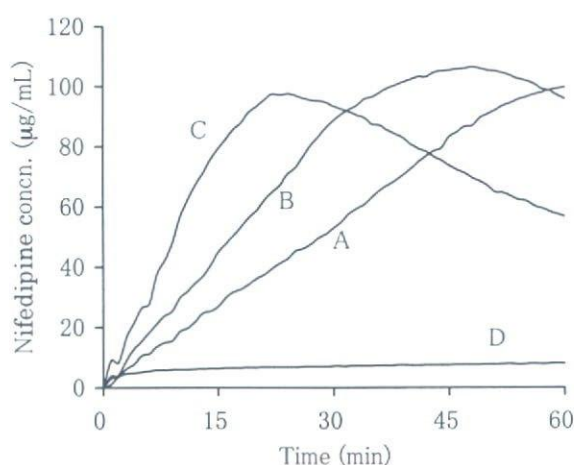


Fig.11. Dissolution profiles of solid dispersions of nifedipine.

A: Nifedipine/PVP(6/94),  
B: Nifedipine/PVP(10/90),  
C: Nifedipine/PVP(20/80),  
D: Nifedipine/PVP(30/70).

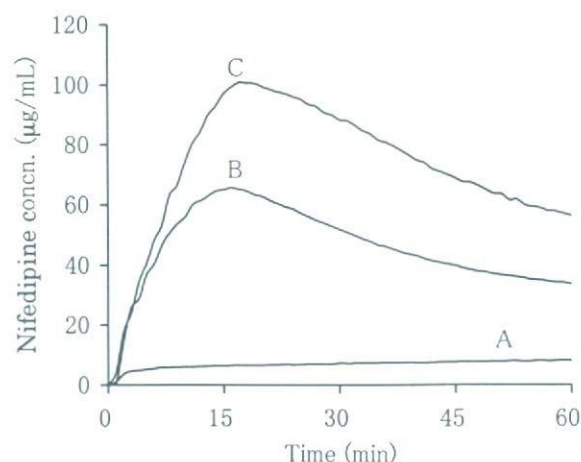


Fig.12. Dissolution profiles of solid dispersions of nifedipine.

A: Nifedipine/PVP(30/70),  
B: Nifedipine/PVP/Urea(30/63/7),  
C: Nifedipine/PVP/NA(30/63/7).

向がみられ、ニフェジピン可溶化能は NA > PVP > Urea の順であった。製剤中のニフェジピン濃度が同じ固体分散体の中で溶出試験時の析出速度を比較すると、Urea 処方 > PVP 処方 > NA 処方となることが推測された。以上のような添加剤に関する予備検討の結果から、Urea は(a)の機能のみ、NA は(a)及び(b)の両方の機能による溶出性改善を期待できる。

上記結果を踏まえて、ニフェジピン/PVP (30/70) 固体分散体中の添加剤である PVP の一部を Urea

又はNAに置換した固体分散体を調製した。これら製剤の溶解挙動を回転ディスク法(100rpm)で調べた結果、NP/PVP/NA (30/63/7) 固体分散体では製剤中の薬物が速やかに過飽和溶解した。また、NP/PVP/Urea (30/63/7) 固体分散体でもNA配合製剤の約1/2の薬物濃度で過飽和溶解し、両製剤とも薬物含有率が30%の製剤の溶解特性を大きく改善することができた(Fig 12)。溶出速度の速い添加剤を配合することにより、製剤全体の溶出速度が増大し、固体分散体からの薬物溶出モデル(Fig.13 (A)~(C))に示すように、薬物の溶出速度 $V_2$ が拡散層での析出速度 $V_3$ よりも大きくなることで、拡散層内部での薬物の析出量が減少したためと推察された。固体分散体制剤は、通常の製剤と比較して添加剤を多く配合する必要があるため、製剤が大きくなる傾向がある。本研究では、薬物含有率が高く、かつ溶出特性に優れた処方を見出したことにより、消化管吸収を改善する小型の製剤の設計が可能となった。

#### D. 考察

固体分散体中の非晶質薬物が保存により結晶化する速度は、マトリックス全体の運動性ばかりでなく、薬物のlocalな運動性にも大いに依存すること、またそのlocalな運動性を低下させることによって結晶化を抑制できることが、NMRやFT-IRを用いた検討によって明らかにすることができた。複数の薬物-添加剤の組み合わせの系で確認されたことから、localな運動性の重要性には普遍性があると考えられる。今後はさらに、より安定な非晶質製剤の製剤設計の開発を目指して、高分子添加剤のモノマー単位の構造や重合度が、マトリックスの分散状態や不均一性などに及ぼす影響を明らかにすることが重要であると考えられる。

