

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：32676

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011年4月28日～2013年3月31日

課題番号：23790057

研究課題名(和文) 磁気共鳴法を利用した半固形製剤中の水分子運動性の解析と製剤安定性への寄与

研究課題名(英文) Analysis of the state of water in semisolid formulations using MRI and its contribution to the formulation stability

研究代表者 大貫義則 (ONUKI YOSHINORI)  
星薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：10350224

## 研究成果の概要(和文)：

磁気共鳴画像法(MRI)は、今日の医療に欠かせない分子イメージング技術である。MRIは、画像とともに、画像化される分子の分子情報を取り出すことができるため、製剤物性を評価する上でも非常に有用であると考えられる。本課題では、クリーム剤のクリーミング挙動を非破壊的かつ詳細に評価できる新規手法の構築を試みた。検討の結果、 $T_1$ 緩和時間画像( $T_1$ マップ)および見かけの拡散係数画像(ADCマップ)などの水分子運動性可視化技術を応用することで、試料内部の相分離の様子が明確に観察できることが明らかになった。さらに、局所NMRスペクトル取得技術であるMR spectroscopyを応用することで、選択した領域の成分分析も可能であった。また、実際の製剤開発に近い条件で検討を行ったところ、構築した新規評価法は、極めて実用性の高い手法であることが明らかになった。以上より、本手法は、エマルジョン製剤の製剤安定性を評価する上で極めて有用な手法であり、製剤開発・製造・品質管理など様々な場面での利用が期待される。

## 研究成果の概要(英文)：

A nondestructive method for monitoring creaming of emulsion-based formulations is in great demand because it allows us to understand fully their instability mechanisms. This study was aimed at demonstrating the usefulness of magnetic resonance (MR) techniques, including magnetic resonance imaging (MRI) and MR spectroscopy, for evaluating the physicochemical stability of emulsion-based formulations. Emulsions that are applicable as the base of practical skin creams were used as test samples. The creaming oil droplet layer and aqueous phase were clearly distinguished by quantitative MRI by measuring  $T_1$  and the apparent diffusion coefficient. Components in a selected volume in the emulsions could be analyzed using MR spectroscopy. Then, model emulsions having different hydrophilic-lipophilic balance (HLB) values were tested, and the optimal HLB value for a stable dispersion was determined. In addition, the MRI examination enables the detection of creaming occurring in a polyethylene tube, which is commonly used for commercial products, without losing any image quality. These findings strongly indicate that MR techniques are powerful tools to evaluate the physicochemical stability of emulsion-based formulations. This study will make a great contribution to the development and quality control of emulsion-based formulations.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,800,000	540,000	2,340,000

研究分野：物理系薬学

科研費の分科・細目：

キーワード：MRI、製剤安定性、エマルジョン製剤、クリーム剤、ADC マップ、相分離、非破壊的モニタリング

### 1. 研究開始当初の背景

スキนครリームなどのエマルジョン製剤は、分散する油滴がクリーミングや合を起し、水相と油相との相分離が進行するにつれて劣化していく。そうしたエマルジョン製剤の物理安定性を評価するため、これまでに様々な手法(目視による観察、濁度測定、粒子径測定、加速試験、遠心分離法など)が考案されている。しかしながら、未だ適切な評価方法が確立されたとは言いがたい。上記手法は、いずれも破壊的・侵襲的な手法(測定用の容器に試料を移して測定を行わなければならない)であるため、市販容器(チューブなど)に充填された製剤本来の相分離挙動を評価できないことや、同一の試料を長期間・連続的に評価することが困難であることなどが挙げられる。

### 2. 研究の目的

本申請課題では、磁気共鳴画像法(magnetic resonance imaging, MRI)を応用し、エマルジョン製剤の物理安定性について詳細な検討を行うこととした。MRIは、今日の医療において、は、欠かせない分子イメージング技術である。MRIは、水のプロトンの核磁気共鳴現象(nuclear magnetic resonance, NMR)を利用することで非破壊的に検体内部の様子を可視化している。さらに、分子の拡散性やプロトンの回転運動などを表わすMRパラメータを用いて画像化することにより、MRIは検体内の水の分子運動性を可視化することも可能である。

本申請課題では、様々な磁気共鳴法を駆使して、半固形製剤中の水分子運動性を詳細に検討し、製剤安定性への寄与を明らかにした。さらに、MRIの特長を応用して、半固形製剤の製剤安定性を客観的に評価・予測するための新規手法の構築・提案を試みた。

