

図 5. 40°C (シリカゲル存在下) で保管した際のインドメタシン amorphous 及びフェロジピン amorphous の粉末 X 線回折パターン

表7 非晶質NFD、非晶質NA および co-NFD/NAのガラス転移温度

Sample	T _g (°C) ^{a)}
amorphous NFD	42.6 ± 0.6
co-NFD/NA (3:1)	29.2 ± 0.2
co-NFD/NA (1:1)	17.7 ± 0.7
co-NFD/NA (1:2)	7.4 ± 0.8
co-NFD/NA (1:3)	3.8 ± 0.4
co-NFD/NA (1:9)	-5.5 ± 0.9
amorphous NA	-11.2 ± 0.7

a) Mean ± sd (n=3)

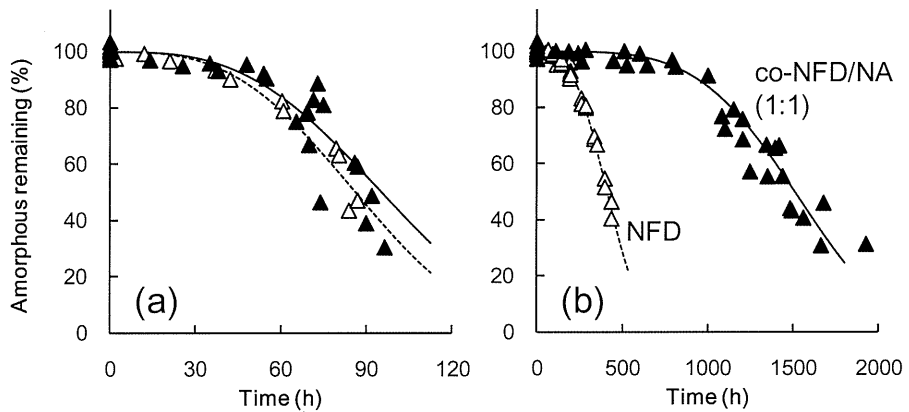


図6 非晶質NFD (open symbols) と co-NFD/NA (closed symbols) の結晶化

(a) : 40 °C, (b) : 25 °C

実線: Avrami式へのフィッティング曲線

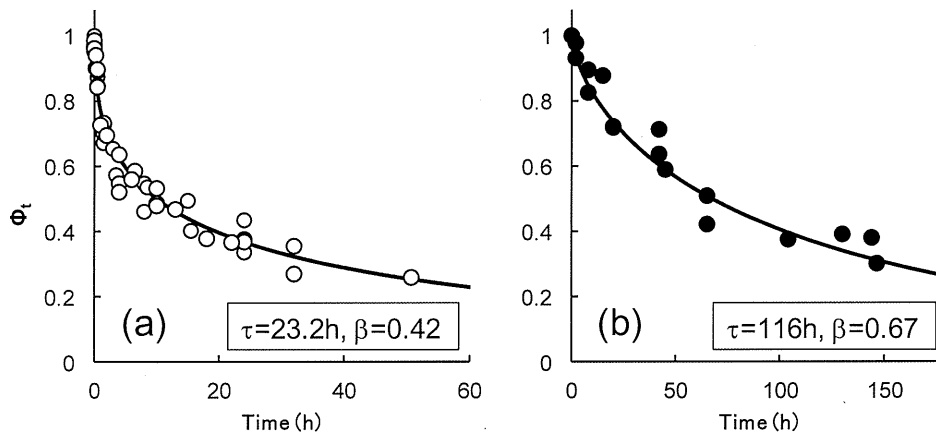


図7 非晶質NFD (a)と co-NFD/NA (b)のエンタルピー緩和

実線: KWW式へのフィッティング曲線

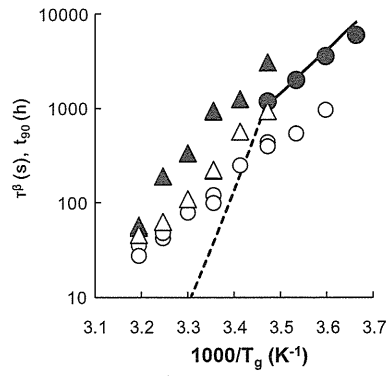


図8 緩和時間 τ^β と10%結晶化時間(t_{90}) の温度依存性
 ○: 非晶質NFDの緩和時間
 ●: co-NFD/NAの緩和時間
 △: 非晶質NFDの t_{90}
 ▲: co-NFD/NAの t_{90}
 実線: AGV式を用いて計算した緩和時間
 破線: VTF式を用いて計算した緩和時間

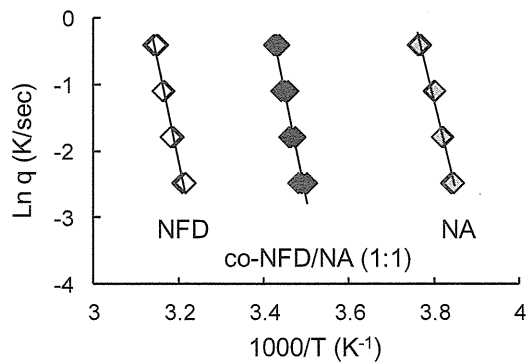


図9 ガラス転移温度(T_g)と昇温速度(q)の関係

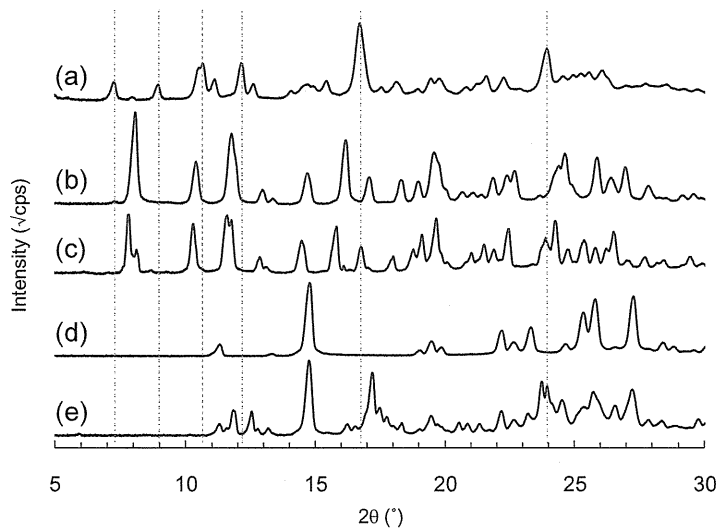


図10 保存したco-NFD/NA (1:1)(a)、安定形NFD(b)、準安定形NFD(c)、安定形NA(d)、準安定形NA(e)の粉末X線回折パターン

厚生労働科学研究委託費（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題 難溶性薬物の過飽和溶解と安定化メカニズムの解明

研究分担者 千葉大学大学院薬学研究院 教授 森部 久仁一

薬物/Eudragit® S100 固体分散体の分子状態が薬物放出に及ぼす影響

要旨 固体分散体からの薬物及びポリマーそれぞれの溶出速度を同時に評価した。また、固体 NMR 測定により固体分散体の分子状態を評価し、薬物の溶出挙動に及ぼす影響を検討した。そして、固体分散体中の薬物の非晶質安定性及び薬物とポリマーの混和性が薬物の溶出性に影響することを明らかとした。

