

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26282137

研究課題名(和文)次世代ナノ結晶製剤の開発：熱力学的理論計算によるスクリーニングと実験検証

研究課題名(英文)Development of the drug nanocrystal formulation: screening by thermodynamic theoretical calculation and experimental verification

研究代表者

馬場 耕一 (Baba, Koichi)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：00436172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：近年、製剤開発において薬剤の難水溶性化が進んでいる。難水溶性薬剤は水への溶解性が低いため、生理活性が低いとされる。難水溶性薬剤の改善手段として、薬剤の粒径をナノサイズまで小さくしたナノ結晶製剤が注目されている。本研究課題で、化学計算を導入し、ナノ結晶製剤の作製と評価を行った。化学計算により、特に油水分配係数(logP値)が重要な判断基準となることが分かった。ナノ結晶水分散製剤の長期安定性を維持できる手段に足掛かりを付けた。またナノ結晶点眼製剤において、市販の点眼懸濁製剤よりも眼内移行性が高まることが分かった。今後のナノ結晶製剤開発において有益な知見を得ることに成功した。

研究成果の概要(英文)：In recent years, drugs are becoming harder to be water-soluble in drug development. Due to its poor water solubility, the poorly water soluble drugs have low physiological activity. As a means for improving poorly water-soluble drugs, drug nanocrystals where the particle diameter of the drug is reduced to nanometer size have attracted attention. In this research project, chemical calculation was introduced for drug nanocrystal preparation. In particular, found that the oil-water partition coefficient (log P value) is an important factor for preparing drug nanocrystals. We also succeeded in demonstrating the maintaining the long-term stability of the nanocrystal water-dispersion. In addition, it was found that in the nanocrystal ophthalmic preparation, the intraocular migration is enhanced more than the commercially available eye drop suspension. We succeeded in obtaining useful knowledge in future nanocrystal formulation development.

研究分野：薬剤ナノ結晶の創成と評価

キーワード：薬剤ナノ結晶

1. 研究開始当初の背景

ナノ結晶製剤(Drug Nanocrystal)について、特徴と問題点：近年、製剤開発において薬剤の難水溶性化が進んでいる。難水溶性薬剤は文字通り水への溶解性が低いため、薬剤の細胞・組織への吸収が悪く、また難水溶性懸濁製剤では薬剤粒子サイズが大きすぎるため血中投与は望めず、経口・点眼投与に限られる等、薬理効果・利用形態に課題が多い。難水溶性薬剤の改善手段としてナノ結晶製剤(Drug Nanocrystal)への注目が急速に高まっている。難水溶性薬剤を対象とするナノ結晶製剤の特徴は、薬剤粒子の体積に対する表面積の比率が高いため、水への溶解性が高まること、ナノ粒子のため薬剤の細胞・組織への吸収が高まること、ナノサイズを利用したドラッグデリバリーシステムへの応用が可能であり薬剤の最小投与による最大薬理効果が見込める等、高いバイオアベイラビリティが望める。既に欧州を中心に1990年代頃からDrug Nanocrystal製剤が販売されている。その中でも水分散化したナノ結晶製剤(ナノ結晶水分散液製剤)は、経口投与に加え、注射による血中投与、点眼投与、経皮・鼻・肺による極めて高効率なスプレー噴霧投与等が可能であり、治療選択と治療効率を大幅に広げる極めて魅力的な製剤である。ナノ結晶水分散液製剤の作製法はバルク結晶を砕いて小さくしていくトップダウン法と、水中での沈澱法により分子からナノ結晶を形成させるボトムアップ法がある。ボトムアップ法は、トップダウン法よりも微小サイズのナノ結晶を作製可能であり、またコスト的にもトップダウン法(粉砕法やホモジェナイズ法)より安く済む。従って、近年は、ボトムアップ法でナノ結晶水分散液製剤を作製することに注目が集まっている。しかしながら、ボトムアップ法で作製したナノ結晶水分散液製剤には、水中でのナノ結晶成長の問題があり、いかに結晶成長を抑えるかが重要な課題である。分散安定剤付与等の様々なアプローチによる粒子分散安定性の確保に向けた研究開発が世界的に盛んである。そのためナノ結晶製剤開発のネクストステージは長期的に安定分散なナノ結晶水分散液製剤の開発にあり、このことは製剤業界の共通認識と考えられると同時に、かつ容易に解決できない難問でもある。そのためか、特に点眼製剤においては、ナノ結晶点眼製剤の上市はまだなされておらず、開発が待たれている状況である。

2. 研究の目的

申請者らは、薬剤ナノ結晶の作製と薬理効果の評価について一定の実績を上げてきたが、これらは実験的経験則に基づく限られた成果である。本研究課題では、これまでの研究成果を進展させるため、計算化学によるアプローチを新規導入し、高性能・高品質の次世代型ナノ結晶水分散液製剤を開発することで、新たな基盤技術の創成を行う。

3. 研究の方法

薬剤ナノ結晶の作製と構造物性評価：ステロイド薬剤を対象に行った。特に薬剤の水への溶解度に注目し、化学計算ソフトによる分子物性値の予測を行い、理論と実験検証を行った。薬剤ナノ結晶水分散液製剤の作製には、新技術である凍結乾燥・ナノ結晶化技術を用いた(PCT 特許出願)。具体的には、ナノ結晶化の対象となる薬剤を有機溶媒に溶解し、ポリマー等の分散剤を溶解させた水溶液に素早く混合させた後、液体窒素で凍結を行い、続いて凍結乾燥機で乾燥させ粉体を得た後、粉体を水に再分散し、0.22 μ mの濾過フィルターを通して、薬剤ナノ結晶水分散液を作製した。作製したナノ結晶について、粒子サイズ・結晶構造・水分散安定性および光学特性は、電子顕微鏡観察、粉末X線回折測定装置、光散乱測定装置により評価した。結晶構造に起因するナノ結晶の熱力学的安定性評価は、示差走査熱量計で行った。小動物点眼実験においては、作製した点眼製剤を目に点眼する通常の方法を用いた。動物実験については、大阪大学動物実験指針、大阪大学医学部動物実験ガイドライン、関係法令、および基準を遵守し、大阪大学医学部動物実験委員会の承認を得て行なった。

4. 研究成果

(1) ナノ結晶薬剤の作製と評価

これまでの経験側上、薬剤の水への溶解度とナノ結晶の水分散安定性には相関性があると推測していた。この度、計算で算出した油水分配係数が $\log P = 2.0$ 程度の溶解度を有する疎水性のステロイド薬剤において、当該技術でナノ結晶分散液を作製したところ、結晶サイズは200nm程度のナノ結晶水分散液を得ることに成功した。続いて、ナノ結晶水分散液の水分散安定性評価を行った所、40で数か月間にわたり、ナノ結晶水分散液の安定性が保持されたことが判明した。すなわち、ナノ結晶の水中での結晶成長と、続く粒子凝集・沈澱現象が観測されなかった。10の冷蔵下では約半年にわたり粒子安定性を保持した。また、今回作製したステロイドナノ結晶について、粉末X線回折による結晶構造解析、及び、示差走査熱量解析の結果、結晶多形が存在しなかった。研究開発当初の背景の欄で述べたよう、ナノ結晶水分散液製剤の長期的な安定性の確保は、極めて困難である。この度、我々は、比較的長期間、ナノ結晶水分散液製剤の安定性を確保することに足掛かりをつけることができたと考えており、今後更なる改善を加えることにより、より優れた成果を得ることができると期待する。

一方、 $\log P$ が低い場合(水溶性が高い場合)、ナノ結晶の水中での結晶成長等が生じやすく、結晶制御の難しさに繋がり、ナノ結晶化が困難な傾向を示した。薬剤の溶解度とナノ結晶化及びナノ結晶の水分散安定性には、当初推

測のように相関性があると考えられた。特に疎水性の高い薬剤はナノ結晶化を行いやすいと傾向があった。このように化学計算の導入によって分かった特に重要な点は、薬剤のlogPに注目することであると考えている。

