薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
104 (9) 990—996 (1984)

β-シクロデキストリン包接による消炎鎮痛薬ピルプロフェンの安定化と刺激味の軽減[1)]

日比　徹,[a] 辰己昌史,[a] 花房幹緒,[a] 樋口亮一,[a] 今井輝子,[b]
小田切優樹,[b] 上釜兼人*,[b]
日本チバガイギー株式会社製剤研究室,[a] 熊本大学薬学部[b]

Stabilization and Reduction of Irritant Taste of Anti-inflammatory Drug Pirprofen by β-Cyclodextrin Complexation

TORU HIBI,[a] MASASHI TATSUMI,[a] MIKIO HANABUSA,[a] RYOICHI HIGUCHI,[a] TERUKO IMAI,[b] MASAKI OTAGIRI,[b] and KANETO UEKAMA*,[b]

Pharmaceutical Development of CIBA-GEIGY (Japan) Limited,[a] 10-66, Miyuki-cho, Takarazuka, 665, Japan and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University,[b] 5-1, Oe-honmachi, Kumamoto, 862, Japan

(Received February 27, 1984)

Anti-inflammatory drug pirprofen (PF) is an amphoteric which contains a nitrogen atom and a carboxyric acid group. PF is practically insoluble in water and not stable enough (against moisture, temperature, light) for a certain dosage form, having an irritant sensation on the throat mucosa. These undesirable properties of PF were found to be improved effectively by forming an inclusion complex with β-cyclodextrin (β-CyD). The molar ratio of PF-β-CyD complex was 1 : 1 in dilute aqueous solution, while 2 : 3 in solid state. The stability constant of complex changed with pH value, and it gave a maximum value at pH 7.5. The different inclusion mode of complex in acidic and alkaline solutions was proposed by means of various spectroscopies. The increase in dissolution rate of PF by β-CyD complexation was rather small in acidic medium, because of the dissociation of complex. The bioavailability of inclusion complex was compared with that of PF alone after oral administration to dogs and it was found that the plasma level of PF was almost equal in both cases.

Keywords——pirprofen; β-cyclodextrin; inclusion complex; stability constant; inclusion mode; solubilization; stabilization; irritant bitterness; oral bioavailability

7個のグルコース単位からなる環状オリゴ糖 β-シクロデキストリン (β-CyD) は，その疎水性空洞内に種々のゲスト薬物を包接して,[2)] 薬物の物理化学的性質を変化させることから，β-CyD を用いた医薬品の安定化，溶解性の向上，刺激性の軽減[3)] など，薬剤学・製剤学領域における応用研究が近年活発に行われている.[4)]

本研究で対象とする非ステロイド系消炎鎮痛薬ピルプロフェン (2-[3-chloro-4-(3-pyrrolin-1-yl)-phenyl]propionic acid: PF と略記，Chart 1 参照) は，分子内に窒素原子とカルボキシル基を有する両性物質であり，刺激性の苦味が強く，光や温湿度に対する不安定性，難水溶性などの欠点を有するため，経口固形製剤の開発に工夫を要する薬物である．そこで本研究では，β-CyD 包接による PF の各種製剤特性の向上を目的として検討を行った．その結果，β-CyD 包接により PF の苦味の軽減と安定性の向上が認められたが，溶出促進効果は小さく，ビーグル犬を用いた *in vivo* 消化管吸収実験においても，PF と複合体間のバイオアベイラビリティに顕著な差は認められなかった．これらの知見は両性物質をゲスト分子とする場合の CyD 包接の応用限界の一面を示すものであり，実際製剤上の有用な基礎資料としてここに報告する．

