粉末吸入製剤開発を指向した動態制御学並びに薬剤科学の統合研究

尾上 誠 良

Strategic Formulation Study on Dry Powder Inhalation System Based on Modulated Molecular Properties and Controlled Pharmacokinetics

Satomi Onoue

Department of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, School of Pharmaceutical Sciences,
University of Shizuoka; 52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka 422-8526, Japan.

(Received June 7, 2012)

Cyclosporine A (CsA) has been widely used as an immunosuppressive agent, and recent outcomes from clinical studies are indicative of the potent therapeutic potential of CsA for chronic asthma and airway inflammation. The clinical use of CsA for airway inflammatory diseases is partly limited because of low oral bioavailability and severe systemic side effects. A number of CsA dosage forms have been proposed to overcome these drawbacks, for example, nebulizer formulation and metered-dose inhaler formulation for inhalation therapy, whereas these liquid formulations sometimes contain organic solvents and other solubilizers, leading to local irritant potency. In this context, our group developed a dry powder inhalation (DPI) system of CsA, employing a polymer-based amorphous solid dispersion (ASD) approach, for inhalation therapy on airway inflammations. There was marked improvement in dissolution behavior of the ASD formulation compared with that of an amorphous CsA. The new DPI system of CsA exhibited high dispersibility and suitable particle distribution for inhalation therapy. *In vivo* experiments demonstrated that inhaled DPI system of CsA attenuated inflammatory events in experimental asthma/chronic obstructive pulmonary disease (COPD) model rats as evidenced by a decrease of infiltrated granulocytes, and there was no excessive increase in systemic exposure of CsA at a pharmacologically effective dose, possibly leading to reduced systemic side effects. From these findings, combination use of CsA-loaded ASD and DPI systems might be a promising approach for the treatment of airway inflammatory diseases with improved pharmacodynamics and lower systemic exposure.

Key words——solid dispersion; amorphous; dry powder inhaler; cyclosporine A; airway inflammation

1. はじめに

創薬技術の飛躍的發展に伴い数多くの医薬品候補化合物が創出される昨今、Lipinski らの報告によれば当該化合物の約 40% 程度が難水溶性薬物であると推定される。^{1,2)} 難水溶性化合物は治療薬候補として高いポテンシャルを持つものの、その溶解性の低さから臨床応用が困難になることがあり、それゆえ溶解性改善が重要な課題となる。溶解性の改善を目的として、塩形成³⁾や準安定型など適切な原薬選択や、^{4,5)} 微細化、^{6,7)} microenvironmental pH-modifier、^{8,9)} エマルション¹⁰⁾やシクロデキストリン^{11,12)}などの各

種製剤技術の適用が国内外で試みられている。^{13–15)} 特に中性化合物においては塩の形成が困難であるために製剤技術の担う役割が極めて重要であり、近年、実用的な製剤技術開発が急務の課題となっている。その一環として、注目を集めている製剤技術に固体分散体 (solid dispersion; SD) があり、Chiou & Riegelman によれば固体分散体は、「溶融法、溶媒法、又は溶融-溶媒法により調製された、固体状態で不活性な担体又はそのマトリックス中に、1 種又はそれ以上の活性成分が分散したもの」と定義される。¹⁶⁾ その長所としては、粒子径の減少や濡れ性の向上、さらには含有薬物の非晶質状態の維持などが挙げられ、固体分散体制剤とすることで物理化学的安定性の向上も期待できる。¹⁷⁾ このように固体分散体制剤は多くの長所を持つことから難水溶性薬物の溶解性改善技術として有用であると考えられてお

The author declares no conflict of interest.

静岡県立大学薬学部薬物動態学分野 (〒422-8526 静岡市駿河区谷田 52-1)

e-mail: onoue@u-shizuoka-ken.ac.jp

本総説は、平成 23 年度日本薬学会東海支部学術奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

り、現在では基礎研究に留まらず、応用研究開発の成果としてイトラコナゾールやニモジピンを始めとして多くの薬物が固体分散体制剤として上市されている。^{13,18)}

本稿では、難水溶性医薬品である cyclosporine A (CsA) を例として、複数のグループが取り組んでいる CsA の新規製剤設計について記述するとともに、筆者らが検討している固体分散体制剤の粉末吸入製剤への応用についても併せて紹介する。

2. 難水溶性ペプチド CsA の非晶質固体分散体制剤

真菌 (*Tolypocladium inflatum* Gams) の培養液中から単離・同定された CsA は Biopharmaceutics Classification System (BCS) class 2 に分類される難水溶性ペプチドである。¹⁹⁻²¹⁾ CsA は強力なカルシニューリン阻害薬であり、臨床現場においては主に臓器移植後における拒絶反応の抑制、尋常性乾癬の治療薬として広く使用されている。²²⁾ CsA はその低い溶解性に起因して、経口吸収性が低く、かつ患者間で大きくばらつくことが報告されている。²³⁾ この問題を解決するため CsA は自己乳化型製剤として開発されており、最初はマイクロエマルションを形成するカプセル剤 (Sandimmune, Novartis) として上市されたが、その後、より患者間での吸収性や薬効の差異減少を目指してナノエマルションを形成する自己乳化型製剤 (Neoral, Novartis) が販売された。²²⁾ 自己乳化型製剤のみならず、基礎研究開発においては経口固形製剤の開発も盛んに行われており、例えば Tam らは非晶質 CsA のナノ粒子製剤を開発し、²⁴⁾ Italia らは生分解性ポリマーである PLGA を用いて nanosphere を開発している。²⁵⁾ 他の高分子を用いた製剤開発も進められており、Choi らはヒアルロン酸を用いて microsphere を試作し、²⁶⁾ Ubrich らは同様に Eudragit RS/RL を用いてナノ製剤開発に成功している。²⁷⁾ これらの製剤はいずれも経口吸収性の著しい改善に成功しており、その臨床応用性についても高く期待されるところであるが、含有する CsA の安定性についてはかならずしも十分な検討や考慮がされていない。そこで筆者らは CsA の長期保存における物理化学的安定性のある程度保持させ、なおかつ水への溶解性向上を同時に達成することを目的として、非晶質状態の CsA を水溶性ポリマーに分散させた固体分散体を

新規に考案した。²⁸⁾

3. Wet-mill 法による CsA の非晶質固体分散体制剤調製

筆者らが検討した固体分散体制剤においてはジルコニアビーズと自転公転型攪拌機を用いて CsA 原料の Wet-mill 処理を実施している。^{28,29)} すなわち、Wet-mill にて粉碎した CsA をポリマー溶液中に分散させ、回収した懸濁液を凍結乾燥することによって CsA 固体分散体制剤を得た。粉末 X 線回折によって製剤中に分散している CsA は非晶質として存在していることを示唆し [Fig. 1(A)], 本製剤における CsA の非晶質状態は熱分析並びに偏光顕微鏡観察においても同様に確認できた。本検討において得た各種 CsA 固体分散体制剤はいずれも顕著な溶解性の改善を示し、その溶解性改善は使用するポリマーの種類によって大きく異なる傾向を認めた [Fig. 1(B)]. 特に hydroxypropyl cellulose (HPC) を用いた固体分散体制剤において顕著な溶出改善を認め、また、HPC や polyvinylpyrrolidone (PVP) 等を用いて調製した各種固体分散体制剤の結果を考慮すれば、同種のポリマー間においては分子量や粘度が薬物放出特性を制御する因子となっていることを示唆した。比較的分子量の小さい HPC-SSL を用いた固体分散体制剤の水における初期溶出速度は結晶 CsA と比して約 150 倍にも及んだが、高分子量の HPC-L を用いた場合にはその溶出速度は約 22 倍の改善に留まった。一方、分子量 360 kDa の PVP を用いた際には極めて限定的な溶解性改善に留まり、その初期溶出速度は結晶 CsA のそれと比べて約 3 倍であった。一般に薬物の溶解は固体表面で起こる不均一反応であり溶質が界面から内部溶液中へと移動する拡散過程が律速となることが多いが、Stokes-Einstein 式によれば薬物分子の拡散係数は粘度に反比例しており、今回の知見とよい対応を示している。また、非晶質 CsA、CsA 固体分散体制剤 (それぞれ 10 mg CsA/kg) をラットに経口投与し

