

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08467

研究課題名（和文）キュービック相を有する新規脂質微粒子の固体粉末製剤化とその評価

研究課題名（英文）Evaluation of cubic-phase drug-carrier nanoparticles

研究代表者

野口 修治（NOGUCHI, Shuji）

東邦大学・薬学部・教授

研究者番号：60237823

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：高難溶性薬物の溶解性向上を簡便に図ることができる新規薬物担体のキュービック相（立方液晶相）をもつキューボソーム製剤の評価にも利用できるX線吸収端近傍構造（XANES）測定法の評価を進め、医薬品原薬試料あるいは医薬品製剤におけるX線吸収原子の化学的状態やその周囲の化学的環境を推定あるいは同定できることを初めて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

X線吸収端近傍構造（XANES）測定法は、固形製剤から液状製剤まで、様々な形態の製剤中の医薬品原薬の分析が可能であり、医薬品製剤のより精密な評価に適用できると期待できる。

研究成果の概要（英文）：X-ray absorption near-edge structure (XANES) spectroscopy was applied to evaluate the active pharmaceutical ingredients for the first time. The method could reveal the chemical environment of the X-ray absorbing atoms, indicating that the method would be a potent method for evaluating the APIs in pharmaceuticals including cubic-phase nanoparticles.

研究分野：製剤学

キーワード：X線吸収スペクトル法 X線吸収端近傍構造

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、新薬候補として薬理活性をもつ新規有機化合物が数多く合成される中で、溶解性が極めて低い高難溶性薬物の割合が増えてきている。こうした高難溶性薬物は、疾病の治療に応用できる優れた薬理活性をたとえ有していても、バイオアベイラビリティが低く、そのままでは臨床応用することは不可能である。高難溶性薬物を医薬品として実用化するためには、溶解度が向上した剤形にする必要があり、従来はリポソームの利用、エマルジョン化、ミセル化、あるいは研究代表者らによる脂質ナノ粒子化などの製剤化法により、バイオアベイラビリティの向上が図られてきた。しかし、これらの製剤化法においても溶解度改善がなされない高難溶性薬物が未だ数多く存在しており、今後も新薬開発の過程で多くの高難溶性薬物が創製されると推定される。それら高難溶性薬物を医薬品として実用化していくためには、従来の薬物担体よりも高い効率で溶解度を改善できる新規薬物担体を開発することが必要である。その新規薬物担体の候補として、キューボソームが挙げられる。薬物含有キューボソームの構造と物性の相関を解明するとともに、長期間安定に保存できる乾燥粉末製剤化する方法を確立する必要がある。しかし、キューボソーム製剤の構造物性相関の詳細は不明であり、粉末製剤化法も報告はない。

### 2. 研究の目的

本研究では、高難溶性薬物を効率的に可溶化して経口投与による臨床応用が可能な剤形とすることができ、乾燥粉末状態として長期保存も可能である新規キューボソーム製剤の製造法を確立し、その製剤学的評価を行うことを当初の目的とした。

製剤学的評価を行うためには、医薬品原薬が製剤中でどのような状態で存在しているかを明らかにする必要性が痛感された。このため、新規の製剤評価分析法としてX線吸収微細構造(XAFS)測定法の評価も進めることとなった。XAFS法とは、主として放射光X線を光源として試料の吸光度スペクトルを測定する方法である。どの元素も内殻電子の軌道エネルギーに相当するX線を強く吸収するが、その吸光度スペクトルはX線吸収原子の局所的電子状態に応じてX線吸収微細構造(XAFS)と呼ばれ、特に吸収端近傍微細構造(XANES)は物質に特有の形状を示す。このためXAFS法により物質を同定することやX線吸収原子近傍の構造に関する情報を得ることができる。XAFS法はこれまで金属イオンの酸化状態や配位構造の解析等に用いられているが、医薬品原薬や製剤の解析に適用した研究例はない。

