

塩酸イリノテカン内封経口マイクロキャリア製剤の開発

米山 敏夫^{*1}・中島 忠夫^{*2}

Preparation of polymeric microcarrier containing irinotecan
hydrochloride for use as oral medicine

Toshio YONEYAMA and Tadao NAKASHIMA

抗腫瘍医薬品である塩酸イリノテカンは現在静注製剤として上市されているが、副作用軽減と患者のQOLのため経口製剤化を試みた。

塩酸イリノテカンは強いアルカリ性雰囲気では加水分解が進行し不可逆変化をするが、酸性ないし弱いアルカリ性では分子内エステルであるラクトン環が開/閉環の平衡反応が起こるが、不可逆的な加水分解はそれほど進行せず、比較的安定に扱えることがわかった。腸溶性高分子を壁膜としたマイクロカプセルを液中乾燥法で調製したところ、その塩酸イリノテカンの再放出は外部のpHに依存し、酸性ではかなり遅かったが中性以上のpHで壁膜が急速に溶解し、腸管のpH条件で塩酸イリノテカンを放出できることがわかり、腸管放出型製剤の可能性を示した。

キーワード：塩酸イリノテカン、マイクロカプセル、液中乾燥法、腸溶剤

1 はじめに

塩酸イリノテカン（以下CPT-11という）は効果が大きい抗腫瘍活性を示す医薬品として注射剤として用いられているが¹⁾、治験の初期から重篤な副作用を発現することも知られており、剤型を変更し薬物放出制御することにより副作用を軽減し、また患者のQOLに貢献できれば、その有用性はさらに増すと考えられる。一方CPT-11水溶液はpH7より高いpH領域で分子中のラクトン環が開環し抗腫瘍効果が著しく低下することが知られており、製剤化の工程や使用までに開環反応が極力起こらないようにしなければならない²⁾。

今回、CPT-11を内封する経口投与型高分子マイクロキャリア医薬品の開発を試み、製剤時におけるCPT-11の劣化を防止するための水溶液中での反応性および安定性の評価、高分子マイクロキャリア調製の前駆体であるW/O/Wエマルジョンよりの漏洩性の評価、さらに高分子マイクロキャリアの調製とその再放出性に関する評価を行った。

2 実験方法

2-1 使用材料

CPT-11はヤクルト本社製の粉末形態のものを溶解して用いた。安定性を評価するpH標準液や酸およびアルカリ溶液、さらに、W/O/Wエマルジョンの調製に用いる大豆油や界面活性剤等は市販品を特に精製せずに用いたが、市販品のPGCRはアルカリ性を示すので、水あるいは塩酸水で洗浄して用いた。マイクロカプセル壁膜材料としてはヒドロキシプロピルメチルセルロースアセートサクシネート³⁾（信越化学工業）を使用し、その溶媒として酢酸エチルを使用した。

表1 壁膜用ポリマー材料

ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセートサクシネート³⁾

単位グルコース環当たりの置換度：
メチル = 1.9
ヒドロキシプロピル = 0.25
アセチル = 0.55
サクシニル = 0.3

*1 元客員研究員（平成14年3月まで）

*2 工業技術センター所長

2 - 2 CPT-11の安定性評価

CPT-11の安定性評価は、CPT-11の各種水溶液を紫外・可視スペクトロホトメーター（Multi Spec-1500 島津製作所）、蛍光スペクトロフルオロホトメーター（RF-5000 島津製作所）、高速液体クロマトグラフィー（PU-980 日本分光）で成分の時間変化を追跡した。

CPT-11およびその反応生成物は350～370nmに吸収があり、蛍光スペクトロフルオロホトメーターの励起波長は365nm、蛍光発光波長は440nmで計測した。高速液体クロマトグラフィー評価は、カラムは日本分光製のCrestpac C18T-5、移動相として0.075Nの酢酸アンモニウムを含んだ水とアセトニトリルの2：1の混合物を用い、検出は蛍光検出器で、励起波長は365nm、蛍光発光波長は440nmで測定を行った。

