

【総説】

子供や高齢者に優しい医薬品剤形の開発研究（2） -ゼラチン皮膜ソフトカプセル剤の非破壊品質管理-

大塚 誠

Musashino University Creating Happiness Incubation 研究員 武蔵野大学 薬学部 教授

服部 祐介

武蔵野大学 薬学研究所

芦澤 一英

Musashino University Creating Happiness Incubation 客員研究員 武蔵野大学 薬学研究所 客員教授

真名垣 聡

Musashino University Creating Happiness Incubation 研究員 武蔵野大学 工学部 准教授

下川 義之、早川 栄治

富士カプセル株式会社製剤研究所

要約

生体タンパク質の中で最も重要な成分にコラーゲンがある。主に脊椎動物の真皮、靱帯、腱、骨、軟骨などを構成するタンパク質のひとつである。コラーゲンは分子量約 10 万のゼラチンが 3 本鎖としてよりあったもので、ゼラチンは生体成分の基本であるといえる。コラーゲンタンパク質のペプチド鎖を構成するアミノ酸は、グリシン-アミノ酸 X-アミノ酸 Y となっており、グリシン残基が 3 残基ごとに繰り返す一次構造を有している。これらゼラチンやコラーゲンがどのようなメカニズムでその立体構造を維持しているか、生体の老化や酸化エージングによりこれらの構造がどのような変化を受けるかの研究は、子供や高齢者に優しい医薬品剤形の開発で大変重要なテーマである。

ソフトカプセル剤は、皮膜としてゼラチン系を用いる場合とデンプン等の植物系を用いる場合に大別される。ゼラチン系を用いる場合には、上記のゼラチン物性の研究が必須となる。ゼラチンは保存中に酸素の攻撃を受けて分子重合を引き起こし高分子化して硬化し水に不溶となる。高齢者の体が老化エージングにより硬くなる原因と言われている。ソフトカプセルの皮膜開発では、光や酸素による攻撃を受けても不溶化しない、しなやかではあるが強い物性の皮膜の研

究が必要となっており、生体タンパク質であるコラーゲンの物性研究にも貢献できる要素を持っている。

本研究では、ゼラチンのどの部位が分子重合の原因となっているか、それを抑制するにはどのようにしたら良いかを各種の試験方法によって解析した。また、実際のソフトカプセル製造に使うゼラチン皮膜に、近赤外分光光度法(near infrared / NIR)を適用し、得られた吸収スペクトルを多変量解析した。その結果、ゼラチンと可塑剤であるグリセリン、水との相互作用を考察することができた。また、検量モデルを実製造に応用することにより、ゼラチン皮膜の連続生産工程を非破壊で品質管理する方法の基礎データが得られた。

1. はじめに

ソフトカプセル製剤は高齢者でも飲み易く、超高齢化少子化社会を迎え、我々の「しあわせ」な生活の土台である「健康」を支える医療・介護の観点からも重要性は益々高まっている。子供から老人までの人生全般を安心して健やかな生活を過ごすことができる社会を実現するためには、様々な疾病や健康障害に対応する有効で安全な医薬品を迅速で安価に提供する必要がある。一方で、現在、新規に開発される化合物の多くは水に対して難溶解性であることから、ヒトへの薬物の吸収が極めて困難であり、新規医薬品の開発の大きな障害となっている。難溶性薬物の製剤形態として、油に溶かすか、或いはエマルジョンや自己乳化製剤として液体を充填できるソフトカプセルは溶解性や吸収性を改善した製剤としての有用性をもっている。また、速放性製剤や徐放性製剤など高齢者や子供などの消費者のニーズに応えた飲みやすい剤形の工夫も可能である。

アメリカ食品医薬品局(Food and Drug Administration ; FDA)は、有効で安全な、より良い品質の医薬品を製造工程管理するために Process analytical technology (PAT)という分析手法を提唱している。これまでは、製造途中の重要工程で製造物の一部をサンプリングし品質試験をすることが一般的であった。不適合の製造物は廃棄されており、これを一因として医薬品を起源とする化学物質が河川や下水処理水等の水環境中で広範囲に存在することが報告されている。PATを導入することは、製造工程の設計、分析によって廃棄薬品が減り、最終製品の品質を保証することを可能とし、より効率的な製造工程の設計により、

安全で安価な医薬品を実現することができる点からも注目を集めている。

本研究では、ソフトカプセル皮膜の各種物性を測定し、品質の高いソフトカプセルを製造することにより高齢者や小児に有効で安心安全な医薬品を迅速に安価で提供することを目的とする。

以下、これまでの研究成果(2)において、ソフトカプセル製剤の開発における各種課題とこれまでの取り組みを記述した。次に(3)にて、本論文のテーマである「ゼラチン皮膜ソフトカプセル剤の非破壊品質管理」の研究結果を記載した。

