

一般用医薬品への応用を目的とした
口腔内適用製剤開発に関する基礎検討

主任研究者 北陸大学薬学部教授 村田 慶史

(所属機関： 〒 920-1181 金沢市金川町ホの3 Tel : 076-229-6184)

要旨

薬局・ドラッグストアにおいて、薬剤師等が簡便に実施できるドライマウス (DM) 判定法について探索した。ヒト口腔内における揮発性硫黄化合物 (VSC) 濃度と構成成分の変化を簡易型測定装置、並びにガスクロマトグラフィーにより測定し、唾液分泌量との比較検討を試みた結果、非侵襲的に採取可能な試料を用い、短時間の測定による DM 患者のスクリーニングや、対象者への服薬指導・受診勧奨に利用できることが示された。続いて、DM 患者に発生しやすい口腔内疾患や嚥下障害に対する機能性製剤として、天然多糖類を基剤として用いたフィルム製剤 (FD) の開発を試み、その特性を評価した。口腔カンジダ症の治療に局所投与される抗真菌薬を含有した FD は、添加物を用いた修飾により薬物溶出速度をコントロールしうることが見いだされた。また、口腔内において少量の唾液中で速やかに膨潤・崩壊することで、嚥下補助が期待できる降圧薬含有 FD の調製も可能であった。これらの研究成果は、一般用医薬品供給現場における DM 患者の把握や、患者自身や介護者が扱いやすい機能性製剤によるセルフメディケーション推進に貢献すると考えられる。

1. 調査研究目的

高齢化の進行や薬物治療の多様化により DM 患者が増加している¹⁾。唾液は口腔内における抗菌や粘膜保護の役割を果たしており、DM 時では自浄作用の低下から粘膜上皮の抵抗性が失われて各種の口腔内疾患をもたらすため、医薬品供給現場における医療スタッフによる DM の把握は対象患者の服薬指導や受診勧奨にとって重要である²⁾。本研究では平成 25 年度 OSPF の援助を受け、DM の指標となる VSC の簡易測定を試み、さらに、DM がもたらす口腔内疾患や嚥下障害に対し、少量の唾液で速やかに膨潤・崩壊しながら薬物を放出する FD の有用性を示した³⁾。今年度はヒト口腔での唾液分泌量、DM の指標として口腔内濃度に注目した総 VSC の測定、並びにガスクロマトグラフィーを用いた各 VSC 成分の分離定量による解析を進めた。また、DM 患者に頻発する口腔カンジダ症治療を目的とした抗真菌薬含有 FD の開発のため、シクロデキストリン (CD) 類、あるいは天然多糖類の添加による FD 製剤の修飾について検討した。さらに、嚥下困難な患者への投薬

において、経口投与の負担を軽減するために有用とされるFDの調製とその製剤特性について検討した。

2. 調査研究方法

試薬

フィルム基剤としてアルギン酸ナトリウム Alg-Na (ナカライテスク 300cps)、プルラン PUL (林原)、Bifidobacterium longum JBL05 由来の多糖 BPS (森下仁丹) を用いた。モデル薬物として口腔内カンジダ症に用いられているミコナゾール硝酸塩 (MCZ: 生化学用)、高血圧治療に汎用されるアンジオテンシン受容体拮抗薬バルサルタン (VST: 生化学用)、また、製剤添加物として3種類のCD (α -CD, β -CD, γ -CD)、並びに3種類のCDポリマー (α -CDP, β -CDP, γ -CDP) を Wako 純薬より購入した。他の試薬は市販特級品を用いた。

口腔内 VSC 濃度の分離定量

健常成人女性 (22 ~ 23 歳) 3 名を被験者とし、ドライマウスチェッカー (ライフケア技研 (株)) を用いて、唾液分泌量を測定した。また、操作マニュアルに従い、口腔内よりディスプレイシリンジにて採取した呼気試料を自動測定器 (ブレストロン、新コスモス電機)、並びに簡易型ガスクロマトグラフィー (オーラルクロマ: アピメディカル (株)) に注入して、H₂S、CH₃SH、並びに (CH₃)₂S を分離定量し、各成分をデータ処理ソフト (オーラルクロマデータマネージャ) にて解析した。

