

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460045

研究課題名(和文)MRIの分子イメージング技術とQbDアプローチを基盤とするエマルジョン製剤の設計

研究課題名(英文)Formulation design of pharmaceutical emulsions based on magnetic resonance imaging and quality-by-design approach

研究代表者

大貫 義則 (Onuki, Yoshinori)

富山大学・大学院 医学薬学研究部(薬学)・客員教授

研究者番号：10350224

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：スキนครリームなどのエマルジョン製剤の設計において製剤安定性は重要な特性である。本申請課題では、次世代の製剤品質管理システムとして注目されるquality by design(QbD)に基づいて、エマルジョン製剤の製剤安定性における製造条件の寄与について包括的な理解を試みた。なお、エマルジョンの安定性に水分子の状態が深く関与するため、MRIを活用して試料中の水分子運動性を詳細に評価した。実験の結果、製造条件によって試料中の水分子の状態は著しく変化し、製剤安定性に強く寄与することが明らかになった。さらに、QbDアプローチに基づいて、製剤安定性に優れたエマルジョン製剤の調製条件を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Physical stability is an important quality attribute of pharmaceutical emulsions. In general, the physical stability is affected by various factors in a complicated manner. Since the quality-by-design concept was issued, the importance of understanding the relationships between formulation variables and responses has been expanding in the development of pharmaceuticals. The purpose of this study is to gain a comprehensive understanding of the physical stability of pharmaceutical emulsions. The key technology used to evaluate the state of water was magnetic resonance imaging (MRI). From the findings, formulation variables had a significant impact on the state of water in the model formulations. Furthermore, it was clarified that the state of water played an important role in the stability of the model emulsions. In conclusion, we succeeded in gaining a comprehensive understanding of the physical stability of the model emulsions and establishing conditions to prepare stable emulsions.

研究分野：物理系薬学

キーワード：MRI クリーム剤 製剤安定性 QbD

1. 研究開始当初の背景

Oil-in-water (o/w)型エマルションは、適用部位への塗布が容易で、塗布後の使用感も良いことから、クリーム剤などの基剤に広く利用されている。エマルションは、微細な油滴が水相中に分散する剤形であり、熱力学的に不安定である。そのため、乳化安定性はエマルション製剤を開発する上で最も重要な検討課題といえる。一般的な o/w 型エマルションの劣化挙動としては、油滴のクリーミング、フロキュレーション、合一、オストワルド熟成などが知られている。フロキュレーションやクリーミングは可逆的な現象であり、攪拌などによって元の分散状態へ戻すことができるが、合一やオストワルド熟成などが生じると、元の分散状態へ戻すことはできない。エマルション製剤の品質(外観や成分均一性など)は、油滴のクリーミングやフロキュレーションなどの軽微な乳化状態の変化によっても著しく損なわれる可能性があるため、製剤品質を管理する上で、初期の乳化状態の変化を正確に評価することが重要である。

近年、我々は分子イメージング技術の1つである磁気共鳴画像法(MRI)を応用してエマルションの乳化状態を非破壊的に評価できる手法を構築している。本手法では、MRIの水分子運動性可視化技術を活用して試料内部に生じる微細な乳化状態の変化を高感度に可視化することが可能である。

2. 研究の目的

本研究では、上記の MRI 技術を駆使して製剤安定性に優れたエマルション製剤の設計を試みることにした。なお、本研究の実験は、次世代の製剤品質管理システムとして注目される Quality by Design (QbD)アプローチに基づいて計画・実施した。QbD は、製剤の品質を、最適な製剤処方・製造方法の設計によって保証しようとする概念であり、製剤の品質を最終試験によって検査・保証しようとする従来の“Quality by Testing”の概念とは異なる斬新な品質管理システムである。QbD アプローチでは、科学的根拠に基づいた製剤設計を行うため、設計変数-製剤特性間の因果関係を解明することが重要とされる。本研究では、エマルション製剤における製剤安定性のさらなる理解のため、製剤中の水分子運動性に着目することとした。これは、製剤中の水分子の状態は、調製条件によって著しい影響を受け、結果として、調製された製剤の乳化安定性に大きな影響を及ぼすと考えたためである。