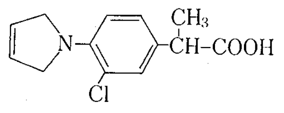

Chart 1. Structure of PF

NII-Electronic Library Service

実　験　の　部

試料　β-CyD は，市販品（三楽オーシャン）を水から再結晶して使用した．PF はチバガイギー社（スイス）で合成されたものを使用した．

各種機器測定　紫外 (UV) 吸収スペクトルは，日立 EPS-3T 型自記分光光度計を用いて測定した．赤外 (IR) 吸収スペクトルの測定は島津 IR-400 型赤外分光光度計を用いて，KBr 法により測定した．示差走査熱量計 (DSC) は島津 DT-30 型熱分析計を用い，約 5 mg の試料をクリンプセルに入れ，10°C/min の昇温速度で 25—200°C の温度範囲で行った．基準物質としてインジウムを用いた．粉末X線回折は理学電機製 Geiger Flex 2012 X線回折装置を用いて，C_uK_α (1.5418Å) により回折角 (2θ) 5—30° の範囲を走査速度 1°/min で測定した．

溶解度測定　PF の一定過剰量を共栓付試験管に入れ，種々の濃度の CyD 水溶液を添加して密栓し，遮光条件下溶解平衡に達するまで (22°C, 3日) 振とうした．この水相をメンブランフィルター (0.45 μ) で沪過後，希釈して 253 nm における吸光度を測定し，検量線から PF 濃度を求めた．なお，本実験操作中において PF の分解は認められなかった．

固体複合体の調製　固体複合体は，飽和溶液法と混練法により調製し，前者は主に複合体形成の確認の目的に使用した．

1)　飽和溶液法——B_s 形相図において下降曲線が一定値に落ち着く部分の固相はすべて複合体とみなせるため (Fig. 1 の矢印参照)，この点における薬物: β-CyD: 水の比 (PF 1.5 g: β-CyD 13.6 g: 水 1000 ml) で試料を混合し，50—60°C に加温して完全に PF を溶かしたのち，不溶物を綿栓で沪別し，この沪液を室温で2日間放置した．得られた析出物を沪取して少量のエタノール：水 (1：1) の混合溶媒で洗浄後，室温下減圧乾燥して目的の複合体 8.6 g を得た．

2)　混練法——β-CyD 34 g に pH 調節剤として $NaHCO_3$ 3 g を水 30 ml に溶かした水溶液を加えて，らいかい機で 30 分間練合したのち，PF 5 g を加えて室温下3時間練合し，内容物を吸引沪過後，少量のエタノール：水 (1：1) の混合溶媒で洗浄した．得られた残渣を室温下減圧乾燥して目的の複合体 35.5 g を得た．

安定度定数の算出　各 pH における複合体のみかけの安定度定数 (K') は 253 nm (pH 5—12) および 260 nm (pH 1.6—4.5) における PF-β-CyD 系の吸光度変化を測定し，Scott 式[5]を適用して K' を算出した．

複合体の組成比の検討　水溶液中における複合体の組成比は，連続変化法により求めた．すなわち，0.1 M リン酸緩衝液に溶かした同一濃度の原液を調製し (pH 1.6 の場合 4×10^{-3} M, pH 7.0 の場合 1×10^{-4} M)，この2種類の水溶液を適宜混合して，PF と β-CyD の割合を連続的に変化させた試料について 260 nm (pH 1.6) および 253 nm (pH 7.0) における PF との吸光度差を測定した．固体複合体の組成比は B_s 形相図のプラトー領域の解析[6] ならびに固相に析出した複合体の化学分析により決定した．

安定性試験　混練法により調製した固体複合体および原末それぞれ約 900 mg および 100 mg を小型ガラス容器に精秤し，両者を遮光条件下 60°C 75% で一週間保存またはキセノンランプ 24 時間照射後，各々の試料の着色状態を観察し，さらに主分解物である 2-[3-chloro-4-(3-pyrrol-1-yl)-phenyl]propionic acid（ピロール誘導体）を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により定量した．HPLC には Waters M-6000A 型高速液体クロマトグラフを使用した．検出器: Waters モデル 440 型 (UV 検知器)，カラム：島津 Zorbax-ODS 4.6 mm i.d.×250 mm, 移動相：メタノール-酢酸カリウム水溶液 (酢酸カリウム原液 (2 N CH_3COOH 25 ml, 0.1 N KOH 70 ml) を水で 500 ml に希釈し，pH 3.8 としたもの)，流速：0.8 ml/min, 測定波長：254 nm.

