

<令和2年度助成>

印刷工学技術による機能性コアシェル微粒子設計を活用した 新規食品加工技術の開発

佐藤 秀行

(静岡県立大学 薬学部 薬剤学分野)

背景・目的

Fine droplet drying (FDD) 工法は、印刷工学技術を応用した微粒子設計技術であり、新しい微細液滴形成機構を備えた粒子設計技術として粒子設計への応用が強く期待されている。我々は、FDD 工法について検討を進める中で、液滴の乾燥工程において溶液中に、ある種のポリマーが複数種類存在することでポリマー同士が相分離を起こし、片方のポリマーが表面に局在化、つまりはワンステップでコアシェル型の粒子を形成するという極めてユニークな現象を見いだした。このような粒子は、表面に局在するポリマーの種類により、例えば pH 感受性ポリマーによる消化管内の部位特異的な化合物送達や苦味マスキング、粘膜付着性ポリマーによる吸収性制御、疎水性ポリマーコートによる保存安定性向上等、その応用可能性は極めて多岐にわたることが期待される。本研究では、その応用可能性を精査すべく FDD 工法にて難水溶性化合物を含有した 3 成分固体分散体製剤 (tSD: ternary solid dispersion) の調製を行い、保存安定性、溶解性、粘膜付着性および経口吸収性を評価した。今回用いる製剤化技術である非晶質固体分散体製剤 (ASD: Amorphous solid dispersion) は、薬剤の非晶質化に伴う高い自由エネルギーと分子レベルでの基剤中への分散によって薬剤の溶解性を改善する有効な手段であることが知られている。対象化合物には、機能性食品成分である (R)- α -lipoic acid (RLA) および難水溶性中分子化合物である cyclosporine A (CsA) を選択した。RLA については、鋭意検討を行った結果、粒子からの放出制御が極めて困難であったため、放出制御を達成した CsA につ

いて報告する。基剤には hydroxypropyl cellulose-SSL (HPC) および hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-HG (HPMCAS) を用い、腸溶性の HPMCAS を粒子表面に偏在させることで、保存安定性と溶解性の改善の両立、さらには粘膜付着性に起因する吸収部位における滞留性向上による化合物の経口吸収性の改善を試みた。

方法

CsA を含有した 3 成分 tSD (tSD/CsA) は、CsA (100 mg)、HPMCAS-HG (950 mg)、HPC-SSL (950 mg) を固形分 2% (w/w) となるように acetone に完全溶解させた後、FDD 工法にて粒子化を行い tSD/CsA を得た。また比較サンプルとして CsA と HPC-SSL から構成される 2 成分 ASD (ASD/CsA) を溶媒として 1,4-dioxane を使用して作成した。作成した粒子について物理科学的特性評価として、表面形態、粒度分布、保存安定性、溶出性、粘膜付着性を精査した。加えて、コアシェル粒子化が化合物の吸収動態に与える影響を評価するため、ラット経口投与後の血中濃度推移についてモニタリングした。

結果・考察

FDD 工法にて調製した tSD/CsA および ASD/CsA を SEM ならびにレーザー回折にて評価した (Figure 1)。SEM ならびにレーザー回折の結果から、両サンプルともに粒子径の均一性は高く、平均粒子径ならびに span factor は tSD/CsA で 3.4 μm および 0.4、ASD/CsA で 5.6 μm および 0.7 であった。一方、外観に