### 3. 研究の方法

XAFS法の評価には、医薬品原薬の塩酸塩結晶、およびCl元素が共有結合している医薬品原薬をモデル原薬として、Cl-K吸収端のXAFSを測定した。Cl-K吸収端XAFS測定は、あいちシンクロトロン光センター(愛知県瀬戸市)のビームラインBL6N1で実施した。測定はHe置換雰囲気下の室温で行い、エネルギーの校正はK<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の硫黄K吸収端を利用した。測定時の検出モードは、試料をポリエチレンに封入する懸濁性試料および水溶液試料の場合は蛍光収量法を、結晶粉末試料の場合は電子収量法を用いた。測定したXANESスペクトルの表示と解析にはAthenaを利用した。

### 4. 研究成果

X線吸収スペクトルにおいて、吸収端近傍の最大の吸光度を示すピークは、Clが共有結合を形成しているものは幅が比較的狭い形状であるのに対し、原薬塩酸塩、すなわちCl原子がイオンとなっているものは幅広くなだらかな形状を示していた(図1)。

Cl-K吸収端のエネルギーとそのエネルギーでの吸光度、あるいは最大の吸光度を示すピークのエネルギーとそのエネルギー値と吸光度をプロットすると、Clがイオンかそれとも共有結合を形成しているか、さらにはClが共有結合している原子が芳香族性C原子か飽和C原子かにより、グループ分けできることが明らかとなった(図2)。医薬品原薬の塩酸塩結晶について、XANES領域である2823 eVから2860 eVのスペクトル間の決定係数を計算したところ、結晶中のClイオンと医薬品原薬の陽イオン基あるいは溶媒分子との相互作用様式やClイオン

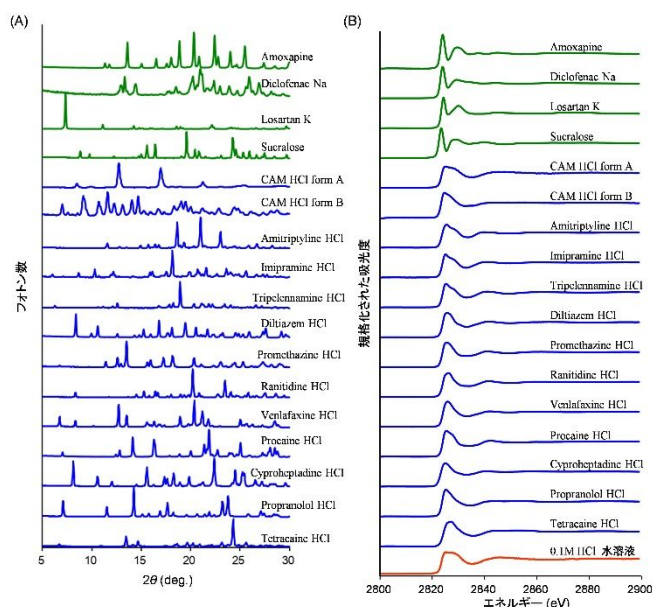


図1 Cl元素含有医薬品原薬の粉末X線回折プロファイル(A)と、Cl-K吸収端X線吸収スペクトル(B)。緑は塩素原子が共有結合している医薬品原薬、青は医薬品原薬塩酸塩、赤は水溶液。

の近傍に存在する原子種などに共通する特徴が見られる結晶試料間では XANES スペクトルの決定係数が高い傾向が見られた。こうしたプロットあるいは XANES スペクトル間の決定係数を計算する定量的な手法を用いることで、医薬品原薬中の Cl の化学的状態やその周囲の化学的環境を迅速かつ簡便に推定あるいは同定できる可能性が考えられた。

