

天然多糖類を用いて調製したメトロニダゾールフィルムの特性

村田慶史,* 磯部隆史, 小藤恭子, 毎田千恵子, 宮本悦子

Property of Metronidazole Film Prepared with Natural Polysaccharides

Yoshifumi MURATA,* Takashi ISOBE, Kyoko KOFUJI,
Chieko MAIDA, and Etsuko MIYAMOTOFaculty of Pharmaceutical Science, Hokuriku University, Ho-3 Kanagawa-machi,
Kanazawa 920-1181, Japan

(Received July 12, 2010; Accepted August 28, 2010; Published online September 10, 2010)

Film dosage forms containing metronidazole (MZ) were prepared from natural polysaccharides, such as pullulan (PUL) or sodium alginate (ALG), without heating or controlling the pH. The release profiles of MZ from the films were investigated. In the absence of a drug, the casting method resulted in the polysaccharide forming a circular film, and the presence of MZ affected film formation. The thickness of the film was controllable by adjusting the concentration of ALG, and regular unevenness was observed on the surface of film. The film prepared with PUL or ALG readily swelled in dissolution medium, and released MZ with disintegration. The films prepared from the polysaccharides could be promising candidates as dosage forms containing MZ, and would be expected to show drug dissolution in the surface of skin.

Key words—metronidazole; film dosage form; sodium alginate; pullulan

緒 言

メトロニダゾール (MZ) は抗原虫薬としてトリコモナス症治療に用いられるだけでなく、胃・十二指腸潰瘍時の *H. pylori* 除菌薬として内服錠等で使用される。また、皮膚疾患の治療にも MZ が用いられ、脂漏性の皮膚炎に対してゲル製剤を適用した場合の効果認められている。¹⁻⁴⁾ MZ は神経毒性などの副作用のため使用に配慮を必要とするものの、^{5,6)} 製剤学的な工夫がなされることで、より有用性が増す薬物の 1 つである。⁷⁾ 筆者らも *H. pylori* をターゲットとした MZ 含有胃内滞留性製剤を調製し、モルモットへの投与における薬物の胃粘膜到達性の向上について報告した。^{8,9)} 近年、がん支援薬のニーズとともに各種の製剤開発が試みられているが、乳がんの皮膚転移時に発生する潰瘍が起因となる悪臭対策のために MZ の塗布がなされる。MZ は皮膚表面において悪臭の原因となる嫌気性菌 (*Bacteroides fragilis* 等) の増殖抑制に関与するとされ、¹⁰⁾ 例えば、試薬あるいは MZ 錠剤を研和後、基

剤等を添加してマクロゴール軟膏やクリームが院内製剤され、1 日 1 回、1 週間程度の臨床使用において患者のクオリティオブライフの改善が報告されている。^{11,12)}

軟膏やクリームは使用法が簡便ではあるものの、適用時において常に一定量の薬物を塗布し難く、繰り返しの使用においては、製剤自身や容器の汚染にも注意しなければならない。従来より、皮膚疾患に対する適用面全体への均一な薬物塗布のため、薬物含有フィルムの利用が検討されてきたが、¹³⁾ 皮膚に生じるがん性潰瘍の治療に関しても、適用部位において滲出した少量の体液で付着し、また、使い切りのできるフィルム製剤が有用であると考えられる。¹⁴⁾ 一般に、フィルム製剤は高分子化合物をベースに調製され、多糖類やポリペプチドなどもその基剤として利用される。安全性並びに供給の安定性から汎用される寒天やゼラチンは溶媒中で加熱溶解し、また、生体適合性・生分解性に優れることで知られているカチオン性多糖類キトサンでは、弱酸性溶液に溶解した後、延展・乾燥してフィルムを作製する。^{15,16)} さらに、食品添加物であるプルラン (PUL) や、経口投与時の胃粘膜保護作用により消

北陸大学薬学部

*e-mail: y-murata@hokuriku-u.ac.jp

化性潰瘍治療薬として用いられるアルギン酸ナトリウム (ALG) 等の天然多糖類も、フィルム基剤として研究されている。¹⁷⁻¹⁹⁾

本研究では皮膚への安全性が認められている天然多糖類のみを用い、加熱や pH 調整をすることなく、有機溶媒等も使用せずに簡便な操作にて調製可能な MZ 含有フィルム製剤の開発を試みた。また、フィルムが皮膚に適用されるとき、滲出した体液により速やかに含有 MZ が放出される必要がある。それゆえ、限られた試験液中におけるフィルムからの MZ 放出挙動について検討した。