3. 研究の方法

本研究では、実験計画法に従って処方(HLB値、水分量および界面活性剤添加量)を変化させた合計 27 種類のモデル製剤を調製した。それらについて、水分子運動性を反映する初期物性を測定し、乳化安定性における水分子運動性の寄与を詳細に検討した。さらに、MRI

を用いて製剤安定性を評価した。得られた実験データについて、応答曲面法や Kohonen の自己組織化マップなどを用いて解析を行い、試料中の水の分子状態による製剤安定性への影響を明確にしたのち、製剤安定性に優れたエマルション製剤が得られる調製条件を探索した。

4. 研究成果

(1) 調製条件によるエマルション製剤中の水分子運動性への影響

製剤中の水分子運動性を反映する初期物性として、T1 緩和時間(T1)、拡散係数(D)および粘度を測定し、非線形応答曲面法(RSM-S)を用いて、それら初期物性と調製条件との関係を応答曲面で表した(図1)。

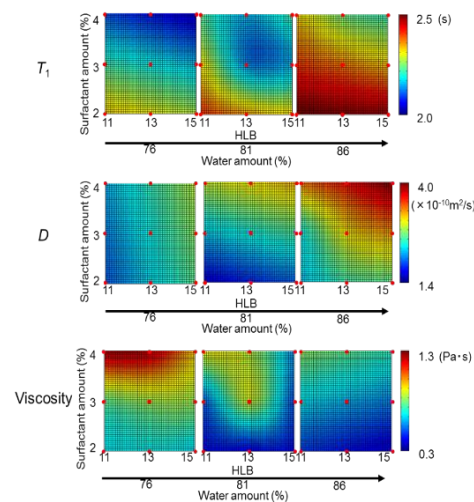


図1 応答曲面

得られた応答曲面より、試料中の水分子運動性は、調製条件によって著しく変化することが明らかになった。T1 はプロトンの回転運動を表す MR パラメータであり、試料中の結合水の割合が増加するにつれて短縮する。実験結果より、T1 は、HLB 値や界面活性剤添加量の増加に伴って短縮する傾向が認められた。D は、分子の拡散性を表す MR パラメータである。HLB、界面活性剤添加量、あるいは水分量が高値の場合に高値を示す傾向が示された。また、粘度も、水分子の状態に少なからず影響を受ける製剤物性である。検討の結果、試料の粘度は特に水分量の増加によって著しく低下した。以上の結果より、調製条件の異なるエマルション製剤では、試料中の水分子運動性も著しく変化することが明らかになった。

(2) MRI による製剤安定性評価

モデル製剤の製剤安定性は、MR 画像によって詳細に評価した。我々の過去の研究から、見かけの拡散係数画像(ADC マップ)のような水分子運動性可視化技術によって、エマルション中のクリーミングを観察できることが明らかになっている。

本研究では、40 での加速試験を行い、経時的に ADC マップを撮像して、試料中のクリーミング挙動を評価した(図 2)。結果より、調製直後の均一な乳化状態は、時間の経過と共に変化し、試料下部から ADC 値の高い領域が徐々に上部へ拡大していく様子が観察された。これは、クリーミングが進行して、油滴が上部へ移行するに伴い、試料下部に水相に現れる様子を表している。なお、同様の検討をすべての試料に行ったところ、試料ごとでクリーミング挙動が大きく異なっていた。

