

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06654

研究課題名(和文)酸化還元電位を新指標とした光不安定医薬品のテーラーメイド製剤化

研究課題名(英文)Tailor-made formulation for photo-unstable drugs by redox potential

研究代表者

小幡 徹 (Obata, Tohru)

愛知学院大学・薬学部・准教授

研究者番号：20324080

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：医薬品の品質を、臨床現場で簡便かつ迅速に把握することは、医薬品を有効かつ安全に活用するために不可欠であり、医療ニーズに対応したテーラーメイド製剤の製造を実践する上で必須である。本研究では、医薬品の光感受性を評価する指標として、原薬や光分解物の酸化還元電位を調査したが、実用に耐えうる数値・定量値を得ることができなかった。そこで酸化還元電位に変わる新たな指標として蛍光指紋(EEM)が利用できることを明らかとし、多変量解析のPARAFACと併用することで、フェノチアジン系抗精神病薬の光分解過程を可視化し、その定量的な情報を得ることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、EEM-PARAFAC法を用いて医薬品の光感受性を数値・定量化する新しい手法を構築し、その有用性を確認した。従来のHPLCやGC-MSと比較して、原薬の光分解過程を定量的かつ可視化することが可能となり、より正確な光安定性評価ができることを示した。この成果は、医薬品の品質管理や製剤の調製に大きく寄与し、最適な薬物療法の提供と安全性の向上に繋がる。さらに、医薬品の光感受性を迅速に評価できることから、薬剤師が現場で適切な薬物治療を提供する支援となる。これにより、患者のQOL向上や医薬品の有効活用が期待され、医療現場での効率的な運用と安全性の確保に貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Understanding the quality of pharmaceuticals easily and promptly in clinical settings is essential for the effective and safe utilization of pharmaceuticals, and is indispensable for the production of tailor-made pharmaceuticals that meet medical needs. In this study, the redox potential of APIs and photodegradation products was investigated as an index for evaluating the photosensitivity of pharmaceuticals, but numerical and quantitative values that could withstand practical use could not be obtained. Therefore, we found that the fluorescence fingerprint (EEM) can be used as a new indicator to replace the redox potential, and by using it in combination with multivariate analysis PARAFAC, we succeeded in visualizing the photodegradation process of phenothiazine antipsychotics and obtained its quantitative information.

研究分野：がん化学療法

キーワード：光分解 EEM-PARAFAC クロルプロマジン フェノチアジン系医薬品

1. 研究開始当初の背景

医薬品は多様な構造をもつ有機化合物であるため、光などの外的因子に対して不安定であり、物理的変化や化学的変化が生じるものが多く、医薬品の光感受性に関する情報は、添付文書やインタビューフォーム中に数多く記載されている。このように光感受性の高い医薬品は、色調変化による QOL 低下や薬効低下のみならず、分解物による副作用の発現、使用方法の制限など、薬物治療を行う上で問題となっている。

また薬剤師は、光に対して不安定な医薬品を取り扱う際、新原薬及び新製剤の光安定性試験ガイドラインに基づき、外観や性状、分解経路など、物質の光感受性に関する情報を把握し、医薬品の保管、製剤の調製から治療提供に至るまで、品質を維持することが求められている。しかしながら、本ガイドラインでは、原薬や光分解物の関係に関する情報が不明瞭で、医薬品の光感受性に関する情報を、容易に導き出せないため、患者個別の医療ニーズに対応するための製剤を調製する場合、薬剤師自らの知識や経験に基づいた調剤順序や医薬品添加剤の選択といった試行錯誤的に行われている。上記を踏まえ、医薬品の光感受性を数値・定量化し、現場で簡便かつ迅速に、それらの品質を把握することは、医薬品を有効かつ安全に活用するために不可欠であり、高品質な製剤の製造や医療ニーズに対応した薬物療法を実践する上で必須である。