方 法

1. 試料 MZ (生化学用) は和光純薬より購入した。フィルム基剤としての天然多糖類は、PUL (林原商事)、高分子量 ALG (H-ALG, 重合度約 450; ナカライテスク)、低分子量 ALG (L-ALG; Johnson Matthey Co.), ベクチン (GENU LM-5CS-J; CP ケルコ)、デキストラン (DEX, 分子量 10-20 万; 和光純薬) 並びにコンドロイチン硫酸 (C) (CHS; 和光純薬) を用いた。リン酸緩衝化生理食塩水 (PBS, pH 7.4) は Lonza Co. (USA) より購入し、また、その他の試薬は市販特級品を用いた。

2. フィルム調製法 室温でイオン交換水にて調製した 2-8% (w/w) の各種多糖類溶液 10 g に MZ (10 mg) を添加し、超音波洗浄機 (BRANSON8200, ヤマト科学) を用いて消泡しながら攪拌した。この溶液 3.0 g を、こまごめピペットにより内径 54 mm のディスポ・プラスチックシャーレ (ポリスチレン製) にゆっくりと滴下し、底部に均一に広げた後、恒温室 (37°C) にて 1 日、乾燥し、デシケーター内に保存した。ここではフィルムがシャーレに付着してはがせない場合は、フィルム製剤の調製は不可と判断した。また、多糖類水溶液をオートクレーブ処理 (121°C, 15 min) 後、室温に冷却してから MZ を加え、同様の操作にてフィルムを調製した。なお、水溶液の粘度は振動式粘度計 (VM-1G-M; CBC マテリアルズ) を用いて測定した。

3. フィルム厚の測定 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、フィルム 3 枚について (同一フィルム

の各 10 ヲ所) 厚さを測定し、平均値を求めた。また、レーザー式高精度 3 次元形状測定システム (MAP-3D; コムス) により、フィルム表面の形状を観察した。

4. フィルムからの MZ 放出挙動 あらかじめ 37°C に加温したプラスチックシャーレにフィルム (1 枚) を置き、10 ml の PBS 溶液 (37°C) を加え、シェーキングインキュベーター (37°C, 300 rpm; アズワン) にて振とうした。試料 80 μ l を経時的にマイクロチューブに採取し、メタノール 720 μ l を添加、攪拌・遠心分離 (10000 rpm, 5 min; コクサン) により多糖類を分離後、上澄みを取り出し、HPLC を用いて以下の条件により薬物量を測定した。

カラム: Cosmosil 5C₁₈-MS-II (4.6×150 mm; ナカライテスク), 室温

溶離液: 10 mM Phosphate-buffer (pH 5.5) / methanol [17 : 3]

ポンプ: LC-10AS (島津製作所), 流速 0.8 ml/min

検出器: UVIDEC-100-IV (日本分光), 測定波長 320 nm

試料注入量: 10 μ l (auto injector SIL-10A; 島津製作所)

結果と考察

薬物を含有した溶液をシャーレ上に滴下・延展 (キャスト) する場合、天然多糖類水溶液の粘度がフィルム調製に影響を与える。8% PUL (粘度: 48 mPa·s, 20°C), 2% L-ALG (105 mPa·s) 並びに、2% CHS (10 mPa·s 以下) においては、それぞれキャストが可能であったが、2% H-ALG では粘度が 180 mPa·s となり、溶液の滴下自体が困難であった。

フィルム製剤は高分子マトリクスが基本構造であり、その網目に存在する薬物量、すなわち薬物含有量が制限される。薬物を添加しない場合には、2% 以上の PUL、特に 8% PUL において透明で硬いフィルムが形成された。一方、MZ (1 mg/g) を添加した場合、2% PUL 溶液では均一な円形のフィルムが形成されず、4% 以上の PUL 濃度が必要であった (Fig. 1)。ただし、4-8% の PUL を用いても、MZ 添加量の増加によってフィルム形成の障害をも