MCZ 溶解度の測定

CD あるいは CDP を含む生理食塩水中において MCZ を飽和状態とし、シリンジにて採取後、フィルター (Millex-HV pore size: 0.45 μ m、ミリポア) を通過させた。その溶液を生理食塩水にて適宜希釈し、HPLC にて定量した (表 1) ⁴⁾。なお、これらの操作はすべて 37°C に保った状態で実施した。

フィルム調製法

フィルムはキャスト法を用いて、常法により調製した ⁵⁾。モデル薬物を添加・攪拌した多糖類水溶液 3.0 g を内径 54 mm のディスコ・プラスチックシャーレに滴下し、底部に均一に広げた後、恒温乾燥室 (37°C) にて一日、乾燥した。乾燥後、フィルムがシャーレに付着してはがせない場合には製剤の調製は不可とした。なお、薬物含有量は各薬物の常用量から、フィルム 1 枚につき MCZ は 3 mg、VST では 15 mg とした。

フィルム特性

フィルム厚は水平固定したマイクロメーター (CLM1-150QM、測定力 0.5 N; ミットヨ)

により同一フィルム 10箇所を測定し、平均値を求めた。また、フィルム強度はレオメーター (SD-700#, サン科学) を用い常法にて測定した。フィルム表面の観察は USB カメラ (MeCan、フジモト) を装着した実体顕微鏡 (カートン) により行なった。

フィルムからの含有薬物溶出試験

37°C に加温したプラスチックシャーレ上にフィルム 1 枚を置き、10 mL の生理食塩水を加えてシェーキングキュベーター (37°C、300 rpm; アズワン) にて振とうした。経時的に試料 0.3 mL を採取してフィルター (ミリポア 0.45 μ m; メルク) を通過させた後、その 80 μ L にメタノール 720 μ L を加えて攪拌し、遠心分離 (7,700 x g, 5 min; コクサン) により多糖類を分離した上澄み溶液中の薬物濃度を、HPLC により定量した。MCZ は表 1、VST は表 2 の条件にて、各々測定した⁶⁾。

3. 調査研究結果

3.1. 唾液分泌量の測定と口腔内 VSC の分離定量

唾液分泌量は市販のドライマウスチェッカーを用いることで、簡便に測定可能であった。正常の唾液分泌が認められた被験者に対して実施した総 VSC 量測定の結果、ほとんど口臭が認められない値 (600 ppb 以下) となり、これら一連の測定は 5 分程度で終了した。呼気中に含まれる VSC 濃度について、試料採取時間は 1 分、各成分は 8 分程度で定量・解析しうることが示された (図 1)。なお、正常な総 VSC 量の被験者においても、特に H₂S の経日変動が観察された (図 2)。

3.2. MCZ 含有 FD の性状

薬物の種類、並びに添加量は天然多糖類のフィルム形成能に影響を与えることが知られているが、3 mg の MCZ 含有時では 1.5% Alg-Na、4% PUL、1.2% BPS によりフィルムの形成がみられた (図 3)。また、Alg-Na を基剤とした場合は CD あるいは CDP による添加修飾が可能であり、実体顕微鏡観察において薬物が均一に分散していることが認められた (図 4)。1.2% ~ 2% BPS では 0.5% γ - CD 添加時、フィルム形成が阻害された。なお、各種基剤で調製されたフィルムは CD あるいは CDP の添加によりその強度は低下したが、製剤としてのハンドリングは可能であった (図 5)。