2. これまでの研究成果

2-1. ソフトカプセル製剤の処方、製造法、課題

ソフトカプセル剤は、内容溶液を皮膜に閉じ込めた製剤である。ソフトカプセルは、図1に示すように、製造法の観点から、大きく分けてロータリー・ダイ式とシームレス式に分けられる。皮膜の材料の観点からは、動物性皮膜と植物性皮膜の2つに分けられる。動物性皮膜は主にゼラチンを用いる。ゼラチンを用いてソフトカプセルの皮膜を製造するには、高温でゼラチン、水、可塑剤としてのグリセリンを混合して溶解(ゾル状態)する。このゼラチン水溶液を冷却下で薄く展延し、乾燥・固化(ゲル状態)して皮膜状に製造する。皮膜の展延性試験法が報告されている^[1]。

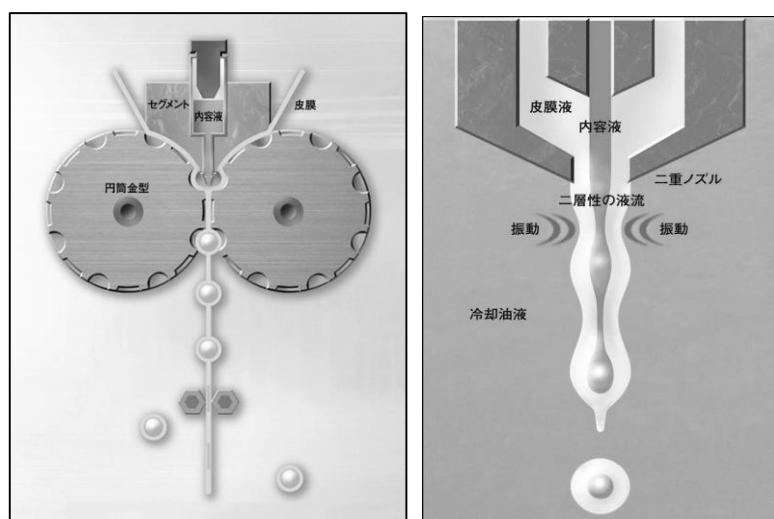


図1. ソフトカプセルの製造法

左図、ロータリー・ダイ式製法、右図、シームレス式製法

内容溶液を皮膜で保護し、長期の貯法期間、品質を維持するために皮膜の品質管理が重要である^[2]。しかし現状では製造工程中に一部をサンプリングして品質管理項目を測定し、作業員が機械の微調整を行って製造している。今後、これらの人的作業を非破壊的な連続生産管理に移行することが望まれている。

2-2. ソフトカプセル製剤の崩壊時間の延長問題と課題解決の方法

ソフトカプセルは製剤化工程が比較的短く短期間での製剤設計が可能などの利点から、開発スピードが要求される健康食品・サプリメントへの適用が増えており、種々の機能性素材が充填され製剤化されている。一方、基剤となるゼラチンは熱や光等による経時的な溶解性の低下や、素材に含まれるアルデヒド類が図2に示すようなスキームでゼラチンを架橋させソフトカプセルを不溶化することが知られている^[3]。このような不溶化を防止するために、従来より種々の添加物が検討され、各種アミノ酸、ポリペプチド、レシチン、等の不溶化抑制効果が認められているが十分とはいえない状況であった。