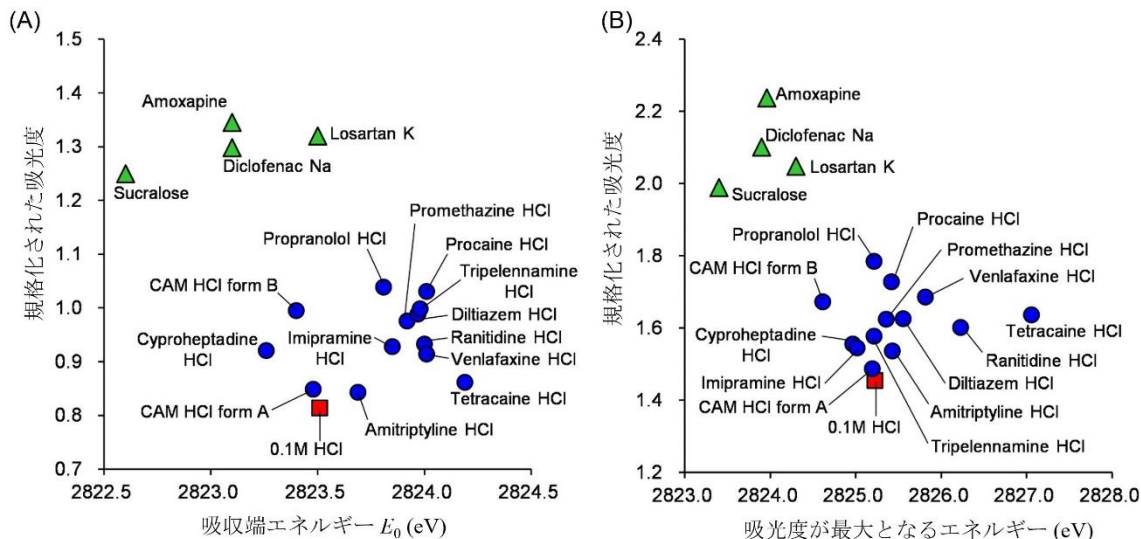


図 2 (A) Cl-K 吸収端のエネルギーと吸光度の関係。(B) Cl-K 吸収端 X 線吸収スペクトルにおける最大の吸光度を示すピークのエネルギーとその吸光度の関係。緑は塩素原子が共有結合している医薬品原薬、青は医薬品原薬塩酸塩、赤は水溶液。

14 員環系マクロライドであるクラリスロマイシン (CAM) の安定形 形結晶は、胃内のような塩酸性条件下ではゲル化した後に準安定 A 形塩酸塩結晶を経て、安定形 B 型塩酸塩水和物結晶に転移することが知られている。A 形結晶は転移しやすい上に、乾燥させると非晶質化するために水溶液中でのみ存在可能であるなど、極めて不安定であり、その性状および構造の特徴については不明な点も多かった。CAM 塩酸塩 A 型結晶の XANES スペクトルは 2824-2829 eV の付近になだらかなピークをもつ形状であった。これは CAM の三級アミンと Cl<sup>-</sup>イオンがイオン結合を形成している CAM 塩酸塩 B 型結晶とは明瞭に異なるものであり、A 型結晶中の Cl<sup>-</sup>イオンの環境は B 形結晶とは大きく異なることが推定された。A 形結晶の XANES を、種々の Cl<sup>-</sup>イオンを含む試料のもの定量的に比較したところ、塩酸水溶液のものと酷似していることが明らかとなった (図 3。2823-2860 eV のスペクトルの決定係数  $R^2=0.977$ )。このことは、A 型結晶中の Cl<sup>-</sup>イオンの大部分は塩酸水溶液中の Cl<sup>-</sup>イオンに近い状態、すなわち水分子に充分水和された状態にあることを示唆している。A 型結晶の粉末 X 線回折データから決定された格子定数と消滅則等から推定された空間群に基づくと、A が結晶中で溶媒が占める体積の割合は約 35%と非常に高いと推定されていた。このため、A 型結晶中では、Cl<sup>-</sup>イオンの大部分は CAM の三級アミノ基と強固にイオン結合を形成しているのではなく、水和されて溶媒領域に拡散しているものと考えられた。