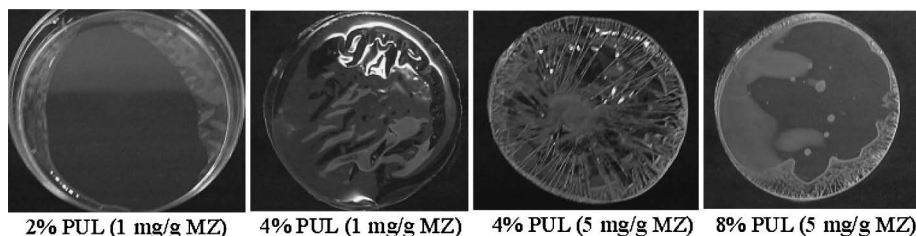


Fig. 1. Films Prepared with PUL Containing MZ
Film diameter; ca. 5 cm.

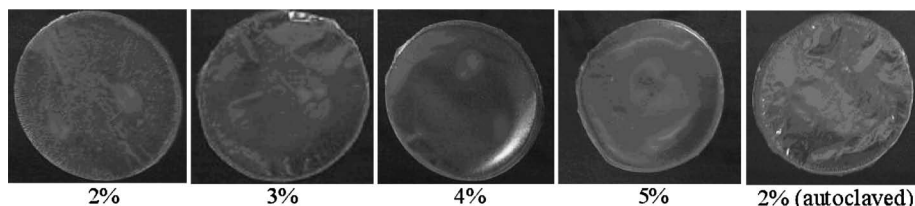


Fig. 2. Films Prepared with L-ALG Containing MZ
Film diameter; ca. 5 cm.

たらず薬物の析出が観察された。MZ 添加時 (1 mg/g) には、2% DEX あるいは 2% CHS ではフィルム形成が認められなかったが、1.5% H-ALG は調製操作時に破損する脆いフィルムとなり、2-5% L-ALG においては均一な形状の製剤が得られた (Fig. 2)。また、院内製剤を考慮した場合、感染症対策のためにはフィルム基剤を滅菌処理可能なことが望ましいことから、多糖類溶液の高圧蒸気滅菌後におけるフィルム形成について検討した。オートクレーブ処理した 4% PUL あるいは 2% L-ALG を用いた場合にも未処理同様のフィルム形成が認められたことより、PUL 並びに L-ALG は滅菌処理が可能な基剤であることが示された。

キャスト法により調製される場合、フィルムの厚さは基剤濃度により調整し得る。Table 1 に示すように、2-5% L-ALG において 28-48 μm の厚さのフィルムが形成された。また、4% PUL についても 4% L-ALG とほぼ同じ厚さの製剤が得られた。潰瘍を生じた皮膚にフィルム製剤を適用する場合、それが患部全体に密着し、速やかに含有薬物を溶出するためには、滑らかな表面を有することが望ましい。ここで、最も薄くて柔軟なフィルムとなった 2% L-ALG について、レーザー式形状測定システムを用いて観察したところ、その表面には 5-15 μm の規則的な凹凸が認められたことから (Fig. 3)、本製剤は比較的均一な表面構造をしていると考

Table 1. Thicknesses of Films Containing MZ (1 mg/g)

	Thickness (μm : mean \pm S.D., $n=3$)
2%L-ALG	28 \pm 4 [26 \pm 0]*
3%L-ALG	39 \pm 1
4%L-ALG	43 \pm 1
5%L-ALG	48 \pm 3
4%PUL	44 \pm 5 [42 \pm 8]*

* autoclave treatment.

えられる。

2-5% L-ALG で調製したフィルムは、PBS を加えると速やかに湿潤・崩壊しながら MZ を放出した。Figure 4 に示すように、2% L-ALG フィルムでは試験開始 5 min で含有される 90% の MZ を放出し、15 min 後には製剤自体が溶解した状態で、ほぼすべての薬物が放出された。また、3%以上の L-ALG フィルムも同様の MZ 放出挙動を示した。4% PUL 並びにオートクレーブ処理した 2% L-ALG フィルムに関しても、その溶解を伴う速やかな薬物放出挙動が認められた (Fig. 5)。一方、2% ペクチンフィルムでは MZ の速放性は観察されたが、2 時間後の試験液中でフィルム形状は維持されていた。なお、ALG, PUL などの天然多糖類では、2 種以上を組み合わせでのフィルム調製も可能であり、例えば、2% L-ALG 並びに 1% CHS から構成される複合フィルムにおいても、類似の基剤の溶解