研究協力者

東 顕二郎 千葉大学薬学研究院 講師

A. 目的

固体分散体制剤を設計する際には、長期的な非晶質安定性の確保や水分散後の高い薬物濃度の達成等に加えて、薬物溶出性も担保されなければならない。しかし、従来の固体分散体の溶解性に関する研究の多くが薬物の溶出のみの評価に留まり、ポリマーの溶出に関する報告は極めて限られている。この理由の一つとして、簡便にポリマーの溶解速度を評価する方法が確立されていないことが挙げられる。近年、ポリマーの定量法として蒸発光散乱検出器 (ELSD: evaporative light scattering detector) が注目されている。ELSD は HPLC 検出器の一つで、溶離液を噴霧・蒸発させ、微粒子化した化合物の散乱光を検出するため、ほとんどの不揮発性の化合物に適用できる。

本研究では、非晶質固体分散体からの薬物の微視的な溶出挙動を理解する目的で、薬物/Eudragit® S100 (S100) 固体分散体を噴霧乾燥

法により調製し、UV 検出器と ELSD を併用することにより、非晶質固体分散体からの薬物及びポリマーの溶出速度を同時に評価した。モデル薬物としては BCS class-II に分類される phenytoin (DPH: diphenylhydantoin) 及び glibenclamide (GBM) を用いた。また、薬物溶出速度に及ぼす固体分散体の分子状態の影響を評価する目的で、固体 NMR 測定を用いた物性評価を行い、薬物溶出速度との関連性について検討した。

B. 研究方法

試料

DPH 及び GBM は和光純薬工業株式会社より購入した。S100 はエボニック・ジャパン株式会社より提供された。各試料の構造を Fig. 1 に示す。

試料調製

任意の質量比の薬物及び S100 からなる物理的混合物を、有機溶媒 (acetone/methanol=1/1 (v/v) for DPH/S100, dichloromethane/methanol=1/1 (v/v) for GBM/S100 system) に濃度が 5% (w/w) となるよ

うに溶解させた。噴霧乾燥機 ADL311S-A (Yamato Scientific Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて、この溶液を噴霧乾燥することにより噴霧乾燥試料 (SPD: spray-dried sample) を調製した。尚、本文中及び図中に記載されるパーセントは薬物含量 (w/w) を示す。

測定方法

粉末 X 線回折測定 (PXRD 測定)

理学電機株式会社製 MiniFlex II を用いて測定を行った。

溶解速度評価

溶出試験は回転円盤法 (パドル回転速度: 200 rpm) により行い、試験液には 37 ± 0.5 °C に加温した 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を用いた。

HPLC 測定

HPLC のカラムには CAPCELL PAK CN UG 4.6×150 mm (Shiseido Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いた。薬物の検出には紫外分光光度計検出器 SPD-10A UV-detector (Shimadzu Co., Ltd., Kyoto, Japan)、S100 の検出には蒸発光散乱検出器 ELSD Model 300S (SofTA Corporation, Broomfield, USA) を用いた。

固体 NMR 測定

日本電子製 JNM-ECA600 (14.1 T) (JEOL RESONANCE Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いた。 ^{13}C NMR 測定には交差分極 (Cross polarization; CP) とマジック角回転 (Magic angle spinning; MAS) を組み合わせた CP/MAS 法を使用した。 ^1H - T_{ρ} (回転座標系における固体 ^1H スピン-格子緩和時間) 測定には CP 法を組み合わせたスピロック法を用いた。

<倫理面への配慮>

該当しない。

C. 結果と考察

C.1. 非晶質固体分散体の調製

各 DPH 含量 (5-75%) で調製された DPH/S100 SPD について PXRD 測定を行い、非晶質固体分散体の形成を評価した (Fig. 2)。DPH を単独で噴霧乾燥した試料は DPH 結晶由来の回折ピークを示した。一方、DPH 含量 5-75% のいずれの DPH/S100 SPD においても DPH 結晶由来の回折ピークは完全に消失し、ハローパターンが観察された。このことから、DPH/S100 SPD において DPH は非晶質化しており、DPH/S100 非晶質固体分散体の形成が示された。

各 GBM 含量 (5-75%) の GBM/S100 SPD についても PXRD 測定により非晶質固体分散体の形成を評価した。GBM を単独で噴霧乾燥した試料の PXRD パターンはハローパターンを示し、DPH の場合と異なり GBM 単独の非晶質が得られた。GBM 含量 5-75% のいずれの GBM/S100 SPD においても、PXRD 測定結果はハローパターンを示し、GBM/S100 非晶質固体分散体の形成が認められた。

C.2. 非晶質固体分散体からの薬物及び S100 の溶出速度評価

回転円盤法により得られた各 SPD からの薬物及び S100 の溶出プロファイルは原点を通る直線を示した。この回帰直線を最小二乗法により求め、(1) 式に基づいてそれぞれの溶出速度 A [$\text{mg}/\text{min}/\text{cm}^2$] を算出した。

$$A = (k \cdot V) / (S \cdot x) \quad (1)$$

k は回帰直線の傾き、 V はそれぞれ試験液の容積 (500 mL)、 S はディスクの表面積 (1.33 cm^2)、 x は試料全体に対する各成分の含量 (5-95 %w/w) を表す。いずれの DPH 含量の DPH/S100 SPD においても DPH 及び S100 の溶出

プロファイルは良好な直線性 ($R^2 \geq 0.97$) を示した。得られた溶出プロファイルから式 (1) に基づき、DPH 及び S100 の溶出速度を算出した (Fig. 3a)。S100 の溶出速度は DPH 含量の増加に伴い徐々に低下した。これは難水溶性の DPH 含量が増加したことで、試料の疎水性が増大するためと考えられた。一方、DPH の溶出速度は DPH 含量 10% を境に大きく変化した。DPH 含量 10% 以下の DPH/S100 SPD の場合、DPH の溶出速度は S100 の溶出速度と等しくなった。これに対し、DPH 含量 15% の DPH/S100 SPD では、DPH の溶出速度は S100 の溶出速度よりも若干低下した。さらに、DPH 含量 25% 以上の DPH/S100 SPD からの DPH の溶出速度は、S100 の溶出速度と比較して有意に低下した。DPH/S100 SPD からの S100 の溶出速度は徐々に変化したのに対し、DPH 溶出速度は急激に変化した。これは DPH 含量の増加に伴い、DPH/S100 SPD 中の DPH の分子状態が低含量の場合と比較して大きく変化したことによると推察された。

GBM/S100 SPD の場合も全ての薬物含量において GBM 及び S100 の溶出プロファイルは良好な直線性 ($R^2 \geq 0.97$) を示した。得られた溶出プロファイルから式 (1) に基づき、GBM 及び S100 の溶出速度を算出した (Fig. 3b)。S100 の溶出速度は GBM 含量の増加に伴い徐々に低下した。これは難水溶性の GBM 含量を増加させると試料の疎水性が増大するためと考察された。また、GBM 含量によらず全ての GBM/S100 SPD において、GBM の溶出速度は S100 の溶出速度と等しくなった。このことから、いずれの GBM 含量の GBM/S100 SPD においても GBM は S100 と共に拡散層を通過してバルクへ放出されたと考察された。