2. 研究の目的

本研究では、医薬品の光感受性を数値・定量化することで、高品質な医薬品を保管、製剤の調製から治療提供できる手法を開発することを目的とする。具体的には、原薬の光に対する光感受性を酸化還元電位で指標化することで、高品質な製剤を調製できる新手法の構築に繋げる。目的を踏まえ、フェノチアジン環やジベンズアゼピン環の骨格を有する原薬と光分解物の酸化還元電位を、サイクリックボルタンメトリーを用いて測定し、それらの関係性を調べることを試みたが、実用に耐えうる数値・定量値を得ることができなかった。そこで、酸化還元電位に変わる新たな指標として蛍光指紋に着目した。

蛍光指紋は、励起蛍光マトリックス (EEM) と呼ばれ、励起波長、蛍光波長、蛍光強度の情報を三次元的にプロットした測定法である。また多変量解析の Parallel Factor Analysis (PARAFAC) と組み合わせた EEM-PARAFAC は、多成分が重なり合った EEM を、個別の成分スペクトルに分離することができるケモメトリクス的手法である (図 1)。そこで医薬品の光感受性の数値・定量化に向けて、EEM-PARAFAC 法を構築し、その有用性を調査した。

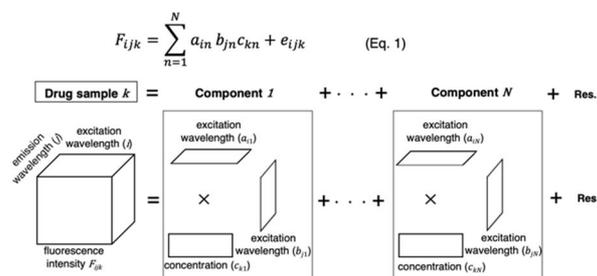


図 1. EEM-PARAFAC の 3 次元モデル

3. 研究の方法

本研究ではフェノチアジン系抗精神病薬を原薬とし、メタノール中における chlorpromazine hydrochloride (1) の濃度と蛍光強度の線形性を確認した後、1 の光分解過程を EEM で経時的にモニタリングした。続いて、PARAFAC で分離された成分数の妥当性を更に検証するため、1 の光分解物の単離及び構造を、各種構造解析手法を用いて同定した後、生成物の化学構造と EEM の関係、分解経路を明らかにした。また 1 の光分解反応を定量的に把握するために、速度論的解析を行い、EEM-PARAFAC 法の有用性について検証した。最後に本手法を、側鎖構造が異なるフェノチアジン系抗精神病薬の光安定性評価に適用した。

4. 研究成果

(1) EEM-PARAFAC 法の構築

メタノール中における 1 の濃度と蛍光強度の線形性を確認した結果、5~25 μM の範囲において良好な直線性を示すことがわかった。そこで 10 μM の 1 メタノール溶液に対し、365 nm の LED 光を照射し、酸素雰囲気下、5 $^{\circ}\text{C}$ における光分解過程を EEM で経時的に追跡し、PARAFAC にて成分分離を行った (図 2)。その結果、光照射時間の延長に伴い、1 の等高線マップに由来する蛍光波長 (em) 450 nm/励起波長 (ex) 260, 310

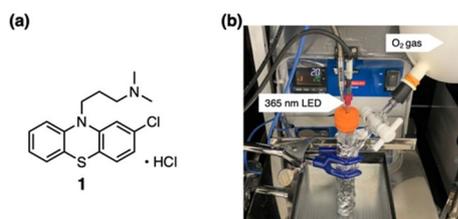


図 2. Chlorpromazine hydrochloride (1) の構造と光照射実験

nm (C1) の強度が速やかに減弱し、em 375 nm/ex 250 275, 335 nm (C2) と em 355 nm/ex 240, 290 nm (C3) の等高線マップが時間依存的に出現した (図 3)。また本 EEM-PARAFAC モデルの Core consistency (成分数の妥当性を示す指標) は 91% を示した。

