

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K04887

研究課題名（和文）ナノ結晶水分散製剤の長期的な水分散安定性を確保できる方法論の解明と技術開発

研究課題名（英文）Elucidation and technological development of methodologies that can ensure long-term aqueous dispersion stability of nanocrystal aqueous dispersion formulations

研究代表者

馬場 耕一（Baba, Koichi）

大阪大学・医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号：00436172

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：薬剤ナノ結晶点眼液は、ナノオーダーの粒子サイズ効果の為、眼内への薬物到達性の向上が期待できる。しかしながら薬剤ナノ結晶は水中で凝集しやすい為、製剤化の観点から長期的な粒子水分散安定性の確保が必要である。本研究テーマは、ナノ結晶水分散製剤の長期的な水分散安定性を確保できる方法論の解明と技術開発とした。成果として、ステロイド系眼科薬剤であるフルオロメトロン[®]のナノ結晶点眼液の作製法を新たに開発し、ナノ結晶の表面をラノリンという化合物で被覆することで、冷蔵保存で半年程度は薬剤ナノ結晶の水分散安定性を確保できる方法を見出した。今後ナノ結晶水分散製剤の研究開発に役立つことが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般に点眼液の眼への移行性は低いとされる。これは眼には様々なバリア機能が発達している為である。例えば、瞬きや涙液によって点眼後の薬剤は速やかに目の表面から洗い流され、鼻腔を通り体全体に拡散される。このため体全体への副作用が問題になることがある。点眼液を効率よく眼の中に移行させることが一つの課題であるが、我々は薬剤をナノメートルオーダーまで小さくしたナノ結晶点眼液の作製に成功し、点眼薬剤の眼内移行性が向上することを明らかにした。また比較的長期間、薬剤ナノ結晶の粒子分散性を確保できた。将来的にナノ結晶点眼液の開発が期待されるが、技術開発の際に役立つ基礎研究的な成果を挙げることに成功した。

研究成果の概要（英文）：Drug nanocrystal eye drops are expected to improve drug delivery into the eye due to their nano-order particle size effect. However, since drug nanocrystals easily aggregate in water, it is necessary to ensure the long-term aqueous dispersion stability of the particles from the viewpoint of formulation. The theme of this study was to elucidate the methodology and develop the technology to ensure the long-term aqueous dispersion stability of nanocrystal aqueous dispersion formulations. As a result, we developed a new method to prepare nanocrystal eye drops of fluorometholone, a steroidal ophthalmic drug, and found that by coating the surface of the nanocrystals with a compound called lanolin, the water dispersion stability of the drug nanocrystals can be maintained for about six months in refrigerated storage. This method is expected to be useful for research and development of aqueous dispersion formulations of nanocrystals in the future.

研究分野：ナノ結晶の作製と評価

キーワード：薬剤ナノ結晶 ステロイド 眼内移行性向上 製剤の分散安定性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

製剤業界において、合成・スクリーニング段階の約 70%、製剤開発段階の約 40%が水のみならず有機溶媒にも難溶性とされる。難水溶性薬剤の水への溶解性を高める手段としてドラッグナノクリスタル(ナノ結晶製剤)技術が注目されている。ナノ結晶製剤は、粒子サイズが 1 μ m ~ 100nm 近傍に位置づけられる。粒子サイズの観点から、ナノ結晶製剤とバルク結晶製剤(=粒子サイズ数十 μ m オーダー)を比較した場合、ナノ結晶製剤は比表面積の増大に伴う薬剤の水への溶解性の向上、薬剤ナノ結晶の細胞への取り込みの向上等、バルク結晶製剤には存在しない優れた特徴を示す。またナノ結晶製剤は、リポソーム等の他のナノ粒子製剤とは異なる優れた特徴も有することから(結晶故に 100%高密度充填薬剤、安価等)、ナノ結晶製剤の研究開発が近年活発化している。1990 年代、EU を中心に始まった薬剤ナノ結晶の学術研究を基盤として、現在は EU を中心にナノ結晶製剤の上市が活発に行われている。今後、製剤の難水溶性化が増々進む中、ナノ結晶製剤は、近未来において、薬剤形態の主流を占めるようになると予想されるため、大変重要な研究対象分野であり、本邦においてもナノ結晶製剤の研究開発を強く推進していく必要性が十二分にある。

ナノ結晶製剤の問題：難水溶性薬剤をナノ結晶化することで、比表面積の増加に伴い難水溶性薬剤の水への溶解性が向上する。これは製剤化の視点からは長所である。その反面、長所の裏返しとして、薬剤がナノ結晶化により水に溶けやすくなったことで、薬剤ナノ結晶の水中での結晶成長が促進され、ナノ結晶のサイズがバルク結晶レベルまで大きくなり、行き着く先はナノ結晶が消失し、バルク結晶が多数を占めてしまう、オストワルド熟成という現象に至る。これは製剤の長期安定性の観点からみると致命的な短所である。そのような問題もあり、EU を中心に販売されているナノ結晶製剤のほとんどは、水分散系の製剤形態ではなく、ナノ結晶の粉体系製剤である。特に申請者が現在取り組んでいる眼科製剤の分野において、未だナノ結晶点眼液製剤は上市化されていない(Drug Deliv Transl Res, 6, 39, 2016)。