C. 3. 溶出試験時における固体分散体中の薬物分子状態の評価

溶出試験中の錠剤を取り出して PXRD 測定を行い、DPH/S100 SPD 中の DPH の分子状態を評価した (Fig. 4)。DPH 含量 10% の DPH/S100 SPD の場合、試験開始 60 分後においても PXRD パターンはハローパターンを示し、DPH の非晶質状態の維持が認められた。一方、DPH 含量 50% の DPH/S100 SPD では、試験開始 60 分後に DPH 結晶由来の回折ピークが認められ、一部の非晶質 DPH が結晶化したことが明らかとなった。このことから、薬物含量が高い DPH/S100 SPD で DPH の溶出速度が S100 の溶出速度よりも有意に低い値を示したのは、DPH/S100 SPD 中の DPH が溶出試験中に結晶化したためと考えられた。DPH/S100 SPD 50% からの DPH の溶出プロファイルは試験開始 6 時間後まで直線的であったことから、DPH の結晶化は溶液との接触により錠剤表面で速やかに生じており、DPH 溶出プロファイルは一部の DPH の結晶化後の状態が反映されたものと判断された。GBM/S100 SPD についても同様に、溶出試験中の錠剤を取り出して PXRD 測定を行った。GBM/S100 SPD の場合は DPH/S100 SPD とは異なり、薬物含量によらず試験開始 60 分後においても GBM 結晶由来のピークは認められなかった。溶出試験中に非晶質状態を維持した DPH 含量 10% 以下の DPH/S100 SPD 及び全ての GBM 含量の GBM/S100 SPD では薬物と S100 が同時に溶出した。このことから、固体分散体中の薬物の非晶質状態が維持された場合に、固体分散体から薬物及びポリマーが同時に拡散層を通過してバルクへ放出されると推察された。

C. 4. 非晶質固体分散体における薬物とポリマーの分子間相互作用及び混和性の評価

DPH/S100 固体分散体中の薬物の分子状態を ^{13}C CP/MAS NMR 測定により評価した。いずれの SPD の ^{13}C CP/MAS NMR スペクトルにおいても、DPH 由来のピークは DPH 結晶のピークと比較してブ

ロード化した (data not shown)。このことから、全ての DPH/S100 SPD 中で DPH が非晶質状態で存在することが確認された。また、DPH/S100 SPD では DPH 含量の違いにより、非晶質 DPH のフェニル炭素のピークの化学シフトの変化が認められた。Fig. 5a には DPH の $C_{(8)}$ 及び $C_{(9,10,11)}$ に由来するピークを拡大したスペクトル、及びそれらの化学シフトを示す。DPH の $C_{(8)}$ に由来するピークの化学シフトは薬物含量の減少に伴い変化し、DPH 含量 10% の DPH/S100 SPD (140.5 ppm) と比較して DPH 含量 50% の DPH/S100 SPD (139.8 ppm) では高磁場側へ 0.7 ppm 変化した。また、DPH の $C_{(9,10,11)}$ に由来するピークの化学シフトも薬物含量の増加に伴い変化し、DPH 含量 10% の DPH/S100 SPD (129.1 ppm) と比較して DPH 含量 50% の DPH/S100 SPD (128.8 ppm) では高磁場側へ 0.3 ppm 変化した。この結果より、DPH 含量 10% 以下の DPH/S100 SPD では DPH が S100 マトリクス中に分子分散するのに対し、DPH 含量 25% 以上の DPH/S100 SPD では DPH は S100 マトリクス中に完全には分子分散せず、一部の DPH が DPH-rich なドメインを形成することが示唆された。

DPH 含量 50% 及び 75% の DPH/S100 SPD について $^1\text{H}-T_p$ 測定を行った。DPH/S100 SPD 中の DPH 及び S100 は DPH 含量 50% の場合 6.7–10.8 ms、DPH 含量 75% の場合 6.7–7.4 ms のほぼ単一の T_p を示し、DPH と S100 のプロトン間で効果的なスピン拡散が生じたと考えられた。この結果より、DPH 含量 75% 以下の DPH/S100 SPD において、DPH と S100 が 2–5 nm のスケールで混和していることが示された。

GBM/S100 SPD についても同様に ^{13}C CP/MAS NMR 測定を行った。(data not shown)。GBM 単独で噴霧乾燥処理した試料のピークは GBM 原薬のピークと比較してブロード化した。また、GBM の

アミド基近くのピークの化学シフト (e. g. $C_{(1)}$, $C_{(7)}$) に大きな変化が認められた。GBM/S100 SPD スペクトルにおいても GBM 由来のピークは GBM 原薬のピークと比較してブロード化した。このことから、全ての GBM/S100 SPD 中で GBM が非晶質状態で存在することが確認された。さらに、GBM/S100 SPD では GBM 含量の違いにより非晶質 GBM 由来のピークの化学シフトが変化した。Fig. 5b には、GBM の $C_{(7)}$ に由来するピークを拡大したスペクトル、及びその化学シフトの値を示す。GBM の $C_{(7)}$ に由来するピークの化学シフトは GBM 含量の減少に伴って変化し、GBM 単独非晶質では 164.6 ppm を示したのに対し、GBM/S100 SPD 50% 及び 25% では 165.4 ppm を示し、低磁場側へ 0.8 ppm 変化した。このことから、GBM 含量 50% 以下の GBM/S100 SPD ではほとんどの GBM が S100 と分子レベルで相互作用形成するのに対し、GBM 含量 75% 以上の GBM/S100 SPD では、GBM が S100 マトリクス中に分子分散するには過剰であり、一部の GBM が GBM-rich なドメインを形成すると推察された。

GBM 含量 75% の GBM/S100 SPD について $^1\text{H}-T_p$ 測定を行った。GBM/S100 SPD 中の GBM 及び S100 は 6.1–9.1 ms のほぼ単一の T_p を示した。この結果より、GBM 含量 75% 以下の GBM/S100 SPD において、GBM と S100 が 2–5 nm のスケールで混和していることが示された。

C.5. 非晶質固体分散体からの薬物溶出メカニズムに関する考察

DPH/S100 SPD 及び GBM/S100 SPD 中の薬物分子状態が薬物溶出に及ぼす影響について考察を行った。DPH 含量 10% 以下の DPH/S100 SPD では、ほぼ全ての DPH は S100 マトリクス中に分子分散し、S100 と分子間相互作用を形成する。この分子レベルでの混和性が達成されたため、非晶質 DPH の結晶化が S100 によって強く抑制

され、溶液と接触した場合においても DPH の非晶質状態が維持された。S100 と分子レベルで混和した DPH は、S100 と共に拡散層を通過してバルクへ放出され、DPH と S100 の溶出速度が等しくなった (Fig. 6a)。一方、DPH 含量 25%以上の DPH/S100 SPD では、一部の DPH は S100 と分子レベルで相互作用するが、その他の DPH は DPH-rich なドメインを形成する。このドメインにある DPH は S100 とダイレクトに分子間相互作用を形成せず、S100 と分子間相互作用を形成している DPH と比較して結晶化しやすい。そのため DPH-rich なドメイン中の DPH は溶出試験時に溶液との接触によって結晶化し、DPH の溶出速度は S100 の溶出速度と比較して低下したと考えられた (Fig. 6b)。固体 NMR 測定の結果から、この DPH-rich なドメインの大きさは 2-5 nm 以下であると推定されたことから、さらに小さなスケールの混和性の達成、すなわち DPH と S100 が分子レベルで相互作用することが DPH 溶出速度の大幅な改善に重要であることが示された。