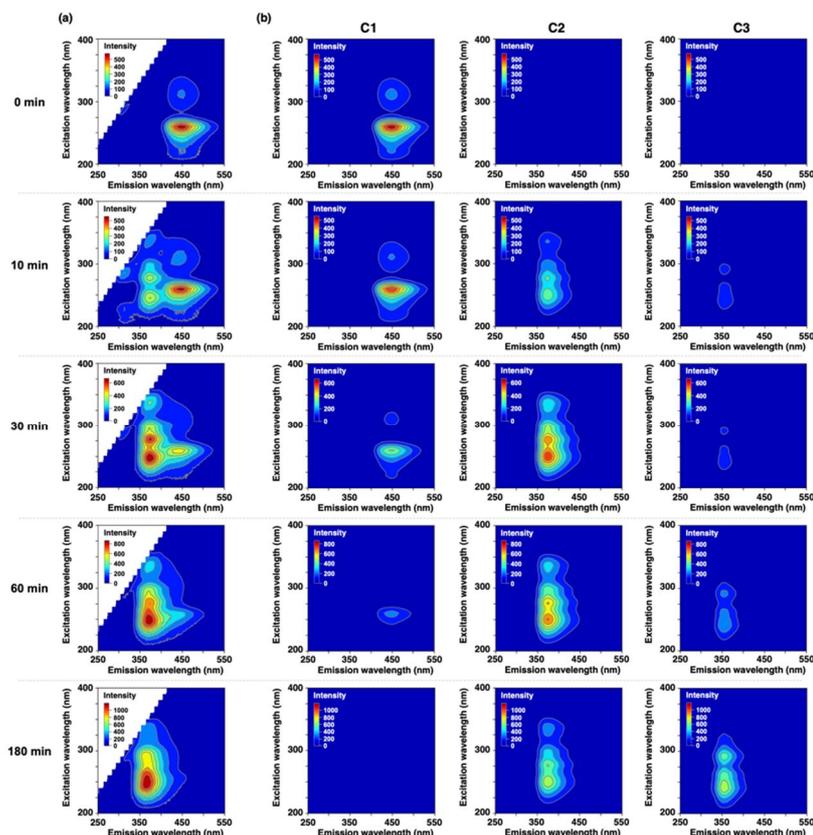


図 3. (a) 1 メタノール溶液の EEM スペクトルの変化 . b) PARAFAC 解析 .

(2) 光分解物の同定

EEM-PARAFAC モデルで算出された成分数を検証するため、1 の光分解物を捕捉し、それらの分子構造と EEM の関係を明らかにした。まず 10 mM の 1 メタノール溶液に対して、酸素雰囲気下、365 nm の LED 光を照射しながら 18 時間反応させた後、得られた反応混合物をシリカゲルクロマトグラフィーで分離精製した。その結果、phenothiazine hydrochloride sulfoxide (2) が主生成物として得られ、単結晶 X 線構造解析により、2 の結晶構造を同定することに成功した。また、2-chloro-*N,N*-dimethylcarbazole (3) が副生成物として得られ、微量の酸化物が生成することがわかった (図 4)。続いて、光分解物 2 と 3 をメタノールに溶解させ EEM を測定し、PARAFAC より成分分離された等高線マップの帰属を行った結果、C2 の等高線マップは、2 の EEM と一致し、C3 の等高線マップは、3 の EEM とそれぞれ一致した。上記の結果を踏まえて、本 EEM-PARAFAC 解析は、3 成分モデルでフィッティングできることが明らかとなった。

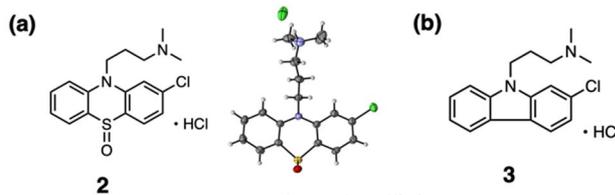


図 4. 光分解物の構造

(3) 光分解反応の速度論的解析

光分解物の同定と EEM の経時的な変化より、1 の光増感酸化反応により 2 を経た後、3 を生成することがわかった。続いて、本光分解反応を定量的に把握するために、速度論的解析を行った。[1]₀ は 1 の初濃度、t は光照射時間 (min) を示した。また em 450 nm/ex 260 nm の C1 スコア値に着目し、光照射時間 t のスコア値 (I_t) と t=0 のスコア値 (I₀) から式 1 に基づいて、スコア変化率 (Q_{em}) を求めた。各光照射時間における 1 の残存濃度は、[1]₀ に Q_{em} を乗ずることで算出した。