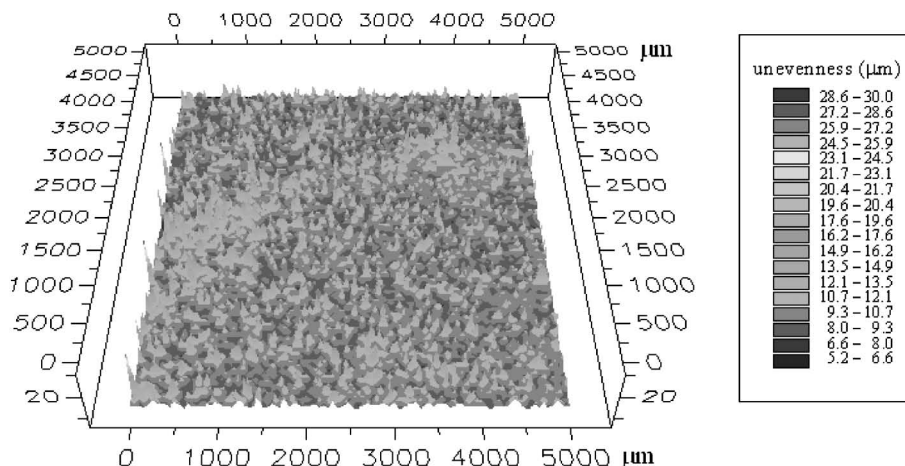


Fig. 3. Surface Structure of 2% L-ALG Film Observed Using a Three-dimensional Profilometer
Figure shows the center of the film (Square area; 5×5 mm). Each color represents the depth of unevenness.

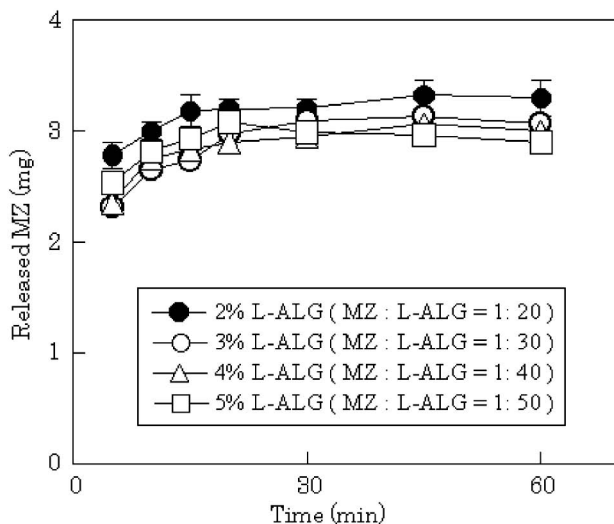


Fig. 4. Release Profiles of MZ from L-ALG Films

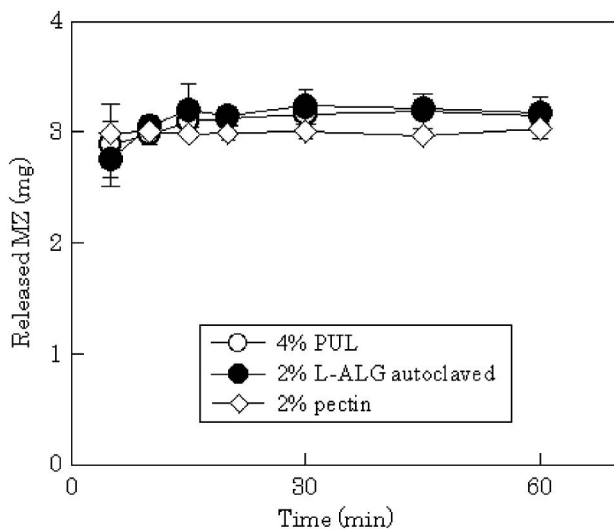


Fig. 5. Release Profiles of MZ from Films Prepared with Polysaccharides

性と MZ 放出挙動が観察された (データ未掲載)。

本研究で用いたキャストリング法では、基剤や薬物の容器への付着によって製剤の薬物含有量が低下する。MZ (添加量 1 mg/g) の場合、フィルム 1 枚当たりの薬物含有量は理論値として 3 mg であるが、各放出試験においてその全量が速やかに放出された。これより、L-ALG 並びに PUL を用いて調製したフィルムの薬物固定化率はほぼ 100% となり、調製時における薬物の損失はないことが示された。また、現在、病院薬局において 0.8-1% MZ 含有の軟膏が調製され、潰瘍部位の悪臭予防に用いられていることから、²⁰⁾ 本フィルムは薬物含有量の観点からも臨床使用し得る製剤であると考えられる。

以上、天然多糖類を用いることにより、非常に簡単な操作で MZ を含有したフィルム製剤を調製することが可能であった。特に L-ALG で調製したフィルム製剤は柔軟であり、皮膚への適用時、患部の滲出液で湿潤し、速やかに MZ を放出することが期待される。また、L-ALG は、オートクレーブにより滅菌処理し得るフィルム基剤であることが示された。実際の皮膚への使用には、ヒト官能試験により、適用時の柔軟性等についても十分に考慮されるべきであることから、今後、基剤濃度や多糖類の組み合わせで調整し得るフィルム特性について検討を加える必要がある。

謝辞 本研究に使用した PUL を御提供頂いた林原商事㈱に深謝いたします。また、フィルム表面の形状観察に御協力頂いたコムス㈱の関係者に深謝

いたします。

REFERENCES

- 1) Siadat A. H., Iraj F., Shahmoradi Z., Enshaieh S., Taheri A., *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.*, **72**, 266–269 (2006).
- 2) Wolf J. E. Jr., Del Rosso J. Q., *Cutis*, **79**, 73–80 (2007).
- 3) Seckin D., Gurbuz O., Akin O., *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, **21**, 345–350 (2007).
- 4) Cicek D., Kandi B., Bakar S., Turgut D., *J. Dermatolog. Treat.*, **20**, 344–349 (2009).
- 5) Uyar M., Elbek O., Bayram N., Ekiz S., Bakir K., Dikensoy O., *Respirology*, **14**, 612–613 (2009).
- 6) Mohammadi S. S., Genkinger J. M., Loffredo C. A., Singer S. M., *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **4**, e682 (2010).
- 7) Zip C. M., *Dermatol. Clin.*, **28**, 525–534 (2010).
- 8) Murata Y., Sasaki N., Miyamoto E., Kawashima S., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 221–226 (2000).
- 9) Murata Y., Kofuji K., Kawashima S., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **14**, 581–588 (2003).
- 10) Kuge S., Tokuda Y., Ohta M., Okumura A., Kubota M., Ninomiya S., Sawamura S., Makuuchi H., Tajima T., Mitomi T., *Jpn. J. Clin. Oncol.*, **26**, 207–210 (1996).
- 11) Matsuoka A., Isozaki S., Suemaru K., Wakisaka H., Araki H., *Nihon Kanwa Iryou Yakugaku Zasshi*, **1**, 67–70 (2008).
- 12) Kawano K., Tanaka T., Usogoe H., *Medicine and Drug Journal*, **46**, 1032–1036 (2010).
- 13) Osti E., *Arch. Surg.*, **141**, 39–42 (2006).
- 14) Adderley U., Smith R., *Cochrance Database Syst. Rev.*, **18**, CD003948 (2007).
- 15) Cheng C. H., Wang F. Y., Mao C. F., Liao W. T., Hsieh C. D., *Int. J. Biol. Macromol.*, **43**, 37–42 (2008).
- 16) Smith J. K., Bumgardner J. D., Courtney H. S., Smeltzer M. S., Haggard W. O., *J. Biomed. Mater. Res. Part B*, **94B**, 203–211 (2010).
- 17) Beldon P., *Br. J. Nurs.*, **13**(6 Suppl.), S38–S45 (2004).
- 18) Kim J. O., Choi J. Y., Park J. K., Kim J. H., Jin S. G., Chang S. W., Li D. X., Hwang M. R., Woo J. S., Kim J. A., Lyoo W. S., Yong C. S., Choi H. G., *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 2277–2282 (2008).
- 19) Sakuda Y., Ito A., Sasatsu M., Machida Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **58**, 454–457 (2010).
- 20) Japanese Society of Hospital Pharmacists, “Byoin Yakkyoku Seizai,” 6th ed., YAKUJI NIPPO LIMITED., Tokyo, 2008, pp. 183–184.