一方、GBM/S100 SPD では低 GBM 含量の場合のみならず、高 GBM 含量の場合においても GBM と S100 の溶出速度が一致した。固体 NMR 測定より、薬物含量 75%以上の GBM/S100 SPD 中の GBM には S100 とダイレクトに分子間相互作用を形成しているものと、GBM-rich なドメインを形成しているものが混在していることが示された。しかし、SPD 中で GBM-rich なドメインに存在する GBM は溶出試験時にも非晶質状態を維持することができるため、低 GBM 含量の場合と同様に GBM が S100 の溶出に伴って溶出したと考察された (Fig. 6c, d)。

D. 結論

HPLC の検出器に UV 及び ELSD を併用することで、

噴霧乾燥により調製された DPH/S100 固体分散体及び GBM/S100 固体分散体からの薬物及び S100 の溶出速度を同時に評価可能であった。本手法を用いることにより、固体分散体の溶解時に薬物が非晶質状態を維持する場合は、薬物がポリマーの溶出に伴って溶出し、溶出速度が改善されることを見出した。また、緩和時間測定を含めた固体 NMR 測定により、固体分散体中における薬物とポリマーの分子レベルの混和性が薬物の溶出性に強く影響することを明らかとした。固体分散体制剤の設計において薬物の溶出性制御は重要な課題であり、本研究で得られた知見は、ポリマー選択や薬物/ポリマー配合比の設定などの処方検討の際に極めて有力な指針となる。今後、他の薬物/ポリマー固体分散体についても同様の検討を行うことで、固体分散体からの薬物溶出メカニズムの更なる解明が期待される。

F. 健康危機情報

該当しない。

G. 研究発表等

論文発表等

- 1) Ueda, K., Higashi, K., Yamamoto, K., Moribe, K.: The effect of HPMCAS functional groups on drug crystallization from the supersaturated state and dissolution improvement. *International Journal of Pharmaceutics*, 464 (1-2): 205-213 (2014)
- 2) Moribe, K., Makishima, T., Higashi, K., Nan L., Limwikanant, W., Ding, W., Masuda, M., Shimizu, T., Yamamoto, K.: Encapsulation of poorly water-soluble drugs into organic nanotubes for improving drug dissolution.

International Journal of Pharmaceutics,
469: 190-196 (2014)

- 3) Ueda, K., Higashi, K., Kataoka, M., Yamashita, S., Yamamoto, K., Moribe, K.: Inhibition mechanism of hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate on drug crystallization in gastrointestinal fluid and drug permeability from a supersaturated solution. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 62: 293-300 (2014)

学会発表等

- 1) 大塚直哉, 植田圭祐, 清水梢, 片川和明, 熊本卓哉, 東頭二郎, 山本恵司, 森部久仁一: HPMC 及び PVP の薬物結晶化抑制機構の違いが膜透過性に及ぼす影響. 製剤機械技術学会第24回大会 (2014. 10. 8-9, 名古屋).
- 2) 江上貴一, 東頭二郎, 山本恵司, 森部久仁一: AFM を用いた懸濁液中における 3 成分ナノ粒子凝集過程の評価. 第 31 回製剤と粒子設計シンポジウム (2014. 10. 23-24, 博多).
- 3) 植田圭祐, 東頭二郎, 森部久仁一: 過飽和溶液からの結晶化挙動に及ぼす Naringenin 光学純度の影響. 第 31 回製剤と粒子設計シンポジウム (2014. 10. 23-24, 博多)
- 4) Higashi Kenjiro, Hayashi Hiroki, Yamamoto Keiji, Moribe Kunikazu "Effect of phenytoin/EUDRAGIT® S 100 miscibility in solid dispersion on drug and polymer dissolution rates", Pharm Tech2014, Dec. 1-2 (2014) Bangkok, Thailand.
- 5) 植田圭祐, 東頭二郎, 片岡誠, 山下伸二, 山本恵司, 森部久仁一: HPMC-AS の薬物結晶化抑

制作用に及ぼす胆汁酸及び脂質の影響. 日本薬学会第 135 年会 (2015. 3. 25-28, 神戸)

報道発表等

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

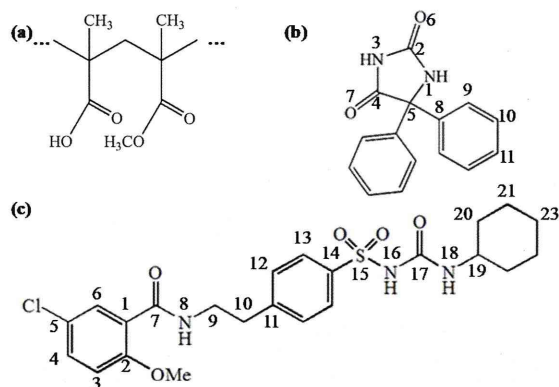


Figure 1 Chemical structures of (a) Eudragit[®] S 100 (S100), (b) phenytoin (diphenylhydantoin: DPH) and (c) glibenclamide (GBM).

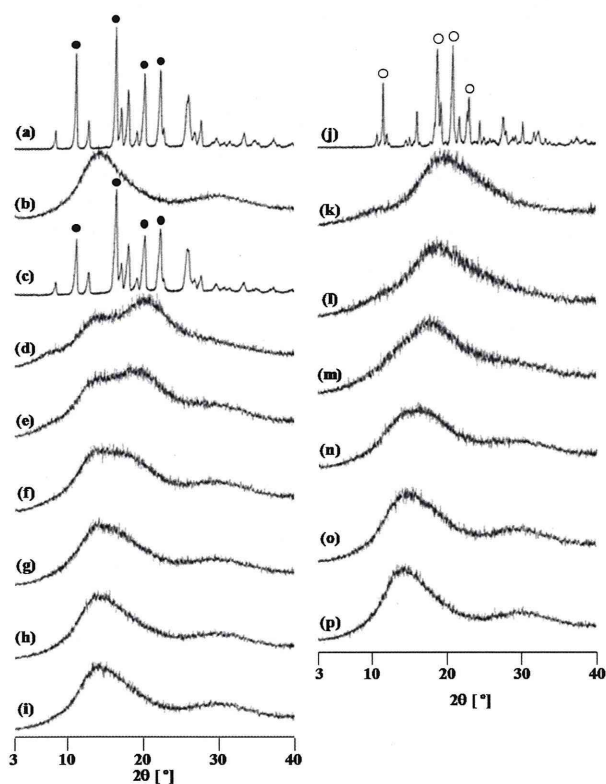


Figure 2 PXRD patterns of (a) DPH intact, (b) S100, (c) spray-dried DPH, DPH/S100 SPDs with (d) 75%, (e) 50%, (f) 25%, (g) 15%, (h) 10%, and (i) 5% drug loading, (j) GBM intact, (k) spray-dried GBM, GBM/S100 SPDs with (l) 75%, (m) 50%, (n) 25%, (o) 10%, and (p) 5% drug loading.

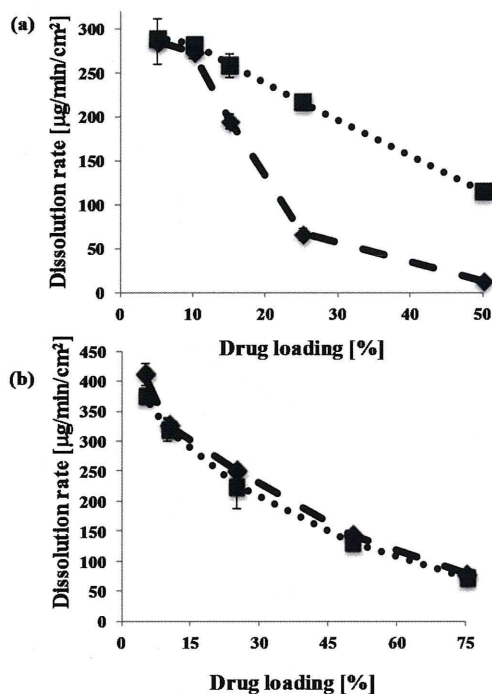


Figure 3 Dissolution rates of drug (◆) and S100 (■) from (a) DPH/S100 SPDs and (b) GBM/S100 SPDs with various drug loading ratio (n=3, mean±S.D.)

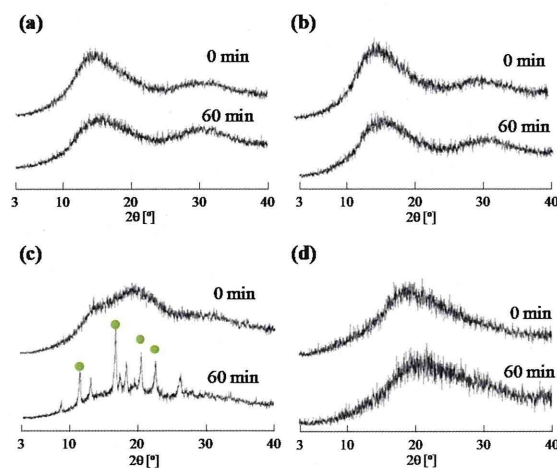


Figure 4 PXRD patterns of the disk surface during dissolution test of DPH/S100 SPDs with (a) 10% and (b) 50% drug loading and GBM/S100 SPDs with (c) 10% and (d) 75% drug loading. The time shown in each PXRD pattern represents the elapsed time from the start of the dissolution test.

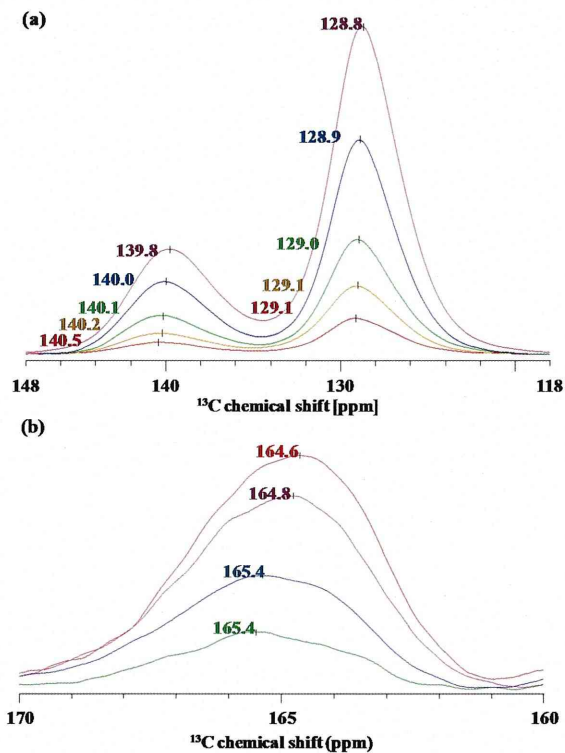


Figure 5 Overlapped ^{13}C CP/MAS spectra of (a) DPH/S100 SPDs with 75%, 50%, 25%, 15%, and 10% drug loading (from top to bottom), representing the peak of (left) $\text{C}_{(8)}$ and (right) $\text{C}_{(9,10,11)}$ of DPH and (b) spray-dried GBM, GBM/S100 SPDs with 75%, 50%, and 25% drug loading (from top to bottom), representing the peak of $\text{C}_{(7)}$ of GBM.

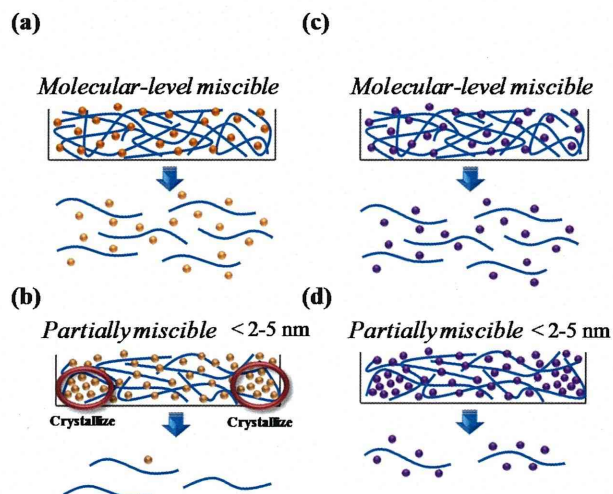


Figure 6 Possible dissolution mechanism of drug from DPH/S100 SPDs with (a) low ($\leq 10\%$), and (b) high drug loading ($\geq 25\%$), and from GBM/S100 SPDs with (c) low ($\leq 50\%$), and (d) high drug loading ($\geq 75\%$).

厚生労働科学研究委託費（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題 共非晶質医薬品の構造安定性に及ぼす物理化学的因子に関する研究

研究分担者 村主教行 塩野義製薬株式会社 CMC 開発研究所 製剤研究センター主席研究員

物理化学的パラメータに基づいた Co-amorphous の安定性評価

要旨 近年、低分子化合物同士を配合させて非晶質体を得る co-amorphous（共非晶質）技術が注目されている。本研究ではモデル薬物として非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）を用い、co-amorphous 形成に寄与する物理化学的要因に関して研究を行った。

研究協力者

塩野義製薬株式会社 主席研究員 佐久間聡

塩野義製薬株式会社 主任研究員 上田廣

で解析を行い、co-amorphous 形成に寄与する物理化学的因子を調べた。

<倫理面への配慮>

動物を用いた実験は行わなかった。

A. 目的

モデル薬物を用いて co-amorphous 形成の有無を調べる実験を行い、得られた結果と配合成分の物理化学的パラメータを比較することで、co-amorphous 形成に寄与する因子を評価することを目的とした。

B. 研究方法

モデル薬物（図 1 参照）について differential scanning calorimetry (DSC) を用いて熔融-冷却-再熔融処理を施した際の結晶化傾向を評価した。そこで結晶化傾向が高いと判断した薬物を選定し、他の薬物と 1:1 モル比で物理混合した試料を DSC 測定した。この際の結晶化傾向の変化から co-amorphous 化の評価を行った。得られた co-amorphous 化傾向と成分の物理化学的パラメータについて partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA)

C. 結果・考察

モデル薬物の結晶化傾向について評価した（図 1）。DSC の熔融-冷却-再熔融過程において熔融後、冷却中に結晶化した薬物を class I、再熔融中に結晶化した薬物を class II と定義した。また、DSC の測定中に結晶化しなかつたか非晶質安定性を示す薬物を class III とした。本研究に用いた薬物の中では Naproxen (NAP), Indoprofen (IPF), Felbinac (FEL) が class I 化合物であった。これらの薬物に対し、他の薬物を 1:1 モル比で配合し、DSC 測定を行った結果を表 1 に示す。IPF, FEL では著しい姉異性の改善は見られなかつたが、NAP においては Loxoprofen (LOX), Aceclofenac (ACE), Indomethacin (IMC) と組み合わせることで安定な非晶質形態である class III へ変化することが示さ

