薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
112 (5) 299-313 (1992)

溶液製剤における分子間相互作用：薬物の溶解性の向上， 分配並びに安定性

池田 憲

名古屋市立大学薬学部，〒467 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

Molecular Interaction in Pharmaceutical Solution, Solubilization, Partition, and Stability of Drugs

Ken IKEDA

*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University
Tanabe-dori 3-1, Mizuhoku, Nagoya 467, Japan*

The pharmaceutical studies carried out by the author during 40 years were reviewed from the viewpoint of molecular interaction. Included subjects are: electrostatic interaction between drug ions, ion pair formation and its partition to organic phase, drug solubilization by adjuvants, partition of drugs between aqueous and micellar phases, cyclodextrin inclusions, human serum albumin binding and drug stability related to the esterase-like activity of the albumin, and oral liposome preparation of vitamin K₁. The drug stabilities related to those molecular interactions were emphasized.

Keywords—molecular interaction; solubilizing adjuvant; ionic interaction; ion pair; partition; micelle; cyclodextrin inclusion; human serum albumin; liposome; drug stability

1. はじめに

製剤学の原点ともいえる調剤学には昔から配合禁忌，incompatibility，という用語があった。この語意は「折合い良く共存し得ない」ということである。すなわち，物質の配合により何らかの反応（分子間の会合や化学反応）が起こり，不都合が生じることである。しかしながら，分子間の相互作用は不都合なことばかりではない。溶解補助剤の場合のように望ましい現象も製剤学の重要な研究対象である。溶けるということは経口投与の場合には吸収されるための第一条件である。試験管中又は摘出した器官において有効性が証明された薬物でも，水に溶けない（又は溶け難い）というだけで，服用しても薬効が出現しない例は沢山ある。また，注射剤では限られた体積中に必要量の薬物が溶けることは必須条件である。

製剤学の創世期から 40 年間にわたり，様々な問題に取り組んできたが，薬物の溶解性の向上，分子間の会合，分配，及びそれらに伴う薬物の安定性に対する影響といった観点から取りまとめることとする。なお，行ってきた研究の例数は限りのあることであり，製剤学的な問題のすべてを系統的に論じることはできず，断片的になることをお断わりしておく。

2. 静電気的な相互作用

溶液中における分子間相互作用の基本的な driving force としては，van der Waals 力，水素結合，イオン結合，疎水結合などが挙げられる。複雑な化学構造をもつ医薬品の場合には 1 つだけでは説明がつかないのが一般的であろう。しかし，正負のイオンが静電的に結びつく，あるいは同符号イオン間で反発が起こるのは最も理解しやすい相互作用である。このことは，溶液剤における

本総説は，平成 4 年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

薬物の相互作用・安定性に大きな関係がある。

2-1. イオン間の反応速度と溶媒の極性

1950 年に発表された Edwards のアスピリンの分解速度に関する研究¹⁾ 以来, エステルあるいはアミド結合などの加水分解, すなわち Alexander のいう heterolytic cleavage²⁾ については, 加水分解速度の pH-profile を求めて反応機構を解析する方法が常道となった. この研究により質量作用の法則に基づいた化学量論的な取扱いがかなり複雑な有機物についても可能なことが明らかとなった. この研究は薬物の安定性が学術的に体系付けられるようになった先駆けであると筆者はこれを高く評価している.

我々はフェノバルビタールの加水分解について Fig. 1 のような結果を得た.³⁾ バルビタール類はアルカリ性で容易に加水分解されるが, 図から分かるようにフェノバルビタール陰イオンと OH⁻ イオンとの反応速度は, 電荷をもたないフェノバルビタール分子のそれよりも小さい. これは同符号イオン間の反応では相互の反発力により 2 次反応速度定数が小さくなるものと容易に説明が付く.

一方, バルビタール類の安定な注射剤を得るためには 20—30% のプロピレングリコール-水の混合溶剤が用いられてきた. このような混合溶媒の使用によって加水分解が抑制され安定な注射剤が得られる機構を明らかにする目的で, イオン間に働く力を支配する溶媒の誘電率の影響について研究した.⁴⁾ ここでは対象薬物としてアルカリ性において 1 価の陰イオンのみを形成する (2 価イオンをも形成して反応機構が複雑にならない) methylhexabital を用いた. これのアルカリによる加水分解速度と溶媒の誘電率 (D) との関係を見たのが Fig. 2 である. イオン-イオン間の反応速度に対する誘電率の影響については Amis の導いた理論式 (1) が知られている.

$$\ln k'_0 = \ln k'_{\frac{\epsilon=0}{D=\infty}} - \frac{z_A z_B \epsilon^2}{DkTr} \quad (1)$$

ここで, k'_0 はイオン強度 0 における反応速度であり, $k'_{\frac{\epsilon=0}{D=\infty}}$ は D が無限大のときの k'_0 値 (仮想値であり実験値を外挿したときの縦軸との交点), z_A 及び z_B は両イオンの電荷数, ϵ は電荷, k はボルツマン定数, T は絶対温度, r は両イオンの近接距離である. r 以外は既知又は実験によって得られるから, 図のように求められた直線の傾斜から計算した r の大きさがこの理論式の適否の判断となる. この実験結果から得られた値は 7.0 Å (EtOH-H₂O 系) 及び 6.0 Å (MeOH-H₂O 系) であり, いずれも分子の次元の大きさで, 良く Amis の式に適応していることが分かった. すなわち, 混合溶媒系における安定化は溶媒の極性の減少に基づくイオン間の反発力の増大によるもので

Fig. 1. Overall Velocity Constant for Phenobarbital Hydrolysis as a Function of pH

Fig. 2. $\log k'_0$ vs. $1/D$ (50°)
●, H₂O; △, EtOH-H₂O; ○, MeOH-H₂O.