3.3. FD からの MCZ 溶出挙動

1.5% Alg-Na フィルムでは速崩性が認められたが、MCZ はその低い水溶性のため製剤の崩壊後、徐々に溶解し、試験 30 分後における薬物溶出率は 16% であった。1.5% Alg-Na に各種 CD を添加した場合、顕著な MCZ 溶出速度の増加が確認された (図 6)。一方、CD ポリマー類ではいずれも本現象が観察されなかったことから、それはフィルム形成時における MCZ 溶解度上昇に起因すると考えられる (表 4)。また、 γ - CD 添加 Alg-Na

における MCZ 放出速度は、0.1 ~ 0.8% γ -CD の範囲で濃度依存性が観察された (図 7)。さらに、他の多糖類を基剤とした場合にも類似した CD 添加効果が認められ、フィルム製剤からの薬物溶出速度をコントロールしうることが示された (図 8)。

3.4 VST 含有フィルムの調製とその製剤特性

一枚の FD 中に 15 mg の VST を含有させた場合、フィルム強度は低下したもののハンドリングに支障はみられなかった。CD 類あるいは CDP の添加は、FD からの VST 溶出に関してほとんど影響を与えなかった (図 9)。なお、VST 含有 FD では製剤の崩壊後も薬物溶出が続くものの、開始 5 分後の溶出率は 23%、30 分後では 38% であったことから、FD の経口投与時において、嚥下の前に起こる口腔内での VST 溶出は限られていると推測される。

4. 考察

高齢化の進行や薬物治療の多様化による DM が増加しているものの、特定疾患時を除いて医療スタッフ等による DM あるいはドライアイの検査が行なわれることは稀であり、従来は専門の医療機関においてのみシルマーテスト等が実施されてきた。今回の結果より、DM の指標として、唾液分泌量と共に VSC の口腔内濃度を短時間でデータ供給しうることが示された。ガスクロマトグラフィーを用いた場合でも、特に技術的な研修を必要とせず口腔内 VSC 濃度の分離定量することが可能であった。薬物療法の適切化にとって、患者に関する DM の把握は重要となるため、これらの装置を用いた VSC 測定が DM の簡便なチェック法の 1 つとして利用しうると考えられる。なお、実験結果において認められた VSC 各成分の個体内変動は、舌苔付着度と関係していると推測され⁷⁾、検査時には対象者からの情報収集も必要と考えられる。

本研究では、平成 25 年度 OSPF 助成研究に引き続いて、DM に起因する口腔内疾患や嚥下障害に対する機能性製剤の開発のため、経口摂取で安全性が確認されている天然多糖類の高分子物性を利用した FD の調製と製剤特性、並びに薬物溶出挙動について検討した。現在、口腔カンジダ症治療では MCZ がゲル製剤として局所投与され、煩雑な服用法から新規機能性製剤が望まれているが、ここで調製した MCZ 含有 FD の適用により口腔内における疾患部への直接的で均一な薬物の塗布がなされ、適用部位における含有薬物の溶解速度を制御しうる機能性製剤になると思われる。VST においても基剤の選択によって FD の調製が可能であり、その速崩性も認められた。VST は消化管吸収が良好であることから、現在、口腔内での薬物溶出を制限するための製剤設計を進めている。

5. まとめ

加齢に伴う唾液分泌量の低下や、断薬できない疾患における薬物の副作用である DM を起因とした口腔内疾患、嚥下障害が増加しており、口腔内環境の把握は薬物療法の適切

化にとって重要となる。DM チェッカーや簡易型 VSC 測定器、ガスクロマトグラフィーの利用により、技術的な研修を必要とせずに口腔内 VSC 濃度の測定を実施しうることが見いだされことから、薬剤師等によるドライマウス患者のスクリーニングや対象者への指導や受診勧奨に応用できると考えられる。また、天然多糖類を用いて調製した FD は口腔カンジダ症の疾患部位への直接的な薬物送達に有用であるのみならず、高齢者や DM を有する嚥下困難な患者の投薬ストレス軽減にとって優れた機能性を発揮することが期待される。DM 患者においては介護者による薬物投与がなされるケースも多く、今後の課題として経口摂取時や嚥下時の食感を考慮した基剤の開発検討が必要である。

