

pH調整剤として有機酸を用いた難水溶性化合物ケトコナゾールの溶出性
及び経口吸収性の改善ならびにその製剤の製造方法に関する研究

2016年

足立昌資

目次

略語一覧.....	1
諸言.....	2
第1章　pH 調整剤として有機酸を含有するケトコナゾール可溶化製剤の開発.....	5
第1節 序論.....	5
第2節 ケトコナゾールの溶出性.....	5
第3節 有機酸の選択.....	7
第4節 ケトコナゾール-有機酸顆粒の製造.....	9
第5節 溶出試験.....	10
第6節 ラット経口投与試験.....	11
第7節 考察.....	14
第2章　pH 調整剤として有機酸を用いたケトコナゾールの可溶化に最適な製造方法の検討	18
第1節 序論.....	18
第2節 ケトコナゾール-クエン酸顆粒の製造.....	18
第3節 ケトコナゾール-クエン酸錠剤の製造.....	23
第4節 溶出試験.....	25
第5節 ラット経口投与試験.....	28
第6節 考察.....	31
総括.....	33
謝辞.....	36
実験の部.....	37
第 1 章第 2 節の実験材料及び方法.....	37
第 1 章第 4 節の実験材料及び方法.....	37
第 1 章第 5 節の実験材料及び方法.....	38

第 1 章第 6 節の実験材料及び方法.....	38
第 2 章第 2 節の実験材料及び方法.....	39
第 2 章第 3 節の実験材料及び方法.....	40
第 2 章第 4 節の実験材料及び方法.....	41
第 2 章第 5 節の実験材料及び方法.....	41
引用文献.....	42

略語一覽

AA:	aspartic acid
AUC:	area under the plasma concentration-time curve
CA:	citric acid
C_{\max} :	maximum concentration
HCl:	hydrochloric acid
HPLC:	high performance liquid chromatography
IFA:	Institute for Occupational Safety and Health
KZ:	ketoconazole
MA:	malic acid
SA:	succinic acid
S.E.:	standard error of mean
SEM:	scanning electron microscope
TA:	tartaric acid
t_{\max} :	time-to-maximum concentration
UV:	ultraviolet

諸言

医薬品開発に従事する者として、その医薬品を服用する患者の生活の質（Quality of life）を高い水準で保つことは重要な課題である。優れた製剤の満たすべき条件は、医薬品の効能を最大限に発揮させることと共に、患者にとって扱いやすく、服用しやすいことである。注射剤のような液剤は全身循環血に直接投与するため、薬効を発現させる点では有効である。しかしながら、注射による薬物投与は患者に苦痛を与え、また、投与を受けるために医療機関に赴く必要がある点で Quality of life の低下は避けられない。また、ドライシロップのような経口投与する液剤は注射のような苦痛は及ぼさないが、薬物の苦みが問題となる場合もあり、また、製剤の保存安定性に留意する必要も生じる。

経口固形製剤は投与が簡便で苦痛もなく、薬物の苦みはフィルムコートのような製剤技術で改善することが可能である。しかしながら、新規化合物のほぼ半数が難水溶性を示す現状と共に、薬物の溶解性改善が固形製剤の薬効発現に大きな影響を及ぼすことが知られている¹⁻³⁾。経口投与された固形製剤は食道を経て胃、そして、小腸に移行した後に膜透過により吸収され、全身循環血を介して標的器官に達し薬効を発現する。このように薬物が体内で吸収されるには消化管内で溶解することが必須である。薬物が難水溶性である場合、溶解量を増加させる目的で単純に投与量を増やすという吸収性改善のための対策もあるが、製剤が大型化し投与がより困難となり、かつ、過剰摂取などの安全性の問題も考えられる。したがって、現在、製剤開発における薬物の溶解性改善は非常に注目を集めている。

これまで薬物の溶解性改善のための技術として、塩の形成、界面活性剤によるミセル形成、固体分散体やスプレードライのような非晶質化、薬物の微粉碎及びナノ粒子化、シクロデキストリンに代表される包接化合物との併用などの手法が開発されている⁴⁻¹³⁾。いずれの手法も薬物の溶解性を確かに改善させるが、その一方で製剤開発に適用するための課題も依然として存在する。まず、塩の形成は薬物の物性自体が変化することが容易に考えられ、その変化が薬効にも悪影響を及ぼすことが懸念される。ミセル形成及び包接化合物の適用は薬物の溶解度を増加させるが、それは溶質としての溶解度ではないため、みかけの溶解度が改善する

のみで、体内での膜透過性は改善しないこともある¹⁴⁾。また、界面活性剤やシクロデキストリンのような担体は、溶解性改善のためにある程度の量が必要となるため製剤が大型化する傾向にある¹⁵⁾。一方、非晶質化の技術は、近年、成熟してきたが製剤中での安定性に懸念があり、また、特殊な設備が必要となり投資面で負担が増大することも考えられる。薬物の微粉砕は熱などに不安定な薬物には適用できず、また、粉砕後の粒子が凝集して2次粒子を形成し、期待したほどの表面積の増加が認められないことも往々にして認められる。

そこで、本研究では pH 調整剤による難水溶性薬物の溶解性及び吸収性改善を検討した。このアプローチには特殊な添加剤は不要で、また、少量の pH 調整剤の添加で pH を調整することができる。さらに、従来の簡便な製造方法を用いて薬物の溶解性改善が可能であるため、新たな設備投資は不要である¹⁶⁾。先に述べたように経口投与された薬物は消化管、中でも主に胃で溶解する。すなわち、胃内での薬物の溶出挙動が薬効発現に大きく関与することを意味している。医薬品を服用する患者の中には高齢、疾病及び多剤併用により胃酸分泌量が通常より少ない患者も存在する。特に日本人は先述のような患者でないにもかかわらず低胃酸の人が多く知られている¹⁷⁾。医薬品の承認申請においてそのような低胃酸症患者の体内動態を考慮した試験計画が要求されていることから、胃内環境が薬効発現に与える影響は非常に大きいことが明らかになっている^{18,19)}。低胃酸症患者の胃内 pH は弱酸性あるいは中性付近まで上昇しているため、特に弱塩基性化合物を投与する際、薬物が胃内で十分に溶解せず、吸収量の低下や治療効果が患者間で変動する危険性がある。このような場合、pH 調整剤として有機酸を製剤に添加することで、低胃酸環境下でも胃内 pH を酸性側にシフトすることができ、胃内 pH の変動が薬物溶解性及び吸収性に及ぼす影響を抑制することができる^{20,21)}。

ケトコナゾール (KZ) はイミダゾール系の抗真菌剤として用いられる薬物で、シャンプー及び錠剤が市販されている (日本市場には流通していない)^{22,23)}。また、KZ は治療薬としてだけでなく、薬物代謝酵素の基質となるため医薬品開発の初期段階である安全性評価、特に薬物相互作用を評価するのに汎用される化合物である。開発初期の第 1 相試験では高い薬物

曝露量を用いて試験するために、薬物の溶解性改善が必要となることが多い。また、KZは Fig. 1 に示す構造を持つ弱塩基性化合物であり、その溶解度は溶媒の pH に依存的であることが知られている (Fig. 2) ^{24,25}。実際に過去の研究で、先述のような胃内環境の変動により KZ の溶解性及び吸収性に変動が生じた例が報告されている ²⁵⁻²⁷。したがって、KZ の溶解性改善は pH 調整剤の併用により達成できる可能性は高いと考えられ、また、その溶解性改善は十分に薬効を発現し、かつ、患者の Quality of life を高い水準で保持できる高品質の製剤を開発するのに有用である。加えて、薬物相互作用の評価に適した KZ の物性を考えると、この溶解性改善を成し遂げることで様々な医薬品製剤の開発にも貢献できると考えられる。

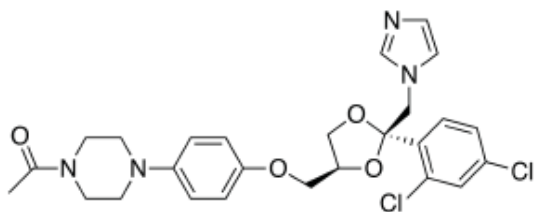


Fig. 1 Chemical structure of ketoconazole

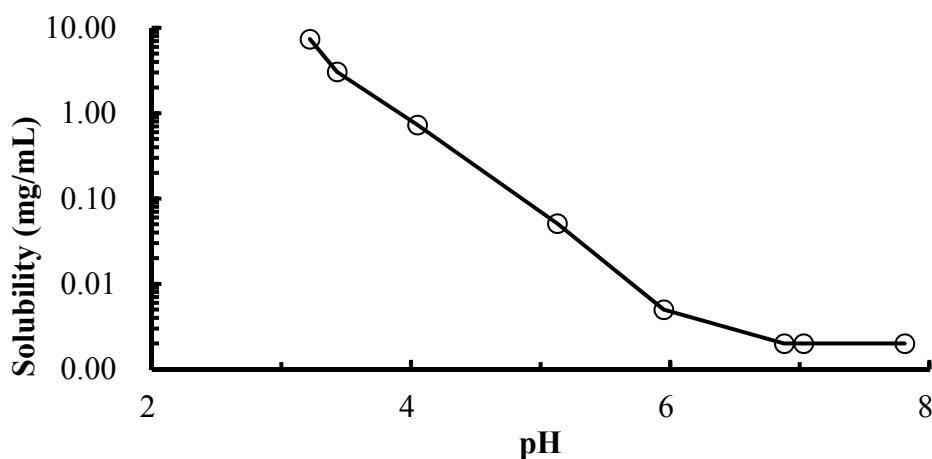


Fig. 2 pH-solubility profile of ketoconazole in aqueous buffer at 37°C. (*Eur. J. Pharm. Sci.*, **76**, 225-230 (2015) Fig. 1)

第1章 pH 調整剤として有機酸を含有するケトコナゾール可溶化製剤の 開発

第1節 序論

諸言でも述べたように、薬物の溶解性を改善するために様々な技術が開発されており、KZ 製剤にも適用されてきた。これら薬物溶解性改善の技術には噴霧乾燥法による非晶質化、固体分散体及び包接化合物の形成などが挙げられるが、pH 調整剤による溶解性改善を扱った研究はなされていないのが現状である²⁸⁻³¹⁾。pH 調整剤と類似のアプローチとして KZ と酸性飲料を併用した低胃酸環境下の溶解性改善が試みられた³²⁾。酸性飲料と併用することで低胃酸症モデルラットにおける KZ の吸収は改善されたものの、無処理の通常ラットに KZ 単体を投与したときの吸収性には大きく劣るという結果だった。しかしながら、この研究結果により、消化管の pH を酸性にすることが KZ の溶解性改善に寄与することが明らかとなった。

本研究で pH 調整剤として用いる有機酸は既に市販の医薬品や食品に含有されているため、製剤服用後の安全性（毒性）に関する懸念はないと考えられる。pH 調整剤も添加剤の 1 つであることから、製造性、製剤特性及び本研究での重要な目的である KZ の溶解性改善効果の観点から最適なものを選択する必要がある。そこで、まず種々の物性を有する有機酸を含有する KZ 製剤を調製し、低胃酸環境下で KZ の溶解性及び吸収性が改善されることを検討した。得られた製剤からの KZ の放出を溶出試験で評価及び比較し、その結果に基づき最適な有機酸を選択した。また、その最適な有機酸を用いて開発した KZ 製剤について、低胃酸症モデルラットでの薬物動態学的評価を実施した。

第2節 ケトコナゾールの溶出性

KZ の生理学的 pH における溶出性を確認するために、KZ と乳糖水和物の物理混合品を用いて、種々の pH の溶液を試験液として溶出試験を実施した (Fig. 3)。先にも述べたように KZ は弱塩基性化合物であるため、酸性の試験液 (pH 1.0 及び pH 2.0 の塩酸溶液) 中で KZ は

速やかな溶出挙動を示した。一方、弱酸性及び中性付近の試験液（pH 5.5, 6.0, 6.8 のリン酸緩衝液）においては KZ の溶出性は急激に低下し、試験開始 60 分後の溶出率は 10% を下回った。

