

非晶質薬物の固体物性に関する
物理化学的因子の解明に関する研究

2015 年

上田 廣

目次

緒言	5
第1章 二次元 Raman イメージの経時的な変化に基づく 非晶質 Indomethacin の結晶化傾向の速度論的評価	
1-1. 序論	11
1-2. 試料ならびに実験方法	12
1-3. 結果・考察	
1-3-1. Indomethacin の Raman スペクトル測定	15
1-3-2. Raman マッピング法ならびに XRPD 法による 非晶質 Indomethacin の結晶化度の評価	16
1-3-3. 非晶質 Indomethacin の結晶化傾向の評価	20
1-3-4. Raman イメージに基づいた特定エリアの結晶化速度解析	25
1-4. 結論	28
第2章 小型熱熔融法 - 超音波打錠法 - の工程モニタリングによる 試料の状態変化の評価	
2-1. 序論	29
2-2. 試料ならびに実験方法	31
2-3. 結果・考察	
2-3-1. 高分子試料の超音波打錠プロセスモニタリング	33

2-3-2. 超音波打錠工程における試料のガラス転移点の関与	38
2-3-3. 試料の吸湿性が超音波打錠工程に及ぼす影響	42
2-3-4. Indomethacin-PVP90 混合物の超音波打錠ならびに プロセスモニタリング	45
2-4. 結論	47
第3章 PVA copolymer を用いて調製した固体分散体の 物理化学的特性ならびに結晶化傾向の評価	
3-1. 序論	48
3-2. 試料ならびに実験方法	49
3-3. 結果・考察	
3-3-1. 試料の化学構造	52
3-3-2. X 線回折パターンに基づいた試料の結晶性評価	53
3-3-3. 高分子の配合が非晶質 Indomethacin のガラス転移点 ならびに分子運動性に及ぼす影響	54
3-3-4. FT-IR スペクトルの変化に基づいた分子間相互作用の評価	60
3-3-5. 固体分散体に含まれる高分子が吸湿性に及ぼす影響	65
3-3-6. 固体分散体の結晶化傾向の評価	66
3-4. 結論	68
第4章 固体 NMR 法を用いた Naproxen-Eudragit® E 固体分散体の 組成依存的な構造変化ならびに結晶化傾向への影響の評価	
4-1. 序論	69

4-2. 試料ならびに実験方法	70
4-3. 結果・考察	
4-3-1. 試料の化学構造	73
4-3-2. Naproxen-Eudragit [®] E 組成に依存したガラス転移点ならびに 分子運動性の変化	74
4-3-3. 高温高湿度条件における固体分散体の結晶化傾向	78
4-3-4. FT-IR スペクトルの変化に基づいた Naproxen-Eudragit [®] E 分子間相互作用の評価	83
4-3-5. 固体 NMR 化学シフトならびに T ₁ 変化に基づいた Naproxen- Eudragit [®] E 組成依存的な非晶質構造の変化に関する考察	85
4-4. 結論	91
総括	92
謝辞	95
参考文献	96
論文目録	109
主査・副査	110

緒言

日本国において医薬品産業は重要な産業の一つであるが、近年、世界的に新薬の創出が困難になっている¹⁻⁵。医薬品の開発においては、目的とする有効性ならびに良好な安全性、薬物動態、物性を満たす化合物を設計することが求められるが、これら全ての項目を満足する新薬を創出することは容易ではない。有効性、安全性ならびに吸収後の体内動態に関する問題は低分子化合物の化学構造に基づくことが大半であり、化学構造の変換無しに課題克服を行うことは難しい。しかしながら、化合物の物理化学的特性や一部の薬物動態課題に関しては、その特性把握を通じた製剤化検討により克服できる可能性がある。Figure 1に、創薬研究において必要となる物性評価項目の例を示す。創薬初期から非臨床試験段階においては、溶解度、安定性、熱物性、吸湿性、ぬれ性や結晶形の評価を行い、医薬品として開発するに相応しい物性を有しているか判断する。また、臨床試験段階においては、ヒトに投与することを前提とした製剤として、十分な溶出性や安定性ならびに生産性を有することが求められる。医薬品候補化合物において生じた物性課題に対しては、可溶化技術の適用による難溶性薬物の溶解性向上⁶⁻⁷、徐放性技術の適用による薬物の血中濃度持続化⁸⁻⁹、防湿包装の利用による薬物の吸湿抑制¹⁰、塩や共結晶技術を利用した薬物の結晶化促進¹¹⁻¹⁴等が研究されてきた。現在、世界で上市されている医薬品の内、約40%が難溶性薬物であるため、物性改善研究の中でも特に難溶性薬物の可溶化が、最も重要な課題の一つとなっている⁶。

難溶性薬物を開発するために、様々な可溶化技術が開発されている（界面活性剤等を溶解させた水系媒体の利用¹⁵、薬物の塩／共結晶化による原薬形の変更¹¹⁻¹⁴、薬物の非晶質化による分子運動性の向上¹⁶⁻¹⁷、薬物の粒子径をナノ粒子サイズまで微細化¹⁸⁻¹⁹）。このような技術を用いて新規低分子化合物を市場へ送り出していくことは、最終的な医薬品としての価値を高めていく上で重要なことである²⁰。また、可溶化技術は、創薬初期における薬理活性の評価や非臨床試験段階における毒性発現の確認のような動物試験においても、目的とする吸収性を得るために重要となる²¹。

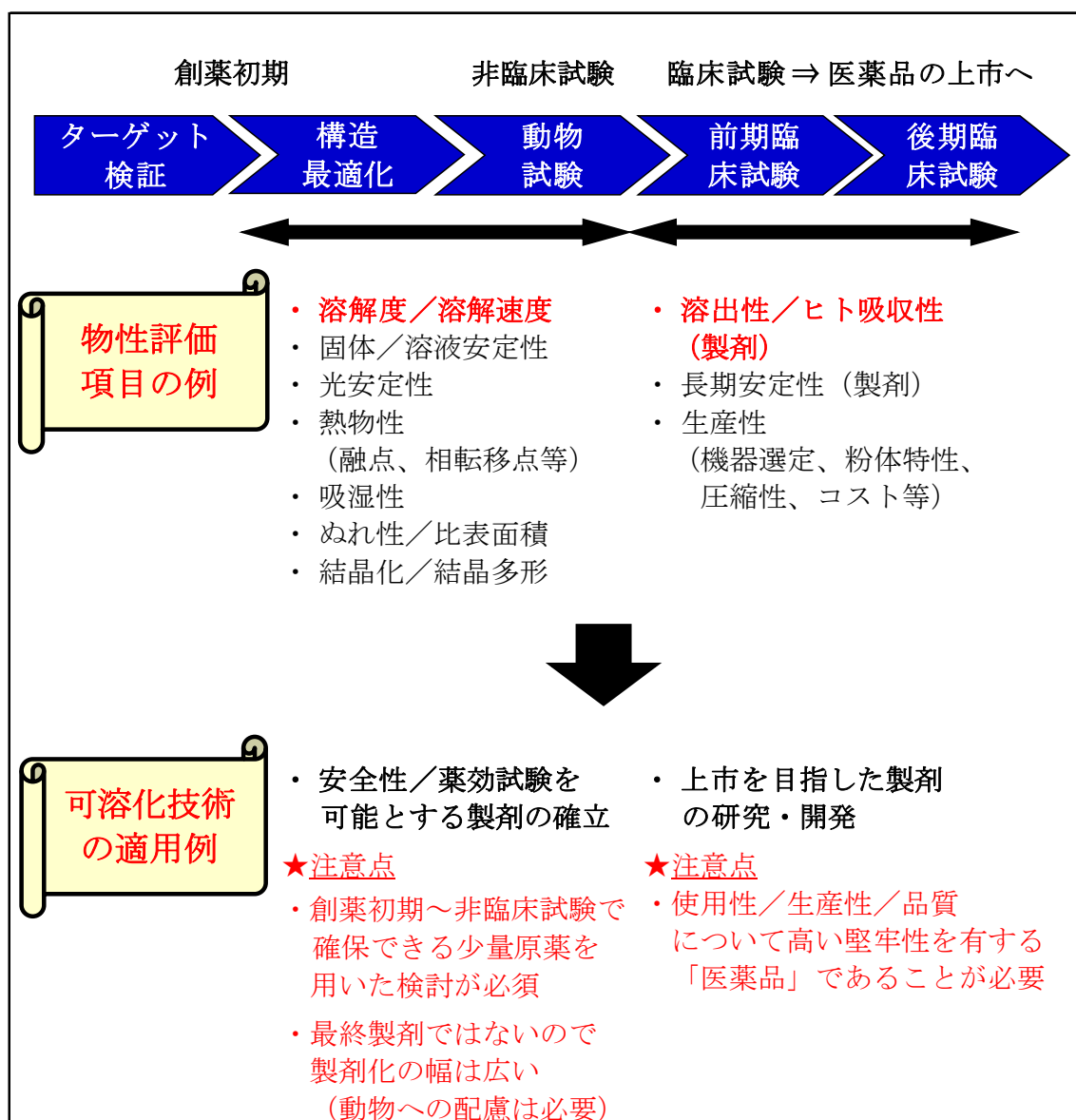


Figure 1. Schematic image of physicochemical evaluations and improvement of water solubility for drug development.

可溶化技術の中でも、結晶薬物の非晶質化は極めて有効な手段の一つとして広く知られている²²。一定の規則的な分子配列構造を形成することで安定なエネルギー状態にある結晶に対し、非晶質においては分子配列が長期的な周期性を示さず不規則に配列している状態であるとされる。したがって、非晶質固体（ガラス）は、規則的な配列構造を取る結晶よりもエネルギー状態が高く、分子運動性が向上した状態になっている。結晶薬物が溶解する際には、結晶格子の破壊ならびに溶媒への拡散／水和という過程を経る。一方、非晶質薬物において

は結晶格子の破壊は不要であり、高いぬれ性や溶解度の向上がもたらされる。このように、結晶薬物においては、非晶質化を達成すれば大幅な溶解度向上が期待できるため、非晶質を利用した製剤の応用性は高いと考えられる。しかしながら、非晶質状態はエネルギー的に非平衡な状態であるため、低エネルギー状態へ向かって絶えずその構造を変化させている（構造緩和）。Figure 2 に、非晶質薬物におけるエンタルピーと温度との関係について示す。非平衡状態にある非晶質薬物を一定の温度(T_s)で保存すると、準安定領域に向かって緩和が進行する(Relaxation)。緩和が進行した非晶質薬物について昇温を行うと、ガラス転移点(T_g)において緩和過程で消失したエネルギーが回復する(Recovery)。非晶質薬物の構造緩和において生じるエネルギーの変化については、示差走査熱量分析(Differential Scanning Calorimetry : DSC) 等でエンタルピーの変化に基づいて評価できることから、エンタルピー緩和とも呼ばれている²³⁻²⁵。非晶質薬物の緩和過程においては、安定な状態である結晶核の発生や成長が起こることが大きなリスクとして挙げられ、非晶質薬物を利用する上で大きな問題となる。

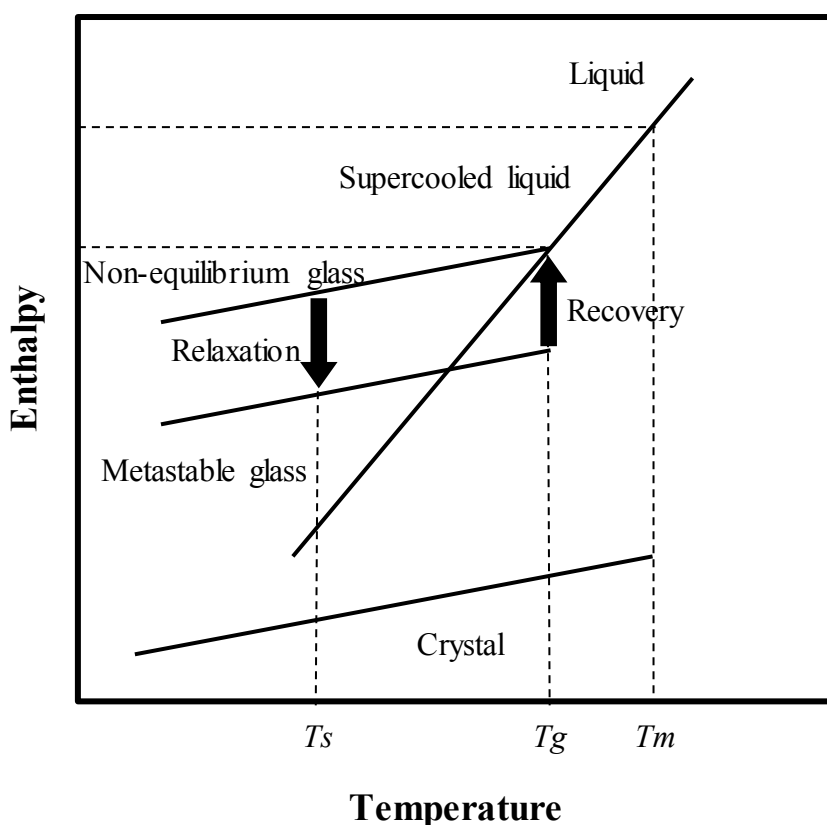


Figure 2. Enthalpy-temperature diagram for amorphous material.

(T_s : storage temperature, T_g : glass transition temperature, T_m : melting temperature).

非晶質薬物の結晶化により、溶解度は再び低下し、目的とする経口吸収性が得られないことが予測される。非晶質薬物の結晶化は保存中のみならず経口投与後の消化管内においても起こり得るため、投与時に非晶質状態を維持していた場合でも、目的とする溶解性ならびに経口吸収性が得られないことがある²⁶⁻²⁷。非晶質薬物を市場へ送り出すためには、医薬品として十分な保存安定性（通常は生産 - 流通 - 使用者の保管を含めて室温で2～3年以上）ならびに消化管内においても結晶化が生じない工夫が必要となる。この問題を解決する手段として、非晶質薬物を親水性高分子中へ分散させる固体分散体が研究されてきた^{6, 16-17}。Figure 3 に、固体分散体による非晶質薬物の安定化について示す。固体分散体において、非晶質状態にある薬物は高分子に対して分子レベルで分散し、水素結合を始めとした相互作用を形成することで、ガラス転移点の上昇ならびに分子運動性の低下に伴う結晶化抑制がもたらされる²²。理想的な固体分散体を得るためには、①目的とする薬物を非晶質化した際の物性把握、②薬物に適した高分子基剤の選択ならびに配合量の設定、③適切な調製法ならびに調製条件の設定、④調製した固体分散体に対する物性評価法の確立ならびに結晶化傾向の予測が必要不可欠である。適切な固体分散体を調製することで、非晶質状態の長期安定化ならびに高い溶解性の向上を両立することが可能となり、現在までに複数の製品が上市されている²²。

今後、難溶性薬物に対する非晶質技術の適用機会が増加することが予測されるため、固体分散体の物理化学的研究を推進することが製品化の成功確率を向上させるために重要であると考えられる。また、創薬初期から非臨床試験段階においては、合成法/合成処方完全に確立されていない医薬品候補化合物は非常に高価であり、使用できる量は限られる。したがって、創薬初期段階から、少量の薬物を用いて固体分散体研究を行っていくためには、非晶質薬物の固体物性について正しく把握し、得られた物理化学的知見に基づいて効率よく製剤設計を行うことが重要となる。本稿では、非晶質薬物の結晶化傾向の詳細な評価法の確立、少量原薬を用いた固体分散体調製法の確立ならびに固体分散体の物性に影響する物理化学的因子の解明について研究した。

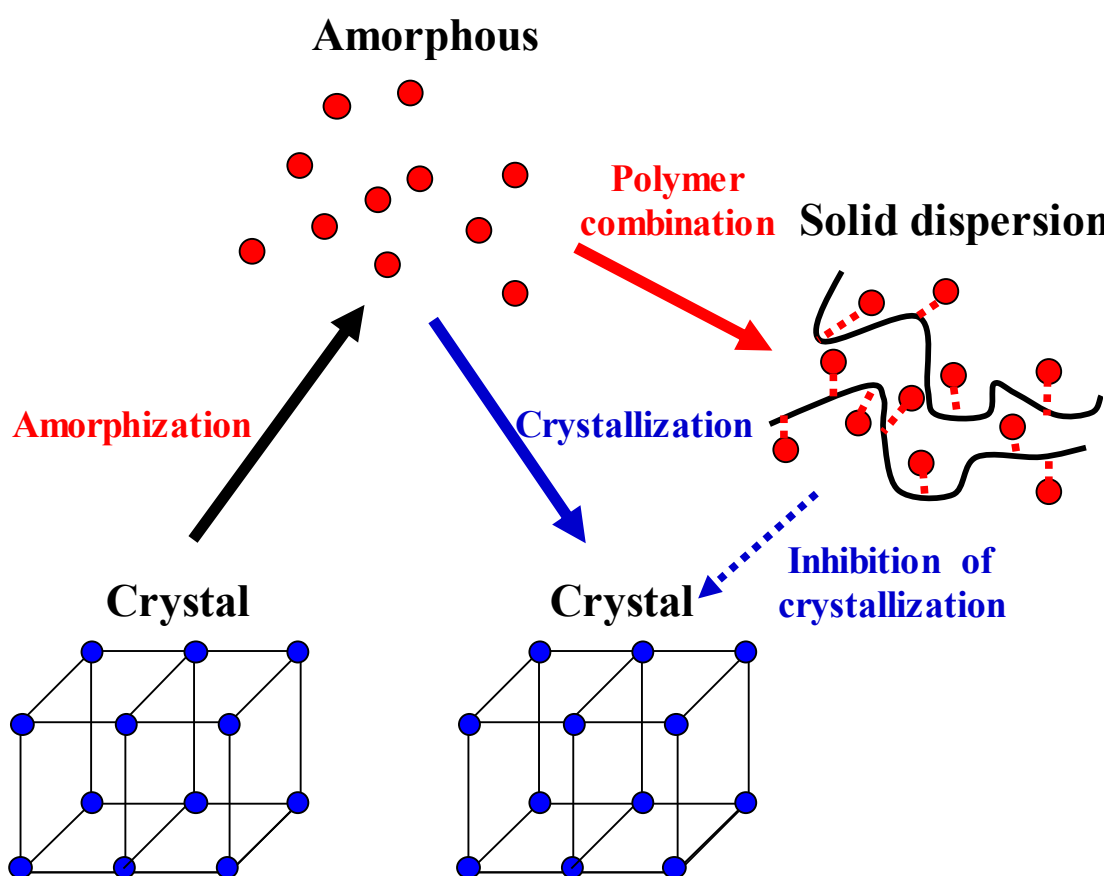


Figure 3. Stabilization of amorphous state of drug by solid dispersion formulation.

第1章では、Raman マッピング法の応用により、非晶質 Indomethacin (IMC) の試料中の結晶化傾向の均一性について二次元 Raman イメージの変化から評価を試みた。また、得られた結果を速度論的に解析することで、結晶化メカニズムの解明を行った。

第2章では、少量の試料を用いた固体分散体調製法の確立を目的として、超音波打錠法に着目した。超音波打錠法は、薬物と高分子の混合物を熱熔融することで固体分散体を調製する技術の一つであり、mg 単位の少量試料を用いて検討できることが特徴である。しかしながら、これまでに超音波打錠工程中の試料の状態変化については評価されていない。そこで、工程モニタリングソフトを用いて、IMC と高分子を超音波打錠した際の調製条件と、試料の状態変化とを関連付けることで、最適な超音波打錠条件の設定を行った。

第3章では、固体分散体基剤としての使用報告がほとんどない PVA copolymer に着目した。固体分散体の製剤設計において、配合する高分子の特性は、固体分散体の物性を決定づける最も重要な因子の一つである。したがって、固体分散体基剤として使用できる高分子について、その物性を把握しておき、目的とする薬物の物性に応じて選択することが重要である。そこで、IMC と PVA copolymer の固体分散体を調製し、その物理化学的特性を評価することで PVA copolymer の基剤としての有用性を評価した。

第4章では、固体分散体における薬物と高分子の相互作用に着目した。薬物と高分子の相互作用が固体分散体の物性に与える影響は大きく、その相互作用メカニズムを正しく理解することは重要である。しかしながら、特定の薬物と高分子の組み合わせにおいて観察される特異的な相互作用については、メカニズムが明らかになっていない場合があり、その解明が望まれている。本章では、IMC よりも、高い結晶化傾向を示す Naproxen (NAP) をモデル薬物に選び、塩基性高分子である Eudragit® E を含む固体分散体において、特異的に観察される組成依存的な物性の変化について評価した。熱分析法、赤外分光法ならびに Raman マッピング法による物性評価に加え、固体 NMR 法を用いた局所の分子状態の評価により、組成依存的な相互作用様式の変化についてメカニズム解明を行った。

このように、本稿では非晶質 IMC の「結晶化傾向の詳細な評価」、固体分散体の「小スケール調製法の確立」、「新規高分子基剤の有用性評価」ならびに「組成依存的な非晶質構造変化のメカニズム解明」に関して、物理化学的な視点から包括的な研究を行い、得られた知見について最後に総括した。

第 1 章

二次元 Raman イメージの経時的な変化に基づく

非晶質 Indomethacin の結晶化傾向の速度論的評価

1-1. 序論

固体分散体を設計する上で、非晶質状態にある薬物の物性を正しく理解しておくことが重要である。特に、非晶質薬物中に結晶が混在した時、その結晶が保存中や経口投与後の消化管内において結晶成長の核として働き、再結晶化を促進する可能性があるため高感度な測定法で評価する必要がある。また、医薬品としての安定性を考える上で、非晶質薬物の経時的な結晶化傾向を把握しておくことが重要である。これまで、非晶質薬物に混在する結晶の評価や粉末試料の経時的な結晶化挙動については、X 線粉末回折法（XRPD 法）における回折ピークの変化や、DSC 測定において観察される熱挙動の変化から、評価が行われてきた²⁸⁻²⁹。

薬物の結晶形や結晶性の評価法として、赤外分光法や Raman 分光法のような分光評価法も、有効な手段として挙げられる。分光評価法では、薬物の分子状態を反映した官能基の振動に由来するスペクトルパターンが観察される。薬物は、結晶状態と非晶質状態で分子状態が異なるため、分光スペクトルも異なるパターンを示すことが報告されている³⁰⁻³²。近年では、試料中の複数ポイントから Raman スペクトルを入手し、得られた試料の物性情報に基づいて二次元で描写する、Raman マッピング法の活用が進んでいる³³⁻³⁵。Raman マッピング法では、測定ポイント毎に分子状態を評価できるため、試料中の特定エリアでのみ生じている物性変化についても高感度に検出することができる。

本章では、非晶質 IMC に混在する結晶の検出ならびに経時的な結晶化傾向について Raman マッピング法を応用することで、得られた二次元 Raman イメージの変化から結晶化速度の評価を行い、更に任意のエリアの速度論解析により結晶化メカニズムの解明を試みた。

1-2. 試料ならびに実験方法

1-2-1. 試料

Indomethacin (IMC、 γ 型結晶)は金剛化学株式会社より購入した。Poly(vinylpyrrolidone) (Kollidon[®] 90F : PVP90)は、BASF ジャパン株式会社から入手した。

1-2-2. 非晶質 Indomethacin ならびに 5% PVP 固体分散体の調製

非晶質 IMC は、結晶試料を 175°C で融解後、直ちに液体窒素中で冷却する融解 - 急冷法を用いて調製した。得られた試料は乳棒、乳鉢で簡便に粉碎し粉末状とした。

結晶化度の異なる試料を調製するために、 γ 型結晶と非晶質 IMC を混合した。混合操作中に非晶質が結晶化することを防ぐために、非晶質 IMC に 5% の PVP を分散させた。PVP の添加量については、Matsumoto ならびに Zografi の報告²⁵に基づいて設定した。総量 600 mg の IMC と PVP (95 : 5) をメタノール 50 mL に溶解させ、日本ビュッヒ株式会社製スプレードライヤー B-290 を用いて噴霧乾燥した (inlet 温度 50°C、outlet 温度 35°C、airflow 473 L/時間、aspirator 100%、feed rate 10%)。噴霧乾燥後の試料は、室温で一晩減圧乾燥し残留溶媒を除去した。調製した噴霧乾燥品は、融解 - 急冷法で熱履歴を消去した。以上の方法によって得られた 5% PVP 固体分散体と γ 型結晶 IMC を、任意の比率で物理混合し、検量線作成用試料とした。それぞれの混合物を構成する結晶と非晶質の重量比から結晶化度の理論値を算出し、各試料の XRPD パターンならびに Raman イメージから得られた結晶化度の計算値に対してプロットすることで、検量線を作成した。Raman 測定ならびに XRPD 測定に用いた混合試料の理論結晶化度はそれぞれ 4.3、14.7、31.3、44.6、57.3、65.1、87.6% ならびに 4.1、14.1、29.0、45.3、57.4、71.6、83.1% であった。

1-2-3. X 線粉末回折測定 (XRPD 測定)

試料の結晶性をブルカーエイエックスエス株式会社製 X 線粉末回折装置 D-8 Discover を用いて評価した。Cu Ka 源の放射エネルギー ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) は 40 kv、40 mA で操作した。測定は 5~35° (2 θ) の範囲で行い、試料の X ならびに Y 軸方向に対して 120 秒間スキャンした。測定結果は GADDS ver. 4.1.27 で解析した。試料の結晶化度は、 γ 型結晶 IMC に特徴的に認められる 11.7° のピーク強度を指標に算出した。

1-2-4. Raman 分光測定

堀場製作所株式会社製 Horiba Jobin Yvon LabRAM ARAMIS を用いて、 γ 型結晶

ならびに非晶質 IMC、また 5% PVP 固体分散体の Raman 分光測定を行った。測定条件は以下の通りである。レーザー：He-Ne レーザー 633 nm、レンズ：オリンパス株式会社製 A SLMPLN20×、Raman スキャタリング：ペルチェ冷却デバイス（Charge Coupled Device：CCD）使用、600 groove／分グレーティング、レーザー照射時間：0.5 秒、積算回数：2 回、測定範囲：1750～1550 cm^{-1} 。なお、得られたデータは LabSpec ver. 5.49.08 を用いて解析した。

1-2-5. Raman マッピング測定

Raman マッピング測定における機器の条件は Raman 分光測定に準じた。径 1.8 mm、深さ 0.3 mm のアルミニウムプレート上の穴に試料を圧縮固定し、表面を滑らかにした。なお、検量線作成用の混合物試料については、スパーテルへの試料の付着を防ぐために圧縮固定しなかった。Figure 4 に、Raman マッピング測定のシーケンスを示す。Raman マッピングは、まず 1 で示す列について上から下方向へ測定が進行し、一つの列を測定し終わると、次の列の測定へ移った。この測定を繰り返し、測定範囲の各測定ポイント（16×16 μm ）から Raman スペクトルを入手した。対象エリア内の全測定数は約 7700、測定時間は約 4.5 時間であった。得られた Raman スペクトルは、LabSpec ver. 5.49.08 で解析した。ベースライン補正後の各 Raman スペクトルに対して、Direct classical least squares fitting method を用いて非晶質と結晶 IMC のスペクトルをフィッティングすることにより、各ポイントの結晶化度を算出した。Raman イメージは、算出された各測定ポイントの結晶化度に基づき作成した。試料全体ならびに任意エリアの結晶化度は、対象エリアに含まれる全ポイントの結晶化度を平均化することにより求めた。

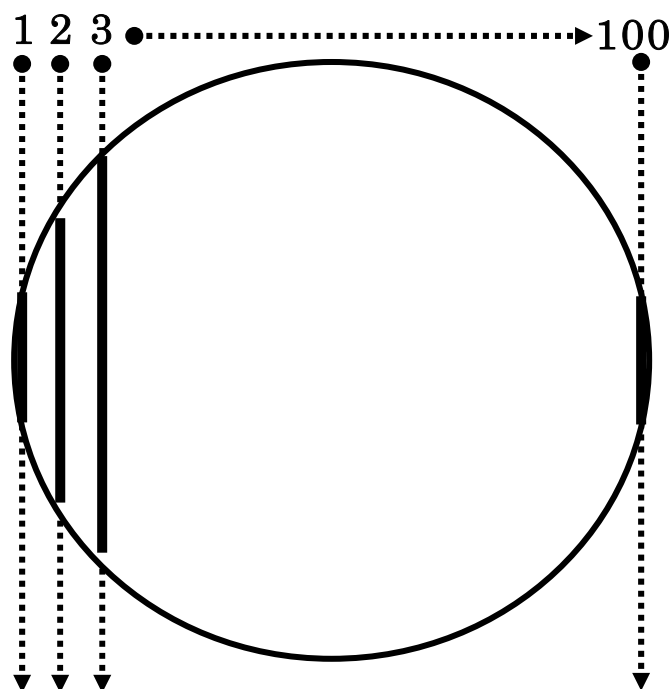


Figure 4. Measurement sequence of Raman mapping.

1-2-6. 結晶化速度の評価

非晶質 IMC をシリカゲルと共にデシケーターに入れ、30℃で保存した。保存前ならびに 1、3、5、9、15、22 日保存後に XRPD 法と Raman マッピング法で測定し、各時点の結晶化度をそれぞれ算出した。XRPD 測定ならびに Raman マッピング測定から得られた、経時的な結晶化度の変化について、以下の Kolmogorov-Johnson-Mehl-Abrami (KJMA)式で速度論解析を行った

$$x = (1 - \exp(-k(t - t_0)^n)) \cdot 100$$

x は結晶化度(%)を、 t は測定した時点を、 k は結晶核発生ならびに結晶成長に依存した定数を、 n は結晶化次数を表している。

Raman マッピング測定環境ならびに保存条件中の温湿度はエスベックミック株式会社製サーモレコーダ RS-12 で測定し、それぞれ 25℃・54% RH ならびに 30℃・5% RH であることを確認した。

1-3. 結果・考察

1-3-1. Indomethacin の Raman スペクトル測定

分光法において $1750\sim 1550\text{ cm}^{-1}$ のカルボニル領域は、結晶形の同定や基剤との相互作用形成の評価に重要であるため³⁰⁻³⁵、本研究でもカルボニル領域に注目した。Figure 5 に、各試料の Raman スペクトルを示す。 γ 型結晶 IMC と非晶質 IMC は異なる Raman スペクトルパターンを示し、分子状態の違いを反映していた。5% PVP 固体分散体の Raman スペクトルパターンは、非晶質 IMC のパターンと一致しており、配合した PVP の影響は認められなかった。Taylor ならびに Zografi も、IMC の γ 型結晶と非晶質の Raman スペクトルを測定しており、観察されたスペクトルパターン³⁰ は本研究で得られた結果と一致した。また、PVP はカルボニル領域において特徴的な Raman ピークを示さず、非晶質 IMC のスペクトルにほとんど影響しないことも過去に報告されている³⁴。したがって、結晶化度の検量線試料作製は、5%PVP 固体分散体を非晶質 IMC として、結晶 IMC と混合することで調製した。

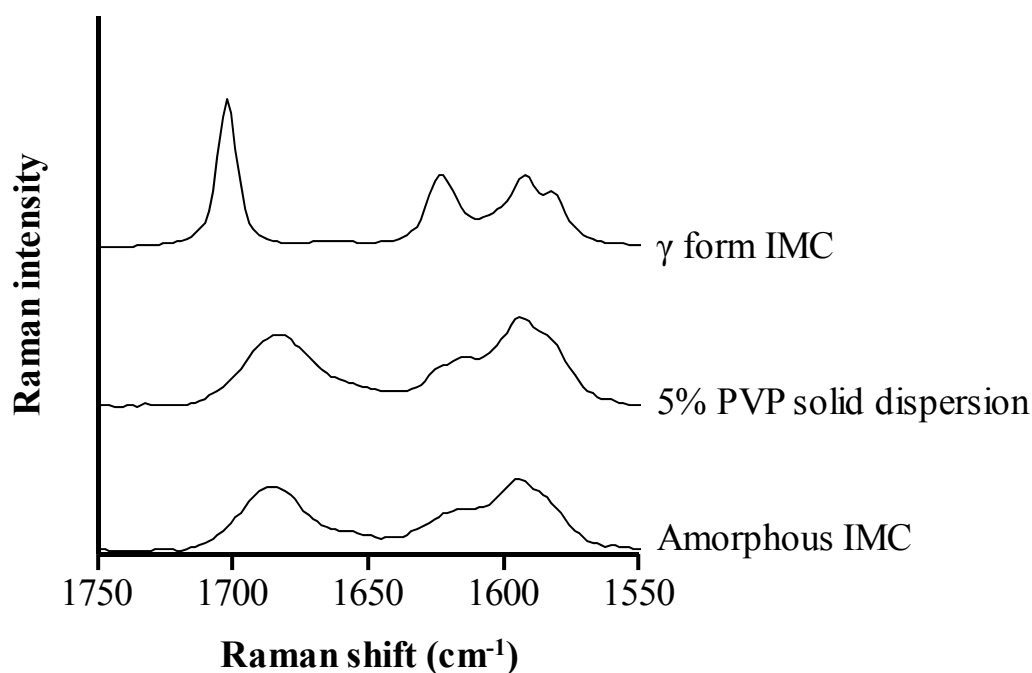


Figure 5. Raman spectra of γ form and amorphous IMC, and 5% PVP solid dispersion.