### 3. 研究の方法

反転乳化法によって oil-in-water (o/w)型エマルジョン(油相/界面活性剤/水相, 18/3/79 wt%)を調製し、モデル製剤とした。なお、界面活性剤には polyoxyethylene behenyl ether および sorbitan monostearate といった HLB 値の異なる 2 種類を用い、配合比を変化させることでモデル製剤の HLB 値を変化させた数種類の製剤を調製した。調製した製剤はエッペンドルフチューブまたはポリエチレン(PE)チューブに充填し、遠心分離

(74000g,3h)または加速試験(60°C)を行うことで、試料内部のクリーミングを促した。そのようにして調製した各試料は、経時的に室温化で MRI の測定を行った。

### 4. 研究成果

#### 4.1. MRI を利用したエマルジョン製剤の新規製剤安定性評価法の構築

検討として、まず、試料内部のクリーミングの様子を MRI によって観察できるか否かを検証した。本実験の試料として、遠心分離を行い、見た目にもはっきりとしたクリーミングが確認されるエマルジョンを用いた。続いて、この試料内部を MRI によって観察したところ、一般的な MR 画像[ $T_1$  強調画像( $T_1$ WI)、 $T_2$  強調画像( $T_2$ WI)、プロトン密度強調画像(PDWI)]では、目視で確認されるようなクリーミングを識別することは困難であった。MRI は主に試料内の水由来の MR シグナルを画像化しており、油滴を豊富に含むクリーミング相と、水相とでは、水分量だけでなく、水分子の分子運動性も大きく異なっていると考えられる。したがって、上記のような MR 画像では、そうした水分子の複雑な状態を識別することが困難であったものと考えられる。そこで、続いての検討では、 $T_1$  緩和時間画像( $T_1$  map)および見かけの拡散係数画像(ADC map)などの水の分子運動性の可視化技術を応用することとした。なお、 $T_1$  緩和時間はプロトンの回転運動を、ADC は分子の拡散性を表すパラメータである。実験の結果、水分子の状態を可視化することで、試料内部の相分離の様子は鮮明に捉えられた。

さらに、それぞれの画像から、 $T_1$  緩和時間および ADC のデータを抽出し、試料中の水分子の状態解析を行った。その結果、いずれの MR パラメータも、水相に比べて、クリーミング相で低値を示した。このことは、クリーミング相で水分子の運動性が著しく制限されていることを表している。クリーミング相には、添加した大部分の界面活性剤が分布していると考えられる。界面活性剤は、近傍の水分子を構造化し、分子の運動性を著しく制限する。このような理由によって、クリーミング相中の水分子運動性は著しく抑制されたものと考えられる。

さらに候補者は、局所 NMR スペクトル取得技術である MR スペクトロスコピー法(MRS)を応用し、クリーミング層および水相

の関心領域から  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルを取得した。水由来の 4.7ppm 付近のピーク強度を比較した結果、クリーミング相に比べて、水相で高いピーク強度が観察された。このことから、MRS を組み合わせることで、関心領域の成分分析も可能であることが明らかになった。

#### 4.2. 新規手法のエマルジョン製剤開発における実用性の評価

4.1 の検討によって、エマルジョン製剤のクリーミング挙動を非破壊的かつ詳細に評価できる新規手法を構築した。そこで、続いた検討では、実際の製剤研究に近い条件で実験を行い、製剤開発における本手法の実用性を評価することとした。

エマルジョン製剤の製剤開発を行う上で、最適な HLB 値を探索・決定することは、最重要検討課題である。そこで、MRI によるクリーミング挙動の観察によって、最適な HLB 値の探索を試みた。モデル製剤として HLB 値の異なる数種類のエマルジョンを調製し、60 °C での加速試験を行った。経時的に試料内部の様子を MRI で観察した結果、HLB 値の違いによるクリーミング挙動の違いを明確にすることができた。また、クリーミング挙動を比較することで、安定なエマルジョンを調製するための最適な HLB 値を決定することができた。