2 - 3 マイクロキャリアの調製

大豆油を油相とするW/O/Wエマルションは大豆油に対してCPT-11水溶液を加えてからホモジナイザー（Janke & Kunkel GmbH & Co.製 Ultra-Turrax T25）で10,000rpmで5分間攪拌してW/Oエマルションを調製し、このW/Oエマルションを外水相に、モーターで攪拌しながら入れるという機械的乳化法で行った。CPT-11を内封する高分子壁膜のマイクロカプセルは、米山らにより示されている方法に準拠し⁴⁾、油相をポリマーの有機溶媒溶液とするCPT-11水溶液を内封したW/O/Wエマルションを調製してから、油相の有機溶媒を外水相経由で蒸発させる液中乾燥法により調製した。

2 - 4 マイクロキャリアの評価

マイクロキャリア調製時のCPT-11の漏洩量測定は、外水相中のCPT-11を高速液体クロマトグラフィーで変化体も含めて各成分ごとに定量し、漏洩率は定量された合計量を内水相に仕込んだCPT-11の量で除して求めた。

調製したマイクロカプセルの形態は電界放射型走査電子顕微鏡（FE-SEM、日立製作所製 S-800）で観察した。また、マイクロカプセルに内封されたCPT-11の量は、マイクロカプセルをpH 10.01の炭酸塩pH標準液に溶解し、その溶液を高速液体クロマトグラフィーで測定した。さらに調

製したマイクロカプセルからのCPT-11の再放出は、マイクロカプセルを各pHの標準液に分散させ、一定時間ごとにサンプリングおよび遠心濾過分離を行い、漏洩したCPT-11を高速液体クロマトグラフィーで定量した。

3 結果及び考察

3 - 1 CPT-11の反応性

CPT-11の水への溶解度はおよそ10mg/mlと言われており⁵⁾、溶解度は小さいが、塩酸性水には比較的溶けやすく、逆に、pH4.01のフタル酸塩やpH9.18のほう酸塩などのpH標準液にはさらに溶解しにくかった。

中性ないし酸性の蒸留水、塩酸水あるいはpH標準液に溶解させたCPT-11溶液の安定性は比較的良く、数日程度では目立った分解反応は起こらなかったが、中性近傍やアルカリ性ではUVスペクトルにおいて明らかな等吸収点を持つ変化を示し、酸性溶液ではCPT-11分子のラクトン構造であるが、中性ないしアルカリ性溶液では加水分解により開環した構造になり、その平衡状態で存在するようである。この平衡はpHを変えることによりかなり早く変化した。

高速液体クロマトグラフィーを用いて蒸留水に溶解したpH5.35の水溶液における開環構造への変化は図1のようであり、その反応速度定数を評価したところ、CPT-11濃度88mg/lの溶液での変化は、29℃で $5.8 \times 10^{-5} \text{sec}^{-1}$ であり、pHを上げるとさらに早くなった。

さらにpH10程度以上の高いpHにすると溶液は次第に黄色を帯び、紫外・可視スペクトルによる

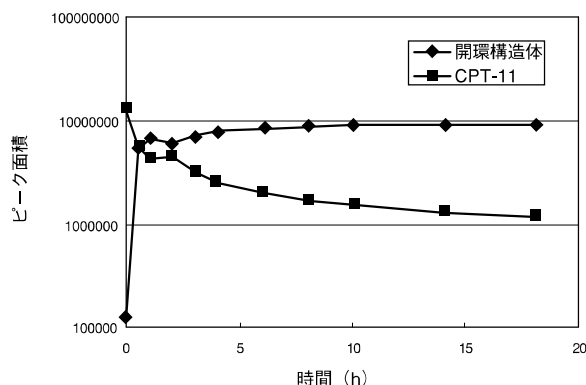


図1 CPT-11の蒸留水中での変化

とCPT-11とは異なる物質へと変化していた。この物質はCPT-11の開環体から4-ピペリジノピペリジノカルボニル部分が脱離したものと推定され、高速液体クロマトグラフィーの保持時間で評価したところ、CPT-11の代謝体であるSN-38のラクトン部の開環構造体と保持時間が同一であった。また、pHを酸性側に变化させ、ラクトン構造にしたところ、これも標準物質であるSN-38と同一の保持時間を示した。