このように、XAFS 測定法は X 線吸収原子の情報が特異的に得られるため、医薬品原薬あるいは医薬品製剤の新しい分析評価法として有用性が高いと期待できる。

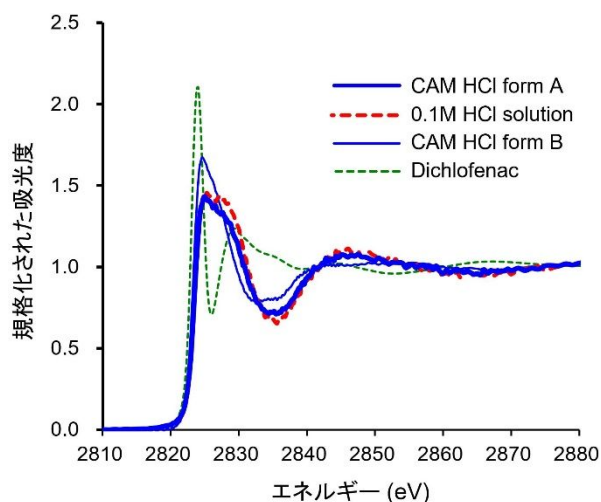


図 3 クラリスロマイシン塩酸塩と HCl 水溶液の Cl-K 吸収端 X 線吸収スペクトル。比較のため、Cl が共有結合しているジクロフェナク結晶のスペクトルも示す。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Ito Masataka, Shiba Rika, Suzuki Hironori, Noguchi Shuji	4. 巻 109
2. 論文標題 Chlorine K-Edge X-Ray Absorption Near-Edge Structure Analysis of Clarithromycin Hydrochloride Metastable Crystal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 2095 ~ 2099
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.03.015">https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.03.015</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ito Masataka, Shiba Rika, Watanabe Miteki, Iwao Yasunori, Itai Shigeru, Noguchi Shuji	4. 巻 547
2. 論文標題 Phase transitions of antibiotic clarithromycin forms I, IV and new form VII crystals	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 258 ~ 264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2018.05.073	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ito Masataka, Tokuda Reiko, Suzuki Hironori, Sakamoto Tomoaki, Terada Katsuhide, Noguchi Shuji	4. 巻 567
2. 論文標題 Desolvation behavior of indinavir sulfate ethanol and follow-up by terahertz spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 118446 ~ 118446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.06.037">https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.06.037</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iwao Yasunori, Ishida Hitoshi, Kimura Shin-ichiro, Wakimoto Toshiyuki, Kondo Hiromu, Itai Shigeru, Noguchi Shuji	4. 巻 67
2. 論文標題 Crystal Structures of Flavone <i>C</i>-Glycosides from Oolong Tea Leaves: Chafuroside A Dihydrate and Chafuroside B Monohydrate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 935 ~ 939
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00166">https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00166</a>	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10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 太田 寧々、鈴木 浩典、伊藤 雅隆、野口 修治
2. 発表標題 チエノピリジン系医薬品結晶多形のX線吸収端近傍構造解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松島 将仁、鈴木 浩典、伊藤 雅隆、野口 修治
2. 発表標題 X線吸収端近傍微細構造解析によるシメチジン結晶多形の評価
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黄珍妃、鈴木 浩典、伊藤 雅隆、野口 修治
2. 発表標題 XAFSによるプロムヘキシリン塩酸塩の結晶多形の評価
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 雅隆、朱芳黎、野口修治
2. 発表標題 塩溶媒和物結晶のX線吸収端近傍構造スペクトル測定を用いた評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第33年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 司馬理佳, 伊藤雅隆, 野口修治
2. 発表標題 医薬品原薬塩酸塩結晶のX線吸収端近傍構造スペクトル測定
3. 学会等名 日本薬剤学会第33年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩戸萌美, 鈴木浩典, 伊藤雅隆, 野口修治
2. 発表標題 Cl含有医薬品原薬結晶および固体分散体の X 線吸収端近傍構造解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富田明日美, 伊藤雅隆, 鈴木浩典, 野口 修治
2. 発表標題 XAFSを用いたエレトリプタン臭化水素酸塩の結晶多形の評価
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木浩典, 岩田萌美, 伊藤雅隆, 野口修治
2. 発表標題 X線吸収端近傍構造スペクトル測定によるClまたはS含有医薬品原薬結晶多形の評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第34年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳永将大, 伊藤雅隆, 野口修治
2. 発表標題 柑橘類果皮由来フラボノイドノビレチンの共結晶調製と物性評価
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 司馬理佳, 伊藤雅隆, 渡邊美笛, 岩尾康範, 板井茂, 野口修治
2. 発表標題 クラリスロマイシン準安定I型結晶の吸湿による転移過程の解析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018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	伊藤 雅隆  (ITO Masataka)  (30792410)	東邦大学・薬学部・助教    (32661)	