本手法は、市販製剤のように容器内部の様子を確認することのできない試料を評価する上で非常に有効である(ただし、金属製のチューブなどは適用不可)。そこで、市販製剤の容器として使用されるポリエチレン(PE)チューブに試料を充填し、本手法によって、チューブ内部の相分離の様子を観察することにした。なお、市販製剤は、薬局などで、縦置きおよび横置きの状態で保存・陳列されている。このような保存状態の違いも製剤の物理安定性に大きく影響すると考えられる。そこで、縦置きおよび横置きといった保存状態の違いによる製剤安定性への影響についても併せて検討を行った。2 週間の加速試験(60 °C)を行った後、PE チューブ内部の様子を観察したところ、試料のクリーミングの様子を鮮明に捉えることができた。また、保存条件によるクリーミングの違いも認められ、縦置き保存の試料からは、比較的単純にチューブ上部と下部とで相分離している様子が観察された一方、横置き保存の試料では、複雑な相分離の様相が確認された。

先の検討結果から、ADC の低い領域は油滴の多い層、高い領域は水相であると考えられる。そこで、このことを確認するため、それぞれの関心領域の  $\text{NMR}$  スペクトルを MRS によって取得した。その結果、予想通り、ADC の高い領域から、強度の高い水由

来のピークが認められ、この領域が水分含量の多い領域であることが明らかになった。

以上、本課題により、エマルジョン製剤の製剤安定性を評価するための優れた新規分析評価手法が構築された。本手法は、エマルジョン製剤の開発段階から、市販品の品質管理に至る様々な場面で活用できると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Hayashi, Y., Oshima, E., Maeda, J., Onuki, Y., Obata, Y., Takayama, K., Latent structure analysis of the process variables and pharmaceutical responses of an orally disintegrating tablet, Chem. Pharm Bull, 60 (2012) 1419-1425.
2. Norioka, T., Hayashi, Y., Onuki, Y., Andou, H., Tsunashima, D., Yamashita, K., Takayama, K., A Novel approach to establishing the design space for oral formulation manufacturing process, Chem. Pharm. Bull 61 (2013) 39-49.
3. Yasuda, A., Onuki, Y., Obata, Y., Yamamoto, R., Takayama, K., Self-organizing map analysis using multivariate data from theophylline tablets predicted by a thin-plate spline interpolation, Chem. Pharm. Bull., 61 (2013) 304-309.
4. Onuki, Y., Horita, A., Kuribayashi, H., Okuno, Y., Obata, Y., Takayama, K., Nondestructive monitoring of creaming of oil-in-water emulsion-based formulations using magnetic resonance imaging, Drug Dev. Ind. Pharm., (2013) in press.

[学会発表] (計 15 件)

1. 大貫義則<sup>1</sup>、堀田敬紘<sup>2</sup>、奥野吉秀<sup>2</sup>、栗林秀人<sup>3</sup>、小幡誉子<sup>1</sup>、高山幸三<sup>1</sup>(<sup>1</sup>星薬大、<sup>2</sup>池田模範堂、<sup>3</sup>アジレント)、MRI を利用したクリーム剤相分離挙動の非侵襲的モニタリング、日本薬剤学会 第 27 年会、2012.5.24-26、神戸
2. 小幡誉子<sup>1</sup>、佐野啓<sup>1</sup>、大貫義則<sup>1</sup>、太田昇<sup>2</sup>、八田一郎<sup>2</sup>、八木直人<sup>2</sup>、高山幸三<sup>1</sup>(<sup>1</sup>星薬大、<sup>2</sup>Spring-8/JASRI)、皮膚角層細胞間脂質ラメラ構造におよぼすジメチルスルホキシドの影響、日本薬剤学会 第 27 年会、2012.5.24-26、神戸
3. 佐野啓<sup>1</sup>、小幡誉子<sup>1</sup>、大貫義則<sup>1</sup>、太田昇<sup>2</sup>、森脇太郎<sup>2</sup>、八木直人<sup>2</sup>、石田賢哉<sup>3</sup>、内田良一<sup>4</sup>、八田一郎<sup>2</sup>、高山幸三<sup>1</sup>(<sup>1</sup>

星薬大、<sup>2</sup>SPring-8/JASRI、<sup>3</sup>高砂香料工業、<sup>4</sup>UCSF)、角質細胞間脂質の構造解析に基づく病態皮膚モデルの調製と評価、日本薬学会 第 27 年会, 2012.5.24-26, 神戸"