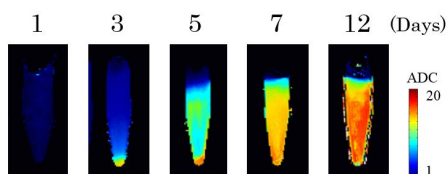


図 2 ADC マップによる試料中のクリーミング挙動観察

設計変数および初期物性と、製剤安定性との潜在的な因果関係を明らかにすることとした。なお、各試料の製剤安定性を客観的に評価する指標として、本研究では、加速試験(40、12 日間)終了時の試料の容器下部 5mm 付近の ADC 値を抽出した。本研究では、この値が低いほど、製剤安定性が良好であると見なして以下の検討を行った。

(3) SOM クラスタリングによる設計変数-初期物性-製剤安定性の潜在構造の可視化

上記(1 および 2)の検討結果をもとに、設計変数-初期物性-製剤安定性の因果関係を明らかにすることとした。なお、因子間の因果関係は非常に複雑であることが予想されるため、本研究では、多変量データの可視化手法として知られる Kohonen の自己組織化マップ(SOM)を活用した。SOM では、いくつかの設計変数と製剤特性からなる多変量のデータをその非線形性を保ったまま二次元のマップ上に写像することができる。因子を要約することなく取り出せるため、各因子間の因果関係を包括的に、あるいは局所的に考察することが可能である。

初期物性および製剤安定性の評価指標を学習データとして SOM クラスタリングを行った結果を図 3 に示す。解析の結果、SOM によって本モデル製剤は、その製剤特性の類似度から 4 つの特徴的なクラスタに分類されることが明らかになった(図 3a)。また、設計変数と初期物性の要素マップで表した(図 3b)。これらの SOM 要素マップでは、各因子の値がカラスケールで表されており、これらを見比べることで、設計変数 初期物性 製剤安定性の潜在構造を視覚的に捉えることが可能である。各設計変数(HLB、界面活性剤量および水分量)が高い値を示す領域では、D は高値、粘度は低値を示す傾向が認められた。

この傾向は、RSM-S によって示された傾向と同様であり、SOM の解析結果が妥当であることが示された。続いて、製剤安定性の要素マップを他の因子(設計変数および初期物性)のものと比較したところ、3 つの設計変数のうち、特に HLB の要素マップが、製剤安定性の要素マップと全体的に類似していた。HLB はエマルションの分散安定性に非常に影響する因子であることが知られており、本モデル製剤においてもその重要性が明らかになった。また、今回の解析結果では、HLB 以外の設計変数および初期物性の要素マップからは、製剤安定性の要素マップとの間に明確な類似性は認められなかった。先に述べた通り、本研究は、製剤中の水分子運動性が、製剤安定性に深く関与しているとの仮説のもと、水分子運動性に着目して検討を行った。実験結果から本研究によって各設計変が製剤中の水分子運動性に強く影響することが明らかになったものの、SOM による解析結果では、HLB 以外の因子による製剤安定性への関与は確認できなかった。以上のことを考え合わせると、本エマルション製剤の製剤安定性には、水分子の状態以外にも重要な決定因子が存在する可能性が考えられる。

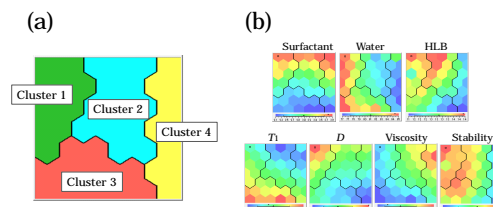


図 3 自己組織化マップ(SOM)を用いたデータ解析
(a) SOM, (b) SOM 要素マップ

最後に、製剤安定性に優れたエマルション製剤の調製条件を探索した。図 4 には、SOM で分類された各クラスタのモデル製剤が、どのような設計変数を有しているか 3 次元散佈図で表した。各クラスタを比較したところ、クラスタ 4 の製剤安定性は他の製剤に比べ著しく良好であり、目的とする製剤の集合であることが明らかになった。