れた。また, Ketorprofen (KET), Flufenamic acid (FFA) との組み合わせでは class II へ変化した。これら NAP と他の薬物の配合により class II もしくは III へと転移したものを co-amorphous と定義し, co-amorphous 化への物理化学的パラメータの寄与を PLS-DA で評価した。入力変数として表 2 に示す薬物の結晶化傾向ならびに各物理化学的パラメータを, 応答変数として NAP と他の薬物を組み合わせた時の結晶化 class を用いた。図 2 のスコアプロットが示す通り, NAP と配合して class III となる薬物は比較的左側に, 一方 NAP の結晶化を抑制しなかった薬物 (class I から変化しない) は右側にプロットされた。図 3 では各パラメータが, NAP と配合した時に class I, II, III のいずれの複合体形成に寄与するのかを示した。NAP へ配合した薬物の結晶化傾向 (class I-III) は顕著に影響を与えていることが示され, class III の co-amorphous 形成には配合する薬物が class III であることが重要であることが明らかとなった。また, 物理化学的パラメータの内, 分子間相互作用に寄与すると考えられる TPSA, polarizability や hydrogen bond (HB) acceptor 数の寄与が大きいことが分かった。NAP は HB donor を有するので配合する薬物には HB donor ではなく acceptor を含有することが重要であった, と推察できる。また, 薬物の flexibility に関わる rotatable bond 数や Kier Flex の寄与も大きいことが明らかとなり,

flexibility の高い薬物が co-amorphous 形成を容易にすることが示唆された。

D. 結論あるいは, まとめ

Co-amorphous に用いる化合物には結晶化傾向が低く, TPSA, polarizability や Kier Flex 等が高いものが望ましいことが明らかとなった。

E. 健康危機情報

なし。

F. 研究発表等(なるべく以下の書式でお願いします)

論文発表等 (総説も含みます)

なし。

学会発表等

- 1) 植田廣, 佐久間聡, 井田泰夫, 村主教行, 阿曾幸男: 物理化学的評価に基づいた drug-drug co-amorphous の構造安定性に関する研究 (口頭発表) (日本薬剤学会第 29 年会, 2014 年 5 月 22~22 日)
- 2) 上田廣: 物理化学的パラメータに基づいた Co-amorphous の安定性評価 (口頭発表) (PhysChem Forum Japan 2nd Symposium, 2014 年 12 月 11 日)

報道発表等

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

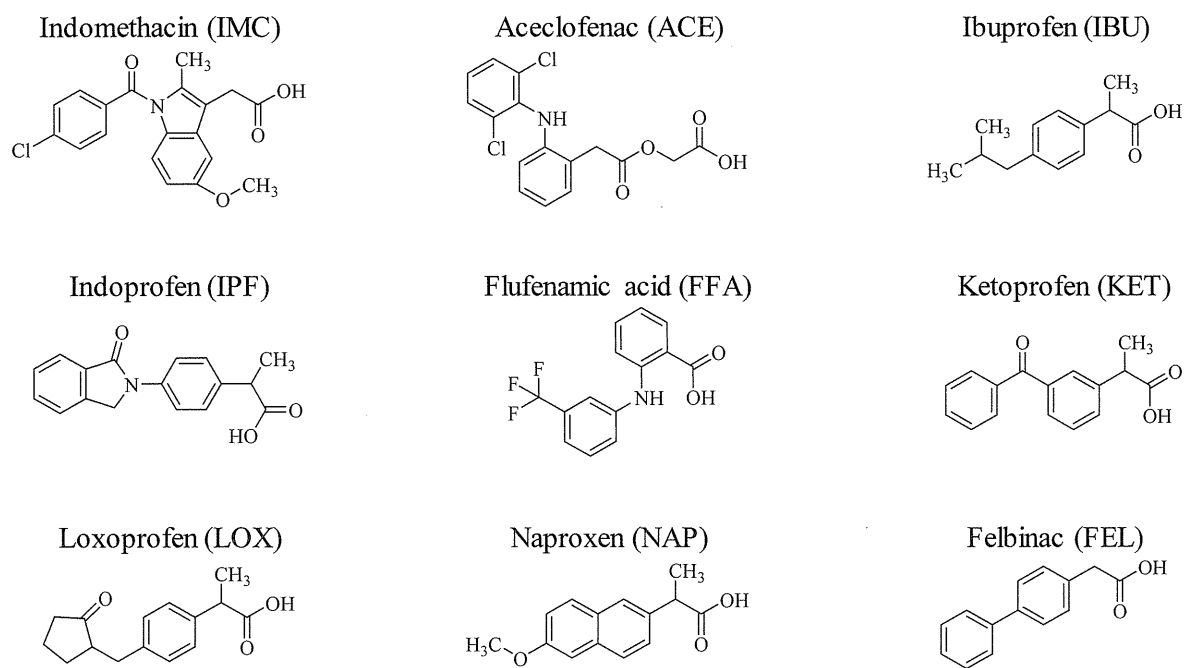


図 1. 本研究に用いたモデル薬物

表 1. Class I 薬物と他の薬物を配合した際の結晶化傾向

	FEL	IPF	NAP	KET	IBU	FFA	LOX	ACE	IMC
NAP	I	I	-	II	I	II	III	III	III
IPF	I	-	I	I	I	II	I	I	II
FEL	-	I	I	I	I	I	I	I	I

表 2. 本研究に用いた薬物の物理化学的パラメータ

	FEL	IPF	NAP	KET	IBU	FFA	LOX	ACE	IMC
Class in single system	I	I	I	II	III	III	III	III	III
MW	212.3	295.3	230.3	254.3	206.3	281.2	246.3	354.2	357.8
Tg (K)	-	324.2	278.7	272.7	230.1	286.4	264.5	284.6	321.6
Tm (K)	436.2	484.5	428.0	367.2	347.3	406.8	353.7	425.7	433.1
ΔH (kJ/mol)	29.3	38.8	32.2	29.5	25.9	27.6	32.9	47.0	39.5
ΔS (kJ/mol \cdot K)	6.73	8.01	7.52	8.03	7.46	6.78	9.29	11.1	9.12
Fragility parameter m	-	51.9	34.8	51.2	40.1	48.9	46.1	57.1	49.1
SpKa	4.30	4.40	4.80	3.70	4.40	4.20	4.40	2.60	4.00
SlogP	3.24	3.10	2.98	5.26	3.21	3.27	2.75	4.14	4.48
HB acceptor number	2	4	3	3	2	3	3	5	5
HB donor number	1	1	1	2	1	1	1	2	1
C ratio	0.88	0.81	0.82	0.70	0.87	0.84	0.83	0.70	0.76
Hetero ratio	0.13	0.19	0.18	0.15	0.13	0.16	0.17	0.22	0.20
Ring number	2	3	2	2	1	2	2	2	3
Aromatic ring number	2	2	2	2	1	2	1	2	3
Kier flex	2.37	2.11	2.40	3.16	2.66	2.65	3.08	5.32	3.75
Rotatable bond number	3	3	3	3	4	4	4	7	4
Density (g/cm)	1.17	1.31	1.20	1.40	1.03	1.20	1.18	1.46	1.33
Polarizability	24.6	30.8	26.4	26.8	24.1	28.5	27.0	34.7	37.5
TPSA	37.3	57.6	46.5	49.3	37.3	54.4	54.4	75.6	68.5
VDW area	218.9	275.9	263.7	249.9	237.3	259.5	247.9	326.1	340.2
VDW volume	319.0	380.9	319.0	328.1	309.6	352.4	345.7	411.3	450.5
Solubility parameter δt (MPa)	21.8	23.5	21.8	21.8	19.4	20.9	21.8	24.1	23.1