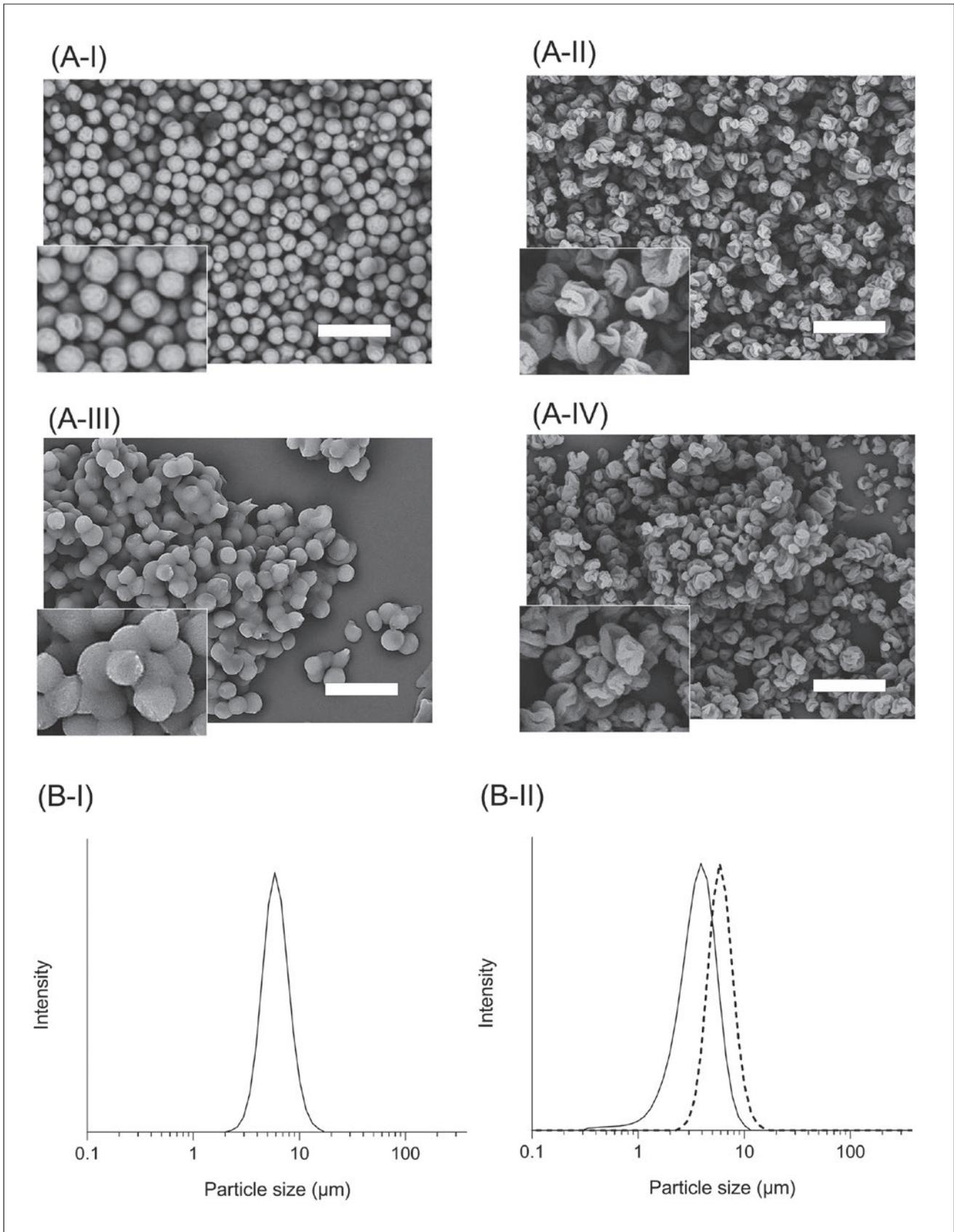


Figure 1 Appearance and particle size distribution. (A) SEM observations of CsA samples. (A-I) SD/CsA and (A-II) tSD/CsA. (A-III) and (A-IV) after storage at 40/75%RH for 1 week. White bars represent 15 μm. (B) Laser diffraction analysis of CsA samples to measure the particle size distribution. (B-I) SD/CsA and (B-II) tSD/CsA; Solid line, particle size distribution before storage; and dotted line, particle size distribution after storage at 40/75%RH for 1 week.