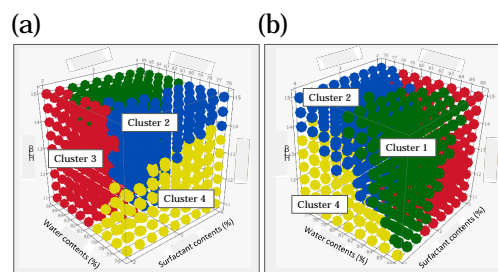


図 3 SOM によって分類された各クラスタのモデル製剤処方 の 3 次元画像
(a) 前面から見た図
(b) 背面から見た図

クラスタ 4 の調製条件の特徴として、水分量および HLB が低い値に設定された製剤であることが明らかになった。また、クラスタ 4 の T1 および D 値は、他のクラスタよりも低くなる傾向が認められ、安定な製剤では、製剤中の水分子運動性が抑制されることが示された。

(4) まとめ

MR 技術を応用することで、調製条件の変化に伴うエマルジョン製剤中の水分子運動性や製剤安定性の変化を詳細に明らかにした。また、本製剤に関する設計変数-初期物性-製剤安定性間の複雑な因果関係を SOM クラスタリングによって可視化し、製剤安定性に優れたエマルジョン製剤が調製される条件を明確にした。なお、今後の製剤開発において、QbD アプローチは、ますます重要視されると考えられる。本研究は、QbD を指向した製剤開発の事例としても、有益な情報になり得る。

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 5 件)

Onuki, Y., Funatani, C., Yokawa, T., Yamamoto, Y., Fukami, T., Koide, T., Obata, Y., Takayama, K., Magnetic resonance imaging of the phase separation in mixed preparations of moisturizing cream and steroid ointment after centrifugation, Chem. Pharm. Bull., 63 (2015) 377-383.

Onuki, Y., Machida, Y., Yokawa, T., Seike, C., Sakurai, S., Takayama, K., Magnetic resonance imaging study on the physical stability of menthol and diphenhydramine cream for the treatment of chronic kidney disease-associated pruritus, Chem. Pharm. Bull., 63 (2015) 457-462.

Inoue, Y., Iwazaki, Y., Onuki, Y., Funatani, C., Murata, I., Kanamoto, I., Examination of gelling agents to produce acetaminophen jelly, Chem Pharm Bull, 63 (2015) 519-524.

Onuki, Y., Hasegawa, N., Horita, A., Ueno, N., Kida, C., Hayashi, Y., Obata, Y., Takayama, K., Self-organizing map analysis for understanding comprehensive relationships between formulation variables, state of water, and the physical stability of pharmaceutical emulsions, Chem Pharm Bull, 63 (2015) 901-906.

Onuki, Y., Hasegawa, N., Kida, C., Obata, Y., Takayama, K., Study of the contribution of

the state of water to the gel properties of a photocrosslinked polyacrylic acid hydrogel using magnetic resonance imaging, J. Pharm. Sci. 103 (2014) 3532-3541.

〔学会発表〕(計 16 件)

横川雅光, 大貫義則, 町田昌明, 清家千江子, 内海俊一, 小幡誉子, 櫻井正太郎, 高山幸三. 透析掻痒症に適用されるメントール・ジフェンヒドラミン含有クリーム of 製剤安定性改善, 日本薬学会 第 136 年会, 2016.3.26-29, 神奈川.

鮎谷千明, 大貫義則, 山本佳久, 深水啓朗, 小出達夫, 内海俊一, 小幡誉子, 高山幸三, MRI を用いた皮膚外用剤の混合製剤の製剤安定性に関する定量的比較, 日本薬学会 第 136 年会, 2016.3.26-29, 神奈川.