1-3-2. Raman マッピング法ならびに XRPD 法による非晶質 Indomethacin の結晶化度の評価

Raman マッピングから計算される結晶化度の妥当性について検証した。Figure 6 に、理論結晶化度が 65.2%と算出された混合物の、Raman イメージならびに特定の 4 ポイントの Raman スペクトルを示す。Raman イメージは、各測定ポイントの Raman スペクトルから求めた結晶化度に基づいて作成した。Raman イメージ中の各測定ポイントにおいて、スペクトルパターンが非晶質であった場合は赤色で、結晶であった場合は緑色で表記した。したがって、イメージ中の赤色と緑色のエリアはそれぞれ、非晶質と結晶の分散状態を表している。イメージ中において、緑色で表される箇所として Point A と D を、赤色で表される箇所として Point B と C を選定した。Point A ならびに B の Raman スペクトルは、それぞれ完全な結晶ならびに非晶質のパターンを示した。周囲を異なる色で囲まれている、Point C ならびに D は結晶と非晶質のパターンが重なったスペクトルを示しており、非晶質と結晶が混在しているポイントであるという Raman イメージの描写と一致した。Raman イメージは、各測定ポイントにおける Raman スペクトルのパターンに基づいて描かれているため、非晶質と結晶の分散状態を可視化することができた。

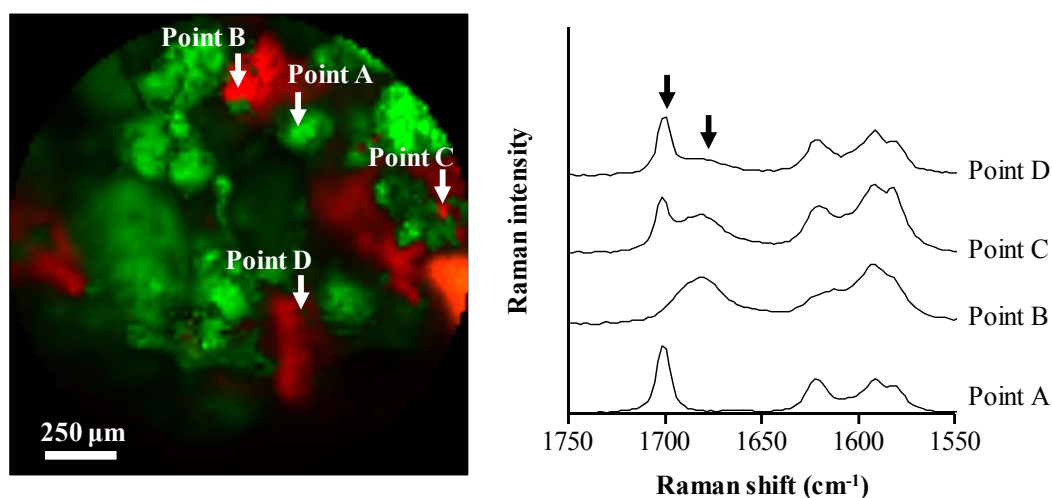


Figure 6. Raman image and Raman spectra of 65.2% crystalline sample

Figure 7 に、理論結晶化度 4.3、31.3、57.3 ならびに 87.7%の混合物の Raman イメージを示す。5% PVP 固体分散体ならびに結晶 IMC についても、それぞれ理論結晶化度 0 ならびに 100%の試料として示した。混合物の Raman イメージは、理論結晶化度に依存して、結晶エリア（緑色）が占める割合が増加しており、

結晶化度に依存した Raman イメージの変化が確認された。

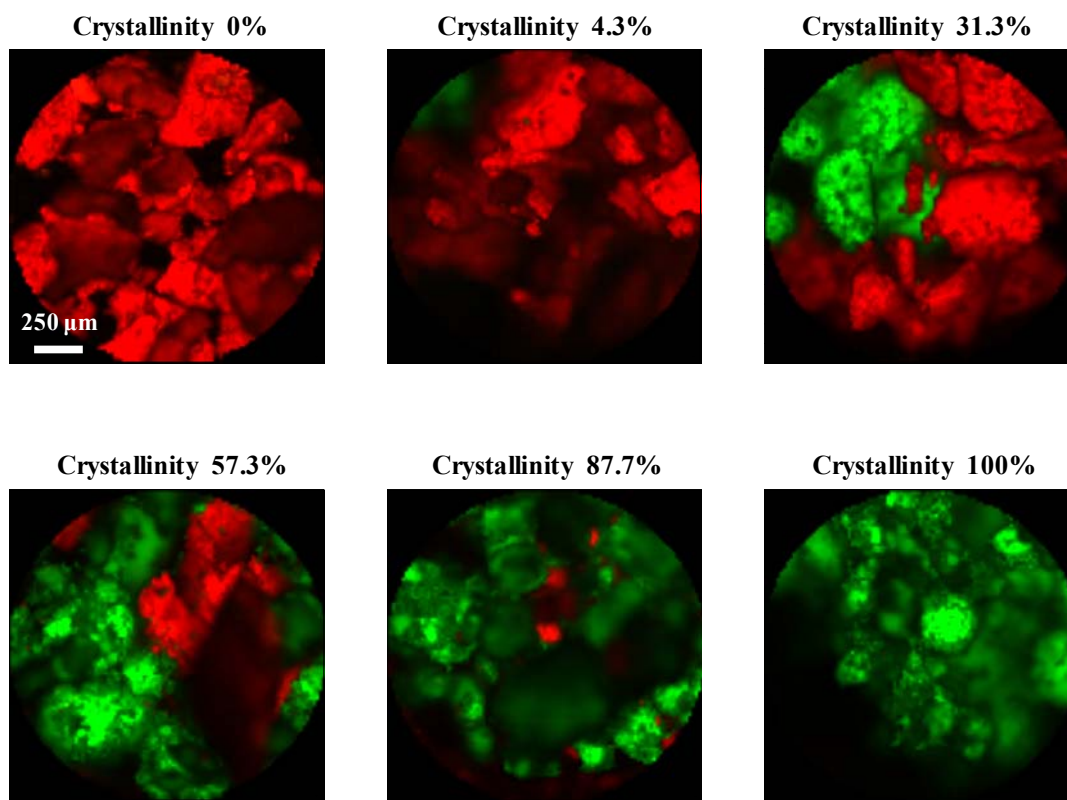


Figure 7. Raman images of the mixtures composed of 5% PVP solid dispersion and γ form IMC.

Figure 8 ならびに 9 に、Raman マッピング測定ならびに XRPD 測定から算出された混合試料の結晶化度の計算値を、それぞれ理論結晶化度に対してプロットした結果を示す。Raman マッピング法ならびに XRPD 法によって計算された結晶化度は、理論結晶化度に対しそれぞれ $R^2=0.9984$ ならびに 0.9970 と共に良好な相関性を示した。そこで、非晶質中に存在する結晶の検出感度について比較評価するために、Figure 8 ならびに 9 に示す検量線の線形回帰分析結果を求め、結晶の検出限界 (Limit Of Detection : LOD) を算出した。Table 1 に、Figure 8 ならびに 9 の検量線の線形回帰分析結果を示す。また、LOD は ICH (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) ガイドラインに記載されている計算式 ($\text{LOD} = 3.3 (\text{SD} / \text{S})$)³⁶に基づいて算出した。SD は標準偏差 (Standard deviation) を、S は傾き (Slope) を表しており、Table 1 に記載した値を用いた。計算によって求められた、Raman マッピング法ならびに XRPD 法による結晶化度の LOD はそれ

ぞれ 4.7 ならびに 6.2%であり、両測定法において非晶質中に含まれる約 5 から 6%の結晶を検出できることが予測された。また、結晶の検出感度は Raman マッピング法の方が高いことが示唆された。両測定法の検量線において、平均最小二乗誤差、標準誤差の値も十分に小さく、結晶化度の定量には問題がなかったと判断した。

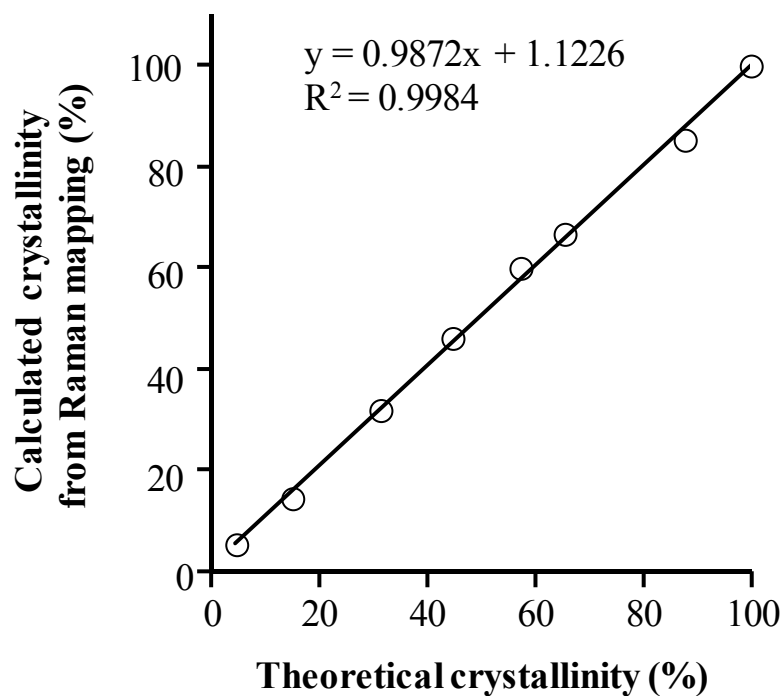


Figure 8. Comparison between calculated crystallinity from Raman mapping and theoretical crystallinity.

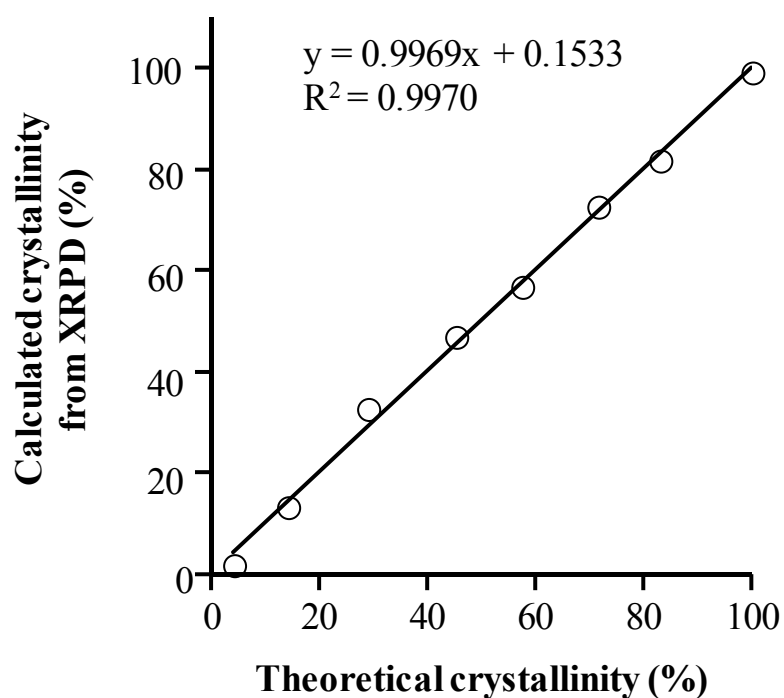


Figure 9. Comparison between calculated crystallinity from XRPD and theoretical crystallinity.

Table 1. Linear regression results from calculated and theoretical crystallinities.

	Raman mapping	XRPD
Slope	0.9872	0.9969
Offset	1.12	0.15
Correlation	0.9992	0.9985
R ²	0.9984	0.9970
Root mean squared error (%)	1.41	1.86
Standard error (%)	1.42	1.86
Standard deviation (%)	1.47	2.01

1-3-3. 非晶質 Indomethacin の結晶化傾向の評価

非晶質 IMC の結晶化傾向を評価するため、まず保存前の非晶質 IMC について調べた。Figure 10 に、非晶質 IMC の Raman イメージ全体図と、特定エリア E の拡大図をそれぞれ左図ならびに右図として示す。Raman イメージ全体図から、異なる大きさの粒子が試料中に分散している様子が示された。とりわけ、100～150 μm の粗大粒子が試料の中央左と中央エリアに観察された。非晶質 IMC は融解 - 急冷法を用いて調製したため、得られた試料はガラス状であり簡便な粉碎後も粗大粒子が残存したと考えられる。Raman イメージ中の、ほぼ全てのエリアが非晶質状態を表す赤色を示したが、結晶を表す緑色エリアもわずかに確認された。試料中に認められた、緑色エリアはイメージ中の右側に集中していた。イメージ中において、特に緑色エリアが多く観察された、特徴的な領域をエリア E として定義した。Figure 10 の右図に、エリア E の拡大図を示す。エリア E では、緑色のエリアが点在しており (図中の白矢印で明記)、保存前の非晶質 IMC 中に結晶が発生していることが明らかとなった。特に、緑色エリアが大きく、結晶化度が高いと予測されたポイント F について着目した。

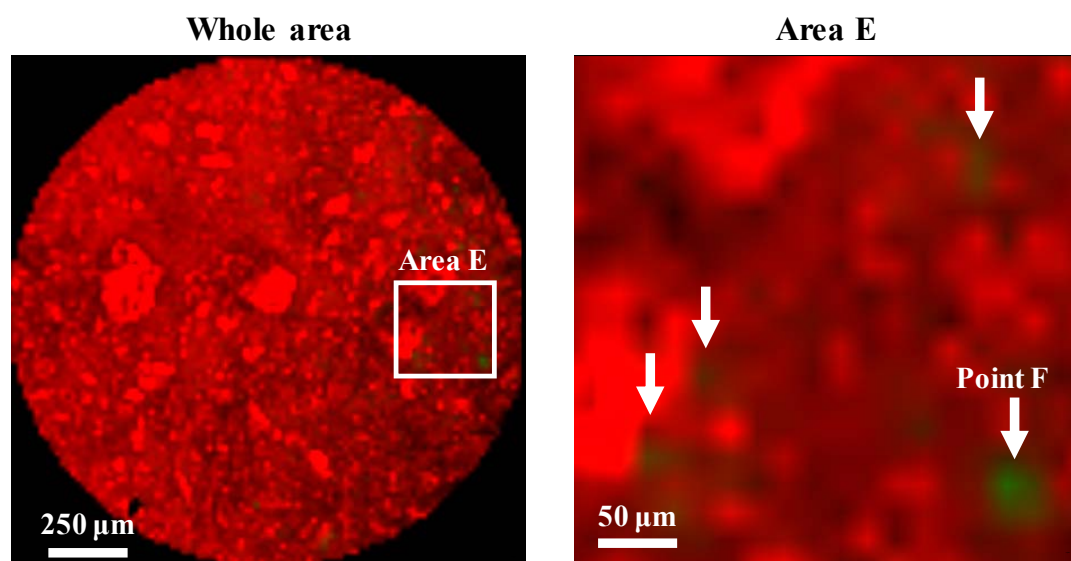


Figure 10. Raman images of amorphous IMC for whole area and area E before storage.

Figure 11 に、ポイント F の Raman スペクトルを示す。ポイント F の Raman スペクトルは、 γ 型結晶に由来する 1700 cm^{-1} のピークを強く示すと共に、非晶質に由来する 1680 cm^{-1} にも弱いピークが確認された。このスペクトルから算出され

た結晶化度は 77.5%であり、ポイント F において非晶質 IMC は約 80%結晶化していることが分かった。一方で、試料全体から算出された結晶化度は 2.2%であった。Raman マッピング法においては、各測定ポイントにおいてそれぞれ結晶化度を評価することが可能であるため、結晶化が起こっているポイントを高感度に検出できた。

上述の通り、保存前の非晶質 IMC の Raman イメージにおいて結晶が確認された。つまり、非晶質 IMC を調製時に結晶が残存していた、もしくは Raman マッピング測定中に結晶化が起こった、という二つの可能性が考えられた。「1-2-2. 非晶質 Indomethacin ならびに 5% PVP 固体分散体の調製」に記した通り、非晶質の調製において IMC は一度完全に融解させており、さらに Raman イメージ中で確認された結晶は、Raman マッピング測定開始後、数時間以上経過後に測定される右側に集中していた。以上より、25℃・54% RH の測定環境条件に試料が数時間以上さらされ、測定中に結晶化が起こったと考察した。

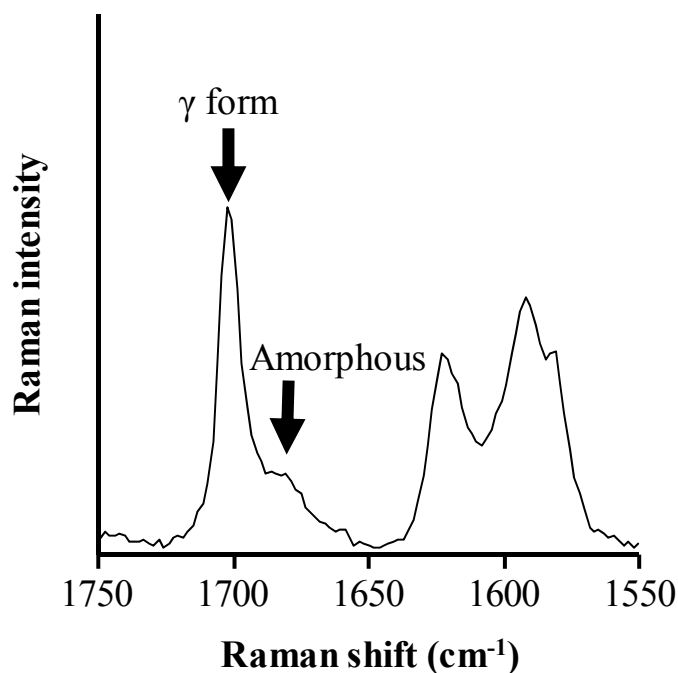


Figure 11. Raman spectrum of point F in Figure 10.

次に、非晶質 IMC を 30℃乾燥条件に保存した時の、経時的な結晶化傾向について、Raman マッピング法ならびに XRPD 法で評価した。Figure 12 に、非晶質 IMC の保存前後の XRPD パターンを示す。保存前の XRPD パターンにおいて、

結晶に由来する回折ピークは確認されなかった。しかしながら、Figure 10 の Raman イメージでは、非晶質 IMC は保存前に結晶化が始まっていた。したがって、試料全体を一度に評価する XRPD 法では微量の結晶が生じた際に、Raman マッピング法ほど高感度に検出できないことが裏付けられた。この結果は、Raman マッピング法の結晶検出限界は XRPD 法よりも高いという、線形回帰分析の結果と一致した。非晶質 IMC は 1 日後に、 γ 型結晶の回折パターンを示した。1 日後に観察された XRPD ピークは、15 日後まで経時的に強度が増加したが、15~22 日後ではピーク成長はわずかであった。8.54°に特異的な回折ピークを持つ準安定形 α 型結晶の発生は確認されず、非晶質 IMC はガラス転移点（約 45°C）以下の保存では、 γ 型結晶しか発生しないという報告と一致した³⁷⁻³⁸。

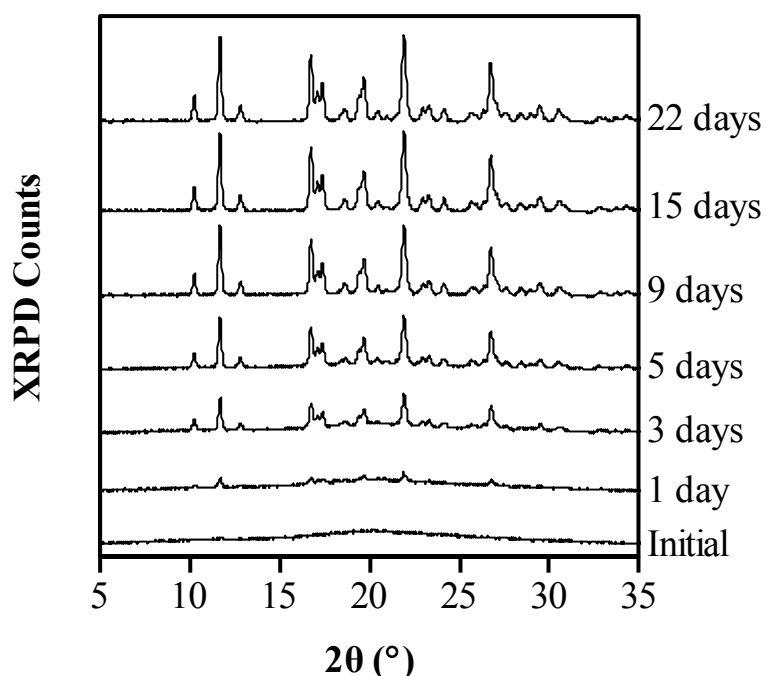


Figure 12. XRPD patterns of amorphous IMC before and after storage.

Figure 13 に、非晶質 IMC の経時的な Raman イメージの変化を示す。保存前はほぼ全てのエリアが非晶質を示す赤色であったが、1 日後には結晶を表す緑色のエリアが広がった。結晶エリアは時間依存的に拡大し、22 日後には試料全体が結晶となった。非晶質 IMC の結晶化において、Raman イメージ内の変化は均一ではなく、結晶化が相対的に速いエリアと遅いエリアが見られた。Figure 13 において、結晶化が比較的遅かった粗大粒子に着目し、エリア G ならびに H とし

て定義した。エリア G 及び H は結晶化が遅く、他のエリアが 15 日後までに結晶化したのに対し、22 日後まで完全に結晶化しなかった。XRPD パターンで確認された、15~22 日後にかけてのわずかなピーク成長は、エリア G 及び H の結晶成長を反映していたことがわかった。過去の研究報告において、異なる粒子径の非晶質 IMC は、粒子径の増大に伴い結晶化速度が低下したことが確認されている³⁹。また、その報告の中で、150 μm 以下の粒子では 30 日以内に結晶化が完了することも示されており、Figure 13 の観察結果と一致した。以上より、試料全体の結晶化傾向については XRPD 法でも評価が可能であるが、Raman マッピング法では、さらに試料中の粒子の分散状態や結晶化挙動の均一性を評価することができた。

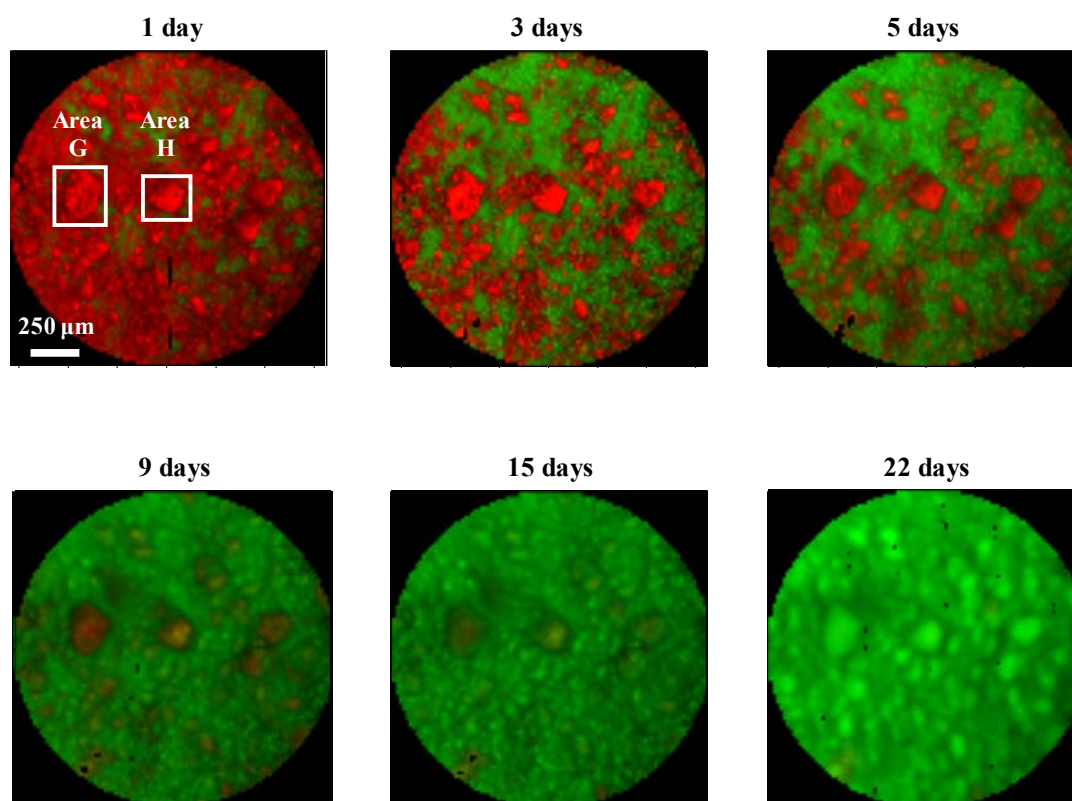


Figure 13. Raman images of amorphous IMC after storage.

Figure 14 に、エリア G の Raman イメージと、イメージ内のポイント I の保存前後の Raman スペクトルを示す。保存前の、ポイント I の Raman スペクトルは完全に非晶質パターンを示した。5 日後もほぼ非晶質パターンを示したが、1700 cm^{-1} に結晶化を表すピークがわずかに観察された。つまり、結晶化速度の遅いエリア G においても、5 日以内に結晶化が始まっていることが分かった。1700

cm^{-1} のピーク強度は、経時的に成長し、22 日後には完全に結晶のスペクトルパターンを示した。Raman スペクトルから算出したポイント I の結晶化度は、5、9、22 日後に、それぞれ 12.1、43.4、100%を示した。エリア G や H を始めとする、粗大粒子以外のエリアが 5 日目までにほぼ結晶化したことから、エリア G 中のポイント I の結晶化速度が遅いことが定量的に示された。

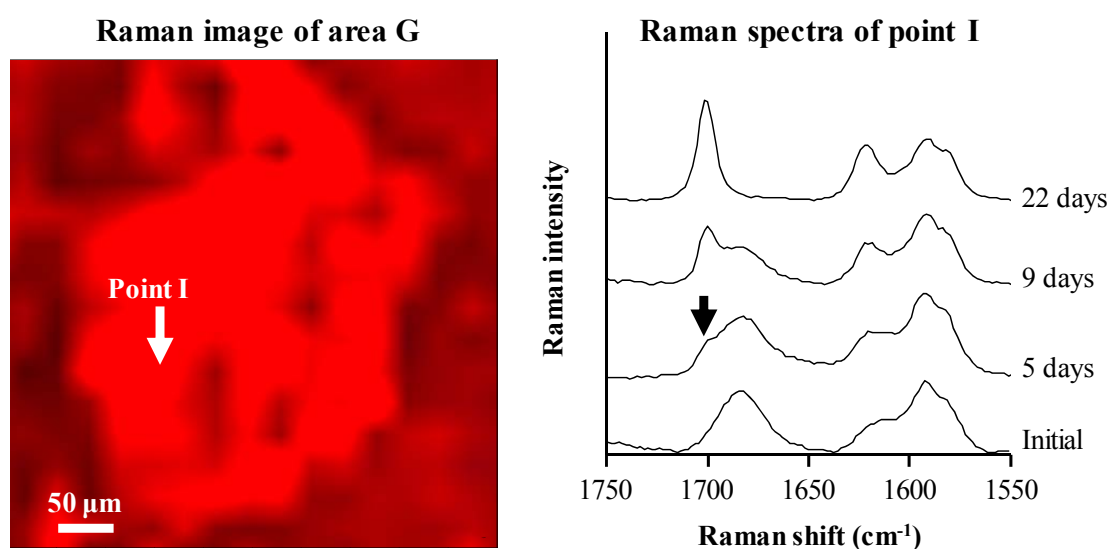


Figure 14. Raman image of area G in Figure 13 and Raman spectra of point I before and after storage.

1-3-4. Raman イメージに基づいた特定エリアの結晶化速度解析

非晶質 IMC の経時的な結晶成長について速度論解析を行い、結晶化メカニズムについて考察した。非晶質 IMC の Raman イメージから、結晶化速度が試料内で均一でないことが分かったため、Raman マッピング法の結果については、試料全体に加えてエリア G 及び H の結晶化速度も評価した。Figure 15 に、XRPD 法と Raman マッピング法で算出された結晶化度を保存時間に対してプロットした結果を示す。Raman マッピング法から得られた試料全体の結晶化速度プロファイルは、XRPD 法の結果とほぼ一致した。エリア G 及び H については、結晶化開始時間の遅れと、全体的な結晶化速度の低下が確認された。

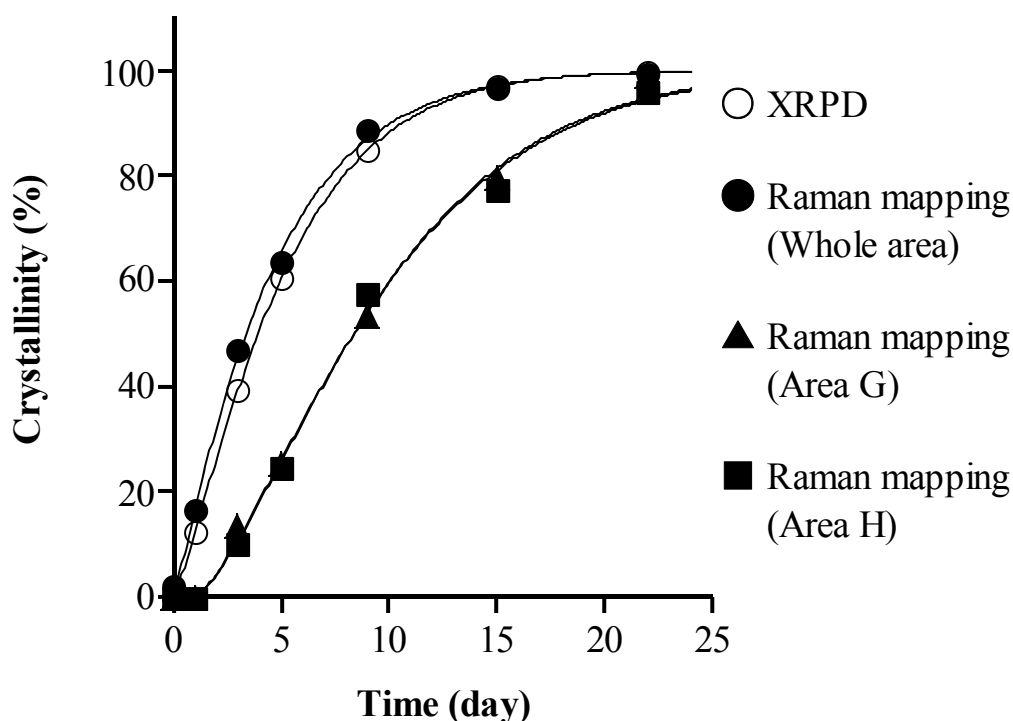


Figure 15. Crystallization rates of amorphous IMC as a function of storage time.