においては ASD/CsA が球形形状を有していたのに対し、tSD/CsA は表面に皺のある非球形形状であった (Figure 1A)。この形状の違いは溶媒の蒸気圧差に伴う乾燥速度差と基剤間の相分離による影響が考えられる。Acetone のように蒸発速度が速い溶媒を使用した場合、乾燥工程において液滴表面で基剤の析出に伴うシェルが急速に生成されることが考えられ、結果として乾燥初期に生じたシェルが乾燥に伴う体積収縮によって非球形形状化をもたらしたと思われる。非球形形状の場合、その高い表面積によって空気中の水分を吸着しやすい傾向があり保存安定性には不利に働く可能性があるが、HPMCAS-HG が tSD/CsA 表面に存在することで水分の吸湿性が抑制された場合、ASD/CsA と比較して高い保存安定性が期待される。実際に保存安定性試験を行った結果、熱湿度条件下にて保存後の ASD/CsA は SEM 画像に見られるような顕著な粒子間凝集を引き起こしており、圧縮空気により粒子を分散できずレーザー回折による粒子径分布の測定が出来なかったが、tSD/CsA の外観ならびに粒子径分布は保存後において顕著な変化は認めなかった。以上の結果から今回調製した tSD/CsA は ASD/CsA と比較して良好な保存安定性を有し、熱湿度条件下にて保存後も粉体特性に

優れる固体分散体であった。

Amorphous CsA、tSD/CsA、および ASD/CsA における CsA の溶出性を pH1.2 および pH6.8 の 2 種類の試験液を用いて評価した (Figure 2)。Amorphous CsA はいずれの pH 条件下においてもほとんど溶解が見られなかった。一方で、ASD/CsA および tSD/CsA は、pH1.2 溶液における試験開始 120 分時点での CsA 濃度は 7.1 および 0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、pH6.8 条件下での 360 分時点での CsA 濃度は 7.5 および 9.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、ASD/CsA では両 pH 条件において溶解性の改善が見られたのに対して tSD/CsA では pH1.2 条件では CsA の溶出がほとんど見られず、pH6.8 条件において CsA の高い溶解性の改善効果を示した (Figure 2)。この顕著な pH 応答性の溶出挙動の結果から推察すると、tSD/CsA 内部において HPMCAS-HG と HPC-SSL との間で相分離に起因する構造化が生じており、HPMCAS-HG が tSD/CsA の表面に局在する疑似的なカプセル構造を有している可能性が考えられる。

CsA サンプル懸濁液をムチンディスク上に塗布し、緩衝液中でインキュベートした後、ディスク上に残存した CsA 量を定量することで粘膜付着性を評価した。その結果、tSD 製剤は顕著に高い粘液付着特性