$$Q_{em} = \frac{I_0 - I_t}{I_0} \quad (\text{式 1})$$

1の時間-濃度変化曲線を図4に示した。本プロファイルから、1は一次反応に従って分解することがわかった。続いて、式2の速度式を入力したカーブフィッティングプログラムをMatplotlibで作製し、Levenberg-Marquardt法を用いて非線形フィッティングを行ったところ、反応速度定数(k_1)は $8.7 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ 、半減期($t_{1/2}$)は80 minを、それぞれ示した。本結果より、EEM-PARAFAC法は、光不安定医薬品の光感受性の定量化において、有用な手法となることがわかった。

$$[1] = [1]_0 e^{-k_1 t} \quad (\text{式 2})$$

(4) フェノチアジン系抗精神病薬の光安定性

最後に、本 EEM-PARAFAC 法を用いて、側鎖構造が異なるフェノチアジン系抗精神病薬の levomepromazine maleate (4) と prochlorperazine Maleate (5) の光安定性を評価した。その結果、化合物間で光分解の程度に大きな差は見られなかったが、いずれにおいても、光照射後速やかに、sulfoxide 体 (C2) と carbazole 体 (C3) に相当する等高線マップが現れ、光分解の経時的変化を可視化することに成功した。続いて、原薬と光分解物の相対濃度を求め、濃度分布の時間的変化を調べた結果、10 分間の光照射で 50% 以上の原薬が分解し、carbazole 体は、光照射 180 分後には、55% 程度の濃度分布を示すことがわかった (図 5)。以上より、EEM-PARAFAC 法を用いることで、フェノチアジン系抗精神病薬の光安定性を数値・定量化することに成功した。

医薬品の品質評価には、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) やガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) など、多種多様な分析手法が利用されているが、分解の経時的な変化を可視化することは難しい。EEM-PARAFAC 法は、原薬の光分解過程を等高線マップで可視化でき、HPLC や GC-MS と比較して、カラムクロマトグラフィーによる成分分離を行うことなく、原薬の光分解過程に関する定量的な情報を得ることができ、原薬サンプルや溶媒等の使用量も大幅に低減にも繋がった。また EEM-PARAFAC 法は、医薬品の光感受性を数値・定量化し、現場で簡便かつ迅速に、それらの品質を把握する有用な手法となるため、適正な薬物治療の実現に貢献できることが期待される。

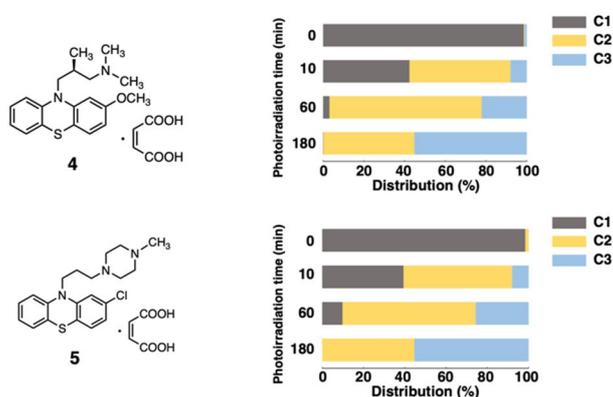


図 5. フェノチアジン系向精神薬の光安定性

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 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanioka Masaru, Ebihana Tsugumi, Uraguchi Manaе, Shoji Haruka, Nakamura Yuka, Ueda Rina, Ogura Shota, Wakiya Yoshifumi, Obata Tohru, Ida Takahiro, Horigome Jun, Kamino Shinichiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Visualization of the photodegradation of a therapeutic drug by chemometric-assisted fluorescence spectroscopy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 20714 ~ 20720
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D2RA03534K	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 海老鼻つぐみ, 浦口愛永, 上田梨奈, 中村友香, 小幡徹, 堀込純, 原田芽依, 神野伸一郎
2. 発表標題 蛍光指紋と多変量解析を組み合わせた医薬品の光分解反応解析
3. 学会等名 第48回 反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2022年

〔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
研究分担者	神野 伸一郎 (Kamino Shinichiro) (20537237)	愛知学院大学・薬学部・教授 (33902)	
研究分担者	脇屋 義文 (Wakiya Yoshifumi) (40410360)	愛知学院大学・薬学部・教授 (33902)	

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
---------	---------