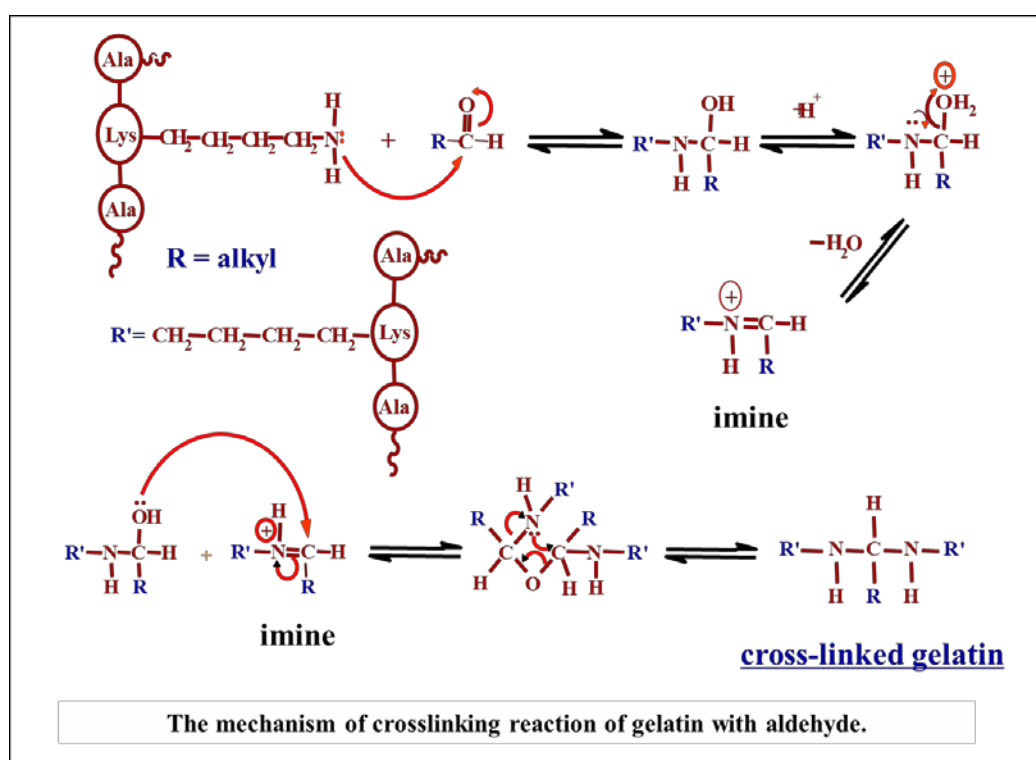


図2. アルデヒドによるゼラチンの重合の化学機構

我々のこれまでの研究の結果、特に植物や動物など天然由来の抽出エキスを比較的多く含有される成分にゼラチンの不溶化とソフトカプセルの崩壊遅延を引き起こすことが知見された。崩壊遅延を引き起こす成分に DHA 油があった。DHA 油は、各種脂肪酸が主にトリグリセライドとして存在しているが、遊離した不飽和脂肪酸がラジカル等による自動酸化を経て、アルデヒドおよびケトン類を生じ、ゼラチンを架橋して不溶化することが考察された。他に、茸エキスをゼラチンの著しい不溶化反応が認められた。茸エキスにもアルデヒド類の存在が確認された。更に近年、これらの知見を基に、フィチン酸（イノシトール 6 リン酸）をゼラチン皮膜に添加することで不溶化が顕著に抑制されることを見出した。この技術は、現在多くのソフトカプセル製剤に応用されている^[4, 5]。

3. ゼラチン皮膜ソフトカプセル剤の非破壊品質管理：ソフトカプセル製剤に用いるゼラチン皮膜の管理のための NIR 分光法による物性解析

ゼラチン皮膜の製造工程中で、ゼラチンは水に溶けたランダムコイル状態から螺旋状の α ヘリックスになり、さらに 3 分子が重なったコラーゲン様のゲル構造をとって皮膜強度を保持している。

可塑剤であるグリセリンはゼラチンと水の水和構造の中に入り込み、ゼラチン分子が近づき過ぎて水から析出することを防止している。つまり、安定なゼラチン-水-グリセリンのハイドロゲル構造構成に寄与している。工場でのソフトカプセル剤の製造においては、皮膜物性の制御は手動によることが大きく、今後、連続生産に向けて自動制御の技術が求められている。皮膜物性の制御因子には、水分やグリセリンの濃度、温度分布、冷却速度、厚みの均一性、乾燥速度などがある。

まず、ゼラチン皮膜の物性を研究するために、ゼラチンとコハク化ゼラチンを常法に従って皮膜形状に成形した。皮膜サンプルを静止した状態で NIR スペクトル^[6]を測定する場合を静的 NIR とし、皮膜サンプルを引っ張り強度試験で変形させている状態で NIR スペクトルを測定する場合を動的 NIR として、その模式図を図 3 に示した。コハク化ゼラチンは、ゼラチンのリジン残基やヒドロキシリジン残基に由来する ε アミノ基が酸アミド結合して反応性の低下したものである。

NIR スペクトルは皮膜切片 (Sample film) に対する NIR の透過反射光を測定した。

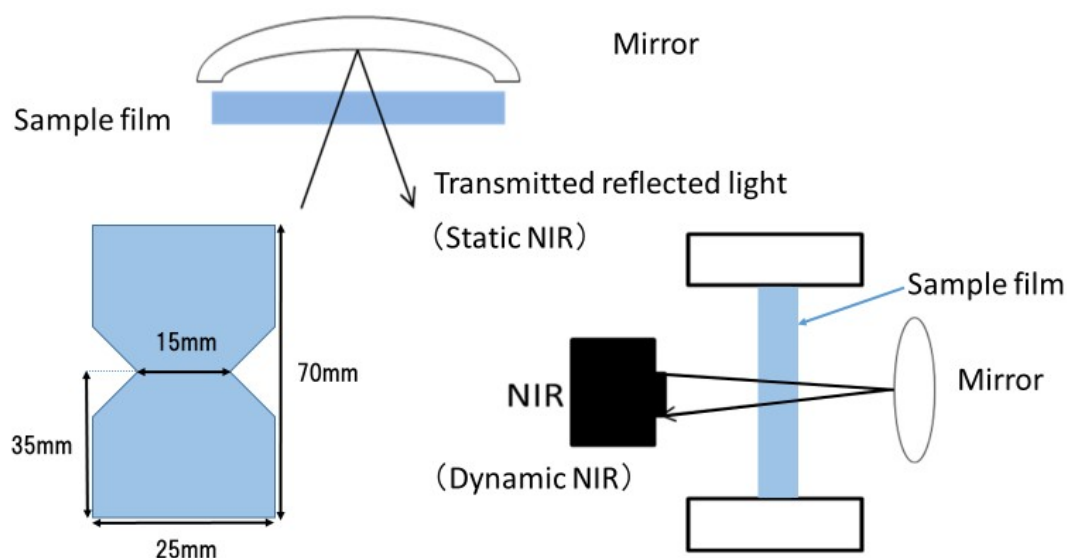


図3. NIR測定用ゼラチンシートの形態と静的と動的NIR測定法

ソフトカプセル皮膜の製造に際しては、製造環境の湿度が重要であるために、まず吸湿曲線を求めた。グリセリン濃度が高くなるにつれて、ゼラチン皮膜もコハク化ゼラチン皮膜も吸湿量が高くなった（図4）。コハク化ゼラチン皮膜の方がゼラチン皮膜よりも吸湿性が高いことが知見された（図5）。