CPT-11を1/20N-NaOH水溶液に溶解させ、高速液体クロマトグラフィーを用いて評価したところ図2のような変化であり、CPT-11 80mg/1濃度でのpH12.6の溶液の4-ピペリジノピペリジノカルボニル部分の脱離反応の反応速度定数は29において $1.1 \times 10^{-5} \text{sec}^{-1}$ であった。

以上のことより、CPT-11は図3のように変化すると考えられる。

3 - 2 CPT-11の取り扱い方法

CPT-11の安定性評価の結果、CPT-11が開環反応を起こさず、分解反応もしないpH範囲はおおよそ、pH2.5からpH5.5の範囲であることがわかり、図4に示すように、マイクロキャリア調製時はこの範囲にコントロールされるようにすれば良いことがわかった。

ただ、薬効は開環により低下すると言われているので、体内でのアルカリ性雰囲気が開環したも

のの薬効がどうかは実際に試験を行わないとわからないと考えられ、現実には平衡反応がかなり早いため、たとえ開環体で吸収されても平衡により閉環体が生成し、薬効が回復する可能性もある。

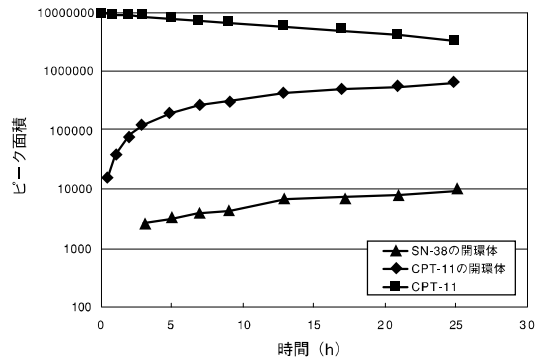


図2 CPT-11の水酸化ナトリウム水溶液中での変化