黄田千尋, 大貫義則, 小幡誉子, 高山幸三, MRI を利用したエマルジョン化粧品 of 乳化状態の評価, 第 40 回日本化粧品学会, 2015.6.18-19 東京

大貫義則, Quality by Design を指向した製剤化研究, フォーラム富山「創薬」第 41 回研究会, 2015.5.29 富山

林祥弘, 黄田千尋, 鮎谷千明, 町田昌明, 高山幸三, 大貫義則, MRI を利用した製剤物性評価: 院内製剤メントール・ジフェンヒドラミン含有クリーム of 製剤安定性, フォーラム富山「創薬」第 41 回研究会, 2015.5.28 富山

黄田千尋, 大貫義則, 小幡誉子, 高山幸三, MRI を利用した製剤物性評価: エマルジョン製剤の製剤安定性における増粘剤の影響, 日本薬学会 第 135 年会, 2015.3.25-28. 兵庫

鮎谷千明, 大貫義則, 山本佳久, 深水啓朗, 小出達夫, 余川隆, 小幡誉子, 高山幸三, MRI を利用したステロイド軟膏と保湿クリームの混合製剤の製剤安定性評価, 日本薬学会 第 135 年会, 2015.3.25-28. 兵庫

長谷川直毅, 大貫義則, 堀田敬紘, 中室奈緒美, 小幡誉子, 高山幸三, エマルジョン製剤の製剤安定性に対する薬物塩の影響, 日本薬学会 第 135 年会, 2015.3.25-28. 兵庫

町田昌明, 大貫義則, 遠藤佳奈, 清家千江子, 小幡誉子, 櫻井正太郎, 高山幸三, MRI を用いたメントール・ジフェンヒドラミン含有クリーム of 製剤安定性評価,

日本薬学会 第 135 年会, 2015. 3.25-28.
兵庫

大貫義則, 長谷川直毅, 黄田千尋, 鮎谷
千明, 小幡誉子, 高山幸三, MRI を利用し
たクリーム剤の製剤安定性評価, 第 24 回
日本医療薬学会年会, 2014.9.27-28, 名古
屋

長谷川直毅, 大貫義則, 堀田敬紘, 中室
奈緒美, 小幡誉子, 高山幸三, MRI および
統計学的手法に基づいたエマルジョン製
剤の設計, 日本薬剤学会第 29 年会,
2014.5.20-22. 埼玉

大貫義則, 長谷川直毅, 黄田千尋, 小幡
誉子, 高山幸三, 外用剤基剤用ヒドロゲ
ルにおける水分子運動性と物性との因果
関係, 日本薬剤学会第 29 年会,
2014.5.20-22. 埼玉

大貫義則, 長谷川直毅, 黄田千尋, 小幡
誉子, 高山幸三, MRI を利用したヒドロ
ゲル中の水分子運動性評価およびゲル物
性への寄与, 日本薬学会 第 134 年会,
2014.3.27-30 熊本

長谷川直樹, 黄田千尋, 大貫義則, 堀田
敬紘, 小幡誉子, 高山幸三, エマルジョン
製剤の製剤安定における薬物塩の影響,
第 19 回創剤フォーラム若手研究会,
2013.12.7. 千葉

大貫義則, 長谷川直樹, 黄田千尋, 小幡
誉子, 高山幸三, 外用剤基剤用ヒドロゲ
ル中の水分子運動性評価及びゲル物性へ
の寄与, 日本薬学会第 57 回関東支部大会,
2013.10.26. 東京

長谷川直毅, 大貫義則, 堀田敬紘, 小幡
誉子, 高山幸三, MRI を利用した薬物塩
含有エマルジョン製剤の製剤安定性評価,
製剤機械技術学会第 23 回大会,
2013.10.10-11. 東京

〔図書〕(計 1 件)

大貫義則 (分担執筆), 医療・医学・薬学
における SOM の応用, p168-176, 海文堂,
2015

〔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 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://www.pha.u-toyama.ac.jp/pharmtech/index/HOME.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

大貫義則 (ONUKEI YOSHINORI)
富山大学・大学院 医学薬学研究部(薬学)・
客員教授
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：