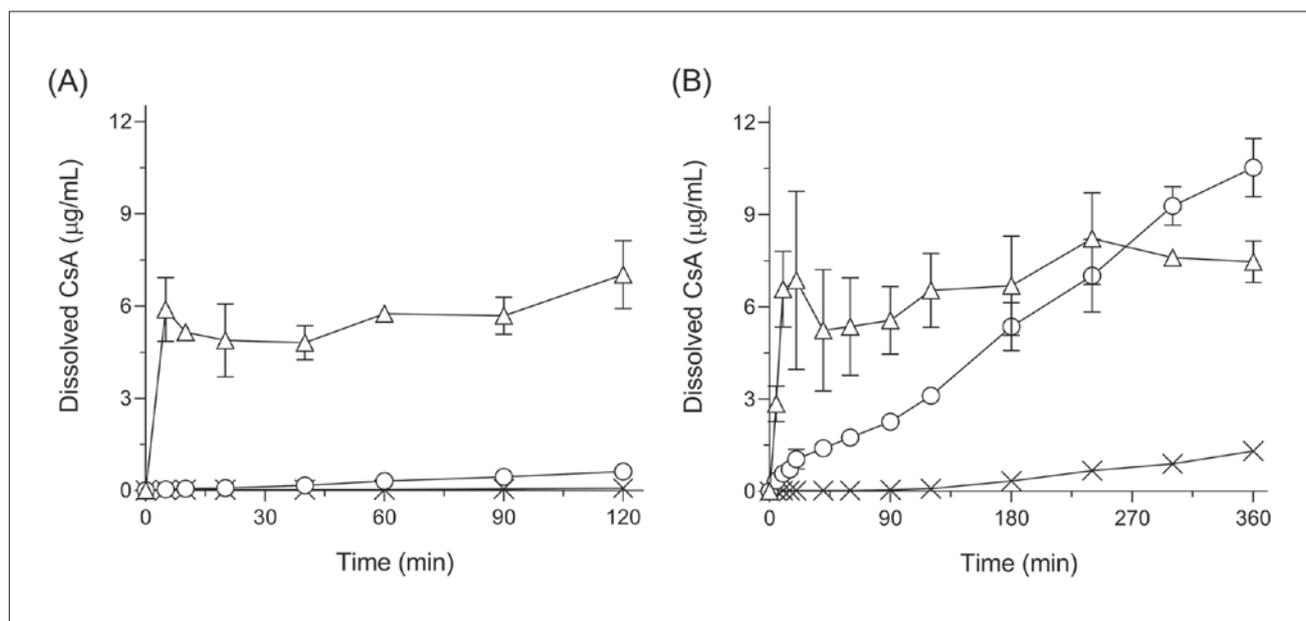


Figure 2 Dissolution behavior of CsA samples under (A) pH 1.2 and (B) pH 6.8 solutions. ×, amorphous CsA; ○, tSD/CsA; △, SD/CsA. Each bar represents mean \pm 5.E. of 3 independent experiments. distribution after storage at 40/75%RH for 1 week.

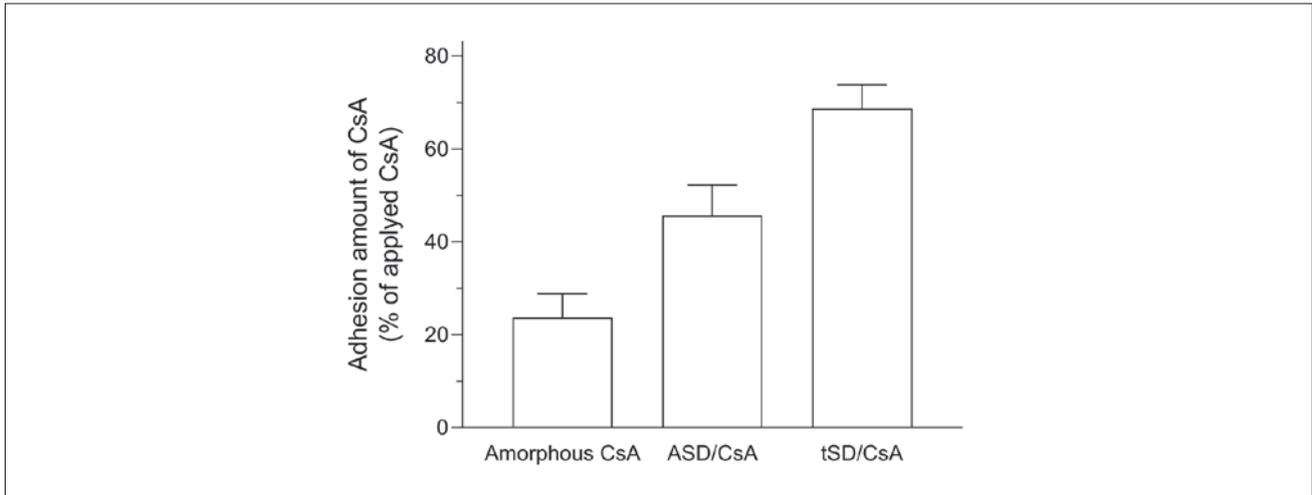


Figure 3 Mucoadhesive properties of CsA samples evaluated by mucin disc method. Each bar represents mean \pm S.E. of 3 independent experiments (n=3).