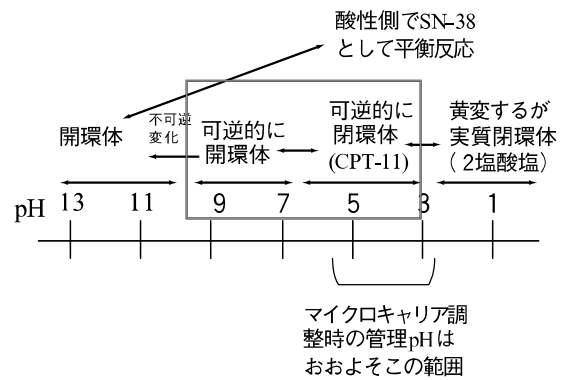


図4 マイクロキャリア調製時のpH管理範囲

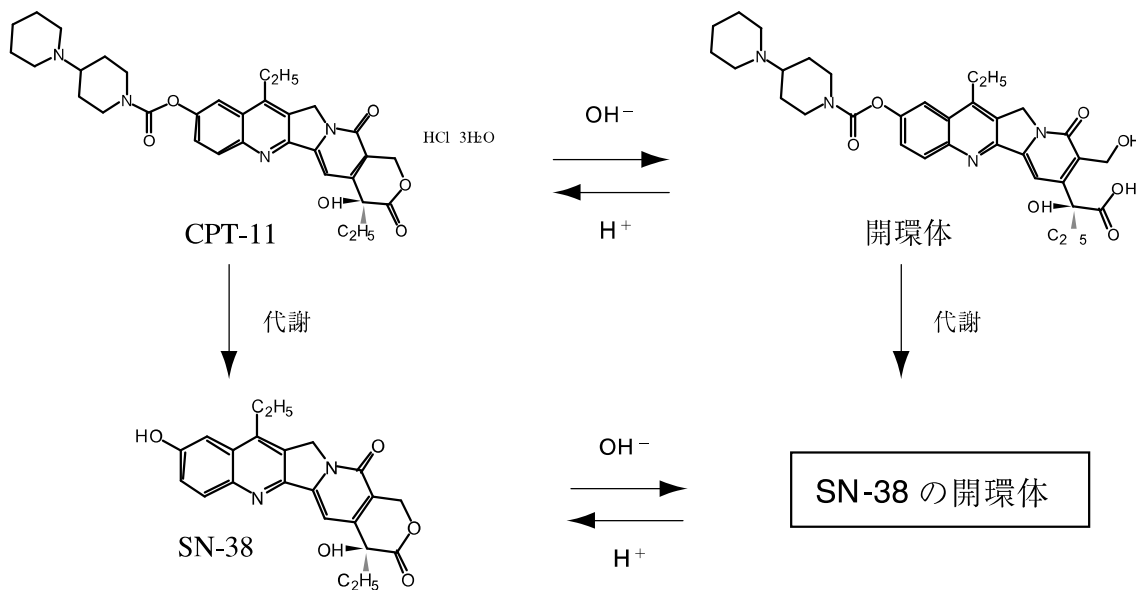


図3 CPT-11の反応

3 - 3 W/O/WエマルジョンにおけるCPT-11封入性

内水相は82mg/l濃度のCPT-11の蒸留水溶液、油相は界面活性剤としてショ糖エル酸エステル(ER-290)あるいはポリグリセリン縮合リシノレン酸エステル(PGCR)をそれぞれ5 wt%混合した大豆油、外水相はpH3.5の塩酸水溶液とし、外水相の界面活性剤をポリオキシエチレン(60)硬化ヒマシ油(HCO-60)で0.5wt%用いて、内水相/油相/外水相比1/2/10の条件でW/O/Wエマルジョンを調製し、内水相に封入したCPT-11の漏洩をHPLCで追跡した。

外水相に漏洩したCPT-11およびその開環体をHPLCで定量したところ、図5のように油相にPGCRを用いた場合には極めて短時間に漏洩が進み、数分でほぼ平衡状態に至った。ところがER-290を界面活性剤として用いた場合は漏洩は遅いが徐々に進み、5時間ほどでおよそ50%の漏洩を示した。界面活性剤の選択によりエマルジョンでの漏洩にかなり違いがあることがわかったが、液相での漏洩はかなり大きい可能性が示唆された。