官能試験　β-CyD を含むドライシロップとして，PF 100 mg, β-CyD 778 mg, $NaHCO_3$ 37 mg, アビセル 53 mg, CMC-Na 12 mg, フレーバー (オレンジ) 20 mg を混練法に準じて調製した．また PF 100 mg, 蔗糖 815 mg, CMC-Na 6 mg, フレーバー (オレンジ) 20 mg の組成について同様の方法で調製し，β-CyD を含まない PF ドライシロップとした．これらサンプル 1 g ずつを水 10 ml に懸濁し，その 2—3 ml を健康成人男子7人に服用させ，両サンプル間での苦味刺激性を比較した．有意差の判定は二点識別法[7] に準じた．

溶出試験　PF を蔗糖および CMC-Na と練合して得た混合物 (PF: 蔗糖: CMC-Na＝100：85：6 (重量比)) を対照として β-CyD 複合体と比較した．日局十崩壊試験用第1液 (pH1.2) または蒸留水 900ml 中に，PF 100mg 相当量の検体を投入し，経時的にサンプリングした．なお，測定条件は日局十溶出試験法のパドル法[8] に準じ，50 rpm, 37°C で行い，UV 法 (254 nm) により定量した．

***In Vivo* 実験**　ビーグル犬の雄，雌各々2頭ずつ計4頭 (体重約 10 kg) を少なくとも 12 時間絶食させた後，PF として 2 mg/kg 相当量の検体を 0.2% CMC-Na に懸濁させ，胃ゾンデを用いて経口投与した．投与は2頭ずつ2群に分けてクロスオーバー法により行い，投与間隔は2週間とした．投与後一定時間毎に，左右前肢より 5—6 ml ずつ採血し，血漿を遠心分離後，測定まで －20°C で凍結保存した．

NII-Electronic Library Service

血中濃度の測定　血漿 100 μl に内部標準物質アスコルビン酸のメタノール溶液 (1 mg/10 ml) 100 μl とメタノール 100 μl を加え，タッチミキサー (日本理化学器機製) で1分間攪拌後，3000 rpm，10 分，5°C で遠心分離し除蛋白操作を行った．この上清 10 μl を HPLC に注入し定量した．HPLC は島津 LC-3A 型高速液体クロマトグラフを使用し下記の条件により実施した．検出器：島津 SPD-2A 型分光光度計，カラム：Nucleosil 5 C_{18} (5 μm)，プレカラム：Bondapak C_{18}/Corasil (Waters 社製)，移動相：メタノール-1% 酢酸 (63：37)，流速：1 ml/min，カラム温度：40°C，測定波長：254 nm.

結果と考察

I. PF と β-CyD との複合体形成

1) 水溶液中における複合体形成　Fig. 1 は PF-β-CyD 系の溶解度相図を示す．相図は，Higuchi らの分類[9] による B_s 形を示し，初期直線部分から算出したみかけの安定度定数 (K') は，3050 M^{-1} の値が得られた．また，下降曲線が一定値に落ちつく点をもとに複合体を調製し，固体複合体の組成比を求めたところ，2：3 (PF：β-CyD) を示した．

Fig. 2 は pH 1.6 および 7.0 における β-CyD 共存時の PF の UV 吸収スペクトルを示す．β-CyD の添加により PF の極大吸収波長は，酸性では短波長側へ，中性では長波長側へそれぞれシフトし，吸収強度は酸性で著しく増大し，中性ではやや減少することが観察された．この原因として，酸性条件下では PF の窒素部分がイオン化することにより，分子吸光係数 ε が減少するが，β-CyD 包接により PF の窒素部分の塩基性が変化して非解離形の PF が増加する結果，ε が著しく増大したものと推定される．一方，中性条件下では ε に大きな影響を及ぼす PF の窒素部分が非解離形で存在するため，β-CyD に包接されても ε は大きな変化を生じなかったものと考えられる．これらの結果から，酸性と中性では，PF と β-CyD の包接モードが異なるものと推定される．すなわち，PF は両性物質であるため ($pK_{a_1}=3.3$，ピロリン環窒素原子；$pK_{a_2}=4.3$，カルボン酸)，pH 1.6 においては窒素原子がプロトン化されて包接されにくくなり，カルボン酸側から β-CyD の空洞に包接されるものと推定される．一方，pH 7.0 においては，カルボン酸が解離するため，ピロリン環を先頭に β-CyD 空洞に包接されているものと推定される．これらの包接モードは，CD，蛍光，^{1}H および ^{13}C-NMR スペクトル変化の解析からも支持されるが，これらの詳細については別報にて報告する．