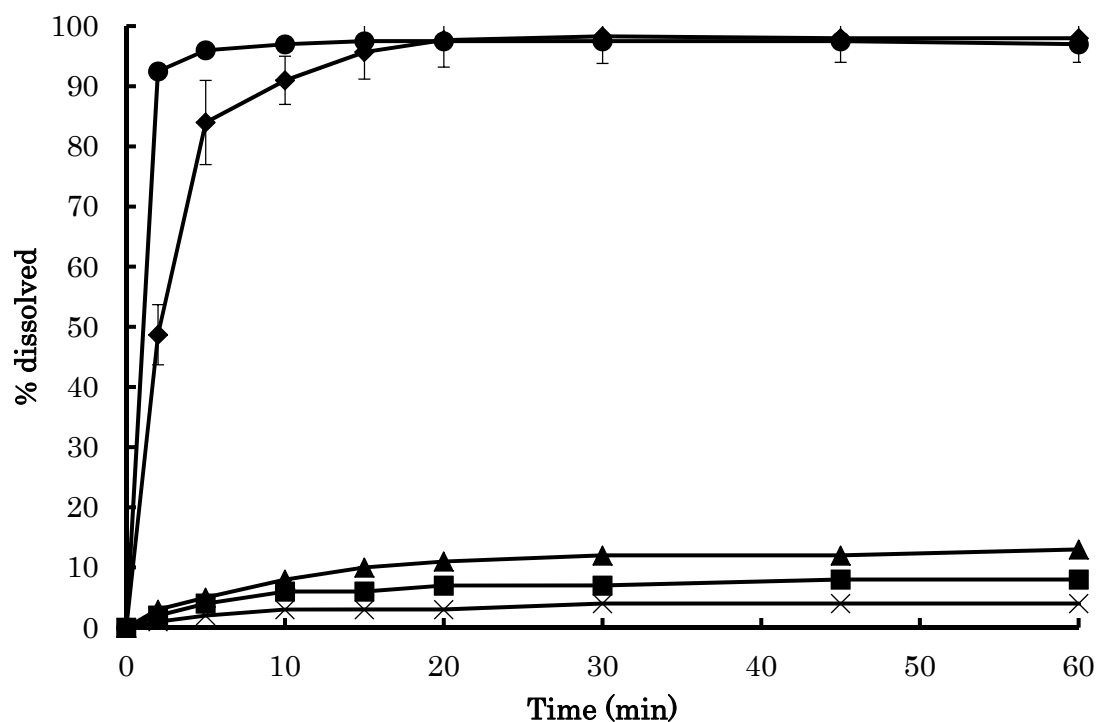


Fig. 3 Dissolution profiles of ketoconazole from the binary mixture of ketoconazole and lactose monohydrate in test medium at different pH. Keys: (●) 0.1 M HCl solution at pH 1.0; (◆) 0.01 M HCl solution at pH 2.0; (▲) phosphate buffer solution at pH 5.5; (■) phosphate buffer solution at pH 6.0; and (×) phosphate buffer solution at pH 6.8. The results are expressed as the mean \pm S.E. of 3 experiments. (*Eur. J. Pharm. Sci.*, **76**, 225-230 (2015) Fig. 2)

KZ の溶出性改善を溶出試験結果で明らかにする必要があること及び生物学的同等性試験ガイドラインにおいて低胃酸症の pH は 5.5 が識別の指標と定義されていることを考慮して、KZ の溶出性改善を評価するために最適な試験液は pH 6.0 リン酸緩衝液と考えた³³⁾。

本実験で得られた結果から算出した溶解度を Fig. 2 に示した KZ の溶解度プロファイルと比較すると、両者の値は一致しなかった。例えば、pH 6.0 の溶解度は、Fig. 3 から算出すると 0.018 mg/mL となるのに対し、Fig. 2 においては 0.005 mg/mL である。これは得られた溶解度

の意義の相違に起因すると思われる。すなわち Fig. 2 に示した値は平衡状態での溶解度（KZ 溶液を調製してから 96 時間後の溶解度）であるのに対し、試験時間が 1 時間である本溶出試験で得られた溶解度は速度論的溶解度であると考えられる。

第3節 有機酸の選択

有機酸は医薬品や食品業界において汎用されており、使用実績も豊富である。ただ、本研究の将来への展望から医薬品製造に適した有機酸を選択するうえで、(1) 室温で固体である、(2) 医薬品への使用実績があり安全性が担保されている、という 2 つの条件を定めた。(1) について、室温で液体の有機酸は湿式製造法においては結合液等に使用できるが、水分を用いない乾式製造法には使用できないため汎用性を欠くと判断し除外した。

それらの条件を満たす有機酸を物理化学的性質と共に Table 1 に示した。水への溶解性は多岐に亘り、室温での pKa 値は 2 から 4 であった。

Table 1 Physicochemical properties of the organic acids used in the study (*Eur. J. Pharm. Sci.*, **76**, 225-230 (2015). Table 1)

Acid	Solubility in water (g/100 mL)	pKa at 25°C	Melting point (°C)	Molecular mass
L-Tartaric acid	139 (20°C) ^a , 176 (40°C) ^a	2.98, 4.34 ^a	168-170 ^a	150.09 ^a
Citric acid monohydrate	59.2 (20°C) ^b	3.128, 4.761, 6.396 ^a	~100 ^a	210.14 ^a
DL-Malic acid	55.8 (20°C) ^a	3.40, 5.13 ^e	131-132 ^a	134.09 ^a
Succinic acid	5.8 (20°C) ^c	4.21 ^{d, f} , 5.64 ^f	185-187 ^a	118.09 ^a
L-Aspartic acid	0.0045 (20°C) ^a , 0.0067 (30°C) ^a	1.88, 3.65, 9.60 ^a	270-271 ^a	133.10 ^a

^a THE MERCK INDEX, ^b International Chemical Safety Cards, ^c IFA database

^d Stahl, P.H., Welmuth, C.G., 2002. Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use. Wiley-VCH, Berlin, German

^e Pharm Res (2013) 30: 1561-1573. Supersolubilization and amorphization of a model basic drug, haloperidol, by interaction with weak acids

^f Process Biochemistry (2014) Salting-out extraction and crystallization of succinic acid from fermentation broths

第4節 ケトコナゾール-有機酸顆粒の製造

KZ と有機酸を含有する顆粒（KZ-有機酸顆粒）を攪拌混合造粒法で製した。顆粒の処方 Table 2 に示す。

Table 2 Composition of ketoconazole-acid granules (*Eur. J. Pharm. Sci.*, **76**, 225-230 (2015). Table

2)

	Amount (mg)	Amount (mg)
Ketoconazole	200.0	200.0
Organic acid (tartaric acid, citric acid, and malic acid)	200.0	-
Organic acid (succinic acid and aspartic acid)	-	200.0
Lactose monohydrate	-	484.4
Microcrystalline cellulose	692.0	207.6
Hydroxypropylcellulose	36.0	36.0
Total (granules)	1128.0	1128.0

この際、Table 2 に示すように、顆粒の処方は用いた有機酸の種類により 2 つの処方を使い分けている。すなわち、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸を含有する顆粒（KZ-TA 顆粒、KZ-CA 顆粒、KZ-MA 顆粒）においても、コハク酸、アスパラギン酸を含有する顆粒（KZ-SA 顆粒、KZ-AA 顆粒）と同様に、乳糖と結晶セルロースを賦形剤として用いたところ、造粒機への付着が激しく製造上問題となることが確認された。そこで、処方中の乳糖の全量を保水性に優れた結晶セルロースで置き換えたところ、造粒機への付着はなくなり製造上の問題を解決することができた。

逆に、KZ-SA 顆粒及び KZ-AA 顆粒の製造において結晶セルロースのみを賦形剤として用

いたところ、十分に大きい粒子径を持つ顆粒を得るのに大量の精製水が必要だった。造粒機への付着は認められなかったが、次工程で水分を除去するのに要する乾燥時間が過度に長くなることが予想された。この際、未だ製剤の安定性が明らかでない状況で、過度に製剤を乾燥することは望ましくないと考えた。

第5節 溶出試験

KZ 製剤における KZ 溶出性改善を確認するために pH 6.0 リン酸緩衝液を試験液として用いて溶出試験を実施した (Fig. 4)。

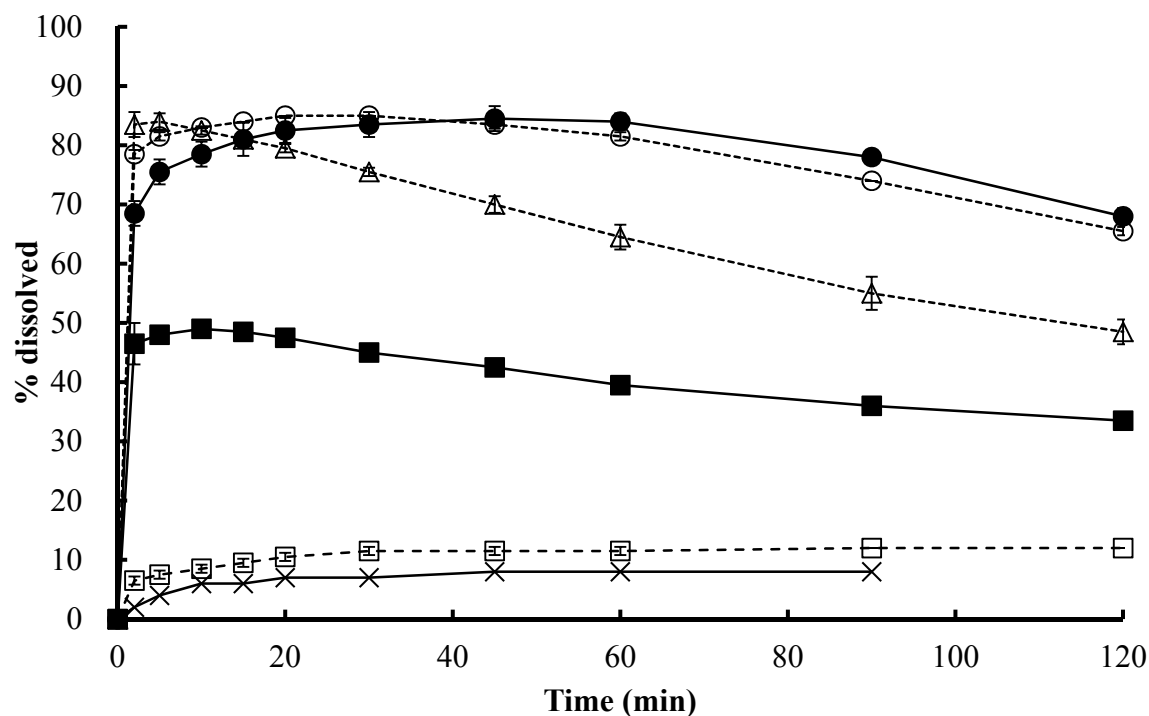


Fig. 4. Dissolution profiles of ketoconazole from ketoconazole-acid granules in phosphate buffer solution at pH 6.0. Keys: (●) ketoconazole (KZ)-citric acid granules; (○) KZ-tartaric acid granules; (Δ) KZ-malic acid granules; (■) KZ-succinic acid granules; (□) KZ-aspartic acid granules; and (×) Ketoconazole only. The results are expressed as the mean \pm S.E. of 3 experiments. (*Eur. J. Pharm. Sci.*, 76, 225-230 (2015). Fig. 3)

その結果、有機酸を製剤中に添加することで KZ の溶出性が改善されることが明らかとなった。試験終了後の試験液 pH は、いずれの製剤においても試験開始前と変化していなかった。したがって、得られた KZ の溶出性改善は過飽和によるものと考えられた。

KZ-AA 顆粒は KZ 単体と同等の低い溶出性を示し、溶出性改善は認められなかった。一方、KZ-CA 顆粒及び KZ-TA 顆粒は KZ 単体と比較して溶出率は最大で 8 倍以上の改善が認められた。試験終了に至るまでに KZ の溶出率は漸減したが、試験開始 2 時間後の溶出率は KZ 単体の約 7 倍だった。KZ-MA 顆粒は試験開始直後（試験開始 2 分後）こそ KZ-CA 顆粒及び KZ-TA 顆粒と同等の KZ の溶出率を示したが、試験開始 5 分後にはその溶出率は下降を開始し、試験開始 2 時間後の溶出率は KZ 単体の約 6 倍となった。KZ-SA 顆粒は試験開始直後に KZ 単体の約 5 倍の溶出率を示したが、試験開始 2 時間後には約 3 倍の溶出率に下降した。

これらの結果より溶解度の高い有機酸は、溶解度の低い有機酸と比較して KZ の溶出性をより効果的に改善することが認められた。また、KZ の溶出性を効果的に改善した点、また、医薬品のみならず食品・飲料にも汎用されており安全性がより高い点を考慮し、本研究で利用した有機酸の中でクエン酸が最も優れた pH 調整剤であると判断した。