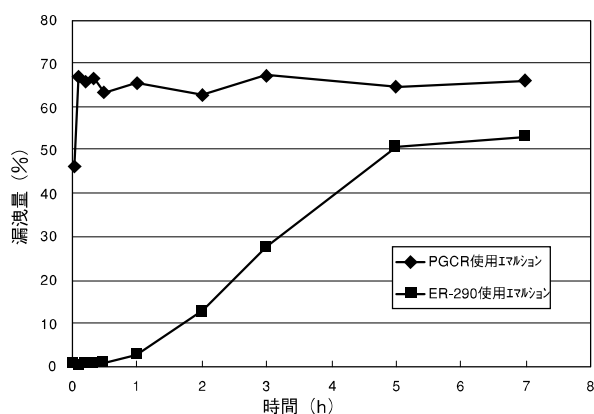


図5 W/O/WエマルジョンよりのCPT-11の漏洩

3 - 4 固体マイクロキャリア調製とそのCPT-11封入性と漏洩性

セルロース誘導体を壁膜とする固体マイクロキャリアを調製し、その形成性および内封したCPT-11の漏洩を評価した。

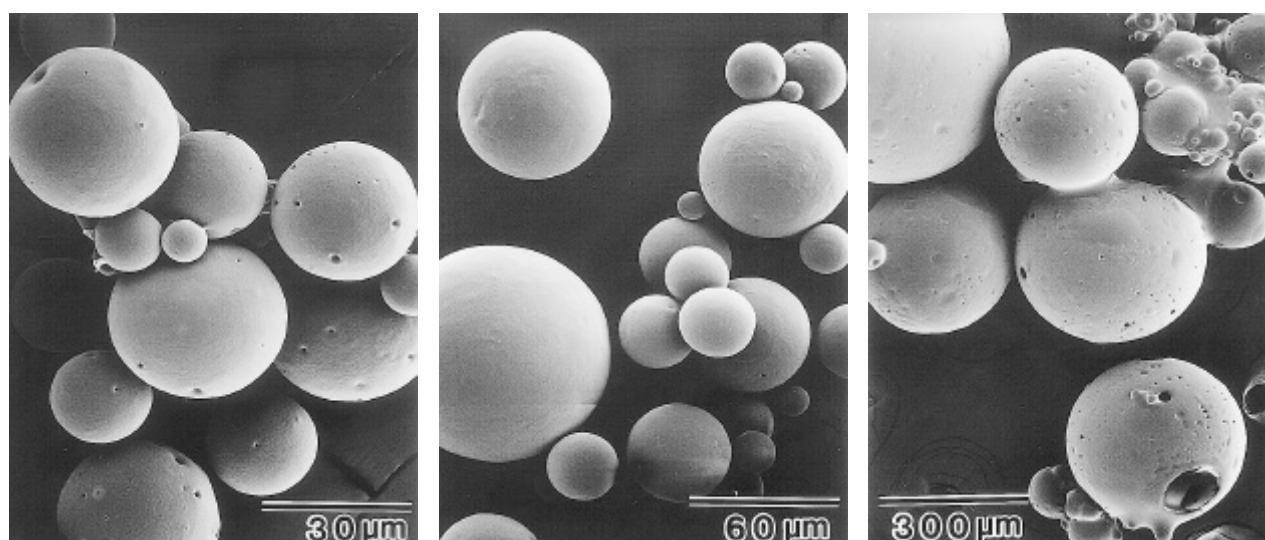
3 - 4 - 1 W/OエマルジョンおよびW/O/Wエマルジョンよりの固体マイクロキャリア形成性

セルロース誘導体の酢酸エチル溶液を油相とするW/O/Wエマルジョンより、液中のまま溶媒を除去する液中乾燥法により固体マイクロキャリアを調製するのに先立ち、使用する界面活性剤を選択するために界面活性剤の選択試験を行った。

酸性を示すCPT-11の水溶液をポリマーの酢酸エチル溶媒に安定に分散させる、油相に添加して使用する界面活性剤として、グリセリン脂肪酸エステルやショ糖脂肪酸エステルなど、24種の界面活性剤を試験し、CPT-11の酸性を示す水溶液が比較的安定なW/Oエマルジョンとなる最も好ましい界面活性剤として、ソルビタンモノオレートである、Span80を油相の界面活性剤として選択した。

さらにポリマーの酢酸エチル溶液を外水相に安定に分散させ、良好な固体粒子を得るための、外水相に使用する界面活性剤として、グリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンニルフェニルエステルあるいは、ショ糖脂肪酸エステルなどの、32種類の界面活性剤を試験し、固化後の外観の電子顕微鏡観察により、Tween20(ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノアルレート)を外水相に添加する最も好ましい界面活性剤として選択した。

選択されたSpan80およびTween20の2つの界面活性剤を使用して、比較としてER-290およびPGCRを油相界面活性剤として使用したCPT-11水溶液を内封した固体マイクロキャリアを溶媒を自然に蒸発させる液中乾燥法で調製したところ、図6で示されるように、比較的なめらかな表面を持った平均球径 $20\mu\text{m}$ ないし $80\mu\text{m}$ の固体マイクロキャリアすなわちマイクロカプセルが調製できた。比較として調製したER-290、PGCRを油相界面活性剤とするマイクロカプセルは球形であった。



油相活性剤：Span80
水相活性剤：Tween20

油相活性剤：ER-290
水相活性剤：HCO-60

油相活性剤：ER-290
水相活性剤：なし

図6 CPT-11内封マイクロカプセル

表2 固体マイクロキャリア調製時の漏洩と漏洩したCPT-11の構造

マイクロカプセル	油相界面活性剤	外水相界面活性剤	漏洩量 (%)	CPT-11の構造
1	ER-290	-	35	ラクトン体 : 99% カルボキシレート体 : 1%
2	ER-290	HCO-60	30	ラクトン体 : 98% カルボキシレート体 : 2%
3	Span80	Tween20	20	ラクトン体 : 99% カルボキシレート体 : 1%

3 - 4 - 2 固体マイクロキャリア調製とCPT-11封入性

塩酸でpH3.5にした蒸留水にCPT-11を溶解し内水相として固体マイクロキャリアを調製した。固体マイクロキャリア調製時のCPT-11の外水相への漏洩量を、壁膜が完全に固化した後に外水相中のCPT-11を定量して評価したところ、表2のようであり、固体膜になった場合、大豆油を油相とする液体膜のエマルジョンより漏洩は少なかった。さらに漏洩したCPT-11の構造を評価したところ、ほとんどのものがラクトン構造であり、pHを酸性にコントロールすることにより、生成する固体マイクロキャリアの構造が管理できそうであることがわかった。

3 - 4 - 3 固体マイクロキャリアの再溶解性とCPT-11の再放出性

固体マイクロキャリアを各種pH標準液に溶解し、マイクロキャリアの溶解性とマイクロキャリアからのCPT-11の再放出性を評価した。

固体マイクロキャリアは酸性pH標準液ないし蒸留水には溶解しなかったが、pH6.86の中性リン酸塩pH標準液およびアルカリ性のpH標準液に30分程度で溶解し、空腸以降の小腸で溶解する可能性を示した。ただ、pH6.86の中性リン酸塩pH標準液に溶解し蒸留水に溶解しないことは、この高分子の溶解に塩が関与している可能性を示唆している。

各種pH水性液中でのCPT-11の再放出性を評価したところ、図7に示すように、酸性pH標準液

および蒸留水での放出はかなり遅く、アルカリ性 pH 標準液ではかなり早く放出が起こることがわかり、このマイクロキャリアの所期の目的である、胃や放出が起こらずに腸管で放出する、いわゆる腸溶性製剤が得られたと考えられる。

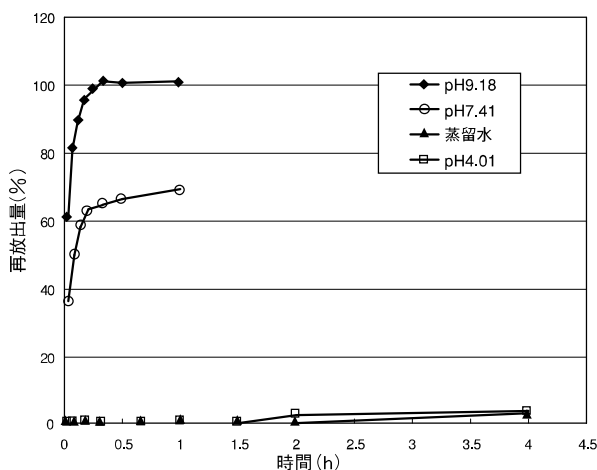


図7 マイクロカプセルよりのCPT-11の漏洩

4 まとめ

塩酸イリノテカン (CPT-11) は分子内にラクトン構造があり、水溶液中では一部が開環しカルボキシレート型の構造になり、両者の平衡で存在した。また、さらに強いアルカリ性になると置換

基の脱離という別の反応が進行しCPT-11が体内で酵素により変化させられるのと同様の反応が進行した。反応状態が判ったことにより、CPT-11内封マイクロキャリア調製時の取り扱い方法について方向が見いだせた。

さらにCPT-11を内水相に封入したW/O/Wエマルションでは、CPT-11の外水相への漏洩は界面活性剤による違いはあるがかなり早かったが、セルロース系ポリマーを壁膜としたマイクロカプセルでは漏洩がそれより抑えられ、且つ腸管で溶解し内部物質を放出するような、溶解制御が達成でき、マイクロキャリア製剤への可能性が出てきたと考えらる。

5 参考文献

- 1) 総合製品情報概要 カンプト注, 株式会社ヤクルト本社
- 2) 有森和彦, 医薬の門, vol40, 11 (2000)
- 3) アルカリ可溶性セルロース誘導体技術資料 信越化学工業株式会社
- 4) 米山敏夫, 中島忠夫, 宮崎県工業技術センター 平成12年度研究報告, 33 (2000)
- 5) 医薬品インタビューフォーム, 株式会社ヤクルト本社, 3 (2001年3月)