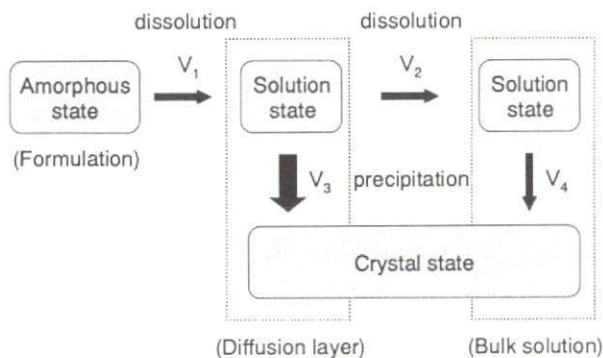
薬物および高分子添加剤から成る固体分散体に微量の第三成分を添加することによって、薬物の溶出速度を高め、拡散層における非晶質薬物の結晶化を抑制できることを明らかにした。今後、さらに第三成分の比率の影響を明らかにするとともに、保存による溶出挙動の変化など固体分散体の安定性評価の検討が必要であると考えられる。

#### E. 結論

① フェノバルピタールおよびニフェジピンの結晶化はHPMCと固体分散体化することによって抑

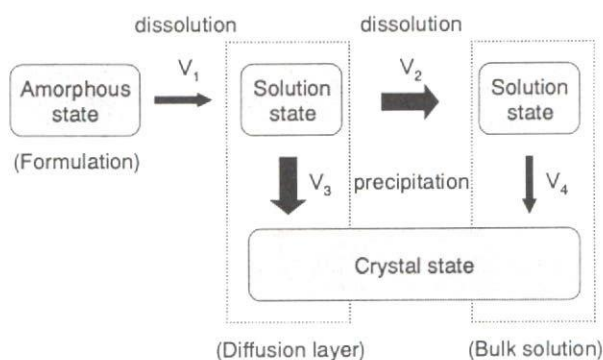
(A) Nifedipine/PVP(30/70)

( $V_2$ : slow,  $V_3$ : fast)



(B) Nifedipine/PVP/Urea(30/63/7)

( $V_2$ : fast,  $V_3$ : fast)



(C) Nifedipine/PVP/NA(30/63/7),

( $V_2$ : fast,  $V_3$ : slow)

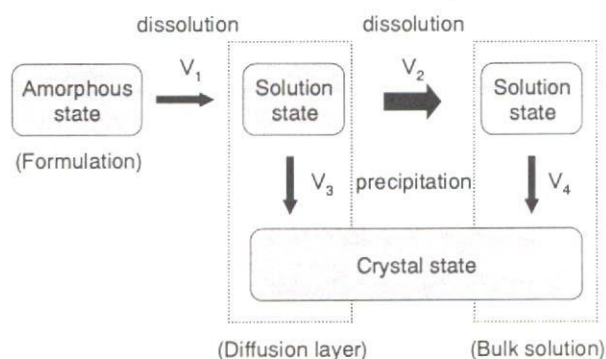


Fig.13. Proposed models of dissolution process of solid dispersions of nifedipine.  $V_1, V_2$ : dissolution rate,  $V_3, V_4$ : precipitation rate.

制され、非晶質薬物が安定化することが明らかになった。しかし、HPMCの安定化効果はPVPと比較すると小さく、薬物のlocalな運動性を抑制する作用が小さいためであることが明らかになった。薬物のlocalな運動性を抑制する作用が、非晶質の



安定化に大きく寄与することが明らかになり、安定性の高い非晶質製剤の処方設計に有益な知見が得られた。さらに、モデル薬物を増やして普遍性を検討した結果、非晶質ニルバジピンの結晶化速度は、同等の  $T_g$  をもつニフェジピンよりも著しく遅く、マトリックスの運動性以外の要因が速度を支配することが明らかになった。

②FK783-PVP、FK783-HPMC 固体分散体の結晶化現象は、マトリックスの全体的な運動性よりも FK783 と担体のモノマー単位との相互作用による local な運動性に支配されていることが明らかになった。また分子量の大きい PVP K90 の方が PVP K30 よりも結晶化抑制能が低いことが明らかになったことから、担体のモノマー構造に加え添加剤の local な運動性に寄与すると考えられる PVP 末端の極性置換基の存在が FK783 の結晶化に関与することが示唆され、より安定な非晶質製剤を開発するに上で有益な知見が得られた。さらに、直鎖状の PVP と 3 次元構造ならびに末端の極性置換基の環境が異なるクロスポビドンは FK783 との相容性が低く、直鎖状 PVP と結晶化抑制能に差異を生じることが判明した。したがって、物理化学的に安定な固体分散体を調製するには、固体分散体全体の運動性ばかりでなく、local な運動性を評価することが重要であることが示唆された。

③ニフェジピン-PVP 固体分散体について、回転ディスク法による溶出試験を行なった結果、ニフェジピン含有率が 20% までの固体分散体ではニフェジピンが速やかに過飽和溶解したものの、薬物含有率 30% の製剤では製剤表面で薬物が析出した。そこで、添加剤である PVP の一部を溶解速度の速い添加剤である Urea 又は NA に置換した固体分散体を調製したところ、両製剤とも製剤中の薬物が速やかに過飽和溶解し、薬物含有率 30% の製剤の溶解特性を大きく改善することができた。固体分散体制剤は、添加剤を多く配合する必要があるため、製剤が大きくなる傾向がある。本研究では、薬物含有率が高く、かつ溶出特性に優れた処方を見出したことにより、消化管吸収を改善する小型の製剤の設計が可能となった。

## F. 研究発表

### 1. 誌上発表

- 1) Y. Aso, S. Yoshioka, Molecular Mobility of Nifedipine-PVP and Phenobarbital-PVP

Solid Dispersions as Measured by  $^{13}\text{C}$ -NMR Spin-Lattice Relaxation Time. *J.Pharm.Sci.*, 95: 318-325 (2006).