謝辞： 本研究は公益法人一般用医薬品セルフメディケーション振興財団（佐藤誠一理事長）の平成 26 年度研究助成を受けて実施されたことを記して、深く謝意を表します。また、口腔内 VSC 濃度の測定に御協力いただいた北陸大学薬学部・薬剤学研究室の学生諸氏に心より感謝いたします。

6. 調査研究発表

1) 口腔カンジダ症治療のためのフィルム製剤の開発（その 2）

○村田慶史, 小藤恭子, 西田典永, 釜口良誠

日本 DDS 学会（平成 26 年 7 月 30 日、31 日、東京都）

2) 口腔内乾燥症スクリーニングを目的とした揮発性硫黄化合物の測定

○小林 瞳・林真奈美・平野茉莉絵・結城杏子・小藤恭子・村田慶史

日本薬学会第 135 年会（平成 27 年 3 月 26 日～28 日、神戸市）

3) 降圧薬含有フィルム製剤の調製

○柴田千尋・小藤恭子・村田慶史

日本薬学会第 135 年会（平成 27 年 3 月 26 日～28 日、神戸市）

7. 引用文献

- 1) Han, P., Suarez-Durall, P., Mulligan, R., Dry Mouth: A Critical Topic for Older Adult Patients. *Journal of Prosthodontic Research*, 59, 6-19 (2015).
- 2) Noboru Kuroiwa, D., Ruiz Da Cunha Melo, M.A., Balducci, I., Bortolin Lodi, K., Ghislaine Oliveira Alves, M., and Dias Almeida J., Evaluation of Salivary Flow and Drug Interactions in Patients with a Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Minerva Stomatologica*, 63, 421-426 (2014).
- 3) 村田慶史, 宮本悦子 一般用医薬品への応用を目的とした口腔内適用製剤開発に関する基礎検討、平成 25 年度 OSPF 報告書 (NO. 8)、78-89 (2014).
- 4) Pershing, L.K., Corlett J. and Jorgensen, C., In vivo Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Topical Ketoconazole and Miconazole in Human Stratum

Corneum., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38, 90-95 (1994).

- 5) Murata, Y., Isobe, T., Kofuji, K., Nishida, N. and Kamaguchi, R., Development of Film Dosage Forms Containing Miconazole for the Treatment of Oral Candidiasis. *Pharmacology & Pharmacy*, 4, 325-330 (2013).
- 6) Tekkeli, S.E.K., Development of an HPLC-UV Method for the Analysis of Drugs Used for Combined Hypertension Therapy in Pharmaceutical Preparations and Human Plasma. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, ID 169727, 10 pages (2013).
- 7) 安川俊之、大森みさき、両角裕子、馬場玲子、五十嵐千里 ブレストロンを用いた口臭測定を検討、*日本歯周病学会会誌*、47(3)、186-193 (2005).

表 1 MCZ の HPLC 条件

カラム: Cosmosil 5C18-MS-II、150 x 4.6 mm
 溶離液: 10 mM リン酸二水素一カリウム : アセトニトリル [1:4]
 室温、流速: 0.8 mL/min、検出波長: 230 nm

表 2 VST の HPLC 条件

カラム: Cosmosil 5C18-MS-II、150 x 4.6 mm
 溶離液: 10mM リン酸緩衝液(pH 3.0) : メタノール : CH₃CN [19:26:5]
 室温、流速: 1 mL/min、検出波長: 220 nm

表 3 0.5% 添加剤を含有した 1.5% Alg-Na フィルムの厚さ

添加剤 (3 mg MCZを含む)	厚さ (mm)
α-CD	43 ± 5
β-CD	45 ± 6
γ-CD	71 ± 4
α-CDP	217 ± 5
β-CDP	220 ± 3
γ-CDP	209 ± 22

表 4 添加剤 (0.15%) を含む生理食塩水中での MCZ の溶解度 (37°C)

添加剤	溶解度 (mmol/L)	添加剤	溶解度 (mmol/L)
なし	1.2	α-CDP*	1.1
α-CD	1.8	β-CDP*	1.2
β-CD	1.8	γ-CDP*	1.1
γ-CD	1.9	*) 懸濁液	

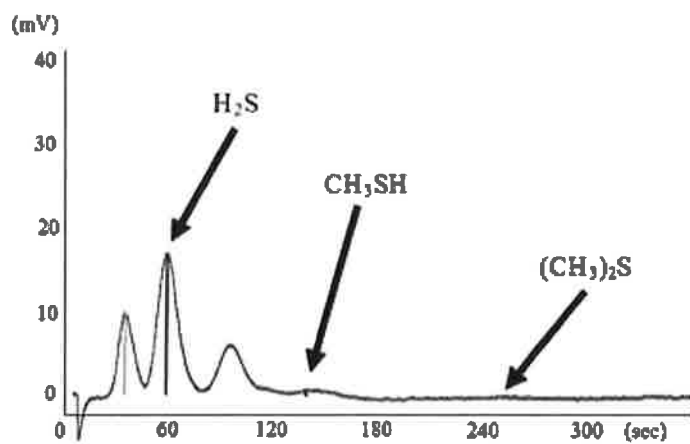


図1 ガスクロマトグラフィー測定結果の例

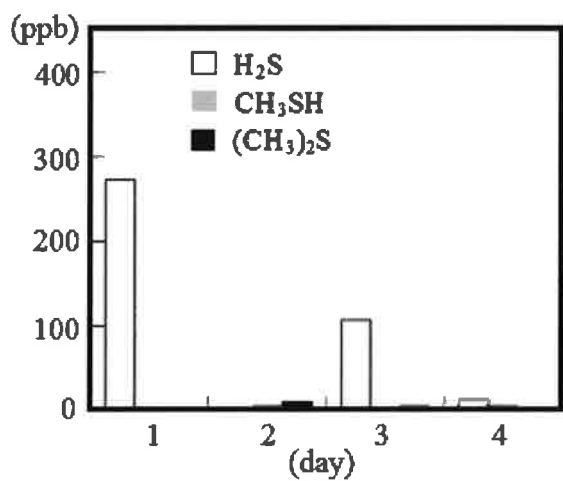


図2 同一の人における口腔内VSCの経日変動

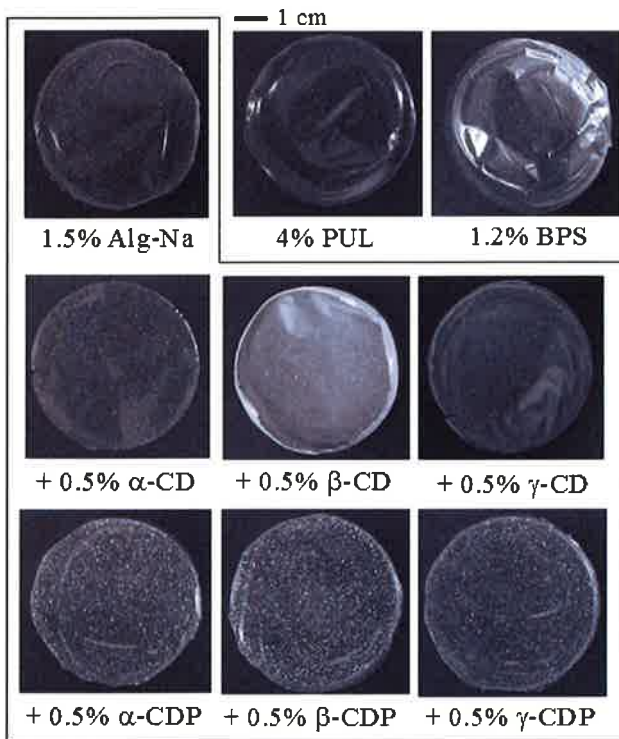