を示した (Figure 3)。ムチンは数百万の巨大な分子量を有する糖タンパクの混合物であり、主に硫酸基に結合したオリゴ糖残基量に依存した負帯電を示す。これらの特性から、使用した添加剤の有するヒドロキシル基やカルボニル基との間に形成される水素結合、疎水性相互作用や、分子鎖の物理的絡み合いなどの相互作用によって付着特性が発現したと考える。

各検体を経口投与後のCsAの血漿中濃度推移および C_{max} 、 AUC_{0-inf} 、生物学的利用能 (BA: Bioavailability)、平均滞留時間 (MRT) などの薬物動態パラメーターを Figure 4 と Table 1 にそれぞれ示す。Amorphous

CsA の C_{max} 、 AUC_{0-inf} および BA はそれぞれ 0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ および 0.7% であり経口吸収性が乏しかった。一方、ASD/CsA における CsA の C_{max} 、 AUC_{0-inf} および BA はそれぞれ 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.3 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ および 13%、tSD/CsA ではそれぞれ 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、14.5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ および 19% であった。このように2種類の固体分散体制剤は、amorphous CsA と比較して顕著に吸収性を改善し、BA での比較において ASD/CsA で 19 倍、tSD/CsA で 27 倍の改善が見られた。これらは、CsA の固体分散体化に伴う CsA の溶解性改善効果が反映された結果と考えられる。MRT を比較した場合 amorphous CsA は 5.9 時間で

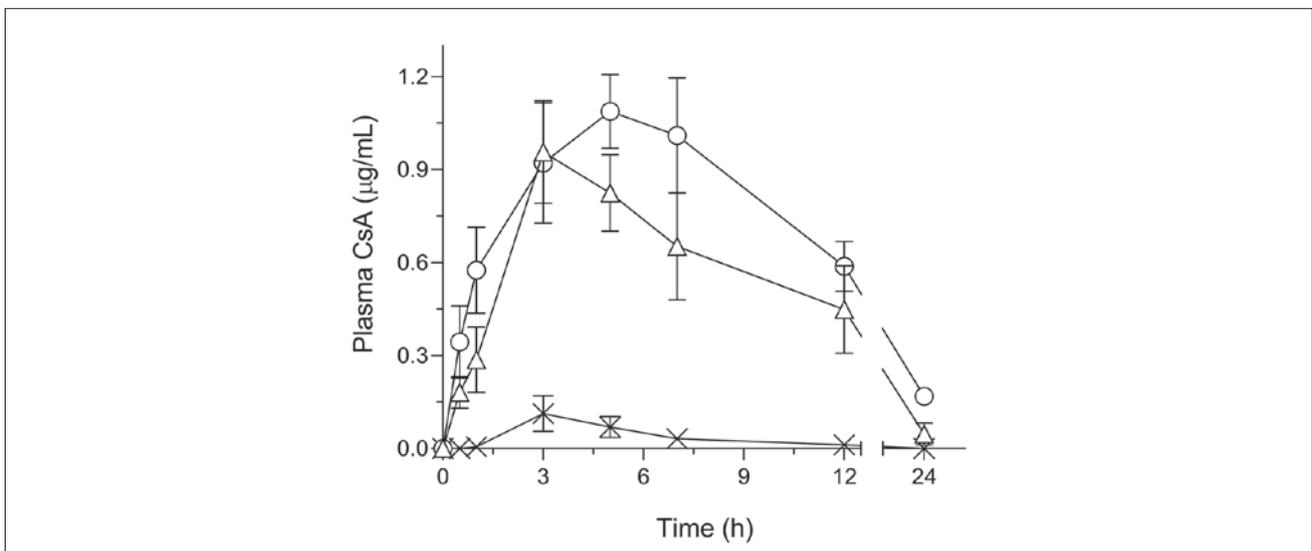


Figure 4 Oral absorption profile of CsA samples after oral administration (10 mg-CsA/kg, p.o.) in rats. \times , amorphous CsA; \circ , tSD/CsA; \triangle , SD/CsA. Each bar represents mean \pm S.E. of 5-6 independent experiments.

Table 1 Pharmacokinetic parameters of CsA in rats after oral administration of CsA samples.

	AUC _{0-inf.} (μg.h/mL)	BA (%)	MRT (h)
Amorphous CsA (10 mg/kg)	0.5 ± 0.2	0.7	5.9 ± 0.5
tSD/CsA (10 mg/kg)	14.5 ± 1.3	19	8.7 ± 0.3
ASD/CsA (10 mg/kg)	10.3 ± 1.9	13	7.5 ± 0.8

Data represent mean ± S.E. of 5 independent experiments. (n=5).

あったのに対して、ASD/CsA および tSD/CsA はそれぞれ 7.5 および 8.7 時間であり、tSD/CsA は ASD/CsA と比べても MRT の延長が認められた。これらの結果は、粘膜付着性結果ならびに溶解試験における tSD/CsA の放出プロファイルに起因していると考えられる。

以上、tSD/CsA はコア基剤である HPC による固体分散体化を反映した対象化合物の溶解性改善ならびにシェル基剤である HPMCAS-HG の基剤特性を反映することによって保存安定性と経口吸収性の改善を可能とし、FDD 工法によるコアシェル粒子開発の難水溶性化合物の薬物動態制御への応用可能性を明らかとした。以上より、本研究にて開発した手法は様々な難水溶性化合物への有用性を有すると考えられ、機能性食品成分や医薬成分への発展的応用、製品開発への貢献が期待される。

謝 辞

本研究は、公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団による研究助成により遂行された。ここに深く感謝いたします。

Development of a novel food processing technology by designing core-shell fine particles based on printing technology

Hideyuki SATO

Laboratory of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

Abstract

The present study aimed to clarify the applicability of the fine droplet drying (FDD) process, a novel powderization technology using an inkjet head, to strategic application for designing functional core-shell particles to control and improve the pharmacokinetic behavior of poorly water-soluble compounds. Hydroxypropyl cellulose (HPC) and hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate (HPMCAS) were selected as carrier materials for ternary solid dispersion (tSD). (R)- α -lipoic acid (RLA) and cyclosporine A (CsA) were selected as model compounds with poor water solubility. The physicochemical and pharmacokinetic properties of the prepared formulations were evaluated. Based on the results, it was found to be difficult to control the release kinetics of RLA using the present strategy. Accordingly, we focused primarily on an evaluation of tSD/CsA. The tSD/CsA comprised uniform shriveled particles with a mean diameter of 3.4 μm and span factor of 0.4, which are parameters for estimating the particle size distribution. Although HPC-based SD showed a severe aggregation of the particles after storage under 40°C/75% relative humidity for 1 week, there were no significant aggregation of tSD/CsA, possibly due to the relatively low hygroscopic property of HPMCAS. In the dissolution test, tSD/CsA could suppress drug release under pH 1.2, and gradually release the drug under pH 6.8, with an improved dissolution of CsA. In an in vitro mucoadhesive evaluation using a mucin disk, tSD/CsA exhibited a higher mucoadhesive property than HPC-based SD. Orally-dosed tSD/CsA in rats resulted in a significantly improved oral absorption of CsA, as evidenced by a 27-fold higher bioavailability relative to that of amorphous CsA, due to the improved dissolution and mucoadhesive properties of tSD/CsA. The FDD process could serve a promising strategy for the fine particle design of functional particles, to improve the biopharmaceutical properties of poorly water-soluble compounds.