Figure 15 で示された経時的な結晶化度の変化から結晶化速度を求めるために、KJMA 式によるフィッティングを行った。KJMA 式は、非晶質薬物の結晶化速度の算出ならびに結晶化メカニズムの考察を行う上で、有用であることが報告されている³⁹⁻⁴²。KJMA 式へのフィッティングにより求められた、結晶化度 - 時間プロファイルを Figure 15 中に実線で示した。また、Table 2 に、算出された KJMA パラメータである、結晶化速度定数 k 、結晶化次数 n 、及び k と n 用いて

算出された結晶化速度 $k^{1/n}$ を示した。XRPD 法と Raman マッピング法から求められた試料全体の $k^{1/n}$ は、それぞれ 0.19 と 0.21 であり、ほぼ同等であった。一方で、エリア G 及び H の $k^{1/n}$ はそれぞれ 0.10 と 0.11 であった。KJMA パラメータの比較により、試料全体に比べてエリア G ならびに H では、結晶化速度が約半分に低下していることが定量的に示された。

さらに、結晶化次数 n を比較することで、試料全体とエリア G 及び H における結晶化メカニズムについて考察した。結晶化次数 n は、非晶質薬物が結晶成長する際の結晶外形を表しており、算出された n が 1、2、3 の時、それぞれ針状、板状、球状結晶として成長していると考えられている⁴¹。Table 2 に示す通り試料全体の n は、XRPD 測定ならびに Raman マッピング測定においてそれぞれ 1.21、1.10 であり、非晶質 IMC は全体的には針状結晶として 1 次元に成長していることが示唆された。過去の研究報告でも、非晶質 IMC の結晶成長次数は約 1 を示すことが確認されており³⁹、本研究の結果と一致した。エリア G ならびに H の結晶化次数は、それぞれ 1.38 ならびに 1.36 と、試料全体の結晶化次数より大きな値を示した。Watanabe らは、非晶質 IMC に微量の結晶を添加すると、結晶化開始時間の短縮が結晶化次数の低下を起こしたと報告している⁴²。本研究においては、エリア G ならびに H の結晶化開始時間が延長したことで、結晶化次数の増加がもたらされたと考えることができた。

非晶質試料においては、粒子の内部に比べ表面において分子運動性が向上しているため、結晶化は表面から始まることが報告されている⁴⁰⁻⁴³。したがって、非晶質薬物の粒子径増大に伴う表面積の低下は、結晶化開始時間の低下を引き起こす。また、粒子表面で発生した結晶は、粒子内部に向かって成長するため、試料の粒子径が増大すると、結晶化に要する時間が長くなる。Raman イメージ中に観察されたエリア G 及び H においても、他のエリアに比べて粒子径が大きかったために結晶化開始時間の延長と結晶化次数の増加が生じていたと考えられる。以上、Raman マッピング法を用いて非晶質 IMC の結晶化を評価することで、試料の分散状態の可視化に加えて、試料中の結晶化傾向の均一性、特定エリアの結晶化速度ならびに結晶化次数を求めることが可能であった。

Table 2. KJMA parameters for crystallization rate of amorphous IMC

	XRPD	Raman mapping		
	Whole area	Whole area	Area G	Area H
k (day ⁻¹)	0.13	0.18	0.04	0.05
n	1.21	1.10	1.38	1.36
$k^{1/n}$ (day ⁻¹)	0.19	0.21	0.10	0.11

1-4. 結論

本章では、Raman マッピング法を応用して非晶質 IMC の経時的な結晶化傾向の詳細な評価を行った。始めに、非晶質と結晶の混合物について Raman マッピング測定を行った。Raman イメージから算出した結晶化度と、混合物の重量比から求めた理論結晶化度は、良好な相関性を示した。XRPD 法から求めた結晶化度についてもほぼ同様の結果が得られたが、結晶の検出限界は Raman マッピング法の方が高かった。非晶質 IMC の結晶化傾向を評価するため、試料を 30°C 乾燥条件下で保存し、保存前後における結晶化度の変化を XRPD 法と Raman マッピング法で評価した。保存前の試料は、XRPD パターンから非晶質であることが確認された。しかしながら、同試料の Raman イメージにおいては、微量結晶の存在が確認された。XRPD 法が試料全体を評価しているのに対し、Raman マッピング法では極小エリアを一点ずつ評価していることから、高感度に結晶の発生を検出できた。

非晶質 IMC を 30°C に保存後の結晶化傾向について、Raman イメージから算出された試料全体の結晶化挙動は、XRPD 法から得られた結果と同等であった。さらに、Raman イメージ中において、比較的粒子径の大きいエリアでは結晶化が遅かった。試料全体ならびに粗大粒子を含むエリアの結晶化挙動について KJMA 式で解析した結果、試料全体に比べて粗大粒子の結晶化速度は約半分にまで低下していた。また、結晶化次数についても試料全体の約 1.1 に対し、粗大粒子では約 1.4 に増加しており、結晶化開始時間の延長に伴う結晶成長メカニズムの変化を明らかにすることができた。

Raman マッピング法を用いることで、非晶質中に存在する微量結晶を高感度に検出でき、さらに試料全体と特定エリアの結晶化速度の解析から、結晶化メカニズムを詳細に考察することが可能であった。非晶質薬物の結晶化傾向を評価する際に、Raman マッピング法は非常に有用な手段であり、今後の非晶質薬物ならびに固体分散体の研究において積極的に活用していくことが望ましいと結論付けた。

第 2 章

小型熱熔融法 - 超音波打錠法 - の工程モニタリング による試料の状態変化の評価

2-1. 序論

第 1 章では、Raman マッピング法の応用により、非晶質 IMC の経時的な結晶化傾向を明らかにした。非晶質薬物の結晶化を抑制するためには高分子の配合による固体分散体の設計が求められる。また、創薬初期から非臨床段階において固体分散体を適用するためには mg 単位の少量薬物を用いて検討を行うことが必要である。固体分散体の調製法としては、薬物と高分子を有機溶媒等へ溶解後蒸発乾固させる「溶媒法」と、薬物 - 高分子混合物を高温で熔融させる「熔融法」が主に用いられている⁴⁴⁻⁵⁰。とりわけ、熔融法では有機溶媒を使用しないことが製造コスト面、環境面において優れている。代表的な熔融法として、混練押出機を用いて加温 - 加圧混合 - 熔融混合物の押し出しを連続的に行う Hot Melt Extrusion (HME)法が広く用いられている。しかし、HME 法では小型機器を用いた研究においても、g 単位の化合物が必要であると報告されている⁵¹⁻⁵²。

そこで、mg スケールの熱熔融法として超音波打錠法に着目した。Figure 16 に、超音波打錠法に用いる装置について示す。通常の打錠機と同様に臼、上杵、下杵から構成されるが、上杵内に超音波発生装置を内包している点が特徴である。超音波打錠では、粉体試料に対して下杵による圧縮を行い、続いて上杵から任意のエネルギーで超音波照射を行う。この時粉体が激しく振動し、摩擦熱に伴う急激な温度上昇が熱熔融を引き起こす⁵³。本工程は、簡便かつ短時間で目的とする化合物を熔融させることが利点として挙げられる。超音波打錠法の医薬品分野への応用例として、薬物と基剤の混合物を超音波打錠処理することで固体分散体や徐放性製剤が得られることが報告されている⁵⁴⁻⁵⁷。

製剤機器の使用においては、工程パラメータの変動をモニタリングすることで、試料の状態を把握し、適切な条件を設定することが重要となる⁵⁸。しかしながら、超音波打錠法においては、これまで工程モニタリングは行われておらず、試験毎に任意の調製条件が設定されてきた。本章では、固体分散体基剤として用いられる高分子ならびに IMC - 高分子の混合物を用い、これまで明らかとなっていなかった超音波打錠工程中の状態変化について工程モニタリング評価を行った。

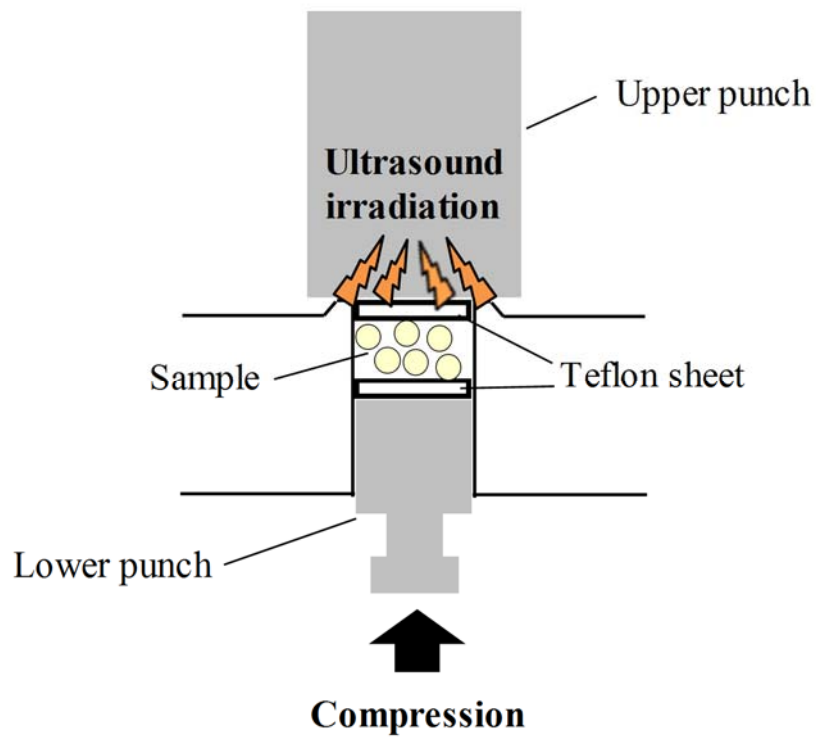


Figure 16. Ultrasound compaction apparatus (ultrasound is irradiated following compression by lower punch).

2-2. 試料ならびに実験方法

2-2-1. 試料

Poly(vinylpyrrolidone) (Kollidon[®] 90F : PVP90、Kollidon[®] 30 : PVP30)、Poly(vinylpyrrolidone-co-vinylacetate) (Kollidon[®] VA64 : PVPVA)、Poly(ethyleneglycol-g-vinylalcohol) (Kollicoat[®] IR)、Matrix of 80% poly(vinylacetate)-19% poly(vinylpyrrolidone) (Kollidon[®] SR)、Poly(vinylcaprolactam-vinylacetate-ethylenglycol) (Soluplus[®])について BASF ジャパン株式会社から入手した。Indomethacin (IMC)は金剛化学株式会社より購入した。全ての高分子試料について、金網篩過を行い 106~180 μm 分画の粒子を得た。

2-2-2. Indomethacin - PVP90 物理混合物の調製

乳棒、乳鉢を用いて IMC と PVP90 を 1 : 3 の重量比で物理混合し、得られた混合物を試験に用いた。

2-2-3. 超音波打錠プロセスならびに工程モニタリング

超音波打錠機として IMA S.P.A.社の USTM-L20[®]を用いた。本装置は上杵内に超音波発生装置を内包しており、打錠工程において下杵による圧縮に引き続き試料へ超音波照射を行う。本研究における超音波打錠条件は以下の通りである。
①試料 500 mg を臼内 (径 25 mm) へ入れ、杵への熔融物の固着を防ぐために、試料の上下にテフロンシートを設置した。
②圧縮条件を 6 bar に設定し下杵で試料を圧縮した。
③任意の超音波エネルギーを設定し、20 kHz で超音波照射を行った。設定したエネルギーに到達後、超音波照射は止まり昇温している試料は、室温条件下で急激に冷却された。本工程において、供給されたエネルギー (J)、上杵と下杵の距離 (mm)、下杵にかかる圧力 (kg) に関して、IMA S.P.A.社のモニタリングソフト Sonica Lab[®]で観察した。

2-2-4. 熱分析

試料のガラス転移点について、TA インストルメンツジャパン株式会社製 DSC 装置 Q1000 を用いて評価を行った。インジウムならびにサファイアを用いて温度とエンタルピーの校正を行った。窒素ガスをパージガスとして用いた。3~6 mg の試料をアルミニウムパンに秤量し試験に用いた。試料のガラス転移点は 10°C/分の昇温速度で 175°Cまで昇温することで評価した。高分子に含まれる水がガラス転移点の降下を引き起こすことは広く知られている^{40, 59}。したがって、高分子試料の固有のガラス転移点を評価するため、初回測定において 175°Cまで昇温することで除湿した試料を 50°C/分で 0°Cまで冷却し、再び 175°Cまで昇温することで固有のガラス転移点を測定した。本章においては、DSC 曲線中に現

れるガラス転移点プロファイルの内、オンセット値をガラス転移点として採用した。測定データは Universal analysis 2000 ver. 4.7A で解析した。

試料の熱分解について評価するために、日立ハイテクサイエンス社製熱重量測定 - 示差熱分析 (Thermogravimetric-Differential Thermal Analysis : TG-DTA) TG/DTA6300 を用いて評価を行った。1～3 mg の試料をアルミニウムパンに量り、10℃/分で 300℃まで昇温することで温度依存的な重量変化を記録した。測定データは Muse standard analysis ver. 7.1 で解析した。

2-2-5. PVP90 の水分量の調整ならびに超音波打錠工程への影響評価

PVP90 を 60℃減圧環境下で一晩乾燥し、ガラス瓶に 100 mg ずつ量った。各試料は、25℃環境下で以下の相対湿度 (Relative Humidity : RH) 条件のデシケータにそれぞれ 3 日間保存し、水分量を調整した。①Silica gel (7% RH)、②塩化リチウム飽和水溶液 (11% RH)、③塩化マグネシウム飽和水溶液 (33% RH)、④臭化ナトリウム飽和水溶液 (57% RH)、⑤塩化ナトリウム飽和水溶液 (75% RH)、⑥硝酸カリウム飽和水溶液 (93% RH)。吸湿水分量については保存後の重量増加から算出した。調湿した PVP90 は超音波打錠実験ならびに DSC 評価に用いた。

2-3. 結果・考察

2-3-1. 高分子試料の超音波打錠プロセスモニタリング

PVPVA の超音波打錠を行い、モニタリングプロファイルを得た。Figure 17 に、PVPVA を 1200 J で超音波打錠した時の、時間依存的な照射エネルギーの変化について示す。超音波打錠工程が開始してから約 0.3 秒後に、超音波照射が開始され、設定した 1200 J のエネルギーに達するまでの時間は 3 秒未満であった。したがって、圧縮から超音波照射までを含む工程が極めて短時間で完了することが分かった。

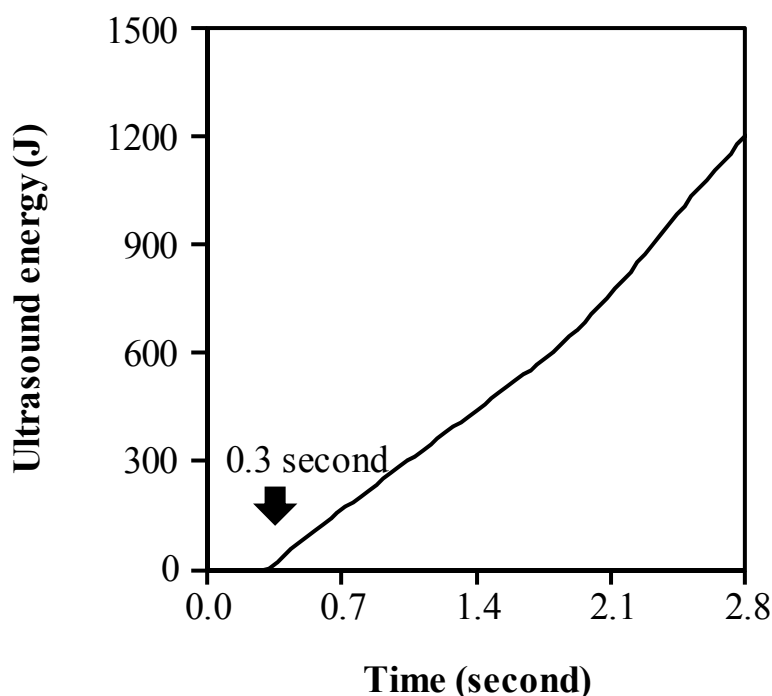


Figure 17. Ultrasound energy profile of PVPVA ultrasound compacted by 1200 J as a function of irradiation time.

次に、超音波打錠工程における照射エネルギー依存的な試料の状態変化について評価した。Figure 18 に、PVPVA を 1200 J で超音波打錠した時の、上杵と下杵の距離ならびに下杵にかかる圧力について時間依存的な変化を示す。上杵と下杵の距離の変化は下杵の移動距離を、下杵にかかる圧力については臼内圧をそれぞれ反映している。超音波打錠開始後、上杵と下杵の距離は約 0.3 秒までの間に、急激に減少し続けており、その後変化は小さくなった。この変化は、下

杵による圧縮により試料の密度が上昇したことを反映していると考えた。下杵にかかる圧力についても、約 0.3 秒時点で約 168 kg に達し、その後の変化は小さかった。Figure 17 と 18 のプロファイルから得られた知見から、超音波打錠工程において、打錠開始から約 0.3 秒間の間に下杵による圧縮が完了し、その後超音波照射が開始されることが明らかとなった。

超音波打錠開始後、約 0.3 秒から約 1.1 秒までの間は上杵と下杵の距離ならびに下杵にかかる圧力共に緩やかな変化を示していたが、1.1 秒以降は両プロファイルに急激な変化が観察された。上杵と下杵の距離は約 1.1 秒から 1.5 秒にかけて急激な低下を引き起こし、その後ほぼ一定の値を示した。本結果から、超音波打錠開始後、約 1.1 秒後から試料の体積が大幅に減少しはじめることが明らかとなった。また、約 1.5 秒から 2.4 秒にかけて下杵にかかる圧力が急激に上昇した。約 2.4 秒以降、この圧力は急激に低下し、臼内から熔融状態の試料が溢れ出てくる様子が観察された。Figure 17 のプロファイルから、2.4 秒時点における照射エネルギーは約 1000 J であることが分かった。試験後の試料は黒く変色しており、1000 J 以上の超音波エネルギーを照射することで PVPVA が熱分解したことが示唆された。TG-DTA 分析において、PVPVA は 250°C 以上の高温下で熱分解に伴う大幅な重量減少を示したことから、照射エネルギーが 1000 J を超えた時に試料は 250°C 以上に達していることが推察された。同様に、過剰な超音波の照射により試料の熱分解ならびに臼からの漏出を引き起こすことが報告されている⁶⁰。

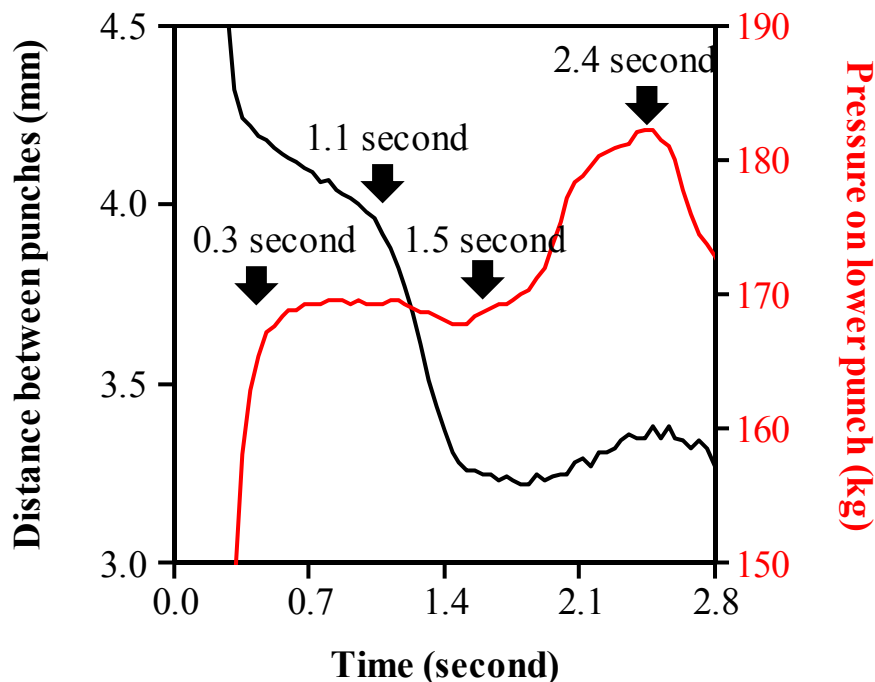


Figure 18. Monitoring profiles of PVPVA ultrasound compacted by 1200 J: (black) distance between punches and (red) pressure on lower punch as a function of irradiation time.

超音波エネルギーの照射量と試料の状態変化について詳細に考察するため、PVPVA を 750 J で超音波打錠した。Figure 19 に、上杵と下杵の距離ならびに下杵への圧力の変化について、照射エネルギーに対してプロットした図を示す。6 回の実験において、照射エネルギーに依存した上杵と下杵の距離の変化ならびに下杵へかかる圧力の変化が、再現良く観察された。Figure 19 のプロファイルにおいて、300 ならびに 600 J 照射時に上杵と下杵の距離ならびに下杵へかかる圧力に、それぞれ急激な変化が生じていた。300 J 以上のエネルギーを照射後、急激に試料の体積が減少し、それに伴い上杵と下杵の距離が小さくなったと考えられた。また、600 J 以上においては、試料の体積増大に伴う臼内圧の上昇が起こったことが推察された。

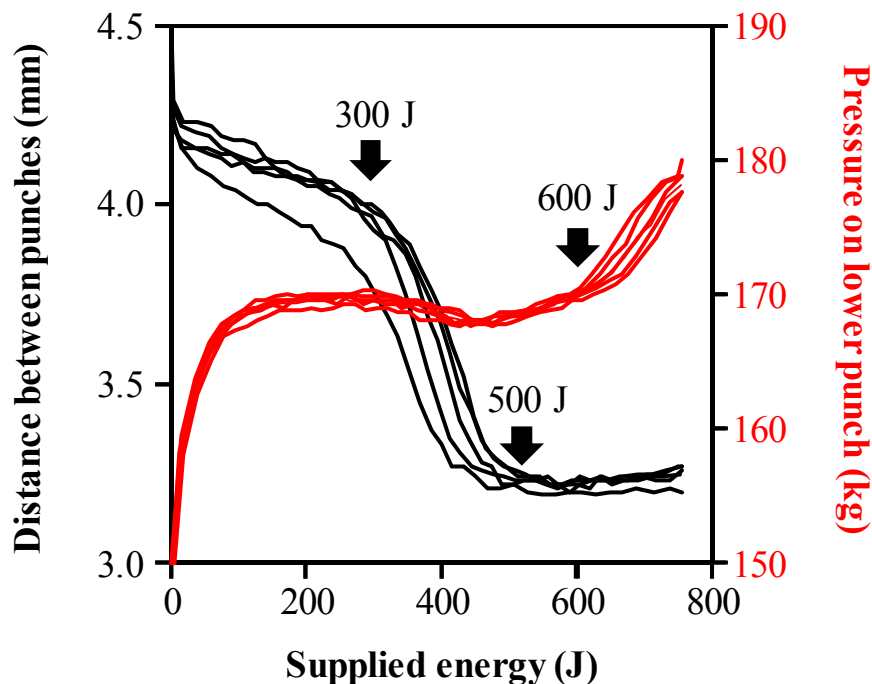


Figure 19. Monitoring profiles of PVPVA ultrasound compacted by 750 J (n = 6): (black) distance between punches and (red) pressure on lower punch as a function of supplied energy.

この仮説を検証するために、異なる照射エネルギーでそれぞれ PVPVA の超音波打錠を行い、観察された外観の変化について Figure 19 のモニタリングプロファイルと比較した。Figure 20 に、280、400、550、650 J で超音波打錠した PVPVA の外観を示す。PVPVA は、明らかに照射エネルギーに依存して状態が変化していた。280 J 照射時には状態変化は起こっておらず、粉体が圧縮されているだけであった。一方で、400 J 照射後に得られた試料はガラス状であり、超音波打錠工程においてガラス転移が起こり一度液状へ転移した後に、冷却工程においてガラス状態へ再転移したことが示唆された。400 J 照射品においては、試料の一部にガラス転移が起こっていない様子が観察されたが、照射エネルギーの増大に伴ってガラス状態への転移が進行し、650 J 照射品では完全なガラス試料が得られた。Figure 19 のモニタリングプロファイルならびに Figure 20 の外観変化から、照射エネルギーが 300 J 未満の時は圧縮による密度変化が起こり、300 J 以降に試料のガラス転移が開始したことが分かった。また、500 J 以降は、試料のガラス転移が進行しており、臼内圧の急激な上昇が始まる 600 J に達した時に完

全にガラス転移が完了したことが示唆された。ガラス転移が完全に進行した液状の試料は、テフロンシートや臼の隙間を埋めることで臼内を密閉状態にし、昇温に伴う気体の膨張が臼内圧を高めたと考えた。この考察は、650 Jで超音波打錠したガラス状試料がテフロンシートの隙間を埋めていたという観察結果と一致した。

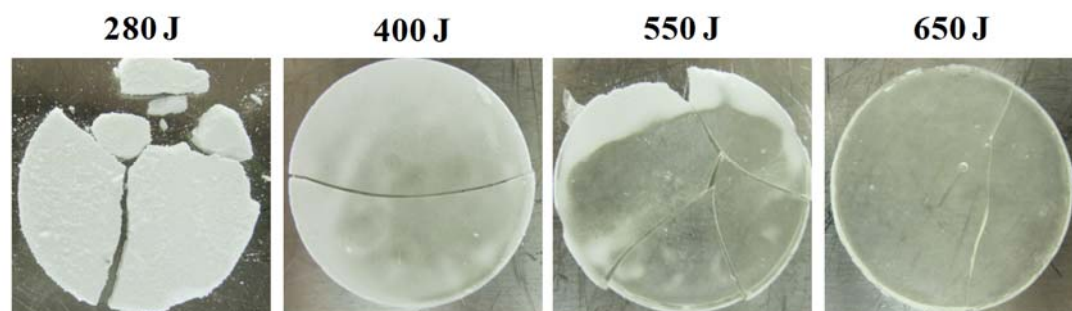


Figure 20. Appearances of PVPVA ultrasound compacted by 280, 400, 550 and 650 J, respectively.

以上の検討結果から、高分子試料の超音波打錠時において、臼内圧が急上昇する時点での照射エネルギーが試料の完全な状態変化に必要なエネルギーであることが判明した。超音波打錠工程において、臼内圧が急上昇する時点の照射エネルギーを ERIP (Energy at Rapidly Increased Point : ERIP) と定義した。従来の超音波打錠工程においては、任意の照射エネルギー値を設定し、外観変化から条件を最適化していく必要があったが、今後は、本知見により見出された ERIP 値を指標とすることで、高分子を状態変化させるエネルギー値を適切に設定することが可能となった。

2-3-2. 超音波打錠工程における試料のガラス転移点の関与

各高分子試料について、完全にガラス転移が完了する時の照射エネルギーについて調べた。PVPVA と同様に、各試料の超音波打錠を行い、臼内圧が急上昇した時点での照射エネルギーを ERIP として求めた。Table 3 に、本実験に用いた高分子試料の ERIP 値を示した。試料の粒子径が、打錠工程中において圧縮力の伝導に及ぼす影響について報告されているため⁶¹、全ての高分子試料を 106~180 μm に分画して粒子径を揃えた。超音波打錠工程モニタリングの結果、全ての試料において圧縮後ガラス転移が起こるまでの圧力は約 170 kg とほぼ同一であり、試料間で打錠工程による影響の差は小さいと考えられた。しかしながら、各試料の ERIP 値はそれぞれ異なる値を示しており、打錠工程以外の要因が関係していると考えられた。

Table 3. ERIP values (J) of polymer samples. The error bars represent standard deviation of n = 6.

PVP90	PVP30	PVPVA	Kollicoat [®] IR	Kollidon [®] SR	Soluplus [®]
1012 \pm 20	882 \pm 24	587 \pm 20	604 \pm 20	397 \pm 39	510 \pm 35

一般的に高分子試料は、昇温過程においてガラス状態から液状態へと転移が起こるガラス転移点を持ち、ガラス転移前後で試料の形状や流動性が大きく変化する。ERIP 値とは試料のガラス転移を完了させるために必要な照射エネルギーであるため、各試料のガラス転移点を評価する必要があると考えた。超音波打錠工程におけるガラス転移点の関与を調べるため、各試料のガラス転移点を DSC で評価した。高分子に含まれる水が可塑剤として働き、ガラス転移点を下げるとは広く知られているため⁶²⁻⁶⁴、各試料について DSC で昇温測定後、直ちに冷却し引き続き再測定を行った。Table 4 に、DSC の初回測定と再測定で得られた各試料のガラス転移点を示す。初回測定時と再測定時では、全ての試料においてガラス転移点に変化していた。初回測定で得られた値は、ガラス瓶密栓、室温環境下で保存していた高分子が示したガラス転移点であり、吸湿した水の影響を受けていると考えられる。一方、再測定時に観察されたガラス転移点は、初回測定で 175°C まで加温・除湿後に測定した値であることから、吸湿水に影響されない高分子試料固有の値である。Table 4 に示す通り、全ての試料において再測定時にガラス転移点が上昇していることから、初回測定時には吸湿水が可塑剤として作用し、ガラス転移点を低下させていたことが確認された。今回、測定した高分子の中では、Kollidon[®] SR と Soluplus[®] が初回測定時と再測

定時のガラス転移点の差が小さかった。これらの試料については、親水性高分子の中では比較的吸湿性が低いことが報告されており⁶⁵⁻⁶⁹、初回測定時と再測定時のガラス転移点の差が小さいことは低吸湿性に起因していると考えられた。また、Kollidon[®] SR と Soluplus[®]は再測定時に比較的低いガラス転移点を示したことから、熱熔融法で固体分散体を調製する際に低温処理での調製が可能であると考えられた。

Table 4. Glass transition temperatures (°C) on first and second scans. The error bars represent standard deviation of n = 3.

	First scan	Second scan
PVP90	104.9 ± 3.3	173.0 ± 0.4
PVP30	107.3 ± 0.9	155.8 ± 0.4
PVPVA	47.1 ± 0.5	112.1 ± 15.8
Kollicoat [®] IR	45.4 ± 0.3	152.1 ± 0.2
Kollidon [®] SR	31.7 ± 0.9	39.3 ± 1.2
Soluplus [®]	49.8 ± 0.7	64.3 ± 4.1

熱分析によって求めた試料のガラス転移点と超音波打錠モニタリングで観察された ERIP 値との関係について評価した。Figure 21 に、試料の ERIP 値を初回測定時のガラス転移点に対しプロットした結果を示す。本実験に用いた高分子試料の ERIP 値は初回測定時のガラス転移点と良好な相関を示した($R^2=0.9192$)。

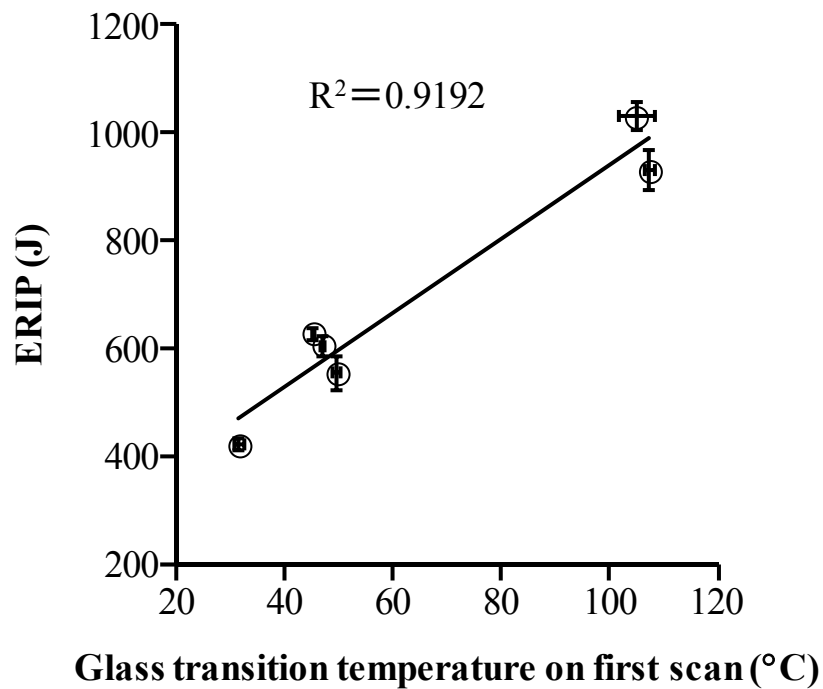


Figure 21. Correlation between ERIP value (n = 6) and glass transition temperature (n = 3) on first scan. The error bars represent standard deviation.

Figure 22 では、再測定時に得られた試料固有のガラス転移点と ERIP 値とを比較したが、相関性は良好でなかった ($R^2=0.7555$)。以上の結果から、DSC 測定と同様に超音波打錠工程中においても、試料に含まれる水はガラス転移点に影響しており、水を可塑剤として用いることで高分子試料のガラス転移を制御できることが示された。

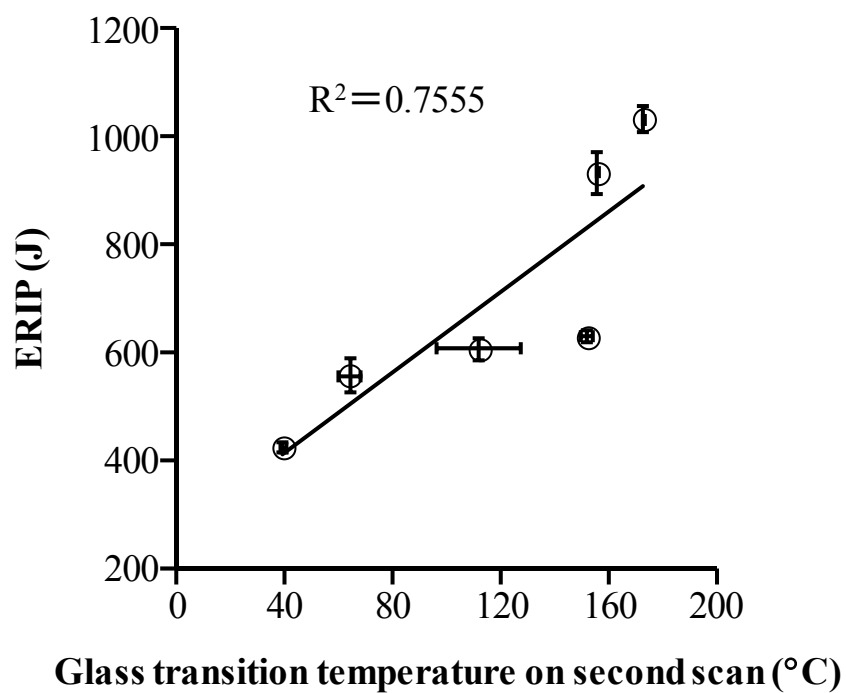


Figure 22. Correlation between ERIP value (n = 6) and glass transition temperature (n = 3) on second scan. The error bars represent standard deviation.

2-3-3. 試料の吸湿性が超音波打錠工程に及ぼす影響

試料に含まれる水分が超音波打錠工程に及ぼす影響を詳細に評価するため、高吸湿性の高分子である PVP90 を 25℃、異なる湿度条件下で 3 日間調湿した。調湿後の PVP90 に含まれる水分比率については初期からの重量変化より算出した。Figure 23 に、調湿後の PVP90 のガラス転移点を DSC 測定から求め、水分比率の増加に対してプロットした結果を示す。PVP90 は、水分量の増加に依存したガラス転移点の減少曲線を示し、報告されているプロファイル⁵⁹とほぼ一致した。

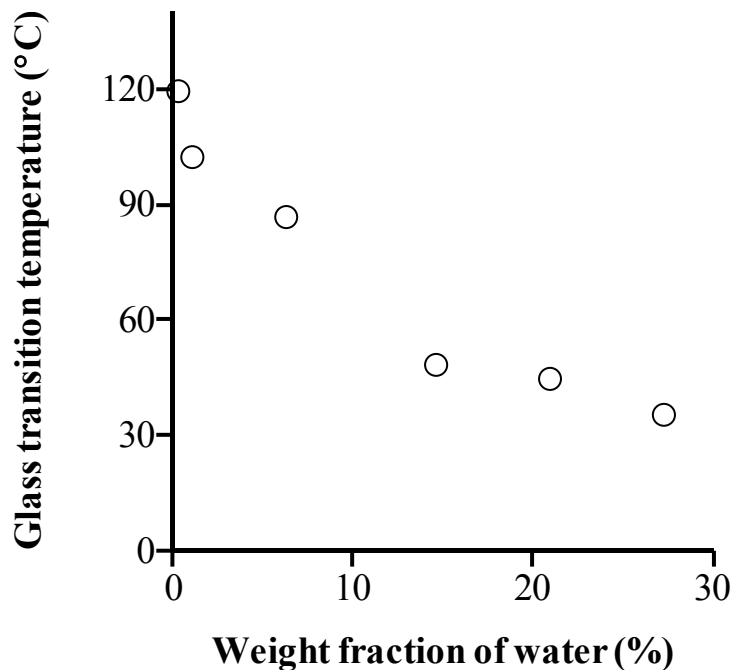


Figure 23. Correlation between glass transition temperature and weight fraction of water of PVP90 stored under various controlled RHs at 25℃ for 3 days.