尾上誠良

1998 年岡山大学大学院薬学研究科卒。
2007 年にファイザーより静岡県立大学
薬学部薬物動態学分野講師に就任。
2010 年より現職 (准教授)。2011 年日
本薬学会東海支部学術奨励賞受賞。
2012 年日本薬剤学会奨励賞受賞並びに
日本ペプチド学会奨励賞受賞。研究
テーマ：薬剤科学。

Fig. 1. Physicochemical Characterization of CsA-loaded Solid Dispersions

(A) Powder X-ray diffraction patterns of cyclosporine samples. (B) Dissolution profiles of CsA-loaded solid dispersions in acidic solution (pH 1.2). ∇ , Amorphous CsA; Δ , solid dispersion of amorphous CsA with pullulan; $\circ$, HPC (SSL); $\bullet$, HPC (L); $\blacksquare$, HPC (H); $\square$, polyvinylpyrrolidone (PVP: K30); $\blacksquare$, PVP (K90); $\diamond$, methylcellulose; and $\blacklozenge$, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). (C) Blood CsA concentrations in rats after oral administration of CsA formulations. Δ , Amorphous CsA (p.o., 10 mg CsA/kg); and $\bullet$, solid dispersion of amorphous CsA with HPC (SSL) (p.o., 10 mg CsA/kg). Data represent mean $\pm$ S.E. of 6 experiments.

た際、その生物学的利用率において固体分散体制剤は非晶質 CsA と比して約 26 倍の向上を示した [Fig. 1 (C)]. CsA は BCS class 2 に属する薬物で

あるので生物学的利用能は溶解律速と考えられ、すなわち本剤における経口吸収性の顕著な改善は CsA 溶解性の上昇に起因するものとする。

4. CsA 固体分散体制剤の粉末吸入製剤への応用

近年、CsA は喘息モデル動物において、好酸球の成熟・分化の抑制作用、気道組織における好酸球浸潤抑制作用等の興味ある薬理活性を認めている。^{30,31} ステロイド依存性の慢性喘息患者における米国での臨床試験でもその有用性が報告されており、それゆえ、CsA の炎症性呼吸器疾患治療薬としての臨床応用が強く期待されている。これら興味ある薬理活性にもかかわらず、高用量の CsA 経口投与は腎毒性や肝毒性を始めとする全身性の副作用を惹起する。この観点から、経口投与以外の投与ルートの開発が必須であり、特に炎症性呼吸器疾患においては吸入療法が適切と考えられているが、CsA は非常に溶解性が低いために製剤設計が困難であり、また溶解性向上目的で加えられた添加剤による副作用発現も臨床報告されている。そこで、先に筆者らが開発した CsA 固体分散体をベースにして新しい粉末吸入製剤を設計した。本固体分散体制剤を吸入剤へと応用するため、Jet-mill を用いて吸入製剤に適した空気力学的粒径に粉碎し、吸入用ラクトースキャリアーと混合して粉末吸入製剤を調製した [Fig. 2 (A)]. カスケードインパクターを用いて *in vitro* 吸入特性を精査したところ、本吸入製剤は fine particle fraction が約 54%、カプセルからの放出量が約 96% でありその高い分散性と吸入特性を確認した [Fig. 2 (B)]. 抗原感作喘息モデルを用いて気道における炎症性細胞浸潤を評価したところ、新規粉末吸入製剤 (100 μ g-CsA/rat) の気道内投与によって顕著な浸潤抑制を示し、その効果は物理混合物 (100 μ g-CsA/rat) を気道内投与した際よりも強いことを確認した [Fig. 2 (C)]. また、本結果は血中あるいは気管支肺胞洗浄液中の各種バイオマーカー (Myeloperoxidase, Eosinophil peroxidase, Lactate dehydrogenase) のデータと矛盾せず、すなわち、固体分散体制剤技術による CsA の溶解性改善によって、肺局所における薬理作用が向上したと考える。CsA 固体分散体制剤の粉末吸入製剤への発展的応用は呼吸器系局所における高い薬効と薬物全身暴露量低下を望めることから、安全かつ有効な喘息治療に寄与するものと期待する。

Fig. 2. Inhalable Powder Formulation of CsA

(A) Scanning electron micrograph from inhalable powder formulation. Bar represents 20 μm . (B) *In vitro* inhalation performance as determined by cascade impactor analysis. (C) Inflammatory cells in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF, filled column) and lung tissues (open column) from antigen-sensitized rats. Data represent mean $\pm$ S.E. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ with respect to vehicle alone in each group.