- 2) S.Yoshioka, T. Miyazaki, Y.Aso.  $\beta$ -relaxation of insulin molecule in lyophilized formulations containing trehalose or dextran as a determinant of chemical reactivity. *Pharm. Res.* Accepted (2006).
- 3) S.Yoshioka, Y.Aso, T. Miyazaki, Negligible contribution of molecular mobility to the degradation rate of insulin lyophilized with poly(vinylpyrrolidone). *J. Pharm. Sci.*, 95: 939-943 (2006)..
- 4) S.Yoshioka, Y.Aso, Comparison of the glass transition temperature and fragility parameter of isomalto-oligomer predicted by molecular dynamics simulations with those measured by differential scanning calorimetry. *Chem. Pharm. Bull.* 53:1443-1445 (2005).
- 5) S.Yoshioka, Y.Aso, A quantitative assessment of the significance of molecular mobility as a determinant for the stability of lyophilized insulin formulations. *Pharm. Res.* 22: 1358-1364 (2005)
- 6) Y. Aso, S. Yoshioka, Effect of Freezing Rate on Physical Stability of Lyophilized Cationic Liposomes. *Chem. Pharm. Bull.*, 53, 301-304 (2005).
- 7) S.Yoshioka, Y.Aso, Glass transition-Related Changes in Molecular Mobility below Glass Transition Temperature of Freeze-dried Formulations, as Measured by Dielectric Spectroscopy and Solid State NMR. *J.Pharm. Sci.*, 94:275-287 (2005).
- 8) K. Tanaka, S. Kitamura, T. Kitagawa, Effect of Structural Relaxation on the Physical and Aerosol Properties of Amorphous Form of FK888(NK1 Antagonist). *Chem. Pharm. Bull.*, 53, 498-502 (2005).
- 9) M. Mizuno, Y. Hirakura, I. Yamane, H. Miyanishi, S. Yokota, M. Hattori, A. Kajiyama, Inhibition of a solid phase reaction among excipients that accelerates drug release from a solid dispersion with

aging. *Int. J. Pharm.*, 305, 37-51 (2005)

## 2. 学会発表

- 1) 吉岡 澄江、宮崎 玉樹、阿曾 幸男、ポリビニルピロリドンおよびポリアミノ酸等の高分子含有凍結乾燥製剤におけるインスリンの化学的分解速度の決定要因としての分子運動性の重要度、日本薬学会第 126 年会 (2006. 3)
- 2) 阿曾幸男、吉岡澄江、ポリビニルアルコールゲルに内包した  $\beta$ -ガラクトシダーゼの活性に及ぼす保存の影響、日本薬学会第 126 年会 (2006. 3)
- 3) 宮崎 玉樹、吉岡 澄江、阿曾 幸男、ニフェジピン類薬物の結晶化速度と分子運動性についての検討日本薬学会第 126 年会 (2006. 3)
- 4) 吉岡 澄江、宮崎 玉樹、阿曾 幸男、糖類および水溶性高分子含有凍結乾燥製剤中のインスリンの分解速度と固体  $^{13}\text{C}$  NMR で測定した  $\beta$  緩和速度との関係、日本薬剤学会第 21 年会 (2006. 3)
- 5) 阿曾 幸男、吉岡 澄江、 $^{13}\text{C}$ -NMR による ニフェジピン-およびフェノバルビタール-HPMC 固体分散体の分子運動性の測定、日本薬剤学会第 21 年会 (2006. 3)
- 6) Yoshioka, S., Aso, Y. Relative contributions of molecular mobility and chemical activation barrier to the degradation rate of lyophilized insulin, American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual Meeting (2005.11)
- 7) Aso, Y., Yoshioka, S. Miscibility of nifedipine and hydrophilic polymers in solid dispersions, as determined by  $^1\text{H}$ -NMR spin-lattice relaxation measurements, American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual Meeting (2005.11)
- 8) Miyazaki, T., Yoshioka, S., Aso, Y. Effect of drug-polymer interaction on crystallization of amorphous acetanilide derivatives in the solid dispersions, American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual Meeting (2005.11)
- 9) 高倉朝子、林隆志、村主教行、久米龍一、固体分散体中の添加剤が製剤の溶出特性に与える影響、日本薬剤学会第 21 年会 (2006. 3)

G. 知的財産権の出願・登録状況  
特許出願  
出願番号 2006-80778

---

平成17年度

創業等ヒューマンサイエンス研究  
重点研究報告書

平成18年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号  
共同ビル（小伝馬町駅前）4F  
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社