Fig. 3 に，PF-β-CyD 複合体の K' 値の pH プロファイルを示す．Fig. 3 から明らかなように，K' は pH 7.5 付近で最大値を与え，中性付近で最も安定な複合体を形成することが示唆された．

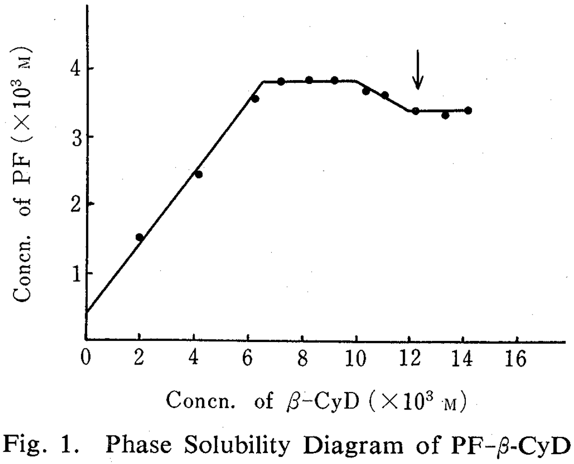

Fig. 1. Phase Solubility Diagram of PF-β-CyD System in Water at 22°C

An arrow showing experimental condition of the preparation of solid complex (see text).

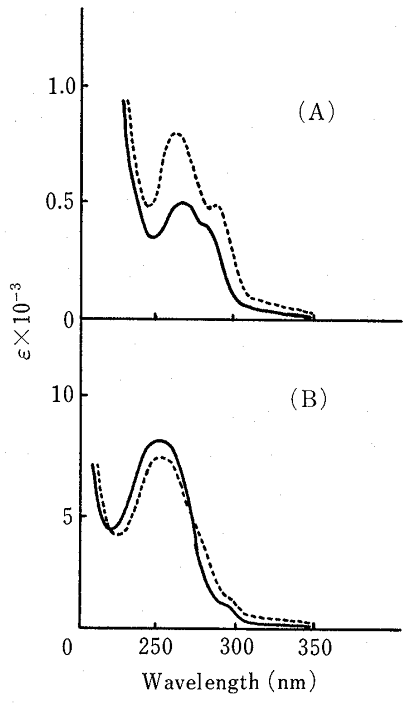

Fig. 2. UV Absorption Spectra of PF-β-CyD System in 0.1 M Phosphate Buffer of pH 1.6 (A) and pH 7.0 (B)

——; PF alone, ------; PF+β-CyD.