図3 MCZ 含有多糖類フィルムの写真

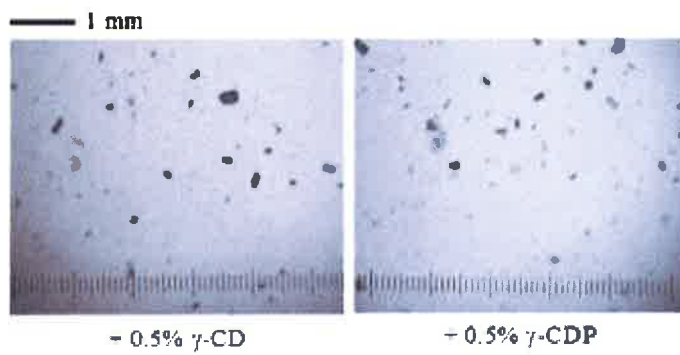


図4 MCZ 含有 1.5%Alg-Na フィルム表面の実体顕微鏡写真

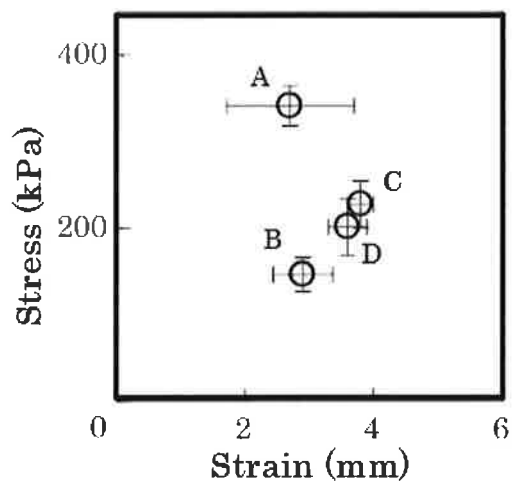


図5 MCZ含有フィルムの強度
 A: 1.5% Alg-Na, B: 1.2% BPS, C: 1.5% Alg-Na + 0.5% γ -CD,
 D: 1.5% Alg-Na + 0.5% γ -CDP

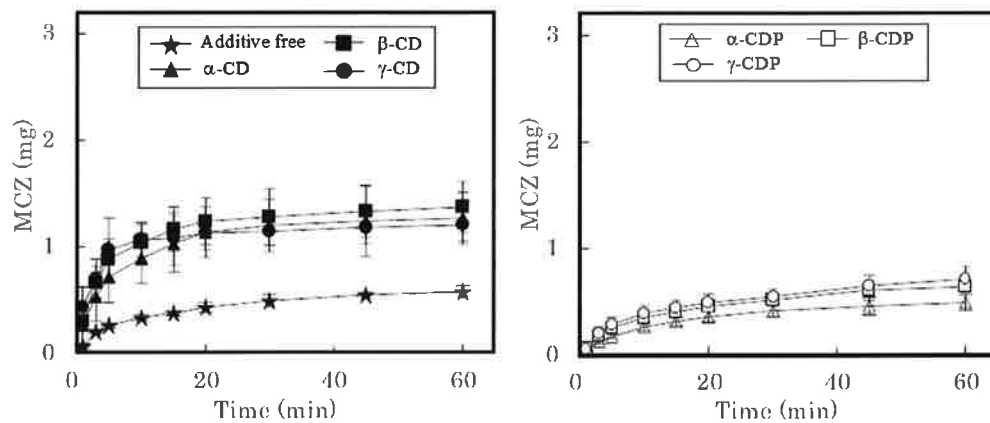


図6 0.5% CD類含有フィルムからのMCZ溶出挙動
 (基剤: 1.5% Alg-Na)