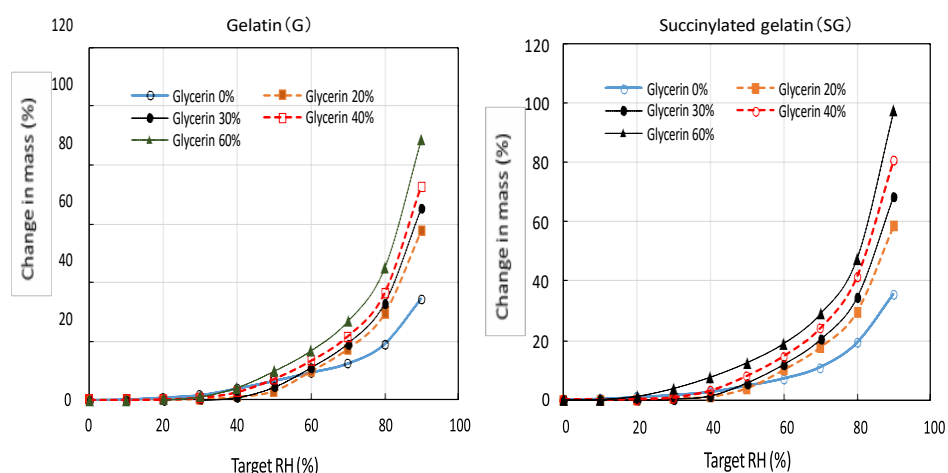


図4. グリセリン添加濃度がゼラチンシート(左)とコハク化ゼラチンシート(右)の動的吸湿特性への影響

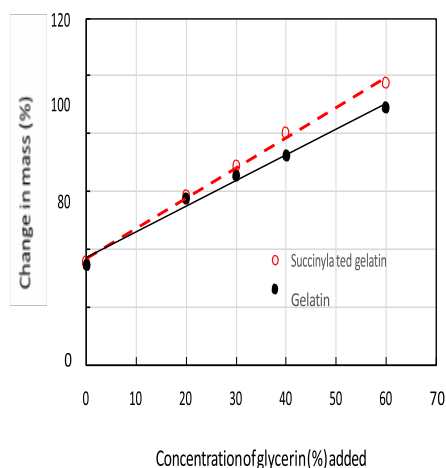


図5. グリセリン濃度とゼラチンシートとコハク化ゼラチンシートの平衡水分量の関係

グリセリン濃度 0-60%の皮膜につき、静的 NIR スペクトルを測定し、部分最小自乗回帰法(PLSR)により多変量解析を行った [7, 8]。図6はグリセリン濃度の予測値と実測値の図である。ゼラチン皮膜もコハク化ゼラチン皮膜も直線関係が得られ、グリセリン濃度は NIR スペクトルにより予測できることが分かった。

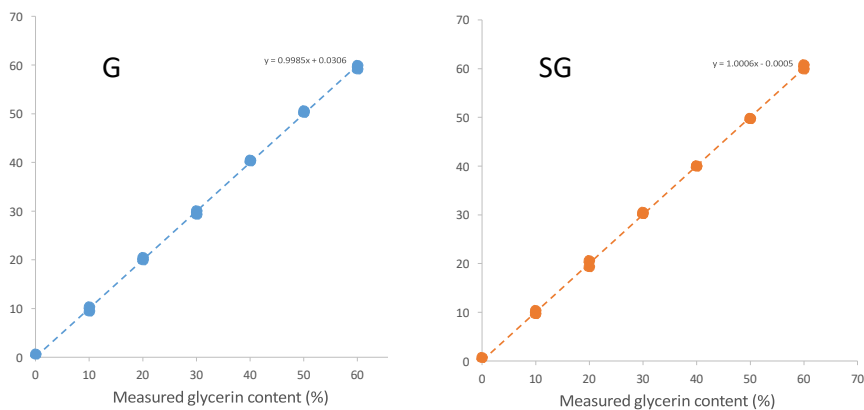


図6. NIRにより予測されたゼラチンシート(左)とコハク化ゼラチンシート(右)のグリセリン濃度の予測値と実測値の関係

図7のグリセリン皮膜の NIR スペクトル解析より、水の $-OH$ 基に由来する約 5200cm^{-1} のピークはグリセリン濃度が上昇すると低下した。一方、グリセリンの $-CH_2$ に由来する約 6700cm^{-1} のピークは増大した。この傾向は図8のコハク化ゼラチン皮膜も同じであった。このことから、グリセリン濃度が増加