あるといえる。

2-2. イオンペアの生成 1960年代後半からイオンペアの生成による薬物の吸収増大を期待した研究が各国で盛んに行われるようになった。しかし、薬物吸収の場合はイオンペアが水相から有機相へ移行するような簡単な現象ではないと思われる。また、各種の塩基性薬物において、無機酸の塩類の形で吸湿性が大であり、取扱いに困難を伴うことが多い。そのため各種の有機酸の塩類として医療に供されることがある。このような場合、イオンペア形成現象により吸収の促進が伴うか否かは興味のあるところである。

(a) 薬物の分離定量への応用——イオンペアの生成と、これの有機溶媒への移行を利用した薬物の定量法は古くから知られていた。筆者は1955年ベナドリールの血中濃度測定において酸性色素であるメチルオレンジとのイオンペア形成によるエチレンジクロライド相への抽出定量法を用いた。⁵⁾ また、プロカインとブドウ糖とを含む溶液製剤において *procaine-N-glucoside* が生成する反応を追跡する際、酸性色素であるブロモクレゾールグリーンを用い、未反応のプロカインを定量的に分離・抽出することに応用した。⁶⁾ この場合 *procaine-N-glucoside* も酸性色素とイオンペアを形成するであろうが、ブドウ糖残基の水溶性により有機相（エチレンジクロライド相）には全く移動しなかった。このようにして未反応のプロカインのみを定量分析することができた。

(b) イオンペアと長鎖アルコールの溶媒和——1967年 Higuchi は医薬品のように大きな分子イオンと対イオンの間の結合物は容易に有機相に移行することから、イオンペア形成により薬物の吸収が促進されることを示唆した。そして更に有機相に長鎖アルコールが存在する時には、移相したイオンペアにアルコールが溶媒和し、イオンペアの有機相への分配が飛躍的に増加することを化学

Fig. 3. (A) Effect of Concentration of 1-Pentanol in Organic Phase on Distribution of Tetracycline-TCA Ion Pairs (pH, 3.0; μ , 0.1, Temp., 25°C) and (B) pH Profiles of Apparent Distribution Coefficients of Tetracyclines in the Presence of TCA at 25°C

(A) ▲, methacycline; □, doxycycline; ●, chlortetracycline; △, demethylchlortetracycline; ○, tetracycline; ■, oxytetracycline; ⊙, minocycline.

(B) Aqueous phase: phosphate buffer ($\mu=0.1$). Organic phase: equal volume of 1-pentanol and *n*-hexane

▲, doxycycline; □, methacycline; △chlortetracycline; ■, demethylchlortetracycline; ○, tetracycline; ●, minocycline.

量論的に明らかにした.⁷⁾ 筆者らもこれに興味をもち、次のような研究を行った。

(イ) テトラサイクリン類とハロゲン化酢酸⁸⁾: 筆者らはテトラサイクリン類とハロゲン化酢酸との間のイオンペアについて研究した。Higuchi らの結果と同様に、テトラサイクリン類とトリクロル酢酸 (TCA) との間のイオンペアでも長鎖アルコールの存在により有機相への移動は格段に増大した (Fig. 3 (A))。テトラサイクリン類の化学構造は Fig. 13 に示すように複雑であり、両性イオンを含むいくつものイオン種をとり得るからイオンペア形成の pH-profile は Fig. 3 (B) のように複雑である。また、ハロゲン化酢酸の酸性度 (pK_a) にも大きく関係することを見出だした。

(ロ) フェノチアジン系薬物とアルキルスルホン酸⁹⁾: 次に、クロプロマジンについてプロパンスルホン酸との間のイオンペア形成についても検討した。有機相 (シクロヘキサン) に *n*-ヘキサノールが存在するときには見かけの分配率 ($PC_{obs.}$) の pH-profile は複雑な結果を示したが、これらの分配現象についても化学量論的解析を行った。

3. 溶解補助作用

溶液製剤においては基本的な溶剤は水である。溶解補助作用剤については製剤学の教科書には幾つかの例が挙げられているが、これらはその薬物に特有の添加剤であり、一般には当てはまらない。溶解性が向上するということは薬物と溶解補助剤との間に何らかの相互作用があるからである。化学構造が複雑な薬物と配合物質との場合、1つの力だけでは単純に説明が付かないことがほとんどである。各種の結合力が複雑に絡み合っ、エネルギー的に最も安定した状態で会合が起こるものと考えられる。現状においては溶解補助作用についてはまだまだ一般的に論じることができない。今後、各論的な研究が積み重ねられなければならないと思われる。