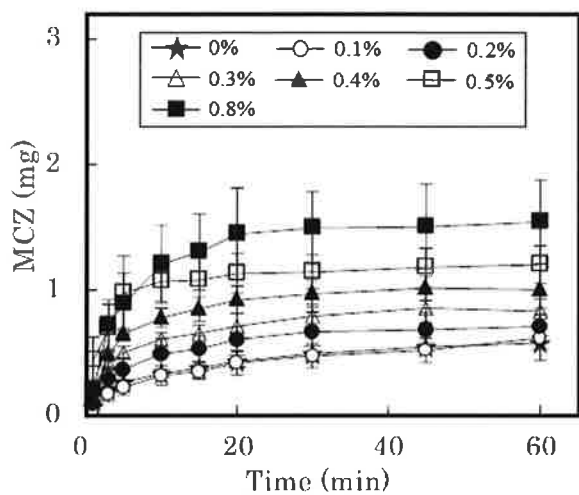


図7 フィルムからのMCZ 溶出に及ぼす γ -CD 添加濃度の影響
(基剤 : 1.5% Alg-Na)

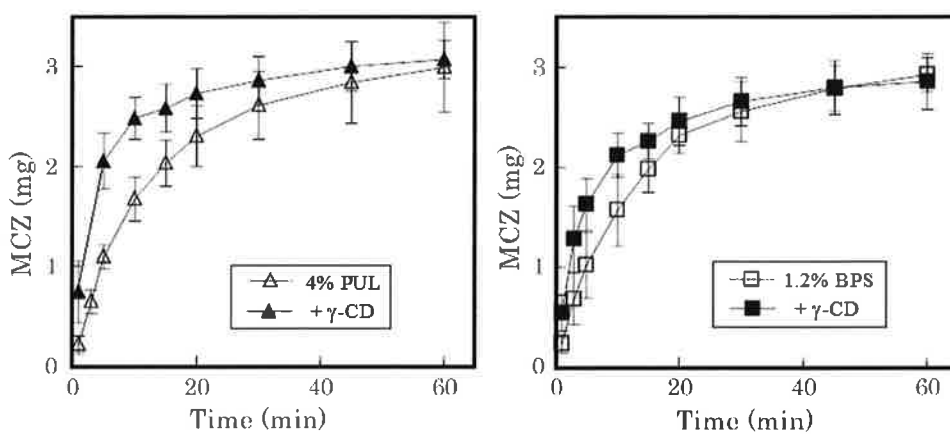


図8 0.5% γ -CD 含有多糖類フィルムからのMCZ 溶出挙動

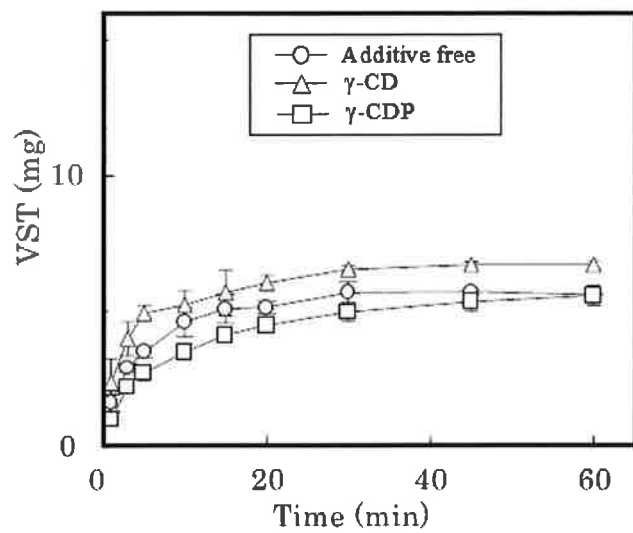


図9 0.5% CD類含有フィルムからのVST溶出挙動
(基剤: 1.5% Alg-Na)