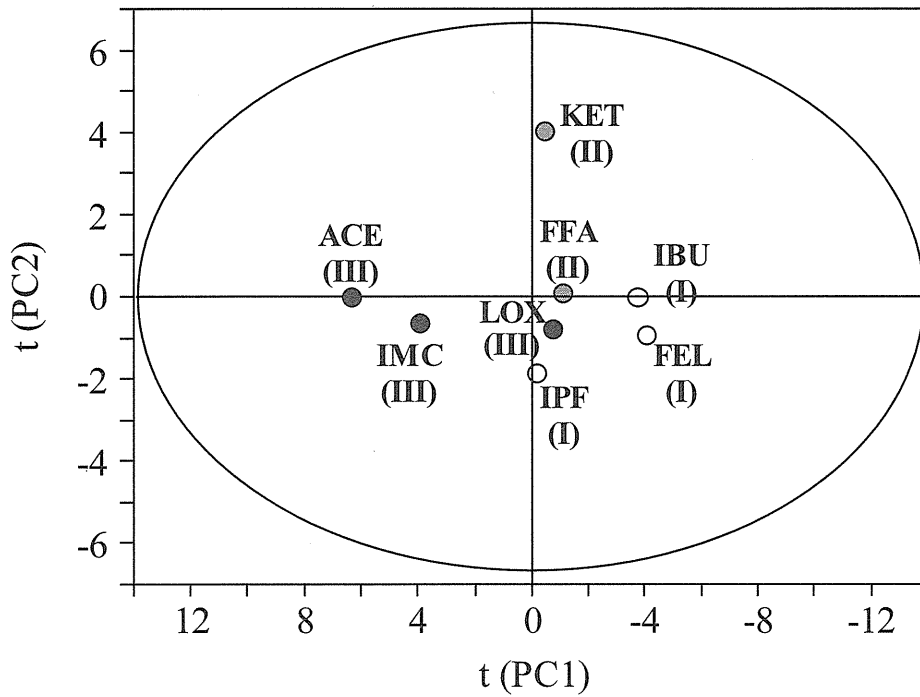


図 2. PLS-DA 解析によるスコアプロット

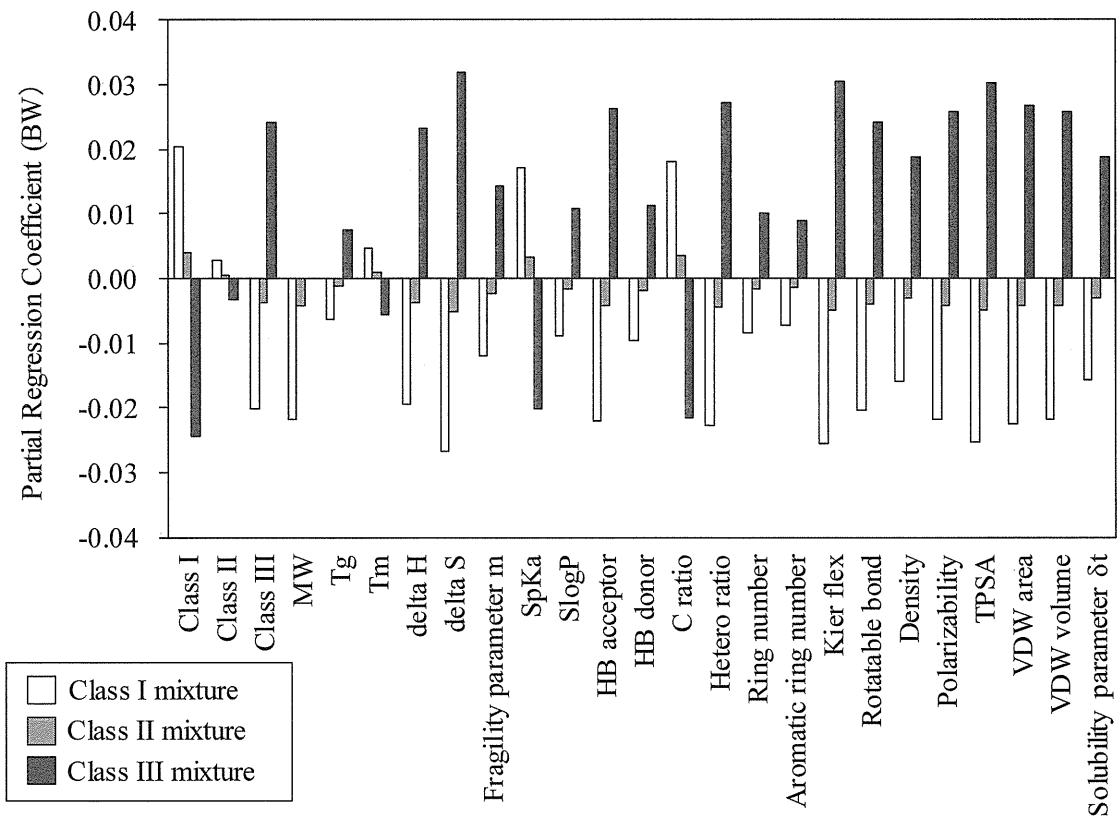


図 3. Co-amorphous 形成に及ぼす物理化学的パラメータの寄与

分担研究課題 非晶質製剤の安定性評価技術の開発

研究分担者 第一三共分析評価研究所 所長 大原 求

研究協力者 第一三共分析評価研究所 浜田 義人 小野 誠

要旨—— 1. スルファメタジンは不純物の混入により、粉碎による結晶性低下が促進されることが明らかとなった。また不純物の種類によって結晶性低下をもたらす濃度に差があることが明らかとなった。2. 熔融急冷法により調製した非晶質スルファメタジンは、40℃乾燥下で保存すると1日後には結晶化したが、不純物を加えて調製した非晶質は、同条件でも非晶質を維持し、物理的安定性が向上した。3. メフェナム酸、トルフェナム酸及びフルフェナム酸を粉碎するとき、混入する不純物の種類によって結晶多形変換が生じることが分かった。

A. 目的

低分子医薬品原薬の固体形態を適切に制御することは、医薬品の品質管理において重要な事項である。近年、難溶解性化合物の製剤開発においては、溶解性及びバイオアベイラビリティを改善するために、原薬を非晶質化して用いる場合がある。非晶質状態は熱力学的に不安定な状態であるため、安定形である結晶状態への変化が懸念される。そのため、非晶質を用いた医薬品開発では、医薬品の保存環境において長期間非晶質状態を維持させることが極めて重要な課題と考えられている。

非晶質の物性、物理的安定性については、様々な観点からの研究報告がある。ガラス転移温度や分子運動性を指標とした研究、水分の影響、非晶質／固体分散体化のプロセスの影響、など多くの研究が実施されている。

一方で、低分子医薬品原薬は多くの場合、複雑な合成プロセスを経て製造され、工程で 사용되는原料や中間体、生じる副生成物などが有

機不純物として含まれる可能性がある。また、保存環境においては、熱、水分、酸素などの影響で化学分解が生じることもある。研究開発段階における合成プロセスの成熟度、製造元の違い、製品のライフサイクルを通じた製法改善などの影響で、同じ化合物であっても原薬に含まれる不純物の種類、量が異なる場合がある。しかしながら、非晶質の物性、物理的安定性に対する不純物プロファイルの影響に関する系統的な研究はほとんどされていない。