3-1. アミノフィリン.¹⁰⁾ (水素結合の関与するイオン結合) テオフィリン (TP) は溶解度が低い (1g を溶かすのに 120 ml の水が必要とする) ので、注射液など可溶化を図る必要のあるときは、エチレンジアミン (ED) を TP : ED の分子比が 2 : 1 の割合に含むアミノフィリン (AP) (1g が 5 ml の水に溶ける) の形で用いられる。しかし、その可溶化の機構は知られておらず、書物によれば AP が 2 : 1 の単純な塩であるかのように記載されているものもある。

Fig. 4 は ED の添加による TP 並びに化学構造が類似している hypoxanthine の溶解度増加を示す (実線 1 及び 3)。しかしながら、塩基性物質である ED の添加により液の pH は上昇し、弱酸である TP の溶解度はこれによって増加する。この pH 変化による増加量を計算により求めたのが 2 及び 4 の点線である。したがって、1 と 2 及び 3 と 4 との差が ED の添加による正味の可溶化量と見なせる。この可溶化量を

Fig. 4. Apparent and Calculated Solubilities of Theophylline and Hypoxanthine in the Presence of Ethylenediamine

—, apparent solubility; ---, calculated solubility.

1 and 2, theophylline; 3 and 4, hypoxanthine.

Fig. 5. (A) Relationship between Square of Refractive Index and Molar Ratio of Theophylline and Ethylenediamine and (B) Ternary Phase Diagram for Theophylline-Ethylenediamine-Water System

2:1 の可溶性コンプレックスの生成によるものとして生成定数を求めようとしたが一定の値を得ることが出来なかった。しかし、1:1 の会合体を形成するとして計算すると、ほぼ一定の値を得ることができた。

Fig. 5 (A) は TP と ED との溶液におけるモル比と屈折率との関係である。この連続変化法の結果からも、両者が 1:1 の比で相互作用をもつことが示唆される。Fig. 5 (B) は TP, ED 及び水の三成分系の平衡相図である。ここで、tie line が集中している右下の P 点は TP:ED:水の分子比が 1:1:1 の点である。これらの結果から、AP はその組成のように 2:1 のコンプレックスの生成によるものでなく、1:1 の水溶性会合体の生成により TP が可溶化されたものと結論した。また、赤外吸収 (IR) スペクトルによる検討の結果、TP の 6 位のカルボニル基には水素結合が起こっていることが示唆された。したがって、AP の化学構造を単純に 2:1 の塩のように表現することは不適当であると考えられる。

3-2. アミノピリンによる安息香酸などの可溶化¹¹⁾ (電荷移動が関与する場合) アミノピリンと安息香酸又はサリチル酸とを混合研和すると液化が起こり、同時に黄色に着色する。このことはいわゆる配合禁忌として古典的な調剤学において既に知られていた。また、アミノピリンは安息香酸やサリチル酸を可溶化することも知られていたがその機構については明らかでなかった。

Fig. 6 はアミノピリンの存在による安息香酸及びサリチル酸の溶解度の増加を実線で示す。しかしながら、アミノピリンの存在により溶液の pH は上昇し、当然弱酸の溶解度は増加する。計算により求めた pH の変化に基づく安息香酸などの溶解度増加を点線で示す。前節の AP の場合と同様、両者の差が分子間相互作用による正味の溶解度の増加とみなせる。これらのデータを用いて 1:1 のコンプレックスの生成定数を求めたところほぼ一定の値が得られた。また、連続変化法による屈折率の変化を検討したが、その結果も 1:1 の分子比をもって相互作用が起こっていることを示した。

Fig. 7 は安息香酸、サリチル酸とアミノピリン及びこれらの共存時のスペクトルを示す。アミノピリンの共存により新たに生じた近紫外部におけるスペクトル (点線 D 及び G で示す) は電荷移動相互作用に基づくものと思われる。なお、ピラゾロン誘導体に電子供与性のあることについては岡野・上釜らの一連の研究¹²⁾がある。

Fig. 6. Solubilization of Benzoic Acid and Salicylic Acid by Aminopyrine

—, Solubility curve of acid in the presence of aminopyrine; ---, calculated solubility values of acid at found pH.

1, Solubility of aminopyrine in water at 25°C.

2, Found solubility of aminopyrine in the mixed systems at 25°C.

Fig. 7. Absorption Spectra of Mixtures of Aminopyrine and Acids

A, benzoic acid (0.02 M); B, aminopyrine (0.25 M); C, benzoic acid (0.02 M)+aminopyrine (0.25 M); D, C when B was used as reference; E, salicylic acid (0.02 M); F, aminopyrine (0.25 M); G, salicylic acid (0.02 M)+aminopyrine (0.25 M); H, G when F was used as reference.

3-3. 抱水クロラルによるバルビタール類の可溶化¹³⁾ (水素イオン結合) Fig. 8 (A) は抱水クロラルの存在によるフェノバルビタールの溶解度増加を示す。このような上向きの曲線を示す場合は分子比が 1:1 のものだけでなく、1:2 (フェノバルビタール:抱水クロラル) のコンプレックスの存在を示唆している。Fig. 8 (B) は Higuchi らの解析法¹⁴⁾に従ったプロットで、良好な直線を示している。このような結果を解析して 1:1 及び 1:2 のコンプレックスの生成定数を求めることが出来た。また、IR 及び核磁気共鳴 (NMR) スペクトル変化も両者の結合は水素結合によるものであることを裏付けている。

Fig. 8. (A) Solubility Diagram of Phenobarbital in the Presence of Chloral Hydrate in Water at 25°C (B) Analysis of the Solubility Data for the Interaction of Phenobarbital with Chloral Hydrate in Water at 25°C

See the Eq. 8 of Higuchi, *et al.*'s study.¹⁴⁾

4. 薬物の水相-ミセル相分配

薬物の溶解度が十分でない場合、まず考えることは界面活性剤による可溶化である。実際製剤では脂溶性ビタミンの液剤や注射剤において行われている。しかし、界面活性剤による可溶化現象を化学構造と関連づけて化学量論的に取扱った研究は少ない。そこで、活性剤として非イオン性の polyoxyethyleneglycol laurylether (PLE, Brij 35) を主として用い、各種薬物の化学構造と被可溶化能との関係を定量的に研究した。

可溶化の定量的な実験法には溶解度法、電位差滴定法、平衡透析法、動的透析法、分子篩法及び反応速度法などがある。また、可溶化現象を化学量論的に取り扱うには吸着現象として Langmuir 式 (又は Freundlich 式) による方法と水相-ミセル相間の分配として扱う方法とがある。筆者らは各種の実験方法並びに定量的取扱いについても比較検討を行った。

4-1. バルビタール類の Brij 35 ミセルへの分配¹⁵⁾ 各種のバルビタール類のデータについて Langmuir 及び Freundlich プロットしたところいずれも良好な直線関係が得られた。また、実験の範囲内では分配現象としても取扱えることが分かった。

Fig. 9 はフェノバルビタールの場合について各種の実験方法によって得られた値を Langmuir プロットしたものである。いずれの方法による結果も良く 1 つの直線上にあり、各種の実験方法の妥当性を示している。ここで C はミセルに取り込まれていない水相の薬物濃度 ($\mu\text{g/ml}$), S は PLE 量 (g), d_m は可溶化された薬物量 (μg) である。

Fig. 10 はバルビタール類の 2 つの側鎖の炭素数の和と水-ミセル相間の分配率 (K) 及び Taft の置換基定数, σ^* との関係を示したものである。ここで, ρ^* は直線関係が得られるよう最小二乗法により見積もった値である。図に見られるように良好な直線関係を示す。この直線の傾きから求めたメチレン基 1 個当たりの水相からミセル相への移動に伴う自由エネルギー変化, ΔE_c は Table I に示すように -458 cal/C という値が得られた。この値は他の研究において報告されている水相から有機相への移動に伴う値^{16,17)}と比較すると小さい。このことは可溶化された置換基のミセル内での位置の極性が完全な有機相よりも大きいことを示唆している。また, Mukerjee らの示している脂肪酸の polyoxyethylene ether ミセルにおけるメチレン基 1 個が水相からミセル相に移行する際

Fig. 9. Langmuir Type Plot of the Results Obtained by Various Methods on Solubilization of Phenobarbital by PLE at 25°C

○, potentiometric titration; ●, equilibrium dialysis; △, dynamic dialysis; □, molecular sieve method.

Fig. 10. Relationship between Number of Carbon Atoms of Substituted Groups and $\log K - \rho^* \Sigma \sigma^*$
1—8, number in Table I; 9, probarbitol.

TABLE I. Comparison of Constants Concerning Partition of Barbiturates

Phases partitioned	$\log K_0$	ρ^*	δ	ΔE_c (cal/C)	Ref.
H ₂ O-PLE micelle	-0.65	-1.55	0.330	-458	This study
H ₂ O-isopentylacetate	-1.37	-2.06	0.392	-540	16)
H ₂ O-CHCl ₃	-2.78	-3.44	0.465	-640	16)
H ₂ O-CCl ₄	-3.85	-2.72	0.438	-605	16)
H ₂ O-isooctate+CHCl ₃ (Vol. ratio 40 : 60)	-4.35	-5.38	0.546	-755	17)

の自由エネルギー変化, $-650 \sim -720 \text{ cal/C}^{18)}$ よりも小さい。このことから、バルビタールの取り込まれた位置はミセルの中心部でなく、より極性の高い polyoxyethylene 相にあるものと推察される。

4-2. 安息香酸誘導体のミセル相への分配¹⁹⁾

各種安息香酸誘導体について、まず水-PLE ミセル間の分配係数, K と水に対する溶解度, S_a との関係を検討した。一般に S_a が小さいほど良くミセル相に分配する傾向が認められた。

Fig. 11 は K と水相-オクタノール相間の分配率, P_{octanol} との関係を示す。ここでは4つの直線群が存在する。すなわち、①大多数の安息香酸誘導体 (Fig. 11 の 1—22), ② NO_2 , CN 置換安息香酸 (23—27), ③ジカルボン酸 (28—30) 及び④図では点線で示されたサリチル酸誘導体 (実際には5個の誘導体の値から求められている) である。

