

氏名(本籍)	伴野和夫(長野県)
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	乙 第54号
学位授与年月日	平成3年9月14日
学位授与の要件	学位規程第4条第2項該当者
学位論文の題名	各種シクロデキストリンとニトログリセリン及びエピネフリンとの相互作用並びに製剤化への応用に関する基礎的研究
論文審査委員	主査 教授 永井恒司 副査 教授 河内佐十 副査 教授 仲嶋正一

## 論文内容の要旨

シクロデキストリン(CyD)は環状オリゴ糖であり、分子内に疎水性の空洞を有する立体構造を持った単分子のホスト分子である。CyDは空洞内にゲスト分子を取り込み包接化合物を生成する。生成した包接化合物はゲスト分子の物理化学的性質を変化させるため、有機化学、食品化学、薬学などの分野で注目され、近年その利用に関する研究が数多く行われている。一方CyDそのものも各種誘導体が造られ、CyDの物理化学的性質の改善も検討されてきた。

本研究では天然に存在する $\beta$ -CyD及びこの誘導体(水溶性ポリマー(CDPS)、水不溶性ポリマー(CDPI)、ジメチル $\beta$ -シクロデキストリン(DM- $\beta$ -CyD)、グルコシル $\beta$ -シクロデキストリン( $G_1$ - $\beta$ -CyD)、マルトシル $\beta$ -CyD( $G_2$ - $\beta$ -CyD)等をホスト分子とし、ゲスト分子としてニトログリセリン(TNG)及びエピネフリン(Ep)を中心として、複合体の生成とそれら複合体の性質を明らかにするとともに、その薬剤学的応用について検討を行った。

### 1) 複合体の生成と確認

CyDをホスト分子として、複合体を生成するには溶解法、沈澱法、溶媒留去法、噴霧乾燥法、凍結乾燥法、粉碎法、混練法、密封加熱法などがある。また、これらの手法により得られた複合体の確認は溶解度の変化、熱分析、IR、NMR、X線回折等により行われる。

本研究ではTNGとの複合体の調製は溶媒留去法、粉碎法により行った。粉碎法では、粉碎時間の延長とともに複合体の生成量が増加し、加えられる機械的エネルギーの量と生成する複合体の量の間に正の相関関係のあることが示唆された。複合体の生成に要するエネルギーはCyDの種類によって異なり、 $\beta$ -CyDに比べてCDPSで1.5倍、CDPIで2.5倍のエネルギーが必要であった。 $G_2$ - $\beta$ -CyDの場合はCDPSやCDPIよりも $\beta$ -CyDに近い複合体の生成過程を示した。また、溶解度法により $\beta$ -CyD、CDPS及び $G_2$ - $\beta$ -CyD等とTNGとの溶解度相図を求めた。それぞれのCyDを添加することにより、TNGの飽和濃度を上回るTNG溶解度の上昇が見られ、複合体の生成を示唆した。また、各種 $\beta$ -CyDとの相図のタイプと相図の初期の直線部分から求めた見かけの安定度定数は $\beta$ -CyD=154( $B_2$ )、CDPS=26.25( $A_p$ )、 $G_2$ - $\beta$ -CyD=67.95( $A_1$ )であった。 $^1$ H-NMRの測

定ではTNGのケミカルシフトが観察され、TNGと $\beta$ -CyDが複合体を生成していることを確認した。溶媒留去法及び粉碎法によって得られた粉末について示差走査熱量測定を行った。その結果 $\beta$ -CyDとTNG複合体の吸熱ピークは $185^{\circ}$ であった。このことはTNGの気化温度が $185^{\circ}$ になったことを示しており、溶媒留去法、粉碎法で得られた粉末は複合体であることを示唆した。粉碎法、溶媒留去法で得たサンプルのIRを測定した結果、 $\beta$ -CyDとTNGのニトロエステル(C-O-N)部分が相互作用に関与していることを示唆する結果を得た。以上よりTNGと $\beta$ -CyD及びその誘導体は複合体を生成することを確認した。

各種CyDとEpの溶解度相図はすべてA<sub>N</sub>タイプを示した。初期の直線部分の傾きから求めた見かけの安定度定数は $\beta$ -CyD=236、G<sub>1</sub>- $\beta$ -CyD=21.6、G<sub>2</sub>- $\beta$ -CyD=20.7、 $\alpha$ -CyD=4.59、 $\gamma$ -CyD=6.33であり、複合体生成には $\beta$ -CyD類が優れていた。複合体について<sup>1</sup>H-NMRで検討したところ、 $\beta$ -CyD類の添加ではCyD環内へのEpの取り込みを示唆する結果を得た。これらの点からEpは $\beta$ -CyD類と複合体を生成することを確認した。特に $\beta$ -CyDと安定な複合体を生成した。