するとグリセリンの-OH基が皮膜中に存在する水分子に置き換わってゼラチンやコハク化ゼラチン分子と相互作用することが分かった。

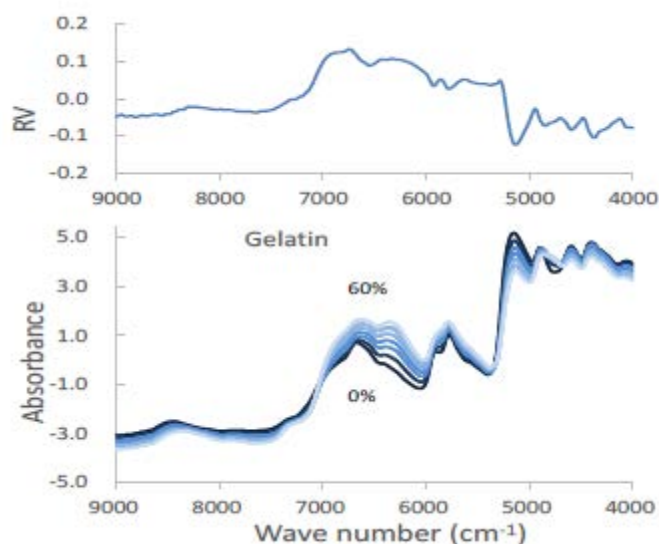


図7. ゼラチンシート中のグリセリン濃度予測のための最適 PLS 検量モデルの回帰ベクトルと NIR 再構築スペクトル

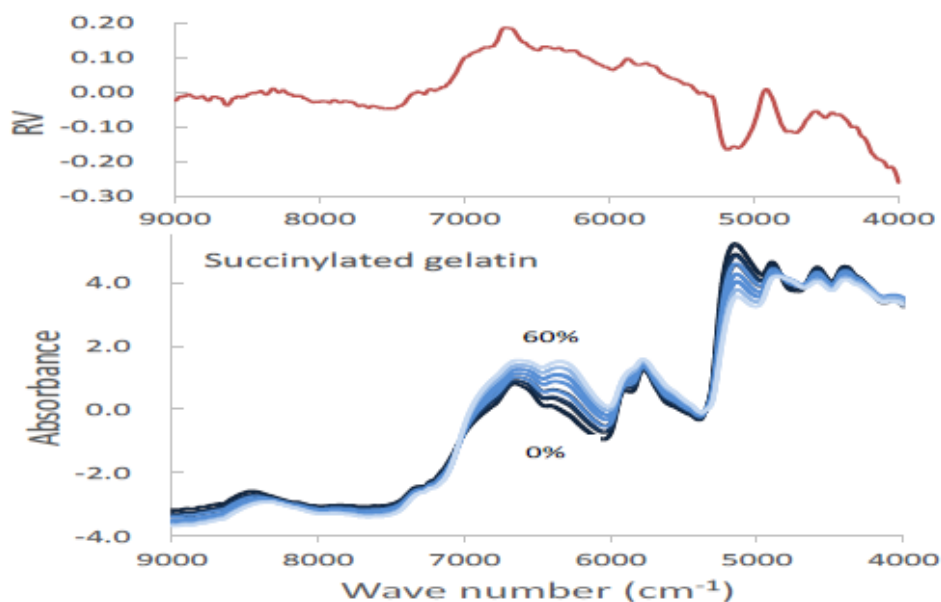


図8. コハク化ゼラチンシート中のグリセリン濃度予測のための最適 PLS 検量モデルの回帰ベクトルと NIR 再構築スペクトル

ゼラチン皮膜とコハク化ゼラチン皮膜について、引っ張り強度試験を行った。

応力－ひずみ曲線から得られる弾性率と皮膜のグリセリン濃度との関係を図9に記載した。ゼラチン皮膜とコハク化ゼラチン皮膜ともグリセリン濃度が増えると弾性率が低下するが、その低下の度合いはコハク化ゼラチンの方が大きく、コハク化ゼラチンはゼラチンに比較して変形し易いことが示された。ゼラチン－水－グリセリンのハイドロゲル構造と、コハク化ゼラチン－水－グリセリンのハイドロゲル構造の比較から、ゼラチン分子とコハク化ゼラチン分子との違い、フリーの ε アミノ基があるか、酸アミド結合によって封印されているかによってゲル構造にどのような違いが出てくるかが分かることになる。