これらの直線群はどのように説明できるであろうか。Hansch らは種々の化合物について水-オクタノール系及び水-(各種の)有機溶媒系の分配率 (それぞれ P_{octanol} 及び P_{solvent}) の間には (2) 式

Fig. 11. Relationship between $\log P_{\text{octanol}}$ and $\log K$ for the Benzoic Acids

に示すような関係の存在を報告している。²⁰⁾ そして、水をより多く含む得る有機溶媒ほど大きな b 値を持っていることを示した。

$$\log P_{\text{solvent}} = \log P_{\text{octanol}} + b \quad (2)$$

一方、安息香酸誘導体について水相-エーテル相の分配率と水相-オクタノール相の分配率の関係を見たが、Fig. 11 のような複雑な関係は存在せず、単純な直線関係が得られただけである。これらのことを総合して考えると、Fig. 11 にみられた 4 つのグループにおいては、③>②>①>④の順に、より水分子を多く含有するポリオキシエチレン基のより外側の相に位置しているものと推察することができる。

4-3. ステロイドホルモンのミセル相への分配²¹⁾ 次にステロイド骨格をもつ各種ホルモンについて 4-2. の場合と同様の検討を行った。その結果、Fig. 12 に示すような関係が得られた。興味あるのは F を含むステロイドではこれを含まないものと全く異なった直線上にあることである。Fig. 11 に見られた直線群と同様に解釈すれば、F を有するステロイド剤はミセル中で、より外側の polyoxyethylene 相に位置していると考えられる。事実、F 置換体では紫外線 (UV) 吸収が可溶化されてもそのピークが水溶液中とほとんど変わらないのに対し、非 F 置換体では可溶化によりピークが短波長側に顕著にシフトすることが認められた。

4-4. テトラサイクリン類のミセル相への分配²²⁾ テトラサイクリン類は Fig. 13 に示す複雑な構造をもつので、水相-ミセル相間の分配係数と pH との関係は複雑である。実験の範囲では、陽イオン型と双性イオン型分子種の分配係数 (それぞれ K_0 及び K_z) を考慮して導い

Fig. 12. Relationship between K and P_{octanol}

Numbers refer to the steroids listed. Open circle represents the steroids carrying a fluorine atom at carbon 9.

Closed circle represents the steroids carrying no fluorine atom.

Three or four functional groups associated with macroscopic dissociation constants of tetracycline derivatives

tetracycline :

$R_1 = H, R_2 = CH_3, R_3 = OH, R_4 = H$

oxytetracycline :

$R_1 = H, R_2 = CH_3, R_3 = OH, R_4 = OH$

chlortetracycline :

$R_1 = Cl, R_2 = CH_3, R_3 = OH, R_4 = H$

minocycline :

$R_1 = N(CH_3)_2, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = H$

Fig. 13. Relationship between $K_{\text{app}}[(H^+)_{\text{w}} + K_1]$ and $(H^+)_{\text{w}}$ in PLE Solution

○, tetracycline; △, oxytetracycline; □, chlortetracycline.

た化学量論式 (3) によく合致することが認められた (Fig. 13).

$$K_{app}[(H^+)_w + K_1] = K_c(H^+)_w + K_1K_z \quad (3)$$

ここで, K_{app} はみかけの分配率, K_1 はテトラサイクリンの解離定数, $[H^+]_w$ は水相の水素イオン濃度である.

4-5. プロカインのミセル相への分配と加水分解²⁸⁾ Fig. 14 はプロカインを *n*-ドデシルベタイン (NDB), PLE, セチルトリメチルアンモニウムブロマイド (CTAB) 及びラウリル硫酸ナトリウム (SLS) により可溶化した場合の加水分解速度の pH-profile である. これらの結果は Fendler らの示す結果²⁴⁾と同様である. また, これらの曲線についても遊離のプロカインのみがミセル相に分配し, 可溶化された薬物は分解をうけないとした Mitchell らの化学量論的な反応速度式の解析法²⁵⁾に良く合致することが認められた.

5. シクロデキストリンによる薬物の包接化と安定性

現在では薬物の溶解度増加をはかる場合, 薬物分子の大きさが適当であればシクロデキストリン (CyD) による可溶化を検討することは常道にまでなっている. しかしながら, 当研究室において上釜兼人や小田切優樹 (いずれも現在熊本大学教授) が研究を始めた 1970 年代の当初においては CyD の生体適応性も明らかでなく, 高価でもあった. その後 CyD は量産されるようになり, 食品添加物としての用途も拓かれ, 現在では我国は CyD の医薬品製剤への応用面では世界の先端を行っているといってもよい. 当研究室と共同研究を行った小野薬品工業 (株) の稲葉光治らはプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ の注射剤に CyD を可溶化・安定剤として用い, その有用性を認めて市販の製剤化に成功した. これに対して日本薬学会の製剤技術賞が授与された.

