

外用剤の内部構造を評価するケミカルイメージング手法の開発

## Development of Chemical Imaging Technique for Evaluating Inner Structure of External Formulations

令和元年度 論文博士申請者 藤井 美佳 (Fujii, Yoshimura, Mika)

指導教員 深水 啓朗

近年、医薬品設計並びに品質管理の分野において、特性 X 線、赤外 (IR)、近赤外 (NIR)、テラヘルツおよびラマン等の様々な分光技術を用いた顕微イメージングシステムが有用な分析ツールとして用いられている。経口製剤中における主薬や添加剤の混合均一性および分散状態等の評価には、これらの手法が汎用されているが<sup>1)</sup>、外用剤に関する評価報告は極めて少ない。我々は、顕微 ATR (全反射) -IR 分光法により、液滴分散型軟膏であるアルクロメタゾンプロピオン酸エステル軟膏のイメージング測定を実施した<sup>2)</sup>。その結果、主薬や添加剤の分散状態が、先発品である Almeta<sup>®</sup>軟膏と後発品では異なることを明らかとし、顕微 ATR-IR 分光法が半固形製剤にも応用できることを報告している。

顕微 ATR-IR 分光法では、測定部であるゲルマニウムやダイヤモンドの結晶表面に製剤を密着させて測定し、製剤の状態をイメージング画像として得ることができる。そのため軟膏やクリーム等の半固形製剤中に分散している液滴は、測定部の圧力によって変形および合一する可能性があり、顕微 ATR-IR 分光法によって正確な大きさや形状を評価することは難しい。近年、共焦点ラマン分光法によ

る 3D イメージングの技法が確立され，結晶やポリマーの立体構造のイメージングが可能となった<sup>3)</sup>．共焦点ラマン分光法は，検体を非破壊で測定できることから，製剤の品質評価における新しいツールとして期待されている．

ステロイド軟膏は，アトピー性皮膚炎を始めとした皮膚疾患に用いられている．実際の医療現場では，ステロイド成分の希釈を目的として，ワセリンや保湿剤と混合されることが多い．特にアトピー性皮膚炎では，患部の保湿が重要となることから，ヘパリン類似物質油性クリーム (HPoc) との混合が汎用されている．しかしながら，皮膚外用剤の添加剤および内部構造は先発品と後発品の間で大きく異なるため<sup>4)</sup>，混合後の製剤の物性が一概に安定とは言えない．

そこで本検討ではまず，顕微 ATR-IR 分光法による 2D イメージングに加え，共焦点ラマン分光法による深さ方向の分析を用いた皮膚外用剤中の内部構造を評価する手法の構築を試みた．次に，医療現場で頻繁に用いられる，ベタメタゾン酪酸エステルプロピオン酸エステル軟膏 (BBPo) および HPoc の混合製剤について，製剤中の成分が及ぼす物理的安定性への影響を検証した．

## 1. 皮膚外用剤の内部構造解析手法の確立<sup>5) 6)</sup>

皮膚外用剤として，Almeta<sup>®</sup>軟膏およびタクロリムス (TCR) 軟膏を用い，各軟膏のイメージング画像から製剤中の内部構造を評価した．顕微 ATR-IR 分光法より，Almeta<sup>®</sup>では基剤中にプロピレングリコール (PG) およびベンジルアルコールによる液滴が分散しており，その液滴中に主薬が溶解していることが明らかとなっている<sup>2)</sup>．本検討では，主成分分析により Almeta<sup>®</sup>のラマンスペクトル

を分離し，共焦点ラマン分光法によるイメージング画像を得た．その結果，顕微 ATR-IR 分光法と同様に，白色ワセリンの基剤中に PG およびベンジルアルコールによる液滴が分散していることが明らかとなり，共焦点ラマン分光法によるイメージングが，皮膚外用剤の内部構造評価に応用できることが示唆された．TCR 軟膏中の溶剤を，顕微 ATR-IR 分光法および共焦点ラマン分光法によりイメージングした結果を図 1 に示す．溶剤である炭酸プロピレンまたはトリアセチンが，油性基剤中に分散していることが明らかとなった．各イメージング画像および偏光顕微鏡観察により得られた液滴の Heywood 径を，画像解析ソフトである Mac-View により解析した．偏光顕微鏡観察および共焦点ラマン分光法により得られた液滴径

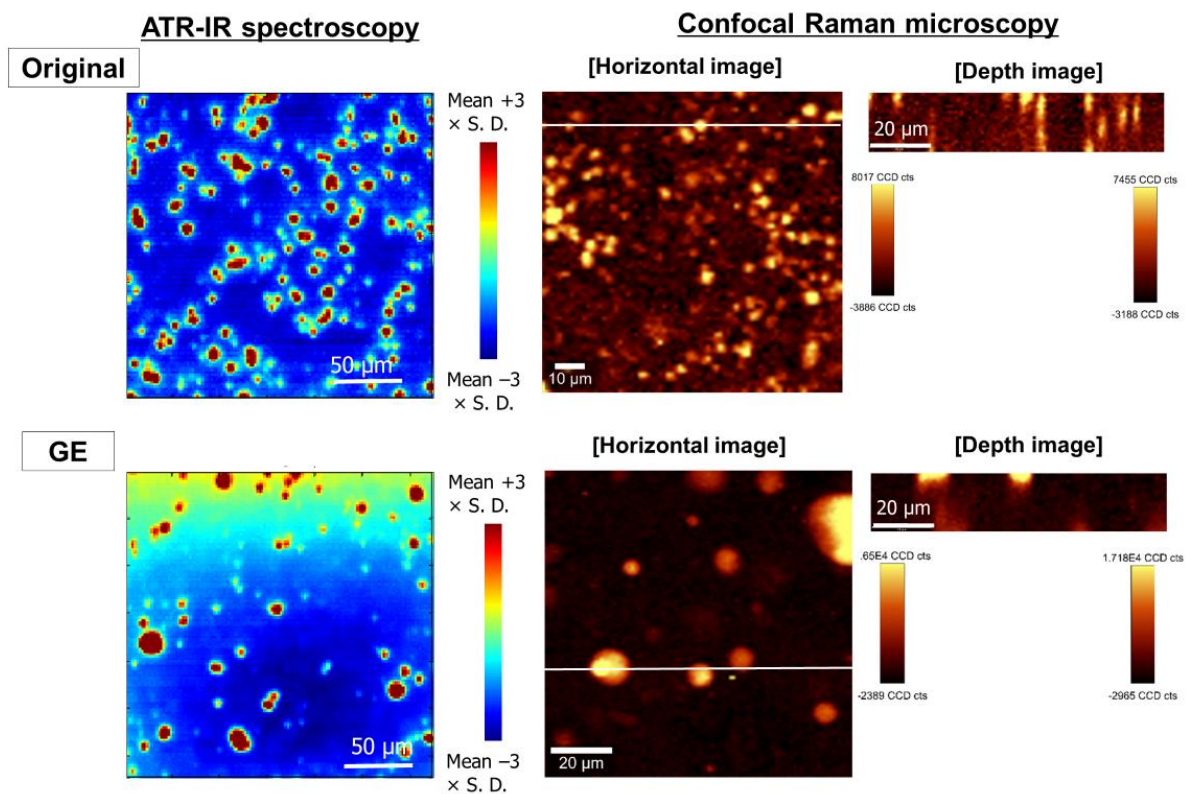


図 1 顕微 ATR-IR 分光法および共焦点ラマン分光法による TCR 軟膏のイメージング

表 1 各 TCR 軟膏中液滴の 50%径および 90%径 (μm)

Sample	Polarized Microscopy		ATR-IR		Confocal Raman	
	D50	D90	D50	D90	D50	D90
Original	4.0	6.0	7.5	10.6	3.6	5.0
Generic	11.7	15.6	7.6	13.0	14.6	15.9

は、顕微 ATR-IR 分光法で得られた液滴径と異なることが明らかとなった（表 1）。測定部に軟膏を密着させて測定する顕微 ATR-IR 分光法に対して、共焦点ラマン分光法によるイメージングでは、液滴の合一や変形が起こらず、製剤中の正確な分散状態が評価できたと考えられる。また、後発品では液滴径が大きく、液滴数も少ないことが明らかとなった（図 1 および表 1）。ガスクロマトグラフィーによる定量結果から、各製剤中の溶剂量には、差がないことが明らかとなり、後発品では液滴が局在化していることが示唆された。共焦点ラマン分光法は、半固形製剤中の内部構造を正確に評価する新しいツールとして期待できる。

## 2. 混合プロセスによる皮膚外用剤の物理的安定性 7)

BBP<sub>0</sub> は、先発品であるアンテベート（ANT<sub>0</sub>）と、後発品 3 種類（サレックス：SLX<sub>0</sub>、アンフラベート：AFV<sub>0</sub> およびベタメタゾン酪酸エステルプロピオン酸エステル軟膏 0.05% JG: BJG<sub>0</sub>）を用いた。顕微鏡観察の結果から、後発品である AFV<sub>0</sub> および BJG<sub>0</sub> の 2 製品で液滴が観察された。顕微 ATR-IR 分光法および共焦点ラマン分光法によるイメージングの結果、これらの液滴は PG であり、主薬である BBP が PG 中に溶解していることが示唆された（図 2）。また AFV<sub>0</sub> は BJG<sub>0</sub> と比較して液滴径が大きく、液滴の分散状態は製剤間で差があることが明らかとなった。

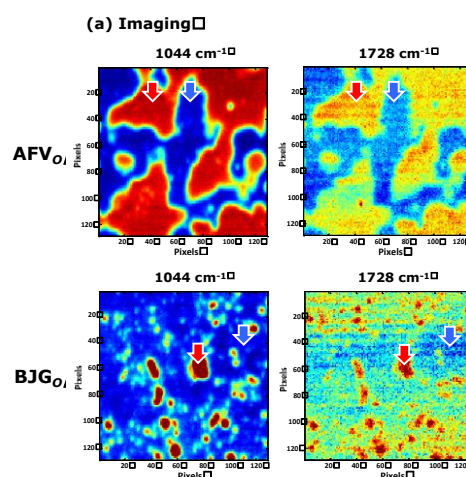


図 2 顕微 ATR-IR 分光法による  
BBP<sub>0</sub> のイメージング

4 種類の BBP<sub>o</sub> を，HPoc 0.3% 「日医工」と当量で混合し，37℃で静置した結果を図 3 に示す．AFV<sub>o</sub> および BJG<sub>o</sub> では，3 h 後より分離が認められた．油性色素であるスダン III で製剤を染色した結果，分離により生じた液体層（下層）は水溶性成分

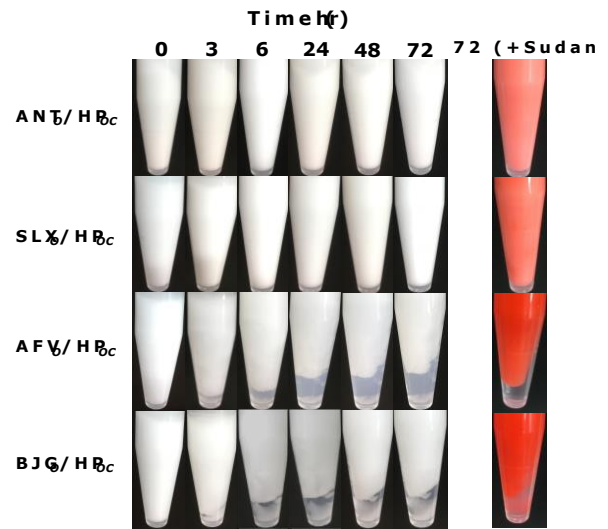


図 3 BBP<sub>o</sub> / HP<sub>o</sub> 混合後の経時変化

分による層であると推察された．分離状態をより詳細に解析するため，NIR 分光法によるスペクトルを得た（図 4）．AFV<sub>o</sub> または BJG<sub>o</sub> と HPoc の混合で生じた液体層は，水酸基の吸収ピークである 5200 cm<sup>-1</sup> および 6800 cm<sup>-1</sup> のピークが認められたことから，水溶性成分による層であることが示唆された．これはスダン III による染色の結

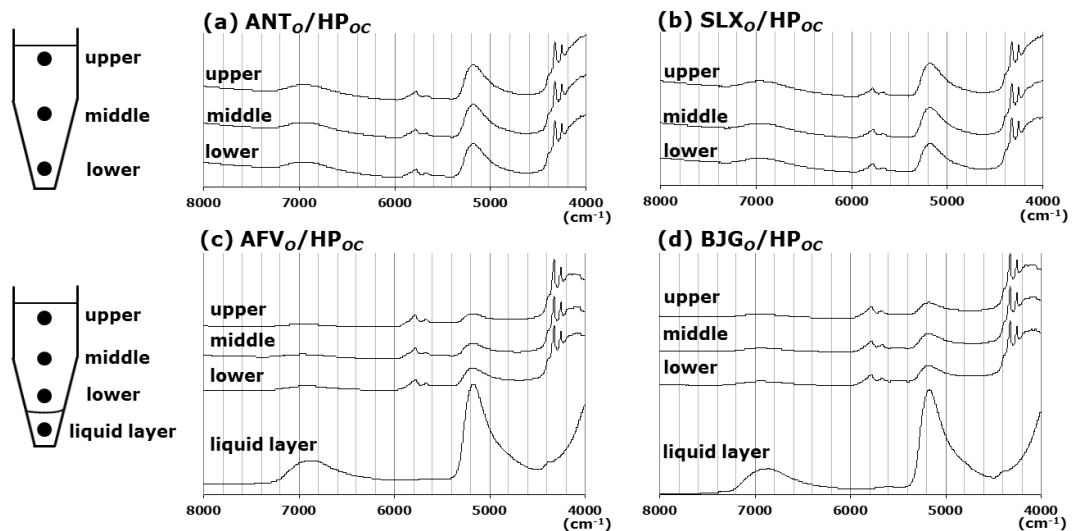


図 4 BBP<sub>o</sub> / HP<sub>o</sub> 混合後の NIR スペクトル

果と一致した．次に，AFV<sub>o</sub> および BJG<sub>o</sub> に含まれる PG およびポリオキシエチレン硬化ひまし油 40 を，白色ワセリンと混合し，モデル製剤を調製した．このモデル製剤を HPoc と混合後，37℃で静置した結果，PG 濃度に依存して分離が明確に観察された．HPoc は油

中水型の乳化物であり，PG 等の水溶性成分の混合により，油中水型の乳化状態が維持できず，分離が生じる機構が考えられた．BBPo は，製剤間で添加剤および内部構造が大きく異なり，特に PG を含有している製剤では，HPoc との混合により分離が生じ，混合製剤の物理的安定性に影響することが明らかとなった．

## 総括

本検討では，共焦点ラマン分光法により，皮膚外用剤中の内部構造を評価する手法の構築を行った．この評価手法を活用し，軟膏中の PG の存在が，HPoc との混合における物理的安定性に重要なファクターであることを見出した．これらの成果は，皮膚外用剤の品質評価における新しい手法として活用できることに加え，医療現場における製剤の選択時に有益な情報を提供すると期待できる．

## 参考文献

- 1) Bellamy J. L., Nordon A., Littlejohn D., *Int. J. Pharm.*, **361**, 87–91 (2008).
- 2) Yamamoto Y., Fukami T., Koide T., Suzuki T., Hiyama Y., Tomono K., *Int. J. Pharm.*, **426**, 54-60 (2012)
- 3) Agarwal P. U., Sabo R., Reiner S. R., Clemons M. C., Rudie W. A., *Appl. Spectrosc.*, **66** (7), 750-756 (2012).
- 4) Yamamoto Y., Fukami T., Koide T., Onuki Y., Suzuki T., Metori K., Katori N., Hiyama Y., Tomono K.. *Int. J. Pharm.*, **463** (1), 62-67 (2014).
- 5) Yamamoto Y., Fujii Y. M., Fukami T., Koide T., *J. Drug Deliv. Sci. Tech.*, **51**, 639-642 (2019).
- 6) Fujii Y. M., Yamamoto Y., Koide T., Hamaguchi M., Onuki Y., Suzuki N., Suzuki T., Fukami T., *Appl. Spectrosc.*, accepted (2019).
- 7) Yamamoto Y., Hanai A., Onuki Y., Fujii M., Onishi Y., Fukami T., Metori K., Suzuki N., Suzuki T., Koide T., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **124**, 199-207 (2018).