4. 大貫義則, 林祥弘, 高山幸三, 経口製剤設計プロセス最適化のためのインシリコ予測技術の応用, 第 3 回 薬学会 経口製剤 FG 合宿討論会, 2012.8.6-7. (神奈川)

5. 大貫義則, 計量化学的手法を利用した経口製剤の設計とデザインスペースの構築, 第 15 回東日本製剤懇談会, 2012.10.5. (東京・神保町)

6. 大貫義則, 池上眞由美, 小幡誉子, 高山幸三 (星薬大) グルコース輸液で希釈したフェニトイン注射剤の配合変化に関する基礎研究: NMR を利用したプロピレングリコール-グルコース相互作用の解析, 第 22 回日本医療薬学会年会, 2012.10.27-28(新潟)

7. 小幡誉子, Sureewan Duangjit, 佐野 啓, 菊地伸吾, 大貫義則, 高山幸三 (星薬大) メロキシカム経皮吸収型製剤の開発, 第 22 回日本医療薬学会年会, 2012.10.27-28(新潟)

8. 大貫義則, 人工膜小胞における膜ドメイン構造の解析, 2012 年度 第 2 回 CAC フォーラムセミナー, 2013.3.8 (東京)

9. 佐野啓<sup>1</sup>, 小幡誉子<sup>1</sup>, 大貫義則<sup>1</sup>, 太田昇<sup>2</sup>, 森脇太郎<sup>2</sup>, 池本夕佳<sup>2</sup>, 八木直人<sup>2</sup>, 石田賢哉<sup>3</sup>, 内田良一<sup>4</sup>, 高山幸三<sup>1</sup>, (<sup>1</sup>星薬大, <sup>2</sup>SPring-8/JASRI, <sup>3</sup>高砂香料工業, <sup>4</sup>UCSF) スフィンゴシンあるいはスフィンガニンを含有する皮膚角層細胞間脂質モデルの調製と構造解析, 日本薬学会 第 133 年会, 2013.3.27-30 (神奈川)

10. 乙黒沙織, 林祥弘, 大貫義則, 小幡誉子, 高山幸三 (星薬大) イブプロフェン固体分散体製剤の調製と評価, 日本薬学会 第 133 年会, 2013.3.27-30 (神奈川)

11. 谷口真歩<sup>1</sup>, 林祥弘<sup>1</sup>, 前田仁<sup>2</sup>, 大貫義則<sup>1</sup>, 小幡誉子<sup>1</sup>, 高山幸三<sup>1</sup> (<sup>1</sup>星薬大, <sup>2</sup>第一三共) 錠剤処方データベースの構築とその内部構造分析, 日本薬学会 第 133 年会, 2013.3.27-30 (神奈川)

12. 大貫義則<sup>1</sup>, 堀田敬紘<sup>2</sup>, 奥野吉秀<sup>2</sup>, 栗林秀人<sup>3</sup>, 小幡誉子<sup>1</sup>, 高山幸三<sup>1</sup> (<sup>1</sup>星薬大, <sup>2</sup>池田模範堂, <sup>3</sup>アジレント) MRI を利用したエマルジョン製剤の新規製剤安定性評価技術の構築, 日本薬学会 第 133 年会, 2013.3.27-30 (神奈川)

13. 赤木千夏, 小幡誉子, 佐野啓, 守矢昌宏, 慶徳俊介, 大貫義則, 高山幸三 (星薬大) デュロキセチン含有経皮吸収型製剤の開発, 日本薬学会 第 133 年会, 2013.3.27-30 (神奈川)

14. 白井郁佳, 大貫義則, 西川昌人, 小幡誉子, 高山幸三 (星薬大) MRI による水分子可視化技術を利用した外用剤基剤用ヒドロゲルの物性評価, 日本薬学会 第 133 年会,

2013.3.27-30 (神奈川)

15. 長谷川直毅, 坪井聡美, 黄田千尋, 大貫義則, 白水俊介, 小幡誉子, 高山幸三 (星薬大) ジアゼパム注射剤の輸液との混合に伴う配合変化の機構解明, 日本薬学会 第 133 年会, 2013.3.27-30 (神奈川)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/yakuzai/index.htm>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大貫義則 (ONUKI YOSHINORI)

星薬科大学・薬学部・助教

研究者番号: 10350224

### (2) 研究分担者

なし

研究者番号:

### (3) 連携研究者

なし

研究者番号: