

平成15年度

# 創薬等ヒューマンサイエンス研究

## 重点研究報告書

### 第3分野

医薬品等開発のための評価方法の開発に関する研究

### 第4分野

稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

# 目 次

## 第3分野

### 課題番号

20030917A KH31028	非晶質の特異性を活かしたバイテク薬物および超難溶性薬物の製剤化とその評価	吉岡澄江 …… 1
918A KH31029	ハイ・スループット遺伝毒性試験系の開発	能美健彦 …… 10
919A KH31030	バイオテクノロジー応用医薬品等の評価技術の開発	川崎ナナ …… 18
920A KH31031	医薬品等における汚染菌および汚染菌体成分検出のための正当な評価と新試験法の開発に関する研究	棚元憲一 …… 27
921A KH31032	動物を用いたヒト型薬物代謝酵素誘導能検索法と薬物動態における変動巾を規定する因子に関する研究	大野泰雄 …… 33
922A KH31033	医薬品開発と再生医学への応用を目指した細胞成熟制御法の開発	藤本純一郎 …… 43
923A KH31034	創薬における毒性回避のための戦略：cDNAマイクロアレイ解析による関連分子の探索と毒作用予見技術の確立	井上 達 …… 48
924A KH31035	新機能素材の食品化学的評価と分析に関する研究	合田幸広 …… 58
925A KH31036	医薬品の適性使用に向けたヒト薬物代謝特性の解析・予測支援システムの構築とハイスループット試験系についての研究	頭金正博 …… 67
926A KH31037	多剤併用療法に則した新しい迅速結核菌薬剤感受性試験法の開発	山崎利雄 …… 74
927A KH31038	食中毒菌および毒素のレセプター結合能等を応用した検査法の開発とその評価法の確立	山本茂貴 …… 83
928A KH32081	DNA-カチオン性脂質複合体製剤の保存安定性の評価法に関する研究	阿曾幸男 …… 90

## 第4分野

929A KH41039	ボツリヌスA～F型神経毒素を用いたジストニア等の治療方法の確立	小熊恵二 …… 97
930A KH41040	小児先天異常症の原因遺伝子の解明と治療法の開発に関する研究	奥山虎之 …… 101
931A KH42074	熱帯病に対するオーファンドラッグ開発研究	名和行文 …… 105
932A KH42075	新生児臨床試験組織の育成と新生児用医薬品開発の科学性・倫理性に関する研究	山崎俊夫 …… 115

## 第3分野

医薬品等開発のための評価方法の開発に関する研究

## 非晶質の特異性を活かしたバイテク薬物および超難溶性薬物の製剤化とその評価

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部  
吉岡澄江

非晶質化によって溶出特性を改善した難溶性薬物の製剤について、保存による結晶化および消化管内での結晶化のメカニズムを解析し、結晶化を支配する要因を制御することによって保存安定性および消化管吸収性の高い非晶質製剤を調製する方法およびその評価法を考察した。

### 分担研究者

- (1)国立医薬品食品衛生研究所 薬品部 阿曾幸男  
(2)塩野義製薬・生産技術研究所 製剤研究部  
高倉朝子、林 隆志、村主 教行、谷野 忠嗣  
(3)藤沢薬品工業 物性研究所  
田中和幸、我藤勝彦、山本克彦、田口雅弘、  
北村 智、北川輝幸

### A. 研究目的

ポストゲノム時代の製剤化技術として、バイテクを応用したタンパク質等の不安定な薬物を安定に製剤化する技術が早急に望まれている。一方では、コンビナトリアルケミストリーおよびハイスループットスクリーニングによって続々と創製される薬物の中で、非常に難溶性が高いために優れた生理活性を有しながら製剤化が断念された薬物が蓄積されている。本研究では、高エネルギー状態にある非晶質の特異性を利用することによって、不安定なバイテク薬物の製剤化や超難溶性薬物の製剤化を可能にする技術を確認することを最終目標として、高エネルギー状態であるがために複雑な挙動を示す非晶質の物理化学的特性を評価する方法を開発し、同時に、物理化学的特性を積極的に制御することによって、エネルギー的に不安定であるにもかかわらず、高い保存安定性を示す非晶質製剤の開発に役立つ基盤を構築することを目的とした。さらに、非晶質製剤の経口投与後の結晶化を抑制し、難溶性医薬品の消化管吸収性を向上させる方法を確立することを目的とした。

本年度は、①非晶質ニフェジピンおよびフェノバルビタールの単一系での結晶化速度が、構造緩和時間と同一の温度依存性を示し、室温での結晶

化速度を短期間で予測できる可能性を示唆する結果が前年度に得られたことを踏まえて、分子運動性を指標とした結晶化速度の予測が添加剤や水分が共存する固体分散体においても可能であるかどうかをポリビニルピロリドン (PVP) との固体分散体を用いて検討した。さらに、②水に対する溶解度が約 1 $\mu$ g/mL の超難溶性化合物 A を用いて、PVP との固体分散体のエンタルピー緩和時間を微量熱量計 (IMC) および示差走査熱量計 (DSC) によって測定し、それを指標として分子運動性を評価し、非晶質の結晶化速度との関係を考察した。同時にエンタルピー緩和が非晶質製剤の溶出性や吸湿性などの物性に及ぼす影響を検討した。また、③非晶質製剤の消化管内での溶出速度や溶解度を増大させ、かつ過飽和溶解時間を延長させるような添加剤の選択と組成の最適化を行うことを目的として、フェニトイン等の難溶性薬物のポリエチレングリコール 400 (PEG400) 及びポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (Tween80) 溶液を非晶質製剤のモデルとし、非晶質製剤からの薬物溶出挙動に及ぼす添加剤の影響を調べた。

### B. 研究方法

#### ①ニフェジピン/PVP 固体分散体の分子運動性と結晶化速度の測定

結晶ニフェジピンあるいは結晶ニフェジピンと PVP (重量比 9:1) の混合粉末約 5mg を DSC の試料パンはかり、DSC 中で約 190 $^{\circ}$ C に加熱し、40 $^{\circ}$ C /min の速度で冷却することにより、固体分散体を調製した。得られた固体分散体が非晶質であることを偏光顕微鏡による観察により確認した。

非晶質ニフェジピンの結晶化速度の温度依存性

を、乾燥状態および水分存在下で測定した。乾燥状態での保存は非晶質ニフェジピンあるいは固体分散体を五酸化リンの入った容器に入れ、15～80°Cの一定温度で行った。試料の水分含量を調整して保存する場合は非晶質ニフェジピンでは 25°C、33～58%相対湿度に 2 時間、ニフェジピン-PVP 固体分散体では 25°C、58%あるいは 75%相対湿度に 2 日間保存した後、25～60°Cの一定温度に保存した。保存した試料の DSC の測定によって観測されるニフェジピンの結晶化熱から、試料中の非晶質ニフェジピン残存率を算出した。残存率と保存時間の関係から、非晶質ニフェジピンが 10%結晶化するのに要する時間  $t_{90}$  を算出し、結晶化速度の指標として用いた。

非晶質ニフェジピンおよび固体分散体を 25°C に保存し、 $T_g$  付近に観測される緩和エンタルピー  $\Delta H_t$  を DSC により測定した。 $\Delta H_t$  と保存時間の関係を Kohlraush-Williams-Watts (KWW) 式(1 式)にあてはめ、緩和時間の分布を表すパラメータ  $\beta$  と緩和時間  $\tau_e$  を算出した。

$$\phi(t) = 1 - \frac{\Delta H_t}{\Delta H_\infty} = \exp\{-(t/\tau_e)^\beta\} \quad (1)$$

ここで、 $\Delta H_\infty$  は  $T_g$  における比熱の変化 ( $\Delta C_{p,T_g}$ )、 $T_g$  および保存温度 ( $T$ ) から次式に従い算出した。

$$\Delta H_\infty = \Delta C_{p,T_g} (T_g - T) \quad (2)$$

Adam-Gibbs-Vogel (AGV) 式(3 式)に従い、系の平均の分子運動性の指標である緩和時間 ( $\tau$ ) を算出した。

$$\tau = \tau_0 \exp\left\{\frac{DT_0}{T(1 - T_0/T_f)}\right\} \quad (3)$$

AGV 式のパラメータ  $D$  および  $T_0$  は、 $T_g$  の昇温速度依存性から得られる Fragility ( $m$ ) の値をもとに算出した。

$$m \equiv \frac{1}{2.303T_g} \frac{d(\ln \tau)}{d(1/T_g)} \quad (4)$$

$$T_0 = T_g(1 - m_{\min}/m) \quad (5)$$

$$D = 2.303(m_{\min})^2 / (m - m_{\min}) \quad (6)$$

$$m_{\min} = \log(\tau_{T_g}/\tau) \equiv \log(100/10^{-14}) = 16 \quad (7)$$

非晶質ニフェジピンおよび固体分散体の  $T_g$  は 5～40°C/min の昇温速度で測定した。

## ②IMC による固体分散体の分子運動性の測定およびエンタルピー緩和量の異なる固体分散体の物性の測定

化合物 A に PVP (K30、平均分子量：40000) を重量比で 10%あるいは 20%となるように加え、190°Cまで加熱熔融し、液体窒素で急冷した後、コーヒーミル粉碎して、固体分散体を調製した (インタクト品： $\Delta H=1.0\text{J/g}$ )。また、試料を 40°Cで 6 日間保存したものをエンタルピー緩和量大の試料とした ( $\Delta H: 4.5\text{J/g}$ )。さらに、FK888 (製造直後品) 及び 60°Cで 1 週間保存したもの (エンタルピー緩和量大) をジェットミル粉碎し、それぞれインタクト品 ( $\Delta H: 0.9\text{J/g}$ ) 及びエンタルピー緩和量大 ( $\Delta H: 6.3\text{J/g}$ ) の試料とした。試料は冷凍庫に保管し、使用前にシリカゲル共存下、室温で 2 時間減圧乾燥して用いた。

固体分散体の緩和現象は、IMC、DSC およびパルス NMR によって解析した。IMC では、化合物 A/PVP 分散体 (10%、20%) 約 2 g を 10 mL バイアルにとり、密栓した後、30、35、40 及び 45°C に設定した試料室で保存し、その熱量変化を測定した。化合物 A/PVP20%分散体の緩和現象の速度論的な解析は Jander 式 (8 式) を用いた。

$$(1 - (1 - \alpha)^{1/3})^2 = kt \quad \dots \quad (8)$$

$\alpha$  : 分解率、 $k$  : 速度定数

DSC は、化合物 A の非晶質及び化合物 A/PVP 分散体 (10%、20%) を約 6 mg とり、DSC 炉内で 190°Cまで昇温した後 -50°C/min で急冷し、 $T_g - 22^\circ\text{C}$  で 1～16h 保存後に測定し、エンタルピー緩和量を求めた。また、化合物 A/PVP20%分散体につき、同様に 35、40 及び 45°C で 1～16h 保存後、DSC 測定を行った。

パルス NMR による  $T_1$ 、 $T_2$  及び  $T_{1\rho}$  の測定は、化合物 A/PVP20%分散体 ( $\Delta H: 1.0\text{J/g}$  および  $4.5\text{J/g}$ ) を約 0.28 g とり、25、30、40、50、60 及び 70°Cで行った。

エンタルピー緩和量の異なる固体分散体の溶出挙動は、化合物 A/PVP20%分散体 ( $\Delta H: 1.0\text{J/g}$ 、 $4.5\text{J/g}$ ) 及び非晶質 FK888 ( $\Delta H: 0.9\text{J/g}$ 、 $6.3\text{J/g}$ ) につき、IR 測定用の KBr 錠形成器を用いて錠剤を成形し、表面積を一定とした条件で測定した。

エンタルピー緩和量の異なる固体分散体の吸湿特性は、化合物 A/PVP20%分散体 ( $\Delta H: 1.0\text{J/g}$ 、 $4.5\text{J/g}$ ) 及び非晶質 FK888 ( $\Delta H: 0.9\text{J/g}$ 、 $6.3\text{J/g}$ ) につき、種々の相対湿度で保存したときの重量変化を測定して評価した。また、脱水挙動は、

エンタルピー緩和量の異なる非晶質 FK888 を相対湿度 94% で吸湿させた後、それらをシリカゲル存在下で保存した時の近赤外吸収スペクトル (NIR スペクトル) の変化に基づいて評価した。

### ③非晶質製剤からの薬物溶出挙動の解析

フェニトイン、ニフェジピン、Prodan および化合物 B の 4 種の難溶性薬物について、種々の添加剤水溶液中の溶解度を測定した。試験液に過剰量の薬物を加えてよく振とうした後、Prodan は 30°C、その他の薬物は 37°C で一晩静置した。この溶液を 0.45 $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過し、ろ液をメタノール又はアセトニトリルで適宜希釈し、薬物濃度を測定した。Prodan 濃度は蛍光法で、その他の薬物濃度は HPLC 法で測定した。

フェニトイン及び化合物 B の溶液製剤の溶出挙動を局方溶出試験第 2 法 (パドル法、50rpm) により調べた。試験液には蒸留水 (900mL、37°C) を用いた。過飽和溶解現象が観察できるように、試験液中の溶解度以上に相当する薬物を含む製剤を試験液に投入した。経時的に試験液を 2mL 採取し、ただちに 0.45 $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過し、ろ液を適宜メタノールまたはアセトニトリルで希釈し、薬物濃度を定量した。

(倫理面への配慮)

本研究は化学実験のみ実施したので、倫理面の問題は無い。

## C. 研究成果

### ①ニフェジピン/PVP 固体分散体の分子運動性と結晶化速度の関係

非晶質ニフェジピンおよびニフェジピン-PVP 固体分散体 (9:1) において観察された結晶化の  $t_{90}$  の温度依存性を Fig. 1 に示す。乾燥状態の試料において、ニフェジピン単独の  $t_{90}$  に比べ PVP が 10% 共存する固体分散体の  $t_{90}$  は同一の保存温度で比較すると 2~3 オーダー大きく、PVP の添加によって非晶質ニフェジピンの結晶化が大きく抑制されることが明らかとなった。ニフェジピン-PVP 固体分散体の  $T_g$  はニフェジピン単独の  $T_g$  に比べ、約 2°C 上昇した。また、系の平均の運動性を表すエンタルピー緩和時間は 10% の PVP 共存によって長くなり、1.2 日から 18 日へと増大し、PVP の添加により系の平均の運動性が抑制されていることが明らかとなった。

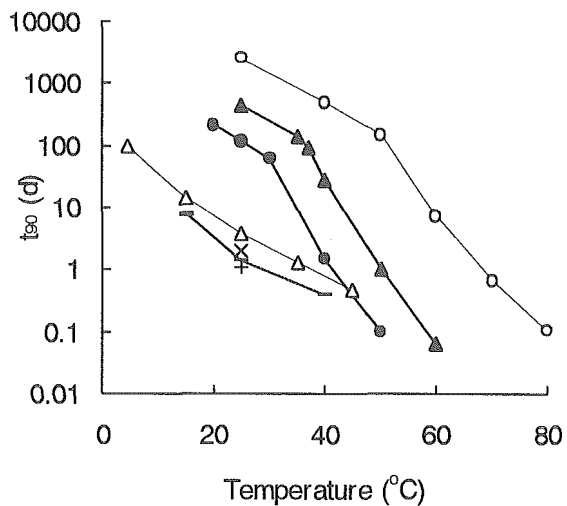


Fig. 1. Temperature dependence of  $t_{90}$  for amorphous nifedipine ( $\Delta$ ,  $\times$ ,  $-$ ,  $+$ ) and nifedipine-PVP solid dispersions ( $\circ$ ,  $\blacktriangle$ ,  $\bullet$ ). Relative humidity:  $\Delta\circ$ , 0%;  $\times$ , 33%;  $-$ , 40%;  $+\blacktriangle$ , 58%;  $\bullet$ , 75%.

単独の非晶質および PVP 共存の非晶質のいずれも、湿度の上昇とともに  $t_{90}$  が小さくなり、水分により結晶化が促進された。Fig. 2 に示すように、 $t_{90}$  を横軸 ( $T-T_g$ ) に対してプロットすると、薬物単独の場合、プロットは一つの曲線に集まった。固体分散体の場合も、 $T_g$  より保存温度が高い場合 ( $T-T_g > 0$ ) はばらつきが大きいものの、プロットはほぼ一つの曲線に集まった。従って、水分によるニフ

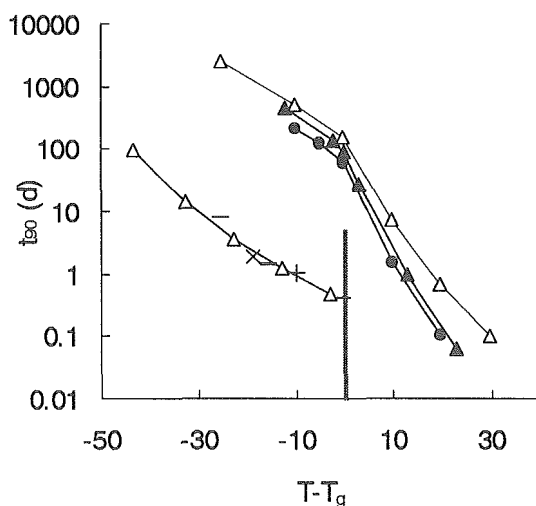


Fig. 2. WLF type plots of  $t_{90}$  for amorphous nifedipine ( $\Delta$ ,  $\times$ ,  $-$ ,  $+$ ) and nifedipine-PVP solid dispersions ( $\circ$ ,  $\blacktriangle$ ,  $\bullet$ ). Relative humidity:  $\Delta\circ$ , 0%;  $\times$ , 33%;  $-$ , 40%;  $+\blacktriangle$ , 58%;  $\bullet$ , 75%.

エジピン単独および固体分散体の結晶化の促進は水の可塑化作用によって説明できることが明らかとなった。

一方、 $T_g$ で表わされる分子運動性の影響を考慮しても、PVP共存の非晶質はニフェジピン単独の系より著しく高い $t_{90}$ を示し、PVPの安定化作用には非晶質全体の平均の分子運動性の低下以外にもメカニズムがあることが分かった。ニフェジピンのジヒドロピリジン環のNH基はPVPのピロリドン環のカルボニル基と水素結合すると考えられ、この相互作用がニフェジピンの局所的な運動性を低下させ、結晶化を抑制しているものと考えられる。すなわち、局所的な運動性の低下により、系の平均の運動性の低下から予測されるより大きな結晶化抑制効果が得られたと考えられる。

ニフェジピンの結晶化の $t_{90}$ を、Fig.3に示すように、 $T_g$ における $t_{90}$ を基準にして表し、局所的な運動性の変化に起因する効果を削除して温度に対してプロットすると、PVPの有無や水分の有無に係らず一つの曲線上に集まり、AGV式に従って算出した非晶質全体の平均の平均の運動性を表す構造緩和時間の温度依存性とほぼ一致した。この結果は、添加剤や水分の共存する系においても、ニフェジピンの結晶化が分子運動性と関連していることを示すものであり、短時間で測定できる $T_g$ 付近における結晶化速度を測って局所的な運動性の違いなどを明らかにすれば、 $T_g$ やエンタルピー緩和で測定される分子運動性に基づいて、長時間の観察が必要であった $T_g$ 以下の温度領域の結晶化速度を予測できることを示唆すると考えられる。

以上のように、PVPによる結晶化抑制効果には系の平均の運動性の低下の他に、薬物と添加剤との間の相互作用による薬物の局所的な運動性の低下も関与すること、さらに、局所的な運動性の低下を定量的に評価できれば、添加剤の違いによる安定化効果の差を説明することが可能となることが示唆されたが、この考察を検証するためには、今後、固体高分解能NMR等により、薬物および添加剤の運動性の分離して評価し、薬物の局所的な運動性を明らかにすることが必要であると考えられる。また、 $T_g$ や分子構造がよく似ているにもかかわらず結晶化速度に大きな差が見られる薬物が多数存在する。このような薬物の違いによる結晶化のしやすさが薬物の局所的な運動性から説明できるか検討することも興味深い課題と考える。

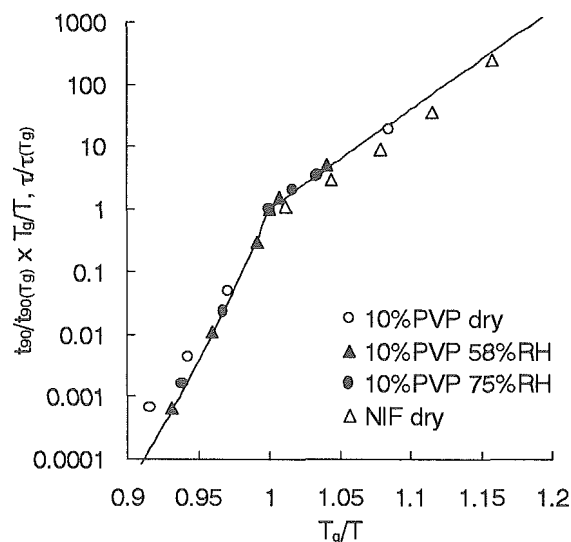


Fig. 3. Temperature dependence of  $t_{90}$  for amorphous nifedipine ( $\Delta$ ) and nifedipine-PVP solid dispersions ( $\circ$ ,  $\blacktriangle$ ,  $\bullet$ ). Relative humidity:  $\Delta$ , 0%;  $\blacktriangle$ , 58%;  $\bullet$ , 75%. Solid line represents relaxation time calculated according to the AGV equation.

#### ②固体分散体の分子運動性評価法としてのIMCの有用性および固体分散体の物性に及ぼすエンタルピー緩和の影響

化合物A/PVP分散体は、いずれのPVP添加量においても、IMCによって、エンタルピー緩和に基づくと考えられる熱量変化が検出された(Fig.4)。しかし、PVP10%分散体では、IMC測定後の粉末X線回折パターンにおいて再結晶化に基づく回折ピークが認められたため、IMCで観測された発熱はエンタルピー緩和と再結晶化との総和であることが判明した。一方、PVP20%分散体においては、再結晶化に基づく回折ピークは認められず、IMCで観測された発熱はエンタルピー緩和に基づくことが示唆された。化合物A/PVP20%分散体で観察されたIMCの発熱プロファイルをJander式にしたがって解析し(相関係数: 0.969~0.995)、エンタルピー緩和の速度定数を求めた結果、Fig.5に示すように、化合物A/PVP20%分散体の速度定数 $k$ は40°C付近に変曲点が認められ、エンタルピー緩和を引き起こす分子運動は保存温度の上昇とともに増加するものの、40°C付近を境として、その増加の割合は減少するものと考えられた。また、DSCによって測定した緩和速度も、IMCの結果と同様に40°C付近に変曲点をもつ温度依存性を示し

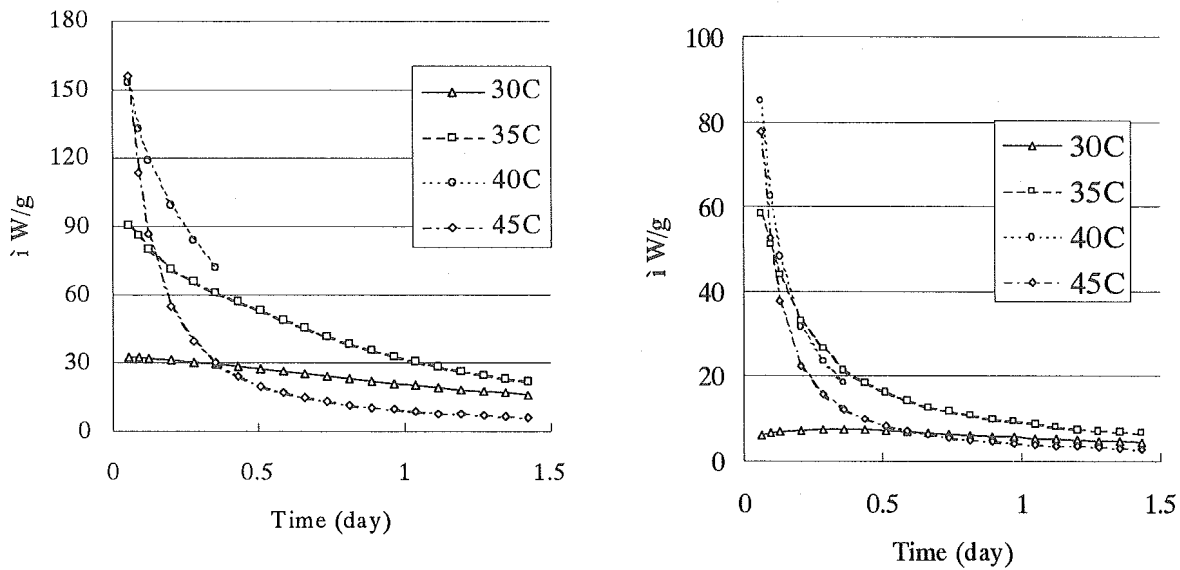


Fig. 4. Heat flow of compound A/PVP (left:10%; right:20%) solid dispersion determined by IMC

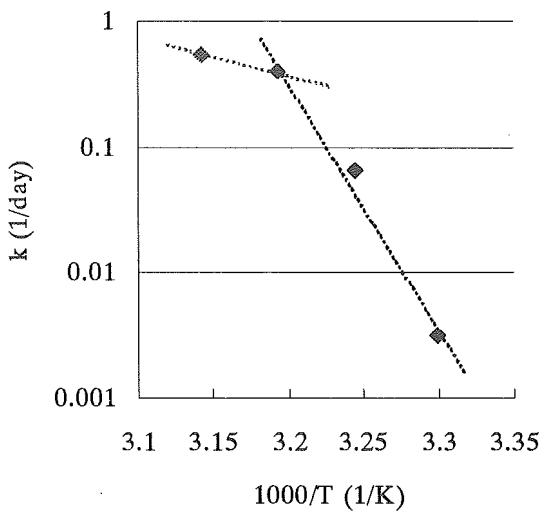


Fig. 5. Rate constant of enthalpy relaxation for Compound A/PVP (20%) solid dispersion

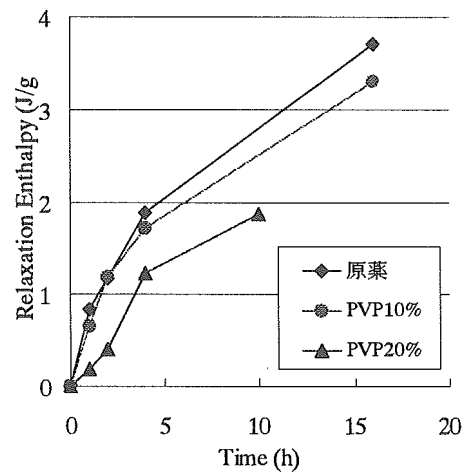


Fig. 6. Enthalpy relaxation of amorphous Compound A and Compound A / solid dispersions

た。これらの結果から、加速試験で分子運動性に基づく安定性予測を行う場合は、40°C以下で保存した場合の結果により行う必要があることが示唆された。

DSCにより測定したエンタルピー緩和量の経時変化を Fig.6 に示す。結晶化が観察されなかった化合物 A/PVP20%分散体では、化合物 A の非晶質や化合物 A /PVP10%分散体に比較して、エンタルピー緩和が遅く、分子運動性が低下していることが分かった。

化合物 A /PVP 分散体の分子運動性をパルス NMR で測定される  $T_1$ 、 $T_2$  及び  $T_{1\rho}$  を指標として

測定した結果、 $T_2$  及び  $T_{1\rho}$  は温度やエンタルピー緩和量による変動が小さいが、 $T_1$  は 60°C 以上では減少し、 $T_g$  (約 52°C) 付近における運動性の変化を検出することができた。熱分析では難しい温度領域での情報を得る上でパルス NMR は有用な手法の一つと考えられる。

固体分散体の物性に及ぼすエンタルピー緩和の影響を評価するために、エンタルピー緩和量の異なる化合物 A/PVP20%分散体及び非晶質 FK888 につき、溶出速度を測定した結果、化合物 A/PVP20%分散体ではエンタルピー緩和量によって大きな差は認められなかったが、非晶質 FK888 では、エン



タルピー緩和量の大きい方が溶出速度が遅くなる傾向を示し、エンタルピー緩和量の差が溶出速度に影響を及ぼす可能性が示唆された。

また、これらの試料を用いて吸湿平衡実験を行った結果、化合物 A/PVP20%分散体では、各相対湿度における吸湿性にほとんど差がみられなかったが、非晶質 FK888 では、相対湿度 60%以上になるとエンタルピー緩和量の小さい方が水分の吸着量が大きいことが判明した。これらの結果から、化合物 A/PVP20%分散体では、吸湿性の大きい PVP の物性が大きく反映するのに対し、非晶質原薬である FK888 においては、緩和量の違いにより、それぞれの表面状態が異なり（表面エネルギーの差）、水に対する親和性の違いが生じたものと考えられた。

エンタルピー緩和量の違いにより吸湿性プロファイルに差がみられた非晶質 FK888 について吸湿および脱水現象を NIR によって観察した結果、エンタルピー緩和量の違いにより、OH 結合音領域のスペクトル変化から、脱水速度はエンタルピー緩和量の大きい方が速く、吸着水を保持する強さがエンタルピー緩和量の違いにより異なることが判明した。すなわち、エンタルピー緩和量の違いによって、非晶質原薬である FK888 の溶出速度や試料表面の水和性が異なることが判明した。

### ③非晶質製剤からの薬物溶出挙動の解析

非晶質製剤からの薬物溶出挙動を解析するため

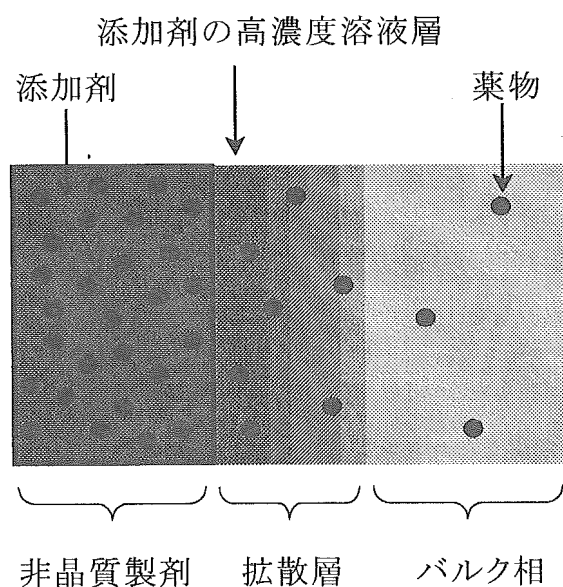


Fig. 7. Illustration of surface of amorphous formulations

Table 1. Composition of phenytoin solution formulations A and B

	製剤 A	製剤 B
Phenytoin	60	60
PEG 400	1000	2000
計 (mg)	1060	2060

のモデルを構築した。薬物は非晶質製剤から拡散層に形成された添加剤の高濃度溶液層を通過してバルク相に出ると考え (Fig.7)、拡散層での析出と

バルク相での析出を別の現象とした Fig.8 に示す溶出モデルを仮定した。このモデルにおいて薬物の溶解速度  $V_1$  及び溶出速度  $V_2$  は、非晶質製剤では薬物の種類に関係なく、製剤中の添加剤の溶出速度と等しいこと、また、過飽和溶液からの析出速度  $V_3$  および  $V_4$  は、溶液の過飽和度が大きいほど速くなることが知られている。さらに、 $V_1'$ 、 $V_2'$ 、 $V_3'$ 、 $V_4'$  はそれぞれ  $V_1$ 、 $V_2$ 、 $V_3$ 、 $V_4$  に対して無視できるほど小さいと考えることができる。溶出速度  $V_2$  が拡散層での析出速度  $V_3$  に比べて十分に大きくない場合には、拡散層において一部の薬物が析出してしまい、一旦析出した薬物はバルク相に達しても過飽和溶解現象を起こさないと考えられる。

Table 1 に示す Phenytoin の PEG400 溶液製剤を非晶質製剤のモデルとして用い、仮定したモデルの妥当性を検討するために、薬物溶出挙動の解析を行った。試験液に投入すると、PEG400 の粘度が高いために、落下する間に分散する量は僅かで、殆どの製剤はそのまま底に沈み、その後表面から徐々に溶出する。この時、製剤表面に白い曇

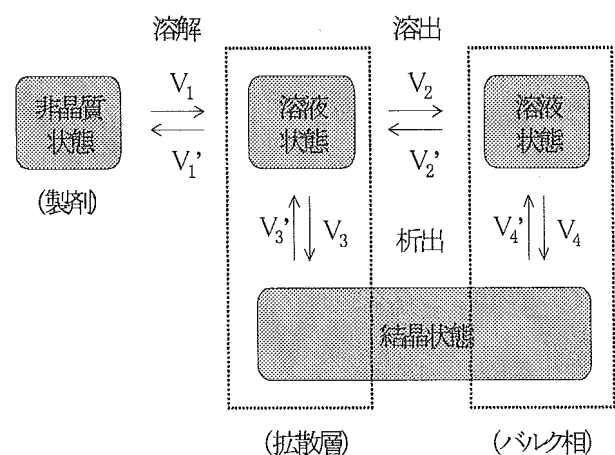


Fig. 8. Dissolution model from amorphous formulations

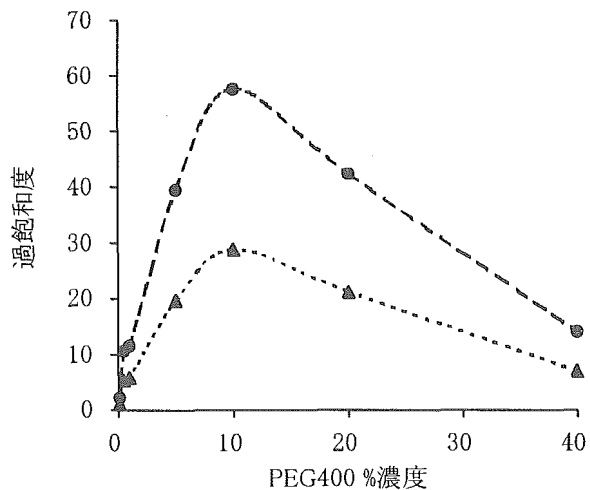


Fig. 9. Super saturation degree of phenytoin solution formulation A (●) and B (▲)

りが観察されることから、製剤と試験液との界面、すなわち製剤表面の拡散層に一旦薬物は過飽和溶解するが、バルク相に達する前に一部の薬物が析出し、その結果として製剤溶出直後にバルク相で観察される薬物濃度が低くなるものと考えられる。Phenytoin の PEG400 水溶液への溶解度は、PEG400 の濃度が高くなると急激に増加するが、薬物濃度が異なる 2 つの製剤 (Table 1) について、製剤中の薬物が全て溶解していると仮定した場合の薬物濃度と溶解度の値から過飽和度を計算した結果、Fig.9 に示すように、PEG400 濃度が 10% 付近において過飽和度が高くなり、製剤の溶出過程で薬物が析出する可能性が高いと考えられた。

Phenytoin 溶液製剤の溶出挙動を Fig.10 に示す。製剤 A は、製剤投入直後に薬物が析出し、過飽和溶解現象がほとんど見られなかったのに対し、薬物濃度が低い製剤 B は、製剤 A よりも高い濃度推移を示した。平衡状態での Phenytoin の溶解度は、製剤 A と B で同じであったことから、製剤 B の濃度推移が高いのは、溶出過程での過飽和度が小さいため、拡散層における析出速度  $V_3$  が遅いことが原因と考えられた。また、製剤 A の試験開始後 5 分までのパドル回転数を 150rpm に上げた場合、50rpm の場合と比べて高い濃度推移を示した。これは、溶出速度  $V_2$  が拡散層における析出速度  $V_3$  に比べて速くなったためと考えられる。

これらの結果から、非晶質製剤の処方設計においては、① 高濃度添加剤水溶液 (拡散層) への薬物溶解度が高い添加剤を選択し、拡散層での析出速度  $V_3$  を遅くすること、さらに② 溶出速度の速

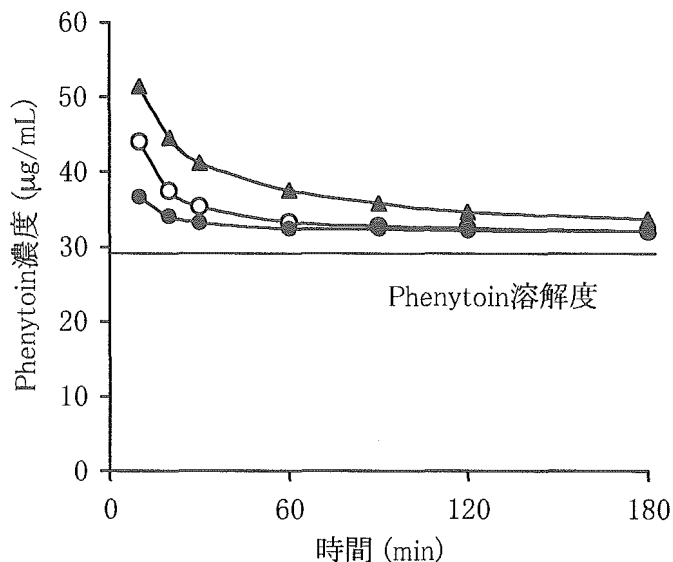


Fig. 10. Dissolution profile from phenytoin solution formulation A (●, 150rpm for initial 5 min ○) and B (▲).

い添加剤を選択し、拡散層での析出速度  $V_3 <$  溶出速度  $V_2$  とすることによって、製剤の溶出過程での薬物の析出が少ない処方を選択することが非常に重要であると考えられる。

Fig.8 のモデルに基づいたこれらの考察を検証するために、難溶性化合物 B の溶出挙動を検討した。添加剤として、10%水溶液における化合物 B の溶解度が高く溶出速度が遅い添加剤 Tween80 及び溶解度が低く溶出速度が Tween80 よりもやや速い添加剤 PEG400 を選択した。両者の比率を変化させることによって添加剤水溶液への溶解度及び溶出速度が異なる製剤を調製した結果、10%水溶液への溶解度が高い製剤ほど溶出直後の薬物濃度が高くなる傾向が見られた。この結果は、高濃度の添加剤水溶液への溶解度が高いほど製剤の溶出過程で析出する薬物量が少なくなり、より高い薬物濃度が観察されるという前記の推測と一致している。

さらに、各製剤のバルク相における過飽和度の時間推移を算出した結果、Tween80 の配合割合が低い製剤は、同じ過飽和度の時の他の製剤よりも析出速度が速い傾向が見られたことから、Tween80 は、化合物 B の溶解度を高めて過飽和度を下げる機能とは別に、化合物 B の析出速度を遅くする機能も持つと考えられた。

#### D. 考察

非晶質製剤の保存中の結晶化速度が、DSC、IMC および NMR 等によって測定される分子運動

性と密接に関連しており、分子運動性を低下させることによって結晶化を抑制できることを明らかにすることができ、安定な非晶質製剤の開発のための重要な知見が得られたと考える。また分子運動性を指標にすることによって、非晶質製剤の保存安定性を予測できる可能性も示唆され、安定性評価法として有用な手段になると考えられる。今後さらに、研究対象を種々の物性を有する広範囲の薬物および添加剤に広げ、普遍性を検証することが必要と考える。分子運動性の評価法としては、非晶質の物性や分子運動の機構に基づいて、DSC、IMC および NMR 等を適切に選択することが重要であると考えられる。

非晶質製剤の消化管内での結晶化は、拡散層の薬物溶解度を高める添加剤、さらに溶出速度の速い添加剤を選択することによって抑制できることが明らかになり、非晶質製剤の処方設計に有用な知見を得ることができた。さらに、過飽和状態の持続のメカニズムを詳細に検討し、溶出挙動の詳細を明らかにすることが今後の課題と考えられる。

#### E. 結論

①非晶質ニフェジピンの結晶化は PVP と固体分散体を形成することによって著しく抑制できることを明らかにした。PVP による抑制効果は系の平均の運動性の低下に起因することが、エンタルピー緩和時間の測定により明らかになった。また、水分による結晶化の促進は、可塑化作用によって上昇する分子運動性と相関することが分かった。

ニフェジピンの結晶化速度は、製剤の平均の分子運動性と同一の温度依存性を示し、運動性が結晶化速度を支配していることが分かった。その結果、 $T_g$  付近の結晶化速度を測定すれば、室温における結晶化速度を分子運動性に基づいて予測できることが明らかになった。

②超難溶性化合物 A/PVP20%分散体の分子運動性は、IMC を用いることにより、 $T_g$  以下の温度領域においても精度よく解析できることが判明し、IMC が安定性予測に有効であることが示唆された。また、溶出速度や水に対する親和性などの非晶質の物性が、エンタルピー緩和量によって異なることが、非晶質 FK888 において示され、非晶質製剤の評価には、IMC によるエンタルピー緩和量の評価も重要であることが明らかになった。

③非晶質製剤の消化管内における溶出挙動を説明

するモデルとして、製剤の拡散層での薬物の結晶析出とバルク相での析出を別の現象としたモデルを構築した。溶出過程における薬物の結晶化を抑制するためには、拡散層の薬物溶解度を高める添加剤を選択して拡散層での薬物の析出速度を低下させ、さらに溶出速度の速い添加剤を選択して薬物の溶出速度を高めることが非常に重要であることが明らかになった。

#### F. 研究発表

##### 1. 誌上发表

1) Y. Aso, S. Yoshioka and S. Kojima, Molecular mobility-based estimation of the crystallization rate of amorphous nifedipine and phenobarbital in PVP solid dispersions. *J. Pharm. Sci.*, 93, 384-391 (2004).

2) S. Yoshioka, Y. Aso and S. Kojima, Molecular mobility of lyophilized poly(vinylpyrrolidone) and methyl cellulose as determined by the laboratory and rotating frame spin-lattice relaxation time of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , *Chem. Pharm. Bull.*, 51, 1289-1292 (2003).

3) S. Yoshioka, S. Tajima, Y. Aso and S. Kojima, Inactivation and aggregation of  $\beta$ -galactosidase in lyophilized formulation described by Kohlrausch-Williams-Watts stretched exponential function, *Pharm. Res.*, 20, 1655-1660 (2003).

4) S. Yoshioka, Y. Aso and S. Kojima, Prediction of glass transition temperature of freeze-dried formulations by molecular dynamic simulation, *Pharm. Res.*, 20, 873-878 (2003).

##### 2. 学会発表

1) 吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄：イソマルトオリゴ糖を含有する凍結乾燥製剤の分子運動の誘電緩和による測定、日本薬学会 124 年会(2004.3)

2) 阿曾幸男、吉岡澄江、小嶋茂雄：カチオン性リポソームを含有するシヨ糖凍結乾燥製剤の動的粘弾性の解析、日本薬学会 124 年会(2004.3)

3) 宮崎玉樹、吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄：非晶質アセトアミノフェンの結晶化に及ぼす高分子添加剤と湿度の影響、日本薬学会 124 年会 (2004.3)

4) 吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄： $^{13}\text{C}$  の  $T_1$  およ

- び  $T_{1\rho}$  に反映される凍結乾燥製剤の分子運動の実態は何か、第 42 回 NMR 討論会(2003.11)
- 5) 阿曾幸男、吉岡澄江、阿曾幸男： $^1\text{H}$  および  $^{13}\text{C}$ -NMR スピン-格子緩和時間に基づく非晶質医薬品に対する PVP の安定化機構の解析、第 42 回 NMR 討論会(2003.11)
- 6) Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima S.: Temperature dependence of bimolecular reaction rates in lyophilized formulations described Adam-Gibbs-Vogel equation, American Association of Pharmaceutical Sciences, 2003 Annual Meeting (2003.10)
- 7) Miyazaki, T., Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima S.: Effect of polymer excipients on physical stability of amorphous acetaminophen, American Association of Pharmaceutical Sciences, 2003 Annual Meeting (2003.10)
- 8) 吉岡澄江、阿曾幸男、小嶋茂雄：グルコース含有凍結乾燥製剤のガラス転移温度の分子動力学法による推定、日本薬剤学会第 18 年会(2003.4)
- 9) 阿曾幸男、吉岡澄江、小嶋茂雄：PVP との固体分散体におけるニフェジピンの結晶化速度の Adam-Gibbs-Vogel 式に基づく解析、日本薬剤学会第 18 年会(2003.4)
- G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

---

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究  
重点研究報告書

第3分野

医薬品等開発のための評価方法の開発に関する研究

第4分野

稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

平成16年9月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社