続いて、調湿後の PVP90 を超音波打錠した時のモニタリングプロファイルについて評価した。Figure 24 に、調湿した PVP90 を超音波打錠した際の、下杵への圧力変化について照射エネルギーに対してプロットした結果を示す。試料の圧縮に伴う下杵への圧力については全ての試料で約 170 kg と一定であり、含有水分の影響を受けなかった。しかしながら、ERIP 値は明らかに高調湿条件で保存した試料ほど低下する傾向を示した。本結果は、Figure 21 ならびに 22 で考察した知見と一致した。

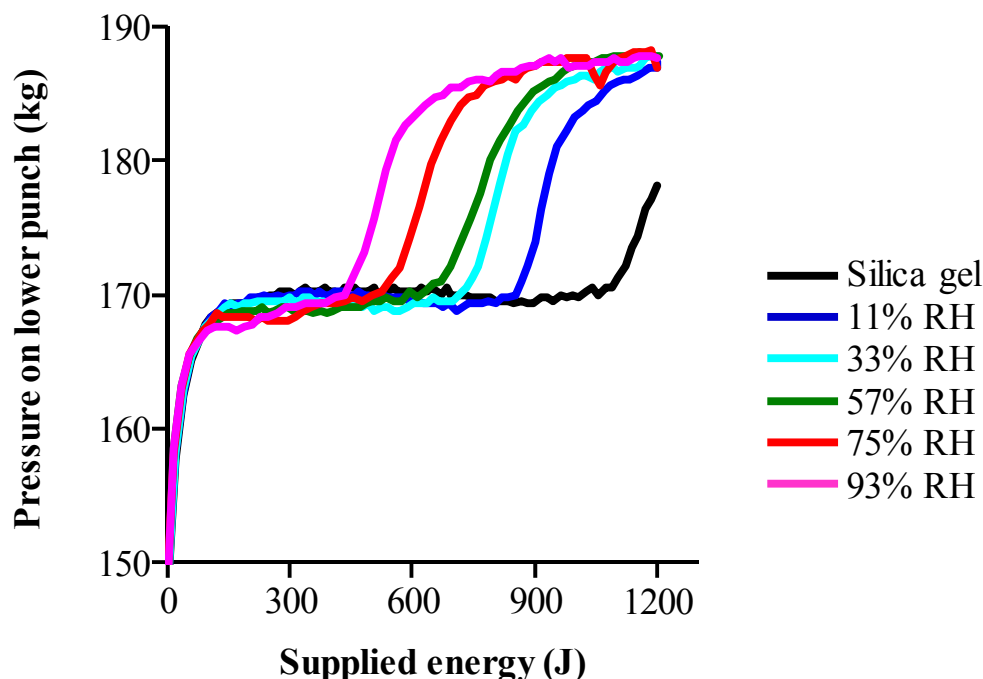


Figure 24. Monitoring profiles of PVP90 stored under various controlled RHs at 25°C for 3 days.

Figure 25 に、各調湿条件で保存後の PVP90 の ERIP 値をそれぞれのガラス転移点に対してプロットした結果を示す。調湿後の PVP90 の ERIP 値の変化は、ガラス転移点の変化に対して良好な相関性を示した ($R^2=0.9731$)。水は試料のガラス転移点を制御する際に、安全かつ乾燥除去が可能な可塑剤であり、超音波打錠における有用性が明らかになったことは意義深い^{38, 70}。水以外の可塑剤についても、超音波打錠において有用である可能性が考えられるため今後検証する価値は高いと考える。本研究で行った一連の超音波打錠モニタリング結果から、ERIP 値を指標とすることで高分子試料のガラス転移に必要なエネルギーを設定することが可能であること、また水の可塑効果により ERIP 値を任意に制御できることが明らかとなった。

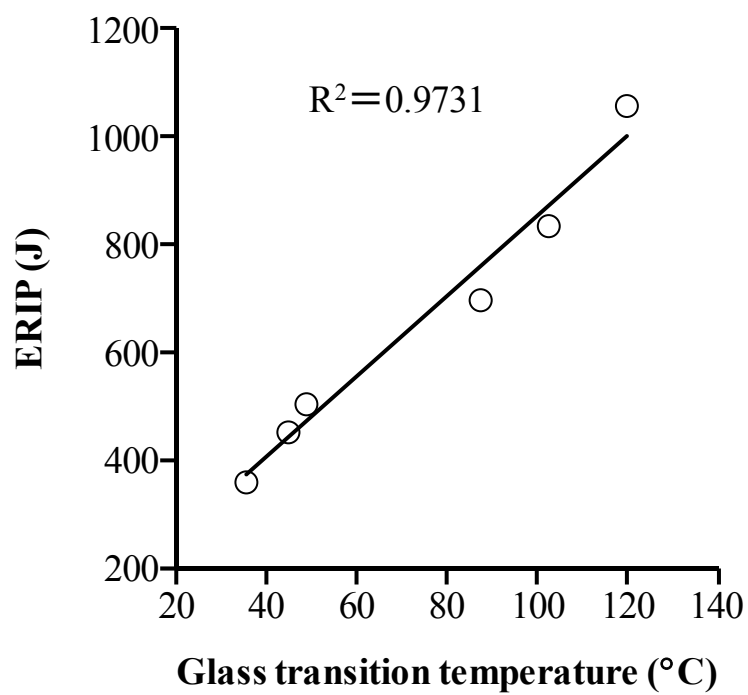


Figure 25. Correlation between ERIP value and glass transition temperature of PVP90 stored under various controlled RHs at 25°C for 3 days.

2-3-4. Indomethacin-PVP90 混合物の超音波打錠ならびにプロセスモニタリング

Fini らは、IMC と PVP の混合物を超音波打錠することで、固体分散体を調製し薬物の溶出性が大幅に向上したことを報告している⁵⁷。そこで、IMC と PVP90 を 1 : 3 で物理混合し、超音波打錠した際のモニタリングプロファイルを評価した。PVP90 の ERIP 値は Table 3 に示した通り、1012 J であった。また、1200 J 以内の照射エネルギーにおいて、試料の変色を伴う熱分解が起こらないことを確認し、超音波打錠の照射エネルギーは 1100 J に設定した。Figure 26 に、IMC-PVP90 混合物の超音波打錠プロファイルを示す。高分子試料単独で超音波打錠した時と同様に、超音波打錠開始後、直ちに下杵への圧力は約 170 kg で一定となり、照射エネルギーが一定値を超えると圧が急上昇した。また、上杵と下杵の距離についても、高分子単独で検討した時と類似のプロファイルが得られたが、状態変化に伴う上杵と下杵の距離の変化は比較的緩やかであった。この結果は、高分子の転移が完了後も薬物の熔融が完全に終了していないことを反映していると考えた。

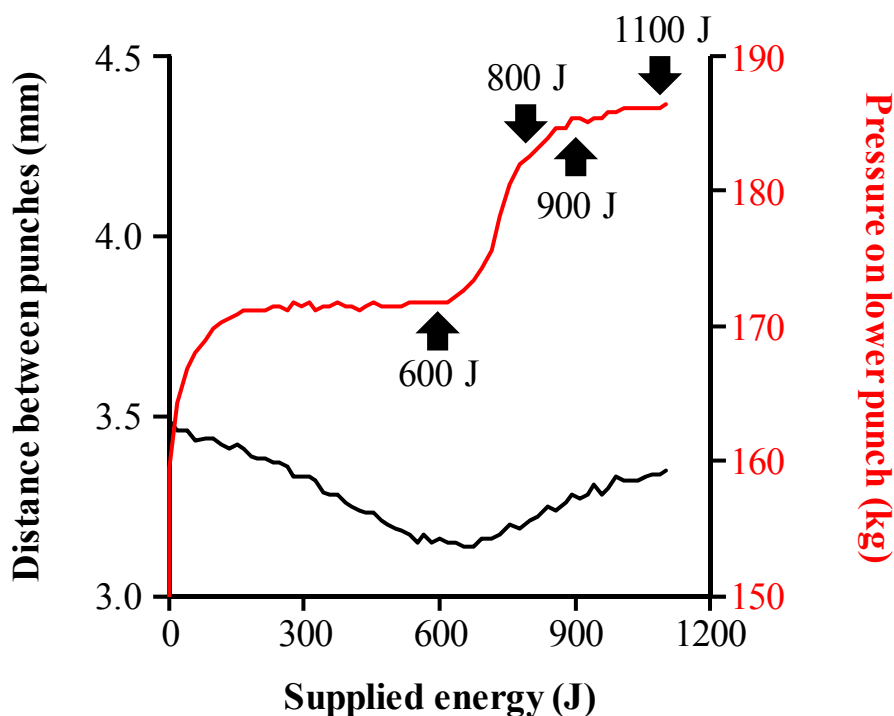


Figure 26. Monitoring profiles of IMC-PVP (1:3) mixture ultrasound compacted by 1100 J.

Figure 26 の超音波打錠プロファイルに基づいて、600、800、900、1100 J の照射エネルギーで IMC-PVP90 混合物を超音波打錠した。Figure 27 に、超音波打錠後の試料の外観変化について示す。ERIP 値である 600 J で処理した試料は、高分子単独時とは異なり状態変化が十分に進行しておらず、高分子のガラス転移後も IMC の熔融が完了していないことが示された。800、900 J と照射エネルギーが上昇するにつれ IMC の熔融は進行しており、下杵への圧がほぼ一定となる 1100 J に達した時に完全な状態変化が認められた。以上の知見から、結晶薬物と高分子の混合試料においては高分子のガラス転移だけでなく、薬物の熔融ならびにガラス転移した高分子への溶解過程を考慮し、ERIP 値以上のエネルギー照射が必要であることが分かった。また、モニタリングプロファイルにおいて、圧が急上昇後一定値に達した時の照射エネルギーを設定することで、適切な固体分散体を調製できることが新たに分かった。

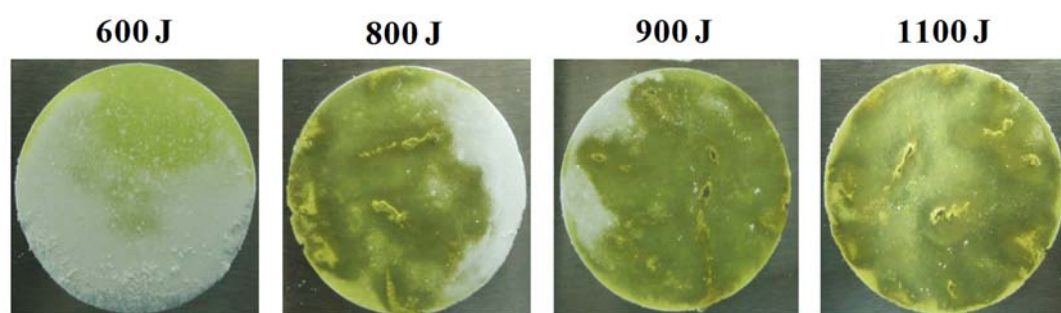


Figure 27. Appearances of IMC-PVP (1:3) mixtures ultrasound compacted by 600, 800, 900 and 1100 J.

2-4. 結論

本章では、超音波打錠工程におけるプロセスモニタリングの有用性について、まず 6 つの高分子試料を用いて検証を行った。PVPVA を用いて検討を行った結果、超音波打錠工程は数秒以内に完了する短時間の工程であること、モニタリングプロファイルにおいて上杵と下杵の距離ならびに下杵への圧力が照射エネルギーに依存して大きく変動することが明らかとなった。PVPVA は照射エネルギー依存的に粉末状から液状へガラス転移が進行しており、照射エネルギー依存的にもたらされる昇温が、試料のガラス転移を引き起こしていたことが分かった。この状態変化は試料の体積を変化させ、結果として上杵と下杵の距離が減少する事、さらに完全なガラス転移は急激な圧上昇によって表されることがモニタリングプロファイルから明らかとなった。モニタリングプロファイルにおいて圧が急上昇する時の照射エネルギーを ERIP として設定することで、高分子試料の完全なガラス転移と熱分解の回避の両立を図ることが可能となった。

各試料の ERIP 値と試料のガラス転移点は良好な相関性を示した。さらに、PVP90 を調湿後に超音波打錠した結果、含有水分量の増加に依存して ERIP 値は減少し、水は超音波打錠工程において可塑剤として働くことが明らかとなった。IMC-PVP90 混合物を超音波打錠したところ、高分子試料単独時とは異なり、ERIP 値に相当するエネルギー照射では完全な状態変化は見られなかったが、圧力が急上昇後一定値に達した時に熔融が完了することが新たに見出された。

以上、本研究によって得られた結果から、超音波打錠工程のモニタリングプロファイルは試料の状態変化を反映しており、適切な超音波打錠条件を設定する際に重要な根拠となることが結論付けられた。本成果は小スケールの熱熔融法として、超音波打錠法を創薬初期や非臨床試験段階で活用していく上で重要な知見となり、今後の創薬研究へ大きく貢献するものである。

第 3 章

PVA copolymer を用いて調製した固体分散体の

物理化学的特性ならびに結晶化傾向の評価

3-1. 序論

固体分散体設計では、目的の薬物に適した高分子を選択し、有効な配合量ならびに適切な調製法で処理することが重要である⁴⁴⁻⁵⁰。固体分散体において非晶質薬物の結晶化が抑制される理由として、配合した高分子基剤の物性に依存した試料のガラス転移点の上昇や薬物 - 高分子相互作用形成による非晶質薬物の運動性低下が挙げられる⁷¹⁻⁷²。また、非晶質薬物の結晶化傾向には温度や水分が大きく影響することが知られており⁷⁰、配合する高分子の吸湿性に配慮することも重要である。代表的な高分子基剤として、第 2 章の超音波打錠工程モニタリングにも用いた PVP や PVPVA 等が挙げられるが、その結晶化抑制効果は配合する薬物に応じて変化することが知られている^{22-27, 44-53}。したがって、目的とする薬物に対して高い結晶化抑制効果を示す固体分散体を設計し、長期間非晶質状態を維持させるためには、固体分散体基剤としての高分子の選択性を広げておくことが重要となる。

そこで、Poly(vinyl alcohol-co-acrylic acid-co-methyl methacrylate) (PVA copolymer) に着目した。PVA copolymer はフィルムコーティング基剤、硬カプセル基剤ならびに結合剤として製剤化研究へ応用され⁷³⁻⁷⁶、近年では、PVA copolymer を配合した固体分散体が、目的とする薬物の大幅な溶出性向上ならびに高い非晶質安定性をもたらすことも報告されている⁷⁷⁻⁷⁸。しかしながら、PVA copolymer による非晶質薬物の結晶化抑制メカニズムについては十分に明らかにされておらず、解明が望まれている。本章では、PVA copolymer の物理化学特性の把握を通じて、IMC-PVA copolymer 固体分散体における非晶質 IMC の結晶化抑制効果についてメカニズム解明を行った。

3-2. 試料ならびに実験方法

3-2-1. 試料

IMC、PVP30 ならびに PVPVA は、「第 2 章 2-2-1. 試料」で用いたものを使用した。PVA copolymer (POVACOAT[®] type F) は日新化成株式会社より供された試料を用いた。試料を溶解させるための媒体としてエタノールを関東化学株式会社より購入した。全ての高分子試料は含有する水を除去するため試験前日に 60℃で一晩真空乾燥処理した。

3-2-2. 非晶質 Indomethacin の調製

非晶質 IMC は「第 1 章 1-2-2. 非晶質 Indomethacin ならびに 5% PVP 固体分散体の調製」と同じ方法で調製した。

3-2-3. 固体分散体の調製

均一な薬物と高分子の混合物を噴霧乾燥法で調製した。総量 2 g の IMC と高分子を異なる比率で混合し、1 L の水 - エタノール (1 : 1 体積比) 混合溶液に 50℃で溶解させた。各試料溶液について日本ビュッヒ株式会社製スプレードライヤーB-290 を用いて噴霧乾燥した (inlet 温度 80℃、outlet 温度 40℃、airflow 473 L/時間、aspirator 100%、feed rate 10%)。噴霧乾燥後の試料については室温で一晩減圧乾燥して残留溶媒を除去した。調製した噴霧乾燥品を融解 - 急冷法で処理することで熱履歴を消去した。

3-2-4. X 線粉末回折 (X-Ray Powder Diffraction : XRPD)

試料の結晶性は、「第 1 章 1-2-3. X 線粉末回折測定 (XRPD 測定)」と同じ方法で評価した。

3-2-5. 熱分析

試料のガラス転移点について DSC で評価した。DSC 測定条件については「第 2 章 2-2-4. 熱分析」に記した方法に準拠した。1～3 mg の試料をアルミニウムパンに秤量し、試験に用いた。試料のガラス転移点を測定する前に以下の処理で熱履歴を消去した：20℃/分で-30～220℃まで昇温し試料を融解後、50℃/分で-30℃まで急冷した。熱履歴消去後の試料について再び 20℃/分で 220℃まで昇温し、ガラス転移点を求めた。なお、本章においては DSC 曲線中に現れるガラス転移点プロファイルの内、中間値をガラス転移点とした。

得られたガラス転移点から、薬物と高分子試料の相互作用を予測するため、以下の Couchman-Karasz (CK) 式よりガラス転移点の理論値を算出した²⁵。

$$T_g = (w_1 \cdot T_{g1} + K \cdot w_2 \cdot T_{g2}) / (w_1 + K \cdot w_2) \quad (1)$$

式 (1) において w_1 、 w_2 は各成分の重量比、 T_g はガラス転移点を表している。 K については以下の式 (2) から求めた。

$$K = \Delta C_{p2} / \Delta C_{p1} \quad (2)$$

式 (2) において ΔC_{p1} ならびに ΔC_{p2} はガラス転移時の各成分の熱容量の変化を表している。

次に、非晶質 IMC ならびに高分子を 10% 含有する固体分散体試料の分子運動性を評価することを目的として、エンタルピー緩和測定を実施した。まず、ガラス転移点測定時と同様に試料の熱履歴を昇温 - 急冷処理で消去した。続いて各試料について、ガラス転移点から 16.5°C 低い温度において 1、3、5、7、10 時間、それぞれ保存することで緩和を促すアニーリング処理した。アニーリング処理後、 $50^\circ\text{C}/\text{分}$ で -30°C まで急冷し、その後 $20^\circ\text{C}/\text{分}$ で 220°C まで昇温した。この時の DSC 曲線中に現れるガラス転移プロファイルにおいて、エンタルピー緩和に相当するエンタルピー回復が吸熱ピークとして観察された。ガラス転移点において観察された熱容量の変化から以下の式 (3) により最大エンタルピー回復量を計算した。

$$\Delta H_\infty = \Delta C_p \cdot (T_g - T) \quad (3)$$

式 (3) において、 ΔH_∞ は最大エンタルピー回復量 ($\text{J/g} \cdot ^\circ\text{C}$) を、 ΔC_p はガラス転移時の熱容量の変化を、 T はアニーリング温度を表している。算出した ΔH_∞ を用いてアニーリング時間依存的な緩和の進行について式 (4) から求めた。

$$\Phi(t) = 1 - (\Delta H / \Delta H_\infty) \quad (4)$$

式 (4) において、 ΔH はアニーリング処理した試料において観察されたエンタルピー回復の吸熱ピーク面積を、 $\Phi(t)$ は試料中の緩和比率を表している。式

(4) を用いて、各試料の $\Phi(t)$ をアニーリング時間に対してプロット後、式 (5) に示す Kohlrausch-William-Watts (KWW) 式でフィッティングを行った。

$$\Phi(t) = \exp(-(t / \tau)^\beta) \quad (5)$$

式 (5) において、 t はアニーリング時間を、 τ と β はそれぞれ緩和時間ならびに緩和分布を表している。

試料の熱分解については、「第 2 章 2-2-4. 熱分析」に記した方法で、TG-DTA 測定により評価した。

3-2-6. フーリエ変換赤外分光分析 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FT-IR)

薬物と高分子試料の相互作用を評価するため、固体分散体の FT-IR 分析を行った。FT-IR スペクトルはブルカーオプティクス株式会社製 VERTEX70 を用いて全反射測定法 (Attenuated Total Reflection : ATR) で評価した。測定は、 4 cm^{-1} の分解能、32 回測定で $4000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ までの波数域を評価した。得られた結果は OPUS ver. 5.0.53. で解析した。

3-2-7. 水分吸着性評価 (Dynamic Vapor Sorption : DVS)

結晶ならびに非晶質 IMC、各高分子試料、各高分子をそれぞれ 80% 含む固体分散体について吸湿性を評価した。試験には株式会社イーストコア製水蒸気吸着測定装置 DVS advantage を用いた。5~8 mg の試料をアルミニウムパンに量り、 25°C 環境下において相対湿度 (Relative Humidity : RH) を変化させたときの重量増加を評価した。相対湿度は $0.02\%/分$ 、5% ステップで 0~90% RH まで変化させた。得られた結果は DVS advantage control software ver. 2.1.0.9. で解析した。

3-2-8. 結晶化傾向の評価

40、60、80% の PVA copolymer を含有する、各固体分散体について経時的な結晶性の変化を XRPD 法で評価した。各試料は $40^{\circ}\text{C} \cdot 75\% \text{ RH}$ (塩化ナトリウム飽和水溶液を含むデシケータ) 条件で保存し、保存前ならびに保存後 7、14、30 日に結晶性を評価した。また、各固体分散体の組成に相当する IMC と高分子の物理混合物を乳棒／乳鉢で調製し、XRPD 測定した。

3-3. 結果・考察

3-3-1. 試料の化学構造

Figure 28 に、本試験に用いた薬物ならびに高分子基剤の化学構造を示す。IMC は難溶性モデル薬物として固体分散体研究に汎用されており、構造中にカルボン酸とインドールアミドを有する。この両官能基は、 γ 型ならびに α 型の結晶構造内で水素結合に関与していることが報告されている⁷⁹⁻⁸⁰。加えて、IMC のカルボン酸は固体分散体中の高分子基剤との水素結合形成においても重要な役割を果たすことが知られている²⁵。一方、高分子基剤である PVP や PVPVA については、構造中のアミド基が IMC のカルボン酸と水素結合することで、非晶質 IMC の結晶化を抑制することが報告されている²⁵。固体分散体中における、PVA copolymer の官能基の相互作用への関与については明らかにされていない。しかしながら、PVA copolymer はその構造中に、ビニルアルコールやアクリル酸に由来する親水性領域と、酢酸ビニルエステルやメタクリル酸メチルのような疎水性領域を有しているため、固体分散体中において薬物と水素結合ならびに疎水性相互作用を形成する可能性が考えられた。

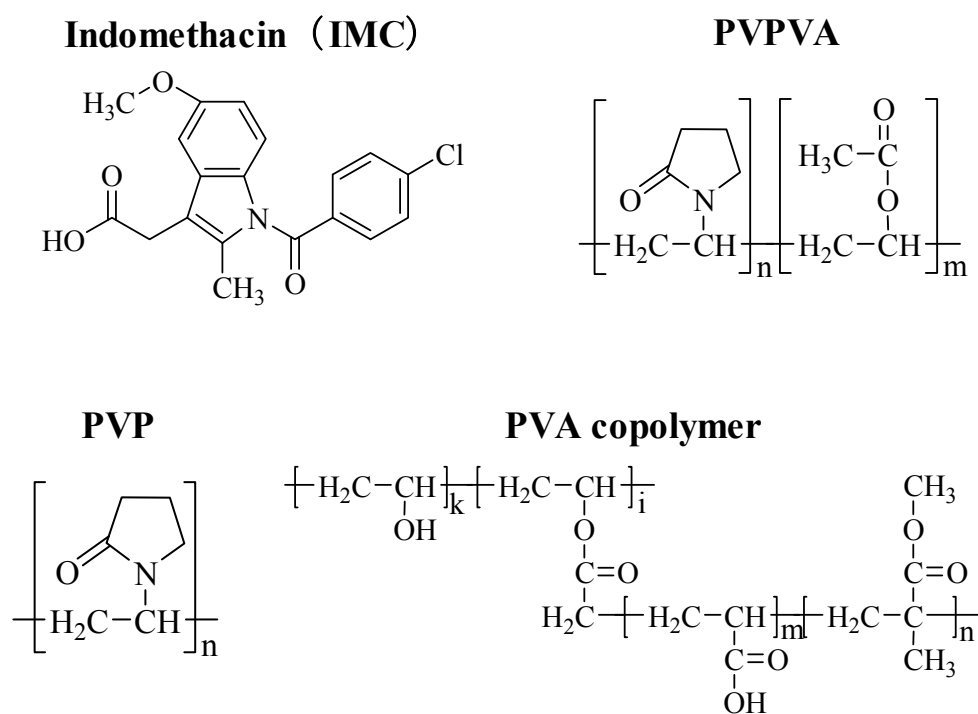


Figure 28. Chemical structures of IMC, PVP, PVPVA and PVA copolymer.

3-3-2. X 線回折パターンに基づいた試料の結晶性評価

Figure 29 に、薬物ならびに各高分子基剤の XRPD パターンを示す。IMC の γ 型結晶は 16.6° に特徴的なピークを示し、既に報告されている結果³⁷と一致した。融解 - 急冷法で調製した IMC については、XRPD のピークは確認されず非晶質化していることが確認された。PVP ならびに PVPVA において結晶性ピークは観察されず、非晶質性の高分子であることが確認された。一方、PVA copolymer は 19.2° にブロードな回折ピークを示し、規則的な周期構造を有することが示唆された。ポリエチレンテレフタレートやセルロース等も、PVA copolymer と同様に X 線回折パターンを示すことが知られている⁸¹⁻⁸⁴。また、微結晶セルロースでは、その結晶化度に依存して XRPD ピークの高さが変化することが報告されている⁸⁴。高分子構造の規則性は、製剤機能へ影響するため⁸⁵⁻⁸⁷、PVA copolymer 構造の規則性が固体分散体の物性へ影響する可能性が考えられた。

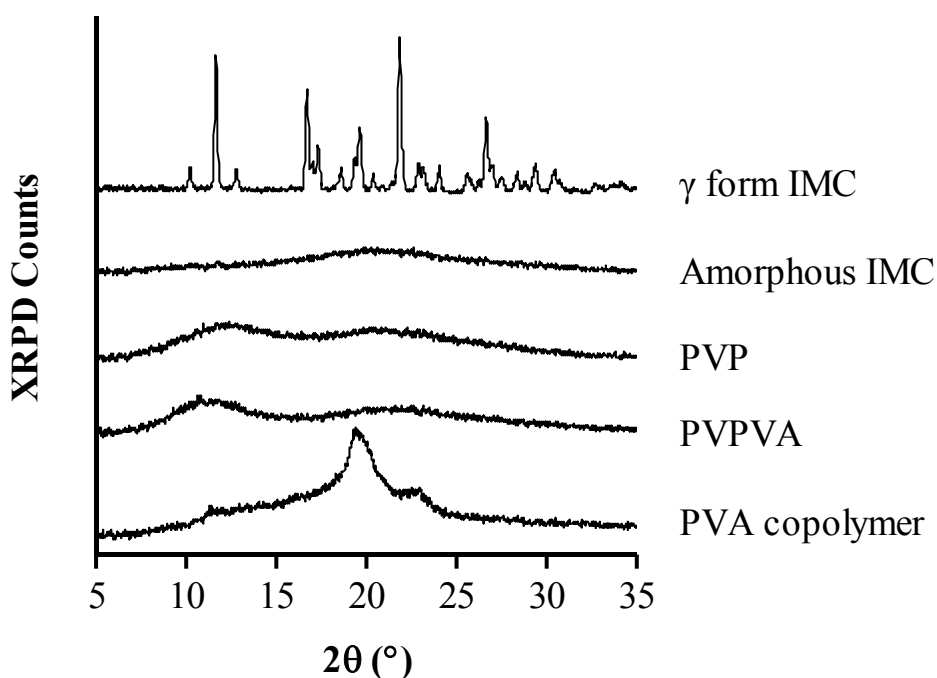


Figure 29. XRPD patterns of IMC, PVP, PVPVA and PVA copolymer.

噴霧乾燥で調製した IMC-PVP、IMC-PVPVA ならびに IMC-PVA copolymer 混合物についても結晶性の回折パターンは見られず、固体分散体中で IMC は非晶質化していることを確認した。

3-3-3. 高分子の配合が非晶質 Indomethacin のガラス転移点ならびに分子運動性に及ぼす影響

IMC、PVP、PVPVA ならびに PVA copolymer は TG/DTA 測定において、230°C までに、熱分解に伴う急激な重量減少は観察されなかった。

Figure 30 に、PVA copolymer の DSC 曲線を示す。初回の昇温 - 冷却プロファイルを鎖線 (First scan) で、冷却後の再昇温プロファイルを実線 (Second scan) で表した。初回の昇温曲線では、約 40~130°C にかけてブロードな吸熱ピークが観察された。この吸熱ピークは、試料を一度融解した後に再度測定した昇温プロファイルでは観察されなかったため、PVA copolymer に含まれる吸湿水の脱水に伴うものと考えた。初回の昇温曲線において、約 190°C にも吸熱ピークが観察された。このピークは再測定時のプロファイルにおいても確認されたため、試料の融解に伴うピークと考えた。また、冷却曲線においては、約 150°C に発熱ピークが観察され、初回の昇温において融解した試料が再配列構造を形成していたことが示唆された。再測定時の昇温曲線においては、約 76°C にガラス転移点が認められた。

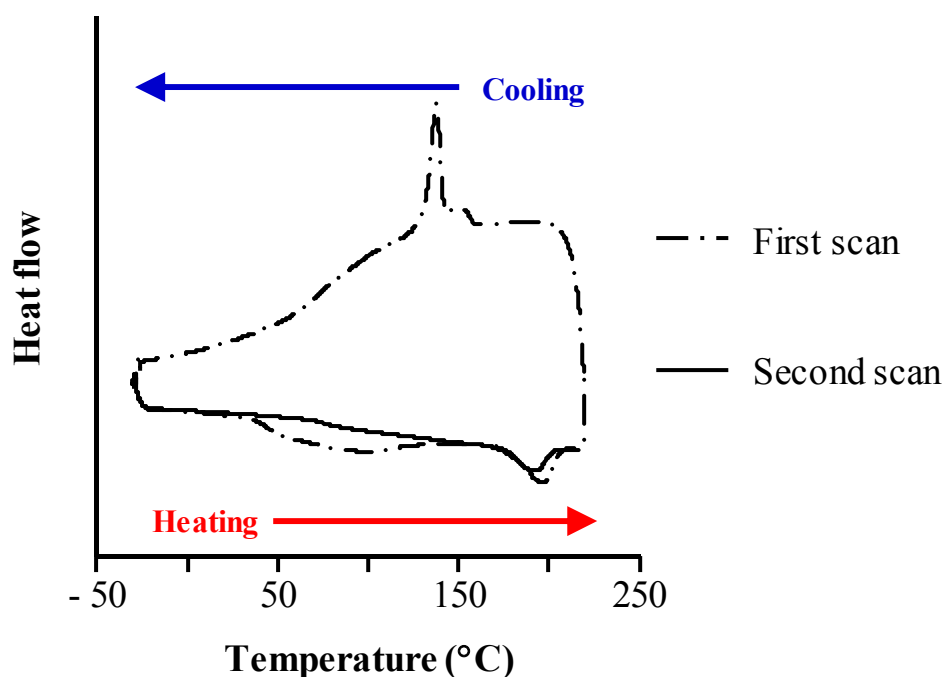


Figure 30. DSC profile of PVA copolymer on first and second scans.

Figure 31 に、IMC、PVA copolymer ならびに IMC-PVA copolymer 固体分散体の、再昇温過程における DSC プロファイルを示す。PVA copolymer で見られた約 190℃の吸熱ピークは、IMC-PVA copolymer 固体分散体の DSC プロファイル中においても確認され、固体分散体中においても PVA copolymer の配列構造が維持されていることが示唆された。約 190℃の吸熱ピーク面積は IMC が存在することで減少傾向を示しており、固体分散体中において PVA copolymer 構造の規則性は低下していることが分かった。続いて、固体分散体のガラス転移点について評価した。IMC と PVA copolymer はそれぞれ約 49℃と約 76℃に、単一のガラス転移点を示した。また、全ての固体分散体において、IMC ならびに PVA copolymer 由来のガラス転移点は観察されず、それぞれの固体分散体に固有のガラス転移点が観察された。以上の結果から、IMC と PVA copolymer は分子レベルで均一な固体分散体を形成していると考えられた。

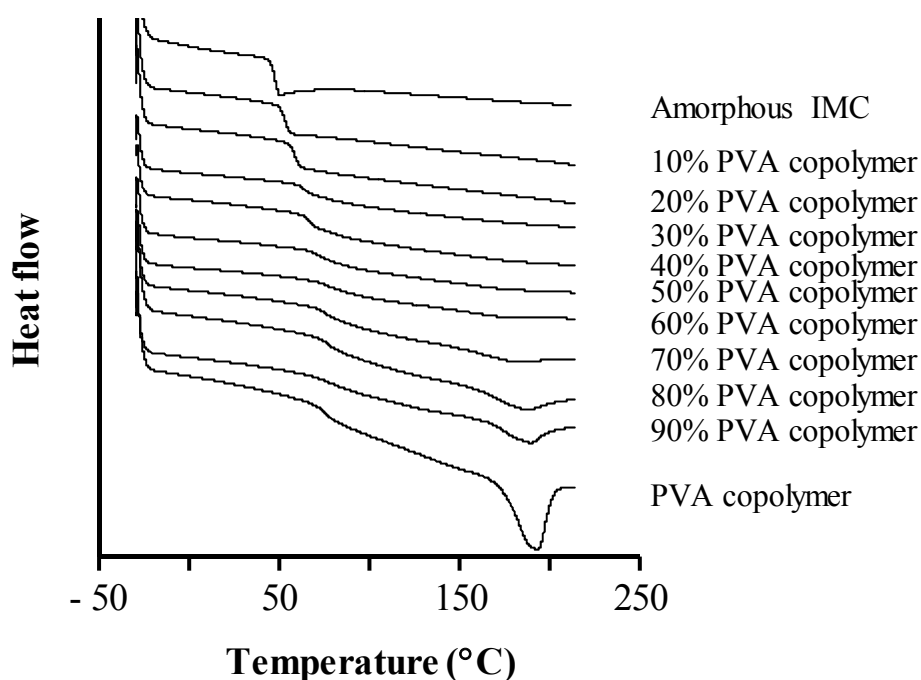


Figure 31. DSC profiles on second scan of IMC, PVA copolymer and IMC-PVA copolymer solid dispersions.

固体分散体中に均一に分散した薬物と高分子基剤が相互作用した際には、ガラス転移点が理論値と乖離する傾向を示すことが知られている⁷¹⁻⁷²。そこで、IMC と PVA copolymer のガラス転移点の実測値と理論値との比較を行った。Figure 32 に、組成依存的な固体分散体のガラス転移点の変化を示す。Figure 中の破線、点線、鎖線は、それぞれ CK 式から算出した IMC-PVP、IMC-PVPVA、IMC-PVA copolymer 固体分散体のガラス転移点の理論値を表している。IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体においては試料中の IMC 配合量に依存してガラス転移点が低下し、CK 式から得られた理論値のプロファイルとほぼ一致した。PVP や PVPVA のような高分子に比べて、IMC は低いガラス転移点を有しているため、固体分散体を形成した際に、可塑剤として高分子のガラス転移点を低下させたと考えられた。一方、IMC-PVA copolymer 固体分散体においては、IMC は PVA copolymer に対して反可塑剤として作用しており、ガラス転移点の上昇を引き起こした。IMC を 20% 配合した時に、ガラス転移点は最大値へ到達した後、IMC 配合量に依存して緩やかに低下した。IMC-PVA copolymer 固体分散体の組成依存的なガラス転移点の変化は、CK 式によって得られた理論値のプロファイル (Figure 32 中の鎖線) とは異なるパターンを示していることが特徴づけられた。Tajber らの研究においても、低ガラス転移点を有する非晶質薬物が PVP に対して反可塑剤として働くことで、理論値とは異なるプロファイルを示し、正の方向に乖離する例が報告されている⁸⁸。この現象は、薬物と高分子基剤が固体分散体中において特異的な相互作用を形成したことに由来すると説明されていた。したがって、IMC-PVA copolymer 固体分散体においても、IMC と PVA copolymer が特異的に相互作用したことが、IMC の PVA copolymer に対する反可塑作用を引き起こすとともに、ガラス転移点の理論値からの乖離をもたらした可能性が考えられた。

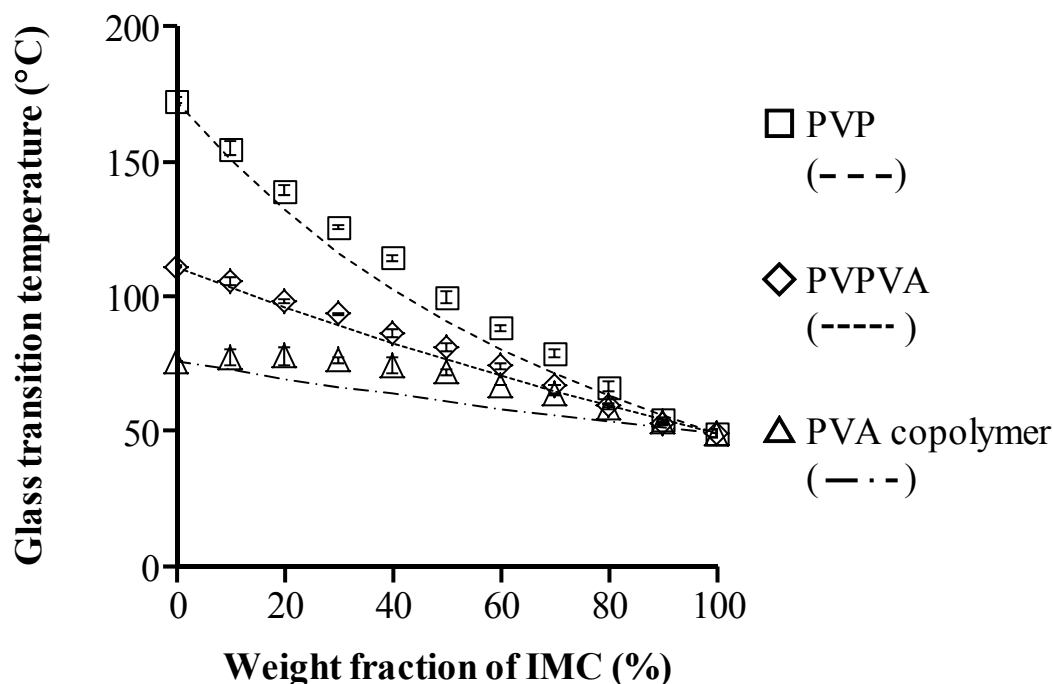


Figure 32. Glass transition temperatures of solid dispersion depending on weight fraction of IMC. The error bars represent standard deviation of n = 3.

固体分散体の熱物性において、ガラス転移点と共に重要な指標としてエンタルピー緩和が挙げられる。エンタルピー緩和速度は非晶質薬物の分子運動性を反映しており、緩和速度が遅い程分子運動性が低下し、非晶質薬物の結晶化傾向が抑制されることが知られている⁷¹⁻⁷²。そこで、非晶質 IMC に 10% の PVP、PVPVA ならびに PVA copolymer をそれぞれ配合した時の、エンタルピー緩和速度の変化について評価を行った。全ての試料は、それぞれのガラス転移点から 16.5°C 低い温度で保存することで、アニーリングによる緩和を進行させた。各試料について、それぞれ 1、3、5、7、10 時間保存後に DSC 測定を行い、ガラス転移時に観察されるエンタルピー回復量からエンタルピー緩和曲線を得た。

Figure 33 に、IMC ならびに PVP、PVPVA、PVA copolymer をそれぞれ 10% 配合した固体分散体のエンタルピー緩和曲線を示す。全ての試料においてアニーリング処理時間依存的に緩和が進行していることが示された。IMC の緩和曲線と比較して、10% の高分子を含む試料では明らかに緩和速度が低下しており、高分子の添加により非晶質 IMC の分子運動性が低下していることが示された。

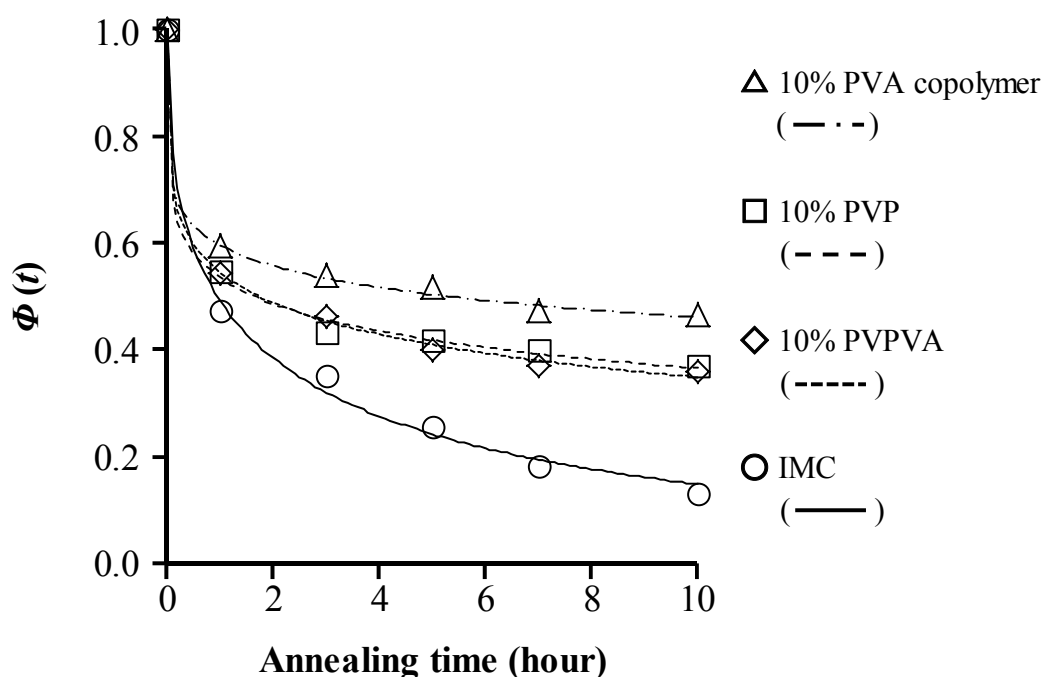


Figure 33. Enthalpy relaxation profiles of IMC, 10% PVP, 10% PVPVA and 10% PVA copolymer solid dispersions.

非晶質 IMC ならびに 10%高分子を含む試料の緩和速度パラメータを求めるために、各試料のエンタルピー緩和プロファイルについて KWW 式へフィッティングした。Table 5 に、得られた KWW パラメータを示す。 τ は緩和速度、 β は緩和分布を表している。 τ および β は、試料のアニーリング時間に依存して値が変動することが報告されている⁸⁹。その報告の中で、 τ^β はアニーリング処理期間にほとんど影響されず、エンタルピー緩和速度の指標として妥当であることが提唱されていた。したがって、本研究においても各試料の τ^β をエンタルピー緩和速度の指標とした。IMC の τ^β が 1.41 時間であるのに対し、10% PVP ならびに 10% PVPVA 固体分散体の τ^β はそれぞれ 1.61 時間ならびに 1.65 時間であり、IMC に比べ緩和速度が低下していることが定量的に示された。さらに、10% PVA copolymer 固体分散体においては τ^β が 1.89 時間と測定した試料の中で最も大きい値を示しており、10% PVP や 10% PVPVA よりも分子運動性が低下していることが明らかとなった。この結果から、PVA copolymer は、分子運動性の低下を通じて非晶質 IMC の結晶化を強く抑制する可能性が示唆された。

Table 5. KWW parameters of IMC, 10% PVP, 10% PVPVA and 10% PVA copolymer solid dispersions.

	τ (hour)	β	τ^{β} (hour)
Amorphous IMC	2.22	0.43	1.41
10% PVP	9.65	0.21	1.61
10% PVPVA	8.00	0.24	1.65
10% PVA copolymer	42.79	0.17	1.89

3-3-4. FT-IR スペクトルの変化に基づいた分子間相互作用の評価

固体分散体中の非晶質薬物と高分子基剤との相互作用を評価する上で、FT-IR 法は最も有効な手段の一つである。固体分散体中において、水素結合を始めとする相互作用に関与した官能基の FT-IR ピークは、シフトやブロードニングを起こすことが報告されている⁹⁰⁻⁹²。そこで、IMC-PVP、IMC-PVPVA ならびに IMC-PVA copolymer 固体分散体について、FT-IR 法による薬物 - 高分子の分子間相互作用を評価した。非晶質 IMC では、カルボン酸の C=O 伸縮振動に由来するピークが約 1735 cm^{-1} 付近に観察され、PVP もしくは PVPVA との固体分散体形成により、 $2\sim 3\text{ cm}^{-1}$ 低波数側へシフトした。また、 1705 cm^{-1} に観察されたカルボン酸のダイマーに由来する C=O のピークにおいても、約 1717 cm^{-1} へシフトした。この結果は、既に報告されている知見²⁵と一致した。その報告の中で、IMC のピークシフトは、固体分散体中において IMC のカルボン酸と PVP/PVPVA のアミドの C=O とが水素結合したことによる結果であることが考察されていた。

続いて、IMC-PVA copolymer 固体分散体の相互作用について評価した。Figure 34 に、IMC-PVA copolymer 固体分散体の FT-IR スペクトルを示す。また、Table 6 に、IMC-PVA copolymer 固体分散体中で、変化が生じた特徴的な $2000\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 範囲の FT-IR ピークの波数を示す。IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体と同様に、IMC-PVA copolymer 固体分散体においても、IMC のカルボン酸の C=O 伸縮振動に由来するピークが 2 cm^{-1} 低波数へシフトしていた。また、ダイマー形成しているカルボン酸の C=O ピークにおいても、 1705 cm^{-1} から 1717 cm^{-1} へシフトしており、IMC-PVP、IMC-PVPVA 固体分散体で観察された変化と一致した。したがって、IMC-PVA copolymer 固体分散体中においても、IMC のカルボン酸は高分子と相互作用していることが示唆された。さらに、IMC-PVA copolymer 固体分散体においては、IMC のアミドの C=O 伸縮振動に由来するピークの変化が特徴づけられた。

IMC のアミドの C=O 伸縮振動に由来するピークは 1680 cm^{-1} に確認され、PVA copolymer の配合量依存的に高波数へシフトした。PVA copolymer の配合比が 80% の時に 1685 cm^{-1} までシフトし、90%の時に消失した。この結果から、IMC-PVA copolymer 固体分散体中において、IMC のアミドが分子間相互作用に関与していることが示唆された。IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体においては、IMC のアミドの C=O のピークと PVP ならびに PVPVA が有するアミドの C=O のピークが重なるために、評価することができなかった。そこで、IMC のアミドの C-N-C 由来のピークに着目した。非晶質 IMC において、アミドの C-N-C に由来するピークは 1315 cm^{-1} に観察され、PVA copolymer の配合量依存的に高波数シフトを示し、IMC のアミドの C=O 由来のピークの観察結果と一致した。IMC は、安定形 γ 型結晶ならびに準安定形 α 型結晶の両構造中で、カルボン酸ダイ

マーを形成しており、カルボン酸が水素結合形成に重要な官能基であることが知られている⁷⁹⁻⁸⁰。一方で、アミドの C=O は α 型結晶構造中においてのみカルボン酸と相互作用しており、 γ 型結晶中では相互作用に関与していないことが報告されていた。IMC のアミド官能基は水素結合形成能を有するが、結晶多形間で相互作用への関与が異なっており、固体分散体中における高分子との相互作用においても、その役割を正しく把握することは重要であると考えた。

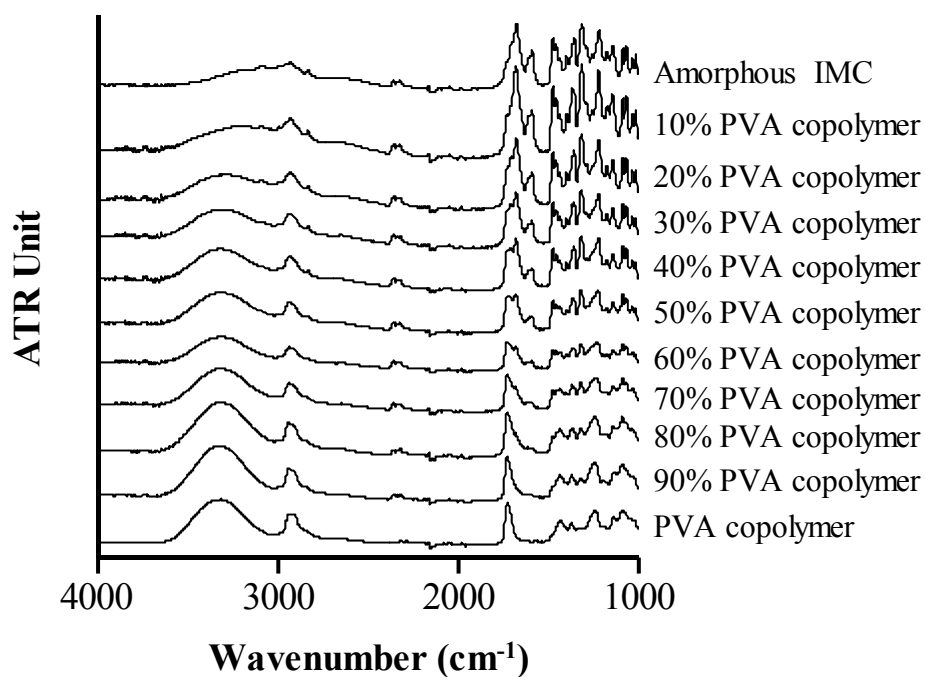


Figure 34. FT-IR spectra of IMC, PVA copolymer and IMC-PVA copolymer solid dispersions

Table 6. Wavenumbers (cm^{-1}) of IMC, PVA copolymer and IMC-PVA copolymer solid dispersions (2000-1200 cm^{-1} region).

	IMC	PVA copolymer	IMC	IMC	IMC	PVA copolymer
	C=O (free)	C=O	C=O (dimer)	C=O	C-N-C	C-O-C
	Acid	Ester	Acid	Amide	Amide	Ester
Amorphous IMC	1736		1705	1680	1315	
10% PVA copolymer	1734		1706	1681	1316	
20% PVA copolymer	1734		1707	1681	1317	
30% PVA copolymer	1734		1708	1682	1318	
40% PVA copolymer		1729	1714	1682	1318	
50% PVA copolymer		1730	1717	1683	1319	
60% PVA copolymer		1731		1683	1320	1236
70% PVA copolymer		1730		1684	1321	1238
80% PVA copolymer		1729		1685	1322	1241
90% PVA copolymer		1730			1323	1243
PVA copolymer		1728				1241

IMC-PVA copolymer 固体分散体において観察された IMC の C-N-C に由来するピーク変化について、IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体においても評価した。Figure 35 に、固体分散体中の IMC 配合量に依存した C-N-C ピークの変化についてプロットした結果を示す。IMC-PVA copolymer 固体分散体においては、PVA copolymer の配合量に依存して 1315 cm^{-1} から 1323 cm^{-1} へ高波数シフトした。IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体においても、高分子の配合量依存的に高波数シフトする傾向は認められたが、高分子比率が 50%の時に 1318 cm^{-1} まで達した後、高分子配合量を増加してもピークシフトは起こさなかった。以上の結果から、IMC のカルボン酸に加えて、アミドも PVA copolymer と相互作用しており、その作用は PVP や PVPVA との固体分散体中よりも強いことが明らかとなった。

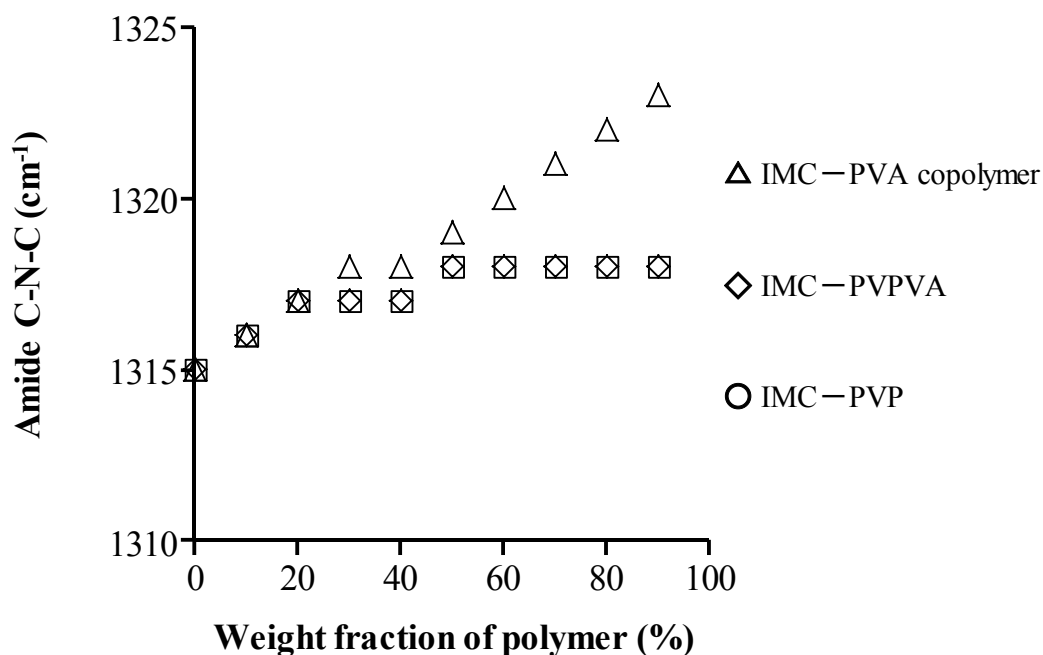


Figure 35. The IR peak (cm^{-1}) derived from amide C-N-C of IMC depending on weight fraction of polymer.

Table 7 に、IMC-PVA copolymer 固体分散体における $3500\sim 2900\text{ cm}^{-1}$ 範囲の FT-IR ピークの波数を示す。 2941 cm^{-1} に観察された PVA copolymer の脂肪族 CH の伸縮振動に由来するピークが、IMC の配合量に依存して 2935 cm^{-1} まで低波数シフトした。したがって、固体分散体中において、IMC と PVA copolymer は親水性相互作用のみならず、疎水性相互作用も形成していることが示唆された。FT-IR 分析の結果から、IMC-PVA copolymer 固体分散体では、薬物と高分子の間に特異的な相互作用が形成されていることが明らかとなり、Figure 32 に示したようなガラス転移点の上昇を引き起こしたと考えられた。

Table 7. Wavenumbers (cm⁻¹) of IMC, PVA copolymer and IMC-PVA copolymer solid dispersions (3500-2900 cm⁻¹ region).

	PVA copolymer	PVA copolymer	IMC	PVA copolymer
	OH	CH	CH	CH
	Alcohol	Aliphatic	Aliphatic	Aliphatic
Amorphous IMC			2932	
10% PVA copolymer			2930	
20% PVA copolymer		2935		
30% PVA copolymer	3323	2935		
40% PVA copolymer	3324	2939		
50% PVA copolymer	3324	2941		
60% PVA copolymer	3324	2942		
70% PVA copolymer	3323	2943		
80% PVA copolymer	3323	2943		2918
90% PVA copolymer	3325	2943		2917
PVA copolymer	3324	2941		2913

3-3-5. 固体分散体に含まれる高分子が吸湿性に及ぼす影響

非晶質薬物に対して水は可塑剤として働き、ガラス転移点の低下及び分子運動性の向上を引き起こすことで、結晶化を促進させる。また、水は固体分散体中において、薬物と高分子の相互作用を切断することで薬物の結晶化を促進することも報告されており、基剤の吸湿性を把握しておくことは重要である⁹⁰⁻⁹²。

Figure 36 に、相対湿度に対して各試料の吸湿量をプロットした。疎水性薬物である IMC の吸湿性は γ 型結晶、非晶質共に低く、90% RH の高湿度条件下でもほとんど吸湿性は認められなかった。一方、高分子試料では比較的高い吸湿性が確認され、PVP、PVPVA、PVA copolymer の順で吸湿性が高くなった。また、IMC を 20% 配合した固体分散体においては、いずれの試料においても高分子単独より吸湿性が低下したが、高分子の吸湿特性に依存した吸湿プロファイルは維持された。PVP や PVPVA に比べて PVA copolymer の吸湿性が低い要因として、高分子構造中に規則的な配列構造を有するためと考えた⁸⁷。以上より、IMC-PVA copolymer 固体分散体は、高湿度条件下において薬物の結晶化抑制作用が高いことが推測された。

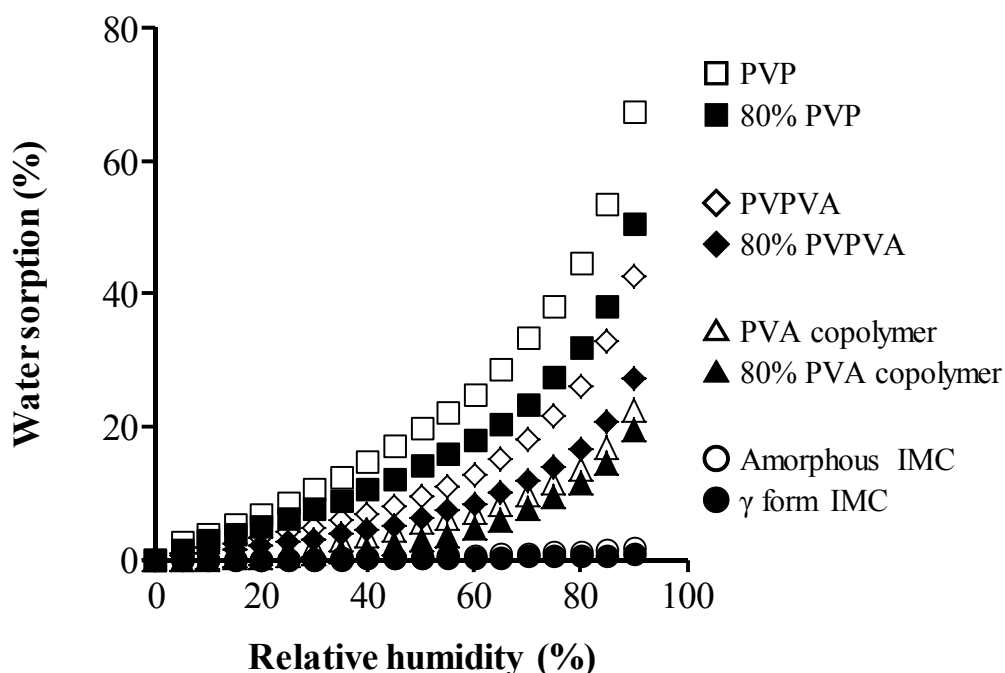


Figure 36. Water sorption profiles of IMC, 80% PVP, 80% PVPVA and 80% PVA copolymer solid dispersions.

3-3-6. 固体分散体の結晶化傾向の評価

IMC-PVP、IMC-PVPVA ならびに IMC-PVA copolymer 固体分散体について、高分子を 40、60、80%配合した試料をそれぞれ 40℃・75% RH 条件下で保存し、経時的な状態変化について評価した。IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体については、全ての組成において 1 日後に粉末状態から液状態へ変化した。保存前の試料は粉末状であったことから、保存中にガラス転移が生じたことは明らかであった。Figure 36 に示した通り、PVP ならびに PVPVA は吸湿性が比較的高く、固体分散体中においても高い吸湿性は維持されていた。したがって、IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体においては、保存中に吸湿された水が固体分散体のガラス転移点低下をもたらし、状態変化が起こったと考えた。このように、保存中に固体状態が変化する試料を医薬品として使用することは難しく、防湿包装等の工夫が要求される。一方で、IMC-PVA copolymer 固体分散体においては、40℃・75% RH 条件においても保存中の状態変化は確認されず、粉末状態が維持されていた。

続いて、IMC-PVA copolymer 固体分散体の経時的な結晶性の変化について XRPD 法で評価した。IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体については保存中に固体状態を維持できなかったために、評価しなかった。Figure 37 に、保存前ならびに 7、14、30 日後の IMC-PVA copolymer 固体分散体の XRPD パターンを示す。Figure 中に、PVA copolymer を 40、60、80%含む物理混合物の XRPD パターンも併記した。40% PVA copolymer 固体分散体は 7 日後まで非晶質を維持していた。しかしながら、14 日後に回折ピークが確認され、固体分散体中で IMC が結晶化したことが示された。物理混合物のピーク強度と比較すると固体分散体中の結晶化ピークは極めて小さく、結晶化した IMC は非晶質の一部分だけであった。この結晶由来のピークは、30 日後でもほぼ同じ高さであり、14 日後に生じた結晶の成長はほとんど起こっていなかった。保存中に発生した結晶の XRPD パターンは、物理混合物が示す IMC の γ 型結晶パターンとは異なっており、Kaneniwa らによって報告されている準安定型結晶 α 型の XRPD パターン³⁷と一致した。PVA copolymer を 60%ならびに 80%含有する固体分散体においては、30 日後においても IMC は非晶質状態を維持しており、高い結晶化抑制能が確認された。PVA copolymer は、IMC との特異的な相互作用の形成だけでなく、その低吸湿性により、非晶質 IMC の状態変化ならびに結晶化を抑制することが明らかとなった。

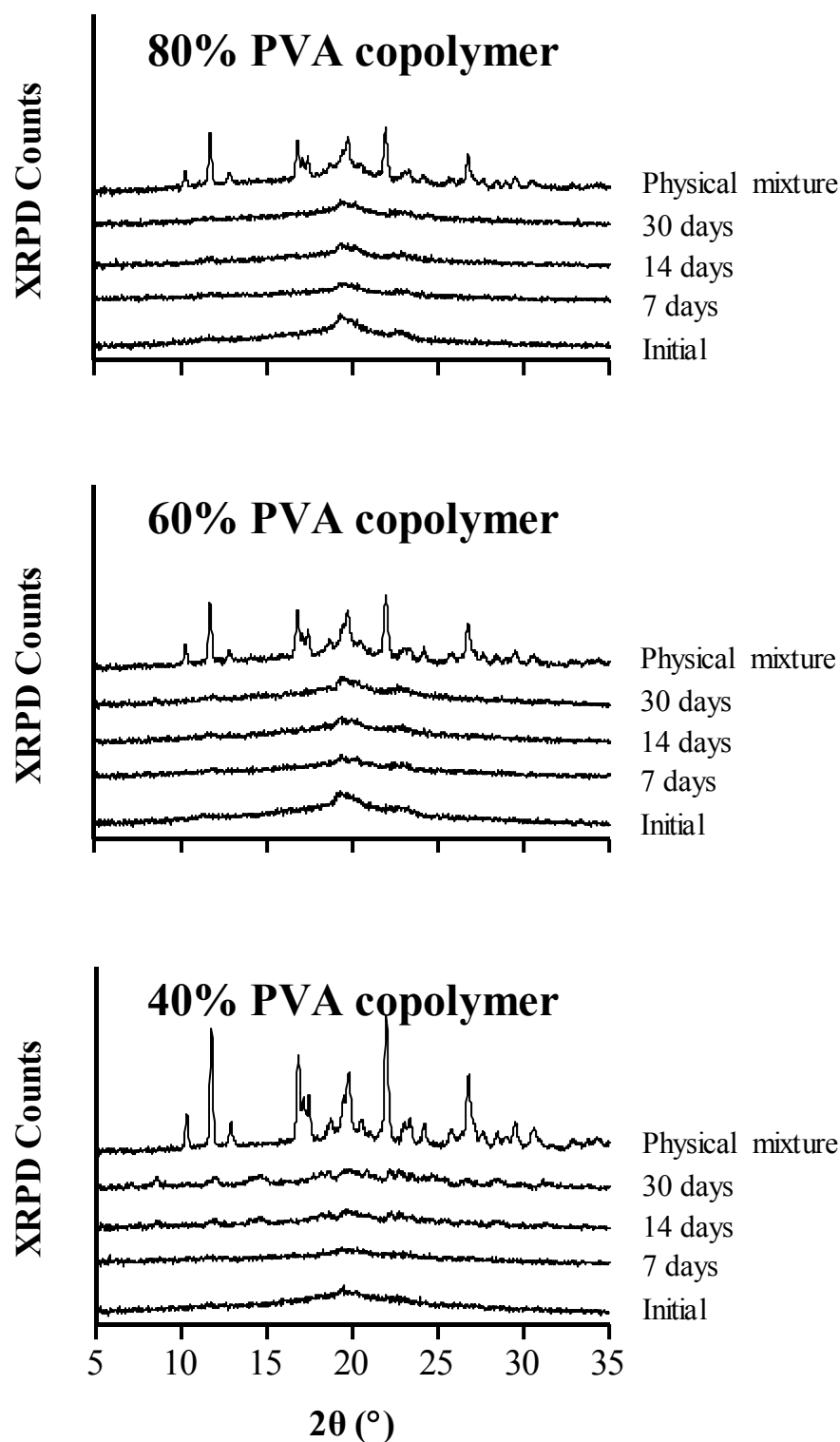


Figure 37. XRPD patterns of 40, 60 and 80% PVA copolymer solid dispersions before and after storage at 40°C • 75% RH.

3-4. 結論

本章では、PVA copolymer の物理化学特性を調べ、固体分散体基剤としての有用性について検証した。XRPD 測定と DSC 測定の結果から、PVA copolymer は構造中に周期的な配列構造を有する高分子であることが示唆された。PVA copolymer の周期構造は IMC と固体分散体を形成した試料においても保持されていることが分かった。IMC の配合に伴う、高分子のガラス転移点の変化について評価したところ、IMC-PVP ならびに IMC-PVPVA 固体分散体については IMC 配合量依存的な可塑効果が確認されたが、IMC-PVA copolymer 固体分散体においては、IMC による反可塑効果が特徴づけられた。また、エンタルピー緩和の評価から、PVA copolymer は PVP や PVPVA に比べ、非晶質 IMC の分子運動性を強く抑制することが示された。FT-IR スペクトルの変化から、固体分散体中において IMC と PVA copolymer は特異的な相互作用を形成していることが明らかとなった。相対湿度を変化させて各試料の吸湿量を評価したところ、PVA copolymer は PVP や PVPVA に比べて低い吸湿性を示した。さらに、固体分散体中においても PVA copolymer の低吸湿性は維持されており、40℃・75% RH 条件下において非晶質 IMC の結晶化を 30 日以上抑制した。

以上の結果から、PVA copolymer は固体分散体基剤として有用であると結論付けた。本知見は、創薬研究において難溶性薬物の固体分散体制剤を設計する際に、高分子の選択性を広げ、固体分散体制剤の成功確率向上に寄与するものであると考える。

第 4 章

固体 NMR 法を用いた Naproxen-Eudragit® E 固体分散体の 組成依存的な構造変化ならびに結晶化傾向への影響の評価

4-1. 序論

固体分散体の設計において、薬物と高分子の物性は固体分散体の特性を決定づける最も重要な要因の一つであり、各種測定法により評価されてきた⁹³⁻⁹⁵。第 3 章では熱分析や分光分析を用いて、IMC と PVA copolymer の特異的な相互作用が固体分散体の高い結晶化抑制をもたらすことを明らかにした。また、第 1 章では Raman マッピング法を応用することで、非晶質中の結晶を高感度に検出でき、さらに非晶質 IMC の結晶化傾向を詳細に把握できることを示した。近年では、固体分散体中の薬物/高分子の状態をより詳細に調べるために固体 NMR 法の応用も進んでいる⁹⁶⁻⁹⁹。特に、炭素原子を評価する ^{13}C 固体 NMR 測定により固体分散体中の試料の物理化学的な状態について、分光測定法で得られる官能基レベルの情報よりもさらに詳細な考察が可能となる。

固体分散体では PVP や PVPVA、セルロース誘導体が代表的な高分子基剤として汎用されており、非晶質薬物の安定化メカニズムについて広く研究されてきた^{71-72, 90-92}。また、IMC-PVA copolymer 固体分散体についても、その熱挙動や FR-IR スペクトルの変化から特異的な相互作用を形成していることを第 3 章で明らかにした。しかしながら、組成に依存して特殊な熱挙動と結晶化抑制を引き起こすが、そのメカニズムが解明されていない例として塩基性高分子 Eudragit® EPO (EGE) を含む固体分散体が挙げられる¹⁰⁰⁻¹⁰⁵。

本章では、第 1～3 章で使用した IMC よりも高い結晶化傾向を示す酸性薬物 Naproxen (NAP) をモデル薬物として用い、異なる組成の NAP-EGE 固体分散体について、熱分析、分光測定法に加えて固体 NMR 法で評価することで、組成が変化した時の分子状態の変化と熱挙動や結晶化傾向との関係について解明を行った。

4-2. 試料ならびに実験方法

4-2-1. 試料

Naproxen (NAP)はシグマアルドリッチジャパン合同会社より購入した。Aminoalkyl methacrylate copolymer E (Eudragit® EPO : EGE) はエボニックデグサジャパン株式会社より試供品を入手した。PVP は「第 2 章 2-2-1. 試料」に記載した PVP90 を用いた。

4-2-2. 非晶質 Naproxen ならびに固体分散体の調製

結晶 NAP を 165℃まで加温し融解させた後、液体窒素中で急冷することで非晶質 NAP を調製した。

NAP-PVP ならびに NAP-EGE 固体分散体は噴霧乾燥法ならびに融解 - 急冷法により調製した。始めに均一な混合物を噴霧乾燥法で調製した。総量 1 g の NAP ならびに PVP もしくは EGE を 100 mL のメタノール／蒸留水 (95／5 体積比) 混液に溶解させた。NAP に対する各高分子の比率は 10、20、30、40、50、60、70、80 ならびに 90%とした。得られた溶液は日本ビュッヒ株式会社製スプレードライヤーB-290 を用いて噴霧乾燥した (inlet 温度 50℃、outlet 温度 30℃、airflow 473 L／時間、aspirator 100%、feed rate 10%)。また、得られた噴霧乾燥物は室温で一晩減圧乾燥処理した。減圧乾燥後の試料を融解 - 急冷法で処理することで熱履歴を消去した。

4-2-3. XRPD 測定

試料の結晶性は「第 1 章 1-2-3. X 線粉末回折測定 (XRPD 測定)」と同じ方法で評価した。

4-2-4. 熱分析

DSC 測定条件は「第 3 章 3-2-5. 熱分析」に記した方法に準拠した。1～2 mg の試料をアルミニウムパンに量り、20℃／分で 170℃まで昇温 (融解)、続いて 50℃／分で-30℃まで急冷固化することで、試料の熱履歴を消去した。熱履歴消去後の試料について再び 20℃／分で 170℃まで昇温し、得られた DSC 曲線からガラス転移点を求めた。本章では、DSC 曲線中に現れるガラス転移点プロファイルの内、オンセット値をガラス転移点として用いた。非晶質 NAP については極めて速い結晶化傾向を示すため、上記の方法でガラス転移点を求めることができなかった。したがって、別途融解 - 急冷法で調製した非晶質試料を、液体窒素から速やかに DSC セルに移し、-30℃～170℃まで 20℃／分で測定することでガラス転移点を求めた。得られたガラス転移点から薬物と高分子試料の相互作用を評価するため、「第 3 章 3-2-5. 熱分析」で記した CK 式よりガラス転移点

の理論値を算出した。

続いて、NAP ならびに 30、40、60、80%の PVP もしくは EGE を配合した固体分散体の分子運動性を評価した。それぞれの試料は一度 170℃で融解させ、50℃/分で冷却することで熱履歴を消去した。続いて各試料をガラス転移点から 16.5℃低い温度において 1、3、5、7、10 時間アニーリング処理した。アニーリング処理後、50℃/分で-30℃まで急冷し、再度 170℃まで昇温した。この昇温過程において、ガラス転移時に観察されるエンタルピー回復量について、「第 3 章 3-2-5. 熱分析」に記した KWW 式でフィッティングを行うことでエンタルピー緩和速度を求めた。

4-2-5. 結晶化傾向の評価

NAP-PVP ならびに NAP-EGE 固体分散体について結晶化傾向を評価した。それぞれ 30、40、60、80%の高分子を含む固体分散体をアルミニウムプレート穴（径 3 mm、深さ 0.2 mm）に圧縮充填し、40℃・75% RH 条件下で保存した。相対湿度は塩化ナトリウム飽和水溶液と共にデシケータに保存することで調整した。保存前ならびに 1、3、7、15、30 日保存後に、結晶性ならびに薬物と高分子の分散状態の変化について XRPD 法と Raman マッピング法で評価した。

4-2-6. Raman マッピング測定

始めに、非晶質 NAP、EGE ならびに 30、40、60、80%の EGE を含む固体分散体の Raman スペクトル測定を実施した。この時、非晶質 NAP は測定環境下において急速な結晶化傾向を示すため、非晶質化後速やかに測定を実施した。続いて、固体分散体中における NAP と EGE との分散性を評価するために、Raman マッピング測定を行った。測定条件は「第 1 章 1-2-5. Raman マッピング測定」に準拠して、以下の条件で評価した。レーザー照射時間：0.5 秒、積算回数：2 回、測定範囲：4000～500 cm⁻¹、分解能：50×50 μm。NAP と EGE の Raman スペクトルに基づいて、3070 cm⁻¹と 2960 cm⁻¹に観察されるピーク比からイメージを作成した。

4-2-7. FT-IR 分析

試料の FT-IR 分析は「第 3 章 3-2-6. フーリエ変換赤外分光分析（Fourier Transform Infrared Spectroscopy：FT-IR）」に記した方法で評価した。

4-2-8. 固体核磁気共鳴分光法（Nuclear Magnetic Resonance：NMR）

固体分散体の局所運動性について詳細な評価を行うために NAP-EGE 固体分散体の固体 NMR 測定を行った。試料は EGE ならびに 30、40、60、80% EGE 固体分散体を用いた。試験にはアジレントテクノロジー株式会社製 Varian NMR シ

ステム（磁場：14.09 T、 ^1H 共鳴周波数：600 MHz、 ^{13}C 共鳴周波数：150 MHz）を用いた。各試料を 3.2 mm のジルコニアローターへ入れ測定した。炭素交差分極マジック角回転（ ^{13}C -CPMAS：Cross Polarization Magic Angle Spinning）スペクトルを以下の条件で測定した（緩和時間：5～10 s、CP コンタクト時間：3 ms、MAS スピード：20 kHz、 ^1H パルス：2.1 μs ）。測定中のプローブ温度は 0°C に固定した。各スペクトルの測定において 1500～2000 回の積算を行った。全ての ^{13}C スペクトルはアダマンタンのメチレンピーク（38.52 ppm）を参照して求めた。180- τ -90°の反転回復法で（Inversion recovery） ^1H と ^{13}C のスピン - 格子緩和時間（Spin-lattice relaxation time: T_1 ）を求めた。また、 ^{13}C - T_1 の測定については Torchia らの方法を参考にした⁹⁷。

4-3. 結果・考察

4-3-1. 試料の化学構造

Figure 38 に、NAP と EGE の化学構造を示す。NAP はカルボン酸を有する弱酸性化合物であり、非晶質化後極めて速い結晶傾向を示すことが知られている¹⁰⁶。非晶質薬物の結晶化傾向については、DSC 測定により三つのクラス分けが提唱されている¹⁰⁷。三つのクラスについては、DSC の昇温 - 急冷 - 再昇温プロセスにおいて①融解直後の冷却中に速やかな結晶を示す化合物が最も結晶化傾向が速いクラス I、②冷却中には結晶化しないが再昇温中に結晶化する化合物がクラス II、③いずれの過程でも結晶化が起こらない化合物がクラス III と分類されている。第 1～3 章で用いた IMC はクラス III 薬物であるが、NAP はクラス I に分類される極めて速い結晶化傾向を持つ酸性化合物である。本章では、固体分散体中の薬物の結晶化を評価するため、NAP をモデル薬物として採用した。

EGE は三級アミンとエステルを有する塩基性高分子であり、構造中に含まれるジメチルアミノ - エチルメタクリレート / ブチルメタクリレート / メチルメタクリレートの比は 2 : 1 : 1 である¹⁰⁰。固体分散体中における薬物との相互作用を形成する際に、三級アミンの関与については明らかにされているがエステルの関与については不明である¹⁰¹⁻¹⁰⁵。Liu らは、EGE と IMC との相互作用について検討しており、IMC の配合により EGE の三級アミンの FT-IR スペクトルがブロードニングすることを報告している。しかしながら、エステルに由来するピークについてはいかなる変化も認められないと述べられていた¹⁰⁴。NAP-EGE 固体分散体中における NAP と EGE についても、IMC-EGE と同様に特異的な相互作用を形成しているか評価を試みた。

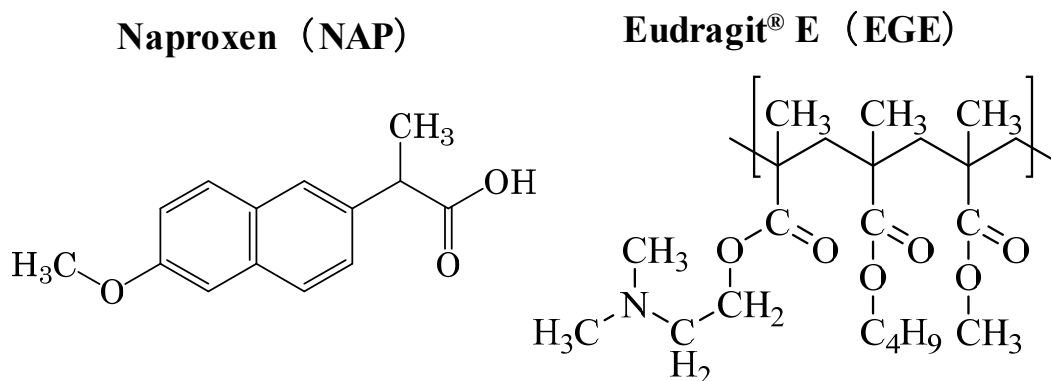


Figure 38. Chemical structures of NAP and EGE.

4-3-2. Naproxen-Eudragit® E 組成に依存したガラス転移点ならびに分子運動性の変化

DSC 測定により薬物、高分子、ならびに固体分散体のガラス転移点を評価した。Figure 39 に、NAP-PVP 固体分散体のガラス転移を組成に対してプロットした結果を示す。NAP-PVP 固体分散体は全ての組成において、単一のガラス転移点を示し、NAP と PVP が均一に分散していることが分かった。PVP のガラス転移点は NAP の配合量に依存して低下した。Figure 39 に示す実線は、CK 式から求めた NAP-PVP 固体分散体のガラス転移点の理論値を表している。NAP 配合量に依存したガラス転移点の変化は、理論値からわずかに負の方向に乖離したものの両者のプロファイルはほぼ同様であった。このような結果は他の固体分散体においても広く観察されている^{25, 71}。

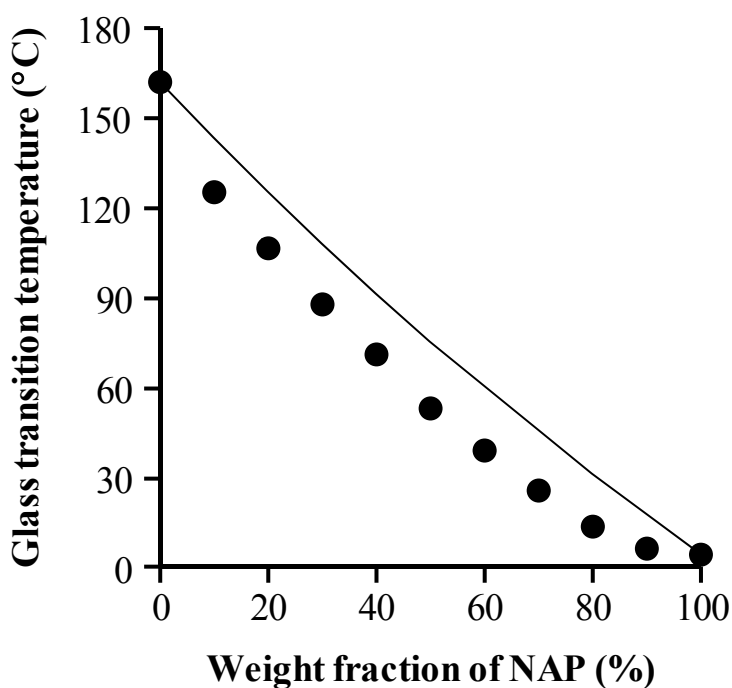


Figure 39. Glass transition temperature of NAP-PVP solid dispersion as a function of proportion. The error bars represent standard deviation of $n = 3$.

Figure 40 に、NAP-EGE 固体分散体のガラス転移を組成に対してプロットした結果を示す。Figure 39 と同様に、実線は CK 式から得られた理論値を表している。NAP-EGE 固体分散体のガラス転移点 - 組成プロファイルは極めて特異的なパターンを示し、以下の①～③として大きく三つの領域に区分できた。①NAP

配合量 0～20%：EGE のガラス転移点は NAP を 20%まで加えた時に低下した。ここでは理論値に対してわずかに負の方向への乖離が見られた。②NAP 配合量 30～60%：NAP の含有量が 30%以上となった時、ガラス転移点は上昇傾向へ転じ、NAP が EGE に対して反可塑作用を示していた。ここでは理論値に対して大幅な正方向への乖離が観察された。ガラス転移点は NAP 配合量が 60%となった時に最大値を示した。③NAP 配合量 70～100%：ガラス転移点は NAP 配合量が 60%の時に最大値に達した後、更なる NAP の添加により急激な低下傾向を示した。NAP-EGE 固体分散体は全ての組成において単一のガラス転移点を示しており、特異的なガラス転移点 - 組成プロファイルは相分離によるものではないと考えられた。IMC-EGE 固体分散体においても同様の結果が報告されており、IMC は EGE に対して、10～30%配合時には可塑剤として、40～70%配合時には反可塑剤として作用していた¹⁰⁴⁻¹⁰⁵。IMC 配合量が 70%の時にガラス転移点は極大値を示し、更なる IMC の配合でガラス転移点は低下傾向を示すことが確認されていた。

次に、NAP-EGE 固体分散体を示す組成に依存したガラス転移点の変化について、各組成における NAP のモル比率とガラス転移点との関係を考察した。NAP のモル比の計算には、薬物分子量 NAP：230.26、IMC：357.79 ならびに EGE のモノマーユニットの分子量を用いた。Priemel らは、EGE のモノマー分子量をジメチルアミノ - エチルメタクリレート／ブチルメタクリレート／メチルメタクリレートの比 1：1：1 と仮定して 399.52 と算出していた¹⁰⁸。しかしながら、エボニックデグサ社の添加剤情報ではジメチルアミノ - エチルメタクリレート／ブチルメタクリレート／メチルメタクリレートの比は 2：1：1 であるとされているため、本研究では EGE のモノマー分子量は 556.2 として計算した。各組成における NAP/EGE の重量比とそれぞれの分子量から、EGE に対する NAP のモル比を求めた。10、20、30、40、50、60、70、80、90%の EGE を含む固体分散体における、NAP のモル比率は、それぞれ 21.74、9.66、5.64、3.62、2.42、1.61、1.04、0.60、0.27 であった。ガラス転移点が極大値を示した NAP 配合量 60%の時の NAP のモル比は 3.62 であった。IMC-EGE 固体分散体についても同様の計算からモル比を求めたところ、ガラス転移点が最大を示す IMC 配合量 70%の時の IMC のモル比は 3.63 であり、NAP-EGE 固体分散体の結果とほぼ一致した。

薬物の高分子に対する反可塑作用については、第 3 章に記した IMC-PVA copolymer 固体分散体についても確認されており、この作用が薬物 - 高分子の特異的な相互作用によりもたらされることを既に述べた。したがって、NAP と IMC は同様のメカニズムで、組成によって変化する特殊な相互作用を EGE と形成しており、その相互作用様式の変化がガラス転移点に反映されたと考えられた。

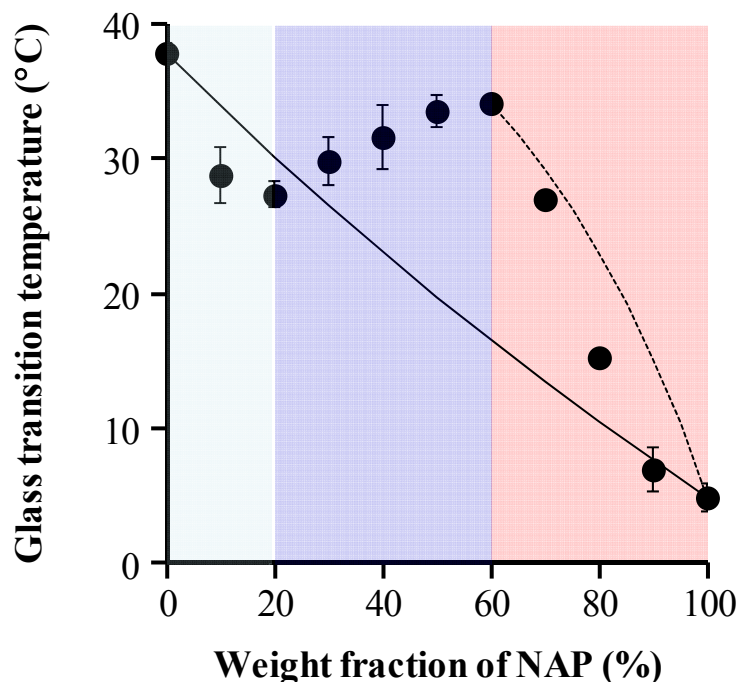


Figure 40. Glass transition temperature of NAP-EGE solid dispersion as a function of proportion. The error bars represent standard deviation of $n = 3$.

NAP-EGE 固体分散体の組成依存的な分子運動性の変化を評価するため、DSC 測定によるエンタルピー緩和評価を行った。Figure 41 に、EGE ならびに 30、40、60、80% EGE 固体分散体のエンタルピー緩和プロファイルを示す。いずれの試料においても、保存時間依存的な減衰曲線が観察され、構造緩和が進行していることが示された。EGE の配合量依存的に、緩和速度が低下している様子が観察され、EGE の配合より非晶質 NAP の分子運動性が低下していることが明らかとなった。各試料のエンタルピー緩和プロファイルを KWW 式にフィッティングし、エンタルピー緩和速度の算出を行った。Table 8 に、得られた KWW パラメータを示す。「第 3 章 3-3-3. 高分子の配合が非晶質 Indomethacin のガラス転移点ならびに分子運動性に及ぼす影響」に記したように、本章においても緩和速度の評価に τ^b を用いた。EGE 配合量依存的な τ^b の上昇が示され、EGE 配合による分子運動性の低下が定量的に示された。しかしながら、30% EGE ならびに 40% EGE 固体分散体において、 τ^b はほぼ同等であり、分子全体の運動性にほとんど差がないことが分かった。したがって、Figure 40 で確認された、NAP 配合量が 60%から 70%に増加した時に生じるガラス転移点の大幅な変化は、試料全体の分

子運動性の変化が原因ではないことが明らかになった。

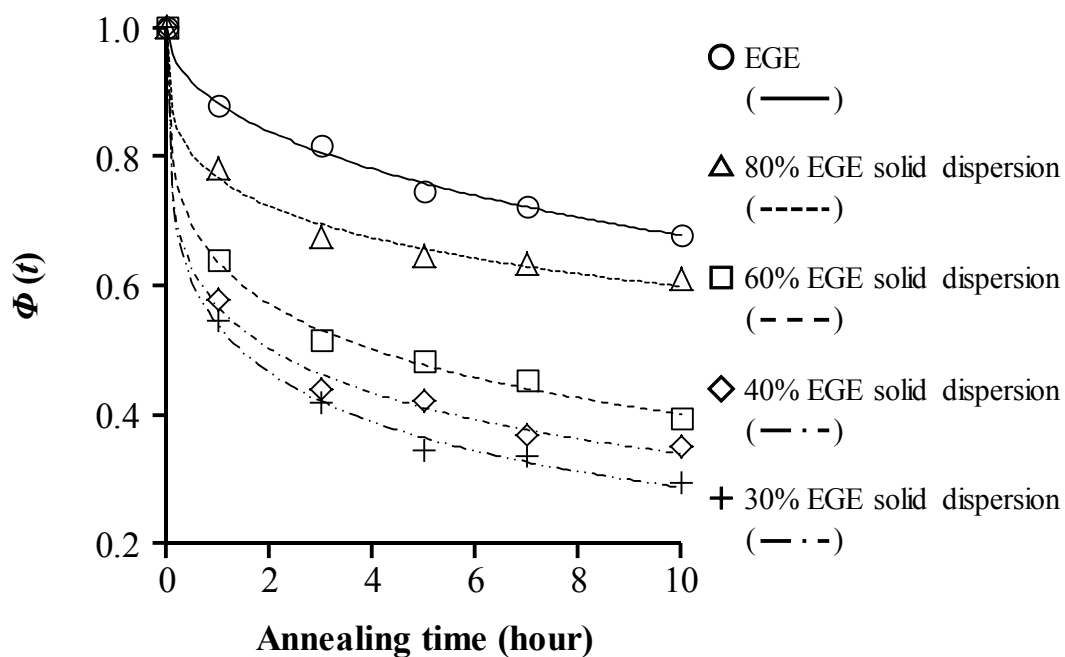


Figure 41. Enthalpy relaxation profiles of EGE and NAP-EGE solid dispersions.

Table 8. KWW parameters of EGE and NAP-EGE solid dispersions.

	τ (hour)	β	τ^β (hour)
EGE	67.96	0.49	8.02
80% EGE solid dispersion	104.58	0.28	3.76
60% EGE solid dispersion	13.46	0.30	2.21
40% EGE solid dispersion	7.62	0.28	1.76
30% EGE solid dispersion	4.84	0.30	1.61

4-3-3. 高温高湿度条件における固体分散体の結晶化傾向

一般的に、固体分散体のガラス転移点が上昇すると分子運動性が低下するため結晶化傾向は低下する。また、保存環境下の湿度は固体分散体中の非晶質薬物の結晶化を促進することが知られている⁷¹⁻⁷²。したがって高温・高湿度条件下で安定な固体分散体を設計することは医薬品としての利便性、市場性を向上させる上で重要となる。そこで、40℃・75%RH 条件下における、NAP-PVP ならびに NAP-EGE 固体分散体の結晶化傾向を比較評価した。

Figure 42 に、NAP-PVP 固体分散体の保存前後の XRPD パターンを示す。「4-3-1. 試料の化学構造」で述べた通り、NAP は融解後速やかに結晶化するクラス I 化合物であるが、PVP と固体分散体を形成することで非晶質試料が得られた。30% ならびに 40% PVP 固体分散体においては、保存前は非晶質であったが、1 日後に結晶化が認められた。しかし、その後の結晶成長は見られなかった。PVP 配合量が 60% の時、固体分散体の結晶化傾向は低下しており、1 日後も非晶質を維持していた。7 日後にわずかに結晶化が見られたが、その後の成長は緩やかであった。80% PVP 固体分散体においては高い結晶化抑制効果が確認され、30 日後においても非晶質状態を維持していた。NAP-PVP 固体分散体においては、PVP 配合量依存的な結晶化抑制効果の向上が示され、Figure 39 に示したガラス転移点 - 組成プロファイルの結果と一致した。

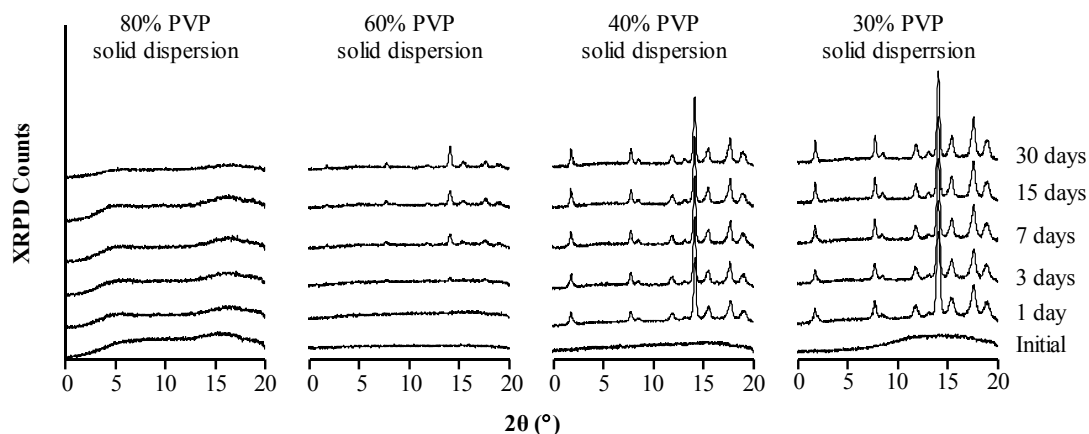


Figure 42. XRPD patterns of NAP-PVP solid dispersion before and after storage.

Figure 43 に、NAP-EGE 固体分散体の保存前後の XRPD パターンを示す。PVP と同様に EGE を 30～80% 配合した時に、NAP は非晶質化した。30% EGE 固体分散体は、1 日後に速やかに結晶化した。一方、40、60、80% EGE 固体分散体

では、30 日後にも非晶質状態が維持されていた。NAP-PVP 固体分散体とは異なり、NAP-EGE 固体分散体では EGE の配合量が 30%から 40%に増加した時に、その物性が急激に変化することが確認された。この結果は、NAP を 60%配合 (EGE 40%相当) した時にガラス転移点は極大値を示し、配合量を 70% (EGE 30%相当) に増やすとガラス転移点が急激に低下するという知見と関連付けられた。また、Figure 40 に示す通り、30% EGE 固体分散体のガラス転移点は EGE 配合量が 80%の時とほぼ同じであったが、両者の結晶化傾向には大きな差が観察された。この結果から、NAP-EGE 固体分散体において、結晶化傾向は単純にガラス転移点の値に依存していないことが分かった。したがって、ガラス転移点 - 組成のプロファイルに基づいて、各組成における NAP と EGE の分子状態ならびに相互作用状態について正しく把握することが、結晶化傾向を理解する上で重要であると考えた。

EGE が酸性薬物の非晶質状態を安定化する際に、三級アミンを介したイオン性相互作用の形成が重要であることが報告されている¹⁰⁴⁻¹⁰⁵。NAP-EGE 固体分散体においても NAP と EGE の間にイオン性の相互作用を形成し、安定な非晶質構造が形成されたことが考えられる。EGE の配合量が 40%から 30%に低下した時、NAP と EGE で形成していた安定な非晶質構造が維持されず、NAP が結晶化したこと可能性がある。また、もう一つの可能性として、40% EGE 固体分散体の非晶質構造が EGE 配合量 30% の時にも維持されているが、非晶質構造に含まれなかった NAP が結晶化したことが考えられる。そこで、40% EGE 固体分散体の非晶質構造が、30% EGE 固体分散体で維持されているか熱分析結果から考察した。40% EGE 固体分散体ならびに NAP のガラス転移点を用いて、CK 式で理論ガラス転移点を算出し、Figure 40 中に点線として表記した。EGE 配合量が 0~40%の時のガラス転移点の変化と、CK 式から求められた理論値の変化は異なるプロファイルを示した。この結果から、40% EGE 固体分散体中の非晶質構造は EGE 配合量が 30%以下に低下した時に維持されておらず、非晶質構造全体が変化していることが示唆された。

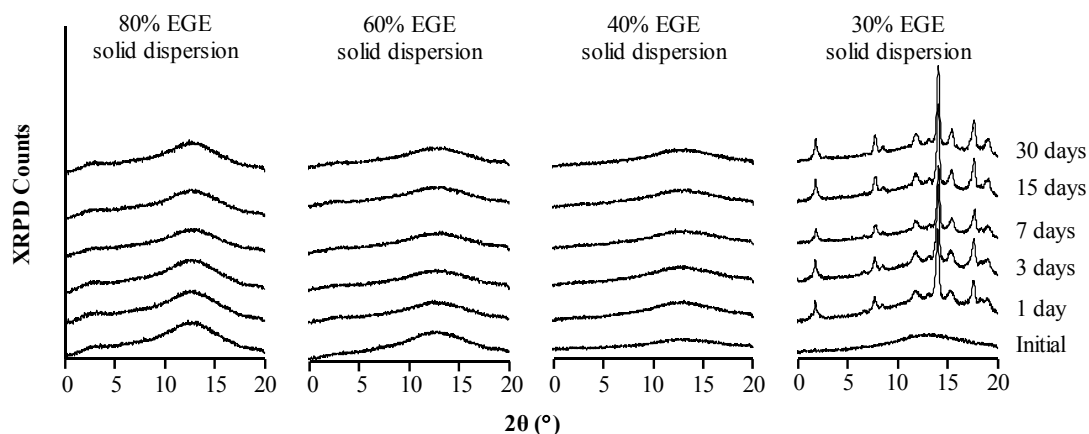


Figure 43. XRPD patterns of NAP-EGE solid dispersion before and after storage.

非晶質薬物が固体分散体中において安定化するためには、高分子基剤との均一な分散が必要となる。調製直後に均一であったとしても、加温や加湿のような物理的ストレスにより薬物 - 高分子相互作用の切断やそれに伴う相分離が生じ、結果として薬物の結晶化を引き起こされることが報告されている⁹⁴⁻⁹⁵。そこで、NAP-EGE 固体分散体の結晶化傾向について更に詳細に考察を行うため、40℃・75% RH 条件下に保存した試料の分散状態について Raman マッピング法で評価した。

Raman マッピング測定を行うために、まず、各試料の Raman スペクトルを求めた。Figure 44 に、NAP、EGE ならびに NAP-EGE 固体分散体の Raman スペクトルを示す。NAP は非晶質、結晶共に 3070 cm^{-1} に特徴的なピークを示したが、EGE 由来のピークは観察されなかった。このピーク強度は、EGE 配合量依存的に低下した。EGE は 2960～2930 cm^{-1} にブロードなピークを示した。特に、2960 cm^{-1} のピークは、EGE 配合量依存的な変化を示した。以上の結果から、3070 cm^{-1} と 2960 cm^{-1} のピーク強度比が NAP-EGE の組成比を反映できると考え、各測定ポイントの 3070/2960 cm^{-1} ピーク強度比に基づいて Raman イメージを作成した。

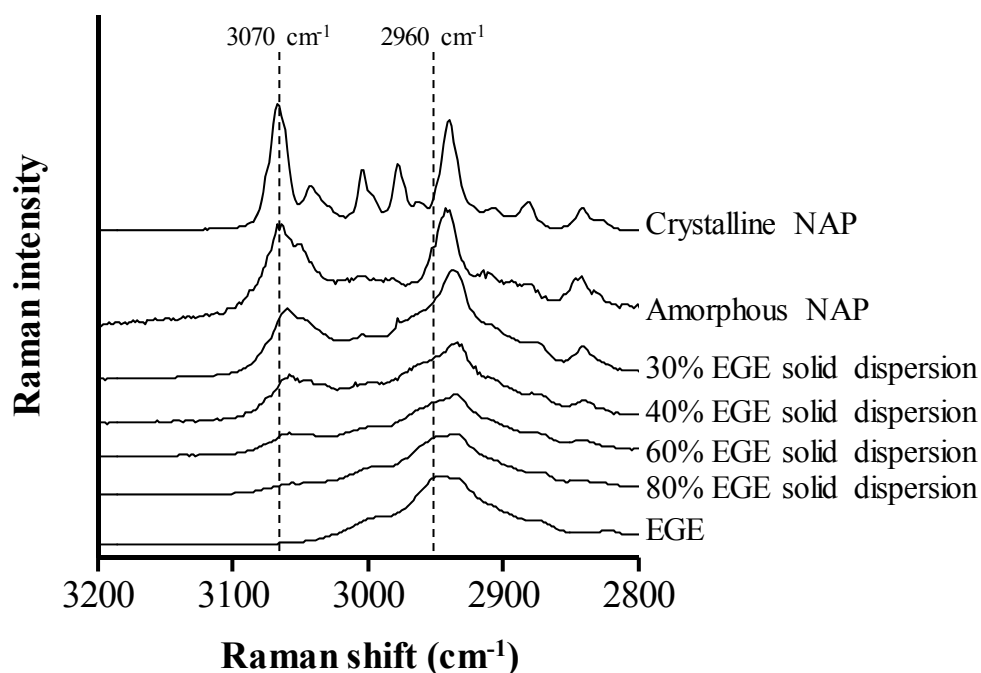


Figure 44. Raman spectra of NAP, EGE and NAP-EGE solid dispersions.

Figure 45 に、40% EGE 固体分散体の保存前後の Raman イメージを示す。保存前の Raman イメージにおいて、NAP と EGE が均一に分散していることが示された。7、30 日後の Raman イメージでも均一な分散が描かれており、40% EGE 固体分散体中において保存後も NAP と EGE は相分離を起こしておらず、均一な分散性の維持が結晶化抑制につながっていると推察された。

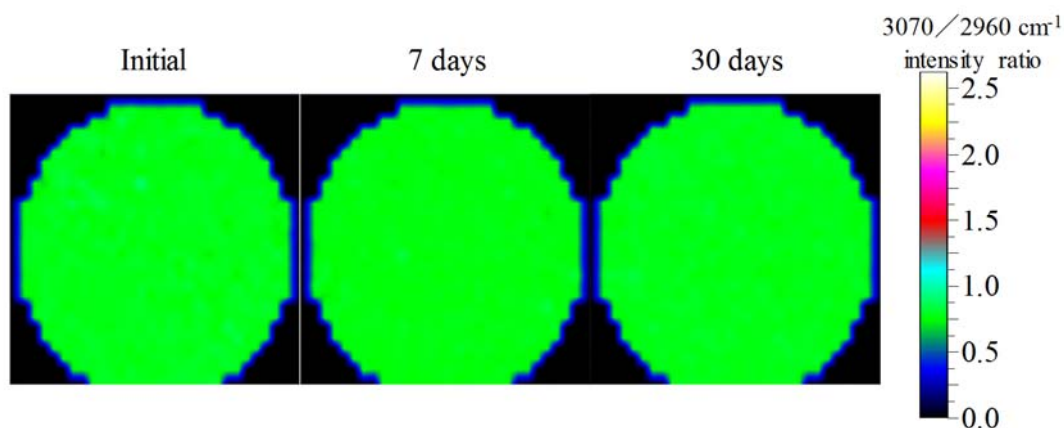


Figure 45. Raman images of 40% EGE solid dispersion before and after storage.

Figure 46 に、30% EGE 固体分散体の保存前後の Raman イメージを示す。40% EGE 固体分散体とは異なり、30% EGE 固体分散体では経時的に NAP と EGE の分散状態が変化することが示された。保存前の 30% EGE 固体分散体の Raman イメージにおいて、NAP と EGE は均一に分散していた。40% EGE 固体分散体に比べ Raman イメージ中の色が変わっているのは、組成の変化に伴い $3070/2960\text{ cm}^{-1}$ のピーク強度比が変化したことに基づいている。1 日後の Raman イメージにおいて、青色のエリアと赤色のエリアが不均一に分散している様子が見られた。赤色で示されるエリアは NAP と EGE が相分離を起こし、さらに NAP の結晶化に伴って 3070 cm^{-1} のピーク強度が増したことを表している。7 日後には、ほぼ全てのエリアが赤色と黄色になっていた。以上の Raman イメージから、30% EGE 固体分散体では保存後速やかに相分離が起こり、NAP の結晶化が引き起こされると考察された。

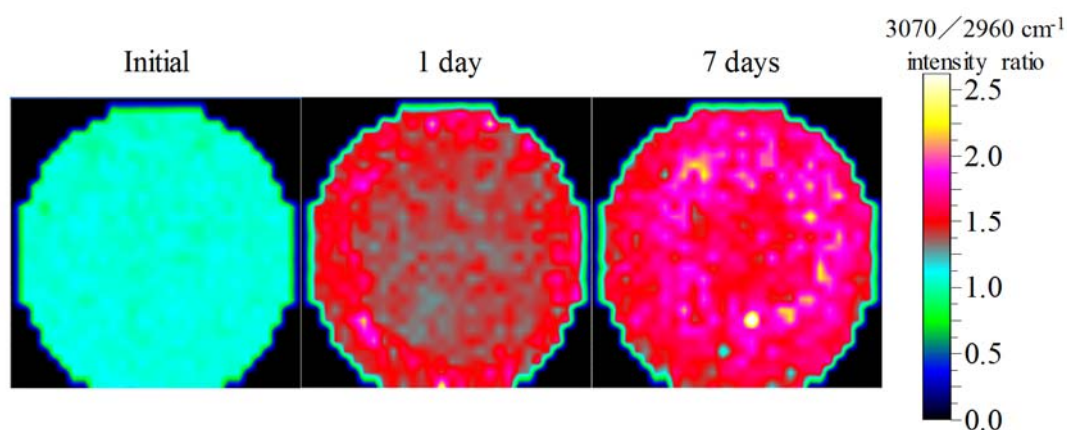


Figure 46. Raman images of 30% EGE solid dispersion before and after storage

4-3-4. FT-IR スペクトルの変化に基づいた Naproxen-Eudragit® E 分子間相互作用の評価

固体分散体中の NAP と高分子との相互作用について評価するため、NAP-PVP ならびに NAP-EGE 固体分散体の FT-IR 測定を行った。Figure 47 に、NAP-PVP 固体分散体の FT-IR スペクトルを示す。PVP のアミドの C=O 伸縮振動に由来するピークが 1648 cm^{-1} に観察された。 1648 cm^{-1} のピークは、NAP 配合量に依存して高波数側へシフトし、NAP が 70% の時に 1658 cm^{-1} に位置した。非晶質 NAP のカルボン酸の C=O 伸縮運動に由来するピークは、 1729 cm^{-1} と 1699 cm^{-1} に観察された。非晶質 IMC の FT-IR スペクトルにおいて、水素結合に関与しているカルボン酸の C=O は低波数側へピークシフトすることが報告されている³⁰。したがって、NAP の 1729 cm^{-1} と 1699 cm^{-1} のピークは、それぞれ水素結合していない状態、ならびに水素結合を形成している状態のカルボン酸に由来していると考えられた。NAP-PVP 固体分散体において、 1729 cm^{-1} のピークは組成依存的な変化を示さなかった。一方で、 1699 cm^{-1} のピークは PVP の配合量依存的な高波数シフトを示した。FT-IR スペクトルの変化から、NAP のカルボン酸と PVP のアミドが固体分散体中において水素結合を形成していることが示された。

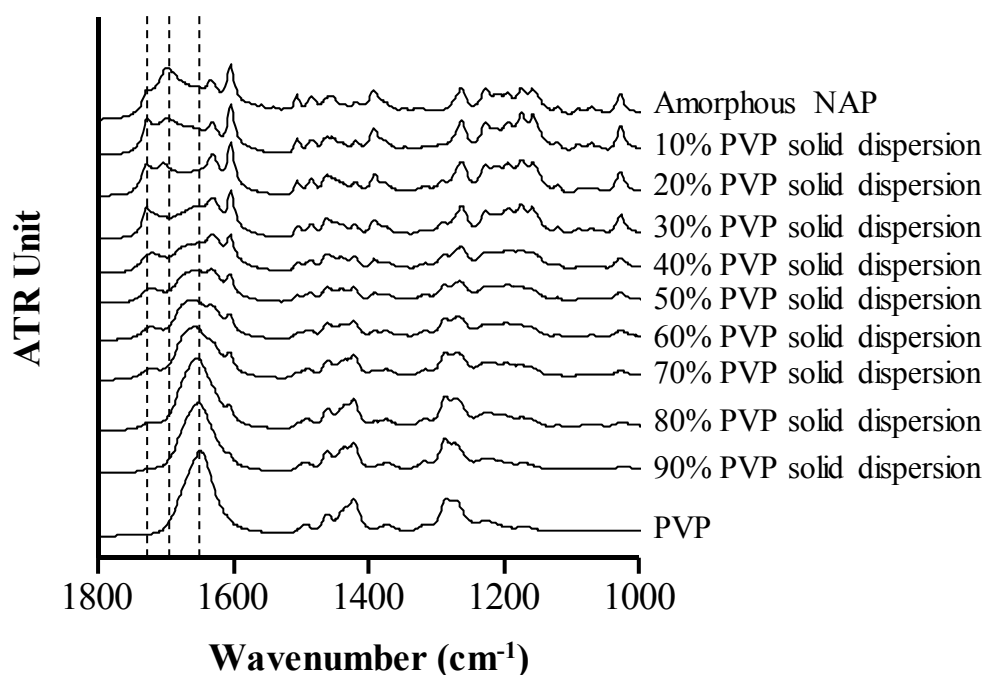


Figure 47. FT-IR spectra of NAP, PVP and NAP-PVP solid dispersions.

Figure 48 に、NAP-EGE 固体分散体の FT-IR スペクトルを示す。NAP のカルボン酸に由来する 1699 cm^{-1} のピークについては、EGE 配合量が 40%の時に 1708 cm^{-1} にシフトし、EGE が 50 %の時に消失した。加えて、 1729 cm^{-1} のピークについても、EGE の配合量が 30%の時に 1726 cm^{-1} にシフトし、さらに EGE を 40～60%に増量した時、EGE のエステル由来の C=O 由来のピーク (1722 cm^{-1}) と重なった。NAP のカルボン酸に由来する FT-IR ピークの変化から、NAP のカルボン酸は EGE との相互作用においても重要な役割を果たしており、PVP と水素結合した時よりも強く作用していることが示唆された。

NAP-EGE 固体分散体における、EGE のエステルの働きを評価するため、EGE のエステル由来の FT-IR ピークに着目した。EGE のエステル由来のピークは、C=O : 1722 cm^{-1} 、C-H : 1150 、 1190 、 1240 、 1270 cm^{-1} に観察された。Figure 48 に示す通り、EGE のエステル由来のピークに変化は見られず、EGE のエステル官能基による相互作用への関与は確認できなかった。FT-IR 測定の結果から、NAP と EGE の間にはカルボン酸と三級アミンの間にイオン性の相互作用が形成している可能性が示された。しかしながら、FT-IR ピークは NAP-EGE 配合比に依存して連続的にシフトしており、Figure 40 に示したガラス転移点 - 組成プロファイルや Figure 43 に示した結晶化傾向と関連付けることはできなかった。

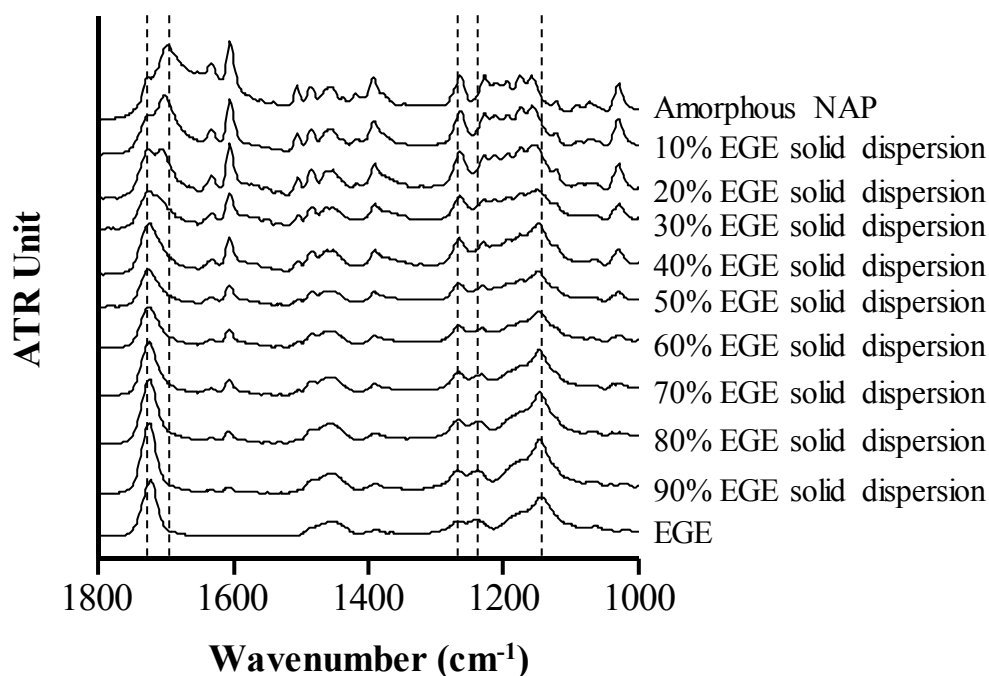


Figure 48. FT-IR spectra of NAP, EGE and NAP-EGE solid dispersions.

4-3-5. 固体 NMR 化学シフトならびに T_1 変化に基づいた Naproxen-Eudragit® E 組成依存的な非晶質構造の変化に関する考察

固体 NMR 測定法は、固体試料中に含まれる各成分の分子状態を詳細に評価する上で有用な手段である。固体分散体中の薬物／高分子の分子状態ならびに相互作用状態についても、固体 NMR 法で詳細に評価できることが報告されている^{96-99, 109}。EGE を含む固体分散体についても、 ^{13}C 固体 NMR 測定により EGE の三級アミンの相互作用への関与が報告されていた⁹⁶。

そこで、NAP-EGE 固体分散体について ^{13}C 固体 NMR 法で分子状態を評価した。Figure 49 に、結晶 NAP、EGE ならびに NAP-EGE 固体分散体の ^{13}C NMR スペクトルパターンを示す。非晶質 NAP は調製後、測定環境下で速やかに結晶化したため、NMR スペクトルを得ることはできなかった。結晶 NAP の ^{13}C 化学シフトの化学構造への帰属は過去の報告¹¹⁰を参考にした。ナフタレン環に由来する炭素ピーク (C2～C10) は 100～140 ppm に観察された。これらのピークは固体分散体のスペクトル中においてブロードニングしており、非晶質化に伴う変化であると考えられた。カルボン酸に由来するピーク (C15) は 180 ppm に観察された。このピークは 30% EGE 固体分散体中において 182 ppm にシフトした。また、40% EGE 固体分散体のスペクトルにおいてもわずかにショルダーピークとして観察されたが、EGE 含有量が 60%以上の時完全に消失したため、固体 NMR 測定において NAP のカルボン酸の状態変化を評価することは困難と判断した。

一方、EGE の NMR スペクトルは固体分散体中において、様々な変化を示した。エステルグループの炭素ピーク (●) は 178 ppm に観察された。このピークは固体分散体において、NAP 配合量依存的にブロードニングし、エステルが NAP と相互作用している可能性が示唆された。EGE のスペクトルにおいて 15～30 ppm に観察された複数のピークは、EGE の主骨格の炭素鎖 (■) に帰属した。20 ppm のピークは、NAP の配合量に依存して鋭くなり、NAP の C14 に由来するピークと重なった。EGE の N - メチルに由来するピーク (●) は 46 ppm に観察されているが、固体分散体中で変化しなかった。EGE 骨格の三級アミンの N - メチレン (▲) とエステルの O - メチル (▲) に由来するピークは、それぞれ 58 と 53 ppm に観察された。O - メチルに由来するピークは、NAP の配合により変化しなかったが、N - メチレンのピークは 20% NAP 配合時に 56 ppm へシフトし、NAP 配合量が 40%の時に消失した。EGE 骨格において、三級アミンとエステルにそれぞれ隣接する O - メチレンピークのピークは、64 (■) ならびに 65 (■) ppm に検出された。固体分散体中において、65 ppm のピークは変化しなかったが、64 ppm のピーク強度は低下した。

固体 NMR 測定において観察された EGE の三級アミンに由来するピーク変化と FT-IR 測定によって観察された NAP のカルボン酸由来のピーク変化から、

NAP のカルボン酸と EGE の三級アミンは固体分散体中においてイオン性相互作用を形成していると結論付けられた。さらに、固体 NMR スペクトルの変化から EGE のエステルが固体分散体中において相互作用部位として働いている可能性が示された。

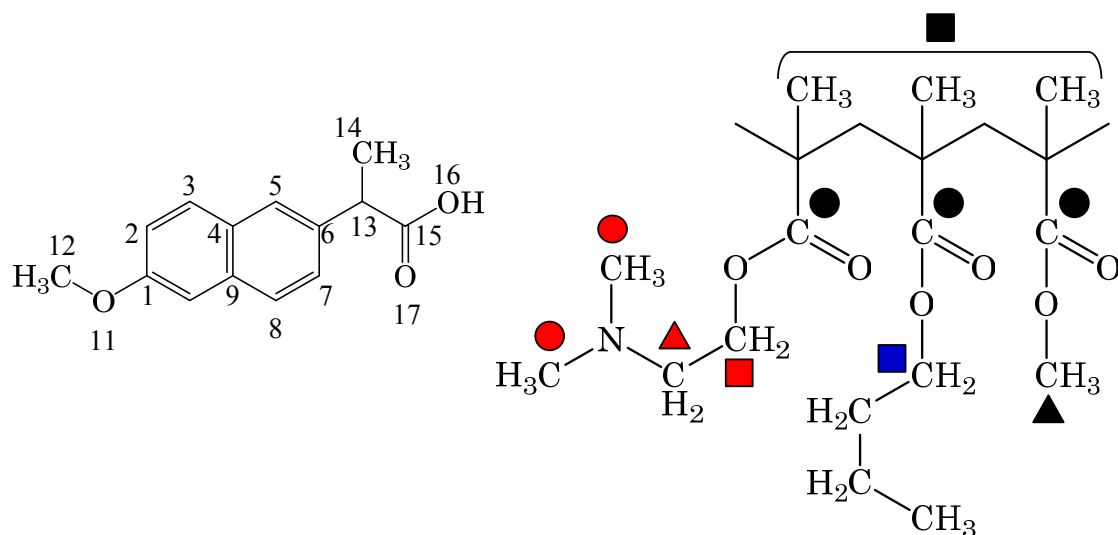
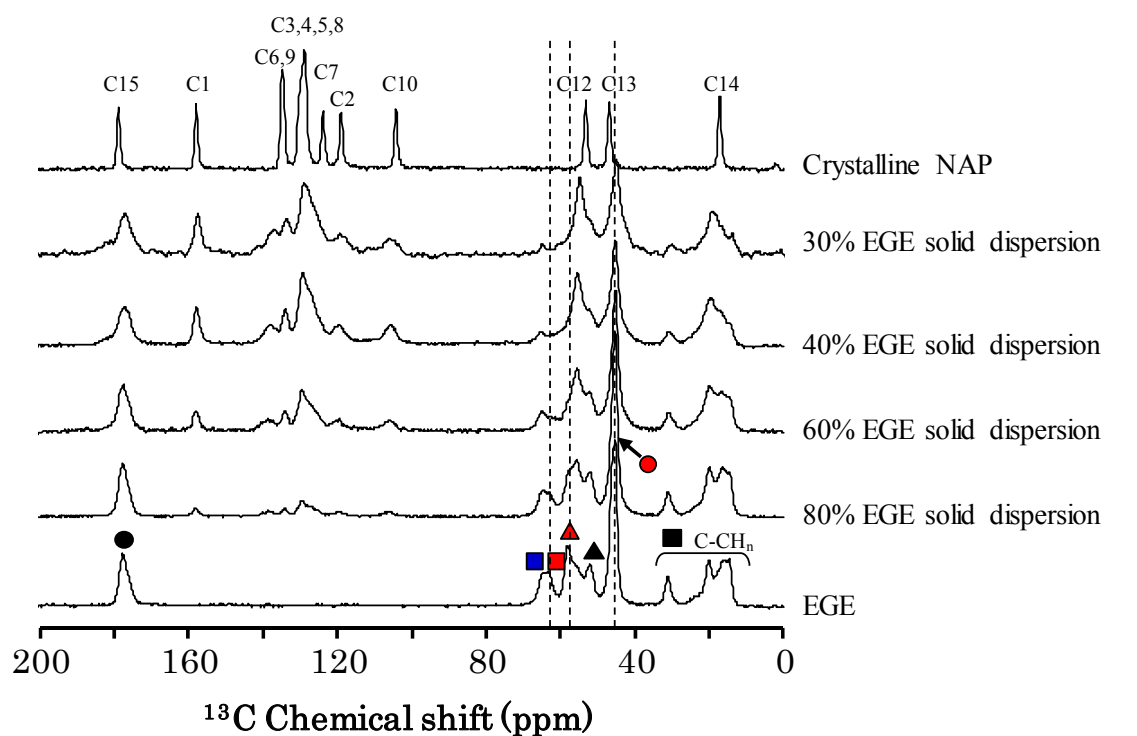


Figure 49. ^{13}C solid state-NMR spectra of NAP, EGE and NAP-EGE solid dispersions.

NAP-EGE 固体分散体の全体ならびに局所の分子運動性を評価するために、異なる組成の試料について ^1H ならびに ^{13}C のスピン - 格子緩和測定を行った。スピン - 格子緩和は縦緩和とも呼ばれ、各スピンのエネルギーが周囲の原子核に拡散していく過程を表し、 T_1 として緩和時間が表される。 ^1H - T_1 においては試料中の隣接する水素原子同士のスピン拡散が主な格子緩和過程であり、試料全体の分子運動性を反映しているとされている⁹⁶。

Figure 50 に、NAP-EGE 固体分散体の ^1H - T_1 を組成に対してプロットした結果を示す。EGE の ^1H - T_1 は、NAP の配合量依存的に上昇していく傾向を示しており、分子運動性の高い非晶質 NAP の配合により試料全体の分子運動性が変化したことが表された。この結果を考察する上で、Figure 41 に示した NAP-EGE 固体分散体のエンタルピー緩和速度の変化を参考にした。EGE のエンタルピー緩和速度は、NAP の配合量依存的に上昇していた。したがって、NAP 配合量依存的に見られた ^1H - T_1 の上昇は、分子運動性の向上に伴うものと考えることができる。また、NAP の配合量が 60 から 70% に増加した時に ^1H - T_1 の変化がほとんど見られないことも、エンタルピー緩和の結果と一致した。NAP-EGE 固体分散体において、測定した試料はいずれも単一の ^1H - T_1 プロファイルを示した。固体分散体において、非晶質薬物と高分子基剤が数十 nm スケールで均一に分散している時には ^1H - T_1 は単一のプロファイルとして示されることが報告されており¹¹¹⁻¹¹³、NAP と EGE は固体分散体中で数十 nm 以内の距離で均一に分散していることが示された。しかしながら、 ^1H - T_1 測定においてもエンタルピー緩和と同様の結果が示され、試料全体の分子運動性と NAP-EGE 固体分散体を示す特異的な熱挙動や結晶化傾向と関連付けづけることはできなかった。

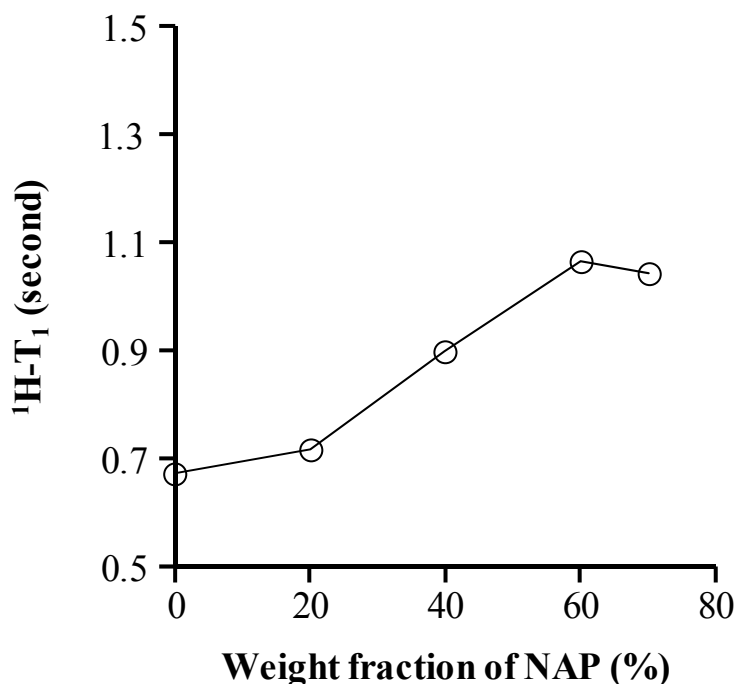


Figure 50. $^1\text{H-T}_1$ of NAP-EGE solid dispersion as a function of proportion.

$^1\text{H-T}_1$ が試料全体の運動性を反映しているのに対し、 $^{13}\text{C-T}_1$ は炭素原子に結合している水素原子のスピン - スピン緩和を通じて局所の運動性を評価することを可能とする¹¹⁴⁻¹¹⁶。EGE を含む固体分散体においても、 $^{13}\text{C-T}_1$ の変化から、EGE の三級アミンと酸性薬物のカルボン酸の相互作用状態が明らかにされた例が報告されている⁹⁶。

NAP-EGE 固体分散中の EGE の三級アミンならびにエステルとの相互作用への関与を詳細に検討するため、 $^{13}\text{C-T}_1$ による局所の運動性評価を行った。 $^{13}\text{C-T}_1$ の測定対象として、Figure 49 に示したエステルグループの炭素原子 (178 ppm : ●)、EGE 主骨格の炭素鎖 (15~30 ppm : ■)、N - メチルの炭素原子 (46ppm : ●)、三級アミンの N - メチレンの炭素原子 (58ppm、▲) とエステルの O - メチルの炭素原子 (53 ppm : ▲) を選定した。Figure 51 に、NAP 配合量に対する EGE 骨格中の各炭素原子の $^{13}\text{C-T}_1$ の変化をプロットした。EGE 骨格中の各炭素原子はそれぞれ固有の T_1 値を示し、また NAP 配合量に依存した変化についてもそれぞれ異なるパターンを示した。Nunes らの報告では、非晶質薬物の炭素原子の不均一な運動性が、非晶質構造を安定化させたことが述べられている¹¹⁷。したがって、EGE の骨格中の炭素原子が、NAP との配合時にそれぞれ異なる挙動を示したこ

とは、固体分散体の非晶質構造を考察する上で重要な知見であると考えられた。

EGE 骨格において、特に三級アミンの N - メチレン (▲) とエステルグループ (●) に由来する炭素原子は、NAP の配合量依存的にその $^{13}\text{C-T}_1$ 値が大きく変化した。N - メチレン由来の $^{13}\text{C-T}_1$ 値は NAP を 20% 配合した時に上昇し、その運動性が活性化されていることが示された。しかしながら、NAP 配合量が 30% 以上の時に、 $^{13}\text{C-T}_1$ 値は減少する傾向を示し、NAP 配合量が 70% の時に EGE 固有の値とほぼ一致した。また、178 ppm に観察される EGE 骨格中エステルグループにおいても、NAP の配合量依存的に $^{13}\text{C-T}_1$ 値が上昇するという変化を示した。三級アミンやエステルグループに由来する炭素原子の変化に対して、EGE の主骨格を構成する炭素原子においては、 $^{13}\text{C-T}_1$ 値の変化は見られなかった。以上の結果より、NAP-EGE 固体分散体中において、EGE は三級アミンのみならず、エステルも NAP と相互作用していることが明らかとなった。さらに、EGE の三級アミンとエステルの相互作用への関与については、組成に依存して変化していることが特徴づけられた。

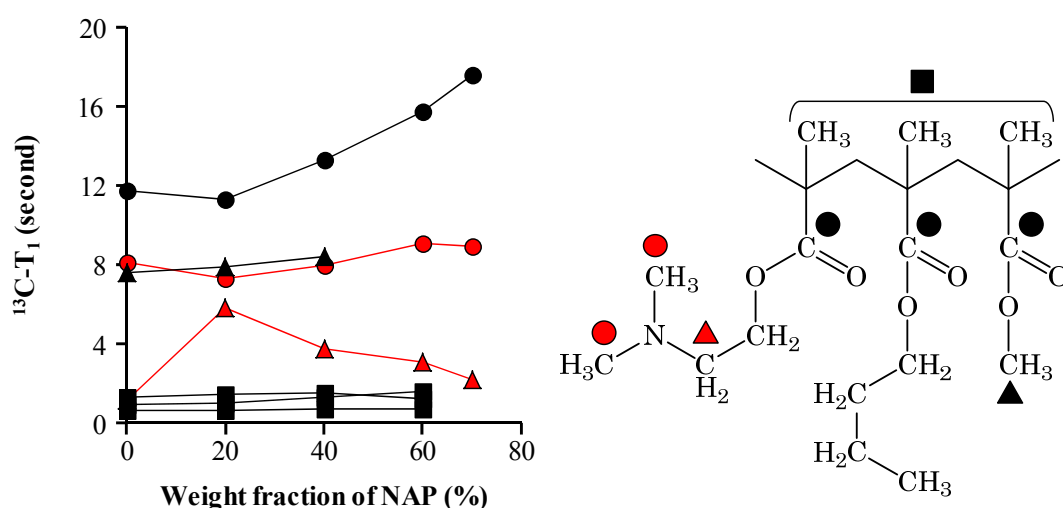


Figure 51. $^{13}\text{C-T}_1$ of NAP-EGE solid dispersion as a function of proportion.

固体分散体中における EGE 骨格の官能基の働きについて、Ibuprofen-EGE 固体分散体の研究報告を参照した¹¹⁸。構造修飾により、EGE 骨格内の三級アミン比率を 45 から 28% へ低下させた時、試料のガラス転移点が上昇していた。しかしながら、三級アミン比率を 17% まで低下させたとき、Ibuprofen と EGE の相分離が示されていた。報告の中で、EGE 内の三級アミンは、酸性薬物との相互作用において非常に重要であり、その含有量の変化が相互作用様式を変化させる

と結論付けられていた。また、EGE 骨格のエステルに隣接する *n*-ブチルを *t*-ブチルやイソブチルグループに置換したところ、Ibuprofen との相互作用に変化は見られないと報告されていた。したがって、NAP-EGE 固体分散体においても、NAP との相互作用には O-メチル (▲) ならびに O-メチレン (■) に隣接しているエステルが関与していると推察できた。

Figure 52 に、固体 NMR 測定の結果から導いた、固体分散体中における NAP と EGE の相互作用様式の変化について示す。NAP と EGE の比率が 20:80 の時、EGE の三級アミンがイオン性相互作用に大きく関与し、安定な非晶質構造の形成に寄与する。固体分散体中の NAP 配合量が 30~60% の時、EGE の三級アミン、O-メチルならびに O-メチレンに隣接するエステルが共に相互作用部位として働いており、ガラス転移点の上昇や高い非晶質状態の維持を示す。しかしながら、NAP 配合量が 70% に達した時、EGE 骨格中の三級アミンと NAP の相互作用は消失しており、不安定化した非晶質構造がガラス転移点や結晶化傾向に急激な変化がもたらす。NAP と IMC 共に、EGE に対して 3.62 のモル比で配合された際に、固体分散体のガラス転移点は極大値を示すことから、EGE と IMC においても NAP-EGE 固体分散体で見られたような、組成依存的な相互作用メカニズムの変化が起こっていることが予測される。

熱分析、FT-IR 分析ならびに固体 NMR 測定から、固体分散体中における EGE と酸性薬物の分子状態ならびに組成に依存して変化する相互作用様式を明らかにすることができた。このような情報は、今後の固体分散体研究において最適な処方設計を行う上で、重要な知見になると考える。

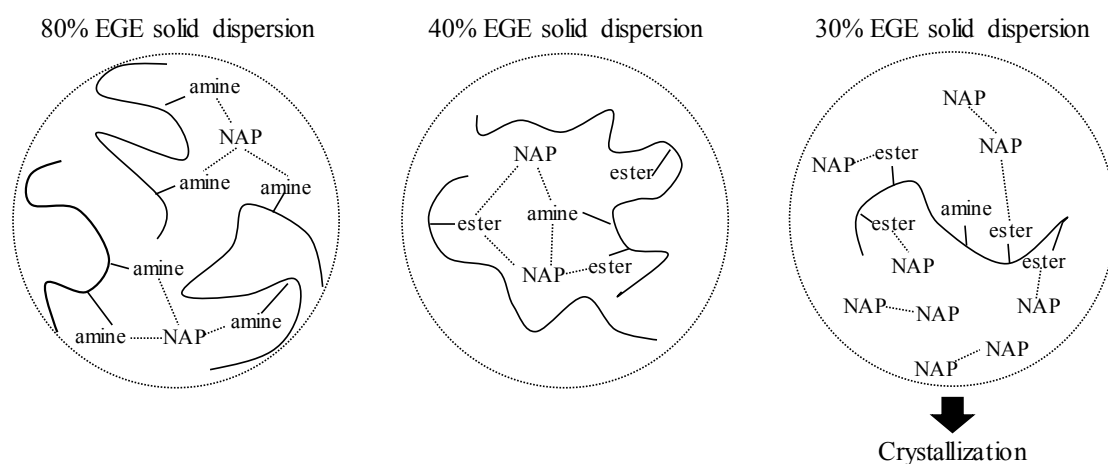


Figure 52. Schematic image for intermolecular interaction changes with proportion between NAP and EGE.