本研究では、いくつかのモデル化合物について、微量の構造類似不純物が含まれるときの、非晶質原薬の固体物性、物理的安定性に対する影響を評価し、そのメカニズムを考察することを目的とした。研究の起点として、構造が類似する一連の化合物群が入手可能なサルファ剤系化合物（合成抗菌薬）及びメフェナム酸を代表とするフェナム酸系化合物（非ステロイド系抗炎症薬）をモデル化合物として、人為的に構造類似化合物を不純物として混入させた試料

を用いて、不純物が物性に与える影響を評価する。

B. 研究方法

1. 試薬

サルファ剤系化合物としては、スルファメタジン (SMT)、スルファジアジン (SDA)、スルファメラジン (SMR)、スルファモノメトキシシン (SMM)、スルファジメトキシシンを用いた (Figure 1)。種化合物と擦るスルファメタジンはメタノールで再結晶して研究に使用した。その他の化合物は購入した試薬そのまま用いた。

フェナム酸系化合物では、N-フェニルアントラニル酸 (PAA)、N-(3-クロロフェニル)-アントラニル酸 (CBA)、トルフェナム酸 (TFA)、メフェナム酸 (MFA)、フルフェナム酸 (FFA) を購入した試薬をそのまま使用した (Figure 2)。

2. 実験方法

2.1 スルファメタジンの粉砕による結晶性低下挙動に対する微量不純物の影響

SMT 単体、及び SMT に不純物として、SDA、SMR、SMM、SDM を重量比で 1~5% を混合した混合末とジルコニアボール ($\phi 5$ mm) 1 個をチューブに入れ、ミキサーミル MM-400 (レッチェ) で振動数 25 Hz で粉砕した。粉砕 5 時間まで 1 時間ごとに試料を採取し、粉末 X 線回折測定を行い、SMT の見かけの結晶性を評価した。

2.2 スルファメタジンの熔融急冷非晶質の物理的安定性に対する微量不純物の影響

SMT 単体、及び SMT に不純物として、SDA、SMR、SMM、SDM を重量比で 5% を混合した混合末を容器に入れ、ホットプレート上で融解後速やかに液体窒素中に移して急速に冷却した。これをメノウ乳鉢で粉末状とした試料を 40°C/75%RH 及

び、40°C/乾燥下に保存した。調製直後、及び各保存条件で 1 日間保存した試料の粉末 X 線回折測定を行い、結晶性を評価した。

2.3 フェナム酸類化合物の粉砕による結晶多形挙動変化に対する不純物の影響

PAA、CBA、TFA、MFA、FFA を主化合物とし、これら 5 化合物の単体と、それぞれについて他の 4 化合物を重量比で 5% を混合した混合末と、ジルコニアボール ($\phi 5$ mm) 1 個をチューブに入れ、ミキサーミル MM-400 (レッチェ) で振動数 25 Hz で粉砕した。粉砕 5 時間まで 1 時間ごとに試料を採取し、粉末 X 線回折測定を行い、結晶形を評価した。

<倫理面への配慮>

本研究では、ヒトを含め動物を用いた実験は実施しておらず、また、生物由来の試薬、化合物も用いていないため、倫理面の問題となる事項はない。安全面に関しては、適切な設備、保護具を使用して研究を実施した。

C. 結果及び考察

1. スルファメタジンの粉砕による結晶性低下挙動に対する微量不純物の影響

スルファメタジンは単独で粉砕を行っても大きな結晶性の低下はわずかであった。スルファメタジンに不純物として SDA、SMR、SMM、SDM を加えると、粉砕による結晶性低下傾向が大きくなった。Figure 3 には例として、SMT 単体及び SMR を 5% 混入した系の粉末 X 線回折パターンを示す。不純物混入量を 1~5% で変化させて同様に粉砕したときの 5 時間後の見かけの結晶化度を Figure 4 に示す。SDA、SMR 添加系では 2% 以下では結晶性低下傾向は小さく、3% 以上で大きく結晶性が低下した。一方、SMM、SDM 添加

系では 1%添加系でも粉碎による結晶性の低下が認められた。

結晶性分子に対してメカニカルストレスを与えると、分子の配列が破壊され、一時的に非晶質化が生じるが、同時に分子の再配列も起こり結晶化との平衡が発生する。SMT 単独では再配列による結晶化速度が優位となって、粉碎による結晶性低下は小さかったが、不純物が存在すると、分子の再配列に障害となり、結果として結晶性低下が促進されたと考えられた。

2. スルファメタジンの熔融急冷非晶質の物理的安定性に対する微量不純物の影響

Figure 5 に熔融急冷により調製した非晶質及びこれらを 40°C/乾燥下、及び 40°C/75%RH に 1 日間保存した試料の粉末 X 線回折パターンを示す。熔融急冷により SMT 及び SMT に不純物を 5%混入させた場合でも熔融急冷により非晶質を形成することを確認した。40°C/75%RH に 1 日保存すると、不純物の有無に関わらずすべて結晶化してしまうが、40°C/乾燥下では、SMT 単独では結晶化を示す回折ピークの存在が確認されるが、不純物を 5%混入した系はいずれも非晶質を維持していた。非晶質中の結晶核発生または微細結晶の結晶成長に対して、不純物が抑制効果を示したと考えられた。

3. フェナム酸類化合物の粉碎による結晶多形挙動変化に対する不純物の影響

フェナム酸系化合物は粉碎しても結晶性の低下はほとんど認められなかった。例として MFA 単独及び MFA に PAA を 5%混入した場合の粉末 X 線回折パターンを Figure 6 に示す。MFA では単独で粉碎しても結晶形は変化しないが、PAA を不純物として混入させると、粉碎により粉末 X 線回折パターンの変化が認められた。

MFA には結晶多形 I 型及び II 型が知られており、I 型であった MFA が、不純物として PAA が存在することで、MFA の II 型への結晶多形変換がもたらされたことが分かった。他の化合物を不純物として混入させたときの粉碎による結晶形の変化の結果を Table 1 にまとめた。PAA 及び CBA は、不純物を混入の有無に関わらず、結晶性及び結晶多形の変化は認められなかった。TFA 及び MFA については、単独で粉碎するときは結晶多形は観測されず、また互いに不純物として混入させた場合にも結晶形の変化は認められなかった。しかしながら、PAA、CBA、FFA を不純物とした場合、粉碎により結晶多形変換が認められた。一方、FFA は単独及び PAA、CBA を不純物とした場合には結晶形変換は無く、TFA、MFA を不純物として混入させると、結晶多形の変換が認められた。

TFA、MFA、FFA は、粉碎で結晶多形に変換させる不純物は TFA、MFA、FFA で交差する関係性が認められた。

D. 結論

スルファメタジンは不純物の混入により粉碎による非晶質化傾向が増大すること、またその程度が不純物の種類により差があることが分かった。熔融急冷非晶質の結晶化速度に対しても不純物の混入により結晶化が抑制されることが示された。フェナム酸系化合物は不純物の種類によっては、粉碎により結晶形変換が生じた。微量の不純物の存在により固体物性の変化が認められたことについて、そのメカニズムを明らかにする研究を今後実施する。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表等

(1) 論文発表等

なし

(2) 学会発表等

なし

(3) 報道発表等

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし