

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金
(医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名： (日本語) 高機能性薬物キャリアを利用した医薬品の品質確保に関する研究
(英語) Studies on quality assurance of drug products using high-functional carriers

補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部長 合田幸広
所属 役職 氏名： (英語) Yukihiro Goda, Head, Division of Drugs, National Institute of Health Sciences (NIHS)

実施期間： 平成26年8月19日～平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 機能性キャリアを利用したナノ医薬品の品質確保に関する研究
分担課題名： (英語) Research on the quality assurance of nanomedicines using functional carriers

補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部 室長 加藤くみ子
所属 役職 氏名： (英語) Kumiko Sakai-Kato, Section Chief, Division of Drugs, NIHS

分担研究 (日本語) 経皮吸収型製剤の品質特性にクリティカルな因子の解明とその評価法
分担課題名： (英語) Investigation to clarify critical factors to determine the quality characteristics of transdermal patches and to establish evaluation methods for the critical factors

補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部 主任研究官 宮崎 玉樹
所属 役職 氏名： (英語) Tamaki Miyazaki, Senior Researcher, Division of Drugs, NIHS

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究の目的は、日本が世界をリードする製剤分野である、ナノテクノロジーを利用した製剤(ナノ

医薬品)及び経皮吸収型製剤の品質・安全性確保の方策を確立することであり、製剤特性に影響を及ぼす品質特性の同定と品質特性評価手法の開発、さらにナノ医薬品においては、細胞内動態、及び免疫学的応答反応の評価手法の開発を行うものである。本研究は、大きく分けてナノ医薬品と経皮吸収型製剤の研究グループに分かれている。以下に、それぞれのグループの成果の概要を記す。

機能性キャリアを利用したナノ医薬品の品質確保に関する研究

ナノ医薬品：本研究では、ナノテクノロジーを利用した製剤(ナノ医薬品)について品質・安全性確保の方策を確立することを目的に、製剤特性に影響を及ぼす品質特性評価手法開発、さらに、ナノ医薬品の細胞内動態、免疫応答反応の評価手法開発に関する研究を行った。品質特性評価手法の開発では、原子間力顕微鏡を用い、様々な脂質組成を有するリポソームの液中観察手法、及びリポソームの膜弾性係数を解析する手法を構築した。本手法により、膜弾性係数と、リポソーム脂質膜の熱力学的相状態や内包薬物の透過性等の製剤特性との関連性を明らかとした。一方、細胞内動態や安全性に関わる評価手法の開発では、共焦点顕微鏡を用い siRNA 封入リポソームの細胞内動態評価手法を開発するとともに、ヒト末梢血単核細胞や CD14 陽性単球を用いた炎症性サイトカイン産生に関わる評価手法を構築した。

経皮吸収型製剤：実験室レベルの小型 X 線回折装置を用い、マトリックス型経皮吸収型製剤中の有効成分の結晶性を評価する手法を構築した。結晶成分の含有率が低い場合には積算回数増加により S/N 比を向上させることで、結晶の有無の確認および多形判別が可能であった。実験室レベルの X 線回折装置による結晶性の評価結果は高輝度放射光 X 線回折測定で得られた結果と一致し、構築した評価法の有用性が確認された。さらに、製剤を未開封のまま測定に供した場合でも、基剤中の有効成分の結晶状態が評価可能なことを明らかにした。さらに、国内で流通している経皮吸収型製剤 9 品目 44 製剤について、180°ピール粘着力試験および自着力試験、プローブタック試験を行い、各試験で得られる結果は必ずしも相関しないことを明らかにした。また、粘着の三特性の一つである保持力の試験法は日局に未収載であることから、日局参考情報に保持力に関連するコールドフローの試験法案を収載すべく、測定方法および試験条件の影響について検討を行った。

英文

This research project is divided into two groups: namely, research on the quality assurance of nanomedicines using functional carriers (Nanomedicines group) and research to clarify critical factors to determine the quality characteristics of transdermal patches and to establish evaluation methods for the critical factors (transdermal patches group). Results of each group are described below.

Nanomedicines group: The purpose of this study is to establish the evaluation methods for ensuring the quality and safety of nanotechnology-based drug product (nanomedicines). We developed an evaluation method for quality attribute of nanomedicines which affects the product performance, and evaluation method for intracellular distribution and immunoreactivity of nanomedicines. We succeeded in atomic force microscopy observation of various liposomes in aqueous medium. This system has enabled to reveal the mechanical properties of liposomes of various lipid types and contents, and evaluate the relationship between the bending modulus of liposome membrane and the product performance of liposomes such as permeability of the liposomal membrane to encapsulated compounds. We further established the evaluation method for the intracellular distribution of liposome-encapsulated immunostimulatory siRNA using confocal microscopy. We evaluated the cellular uptake and innate immune activation by an immunostimulatory siRNA encapsulated within a liposome carrier in commercially available human peripheral blood mononuclear cells

(PBMCs) and peripheral blood CD14-positive monocytes.

Transdermal patches group: We have established an evaluation method of crystallinity of active pharmaceutical ingredients (API) in matrix type transdermal patches with a small sized X-ray diffraction (XRD) apparatus of a laboratory level. In the case of formulations with low content ratio of crystalline API, increase in cumulative numbers of measurement could improve an S/N ratio of an XRD pattern not only to detect presence/absence of the crystalline API, but also to discriminate the crystalline polymorph. Since the results obtained with the laboratory-level XRD apparatus corresponded with those obtained at the high intensity synchrotron radiation facility, feasibility of the laboratory-level XRD apparatus for evaluation of the crystallinity of API in transdermal patches was confirmed. Further, we have shown it has been shown that the established evaluation method is also applicable for patches in an unopened pouch.

We performed peel adhesion test at 180°, self-adhesion test and probe tack test on nine items of transdermal patches (44 formulations) that are commercially available in Japan. The results revealed that the force required to peel away a patch and the tack force would not necessarily correlate each other. In the current Japanese Pharmacopoeia (JP), there is no standard method for the evaluation of shear strength, which is one of the three performance characteristics of adhesives. To draft a general information for JP on cold flow test that will be related with shear strength, we have been conducting an investigation regarding the test method and the effects of experimental conditions.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2 件、国際誌 5 件)

1. 加藤くみ子、合田幸広 “ナノテクノロジーを基盤とした革新的医薬品に関するレギュラトリーサイエンス研究” 国立医薬品食品衛生研究所報告 132, 3-5, 2014
2. Sakai-Kato, K., Nanjo K., Kawanishi T., Okuda H, Goda, Y. “Size Exclusion Chromatography Coupled with Multi-Angle Light Scattering Analysis of Physicochemical Properties of Block Copolymer Micelles.” *Chromatogr.*, 2015, 36, 29-32.
3. 宮崎玉樹, 合田幸広. 経皮吸収型製剤の製剤物性評価法. *薬剤学*. 2016, 76, 162-166.
4. Takechi-Haraya Y, Sakai-Kato K, Abe Y, Kawanishi T, Okuda H, Goda Y. Observation of liposomes of differing lipid composition in aqueous medium by means of atomic force microscopy. *Microscopy*. 2016, 65, 383-9.
5. Abe Y, Sakai-Kato K, Goda Y. Cell type-specific responses of peripheral blood CD14-positive monocytes to liposome-encapsulated immunostimulatory siRNA. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2016, 39, 1859-67.
6. Takechi-Haraya Y, Sakai-Kato K, Abe Y, Kawanishi T, Okuda H, Goda Y. Atomic force microscopic analysis of the effect of lipid composition on liposome membrane rigidity. *Langmuir*. 2016, 32, 6074-82.
7. Takechi-Haraya Y, Sakai-Kato K, Goda Y. Membrane rigidity determined by atomic force microscopy is a parameter of the permeability of liposomal membranes to the hydrophilic compound calcein. *AAPS PharmSciTech*. 2016, on line available, DOI: 10.1208/s12249-016-0624-x.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Physical properties and stability of co-amorphous nifedipine-nicotinamide, 口頭, Tamaki Miyazaki, Yukio Aso, Yukihiro Goda, 2014 AAPS Annual Meeting (米国薬剤学会), 2014/11/2-6, 国外.
2. co-amorphous ニフェジピン-ニコチン酸アミドの物理化学的特性, ポスター, 宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広, 日本薬学会第 135 年会, 2015/03/25-28, 国内.
3. コアモルファスニフェジピン-アセトアミノフェンの結晶化速度と分子運動性の関連, ポスター, 阿曾幸男, 宮崎玉樹, 合田幸広, 日本薬学会第 135 年会, 2015/03/25-28, 国内.
4. X 線回折測定による市販経皮吸収型製剤中の薬物の結晶状態の解析, ポスター, 宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広, 日本薬学会第 136 年会, 2015/03/25-28, 国内.
5. テープ剤基剤中の結晶性薬物の多形判別, ポスター, 宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広, 日本薬剤学会第 30 年会, 2015/05/21-23, 国内.
6. ニフェジピンとアセトアミノフェン類似体とのコアモルファスの結晶化速度, ポスター, 阿曾幸男, 宮崎玉樹, 合田幸広, 日本薬剤学会第 30 年会, 2015/05/21-23, 国内.
7. ナノ医薬品の特性解析における走査型プローブ顕微鏡の利用, ポスター, 加藤くみ子, 原矢佑樹, 阿部康弘, 合田幸広, 日本バイオイメージング学会第 24 回学術集会, 2015/09/27, 国内.
8. Feasibility of DSC to determine polymorphic transformation ratio of sulfathiazole form I, 口頭, Tamaki Miyazaki, Yukio Aso, Yukihiro Goda, 2015 AAPS Annual Meeting (米国薬剤学会), 2015/10/25-29, 国外.
9. Relationship between Crystallization Rate of Co-amorphous Nifedipine with Acetaminophen Analogues and ¹³C-NMR Relaxation Time of Drug Carbons, 口頭, Yukio Aso, Tamaki Miyazaki, Yukihiro Goda, 2015 AAPS Annual Meeting (米国薬剤学会), 2015/10/25-29, 国外.
10. 原子間力顕微鏡による液中リポソームのイメージングと膜弾性解析, ポスター, 原矢佑樹, 加藤くみ子, 合田幸広, 日本薬学会第 136 年会, 2016/03/28, 国内.
11. siRNA 封入リポソームの自然免疫応答に及ぼす影響の評価, ポスター, 阿部康弘, 加藤くみ子, 合田幸広, 日本薬学会第 136 年会, 2016/03/27, 国内.
12. siRNA 封入リポソームによる自然免疫応答の評価手法に関する検討, ポスター, 阿部康弘, 加藤くみ子, 合田幸広, 日本薬剤学会第 31 年会, 2016/05/19-21, 国内.
13. 市販経皮吸収型製剤の粘着特性, ポスター, 宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広, 日本薬剤学会第 31 年会, 2016/05/19-21, 国内.
14. Application of thermal analysis in the field of drug discovery: Stability assessment of amorphous drugs by DSC and IMC, 招待講演, Tamaki Miyazaki, Yukio Aso, Yukihiro Goda, CALCON 2016 (北米熱測定学会/日本熱測定学会共同開催学会), 2016/07/31-08/04, 国外.
15. 原子間力顕微鏡法による液中リポソームの力学的特性解析手法とその有用性の検討, ポスター, 原矢佑樹, 加藤くみ子, 合田幸広, 第 2 回次世代を担う若手のための レギュラトリーサイエンスフォーラム, 2016/09/17, 国内.
16. Temperature and relative humidity dependence of the polymorphic transformation rate of sulfathiazole form I to form IV, 口頭, Tamaki Miyazaki, Yukio Aso, Yukihiro Goda, 2016 AAPS Annual Meeting (米国薬剤学会), 2016/11/13-17, 国外. s
17. Membrane rigidity of liposome determined by means of atomic force microscopy and its relation to cellular uptake efficiency, ポスター, Yuki Takechi-Haraya, Yukihiro Goda, Kumiko Sakai-Kato, 3rd International Conference on Biomaterials Science in Tokyo (ICBS2016), 2016/11/28, 国内.

18. 未開封状態での測定による経皮吸収型製剤中の薬物の結晶性評価, ポスター, 宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広, 日本薬学会第 137 年会, 2017/03/24-27, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ナノテクノロジー応用医薬品の特性評価研究, 加藤くみ子, 第 26 回クロマトグラフィー科学会議, 2015/11/11, 国内
2. 経皮吸収型製剤の未来を見越して —さらなる発展に向けた品質評価法とは, ラウンドテーブルセッション, 宮崎玉樹, 杉林堅次, 日本薬剤学会第 31 年会, 2016/05/20, 国内.

インターネット上での研究成果の発信

1. ナノ医薬品 (ナノメディシン) に関する参考情報
http://www.nihs.go.jp/drug/section4/nanomedicine_j/nano_j.html
2. 経皮吸収製剤に関する討論内容の詳細報告
<http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>
http://www.nihs.go.jp/drug/section2/170417/yakuzai-round_160520.pdf

(4) 特許出願

なし