このようにナノサイズ化に伴う溶解性向上に付随したナノ結晶の結晶成長は、ナノ結晶製剤に本質的に内在する特徴である。オストワルド熟成の現象自体は古くから知られており、ギブス・トムソン効果を中心にそのメカニズムも理論的に解釈され、またオストワルド熟成を抑制する解決方法も提案されてきているが、現実として多くの難溶性薬剤のナノ結晶のオストワルド熟成を抑制する技術開発は未だ十分とは言えない。特にナノ結晶製剤においても内在するこの本質的な自然現象は、適当な分散安定剤の添加等では容易に解決されない。そのためナノ結晶製剤の長期安定性を確保することが極めて困難であり、現在に至るまで、ナノ結晶水分散製剤の作製において重要な課題として取り上げられる。

2. 研究の目的

ナノ結晶水分散製剤における長期的な水分散安定性を確保できる方法論の解明と技術開発を行うことを本研究の目的とした。未だ十分に解決されていないナノ結晶水分散製剤のオストワルド熟成の問題を、申請者の独自の技術を中心に解決に向かう時点で学術的な独自性は高いと考える。本研究成果により、これまで困難であった長期的な水分散安定性を保持したナノ結晶水分散製剤の研究開発を進展させることに繋がる可能性がある。

3. 研究の方法

ナノ結晶水分散製剤の作製：申請者らが独自開発した沈殿-凍結乾燥法を用いてナノ結晶水分散液を作製した。具体的には対象となる薬物(抗炎症ステロイド剤であるフルオロメトロン)を t-ブチルアルコール等に溶解させ、添加物としてラノリン等の軟膏剤を混ぜて溶かし込んだ。一方、PVP 等の水分散安定剤を混ぜ合わせた水溶液を準備し、これら 2 種類の溶液を速やかに混合させたのち、速やかに液体窒素で凍結させ、続いて凍結乾燥装置で粉体になるまで乾燥させた。本粉体を水に再分散させ、フィルターを用いて凝集物を取り除くことで、フルオロメトロンナノ結晶水分散液を作製した。構造物性評価及び水中でのナノ結晶の結晶成長又は分散安定性の検証：ナノ結晶水分散製剤の粒子サイズ等は、電子顕微鏡(SEM)、光散乱測定装置等により評価した。

4. 研究成果

我々はナノ結晶製剤の表面コーティング剤を選択するにあたり、医薬品添加物辞典に記載された医薬品への利用が許可されている精製ラノリンというヒツジの毛から得た脂肪様物質を精製したものの使用を検討した。ナノ結晶には、難水溶性ステロイド製剤の一つであり眼の抗炎症剤として用いられるフルオロメトロンを対象とした。その結果、過酷試験(60 の恒温槽に 48 時間静置)において、ラノリンで表面をコーティングしたフルオロメトロンナノ結晶は、ラノリンで表面コーティングしてないフルメトロンナノ結晶では観察されない結晶成長の抑制傾向が観察された。また 10 保存で約半年間ほど、ナノ結晶分散安定性を確保できることが分かった。ラノリンを用いたナノ結晶製剤の表面コーティングは有用な手段の一つと考えられた。ナノ結

晶の水中での結晶成長抑制において、難水溶性薬剤の溶解度、分子構造、結晶構造、粒子サイズ・形態等の物性が強く関連していると推測されるが、その中で特に重要な物性は、対象化合物への水への溶解性であると推測できる。本実験のラノリンの使用によるナノ結晶表面のコーティングによってナノ結晶が水雰囲気から物理的に隔離され、水中での結晶成長が抑制されたと推測できた。また関連したフルオロメトロンのナノ結晶点眼液の小動物への点眼実験により、当該ナノ結晶点眼液の眼内移行性が、従来の懸濁型点眼液よりも最大で6倍程高い値を示すことを明らかにできた。薬剤の粒子サイズをナノメートルオーダーまで小さくしたナノ結晶水分散点眼液は、微小な薬剤粒子サイズの為、薬物の眼内移行性が高まったと考えられた。またフルオロメトロンは点眼用途時に生じる眼圧上昇が低いことがメリットとして挙げられている。眼圧が上昇しない理由として、フルオロメトロンの構造の一部が眼内で代謝を受け構造変化し、ステロイド活性が低下することで、眼圧上昇が起こりにくいことが報告されていたが、フルオロメトロンのナノ結晶点眼液でも同様の現象が生じることを明らかにした。(Baba et al, International Journal of Pharmaceutics, 2021)。我々が開発したナノ結晶製剤作製プロセスに沈殿法(ビルドアップ法)と凍結乾燥法を混ぜ合わせた作製手段が、ナノ結晶の形成と安定性保持に有効であったと考えられた。ラノリンを用いたナノ結晶表面をコーティングする技術は、ナノ結晶薬剤の水中での結晶成長を抑制する効果が期待できるため、今後、製剤開発に役立つ可能性が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Baba Koichi, Hashida Noriyasu, Tujikawa Motokazu, Quantock Andrew J., Nishida Kohji	4. 巻 592
2. 論文標題 The generation of fluorometholone nanocrystal eye drops, their metabolization to dihydrofluorometholone and penetration into rabbit eyes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 120067 ~ 120067
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijpharm.2020.120067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------