当研究室で CyD による包接研究の対象としたものには, methylcyclohexanon,²⁶⁾ メフェナム酸誘導体,²⁷⁻²⁹⁾ フェノチアジン系薬物,³⁰⁾ cinnamic acids,^{31,32)} バルビタール類,^{33,34)} プロスタグランジン類,³⁵⁻³⁷⁾ サルファ剤,³⁸⁾ サリチル酸フェニル³⁹⁾及びジギトキシン⁴⁰⁾などがある. しかし, ここでは包接による薬物の安定性に対する影響についてのみ述べることにする.

ジゴキシンは Chart 1 に示すような複雑な過程を経て digoxigenin を生成する. Fig. 15 に示すように, β -CyD(C) 並びに γ -CyD(D) の存在により顕著に digoxigenin の出現を遅らせる.⁴⁰⁾ この

Fig. 14. The Rate-pH Profiles of Procaine Hydrolysis in Nonmicellar (○), NDB (○), PLE (●), CTAB (△) and SLS (▲) Solutions at 40°C. The surfactant concentration is 3.33×10^{-2} M throughout.

Chart 1

Fig. 15. Time-Conversion Profiles of Digoxin Species Present in Digoxin Solution at pH 1.66, 37°C

(A) digoxin alone, (B) digoxin- α -CyD system, (C) digoxin- β -CyD system, (D) digoxin- γ -CyD system. ■, digoxin; □, digoxigenin bisdigitoxoside; ○, digoxigenin monodigitoxoside; ●, digoxigenin. Curves were traced by the computer using the individual rate constants listed.

図に示した実線は Chart 1 に示した機構に基づいた analog computer を用いた計算により得られた曲線である。

しかしながら、包接による薬物の安定性への影響は一般には複雑である。筆者らは各種置換基をもつ ethyl cinnamate の加水分解における CyD による包接の影響について検討した。³²⁾ 包接された cinnamate の加水分解速度と CyD 無添加の場合の速度について Hammett plot したところ、包接されたものでは置換基による静電的効果は水溶液中のそれよりも顕著であることが分かった。これは CyD 空洞内の疎水性によるもので、いわゆる microsolvent 効果であると考えられる。また、cinnamate の場合には CyD の水酸基が加水分解の官能基として働いていることが示唆された。また、phenyl salicylate の加水分解においては中間体として CyD の acyl 化体、cyclodextrine salicylate の存在が認められた。³⁹⁾

6. ヒト血清アルブミンの可溶化剤としての利用と薬物の安定性

筆者らはそれまで必ずしも明らかでなかったヒト血清アルブミン (HSA) の脂肪酸エステルやリン酸エステルなどに対する酵素類似作用について、その基礎的な研究を行い、活性の存在とその特性を明らかにした。さらにこの活性が薬物との結合により抑制される現象を利用して、薬物-HSA の結合位置 (酵素的活性のサイトでもある) に関する一連の研究を展開した。その結果については既に本誌に総説として収載されている。⁴¹⁾

HSA は endogeneous な水溶性のタンパクであり生体適合性においては問題がないと思われる。また、薬物と結合することは良く知られており、製剤学的にみれば注射剤や輸液において可溶化剤として用いることは当然考えられることである。HSA のような大きな分子と結合すれば薬物の安定化が期待できるが、HSA が酵素的活性をもつとすれば、これの薬物の安定性に対する影響が問題となる。また、アルブミン製剤が頻繁に用いられる現在、これに他の薬物を配合した場合のことも問題である。さらに、HSA の酵素的活性が血液中における薬物の代謝にどの程度関与するかも問題である。

ここでは HSA の可溶化剤としての利用並びに薬物の安定性に及ぼす影響についてのみ述べるこ

ととする。

6-1. プロスタサイクリン⁴²⁾ Fig. 16 はプロスタサイクリン (PGI_2) の加水分解速度に対する HSA の影響を示す。図にみられるように HSA により PGI_2 の加水分解速度は著しく抑制される。比較のため β -CyD を添加した場合の抑制状態をも示す。

6-2. Gabexate Mesilate⁴⁸⁾ Gabexate mesilate (GM) は HSA の存在により加水分解が顕著に促進される。Fig. 17 は GM 自体の加水分解速度 (k_0 , ○ で示す) と HSA との会合体である Michaelis-Menten complex の加水分解速度 (k_2 , ● で示す) の pH-profile である。

Fig. 16. Effects of HSA and β -CyD on Hydrolysis Rate of PGI_2

●, HSA, pH 7.35 phosphate buffer ($\mu=0.23$) at 25°C , $[\text{PGI}_2]_0=2.84\times 10^{-4}\text{ M}$; ○, β -CyD, pH 7.0 phosphate buffer ($\mu=0.20$) at 15°C , $[\text{PGI}_2]_0=3.0\times 10^{-4}\text{ (M)}$.

Fig. 18. The Relationship between the Residual HSA Activity (A/A_0) and the Number of Histidine Residues Modified by DEP (m)

HSA, $5.0\times 10^{-5}\text{ M}$; GM, $1.0\times 10^{-5}\text{ M}$; pH 7.4, I.S. 0.2, ethanol 0.5% and 25°C . ○, experimental data; solid line, calculated by Eq. 3 with $n=16$, $p=i=1$ and $\alpha=0.068$; dotted line, calculated with $n=16$, $p=2$, $i=1$ and $\alpha=0.049$.

Fig. 17. pH Dependence of $\log k_0$, $\log k_2$ and $\log K_s$ for the Degradation of GM at 25°C

○, $\log k_0$; ●, $\log k_2$; ■, $\log K_s$. GM, gabexate mesilate.

Fig. 19. The Degradation of GM in HSA (○), in Intact Plasma (△) and in Dialyzed Plasma (●) at 25°C

GM: $1.0\times 10^{-4}\text{ M}$. The albumin concentrations are all $5.8\times 10^{-4}\text{ M}$. pH of the plasma was adjusted to that of the HSA solution (pH 7.4).

ここで, ■ は complex の解離定数, K_s を示す.

この場合 HSA のヒスチジン残基 (His, HSA の 1 分子あたり 16 個が存在する) が酵素的活性に関与していることが分かった. Fig. 18 は DEP により His を修飾した場合の修飾された His 数, m と残存する酵素的活性との関係を示す. なお, この修飾残基を取り除くと活性は回復する.

また血中には数多くのエステラーゼが存在し, 一般の薬物においては HSA の酵素的活性の寄与はさほど顕著でない. しかし, GM の場合には血液中における GM の分解において HSA の寄与が約 40% にも及ぶことが分かった. この結果は当研究室において検討したもののうち HSA の活性が薬物の血中での代謝に対して有意な大きさをもつことが認められた唯一の例である. Fig. 19 はこれを裏付ける実験結果である.

6-3. Meclofenoxate⁴⁴⁾ Meclofenoxate (MFX) は分子型とカチオン型とがそれぞれの加水分解速度をもつ. HSA の存在により酸性側では分解の促進が, アルカリ側では分解の抑制がみられた. これらの現象に対して Michaelis-Menten 機構に基づく反応速度論的解析を行った.

6-4. 4'-Methylumbelliferyl 4-Guanidinobenzoate⁴⁵⁾ 4'-Methylumbelliferyl 4-guanidinobenzoate (MUGB) の加水分解速度に対する HSA の影響について反応速度的パラメータの解析を前 2 例と同様に行った. この場合にも, GM の場合と同様, 酵素的活性の官能基として His 残基が関与することが明らかとなった.

6-5. 光分解に対する抑制効果⁴⁴⁾ Fig. 20 はアルドース還元酵素抑制剤, ONO-2235 に対する, HSA の光分解抑制効果を示す. HSA は紫外部に強い吸収をもつので, この例のように光分解に対する抑制効果を一般的にもつものと思われる. また, HSA はこの薬物に対して顕著な可溶化効果を示した.

7. リポゾーム製剤

リポゾームの製剤への応用については極めて多くの研究が展開されている. 我々はビタミン K_1 の経口投与剤形としてリポゾーム製剤とすることが極めて有用であることを認めた.⁴⁷⁾ ビ

Fig. 20. First-Order Plots for the Photo-Decomposition of ONO-2235 Irradiated with a UVL-100H Lamp at 21–27°C in 0.067 M Phosphate Buffer, pH 7.4 ($\mu=0.2$ with NaCl)

○, 2.00×10^{-5} M ONO-2235 (determined by HPLC method); ●, 2.50×10^{-5} M ONO-2235 (determined by UV method); ▲, 2.50×10^{-5} M ONO-2235 + 1.25×10^{-4} M HSA (determined by the UV method).

Fig. 21. Effects of Various Vitamin K_1 Administrations on TPCA60

○, spontaneous recovery; ●, i.v. injection; □, liposomal preparation; ■, plain emulsion; ▲, mixture of plain emulsion and empty liposomes; ▲, HCO-60 stabilized emulsion and △, HCO-60 solubilized solution. Each point indicates the mean and S.D. for 4 to 6 rabbits.

タミン K₁ の投与については注射剤とした場合の事故など問題が多く、安全で有効な経口投与製剤の開発が望まれていた。

Fig. 21 は家兎におけるリポゾーム製剤投与の場合の結果を示したものである。薬理学的効果についてはワルファリンを用いた家兎の低プロトロンビン血症モデルにおけるプロトロンビン活性の 60% 回復時間 (TPCA 60) で評価した。比較のため、静注時 (● 印), リポゾーム製剤 (○), HCO-60 で乳化した乳剤 (▲), 及び HCO-60 で可溶化した製剤 (△) などの場合の結果を示す。図に示すように、リポゾーム製剤では静注に匹敵するような結果が得られた。このようなビタミン K₁ の吸収性の向上には消化管内における胆汁酸塩が大きく関与しているものと思われる。

8. おわりに

我々が製剤学の研究を始めた頃はこの領域の研究はいわば創世期にあたり、暗中模索的に研究を始めて今日まできた。医薬品製剤の一般的な溶媒である水中での溶質の挙動についてはまだまだ知られていないことが多い。今日でも教科書に溶解補助剤として例示されているものは 40 年前と同じものである。今後の各論的な研究の進展に大いに期待する所以である。