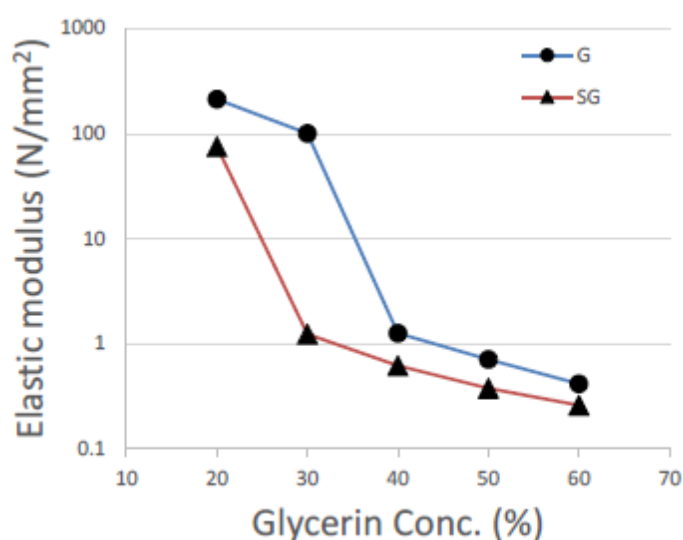


図9．応力－ひずみ曲線から得られる弾性率と皮膜のグリセリン濃度との関係

各種濃度のグリセリンを含む皮膜について、弾性率と静的 NIR スペクトルの関係を PLS 法により多変量解析した。図10は、グリセリン濃度が弾性率に与える影響を解析して、得られた予測値と実測値の関係を示した。ここで、ゼラチン皮膜もコハク化ゼラチン皮膜も直線関係が得られた。図11は、これらの弾性率を予測検量モデルの回帰ベクトルと再構築スペクトルを表している。ここで、どちらの皮膜も、水の $-OH$ 基に由来する約 5200cm^{-1} のピークはグリセリン濃度が上昇に関連して弾性率は、低下した。一方、グリセリンの $-CH_2$ に由来する約 6400cm^{-1} のピークは増加を示した。このことから、グリセリン濃度に比例してグリセリンの $-OH$ 基が皮膜中に存在する水分子に置き換わってゼラチ

ンやコハク化ゼラチン分子と相互作用し、弾性率が変化することが示されたが、スペクトルへの影響は、特にコハク化ゼラチンで、少なかった。

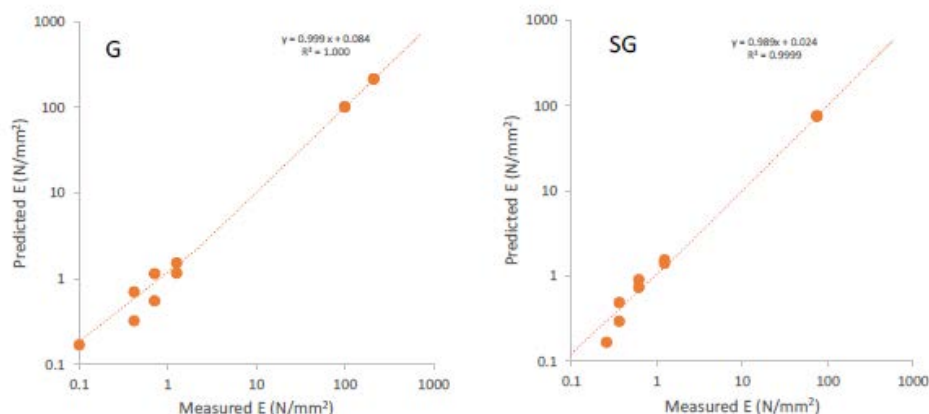


図10. NIRにより予測されたゼラチンシート(左)とコハク化ゼラチンシート(右)の弾性率の予測値と実測値の関係

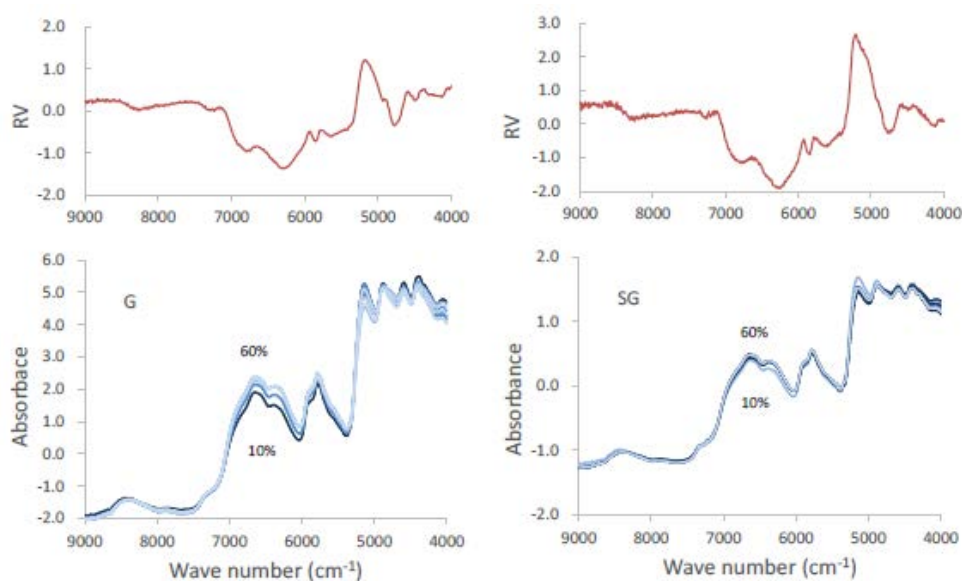


図11. ゼラチンシート(左)とコハク化ゼラチンシート(右)の弾性率予測のための最適PLS検量モデルの回帰ベクトル(上)とNIR再構築スペクトル(下)