NII-Electronic Library Service

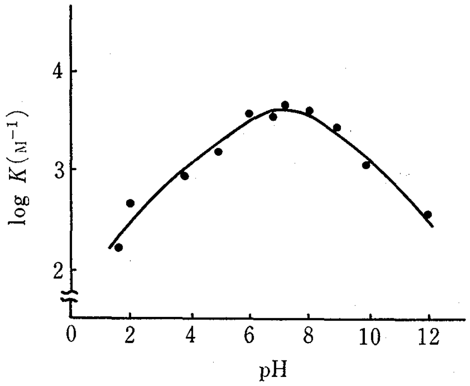

Fig. 3. The pH Profile for the Stability Constant of PF-β-CyD Complex

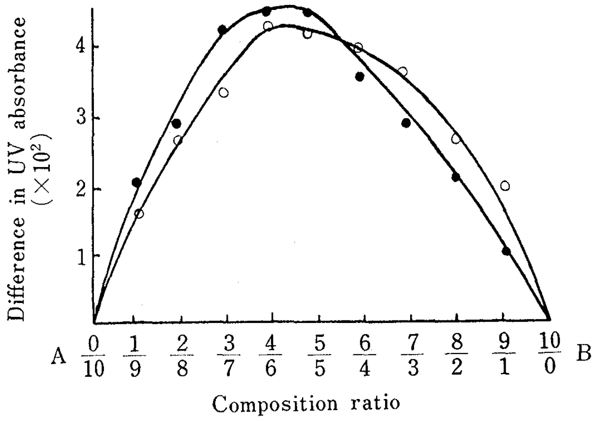

Fig. 4. Continuous Variation Plots of PF (A) and β-CyD (B) System in 0.1 M Phosphate Buffer at 25°C

○; pH 1.6 at 260 nm, ●; pH 7.0 at 253 nm.

さらに，水溶液中における複合体形成のモル比を知るため，PF の紫外部吸光度変化を指標として，連続変化法による検討を行った．Fig. 4 に示すように，酸性および中性のいずれの場合においてもモル比 1：1 (PF: β-CyD) 付近で極大値を示した．このように希薄水溶液中，PF と β-CyD とは酸性から中性の pH 領域にわたって，モル比 1：1 (PF: β-CyD) の複合体を形成することが推定された．なお，高濃度では組成比の異なる複合体を形成する傾向にあり，事実，B_S 形溶解度相図の下降曲線部分からはモル比 2：3 (PF: β-CyD) の固体複合体が単離された．

2) 固体状態における相互作用 Fig. 5 は混練法により調製した PF-β-CyD 複合体の IR スペクトルを PF のそれと比較した結果を示す．1700 cm^{-1} 付近の PF のカルボニル伸縮振動 ($\nu_{C=O}$) は，β-CyD との複合体形成により約 40 cm^{-1} 高波数シフトすることが観測された．一般に，カルボン酸のカルボニル基が水素結合すると，$\nu_{C=O}$ は低波数シフトするが，この水素結合が切断されると，$\nu_{C=O}$ は高波数シフトすることが知られている．このことより，Fig. 5 における $\nu_{C=O}$ の高波数シフトは包接化により PF 分子間の水素結合が切断されて，β-CyD の空洞中に PF が単分子的に分散されたことを示唆するものと考えられる．[10]

Fig. 6 は PF 単独，PF-β-CyD 複合体および物理的混合物 (PF と β-CyD をモル比 2：3 で混合) の DSC パターンを示す．PF および物理的混合物の DSC パターンは，95°C に PF の融解に基づく吸熱ピークを与えるが，複合体ではこのピークは完全に消失することから，β-CyD 包接により PF は非晶質化が起こっているものと考えられる．

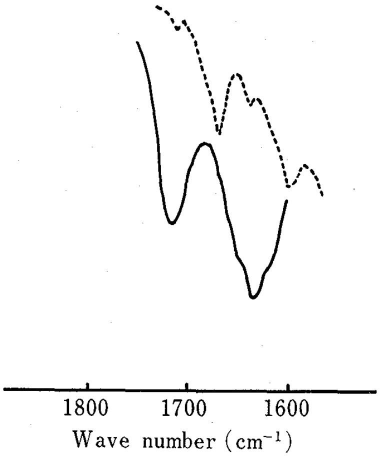

Fig. 5. IR Spectra of PF and Its β-CyD Complex, Measured by KBr Disk Method

------; PF alone, ——; PF-β-CyD complex.

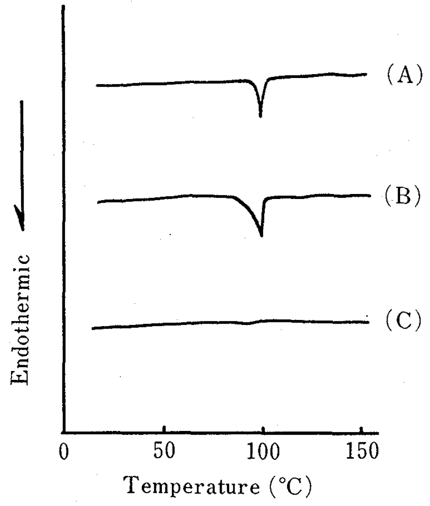

Fig. 6. DSC Thermograms of PF-β-CyD System

(A) PF alone, (B) physical mixture of PF and β-CyD, (C) PF-β-CyD complex.