最後に故野上 寿教授及び故 Takeru Higuchi 教授を始め、ご指導いただいた先生方並びに研究に協力いただいた諸氏に深く感謝申し上げる。

引用文献

- 1) L. J. Edwards, *Trans. Faraday Soc.*, **46**, 723 (1950).
- 2) E. R. Alexander, "Principle of Ionic Organic Reactions," John Wiley & Sons, New York, 1950.
- 3) J. Hasegawa, K. Ikeda, T. Matsuzawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **6**, 36 (1958).
- 4) K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **8**, 504 (1960).
- 5) 長谷川 淳, 池田 憲, 薬誌, **75**, 359 (1955).
- 6) K. Ikeda, *Pharm. Bull.*, **5**, 101 (1957).
- 7) T. Higuchi, A. F. Michaelis, T. Tan, A. Hurwitz, *Anal. Chem.*, **39**, 974 (1967).
- 8) K. Uekama, Y. Chiba, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 560 (1974).
- 9) 田中紀久代, 上釜兼人, 四柳智久, 池田 憲, 薬誌, **98**, 1236 (1978).
- 10) T. Okano, K. Aita, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1621 (1967).
- 11) T. Okano, K. Uekama, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 6 (1968).
- 12) a) 岡野定輔, 上釜兼人, 薬誌, **87**, 1232 (1967); b) 岡野定輔, 上釜兼人, 伊沢 優, *ibid.*, **87**, 1237 (1967); c) 岡野定輔, 山崎佳弘, 上釜兼人, *ibid.*, **89**, 44 (1969).
- 13) M. Otagiri, K. Uekama, K. Ikeda, S. Onodera, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3228 (1975).
- 14) T. Higuchi, H. Kristiansen, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 1601 (1970).
- 15) K. Ikeda, K. Kato, T. Tsukamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **19**, 2510 (1971).
- 16) K. Kakemi, T. Arita, R. Hori, R. Konishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1705 (1967).
- 17) D. J. Lamb, L. E. Harris, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **49**, 583 (1960).
- 18) P. Mukerjee, *Advan. Colloid Interface Sci.*, **1**, 263 (1967).
- 19) H. Tomida, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2824 (1978).
- 20) A. Keo, C. Hansch, *J. Org. Chem.*, **36**, 1539 (1971).
- 21) H. Tomida, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2832 (1978).
- 22) K. Ikeda, H. Tomida, T. Yotsuyanagi, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 1067 (1977).
- 23) H. Tomida, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 148 (1978).

- 24) J. H. Fendler, E. F. Fendler, "Catalysis in Micellar and Macromolecular System," Academic Press, New York, 1975.
- 25) A. G. Mitchell, J. H. Broadhead, *J. Pharm. Sci.*, **56**, 1261 (1967).
- 26) M. Otagiri, K. Ikeda, K. Uekama, O. Ito, M. Hatano, *Chem. Lett.*, **1974**, 679.
- 27) K. Ikeda, K. Uekama, M. Otagiri, M. Hatano, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 1168 (1974).
- 28) K. Ikeda, K. Uekama, M. Otagiri, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 201 (1975).
- 29) M. Otagiri, J. H. Perrin, K. Uekama, K. Ikeda, K. Takeo, *Pharm. Acta Helv.*, **1976**, 343.
- 30) M. Otagiri, K. Uekama, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 188 (1975).
- 31) K. Uekama, M. Otagiri, Y. Kanie, S. Tanaka, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 1421 (1975).
- 32) S. Tanaka, K. Uekama, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 2825 (1976).
- 33) M. Otagiri, T. Miyaji, K. Uekama, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1146 (1976).
- 34) T. Miyaji, Y. Kurono, K. Uekama, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1155 (1976).
- 35) K. Uekama, F. Hirayama, K. Ikeda, K. Inaba, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 706 (1977).
- 36) K. Uekama, F. Hirayama, S. Yamasaki, M. Otagiri, K. Ikeda, *Chem. Lett.*, **1977**, 1389.
- 37) K. Uekama, F. Hirayama, Y. Yamada, K. Inaba, M. Otagiri, K. Ikeda, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1059 (1979).
- 38) K. Uekama, F. Hirayama, M. Otagiri, Y. Otagiri, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 1162 (1978).
- 39) Y. Kurono, H. Fukatsu, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 963 (1979).
- 40) K. Uekama, T. Fujinaga, F. Hirayama, M. Otagiri, Y. Kurono, K. Ikeda, *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 627 (1982).
- 41) 池田 憲, 黒野幸久, 薬誌, **106**, 841 (1986).
- 42) Y. Kurono, N. Ohta, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2635 (1982).
- 43) N. Ohta, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Int. J. Pharm.*, **29**, 137 (1986).
- 44) N. Ohta, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2585 (1986).
- 45) N. Ohta, T. Yotsuyanagi, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2152 (1988).
- 46) Y. Kurono, A. Furukawa, Y. Takesue, F. Li, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3045 (1987).
- 47) a) M. Nagata, T. Yotsuyanagi, M. Nonomura, K. Ikeda, *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 527 (1984); b) T. Yotsuyanagi, M. Nagata, K. Ikeda, "Liposomes as Drug Carriers," ed. by G. Gregoriadis, John Wiley & Sons Ltd., 1988, pp. 621—634.