図12は、30%グリセリン濃度でのゼラチン皮膜とコハク化ゼラチン皮膜について、引っ張り強度試験を行った際の動的NIRスペクトルの変化を示したものである。図13は弾性率の予測値と実測値の関係である。いずれの皮膜も良い直線関係が得られている。図14は関係するNIR波長の相関関係を示したものである。図12に、引っ張り強度試験での皮膜の最大伸び時点でのNIRスペクト

ルを点線で示した。引っ張り強度試験前の皮膜の NIR スペクトル（実線）と比較して、ゼラチン皮膜ではゼラチンの $-CH$ に起因する 8400cm^{-1} のピークが増加し、 7700cm^{-1} のピークが減少している。図 1 4 のゼラチン皮膜の 8400cm^{-1} のピークと 7700cm^{-1} のピークの関係が、コハク化ゼラチンでは明確に認められていない。このことから、ゼラチン皮膜は高い弾性率を持つこと、その理由として皮膜に引っ張りの力が加わると、ゼラチン皮膜では高次網目構造にひずみが起きることが示された^[9]。

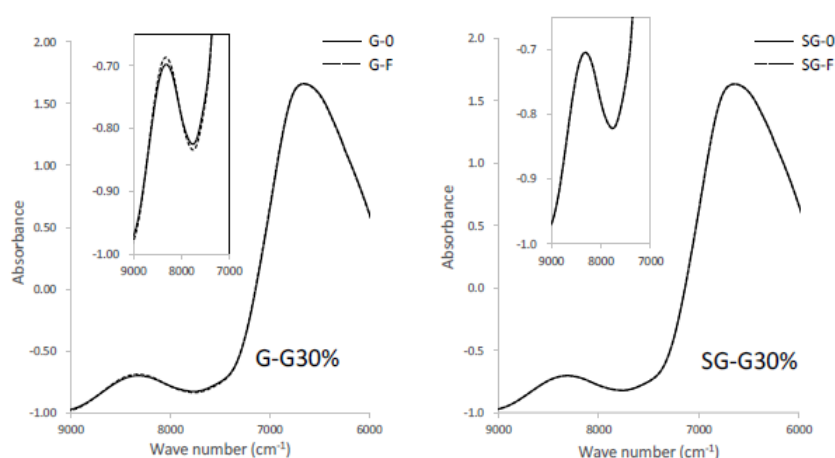


図 1 2. ゼラチンシート（左）とコハク化ゼラチンシート(右)の引っ張り試験中の動的 NIR スペクトル変化

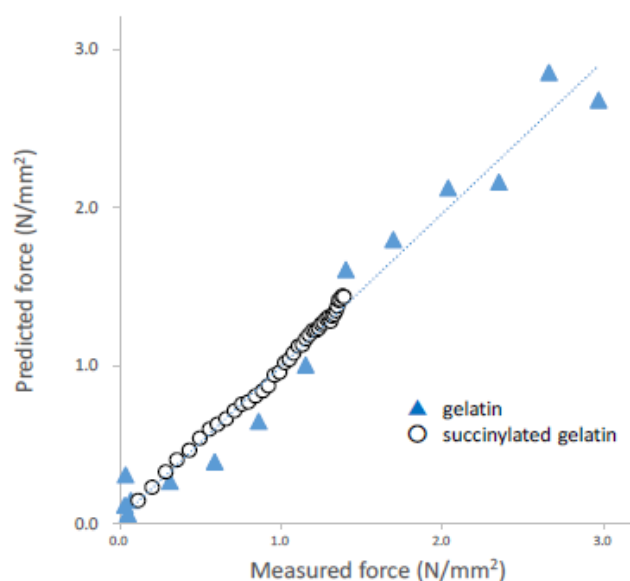


図 1 3. ゼラチンシートとコハク化ゼラチンシートの引っ張り試験中の動的弾性率の変化

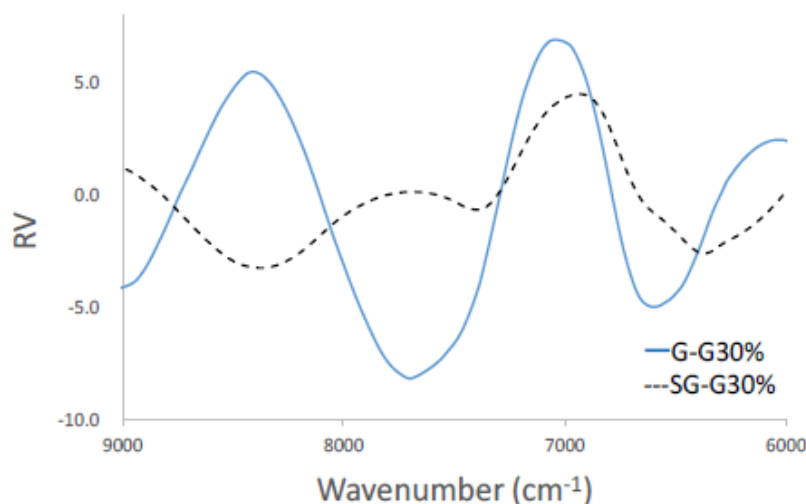


図14. ゼラチンシートとコハク化ゼラチンシートの引っ張り試験中の動的弾性率予測検量モデルの回帰ベクトル

4. 結論

これまでの研究成果として、ソフトカプセルの皮膜成分であるゼラチンは各種要因により不溶化することが知見されている。ソフトカプセル製剤の崩壊時間の延長や不溶化の起点となるゼラチンの ϵ アミノ基を保護し、架橋反応を遅らせるために、各種アミノ酸、ポリペプチド、サイクロデキストリン等をゼラチン皮膜へ添加する方法が検討されているが、必ずしも十分な効果が得られていなかった。我々は不溶化の原因となる生薬成分とゼラチンの相互作用の検討から、ゼラチン皮膜の不溶化機構を考察し、更に有効な不溶化防止技術を見出した。つまり、フィチン酸（イノシトール 6 リン酸）をゼラチン皮膜に添加することで不溶化が顕著に抑制されることを見出し、多くのソフトカプセル製剤に応用されている^[4,5]。しかし、その相互作用のメカニズムは必ずしも明らかにされていない。

本論文では、ゼラチンと水、グリセリンが形成する網目構造を吸湿性試験、静的NIRスペクトル解析、引っ張り強度試験、及び、引っ張り強度試験中の皮膜について dynamic NIR スペクトル法により検討した。ゼラチンの水和構造に水分子を排除して可塑剤であるグリセリンが配向することが知見された。コハク化ゼラチンとの比較試験より、ゼラチンではフリーな ϵ アミノ基が高次網目構造に重要な役割を果たしていることが示された。

一方、今後の試験の方向性が示された。ゼラチンでは高次網目構造に有効に働

いたフリーな ε アミノ基であるが。このフリーな ε アミノ基はアルデヒド類の攻撃により酸アミド反応が起き、ゼラチン分子間の架橋、クロスリンクによりゼラチンが重合・高分子化して不溶化するデメリットが考えられた。ソフトカプセル皮膜にはグリセリンと水が添加されているが、これらには不溶化防止効果がない。フィチン酸は分子構造的にどのようなメカニズムで不溶化防止に寄与しているかが研究テーマになると思われた。このゼラチン-水-グリセリン構造の中に、フィチン酸が潜り込んでゼラチンに強く配向しフリーアミノ基をアルデヒドからの攻撃から防御していることの研究テーマである。