NII-Electronic Library Service

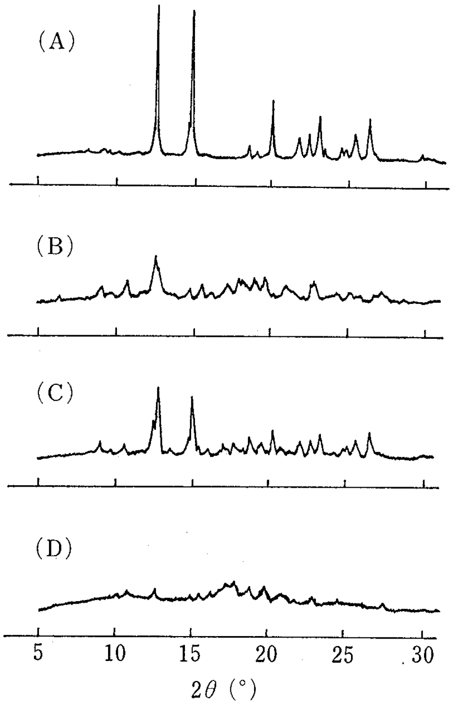

Fig. 7. Powder X-Ray Diffraction Patterns of PF–β-CyD System

(A) PF alone, (B) β-CyD, (c) physical mixture, (D) PF–β-CyD complex.

TABLE I. Stability Data of PF and Its β-CyD Complex

	System	
	PF alone	β-CyD complex
Appearance		
Initial	Slightly yellowish white	White
After 1 week (60°C, 75% R.H.)	Brown	White
After 24 h photo-irradiation[a]	Yellow	White
Production of pyrrol derivative (%)[b]		
Initial	0.11	0.25
After 1 week (60°C, 75% R.H.)	0.44	0.38
After 24 h photo-irradiation[a]	1.62	0.48

a) Xenon lamp.
b) Based on the total amount of PF and pyrrol derivative.

Fig. 7 は PF, β-CyD, それらの物理的混合物，および複合体の粉末X線回折パターンを示す．複合体の回折パターンは各構成成分のいずれとも異なり，回折強度が低下し，非晶質化が示唆された．[11]

以上述べた混練法により調製した複合体に関する物性変化は，飽和溶液法で調製したものについても同様に観察された．そこで，操作の簡便性，収率，主薬の安定性などを考慮すると，PF の場合は混練法の方が飽和溶液法よりも優れていることから，以下の実験においても，前者の方法で調製した複合体を使用した．

II. PF の製剤特性の向上

1) 安定性試験 PF はその化学構造上，窒素原子を含むピロリン環が空気酸化を受けやすく，ピロール環を経て，着色性の黄褐色の分解物を生成する．この酸化分解反応はとくに光や湿度により促進されるため，製剤開発上大きな障害となっている．そこで，PF 原末と β-CyD 複合体について，キセノンランプによる光照射および加温加湿条件下での安定性を比較検討した．その結果，Table I に示すように，β-CyD 包接により PF の着色および分解が抑制されることが確かめられた．

2) 官能検査 官能検査の予備的検討段階において，β-CyD 添加による刺激性苦味の軽減効果は，pH に大きく依存する傾向が認められた．特に，中性から弱酸性の懸濁液では，β-CyD の刺激軽減効果はほとんど認められなかった．そこで，炭酸水素ナトリウムを用いて，pH を 7.5 付近の弱アルカリ性に調製した PF–β-CyD 系の懸濁液と，蔗糖を含む PF の懸濁液との 2 検体について，健康な成人男子 7 人による官能検査を実施した．Table II に示すように，二点識別法による検定より，危険率 5% 以下で，β-CyD 複合体を含む懸濁液の方が，PF 単独の懸濁液よりも有意に刺激性苦味の軽減が認められた．

3) 溶解挙動 ドライシロップ剤の標準処方とした PF の蔗糖および CMC-Na の混練物について，β-CyD 複合体の場合と比較した例を Fig. 8 に示す．溶出液が第 1 液 (日局十, pH 1.2) の場合は，両者の溶解挙動に大きな差は認められなかった．一方，溶出液が水の場合，PF の混練物中に分散剤として用いた CMC-Na が含まれるにもかかわらず，β-CyD 複合体の方が溶出率は大となった．この原因として，PF は強酸性側では主に陽イオン形で存在するため水溶性が高まり，β-CyD 複合体との溶解挙動に顕著な差が認められなかったものと推察される．一方，溶出液が水の場合，PF は溶解度の小さな両性イオン形が多く存在するため，β-CyD 包接による可

NII-Electronic Library Service

Table II. Results of Sensory Test for PF and Its β-CyD Complex

Panel	System	
	PF alone	β-CyD complex
1	+++[a]	+
2	+++	++
3	+++	+
4	+++	+
5	+++	+
6	+++	+
7	+++	+

PF > β-CyD complex ($p<0.05$)

a) Number of + indicates the degree of irritant bitterness.

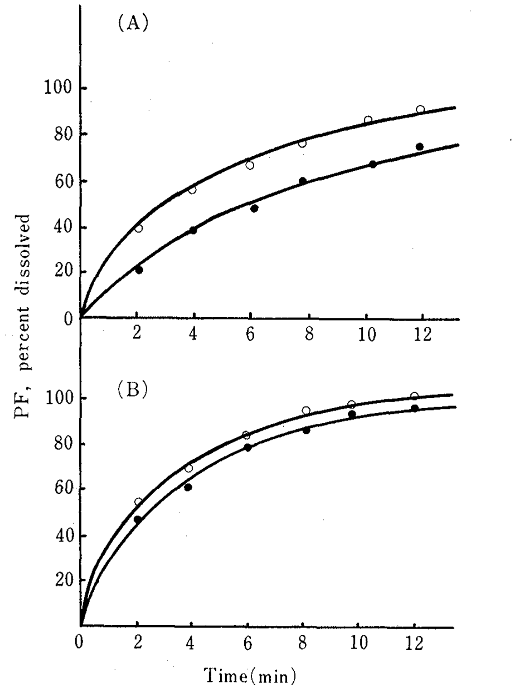

Fig. 8. Dissolution Curves of PF and Its β-CyD Complex in Water (A) and JP X No. 1 Medium (pH 1.2) (B) at 37°C by Dispersed Amount Method

●; PF alone, ○; PF–β-CyD complex.

溶化効果がみかけ上大きくあらわれ，溶解速度を有意に増大させたものと推定される．これらの結果は，PF のように胃内の酸性条件下で解離しやすい薬物からなる複合体の場合，溶解性に顕著な変化を生じないことを示唆する．

4) **バイオアベイラビリティ**　β-CyD は消化管からほとんど吸収されないので,[12] 複合体を固体または懸濁状で投与する場合は消化管液中で溶解，解離し，遊離の薬物のみが吸収にあずかるものと思われる．一般に難水溶性薬物は CyD 包接により溶解速度や粒子径などの溶解性に関する因子が改善され，バイオアベイラビリティの向上が認められる．ところが複合体の安定度定数 K が小さいと溶解中に複合体が解離し，薬物が析出するため，バイオアベイラビリティの改善率は小さく観察される.[13] そこで本研究においても PF およびその β-CyD 複合体を懸濁状でビーグル犬に経口投与し，血漿中 PF 濃度の時間的推移を比較検討した．Fig. 9 に示すように，両者の血漿中 PF 濃度-時間曲線下面積には有意差が認められなかった．この結果は従来観察される弱酸性または非解離性薬物をゲスト分子とする場合とは異なる現象であり，その主な原因として PF が両性物質であることによるものと考えられる．すなわち，Fig. 3 の K 値に関する pH プロファイルから明らかなように，酸性およびアルカリ性側では PF–β-CyD 複合体の K 値が小さく，たとえば強酸性では中性領域に比べて約 1/30 に減少する．この事実をもとに Fig. 9 の結果を考察すると，まず胃内の酸性条件下では溶解後，複合体が容易に解離して PF を析出し，さらに小腸へ移行すると pH の上昇によって逆に複合体の解離が抑えられるため，遊離の PF 濃度が減少したものと考えられる．

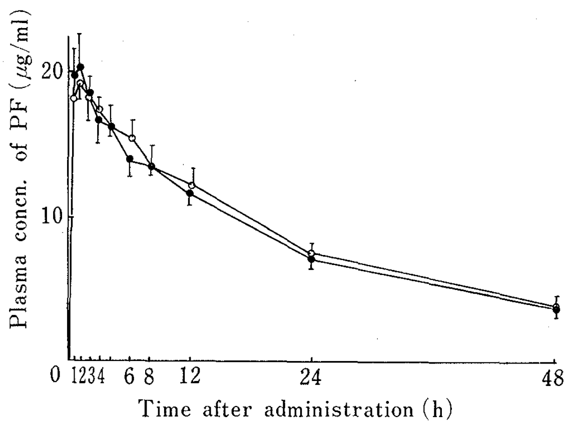

Fig. 9. Plasma Concentration of PF Following Oral Administration to Dogs ($n=4$)

●; PF in CMC-Na suspension (mean±S.E.), ○; PF–β-CyD complex in CMC-Na suspension (mean±S.E.).

以上述べたように，両性薬物をゲスト分子とする複合体の溶解および解離現象に対して，胃腸管分泌液の生理的 pH は薬物吸収に不利な方向に変化することから，経口投与時のバイオアベイラビリティ改善は大きく望めないものと思われる．

NII-Electronic Library Service

III. 総　　括

本研究で得られた主な知見を以下に要約する．(1) β-CyD 包接により PF の溶解性，安定性，刺激性苦味などが著しく改善された．(2) PF は両性物質であるため，水溶液中では pH の相違により β-CyD への包接モードが異なるものと推定された．(3) 刺激性苦味の軽減効果が著しかったが，弱酸性側での苦味の軽減はほとんど認められなかった．(4) β-CyD 複合体の経口投与によるバイオアベイラビティは，PF 単独投与の場合とほとんど同一であることが判明した．以上の知見の中で特に，β-CyD との複合体形成により PF の安定性の改善および刺激味の軽減が認められたことは，PF の経口製剤の開発を進める際の処方の設定において，有用な基礎資料になるものと考えられる．

謝辞　本研究の一部に協力された日本チバガイギー株式会社医薬研究部薬物分析動態研究室　小林清隆氏に深く感謝致します．

引用文献および注

1) 日本薬学会第 103 年会で発表，東京，1983 年，4 月．
2) M. L. Bender, M. Komiyama, "Cyclodextrin Chemistry," Springer-Verlag, New York, 1978; J. Szejtli, "Cyclodextrin and Their Inclusion Complexes," Académiai Kiadó, Budapest, 1982.
3) N. Nambu, K. Kikuchi, T. Kikuchi, Y. Takahashi, H. Ueda, T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3609 (1978).
4) たとえば W. Saenger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, 344 (1980); 上釜兼人，薬誌，**101**, 857 (1981).
5) R. L. Scott, *Rec. Trav. Chim.*, **75**, 787 (1956).
6) T. Higuchi, J. L. Lach, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **43**, 349 (1954).
7) 佐藤　信，"官能検査入門，" 日科技連，1978, p. 52.
8) 第十改正日本薬局方解説書，廣川書店，1981, B-257.
9) T. Higuchi, K. A. Connors, *Advan. Anal. Chem. Instr.*, **4**, 117 (1965).
10) Y. Nakai, S. Nakajima, K. Yamamoto, Y. Terada, T. Konno, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3419 (1978).
11) M. Kurozumi, N. Nambu, T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3062 (1975).
12) J. Szejtli, A. Gerloczy, A. Fonagy, *Arzneim. -Forsch. Drug Res.*, **30**, 808 (1980).
13) K. Uekama, S. Narisawa, F. Hirayama, M. Otagiri, *Int. J. Pharm.*, **16**, 327 (1983).

NII-Electronic Library Service