5. CsA 固体分散体制剤の課題とその改良

Wet-mill 法あるいは溶媒法によってそれぞれ調製した CsA 固体分散体制剤を対象に安定性試験を実施したところ、40°C/75% 相対湿度条件下において保存した場合にはその保存期間に応じて溶出速度が徐々に低下する傾向にあった。³²⁾ この溶出挙動の変化については、溶媒法によって調製された one-

Fig. 3. Cytogram of BALF from Antigen-sensitized Rats

(A) Control (non-sensitized); (B) antigen-sensitized rat; and (C) antigen-sensitized rat with pretreatment of inhalable formulation containing CsA dry-emulsions. Cells in BALF were classified as monocytes (I), lymphocytes (II), neutrophils (III), and eosinophils (IV).

phase 型の固体分散体において特に顕著であり、Wet-mill によって得られた two-phase 型の固体分散体の方が緩やかな溶解性低下に留まった。この安定性における問題は固体分散体制剤の実用化に向けての解決すべき課題の 1 つであり、³³⁾ より安定した臨床効果を得るために製剤処方への更なる最適化が望まれるところである。そこで、今回紹介した固体分散体制剤に加えて筆者らは最近、CsA を単独の粒子ではなくドライエマルジョンとしてポリマー中に分散させた新規な粉末吸入製剤を開発した。³⁴⁾ 本製剤は水に接触した後、速やかにポリマーが溶解し、内封される平均粒子径約 300 nm の CsA ドライエマルジョンが均一に分散することが可能であり、溶出挙動は固体分散体制剤よりも安定している。本製剤を喘息/chronic obstructive pulmonary disease (COPD) モデルラットに気道内投与した際、同モデル動物において認められた炎症性細胞の著しい浸潤を有意に抑制することを明らかにし、その効果は特にマクロファージと好中球において顕著であった (Fig. 3)。特に好中球性炎症は喘息のみならず COPD においても認められる病理所見であり、本製剤が好中球の浸潤を強く抑制できた事実はたいへん興味深いところである。今後、各種検討を重ねることで処方の更

なる最適化を行い、CsAのみならず他の BCS class 2 薬物への応用が期待される。

6. おわりに

既存の医薬品のみならず、現在開発されている候補化合物においても溶解性の問題は重要な課題の1つであり、その解決法として適切な原薬形態の選択や投与形態の開発は今後も必要な検討項目と考える。特に、現在の医薬品開発においては BCS class 2 に分類される候補化合物が多いとされ、溶解性を高めることによって安定した臨床効果を得る試みは極めて重要であろう。その中で固体分散体制剤技術は既に実用的なものとして認識されているが、より有用性を高めるために、長期安定性の課題をクリアできる製剤設計・製法や、また、それを容易に実現する新しいポリマーの開発など技術上の breakthrough が強く期待される。

謝辞 当該研究成果は、静岡県立大学薬学部名誉教授 故・矢内原 昇博士、大阪薬科大学 前理事長 故・矢内原千鶴子博士、静岡県立大学薬学部山田静雄教授の御指導、伊藤ハム株式会社医薬品部門（現 ILS 株式会社）並びにファイザー株式会社所属時の多くの同僚研究者のご協力、そして当研究室所属学生の努力の所産であり、本書面をお借りして深謝致します。

REFERENCES

- Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **46**, 3–26 (2001).
- Lipinski C. A., *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **44**, 235–249 (2000).
- Serajuddin A. T., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **59**, 603–616 (2007).
- Blagden N., de Matas M., Gavan P. T., York P., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **59**, 617–630 (2007).
- Pudipeddi M., Serajuddin A. T., *J. Pharm. Sci.*, **94**, 929–939 (2005).
- Horter D., Dressman J. B., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **46**, 75–87 (2001).
- Mosharraf M., Nyström C., *Int. J. Pharm.*, **122**, 35–47 (1995).
- Onoue S., Inoue R., Taniguchi C., Kawabata Y., Yamashita K., Wada K., Yamauchi Y., Yamada S., *Int. J. Pharm.*, **426**, 61–66 (2012).
- Tran P. H., Tran T. T., Lee K. H., Kim D. J., Lee B. J., *Expert Opin. Drug Deliv.*, **7**, 647–661 (2010).
- He C. X., He Z. G., Gao J. Q., *Expert Opin. Drug Deliv.*, **7**, 445–460 (2010).
- Loftsson T., Brewster M. E., *J. Pharm. Sci.*, **85**, 1017–1025 (1996).
- Brewster M. E., Loftsson T., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **59**, 645–666 (2007).
- Kawabata Y., Wada K., Nakatani M., Yamada S., Onoue S., *Int. J. Pharm.*, **420**, 1–10 (2011).
- Lobenber R., Amidon G. L., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 3–12 (2000).
- Rajewski R. A., Stella V. J., *J. Pharm. Sci.*, **85**, 1142–1169 (1996).
- Chiou W. L., Riegelman S., *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1281–1302 (1971).
- Vasconcelos T., Sarmento B., Costa P., *Drug Discov. Today*, **12**, 1068–1075 (2007).
- Oshima T., Sonoda R., Ohkuma M., Sunada H., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 1557–1562 (2007).
- Calderon E., Lockey R. F., Bukantz S. C., Coffey R. G., Ledford D. K., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **89**, 629–636 (1992).
- Amidon G. L., Lennernas H., Shah V. P., Crison J. R., *Pharm. Res.*, **12**, 413–420 (1995).
- Wu C. Y., Benet L. Z., *Pharm. Res.*, **22**, 11–23 (2005).
- Beauchesne P. R., Chung N. S., Wasan K. M., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **33**, 211–220 (2007).
- Tjia J. F., Webber I. R., Back D. J., *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 344–346 (1991).
- Tam J. M., McConville J. T., Williams R. O. 3rd, Johnston K. P., *J. Pharm. Sci.*, **97**, 4915–4933 (2008).
- Italia J. L., Bhatt D. K., Bhardwaj V., Tikoo K., Kumar M. N., *J. Control. Release*, **119**, 197–206 (2007).
- Woo J. S., Piao M. G., Li D. X., Ryu D. S., Choi J. Y., Kim J. A., Kim J. H., Jin S. G., Kim D. D., Lyoo W. S., Yong C. S., Choi H. G., *Int. J. Pharm.*, **345**, 134–141 (2007).
- Ubrich N., Schmidt C., Bodmeier R., Hoffman M., Maincent P., *Int. J. Pharm.*,

- 288**, 169–175 (2005).
- 28) Onoue S., Sato H., Kawabata Y., Mizumoto T., Hashimoto N., Yamada S., *J. Control. Release*, **138**, 16–23 (2009).
- 29) Onoue S., Sato H., Ogawa K., Kawabata Y., Mizumoto T., Yuminoki K., Hashimoto N., Yamada S., *Int. J. Pharm.*, **399**, 94–101 (2010).
- 30) Alexander A. G., Barnes N. C., Kay A. B., *Lancet*, **339**, 324–328 (1992).
- 31) Nizankowska E., Soja J., Pinis G., Bochenek G., Sladek K., Domagala B., Pajak A., Szczeklik A., *Eur. Respir. J.*, **8**, 1091–1099 (1995).
- 32) Sato H., Kawabata Y., Yuminoki K., Hashimoto N., Yamauchi Y., Ogawa K., Mizumoto T., Yamada S., Onoue S., *Int. J. Pharm.*, **426**, 302–306 (2012).
- 33) Ford J. L., *Pharm. Acta Helv.*, **61**, 69–88 (1986).
- 34) Onoue S., Sato H., Ogawa K., Kojo Y., Aoki Y., Kawabata Y., Wada K., Mizumoto T., Yamada S., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **80**, 54–60 (2012).