(2) ナノ結晶剤の眼内移行性評価

作製したステロイド系のナノ結晶点眼剤と市販のステロイド系の懸濁型の点眼剤とにおいて、薬剤の眼内移行性において小動物実験系で差が生じるかを評価した。その結果、我々の開発したステロイド系ナノ結晶点眼剤は市販のステロイド系懸濁剤よりも眼内移行性が高い傾向がみられた。眼内移行性に差が生じる理由としては、我々の作製したナノ結晶点眼剤は薬剤の粒子サイズが200nm近傍にある。一方で市販の懸濁型点眼剤は一般にその粒子サイズが10 μ m程度にあるとされており、薬剤移行性の差は粒子径の差に影響を受けることが報告されており、我々の作製したナノ結晶剤の方が市販の懸濁剤の粒子よりも粒子サイズが小さいため、薬剤の眼内移行性が高まったと考えている。このことは市販点眼剤の改良に繋がることが期待でき、ナノ結晶点眼剤を用いた、薬剤の最小投与による最大薬理効果の発揮という理想的な薬剤投与形態をもたらす可能性を示している。このことは過剰な薬剤投与を回避できるため、副作用の抑制にもつながるため価値が高い。

(3) ナノ結晶点眼剤による眼圧に与える影響の検証

一般に、特にステロイド系点眼剤の点眼に際しては、点眼後、眼圧が上昇するリスクが知られている。眼圧上昇は網膜視神経細胞にダメージを与え、緑内障を引き起こす一因として問題視されている。そこで我々の作製したステロイド系ナノ結晶点眼剤における、短期的な眼圧変動に関するウサギ動物実験で検証した。ステロイドナノ結晶点眼剤、ステロイド市販点眼剤、コントロール点眼剤を用いた。その結果、3群の比較において、眼圧の上昇は見られなかった。ナノ結晶点眼は眼内移行性が高まることが明らかになったが、同時に眼圧上昇が生じないことは、ナノ結晶点眼剤の有効性を示したといえる。

(4) ナノ結晶点眼剤の水分散安定性

ナノ結晶点眼剤は、ナノ結晶が水中に分散した状態で得られるが、ナノ結晶点眼剤を作製する上での問題点も明らかとなってきた。ナノ結晶の水分散安定性の問題である。ナノ結晶は水中で結晶成長を生じる傾向があり、その結果、ナノ結晶がバルク結晶となり沈澱する傾向がある。この結晶成長の抑制を目的として様々な分散剤等の添加物の添加を試みた。その結果、多くの分散剤は結晶成長抑制にあまり効果を示さなかったが、あ

る特定の分散剤は効果的に結晶成長を抑制することが分かってきた。これらの知見は今後のナノ結晶点眼剤の開発に有効であると考えられる。以上、本研究課題で得られた成果は論文投稿予定である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Koichi Baba, Introduction of drug nanocrystal technology - for the potential tool to treatment of neurodegenerative disorders, 14th ICGP & 19th JSNP Joint Congress (招待講演), 2014年10月04日, Tsukuba International Congress Center, Tsukuba, Japan

2. Koichi Baba, Application of organic nanocrystal technology for nanomedicine in ophthalmology, The 8th International Conference on Nanophotonics (招待講演) (国際学会), 2015年05月24日~28日, Jilin Province South Lake Hotel (長春 中国)

3. Koichi Baba, Drug Nanocrystal Technology for a Current Drug Therapy: a potential tool for psychogeriatrics, WPA REGIONAL CONGRESS OSAKA Japan 2015 (招待講演) (国際学会), 2015年06月04日, 大阪府立国際会議場

4. 馬場耕一(代表), 「有機ナノ結晶技術のバイオ分野への応用」, 第14回最先端医療イノベーションセンター定例セミナー, 2017年9月29日, 大阪大学最先端医療イノベーションセンター

〔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 1 件)

名称: 薬剤ナノ粒子を分散した水分散液の製造法およびその利用
発明者: 馬場耕一、西田幸二、橋田徳康

権利者：大阪大学
種類：特許
番号：特許第 5900938 号
取得年月日：2016 年 3 月 18 日
国内外の別：日本（PCT 出願）

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場 耕一 (Baba Koichi)
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座
准教授
研究者番号：00436172

(2) 研究分担者

橋田 徳康 (Hashida Noriyasu)
大阪大学・大学院医学系研究科・特任講師
(常勤)
研究者番号：30456959

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()