## 2) 薬品の安定化の検討

TNG揮散防止効果：溶媒留去法によって調製した $\beta$ -CyD、及びCDPSとTNGの複合体を $40^{\circ}$ 、 $50^{\circ}$ の条件で放置した時、それら複合体からのTNGの揮散は、対照とした多糖類プルランとの物理的混合物よりもはるかに揮散率は小さく揮散の防止効果が大きかった。また $50^{\circ}$ で、24時間放置したサンプルを3 mmHg $37^{\circ}$ の条件で保存したところTNGの減少率は $\beta$ -CyDよりCDPSの方が小さかった。G<sub>2</sub>- $\beta$ -CyDとTNG及び $\beta$ -CyDとTNGの複合体を $37^{\circ}$ 大気圧と $37^{\circ}$  2 mmHgの条件下に放置した。その結果、放置の初期においては $\beta$ -CyDとTNGの複合体からのTNGの揮散は速いが時間がたつとG<sub>2</sub>- $\beta$ -CyDとTNGの複合体とほぼ同じTNGの残存率を示した。対照の多糖類プルランとTNGの物理的混合物と比較して、 $\beta$ -CyDと同様にG<sub>2</sub>- $\beta$ -CyDもTNGの揮散防止に有効であることが示唆された。

光分解の検討：医薬品の光分解に対する安定化への $\beta$ -CyD及び $\beta$ -CyDの誘導体の影響の検討を行った。対象とした医薬品は、保存に遮光を必要とするTNGの他、局方医薬品から、ニフェジピン、ヒドロクロチアジド、フロセミド、塩酸ピリドキシン、酢酸レチノール、クロフィブラートを選択した。TNGは一般に考えられる様な速い分解は起こらなかった。また、固体状態の方が溶液状態より光分解は遅かった。固体状態と溶液状態では添加するCyDの影響が異なることが示された。また、CyDと医薬品の組合せにより光分解は抑制あるいは促進されることが示された。

エビネフリンの酸化の抑制：Epは極めて酸化されやすい化合物であり、Epと $\beta$ -CyD類の複合体が酸化に対してどのような効果があるかを検討した。Epの $40^{\circ}$ における水溶液中での酸化分解はG<sub>1</sub>- $\beta$ -CyD、G<sub>2</sub>- $\beta$ -CyDを添加すると単味のものと比較して酸化は同等か加速される傾向を示した。 $\beta$ -CyDの添加では強く酸化が抑制され、Epの酸化防止に有効であることが確認された。G<sub>1</sub>- $\beta$ -CyD、G<sub>2</sub>- $\beta$ -CyDの添加で酸化の抑制効果が見られないのは、安定度定数が $\beta$ -CyDに比べて小さいこと、CyD環とEpの位置関係が $\beta$ -CyDと異なること等が考えられた。

### 3) 製剤への応用

錠剤及び粉末からの溶出：実際に複合体を薬剤に応用する場合、その薬剤からの薬物の溶出性能は生物学的利用能に重要な影響を与えるので詳細な検討を行った。粉末からのTNGの溶出は $\beta$ -CyD、CDPI、CDPSの順にTNGの溶出が速かった。 $\beta$ -CyDは水に溶解し、CDPIは水に不溶であるが水中に速やかに分散した。しかし、CDPSは表面にゲルを生成し分散しにくく、さらに溶解にも時間を要した。TNGと $\beta$ -CyD、CDPS及びCDPIの複合体を結晶性セルロースを賦形剤として直打法により錠剤を調製し、それぞれの錠剤からのTNGの溶出を検討した。その結果、CDPIは速やかな溶出を示し、 $\beta$ -CyDとCDPSはほとんど同じ溶出を示した。これはCDPIが素早く崩壊したのに比べ $\beta$ -CyDとCDPSの錠剤は崩壊が遅かったためと考えられた。

軟膏剤への応用：冠状血管拡張薬である亜硝酸系薬品は近年多くの製剤研究がなされ、狭心症の治療薬として再び注目されている。TNGは舌下錠、パッチ型製剤、テープ製剤、及び軟膏剤等が開発され狭心症患者の発作の予防並びに治療に広く用いられている。TNGが狭心症の発作時の治療だけでなく発作の予防にも使用されることを考えると長時間の薬効の持続が必須と考えられる。そこで持続性の軟膏の開発を目的として $\beta$ -CyD及びCDPSとTNGの複合体の軟膏剤への利用を検討した。*in vitro*の実験ではTNGをCyDの複合体として軟膏に添加した場合、軟膏からのTNGの放出は市販のニトログリセリン軟膏（バソレーター軟膏<sup>®</sup>）に比較して遅延がみられた。特に $\beta$ -CyDとの複合体を添加した軟膏からのTNGの放出は強く抑制された。さらに家兎を用いた*in vivo*の実験を行った。TNGによる血管拡張作用で血圧の低下が生じるので、血圧低下の時間はTNGの作用時間の1つの指標と考えることができる。血圧測定の結果バソレーター軟膏<sup>®</sup>と比較して複合体を用いた軟膏は血圧の低下時間が延長した。特に $\beta$ -CyDとの複合体を適用したものは8時間にわたる持続効果が見られた。TNGの血中濃度の推移をバソレーター軟膏<sup>®</sup>を適用した場合と比較すると、複合体として適用した軟膏のほうが血中濃度が長く持続し、特に $\beta$ -CyDの複合体として適用したときは顕著であった。バソレーター軟膏<sup>®</sup>の10時間までの血中濃度曲線下面積（AUC）を1とすると物理的混合体の場合 $\beta$ -CyDで0.7、CDPSで0.8、複合体の場合は $\beta$ -CyDで1.6、CDPSで1.2となり、 $\beta$ -CyD複合体の優れた特性を明らかとした。

エピネフリンの点眼剤への応用：Epは精製水に対して溶解性が大変低い。従って、製剤としては、一般に塩酸Epあるいは酒石酸水素Epとして利用されている。経皮、点眼等の外用剤としてそれらを利用する場合には、吸収の面から塩基のかたちで投与することが可能ならばより望ましい。しかし、Epは上述の安定性、溶解性の問題点より、塩基のかたちで投与することは困難であった。そこでCyDとEp複合体の製剤への応用の可能性について詳細な検討を行った。その結果、 $\beta$ -CyDとEpの複合体では0.5%w/vの溶液を得ることができた。この値は注射液（ボスミン<sup>®</sup>）の0.1%w/vより高く、点眼液（エピスタ<sup>®</sup>）の1.25%w/vより低かったが、製剤上実用性のある濃度であると考えられた。

以上、本研究は $\beta$ -CyDとその誘導体の薬剤学的応用を検討し、CyDは薬品の安定化に有用であること。TNGとCyDが複合体を生成すること。また、この複合体はTNGの揮散を強く抑制し、この性質を利用して含量の減少しにくい錠剤、特効性の軟膏等に応用できることを示した。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、近年、薬学のみならず広範にわたる研究領域で関心をもたれてきたシクロデキストリン（CyD）類とニトログリセリン及びエピネフリンとの相互作用を検討し製剤化に資する基礎的研究を行ったものである。

その内容は次のような知見が含まれている。

- 1) ニトログリセリンと $\beta$ -CyD類は複合体を形成することが明らかとされた。
- 2) ニトログリセリンと $\beta$ -CyD類の複合体はニトログリセリンの揮散を強く抑制することが確認された。
- 3) ニトログリセリンと $\beta$ -CyD類の複合体は錠剤に利用することが可能であることが明らかにされた。
- 4) ニトログリセリンと $\beta$ -CyD類の複合体は軟膏に利用するとき持効性の製剤が得られることが確認された。
- 5) エピネフリンと $\beta$ -CyD類は複合体を形成することが明らかとされた。
- 6) エピネフリンと $\beta$ -CyDの複合体は酸化に対して安定となり、また水溶性も改善されエピネフリンの塩基としての製剤化が可能であることが明らかとされた。
- 7) シクロデキストリンは光に不安定な各種の薬品の光安定性に影響し、分解を抑制したり加速したりする。また、この作用は固体、液体の状態異なる場合のあることが明らかとされた。

本論文の内容は、CyDを活用することにより、ニトログリセリンやエピネフリンのように古くから用いられている薬物が機能性に富む新しい医薬品に生まれかわることを示唆する有意義な論文である。記述は正確であり、表現も適正である。よって博士（薬学）の学位論文に充分値するものであると判定した。