結論として、ゼラチンと水分やグリセリン、フィチン酸との相互作用を解析する上で、NIR は極めて有用な分析手法であることが示された。これらの手法をソフトカプセル製剤の皮膜製造工程に適用することにより、品質が高く有効で安心安全な高齢者や小児用にやさしい医薬品を迅速で安価に提供できる技術が発展するものと考えられる。

謝辞

本研究において技術支援を賜りました富士カプセル株式会社開発本部製剤研究所所員に感謝申し上げます。また、本研究の一部は2018年度しあわせ研究費（研究テーマ：子供や高齢者に優しい医薬品剤形の開発）の助成を受けたものです。

文献

- [1] S. Kamiya, K. Nagae, K. Hayashi, N. Suzuki, E. Hayakawa, K. Kato, T. Sonobe, K. Nakashima, Development of a new evaluation method for gelatin film sheets, *Inter. J. Pharm.* 461 (2014) 30-33.
- [2] E. Hayakawa, Studies of soft capsules in view of the surface interaction, *Membrane* 36 (4) (2011) 177-182
- [3] G. A. Digenis, T. B. Gold, V. S. Shah, Cross-Linking of Gelatin Capsules and Its Relevance to Their in Vitro-in Vivo Performance, *J. Pharm. Sci.* 83 (7) (1994) 915- 921
- [4] Y. Shimokawa, Improvement of disintegration behavior of soft capsule

- containing the herbal medicine, Pharm. Tech. Japan 20 (12) (2004) 59-69
- [5] Y. Shimokawa, S. Shiraishi, M. Mihara, Composition for capsule film and the method for producing the capsular preparation, 3790258 (2006) JP Patented
- [6] European Pharmacopoeia 8.0, Near-Infrared Spectrophotometry, (2013) 62-67
- [7] Y. Hattori, Y. Tajiri, M. Otsuka, Tablet characteristics prediction by powder blending process analysis based on near infrared spectroscopy, J. Near Infrared Spectrosc. 21 (2013) 1-9
- [8] Y. Hattori, M. Otsuka, Modeling of feed-forward control using the partial least squares regression method in the tablet compression process, Inter. J. Pharm. 524 (2017) 407-413
- [9] Y. Shimokawa, E. Hayakawa, K. Takahashi, K. Okai, Y. Hattori, M. Otsuka, Pharmaceutical formulation analysis of gelatin-based soft capsule film sheets using near-infrared spectroscopy, J. Drug Deliv. Sci. Tech. 48 (2018) 174-182