第6節 ラット経口投与試験

KZ-CA 顆粒の経口吸収性を明らかとするためにラットに KZ 単体及び KZ-CA 顆粒を KZ として 35 mg/kg の用量で単回経口投与し、血漿中濃度を経時的に測定し、薬物動態学的パラメーターを求めた。経口投与 8 時間後までの血漿中濃度-時間曲線を Fig. 5 に、薬物動態学的パラメーターを Table 3 に示した。ラットに経口投与した顆粒の胃内滞留時間は 0.7~2.1 時間³⁴⁾、また、ペレットの小腸内通過時間は 2.5~4 時間³⁵⁾と報告されていることから、顆粒製剤のラット胃腸管を移行する時間は長くとも 6~7 時間と考えられる。したがって、本試験の経口投与後 8 時間経過した時点で投与した顆粒製剤の大半は吸収部位である小腸から下部に移動していると推測される。

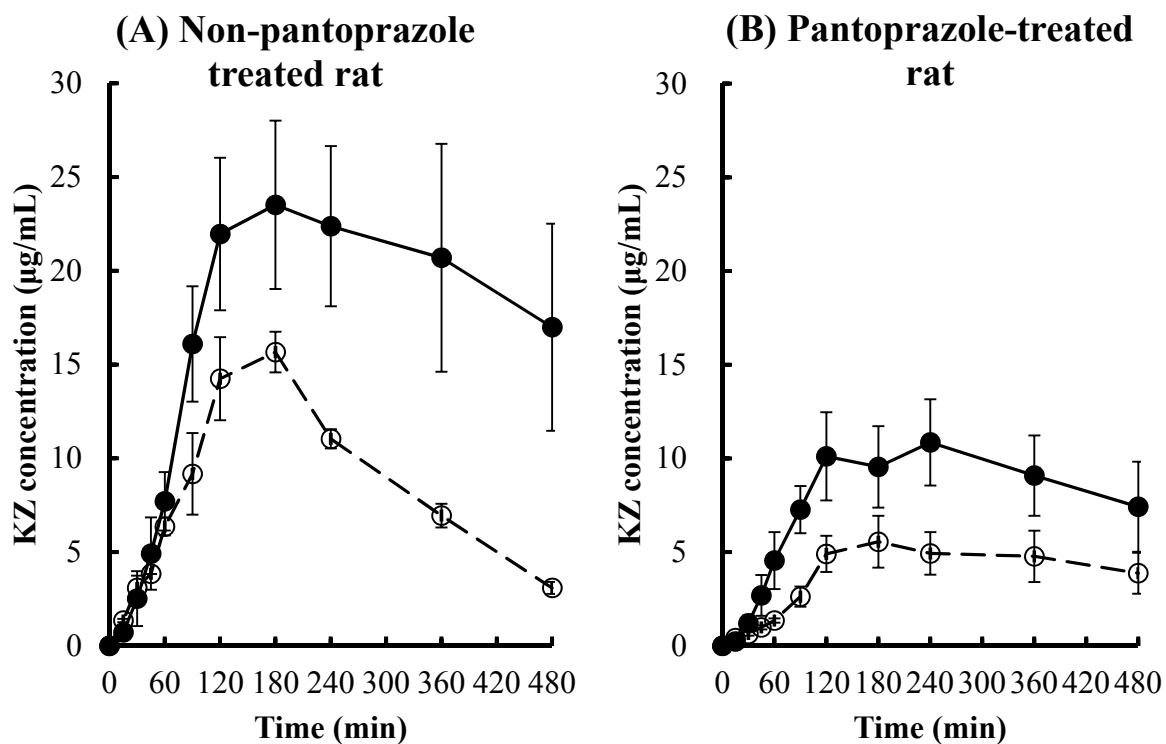


Fig. 5. Plasma concentration vs. time profiles of ketoconazole in ketoconazole-acid granules or in solution following a single oral administration in rats (A) without neutralization of gastric acid and (B) with neutralization of gastric acid by pantoprazole. Keys: (○) ketoconazole only; and (●) ketoconazole-citric acid granules. The results are expressed as the mean \pm S.E. of 4 experiments. (*Eur. J. Pharm. Sci.*, **76**, 225-230 (2015). Fig. 5)

Table 3. Comparison of pharmacokinetic parameters following a single oral administration of the ketoconazole-acid granule and ketoconazole in rats^a (*Eur. J. Pharm. Sci.*, **76**, 225-230 (2015). Table 4)

	C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	t_{\max} (min)	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$)
Ketoconazole	16.4 ± 1.5	165.0 ± 13.0	4185.1 ± 442.3
Ketoconazole-acid granule	24.5 ± 4.2	225.0 ± 44.4	8697.4 ± 1939.5
Ketoconazole (after neutralization of gastric acid)	6.4 ± 1.0	165.0 ± 13.0	1947.4 ± 438.6
Ketoconazole-acid granule (after neutralization of gastric acid)	11.2 ± 2.2	165.0 ± 13.0	3924.2 ± 897.9

^a The results are expressed as the mean \pm S.E. of 4 experiments.

無処理の通常ラットに製剤を経口投与して得られた血漿中濃度プロファイルを図 5-(A) に示したが、クエン酸を添加することで KZ の経口吸収性が改善されることが明らかとなった。経口投与後の KZ 単体及び KZ-CA 顆粒の C_{\max} はそれぞれ $16.4 \pm 1.5 \mu\text{g/mL}$ 、 $24.5 \pm 4.2 \mu\text{g/mL}$ であり、8 時間までの AUC はそれぞれ $4185.1 \pm 442.3 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ 、 $8697.4 \pm 1939.5 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ であった。

また、KZ-CA 製剤の低胃酸環境下における経口吸収性の改善効果を評価するために、パントプラゾールを投与した低胃酸症モデルラットに製剤を投与した。その結果得られた血漿中濃度プロファイルを図 5-(B) に示した。過去の研究より、パントプラゾールを投与したラットの胃内 pH は 4 から 5 に上昇し、その pH の上昇は 4 時間持続することが認められている^{36, 37)}。その低胃酸環境下においても、クエン酸を添加することで KZ の経口吸収性は改善された。

低胃酸症モデルラットに経口投与後の KZ 単体の C_{\max} は $6.4 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$ であり、8 時間までの AUC は $1947.4 \pm 438.6 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ であった。通常ラットの KZ 単体を投与して得られた

結果と比較して、 C_{max} は約 61%、AUC は約 53%低下した。KZ-CA 顆粒の C_{max} は $11.2 \pm 2.2 \mu\text{g/mL}$ であり、8 時間までの AUC は $3924.2 \pm 897.9 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ であった。これは同じ低胃酸症モデルラットに KZ 単体を投与して得られた C_{max} 及び AUC と比較して、それぞれ約 75%、102% 増加した。したがって、クエン酸を加えることで低胃酸環境下における KZ 吸収低下を抑えることができたと考えられた。

一方、KZ-CA 顆粒を低胃酸症モデルラットに投与して得られた AUC は、KZ 単体を通常ラットに投与して得られた結果と比較して約 94%と同等だった。このことから低胃酸症患者でもクエン酸を配合した製剤を投与することで、通常の胃内 pH を持つ患者に従来のケトコナゾール製剤を投与したときと同等の治療効果を発揮できる可能性が示唆された。

第7節 考察

本研究では攪拌混合造粒法という簡便かつ汎用的な製造方法で有機酸を含有する KZ 製剤を製造することに成功した。すなわち、Non-sink 条件の溶出試験で、有機酸を添加することで中性付近での KZ の溶出性低下を抑制できることを明らかにした。

興味深いことに KZ の溶出性改善の度合は、用いた有機酸に依存して変動することが認められた。先述の通り、この溶出性改善は過飽和によるものであり、溶解度の高い有機酸が KZ の溶出性改善により有利だった。この結果より pH 調整剤としての有機酸は顆粒製剤近傍の微小領域 pH を酸性にしていることが示唆された³⁸⁾。その酸性 pH 環境下にある微小領域内で KZ は溶解し、試験液中に過飽和状態で溶解することで溶出性改善が達成されたと考えられる。検討結果より推測された、pH 調整剤により微小領域 pH が効果的に調整されているイメージ図を Fig. 6 に示した³⁹⁾。

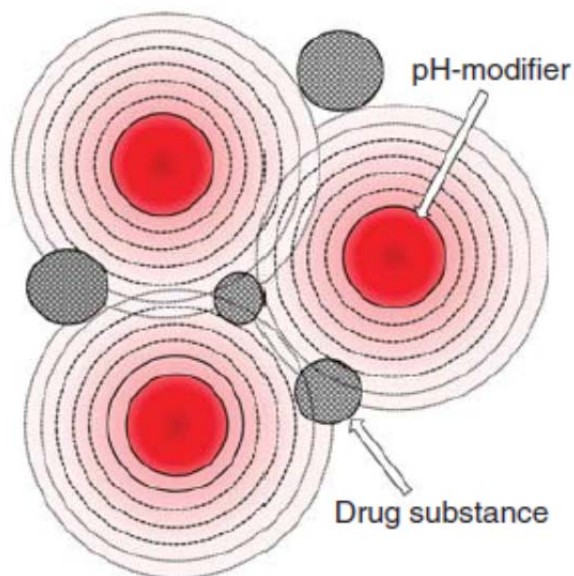


Fig. 6. Image of creating a favorable microenvironmental pH for drug dissolution in the presence of pH-modifier

その推測された機構を基に考えると、溶解度の高い有機酸が KZ の溶出性をより効果的に改善することが想定できる。一般に、有機酸は試験液に溶解することで pH 調整効果を発揮できると考えられる。したがって、製剤内の有機酸が顆粒近傍の微小領域内に存在する微量の試験液に溶解することが、KZ の溶解性を改善するための必須条件となる。Table 1 に示したようにクエン酸、酒石酸は溶解度が高いため、その条件を満たすことができ、中性条件での KZ の溶出性を大きく改善することができたと考えられる。

一方、リンゴ酸も高い溶解度を有するため、溶出試験開始直後は KZ の溶出性を改善することができた。しかし、その改善効果はクエン酸、酒石酸ほど効果的に持続しなかった。これは過飽和度が過度に高くなったことによる過飽和寿命の短縮が原因であると考えられる。過飽和度は過飽和状態を維持するための非常に重要な因子で、過去の研究で過飽和状態を長く保持する目的で、過飽和度を敢えて抑える手法が紹介されている⁴⁰⁾。しかしながら、リンゴ酸のどのような特性が過飽和度の過度な上昇に寄与しているかは現時点では明らかではない。

コハク酸の KZ の溶出性改善の結果から、溶解度と共にもう 1 つ pH 調整剤としての重要な

特性が pKa であることが示唆された³⁸⁾。pKa 値は酸性度を示す指標であり、この値が低いほど酸性度が高くなると考えられる。コハク酸の溶解度はクエン酸、酒石酸、リンゴ酸の溶解度と比較すると低い、本実験に用いた試験液量 (900 mL) には製剤中のコハク酸は全量が溶解できる。それにもかかわらずコハク酸の KZ 溶出性改善の度合は他 3 種の有機酸と比較して低いが、これはコハク酸の pKa 値が他の有機酸の値より高いことに起因すると考えられる。各有機酸 200 mg (製剤中の分量) を微量の試験液に溶解したときの pH を測定した結果、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸は 1.8~2.0 を示したのに対し、コハク酸は 2.5 とより高い pH 値を示した。したがって、コハク酸は顆粒近傍の微量の試験液に溶解できたが、微小領域の pH が他の酸と比較して高く、それに伴い KZ の溶解性も抑えられたと考えられる。

アスパラギン酸は溶解度が非常に低く、顆粒近傍の微小の試験液のみならず試験液全量中でも、製剤に含まれる内の一部しか溶解できない。したがって、微小領域 pH を調製することができず、KZ の溶出性はわずかしか改善しなかった。一方、アスパラギン酸は本研究で用いた有機酸の中で最も低い pKa 値を持つ。この結果から、KZ の溶出性改善の度合は有機酸の溶解度で支配されることが示唆される。一方、pKa 値も溶出性改善に影響するが、溶解度の及ぼす影響の方が遥かに大きい。

本研究で用いた有機酸の KZ の溶出性改善効果を比較した結果、クエン酸あるいは酒石酸が優れた pH 調整剤であった。これら 2 種の有機酸のうち医薬品や食品での使用実績がより多いクエン酸を選択し、クエン酸を含む製剤 (KZ-CA 顆粒) を胃内環境が異なる体内動態評価に使用した。KZ 単体を低胃酸症モデルラットに投与して得られた AUC は、通常ラットにおける AUC と比較して約 53% の低下を示した。一方、低胃酸症モデルラットでの KZ-CA 顆粒を投与して得られた AUC は、通常ラットに KZ 単体を投与して得られた AUC と同等の値であった。KZ 単体においては増加した胃内 pH 環境下では KZ の溶出性が低いため、低胃酸症モデルラットの胃内では完全に KZ が溶解できず経口吸収性が低下したと考えられる。KZ-CA 顆粒は低胃酸により pH の上昇した胃内での KZ の溶出性を改善し、通常ラットに KZ 単体を投与したときと同じように KZ を十分に溶解させることで低胃酸症モデルラットでの KZ の吸

収性改善を達成した。

また KZ-CA 顆粒は低胃酸症モデルラットだけではなく無処理の通常ラットにおいても KZ の吸収性改善に寄与している可能性が考えられた。通常ラットの胃内は酸性環境下 (pH 2) で KZ 単体でも投与した全量が溶解したと考えていた³⁶⁾。しかしながら、KZ は弱塩基性化合物であるため胃酸に溶解するときに中和反応が起こるはずである。溶出試験で用いた試験液は緩衝液だが、胃液は緩衝作用を有していない。そのため KZ が溶解することで顆粒近傍の胃液の pH は変動、すなわちアルカリ性側にシフトすると考えられる。Fig. 2 に示した通り KZ は pH が増加するに従い溶解度が劇的に低下する。KZ-CA 顆粒はこのような通常ラットの胃内で起こる pH の変動を抑制することで KZ 溶出性を改善したと推測される。

以上の結果より、KZ の溶出性は有機酸を pH 調整剤として添加することで改善し、溶解度の高い有機酸が優れた pH 調整剤であるということが明らかとなった。また、胃内環境に依存せず、クエン酸を添加した顆粒をラットに経口投与後、AUC は約 2 倍に増加することが認められた。

第2章 pH 調整剤として有機酸を用いたケトコナゾールの可溶化に最適な製造方法の検討

第1節 序論

第1章では有機酸を pH 調整剤として含有する KZ 製剤を開発し、胃内 pH に依存せず KZ の溶出性及び吸収性が改善されることを示した。したがって、本技術により容易に薬効発現の増強を実現でき、医薬品開発の大きな一助になる可能性があることが示唆された。医薬品開発において薬効発現と共に重要な要素に安定供給がある。その安定供給を実現する上で製剤の製造性を担保することは必須である。熔融造粒法や噴霧乾燥法のような新たな設備投資を要する高コストの製造方法でしか製造できない製剤は費用及び生産性の観点から安定供給に最適とは言えない。一方、汎用的な製造方法で KZ の溶出性改善を検討した研究はなされていないため、有機酸を含有する KZ 製剤の安定供給性は担保されていないのが実情である。

本章では、その KZ 製剤に最適な製造方法を検討するために、種々の汎用的な製造方法で製した KZ 製剤の溶出性及び吸収性を評価した。本研究では第1章で KZ 溶解性改善に最適であると判断したクエン酸を pH 調整剤として用いた。最適な製造方法で製した KZ とクエン酸を含有する製剤を用いて、低胃酸症モデルラットでの経口投与時の体内動態を精査した。また、本検討では顆粒製剤の製造に留まらず、顆粒を圧縮成形した錠剤の開発も実施した。扱いやすさ及び服用性の観点から医療現場での導入を求められる錠剤を本技術により安定して供給できることを示すことで、KZ のみならず様々な難水溶性化合物の溶出性改善を実現できる、汎用性という付加価値を本技術に付与できると考えた。

第2節 ケトコナゾール-クエン酸顆粒の製造

KZ とクエン酸を含有する顆粒 (KZ-CA 顆粒) を物理混合、乾式造粒法、攪拌混合造粒法及び流動層造粒法で製した。顆粒の処方 Table 4 に示す。

Table 4 Composition of manufactured ketoconazole-citric acid tablets (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Table 1)

	Dry method Amount (mg)	Wet method Amount (mg)
Ketoconazole	200.0	200.0
Citric acid	200.0	200.0
Microcrystalline cellulose	689.6	692.0
Hydroxypropylcellulose	36.0	36.0
Purified water	---	248.2 ^a
Crospovidone	60.0	60.0
Magnesium stearate	14.4	12.0
Total (tables)	1200.0	1200.0

^a Disappeared during the drying process and not included in the drug product

製した KZ-CA 顆粒を SEM で撮影した画像を Fig. 7 に示した。顆粒の形状は製造方法に依存して明らかに異なっていることが確認できた。物理混合品は大きさ、形状の異なる粒子が混在しているが、乾式造粒することで粒子の大きさは均一性を増し、形状の差異は明らかに小さくなった。また、湿式造粒した顆粒においても粒子の大きさ及び形状の均一性が増すことが確認できた。ただし、外観は用いた造粒法に依存して異なる結果となった。流動層造粒法で製した顆粒は、他の製造法のいずれと比較してもより細かい粒子になることが確認された。攪拌混合造粒法で製した顆粒は乾式造粒法で製した顆粒と同等の大きさを有しており、形状は他の製造方法と異なり球状であった。また、Fig. 7-(B) にさらに拡大した画像を示したが、攪拌混合造粒法で製した顆粒においては、他の製造法で製した顆粒と比較して、顆粒を構成する原料粒子間の境界が不鮮明であったことから、顆粒内の粒子間の結合がより強固で

あることが示唆された。

Table 5 に粒度分布測定結果を示した。物理混合品は粒子径の異なる各原料にふるい分けられるため粒度分布は測定していない。乾式造粒法及び攪拌混合造粒法で製した顆粒は、流動層造粒法で製した顆粒より粗いことが明らかとなり、先に示した顆粒外観の観察結果とも一致した。また、攪拌混合造粒法で製した顆粒は他の製造法で製した顆粒と比較して、粒度のばらつきが小さいことも認められた。

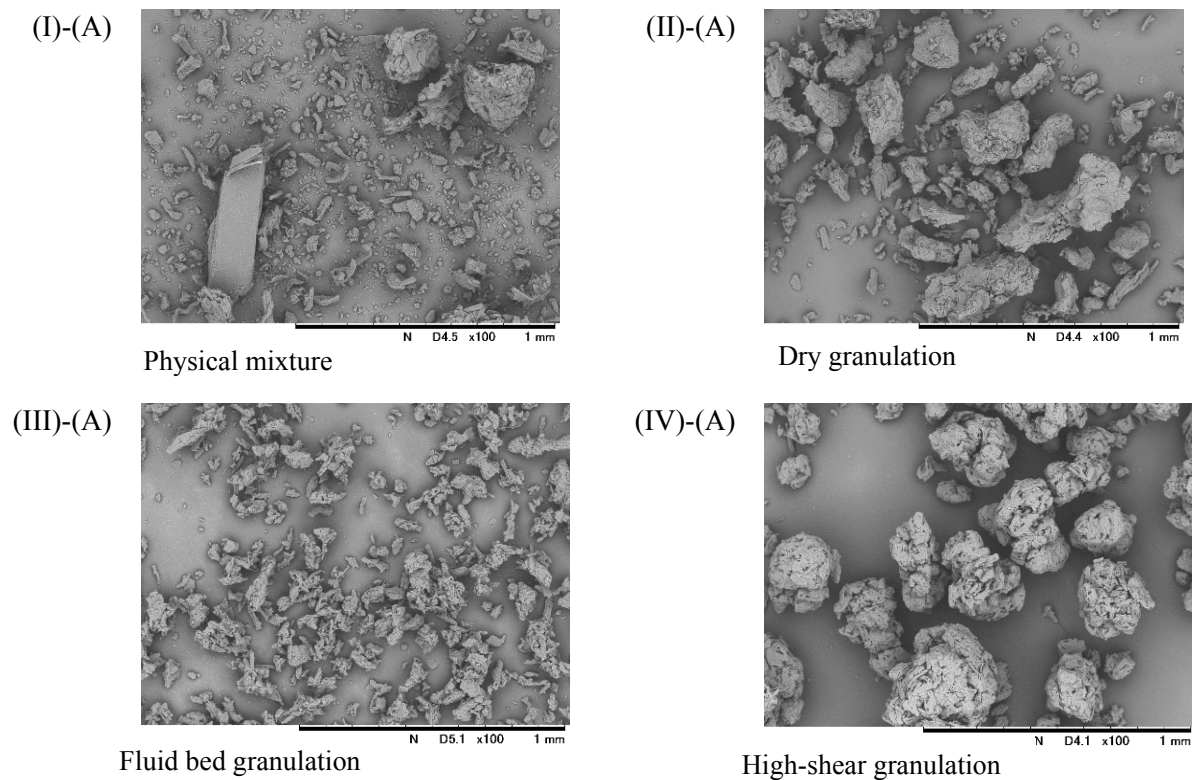
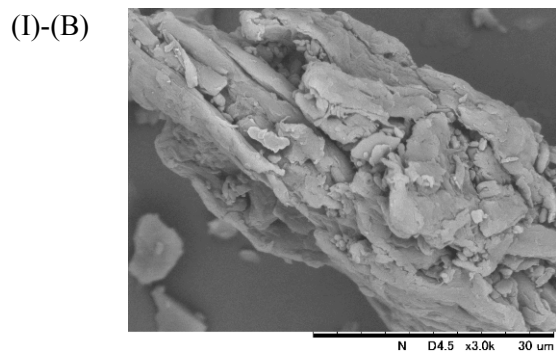
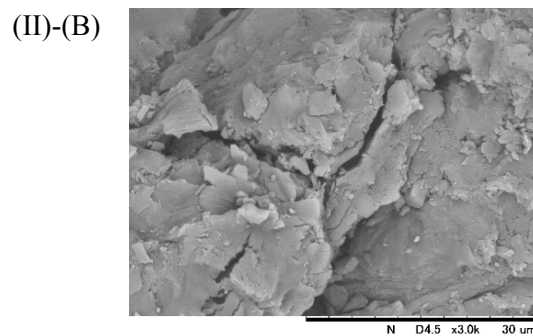


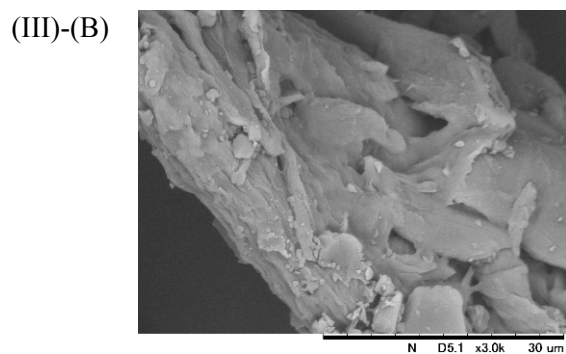
Fig. 7. Scanning electron micrographs of ketoconazole-citric acid granules manufactured by different methods; (I) physical mixing, (II) dry granulation, (III) fluid bed granulation, and (IV) high-shear granulation. Microscope scale is (A) 100 times and (B) 3,000 times. (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Fig. 1)



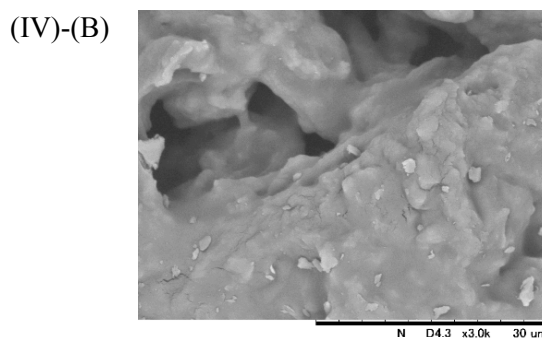
Physical mixture



Dry granulation



Fluid bed granulation



High-shear granulation

Fig. 7. Scanning electron micrographs of ketoconazole-citric acid granules manufactured by different methods; (I) physical mixing, (II) dry granulation, (III) fluid bed granulation, and (IV) high-shear granulation. Microscope scale is (A) 100 times and (B) 3,000 times. (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Fig. 1)

Table 5 Comparison of particle properties of ketoconazole-citric acid granules (n=1) (AAPS

PharmSciTech., in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Table 2)

	10% particle size (μm)	50% particle size (μm)	90% particle size (μm)
Ketoconazole-acid granules manufactured by dry granulation	72	316	604
Ketoconazole-acid granules manufactured by fluid bed granulation	50	142	547
Ketoconazole-acid granules manufactured by high-shear granulation	143	308	584

第3節 ケトコナゾール-クエン酸錠剤の製造

各製造方法で製した顆粒に崩壊剤及び滑沢剤を添加及び混合し打錠用顆粒を得た。それら顆粒の嵩密度の測定結果及び流動性を示す指標として算出した Hausner ratio を Table 6 に示した。

Table 6 Comparison of particle properties of ketoconazole-citric acid granules (n=1) (AAPS PharmSciTech., in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Table 2)

	Bulk density (g/mL)	Tapped density (g/mL)	Hausner ratio
Ketoconazole physical mixture (no acid)	0.34	0.64	1.85
Ketoconazole-acid physical mixture	0.42	0.67	1.60
Ketoconazole-acid granules manufactured by dry granulation	0.55	0.82	1.48
Ketoconazole-acid granules manufactured by fluid bed granulation	0.31	0.44	1.43
Ketoconazole-acid granules manufactured by high-shear granulation	0.49	0.64	1.31

本研究では、直接打錠法及び乾式造粒法において顆粒の流動性に問題が生じるリスクを軽減する目的で、顆粒状のクエン酸 1 水和物を用いた。クエン酸を添加することで物理混合品の Hausner ratio は減少、すなわち流動性は改善することが確認された。中でも攪拌混合造粒法で製した顆粒は最も良好な流動性を示したが、これは外観観察結果でも述べたように顆粒が球状であることに起因すると考えられた。嵩密度に着目すると流動層造粒法で製した顆粒が最も低い密度を示した。一般に流動層造粒法は空隙率の高い顆粒を製するのに適した製造法で、圧縮成形性及び錠剤の崩壊速度の改善を指向して用いられることが多い⁴¹⁾。Table 6 の嵩密度測定結果からも、流動層造粒法を用いることで空隙率の高い KZ-CA 顆粒を得ることが

できたと考えた。

製した打錠用顆粒を単発式打錠機で圧縮成形し KZ-CA 錠剤を得た。いずれの製造法で製した顆粒においても杵への錠剤の付着などの打錠障害は認められなかった。錠剤特性の評価結果を Table 7 に示した。

Table 7. Comparison of physical properties of tablets produced from the ketoconazole-citric acid granules (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Table 3)

	Compression force (kN)	Tensile strength (N/mm ²) ^a	Disintegration time (min:s)
Ketoconazole tablet manufactured by direct compression (no acid)	8	1.0	0:16-0:20
Ketoconazole-acid tablet manufactured by direct compression	9	1.0	0:21-0:35
Ketoconazole-acid tablet manufactured by dry granulation	14	1.1	4:29-6:46
Ketoconazole-acid tablet manufactured by fluid bed granulation	7	1.1	1:54-2:28
Ketoconazole-acid tablet manufactured by high-shear granulation	15	1.1	18:54-24:18

^a The results are expressed as the mean of 10 experiments.

一般に製造方法は崩壊性及び溶解性のみならず顆粒の圧縮成形性にも影響するが^{38, 39)}、本技術で製造した錠剤においても圧縮成形性が製造方法に依存して変動することが示された。流動層造粒法で製した顆粒から得られた錠剤は成形性が最も高く（同等の錠剤強度を得るた

めに、他の製法で製した顆粒より低い打錠圧力を要した)、崩壊時間は直接打錠法で製した錠剤よりわずかに長かった。先述のように、これらの特性はいずれも流動層造粒法の利点であり、クエン酸を pH 調整剤として含有する顆粒と錠剤の物性は製造法に関する過去の知見に従うと考えられた。

乾式造粒法及び攪拌混合造粒法で製した顆粒は、造粒工程でローラーでの圧縮及び攪拌羽根による剪断・凝集のため、造粒の段階で顆粒同士が結合し、それに伴い成形性増加に欠かせない顆粒同士の強い結合が打錠時には発揮できず、同等の錠剤強度を得るのに他の製法で製した顆粒と比較してより高い打錠圧力が必要であった。また、特に攪拌混合造粒法で製した顆粒から得られた錠剤は、密な顆粒から構成されるため空隙率が低く、水の浸入が妨げられ崩壊時間が非常に長かった。

第4節 溶出試験

KZ 製剤からの KZ の溶出性に及ぼす製造方法の影響を評価するためにリン酸緩衝液 (pH 6.0) を試験液として溶出試験を実施した。種々の製造方法で製した KZ-クエン酸顆粒の KZ 溶出試験結果を Fig. 8 に示す。

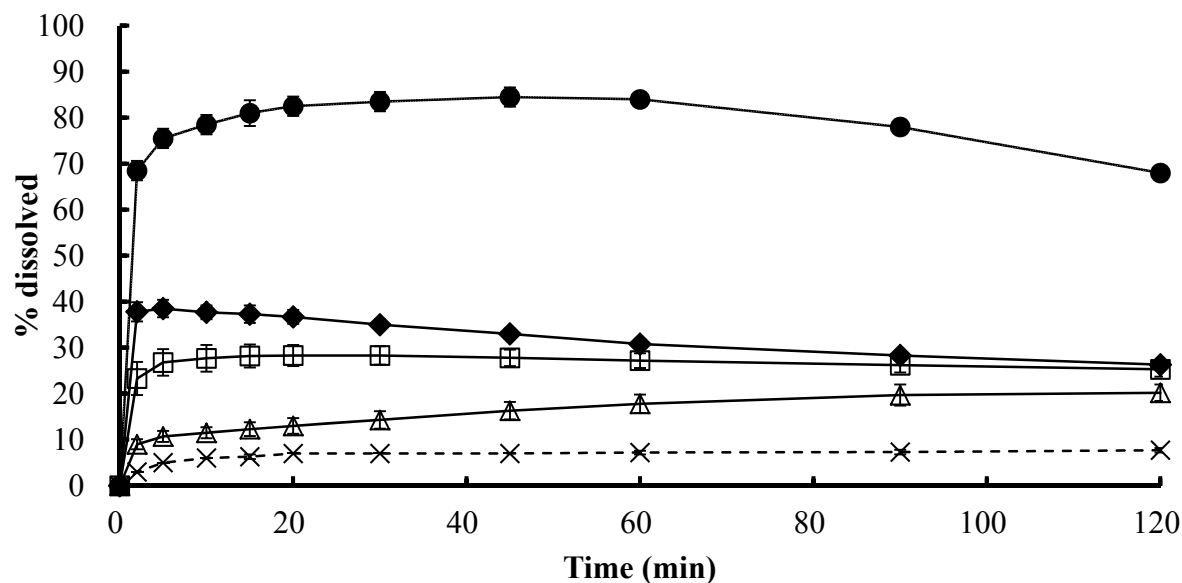


Fig. 8. Dissolution profiles of KZ in 0.05 M potassium phosphate buffer solution (pH 6.0) from KZ-citric acid granules manufactured by different methods. Keys: (●) high-shear granulation; (□) fluid bed granulation; (◆) dry granulation; (△) physical mixing; and (×) physical mixing without citric acid. The results are expressed as the mean \pm S.E. of 6 experiments. (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Fig. 2)

有機酸を含まない顆粒製剤からの KZ の溶出率は KZ の溶解特性に起因して試験開始後 120 分で約 10%と低い値を示した。一方、クエン酸を添加することでいずれの製法においても KZ の溶出性に改善が認められ、得られた溶出率は用いた製法に依存して異なる値を示した。各製法を比較した結果、KZ の溶出率が高い順に、攪拌混合造粒法 > 乾式造粒法 > 流動層造粒法 > 物理混合という結果であった。最も高い KZ の溶出率を示した攪拌混合造粒法においては、その溶出率の最大値はクエン酸を含まない顆粒における溶出率の約 8 倍であった。その KZ の溶出率は試験時間が経過するにつれ減衰したが、試験開始 120 分後の溶出率は酸を含まない製剤の約 7 倍の値を示した。

乾式造粒法で製した顆粒と流動層造粒法で製した顆粒からの KZ の溶出率は試験開始 120 分後においては同等の値 (約 30%) を示したが、試験開始以後の溶出挙動は異なっていた。乾式造粒法で製した顆粒からの KZ の溶出率は試験直後 (試験開始 2 分後) に約 40%を示し

たが、その後溶出率は漸減を示した。一方、流動層造粒法で製した顆粒からの KZ の溶出率は試験開始 5 分後に約 30%を示して以降、試験開始 120 分後まで約 30%の溶出率を保持したままであった。物理混合品からの KZ の溶出率は他の製法と比較して低いが、試験開始から漸増を示し試験開始 120 分後の溶出率は約 25%であった。

次に種々の製法で製した顆粒を圧縮成形して得られた KZ-クエン酸錠剤の KZ 溶出試験結果を Fig. 9 に示す。

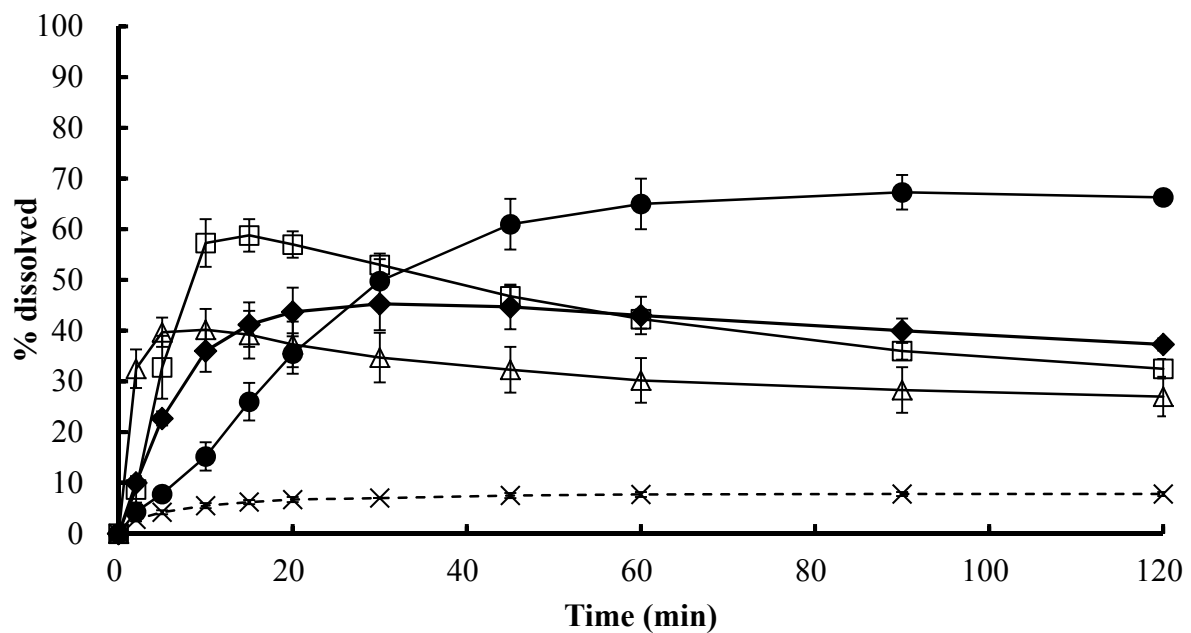


Fig. 9. Dissolution profiles of KZ in 0.05 M potassium phosphate buffer solution (pH 6.0) from KZ-citric acid tablets manufactured by different methods. Keys: (●) high-shear granulation; (□) fluid bed granulation; (◆) dry granulation; (Δ) direct compression; and (×) direct compression without citric acid. The results are expressed as the mean \pm S.E. of 6 experiments. (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Fig. 3)

クエン酸を含まない錠剤（直接打錠品）は顆粒と同じく低い KZ の溶出率を示した。一方、クエン酸を含有する錠剤において KZ の溶出率の改善が認められたことから、溶出性改善には圧縮成形ではなく、クエン酸の添加が重要であることが確認できた。

いずれの製法においても錠剤からの KZ の溶出率は概して顆粒からの溶出率と比較して高値を示した。また、本研究で用いた製造方法のうち、顆粒の検討と同じく攪拌混合造粒法が最も効果的に KZ の溶出性を改善した製法であった。攪拌混合造粒法を用いた際の KZ の溶出率は試験開始 60 分後で約 65%まで増加し、その後は試験開始 120 分後まで溶出率の減衰は認められなかった。この溶出挙動は他の製法と比較して長い崩壊時間に起因すると考えられた。

他の製法を見ると流動層造粒法で製した錠剤からの KZ の溶出率は試験開始 15 分後で約 60%に達したが、その後減衰し試験開始 120 分後の溶出率は約 35%となった。乾式造粒法で製した錠剤からの KZ の溶出率も減衰したが、その溶出率減少は流動層造粒法で製した錠剤ほど顕著でなく、試験開始 120 分後の溶出率は約 40%だった。直接打錠法で製した錠剤も流動層造粒法で製した錠剤と同様の溶出挙動を示し、試験開始 5 分後に約 40%の KZ の溶出率を示した後その値は下降し、試験開始 120 分後の溶出率は約 30%であった。

これらの結果及び顆粒製剤からの溶出試験結果を考慮し、攪拌混合造粒法が KZ の溶出性改善に最も適した製法であると考えた。

第5節 ラット経口投与試験

KZ-CA 顆粒の経口吸収性に及ぼす造粒工程の影響を明らかとするために、ラットに KZ-CA 物理混合品及び攪拌混合造粒法で製した KZ-CA 顆粒を KZ 35 mg/kg の用量で単回経口投与し、血漿中濃度を経時的に測定し、薬物動態学的パラメーターを求めた。KZ 経口投与 8 時間後までの血漿中濃度-時間曲線を Fig. 10 に、薬物動態学的パラメーターを Table 8 に示した。なお、KZ-CA 顆粒を投与して得られた結果については、Fig. 5 及び Table 3 で示した血漿中濃度-時間曲線及び薬物動態学的パラメーターを、Fig. 10 及び Table 8 に示した。

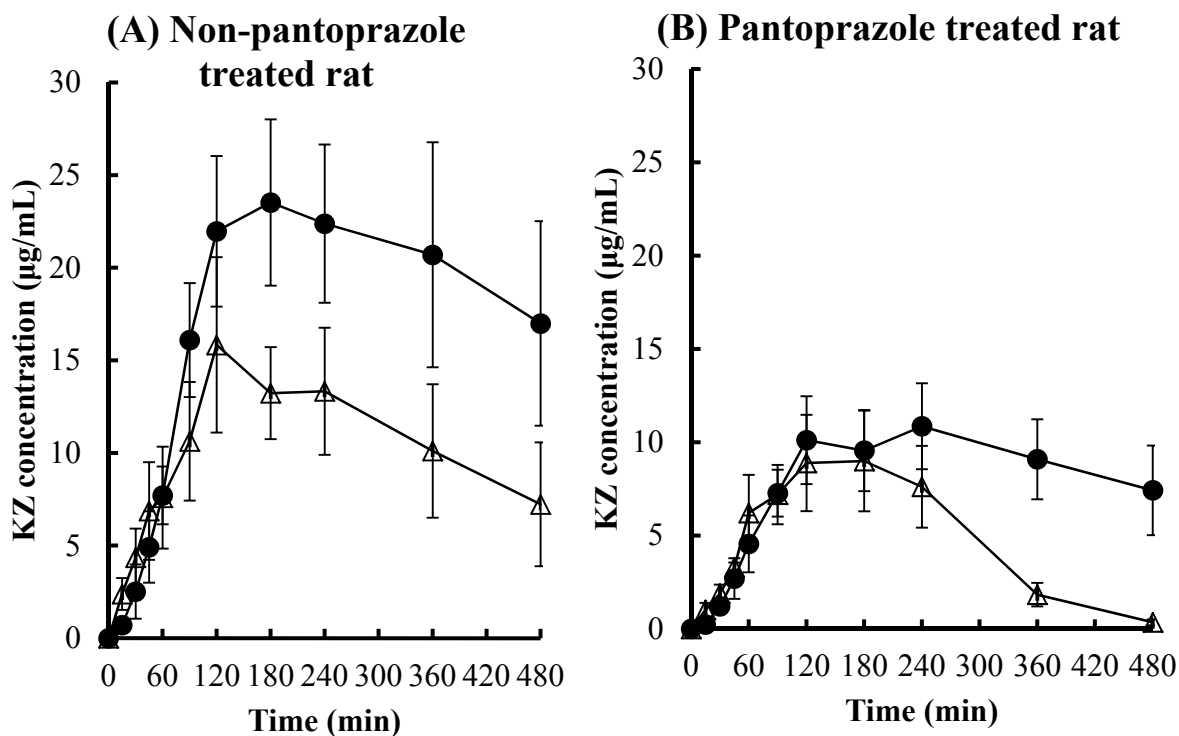


Fig. 10. Plasma concentration vs. time profiles of KZ in the KZ-citric acid granules following a single oral administration in rats (A) without neutralization of gastric acid and (B) with neutralization of gastric acid by pantoprazole. Keys: (●) KZ-citric acid granules manufactured by high-shear granulation; and (Δ) KZ-citric acid granules manufactured by physical mixing. The results are expressed as the mean \pm S.E. of 4 experiments. (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Fig. 4)

Table 8 Comparison of pharmacokinetic parameters following a single oral administration of the ketoconazole-citric acid granules in rats^a (*AAPS PharmSciTech.*, in press (DOI: 10.1208/s12249-016-0583-2), Table 4)

	C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	t_{\max} (min)	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$)
Ketoconazole-acid physical mixture	16.5 ± 4.4	165.0 ± 24.9	5047.6 ± 1495.9
Ketoconazole-acid granules manufactured by wet (high-shear) granulation	24.5 ± 4.2	225.0 ± 44.4	8697.4 ± 1939.5
Ketoconazole-acid physical mixture (after neutralization of gastric acid)	9.4 ± 2.5	160.0 ± 16.3	1983.7 ± 309.9
Ketoconazole-acid granules manufactured by wet (high-shear) granulation (after neutralization of gastric acid)	11.2 ± 2.2	165.0 ± 13.0	3924.2 ± 897.9

^aThe results are expressed as the mean \pm S.E. of 4 experiments.

前処理なしの通常ラットに製剤を経口投与して得られた血漿中濃度プロファイルを Fig. 10-(A)に示したが、溶出試験で得られた結果を反映して、攪拌混合造粒法で製した顆粒からの KZ 吸収性は物理混合品からの吸収性と比較して高いことが示された。経口投与後の KZ 物理混合品及び KZ-CA 顆粒の C_{\max} はそれぞれ $16.5 \pm 4.4 \mu\text{g/mL}$ 、 $24.5 \pm 4.2 \mu\text{g/mL}$ であり、8 時間までの AUC はそれぞれ $5047.6 \pm 1495.9 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ 、 $8697.4 \pm 1939.5 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ であった。

また、KZ-CA 製剤の低胃酸環境下における経口吸収性の改善効果を評価するために、パントプラゾールを投与した低胃酸症モデルラットに製剤を投与した。その結果得られた血漿中濃度プロファイルを Fig. 10-(B)に示した。低胃酸症モデルラットに経口投与後の KZ-CA 物理

混合品の C_{\max} は $9.4 \pm 2.5 \mu\text{g/mL}$ であり、8 時間までの AUC は $1983.7 \pm 309.9 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ であった。通常ラットに KZ-CA 物理混合品を投与して得られた結果と比較して、 C_{\max} は約 43%、AUC は約 61%低下した。KZ-CA 顆粒の C_{\max} は $11.2 \pm 2.2 \mu\text{g/mL}$ であり、8 時間までの AUC は $3924.2 \pm 897.9 \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$ であった。これは同じ低胃酸症モデルラットに KZ-CA 物理混合品を投与して得られた C_{\max} 及び AUC と比較して、それぞれ約 19%、98%増加した。また、KZ-CA 物理混合品からの KZ の吸収性は試験開始 4 時間後から減少したのに対し、顆粒からの吸収性は試験終了まで改善を示し、その結果 AUC に増加が認められた。したがって、製剤の製造方法は KZ の溶出性と同様に KZ の吸収性にも影響を及ぼすことが明らかとなった。

KZ-CA 物理混合品を投与して得られた薬物動態学的パラメーターは、KZ 単体を投与して得られたパラメーター (Table 3) と同等であった。低胃酸モデルラットに KZ-CA 物理混合品を投与して得られた AUC は、KZ 単体を投与して得られた AUC と比較して約 2%増加した。この結果は、KZ-CA 物理混合品からの KZ の溶出率改善の度合の低さ (Fig. 8) が反映されていると考えられる。

第6節 考察

本章では KZ とクエン酸を含有する製剤を汎用される乾式及び湿式造粒法で製造することに成功した。また、得られたすべての KZ-CA 製剤において、中性域での KZ の溶出性の改善が認められた。第 1 章での有機酸の種類と同様に、製造方法も KZ の溶出性改善の度合に影響を及ぼすことが明らかとなった。攪拌混合造粒法が最も優れた KZ の溶出性改善効果を示し、物理混合は僅かしか溶出性改善効果を示さなかった。これらの結果と顆粒外観から、① KZ とクエン酸が密接な位置関係にあること、② KZ とクエン酸が強く結合していることが KZ 溶出性改善効果をより高めるための必須条件であることが示唆された。過去の研究で KZ とクエン酸の物理混合品を充填したカプセル剤において血中濃度の増加が認められなかったが、本研究と同様に物理混合では上記 ①、② の条件を満たしていないことに起因すると考

えられる⁴⁴⁾。

攪拌混合造粒法と乾式造粒法は製造工程中に練合あるいは圧縮を含むため KZ とクエン酸の位置関係はより密接であると考えられる。また、顆粒を圧縮成形し錠剤とすることで、KZ とクエン酸の位置関係が密接になったため、錠剤からの KZ の溶出性は顆粒からの溶出性より大きな改善を示したと推測される。しかしながら、KZ の過飽和状態を維持できなければ、KZ 溶出性は時間経過とともに低下する。これは、KZ と比較して溶解度が非常に高いクエン酸が試験液中に拡散することで、顆粒近傍の微小領域 pH を酸性に維持できなくなり、その結果、溶解した KZ が再結晶したことによるものと考えられる。クエン酸が KZ と強く結合している状態を作り出すことで、クエン酸が試験液中へ拡散せず pH 調整効果を長時間維持できる³⁹⁾。すなわち、KZ とクエン酸の溶出速度に大きな差が生じないようにすることが重要である。

攪拌混合造粒法は、造粒液で粉末を練合することで KZ とクエン酸の位置関係を密接とし、かつ両者を強く結合させることで、KZ の過飽和状態を長時間維持できる溶出性改善に最適な製造方法である^{45, 46)}。過去の研究でマトリックス錠剤のような放出制御を施した製剤における pH 調整剤として有機酸を用いた可溶化は検討されてきたが⁴⁷⁻⁴⁹⁾、速放錠においても有機酸を用いた可溶化技術は有効であることを本研究で示すことができた。

本研究では 1 製剤当たりの KZ 含量を市販の錠剤（ニゾラル®錠 200 mg）と同じ含量である 200 mg と定めた。市販の錠剤に含まれる添加剤は乳糖、ポビドン、トウモロコシデンプン、結晶セルロース、軽質無水ケイ酸及びステアリン酸マグネシウムである⁵⁰⁾。いずれの添加剤も機能性添加剤ではなく製剤からの KZ の溶出性に影響は及ぼさないことが認められている。したがって、本技術を適用することで、市販の錠剤と比較して KZ の溶出性及び吸収性が劇的に改善した錠剤の開発を達成した。

総括

難水溶性薬物は経口投与後に胃内での溶解量及び溶解速度が減衰し、それに伴い腸管からの吸収性が低下し、目的とする血中濃度が得られない、すなわち、薬効発現に必要なバイオアベイラビリティが確保できないことが多く認められてきた。塩基性化合物の場合、特に胃酸分泌量に依存して血中濃度が変動することが知られている。胃内 pH は国内に多く認められる低胃酸症患者において高値のため、経口投与された塩基性化合物は投与量の大半が溶解しないまま小腸へ移行し、血中濃度が低くなるリスクが大きいと考えられる。

そうしたリスクを軽減するために薬物の可溶化技術が開発されてきたが、いずれの技術も製剤中の薬物安定性に懸念があり、また、新たな設備投資が必要となるためコスト面でも不利であることは現時点で否めない。こうした問題点を解決するため、本研究では難水溶性薬物の可溶化技術として pH 調整剤である有機酸を含有する経口固形製剤を提案した。この技術を適用することで、弱塩基性の難水溶性化合物である KZ の溶出率が改善され、特別な設備投資を必要としない簡便で汎用的な製造方法への応用も可能である。さらにラットを用いた経口投与実験を実施し、本技術が KZ の経口投与後の消化管吸収を改善できることを明らかにした。

第 1 章では水への溶解度及び pKa 値の異なる種々の有機酸を pH 調整剤として含有する顆粒製剤を簡便な攪拌混合造粒法で製造し、中性 pH 試験液を用いた溶出試験における KZ の溶出率を比較して可溶化に最適な有機酸を決定した。試験した有機酸の中でクエン酸、酒石酸が最も KZ の溶出率の増加率が大きく、120 分後の溶出率は約 70%であった。コハク酸、アスパラギン酸のような溶解度の低い有機酸は、先の 2 種の有機酸と比較して低い KZ の溶出率改善を示した（120 分後の溶出率はそれぞれ約 30%、10%）。いずれの有機酸含有顆粒の溶出試験終了後の試験液 pH が試験開始前と変わらない点から、本研究での KZ の溶出率改善は過飽和によるものであることが認められた。したがって、顆粒近傍の限られた試験液量に有機酸が溶解し、微小領域 pH を酸性側にシフトさせることが KZ の溶出率改善に重要であると考えられた。医薬品、食品への豊富な使用実績から、本研究ではクエン酸が KZ の溶出率改善

に最適な pH 調整剤と決定した。クエン酸を含有する KZ 顆粒をラットに経口投与した結果、KZ 単体と比較して約 2 倍の AUC が得られた。また、低胃酸症モデルラットの経口投与試験においても、クエン酸を含有することで KZ の AUC は約 2 倍に増加したことから、本技術はラット体内の KZ の溶解度改善にも寄与できることが認められた。低胃酸症モデルラットに KZ-CA 顆粒を投与して得られた KZ の AUC は、通常ラットに KZ 単体を投与して得られた AUC と同等だったことから、クエン酸は低胃酸症に伴う KZ の吸収抑制を改善できることが明らかとなった。

第 2 章では前章で最適な pH 調整剤であると判断したクエン酸を用い、簡便かつ汎用的な湿式及び乾式法（攪拌混合造粒法、流動層造粒法、乾式造粒法、物理混合）で KZ-CA 顆粒、及び得られた顆粒を圧縮成型して錠剤を製造することに成功した。前章と同じく KZ の溶出率を評価した結果、顆粒と錠剤の双方において、攪拌混合造粒法で製した製剤が最も高い溶出率を示し、有機酸を含まない物理混合品と比較して約 7~8 倍の溶出率を示した。また、試験したすべての製法において、錠剤からの KZ の溶出率は顆粒と比較して高い値だった。以上の結果より、KZ の溶出率を効果的に改善するには KZ と有機酸が密接な位置関係を有し、かつ両者が強く結合していることが重要であると考えられる。その条件を満たすことでクエン酸が KZ より速く試験液中へ拡散することが妨げられ、微小領域 pH をより長時間酸性側にシフトさせることができると考えた。攪拌混合造粒法で製した顆粒をラットに経口投与して得られた AUC は、胃酸分泌量に依存せず物理混合品を投与して得られた値の約 2 倍だった。したがって、本技術は汎用的な製剤開発に応用することが可能で、中性条件下の KZ の溶出性及びラット経口投与後の血漿中濃度を改善できることが明らかとなった。

本技術は簡便な製法へ容易に応用できるため、新たに設備投資をすることなく医薬品開発への導入が可能と考えられる。溶出性及び吸収性改善効果を示す有機酸は pH 調整剤として医薬品・食品への使用実績も豊富であるため、服用した際の安全性の懸念もない。本研究で製した錠剤は比較的大型で患者が服用するのに適していないという不利な面はある。しかしながら、製剤中の添加剤の量・種類、また、造粒条件を最適化することで製剤の小型化は容易

に実現できると思われる。したがって、有機酸を pH 調整剤として用いる溶出性改善技術は、将来候補化合物の大部分を占めるであろう難水溶性化合物の製剤化に有用であることが認められた。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始御懇切なるご指導、ご鞭撻を賜りました京都薬科大学薬剤学分野 山本 昌教授に厚く感謝の意を表します。

本研究に関して貴重なご助言を賜りました京都薬科大学薬剤学分野 勝見英正准教授ならびに同分野 草森浩助教に深謝いたします。

本研究を遂行するに際し、ご協力を賜りました神戸薬科大学製剤学研究室 坂根稔康教授に深謝いたします。

本研究に様々な御協力を頂きました京都薬科大学薬剤学分野の皆様、特に直接実験にご協力頂きました日夏優太学士に心より御礼申し上げます。

本研究の機会を与えて頂き、貴重な御支援、ご助言を頂きました日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社神戸医薬研究所 和田耕一研究所長ならびに同研究所製剤分析研究部 中谷 学グループマネージャーに心より感謝申し上げます。業務と並行して本研究を遂行するに際し、御理解と御協力頂きました日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社神戸医薬研究所製剤分析研究部の皆様に感謝いたします。

実験の部

第1章第2節の実験材料及び方法

ケトコナゾール (KZ) は Zhejiang East-Asia Pharmaceutical (Zhejiang, China) 製を使用した。乳糖水和物は Meggle (Wasserburg, Germany) 製を使用した。

KZ と乳糖水和物を重量比 20:80 で含有する物理混合品を調製した。KZ と乳糖水和物を目開き 0.50 mm の篩で共篩過し、その篩過品を褐色ガラス瓶に移し振とうした。KZ の溶出性の評価は、溶出試験器 NTR-6100 (富山産業株式会社、大阪) を使用し、試験液として 0.1M 塩酸溶液 (pH 1.0)、0.01M 塩酸溶液 (pH 2.0)、及びリン酸緩衝液 (pH 5.5, 6.0, 6.8 : それぞれイオン強度は 0.13M, 0.06M, 0.28M) を用いて行った。試験液 900 mL を使用し、1 ベッセル当たり KZ 200 mg に相当する量の物理混合品を投入し、パドル回転数は 50 rpm、試験液温度は 37 °C で試験を実施した。KZ の溶出量はフローズルーセル付き分光光度計 UV-1800 (株式会社島津製作所、京都) を用いて 226 nm (pH 5.5, 6.0, 6.8) あるいは 223 nm (pH 1.0, 2.0) における吸光度を経時的に測定することにより算出した。

第1章第4節の実験材料及び方法

ケトコナゾール (KZ) は Zhejiang East-Asia Pharmaceutical (Zhejiang, China) 製を使用した。酒石酸は Caviro (Faenza, Italy) 製を使用した。クエン酸 1 水和物は Jungbunzlauer (Basel, Switzerland) 製を使用した。リンゴ酸とコハク酸は Merck (Darmstadt, Germany) 製を使用した。アスパルギン酸は Kyowa Hakko Kirin (東京) 製を使用した。結晶セルロースは FMC Biopolymer (Philadelphia, USA) 製を使用した。ヒドロキシプロピルセルロースは Ashland (Ashland, USA) 製を使用した。

KZ、有機酸、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロースを攪拌混合造粒機で混合し、造粒液として精製水 22% (w/w) を投入して造粒した。造粒後の顆粒を給気温度 80°C で予熱した流動層乾燥機 Mini-Glatt (Glatt, Germany) に投入し、含水量が 2% を下回るまで給気温度 80 °C で流動させて乾燥した。乾燥した顆粒は目開き 1.00 mm のスクリーンを装着したコーミル

を用いて整粒し、KZ-有機酸顆粒を得た。

第1章第5節の実験材料及び方法

第1章第4節で製したKZ-有機酸顆粒からのKZ溶出量を評価した。また、Table 2の有機酸の全量を結晶セルロースに置換したControl顆粒を、ガラス瓶に投入した原料を振とうして製した。試薬は特級あるいはHPLC用を使用した。

溶出試験器NTR-6100(富山産業株式会社、大阪)を使用し、試験液としてリン酸緩衝液(pH 6.0)を用いて行った。試験液900 mLを使用し、1ベッセル当たりKZ 200 mgに相当する量の顆粒を投入し、パドル回転数は50 rpm、試験液温度は37°Cで試験を実施した。KZの溶出量はフローズルーセル付き分光光度計UV-1800(株式会社島津製作所、京都)を用いて226 nmにおける吸光度を経時的に測定することにより算出した。

第1章第6節の実験材料及び方法

第1章第4節で製したKZ製剤の経口投与後の薬物動態を評価した。試薬は特級あるいはHPLC用を使用した。

体重300 gの1晩絶食したWistar系雄性ラット(n=4、清水実験材料株式会社、静岡)を用いた。前処理をしない通常ラットの他に、製剤投与1時間前にパントプラゾールナトリウム塩の水溶液(2.5 mg/mL)を84 mg/kgの用量で経口投与した低胃酸症モデルラットを用いた。KZ製剤はヒプロメロースを1.0% (w/w)の濃度でリン酸緩衝液(pH 6.8)に溶解した溶液に懸濁させ、懸濁後速やかに35 mg/kgのKZ用量で経口投与した。製剤投与後、パントバルビタールナトリウム塩の注射液を43 mg/kgの用量で腹腔内投与して麻酔した。全ての動物実験は京都薬科大学動物倫理委員会ガイドラインに準じて実施した。

血液サンプルを経時的に頸静脈より0.3 mLずつ採取し、12,000 rpmで5分間遠心分離することにより血漿分画を得た。血漿分画80 µLとアセトニトリル120 µLを5秒間vortex mixerで混合し、この混合液を16,000 rpmで5分間遠心分離して上澄み液を得た。得られた上澄み

液中の KZ の濃度は高速液体クロマトグラフィー Prominence (HPLC) (株式会社島津製作所、京都) を用いて測定した。カラムは C18 カラム (内径 4.6 mm、長さ 150 mm、particle size 5 μ m、Nakalai Tesque) を用いた。移動相はアセトニトリル及び 0.02M リン酸緩衝液 (pH 7) を 50:50 (v/v) で用い、流速は 1.0 mL/min、カラムの温度は 40°C とした。インジェクション量は 50 μ L で、KZ の濃度は検量線法を用いて算出した。

得られた KZ 血漿中濃度-時間曲線から最高血中濃度 (C_{\max} (μ g/mL)) 及び最高血中濃度到達時間 (t_{\max} (min)) を得た。また、曲線下面積 (AUC_{0-480} (μ g \cdot min/mL)) は台形法を用いて算出した。

第 2 章第 2 節の実験材料及び方法

第 1 章第 4 節と同じ KZ、クエン酸 1 水和物、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロースを使用した。その他の試薬は特級あるいは HPLC 用を使用した。

KZ-CA 物理混合品は、目開き 0.50 mm の篩で結晶セルロースと共篩過した KZ を、クエン酸 1 水和物及びヒドロキシプロピルセルロースとガラス瓶内で振とうして製した。また、クエン酸 1 水和物の全量を結晶セルロースと置き換えた Control 製剤を、KZ-クエン酸物理混合品と同じ物理混合法で製した。

KZ-CA 乾式造粒顆粒は、目開き 0.50 mm の篩で結晶セルロースと共篩過した KZ を、クエン酸 1 水和物、ヒドロキシプロピルセルロース及び 0.6% (w/w) のステアリン酸マグネシウムとガラス瓶内で振とうした。その混合品をローラーコンパクター TF-labo (フロイント産業株式会社、東京) で圧縮し、得られた板状成型物をローラーコンパクターに付属のオシレーターで粗粉碎、続いて目開き 1.00 mm のスクリーンを装着したコーミルを用いて整粒し乾式造粒顆粒を得た。

KZ-CA 流動層造粒顆粒は、KZ、クエン酸 1 水和物及び結晶セルロースを給気温度 80°C で予熱した流動層造粒乾燥機 Mini-Glatt (Glatt, Germany) に投入し流動させることで混合し、結合液である 4% (w/w) ヒドロキシプロピルセルロース水溶液をトップスプレーから 4-5

g/min の噴霧速度で造粒した。結合液全量を噴霧後、含水量が 2%を下回るまで給気温度 80°C で流動させて乾燥した。乾燥した顆粒は目開き 1.00 mm のスクリーンを装着したコーミルを用いて整粒し、流動層造粒顆粒を得た。

攪拌混合造粒顆粒は有機酸としてクエン酸 1 水和物を用い、第 1 章第 4 節と同じ方法で製した。

製造した顆粒表面の観察は、走査型電子顕微鏡 scanning electron microscopy (SEM) Miniscope TM3000 (株式会社日立ハイテクノロジーズ、東京) を用いて行った。試料は両面カーボンテープを用いてサンプルフォルダに設置し、あらかじめ金でコーティングした後に観察した。

製造した顆粒の粒度分布は音波振動式ふるい分け測定器 ロボットシフターRPS-205 (株式会社セイシン企業、大阪) を用いて測定した。使用した篩の目開きは 0.063, 0.125, 0.180, 0.250, 0.355, 0.500, 0.710, 1.00 mm であった。

第 2 章第 3 節の実験材料及び方法

クロスポビドン は BASF AG (Ludwigshafen, Germany) 製を使用した。ステアリン酸マグネシウムは Peter Greven (Bad Münstereifel, Germany) 製を使用した。

第 2 章第 2 節で製した物理混合品、あるいは、造粒顆粒をクロスポビドン及びステアリン酸マグネシウムと物理混合し打錠用顆粒を調製した。

打錠用顆粒の嵩密度及びタップ密度は、タップ密度計 SVM121 (ERWEKA, Germany) を用いて欧州薬局方第 8 版の”2.9.34. Bulk density and tapped density of powders, method 1”に従って測定した。

打錠用顆粒の流動性は、欧州薬局方第 8 版の”2.9.36. Powder flow”に従って Hausner ratio を算出して評価した。

得られた打錠用顆粒は金型 (長径 21 mm、短径 9.62 mm の楕円型) を装着した単発式打錠機 XP-1 (KORSCH, Germany) を用いて圧縮成形した。秤取した 1.2 g の打錠用顆粒を臼に充填し、充填した顆粒を錠剤の引張強度が約 1.0 N/mm² になるように調整した打錠圧力で圧縮

し KZ-CA 錠剤を製した。

製した錠剤の引張強度は、錠剤硬度計 TBH TD (ERWEKA, Germany) を用いて測定した錠剤の錠剤硬度及び厚みを以下の式に適用して算出した。

$$\text{引張強度} = 2 \times \text{錠剤硬度} \div [\text{円周率} \times \text{厚み} \times 0.5 \times (\text{長径} + \text{短径})]$$

製した錠剤の崩壊試験は崩壊試験器 NT-400 (富山産業株式会社、大阪) を用いて、欧州薬局方第 8 版の”2.9. 1. Disintegration of tablets and capsules”に従って測定した。試験液は精製水を用いた。

第 2 章第 4 節の実験材料及び方法

第 1 章第 5 節と同様の方法で KZ の溶出量を評価した。

第 2 章第 5 節の実験材料及び方法

第 1 章第 6 節と同様の動物を使用し同様の方法で投与及び KZ の血漿中濃度測定を実施し、薬物動態学的パラメーターを求めた。

引用文献

- 1) Singh S, Parikh T, Sandhu HK, Shah NH, Malick AW, Singhal D, Serajuddin AT: Supersolubilization and amorphization of a model basic drug, haloperidol, by interaction with weak acids. *Pharm. Res.*, **30**, 1561-1573 (2013).
- 2) Lipinski CA: Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **44**, 235-249 (2000).
- 3) Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ: Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **46**, 3-26 (2001).
- 4) Ribeiro LS, Falcão AC, Patrício JA, Ferreira DC, Veiga FJ: Cyclodextrin multicomponent complexation and controlled release delivery strategies to optimize the oral bioavailability of vinpocetine. *J. Pharm. Sci.*, **96**, 2018-2028 (2007).
- 5) Aburahma MH, El-Laithy HM, Hamza Yei-S: Preparation and *in vitro/in vivo* characterization of porous sublingual tablets containing ternary kneaded solid system of vinpocetine with β -cyclodextrin and hydroxy acid. *Sci. Pharm.*, **78**, 363-379 (2010).
- 6) Sanganwar GP, Sathigari S, Babu RJ, Gupta RB: Simultaneous production and co-mixing of microparticles of nevirapine with excipients by supercritical antisolvent method for dissolution enhancement. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **39**, 164-174 (2010).
- 7) Khadka P, Ro J, Kim H, Kim I, Kim JT, Kim H, Cho JM, Yun G, Lee J: Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian J. Pharm. Sci.*, **9**, 304-316 (2014).
- 8) Li P, Tan A, Prestidge CA, Nielsen HM, Müllertz A: Self-nanoemulsifying drug delivery systems for oral insulin delivery: *in vitro* and *in vivo* evaluations of enteric coating and drug loading. *Int. J. Pharm.*, **477**, 390-398 (2014).
- 9) Yang M, He S, Fan Y, Wang Y, Ge Z, Shan L, Gong W, Huang X, Tong Y, Gao C:

- Microenvironmental pH-modified solid dispersions to enhance the dissolution and bioavailability of poorly water-soluble weakly basic GT0918, a developing anti-prostate cancer drug: Preparation, characterization and evaluation *in vivo*. *Int. J. Pharm.*, **475**, 97-109 (2014).
- 10) Junyaprasert VB, Morakul B: Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Asian J. Pharm. Sci.*, **10**, 13-23 (2015).
 - 11) Rao S, Richter K, Nguyen TH, Boyd BJ, Porter CJ, Tan A, Prestidge CA: Pluronic-functionalized silica-lipid hybrid microparticles: Improving the oral delivery of poorly water-soluble weak bases. *Mol. Pharm.*, **12**, 4424-4433 (2015).
 - 12) Wickström H, Palo M, Rijckaert K, Kolakovic R, Nyman JO, Määttänen A, Ihalainen P, Peltonen J, Genina N, de Beer T, Löbmann K, Rades T, Sandler N: Improvement of dissolution rate of indomethacin by inkjet printing. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **75**, 91-100 (2015).
 - 13) Inagaki H, Ito R, Setoguchi Y, Oritani Y, Ito T: Administration of piceatannol complexed with α -cyclodextrin improves its absorption in rats. *J. Agric. Food Chem.*, **64**, 3557-3563 (2016).
 - 14) Frank KJ, Rosenblatt KM, Westedt U, Hölig P, Rosenberg J, Mägerlein M, Fricker G, Brandl M: Amorphous solid dispersion enhances permeation of poorly soluble ABT-102: True supersaturation vs. apparent solubility enhancement. *Int. J. Pharm.*, **437**, 288-293 (2012).
 - 15) Szejtli J: Medicinal application of cyclodextrins. *Med. Res. Rev.*, **14**, 353-386 (1994).
 - 16) Badawy SI, Gray DB, Zhao F, Sun D, Schuster AE, Hussain MA: Formulation of solid dosage forms to overcome gastric pH interaction of the factor Xa inhibitor, BMS-561389. *Pharm. Res.*, **23**, 989-996 (2006).
 - 17) Morihara M, Aoyagi N, Kaniwa N, Kojima S, Ogata H: Assessment of gastric acidity of Japanese subjects over the last 15 years. *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 313-315 (2001).
 - 18) 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン（厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
 - 19) Ogata H, Aoyagi N, Kaniwa N, Ejima A, Sekine N, Kitamura M, Inoue Y: Gastric acidity

- dependent bioavailability of cinnarizine from two commercial capsules in healthy volunteers. *Int. J. Pharm.*, **29**, 113-120 (1986).
- 20) Onoue S, Inoue R, Taniguchi C, Kawabata Y, Yamashita K, Wada K, Yamauchi Y, Yamada S: Improved dissolution and pharmacokinetics behavior of dipylidamole formulation with microenvironmental pH-modifier under hypochlorhydria. *Int. J. Pharm.*, **426**, 61-66 (2012).
- 21) Taniguchi C, Inoue R, Kawabata Y, Yamashita K, Wada K, Yamauchi Y, Yamada S, Onoue S: Novel formulations of dipyrindamole with microenvironmental pH-modifiers for improved dissolution and bioavailability under hypochlorhydria. *Int. J. Pharm.*, **434**, 148-154 (2012).
- 22) Skiba M, Skiba-Lahiani M, Marchais H, Duclos R, Arnaud P: Stability assessment of ketoconazole in aqueous formulations. *Int. J. Pharm.*, **198**, 1-6 (2000).
- 23) Staub I, Bergold AM: Determination of ketoconazole in shampoo by high performance liquid chromatography. *Acta Farm. Bonaerense.*, **23**, 387-390 (2004).
- 24) Carlson JA, Mann HJ, Canafax DM: Effect of pH on disintegration and dissolution of ketoconazole tablets. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **40**, 1334-1336 (1983).
- 25) Lubach JW, Chen JZ, Hau J, Imperio J, Coraggio M, Liu L, Wong H: Investigation of the rat model for preclinical evaluation of pH-dependent oral absorption in humans. *Mol. Pharm.*, **10**, 3997-4004 (2013).
- 26) Lelawongs P, Barone JA, Colaizzi JL, Hsuan AT, Mechlinski W, Legendre R, Guarnieri J: Effect of food and gastric acidity on absorption of orally administered ketoconazole. *Clin. Pharm.*, **7**, 228-235 (1988).
- 27) Blum RA, D'Andrea DT, Florentino BM, Wilton JH, Hilligoss DM, Gardner MJ, Henry EB, Goldstein H, Schentag JJ: Increased gastric pH and the bioavailability of fluconazole and ketoconazole. *Ann. Intern. Med.*, **114**, 755-757 (1991).
- 28) Heo MY, Piao ZZ, Kim TW, Cao QR, Kim A, Lee BJ: Effect of solubilizing and microemulsifying excipients in polyethylene glycol 6000 solid dispersion on enhanced

- dissolution and bioavailability of ketoconazole. *Arch. Pharm. Res.*, **28**, 604–611 (2005).
- 29) Elder EJ, Evans JC, Scherzer BD, Hitt JE, Kupperblatt GB, Saghir SA, Markham DA: Preparation, characterization, and scale-up of ketoconazole with enhanced dissolution and bioavailability. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **33**, 755–765 (2007).
- 30) Taupitz T, Dressman JB, Klein S: *In vitro* tools for evaluating novel dosage forms of poorly soluble, weakly basic drugs: case example ketoconazole. *J. Pharm. Sci.*, **102**, 3645–3652 (2013).
- 31) Xin C, Li-hong W, Jing Y, Yang Y, Yue Y, Qi-fang W, San-ming L: Ketoconazole ion-exchange fiber complex: a novel method to reduce the individual difference of bioavailability in oral administration caused by gastric anacidity. *Pharm. Dev. Tehnol.*, **18**, 1346–1354 (2013).
- 32) Chin TW, Loeb M, Fong IW: Effect of an acidic beverage (Coca-Cola) on absorption of ketoconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**, 1671–1675 (1995).
- 33) 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン Q&A (事務連絡 H24.2.29 別紙1)
- 34) Tuleu C, Andrieux C, Boy P, Chaumeil JC: Gastrointestinal transit of pellets in rats: effect of size and density. *Int. J. Pharm.*, **180**, 123-131 (1999).
- 35) Perry RL, Carrig CB, Williams JF, Johnson CA, Kaneene JB: Anatomic features and radiographic observations of gastric emptying and small intestinal motility in the rat. *Lab. Anim. Sci.*, **43**, 586-593 (1993).
- 36) Ferron GM, McKeand W, Mayer PR: Pharmacodynamic modeling of pantoprazole's irreversible effect on gastric acid secretion in humans and rats. *J. Clin. Pharmacol.*, **41**, 149–156 (2001).
- 37) Bigoniya P, Shukla A, Singh CS, Gotiya P: Comparative anti-ulcerogenic study of pantoprazole formulation with and without sodium bicarbonate buffer on pyloric ligated rat. *J. Pharmacol. Pharmacother.*, **2**, 179-184 (2011).
- 38) Badawy SI, Hussain MA: Microenvironmental pH modulation in solid dosage forms. *J. Pharm. Sci.*, **96**, 948–959 (2007).
- 39) Taniguchi C, Kawabata Y, Wada K, Yamada S, Onoue S: Microenvironmental pH-modification to

- improve dissolution behavior and oral adsorption for drugs with pH-dependent solubility. *Expert Opin. Drug Deliv.*, **11**, 505-516 (2014).
- 40) Hawley M, Morozowich W: Modifying the diffusion layer of soluble salts of poorly soluble basic drugs to improve dissolution performance. *Mol. Pharm.*, **7**, 1441–1449 (2010).
- 41) 造粒便覧（日本粉体工業協会編）
- 42) Bacher C, Olsen PM, Bertelsen P, Sonnergaard JM: Compressibility and compactibility of granules produced by wet and dry granulation. *Int. J. Pharm.*, **358**, 69-74 (2008).
- 43) Šantl M, Ilić I, Vrečer F, Baumgartner S: A compressibility and compactibility study of real tableting mixtures: the impact of wet and dry granulation versus a direct tableting mixture. *Int. J. Pharm.*, **414**, 131-139 (2011).
- 44) Daneshmend TK, Mason AR, Lowe CH, Warnock DW, Johnson EM: Influence of formulation on ketoconazole pharmacokinetics in man: comparison of standard tablet versus capsule containing citric acid. *J. Antimicrob. Chemother.*, **18**, 289-291 (1986).
- 45) Wikberg M, Alderborn G: Compression characteristics of granulated materials. III. The relationship between air permeability and mechanical strength of tablets of some lactose granulations. *Int. J. Pharm.*, **63**, 23-27 (1990).
- 46) Siepe S, Lueckel B, Kramer A, Ries A, Gummy R: Strategies for the design of hydrophilic matrix tablets with controlled microenvironmental pH. *Int. J. Pharm.*, **316**, 14-20 (2006).
- 47) Streubel A, Siepmann J, Dashevsky A, Bodmeier R: pH-independent release of a weakly basic drug from water-insoluble and -soluble matrix tablets. *J. Control Release.*, **67**, 101-110 (2000).
- 48) Nie S, Pan W, Li X, Wu X: The effect of citric acid added to hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) matrix tablets on the release profile of vinpocetine. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **30**, 627-635 (2004).
- 49) Kranz H, Guthmann C, Wagner T, Lipp R, Reinhard J: Development of a single unit extended release formulation for ZK 811 752, a weakly basic drug. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **26**, 47-53 (2005).

50) Ketoconazole HRA 200mg Tablets - Patient Information Leaflet (PIL) by HRA Pharma UK and Ireland Limited.