4-4. 結論

本章では、固体分散体中における塩基性高分子 EGE と酸性薬物 NAP の分子状態ならびに相互作用様式について解明を行った。DSC 測定において、EGE のガラス転移点は NAP を 20%配合することで低下するが、NAP 配合量が 30~60% の時に上昇に転じた。NAP が 60%配合された時にガラス転移点は最大値を示し、NAP が 70%以上の時に急激な低下を示した。IMC-EGE 固体分散体でも同様の傾向が報告されており、ガラス転移点が最大値を示す時の NAP/EGE ならびに IMC/EGE のモル比はそれぞれ 3.62 ならびに 3.63 とほぼ一致した。

NAP 配合量を 60%から 70%に増量した際に観察されたガラス転移点の低下は、固体分散体の結晶化傾向と関連していた。固体分散体中の NAP と EGE の比が 60 : 40 の試料では 40°C・75% RH 条件下で高い非晶質安定性を示した。しかしながら 30% EGE 固体分散体は、保存後 1 日以内に結晶化が起これ、Raman イメージから NAP と EGE が相分離している様子も観察された。エンタルピー緩和測定ならびに $^1\text{H-T}_1$ 測定による試料全体の分子運動性からは、30% EGE 固体分散体で見られた急激な結晶化傾向については説明できなかった。

FT-IR 分析により、固体分散体中の NAP と EGE の相互作用を評価したところ、NAP のカルボン酸に由来するピークがシフトした。また、固体分散体中の EGE の $^{13}\text{C-T}_1$ を評価したところ、三級アミンとエステル両官能基が NAP との相互作用に関与していることが明らかとなった。さらに、NAP 配合量依存的に相互作用に対する三級アミンの関与は小さくなり、反対にエステルの寄与が大きくなった。30% EGE 固体分散体においては三級アミンの相互作用への関与は消失しており、非晶質構造が不安定したことが NAP の急速な結晶化をもたらしたと結論付けられた。

一般的に、高分子の配合量が多い程、非晶質薬物の結晶化傾向は抑制されるため、目的とする薬物の非晶質状態を維持するために多量の高分子の配合が求められる可能性がある。しかしながら、配合する高分子量の増加は、コストの増大や生産の低下、また最終製剤の大型化をもたらすことがリスクとして挙げられる。一方、EGE を担体とした固体分散体においては、目的とする薬物に対して特定のモル比で配合した時に、安定な非晶質構造を形成するため、必ずしもその配合量を増加させる必要はないと考えられる。本研究で示したような科学的根拠に基づき、目的とする薬物と EGE との相互作用メカニズムを理解することで、最適な EGE の配合量を効率的に設定することが可能となり、高い商品価値を有する固体分散体を設計することが可能となる。

総括

本稿では、難溶性薬物の非晶質化により溶解性の向上を図る「非晶質薬物」ならびに高分子の配合により非晶質状態を安定化した「固体分散体」に着目し、物理化学的な観点から検討を行った。第1章では、非晶質 IMC の経時的な結晶化過程について Raman マッピング法による評価を行った。Raman イメージの変化から、試料中の結晶化速度が不均一であることが示され、任意エリアの変化をそれぞれ速度論解析することで結晶化メカニズムを考察できることを述べた。第2章では、小型熱熔融法である超音波打錠機を用いて、少量試料を熱熔融させた時の工程モニタリングを行った。モニタリングプロファイルは超音波打錠中の試料の状態変化を反映しており、最適な試料の超音波打錠条件を設定できることを示した。第3章では、PVA copolymer の物性評価を行い固体分散体基剤としての有用性を検証した。XRPD パターンや DSC プロファイルから、PVA copolymer は周期構造を有する高分子であり比較的吸湿性が低いこと、また、特異的な相互作用を形成することで非晶質 IMC の結晶化を抑制することを明らかにした。第4章では、酸性薬物である NAP と塩基性高分子である EGE から成る固体分散体が、組成に依存して示す特異的なガラス転移点変化についてメカニズム解明を行った。固体 NMR 法による局所の分子運動性評価から、組成によって EGE 骨格内の異なる官能基が相互作用に関与しており、非晶質構造が変化することでガラス転移点や結晶化傾向が影響を受けることを明らかにした。

Figure 53 に、本研究成果による難溶性医薬品の研究開発への寄与について示す。創薬初期及び非臨床試験段階において、化合物の難溶性に伴い目的とする経口吸収性が得られない場合、安全性試験や薬効評価試験が実施できない可能性がある。この問題を解決する手段として、少量原薬を用いて固体分散体設計を行うことが必要となる。非臨床試験以前の段階で、検討に使用できる化合物量は限られているため、熱分析のような mg スケールの評価法で、化合物と高分子基剤との相溶性を評価する。次に、少量の薬物と高分子を用いて固体分散体の調製検討を行う。g スケール以下の検討においては、これまで薬物 - 高分子溶解液の蒸発乾固法が採用されてきたが、今後は簡便かつ短時間で熱熔融できる超音波打錠法を適用していくことも視野に入れる必要がある。また、工程モニタリングの活用による最適な超音波打錠条件を設定することで、より効率的な固体分散体調製が可能になる。固体分散体の処方設計を行う上で、薬物の物性に適した高分子の選択を行う必要があり、選択できる高分子基剤が多い程成功確率は向上すると考えられる。今後は、固体分散体基剤として汎用される PVP や PVPVA に加えて、本研究でその有用性が明らかとなった PVA copolymer のよ

うな新規基剤の適用も考慮することが重要である。調製した固体分散体については、溶出性や各種物性評価結果に基づいて処方選定を行う。固体分散体の物性を正しく把握する上で、本稿の各章に記した熱分析法や分光測定法ならびに XRPD 法等が代表的な測定法として汎用されている。加えて、Raman マッピング測定により非晶質薬物の結晶化傾向を詳細に把握する事や、固体 NMR 法による局所の分子運動性評価により、薬物 - 高分子の相互作用様式を解明することが可能となる。非晶質薬物の結晶化傾向や、薬物 - 高分子間相互作用に関する知見は、効率よく固体分散体を設計する上で重要であり、今後さらに Raman マッピング法や固体 NMR 法の適用を推進していく必要がある。

少量原薬を用いて設計された固体分散体は非臨床試験に供され、目的とする試験を実施後、正式に医薬品開発候補化合物として選定される。この際に、アニマルスケールアップによるヒトの薬物動態予測を通じて、臨床試験以降も可溶化技術の適用が必要か見極めることが重要である。また、結晶薬物で臨床開発を進めると判断した場合でも、臨床試験において目的の吸収性に達しなかった場合は、固体分散体を始めとする可溶化技術の適用について再び考える必要がある。臨床試験及び上市を見据えた固体分散体では、長期間非晶質状態を維持すること、利便性／使用性に優れた製剤であること、生産法が確立できることが特に重要な点として挙げられる。創薬初期及び非臨床試験段階で得られた各種物理化学的知見は、長期間における結晶化傾向の予測や、製造を生産レベルへスケールアップする際に重要な情報となり、開発期間の短縮に貢献する。

以上、本稿で述べたように固体分散体中の非晶質薬物ならびに高分子基剤の分子状態を正確に把握することは非臨床・臨床試験段階を問わず、理想的な固体分散体制剤を設計する上で必要不可欠であり、今後さらに物理化学的見地からの研究が推進されていくと考える。

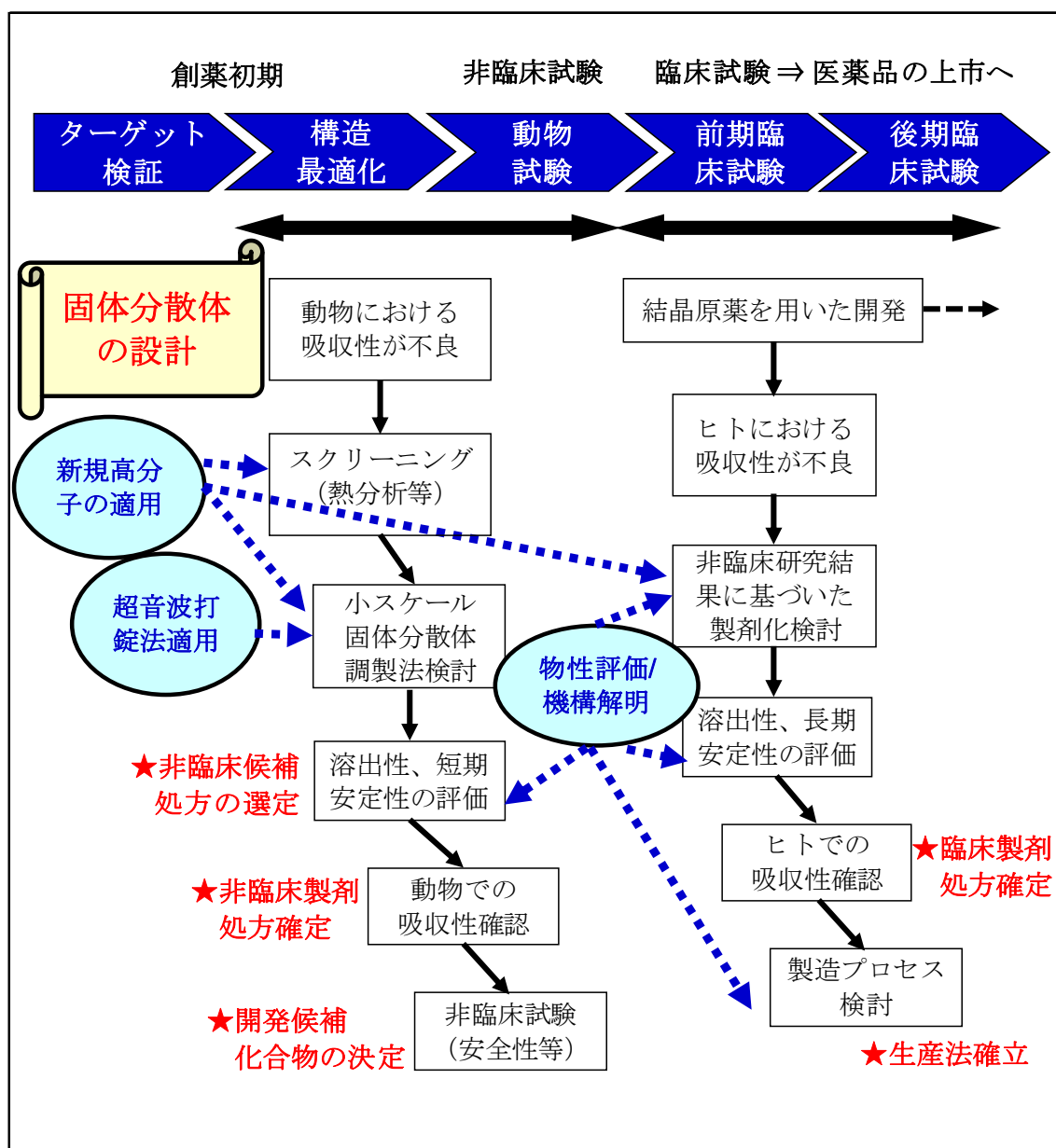


Figure 53. Contribution of the findings obtained from the chapter 1-4 to design of solid dispersion on pre-clinical and clinical stages.

謝辞

終わりに臨み、本論文を執筆する上で御指導そして御協力いただいた数多くの方に謝意を表します。

始めに、恩師 戸塚裕一教授は平成 24 年 4 月に大阪薬科大学・製剤設計学研究室に赴任された後、研究室の立ち上げ時期だったにも関わらず研究方針から論文執筆まで終始御懇意なる御指導、御鞭撻を賜りました。このような御指導なくして本論文の完成はありえず、衷心より深甚なる謝意を表します。また、大阪薬科大学 門田和紀講師には研究論文の執筆に関して終始有益なるご指導、ご鞭撻を賜りましたことに深く感謝いたします。大阪薬科大学 掛見正郎名誉教授には、大阪薬科大学大学院博士前期課程修了後も有益なご助言をして頂きました。深く感謝しております。

本論文に記した研究を行う機会を与えて頂いた元塩野義製薬株式会社・物性製剤グループ長 井田泰夫氏、塩野義製薬株式会社・物性製剤グループ長 遠藤毅氏ならびに応用化学・分析部門長 馬場良泰博士に深謝致します。特に、井田泰夫氏には私が物性製剤グループへ配属後から医薬品の物性評価ならびに非晶質物性研究について一貫して御指導、御鞭撻を頂いたことで本研究を推進することができました。多大なる御支援に対し、心より御礼申し上げます。また、本研究に対して種々の御助言ならびに御協力を戴きました塩野義製薬株式会社・物性製剤グループ 菊池純子博士、若林忍氏、加嶋様祐博士に厚くお礼申し上げます。塩野義製薬株式会社・製剤研究センター 相川昇平氏、河合亮氏ならびに元塩野義製薬株式会社・製剤研究センター 林隆志博士、谷野忠嗣博士には私が製剤研究センターから物性製剤グループへ転籍後も多大なご支援を頂きました。感謝致します。

各種試料の提供や研究に対する御助言を頂きましたエボニックデグサジャパン株式会社 濱健二氏、BASF ジャパン株式会社 岸潤一郎氏、日新化成株式会社 武田孝行氏ならびに樋口商会株式会社 寺岡誠氏に深く感謝いたします。

最後に、本研究の実施ならびに本論文の執筆に対して温かく見守って下さった家族に謝意を捧げます。

参考文献

1. 内閣府. 経済活動別国内総生産（名目）.
(http://www.esri.cao.go.jp/jp/sna/data/data_list/kakuhou/files/h25/h25_kaku_top.html), (2013).
2. 厚生労働省. 医薬品産業ビジョン 2013～創薬環境の国家間競争を勝ち抜くために、次元の違う取組みを～.
(http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/iryoku/shinkou/dl/vison_2013a.pdf), (2013).
3. 厚生労働省. 医薬品産業ビジョン 2013 資料編.
(http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/iryoku/shinkou/dl/vison_2013b.pdf), (2013).
4. Kinch MS., Haynesworth A., Kinch SG., Hoyer D. An overview of FDA-approved new molecular entities: 1827-2013. *Drug Discov. Today*, 19, 1033-1039 (2013).
5. Kinch MS. An overview of FDA-approved biologic medicines. *Drug Discov. Today*, 20, 393-398 (2015).
6. Williams HD., Trevaskis NL., Charman SA., Shanker RM., Charman WN., Pouton CW., Porter CJ. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. *Pharmacol. Rev.*, 65, 315-499 (2013).
7. Ku MS., Dulin W. A biopharmaceutical classification-based Right-First-Time formulation approach to reduce human pharmacokinetic variability and project cycle time from First-In-Human to clinical Proof-Of-Concept. *Pharm. Dev. Technol.*, 17, 285-302 (2007).
8. Sakai T., Sako K., Hayashi M. Factors affecting the absorption of nilvadipine from disintegration-controlled matrix tablet in dogs. *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 1731-1736 (2011).
9. Tajiri S., Kanamaru T., Yoshida K., Hosoi Y., Fukui S., Konno T., Yada S., Nakagami H. Colonoscopic method for estimating the colonic absorption of

extended-release dosage forms in dogs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 75, 238-244 (2010).

10. Taketomo CK., Chu SA., Cheng MH., Corpuz RP. Stability of captopril in powder papers under three storage conditions. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 47, 1799-1801 (1990).
11. Bharate SS., Vishwakarma RA. Impact of preformulation on drug development. *Expert. Opin. Drug Deliv.*, 10, 1239-1257 (2013).
12. Paulekuhn GS., Dressman JB., Saal C. Trends in active pharmaceutical ingredient salt selection based on analysis of the Orange Book database. *J. Med. Chem.*, 50, 6665-6672 (2007).
13. Elder DP., Holm R., Diego HL. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *Int. J. Pharm.*, 453, 88-100 (2013).
14. Luu V., Jona J., Stanton MK., Peterson ML., Morrison HG., Nagapudi K., Tan H. High-throughput 96-well solvent mediated sonic blending synthesis and on-plate solid/solution stability characterization of pharmaceutical cocrystals. *Int. J. Pharm.*, 441, 356-64 (2013).
15. Berthelsen R., Holm R., Jacobsen J., Kristensen J., Abrahamsson B., Müllertz A. Kolliphor surfactants affect solubilization and bioavailability of fenofibrate. Studies of in vitro digestion and absorption in rats. *Mol. Pharm.*, 12, 1062-1071 (2015).
16. Vasconcelos T., Sarmiento B., Costa P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug Discov. Today*, 12, 1068-1075 (2007).
17. Kawabata Y., Wada K., Nakatani M., Yamada S., Onoue S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications. *Int. J. Pharm.*, 420, 1-10 (2011).
18. Möschwitzer JP. Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development process. *Int. J. Pharm.*, 453, 142-156 (2013).

19. Brough C., Williams RO. 3rd. Amorphous solid dispersions and nano-crystal technologies for poorly water-soluble drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 453, 157-166 (2013).
20. Branch SK., Agranat I. "New drug" designations for new therapeutic entities: new active substance, new chemical entity, new biological entity, new molecular entity. *J. Med. Chem.*, 57, 8729-8765 (2014).
21. Gad SC., Cassidy CD., Aubert N., Spainhour B., Robbe H. Nonclinical vehicle use in studies by multiple routes in multiple species. *Int. J. Toxicol.*, 25, 499-521 (2006).
22. Vo CL., Park C., Lee BJ. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 85, 799-813 (2013).
23. Kawakami K., Ida Y. Direct observation of the enthalpy relaxation and the recovery processes of maltose-based amorphous formulation by isothermal microcalorimetry. *J. Pharm. Sci.*, 20, 1430–1436 (2003).
24. Shamblin SL., Zografi G. Enthalpy relaxation in binary amorphous mixtures containing sucrose. *Pharm. Res.*, 15, 1828-1834 (1998).
25. Matumoto T., Zografi G. Physical properties of solid molecular dispersions of indomethacin with poly(vinylpyrrolidone) and poly(vinylpyrrolidone-co-vinyl-acetate) in relation to indomethacin crystallization. *Pharm. Res.*, 16, 1722-1728 (1999).
26. Bevernage J., Hens B., Brouwers J., Tack J., Annaert P., Augustijns P. Supersaturation in human gastric fluids. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 81, 184-189 (2012).
27. Bevernage J., Forier T., Brouwers J., Tack J., Annaert P., Augustijns P. Excipient-mediated supersaturation stabilization in human intestinal fluids. *Mol. Pharm.*, 8, 564–570 (2011).
28. Crowley KJ., Zografi G. Cryogenic grinding of indomethacin polymorphs and solvates: assessment of amorphous phase formation and amorphous phase physical stability. *J. Pharm. Sci.*, 91, 492-507 (2002).

29. Pan X., Julian T., Augsburger L. Quantitative measurement of indomethacin crystallinity in indomethacin-silica gel binary system using differential scanning calorimetry and X-ray powder diffractometry. *AAPS PharmSciTech.*, 7, E72-E78 (2006).
30. Taylor LS., Zografi G. Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. *Pharm. Res.*, 14, 1691-1698 (1997).
31. Okumura T., Otsuka M. Evaluation of the microcrystallinity of a drug substance, indomethacin, in a pharmaceutical model tablet by chemometric FT-Raman spectroscopy. *Pharm. Res.*, 22, 1350-1357 (2005).
32. Saerens L., Dierickx L., Lenain B., Vervaet C., Remon JP., De Beer T. Raman spectroscopy for the in-line polymer-drug quantification and solid state characterization during a pharmaceutical hot-melt extrusion process. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 77, 158-163 (2011).
33. Widjaja E., Kanaujia P., Lau G., Ng WK., Garland M., Saal C., Hanefeld A., Fischbach M., Maio M., Tan RB. Detection of trace crystallinity in an amorphous system using Raman microscopy and chemometric analysis. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 42, 45-54 (2011).
34. Furuyama N., Hasegawa S., Hamaura T., Yada S., Nakagami H., Yonemochi E., Terada K. Evaluation of solid dispersions on a molecular level by the Raman mapping technique. *Int. J. Pharm.*, 361, 12-18 (2008).
35. Zidan AS., Rahman Z., Sayeed V., Raw A., Yu L., Khan MA. Crystallinity evaluation of tacrolimus solid dispersions by chemometric analysis. *Int. J. Pharm.*, 423, 341-350 (2012).
36. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH, harmonised tripartite guideline validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). (2005).
37. Kaneniwa N., Otsuka M., Hayashi T. Physicochemical characterization of indomethacin polymorphs and the transformation kinetics in ethanol. *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 3447-3455 (1985).

38. Yoshioka M., Hancock B., Zografi G. Crystallization of indomethacin from amorphous state below and above its glass transition temperature. *J. Pharm. Sci.*, 83, 1700-1705 (1994).
39. Crowley KJ., Zografi G. The effect of low concentrations of molecularly dispersed poly(vinylpyrrolidone) on indomethacin crystallization from the amorphous state. *Pharm. Res.*, 20, 1417-1422 (2003).
40. Andronis V., Yoshioka M., Zografi G. Effects of sorbed water on the crystallization of indomethacin from the amorphous state. *J. Pharm. Sci.*, 86, 346-351 (1997)
41. Li X., Nail SL. Kinetics of glycine crystallization during freezing of sucrose/glycine excipient systems. *J. Pharm. Sci.*, 94, 625-631 (2005).
42. Watanabe T., Wakiyama N., Usui F., Ikeda M., Isobe T., Senna M. Stability of amorphous indomethacin compounded with silica. *Int. J. Pharm.*, 226, 81-91 (2001).
43. Buckton G., Ambarkhane A., Pincott K. The use of inverse phase gas chromatography to study the glass transition temperature of a powder surface. *Pharm. Res.*, 21, 1554-1557 (2004).
44. Dong Z., Chatterji A., Sandhu H., Choi DS., Chokshi H., Shah N. Evaluation of solid state properties of solid dispersions prepared by hot-melt extrusion and solvent co-precipitation. *Int. J. Pharm.*, 355, 141-149 (2008).
45. Guns S., Dereymaker A., Kayaert P., Mathot V., Martens JA., Van den Mooter G. Comparison between hot-melt extrusion and spray-drying for manufacturing solid dispersions of the graft copolymer of ethylene glycol and vinylalcohol. *Pharm. Res.*, 28, 673-682 (2011).
46. He X., Pei L., Tong HH., Zheng Y. Comparison of spray freeze drying and the solvent evaporation method for preparing solid dispersions of baicalin with Pluronic F68 to improve dissolution and oral bioavailability. *AAPS PharmSciTech.*, 12, 104-113 (2010).
47. Jijun F., Lishuang X., Xiaoguang T., Min S., Mingming Z., Haibing H., Xing T. The inhibition effect of high storage temperature on the recrystallization rate

- during dissolution of nimodipine–kollidon VA64 solid dispersions (NM–SD) prepared by hot-melt extrusion. *J. Pharm. Sci.*, 100, 1643-1647 (2011).
48. Newman A., Engers D., Bates S., Ivanisevic I., Kelly RC., Zografi G. Characterization of amorphous API:polymer mixtures using X-Ray powder diffraction. *J. Pharm. Sci.*, 97, 4840-4856 (2008).
 49. Ozgüney I., Shuwisitkul D., Bodmeier R. Development and characterization of extended release Kollidon® SR mini-matrices prepared by hot-melt extrusion. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 73, 140-145 (2009).
 50. Karmwar P., Graeser K., Gordon KC., Strachan C., Rades T. Investigation of properties and recrystallization behavior of amorphous indomethacin samples prepared by different methods. *Int. J. Pharm.*, 417, 94-100 (2011).
 51. Muehlenfeld C., Thommes M. Miniaturization in Pharmaceutical Extrusion Technology: Feeding as a Challenge of Downscaling. *AAPS Pharmscitech.*, 13, 94-100 (2011).
 52. Guns S., Mathot V., Martens JA., Van den Mooter G. Upscaling of the hot-melt extrusion process: Comparison between laboratory scale and pilot scale production of solid dispersions with miconazole and Kollicoat® IR. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 81, 674-682 (2012).
 53. Matsuoka S. Effects of ultrasonic vibration on the compaction molding of polymeric powders. *J. Mater. Process Technol.*, 40, 443-450 (1994).
 54. Fini A., Fernández-Hervàs MJ., Holgado MA., Rodriguez L., Cavallari C., Passerini N., Caputo O. Fractal analysis of beta-cyclodextrin-indomethacin particles compacted by ultrasound. *J. Pharm. Sci.*, 86, 1303-1309 (1997).
 55. Rodriguez L., Cini M., Cavallari C., Passerini N., Fabrizio Saettone M., Fini A., Caputo O. Evaluation of theophylline tablets compacted by means of a novel ultrasound-assisted apparatus. *Int. J. Pharm.*, 170, 201-208 (1998).
 56. Sancin P., Caputo O., Cavallari C., Passerini N., Rodriguez L., Cini M., Fini A. Effects of ultrasound-assisted compaction on Ketoprofen/ Eudragit® S100 Mixtures. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 7, 207-213 (1999).

57. Fini A., Holgado MA., Rodriguez L., Cavallari C. Ultrasound-compacted indomethacin/polyvinylpyrrolidone systems: effect of compaction process on particle morphology and dissolution behavior. *J. Pharm. Sci.*, 91, 1880-1890 (2002).
58. Kelly AL., Gough T., Dhumal RS., Halsey SA., Paradkar A. Monitoring ibuprofen-nicotinamide cocrystal formation during solvent free continuous cocrystallization (SFCC) using near infrared spectroscopy as a PAT tool. *Int. J. Pharm. Sci.*, 426, 15-20 (2012).
59. Taylor LS., Langkilde FW., Zografi G. Fourier transform Raman spectroscopic study of the interaction of water vapor with amorphous polymers. *J. Pharm. Sci.*, 90, 888-901 (2001).
60. Kalivoda A., Fischbach M, Maio M, Kleinebudde P. Preliminary studies to assess ultrasound-assisted compaction as a potential novel technique in solid dispersion preparation. *Pharm. Ind.*, 74, 652-662 (2012).
61. Chiao CS., Price JC. Effect of compression pressure on physical properties and dissolution characteristics of disintegrating tablets of propranolol microspheres. *J. Microencapsul.*, 11, 161-170 (1994).
62. Fitzpatrick S., McCabe JF., Petts CR., Booth SW. Effect of moisture on polyvinylpyrrolidone in accelerated stability testing. *Int. J. Pharm.*, 246, 143-151 (2002).
63. Hamaura T., Newton JM. Interaction between water and poly(vinylpyrrolidone) containing polyethylene glycol. *J. Pharm. Sci.*, 88, 1228-1233 (1999).
64. Hasegawa S., Hamaura T., Furuyama N., Kusai A., Yonemochi E., Terada K. Effects of water content in physical mixture and heating temperature on crystallinity of troglitazone-PVP K30 solid dispersions prepared by closed melting method. *Int. J. Pharm.*, 302, 103-112 (2005).
65. BASF publication. Technical information on Kollidon® SR.
(http://www.pharma-ingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_030728e_Kollidon%20SR.pdf), (2008).

66. BASF publication. Technical information on Soluplus®.
(http://www.pharma-ingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_090801e_Soluplus.pdf), (2010).
67. Ozgüney I., Shuwisitkul D., Bodmeier R. Development and characterization of extended release Kollidon® SR mini-matrices prepared by hot-melt extrusion. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 73, 140-145 (2009).
68. Linn M., Collnot EM., Djuric D., Hempel K., Fabian E., Kolter K., Lehr CM. Soluplus® as an effective absorption enhancer of poorly soluble drugs in vitro and in vivo. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 45, 336-343 (2012).
69. Nagy ZK., Balogh A., Vajna B., Farkas A., Patyi G., Kramarics A., Marosi G. Comparison of electrospun and extruded Soluplus®-based solid dosage forms of improved dissolution. *J. Pharm. Sci.*, 101, 322-332 (2012).
70. Sakurai A., Sako K., Maitani Y. Influence of manufacturing factors on physical stability and solubility of solid dispersions containing a low glass transition temperature drug. *Chem. Pharm. Bull.*, 60, 1366-1371 (2012).
71. Konno H., Taylor LS. Influence of different polymers on the crystallization tendency of molecularly dispersed amorphous felodipine. *J. Pharm. Sci.*, 95, 2692-2705 (2006).
72. Konno H., Taylor LS. Ability of different polymers to inhibit the crystallization of amorphous felodipine in the presence of moisture. *Pharm. Res.*, 25, 969-978 (2008).
73. Fujii T., Noami M., Tomita K., Furuya Y. PVA copolymer: the new coating agent. *Pharm. Tech. Eur.*, 20, 32-39 (2009).
74. Hoshi N., Ogra T., Shimamoto T., Uramatsu S. Development of PVA copolymer capsules. *Pharm. Tech. Eur.*, 16, 37-46 (2004).
75. Hoshi N., Kida A., Hayashi T., Murakami Y. Creating PVA copolymer capsules. *Pharm. Tech. Eur.*, 20, 17-25 (2008).
76. Technical information of POVACOAT.
(http://www.nisshinkasei.co.jp/iyaku/povacoat_jap.pdf), (2012).

77. Uramatsu S., Shinike H., Kida A., Uemura T., Ichikawa H., Fukumori Y. Application of poly(vinylalcohol/acrylic acid/methyl methacrylate) (PVA copolymer) as a solid dispersion matrix. 1st Asian Pharmaceutical Science and Technology Symposium ABSTRACT BOOK., 280-282 (2007).
78. Xu M., Zhang C., Luo Y., Xu L., Tao X., Wang Y., He H., Tang X. Application and functional characterization of POVACOAT, a hydrophilic co-polymer poly(vinyl alcohol/acrylic acid/methyl methacrylate) as a hot-melt extrusion carrier. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 40, 126-135 (2014).
79. Li T., Feng S. A study of crystal packing on the solid-state reactivity of indomethacin with density functional. *Pharm. Res.*, 22, 1964-1969 (2005).
80. Chen X., Morris KR., Griesser UJ., Byrn SR., Stowell JG. Reactivity differences of indomethacin solid forms with ammonia gas. *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 15012-15019 (2002).
81. Colomines G., van der Lee A., Robin JJ., Boutevin B. X-ray diffraction of the crystallinity of glycolysates derived from PET. *Eur. Polym. J.*, 44, 2874-2885 (2008).
82. Wang S., Yu J., Yu J. Conformation and location of amorphous and semi-crystalline regions in C-type starch granules revealed by SEM, NMR and XRD. *Food. Chem.*, 110, 39-46 (2008).
83. Vermeyleen R., Goderis B., Delcour JA. An X-ray study of hydrothermally treated potato starch. *Carbohydr. Polym.*, 64, 364-375 (2006).
84. Lu H., Gui Y., Zheng L., Liu X. Morphological, crystalline, thermal and physicochemical properties of cellulose nanocrystals obtained from sweet potato residue. *Food. Res. Int.*, 50, 121-128 (2013).
85. Rowe RC., McKillop AG., Bray D. The effect of batch and source variation on the crystallinity of microcrystalline cellulose. *Int. J. Pharm.*, 101, 169-172 (1994).
86. Ragnar EK., Alderborn G., Nyström C. Particle analysis of microcrystalline cellulose: Differentiation between individual particles and their agglomerates. *Int. J. Pharm.*, 111, 43-50 (1994).

87. Suzuki T., Nakagami H. Effect of crystallinity of microcrystalline cellulose on the compactability and dissolution of tablets. *Int. J. Pharm.*, 47, 225-230 (1999).
88. Tajber L., Corrigan OI., Healy AM.. Physicochemical evaluation of PVP-thiazide diuretic interactions in co-spray-dried composites-analysis of glass transition composition relationships. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 24, 553–563 (2005).
89. Kawakami K., Pikal MJ. Calorimetric investigation of the structural relaxation of amorphous materials: evaluating. *J. Pharm. Sci.*, 94, 948–965 (2005).
90. Marsac PJ., Rumondor AC., Nivens DE., Kestur US., Stanciu L., Taylor LS. Effect of temperature and moisture on the miscibility of amorphous dispersions of felodipine and poly(vinyl pyrrolidone). *J. Pharm. Sci.*, 99, 169-185 (2010).
91. Rumondor AC., Wikström H., Van Eerdenbrugh B., Taylor LS. Understanding the tendency of amorphous solid dispersions to undergo amorphous-amorphous phase separation in the presence of absorbed moisture. *AAPS PharmSciTech.* 12, 1209-1219 (2011).
92. Rumondor AC., Taylor LS. Effect of polymer hygroscopicity on the phase behavior of amorphous solid dispersions in the presence of moisture. *Mol. Pharm.*, 7, 477-490 (2010).
93. Al-Obaidi H., Lawrence MJ., Al-Saden N., Ke P. Investigation of griseofulvin and hydroxypropylmethyl cellulose acetate succinate miscibility in ball milled solid dispersions. *Int. J. Pharm.*, 443, 95-102 (2013).
94. Qiana F., Huang J., Zhub Q., Haddadina R., Gawela J., Garmisea R., Hussaina M. Is a distinctive single Tg a reliable indicator for the homogeneity of amorphous solid dispersion? *Int. J. Pharm.*, 395, 232-235 (2010).
95. Sinclair W., Leane, M., Clarke G., Dennis A., Tobyn M., Timmins P. Physical stability and recrystallization kinetics of amorphous ibipinabant drug product by Fourier transform Raman Spectroscopy. *J. Pharm. Sci.*, 100, 4687-4699 (2011).
96. Kojima T., Higashi K., Suzuki T., Tomono K., Moribe K., Yamamoto, K. Stabilization of a supersaturated solution of mefenamic acid from a solid dispersion with EUDRAGIT EPO. *Pharm. Res.*, 29, 2777-91 (2012).

97. Torchia DA. The measurement of proton-enhanced carbon-13T1 values by a method which suppresses artifacts. *J. Magn. Reson.* (1969)., 30, 613-616 (1978).
98. BVogt FG., Clawson JS., Strohmeier M., Edwards AJ., Pham TN., Watson SA. Solid-state NMR analysis of organic cocrystals and complexes. *Crystal Growth and Design*, 9, 921-937 (2009).
99. Pham TN., Watson SA., Edwards AJ., Chavda M., Clawson JS., Strohmeier M., Vogt FG. Analysis of amorphous solid dispersions using 2D solid-state NMR and (1)H T(1) relaxation measurements. *Mol. Pharm.*, 7, 1667-1691 (2010).
100. Product specifications. EUDRAGIT E100, EUDRAGIT EPO and ED RAGIT E. (<http://eudragit.evonik.com/product/eudragit/Documents/evonik-specification-eudragit-e-100-e-po-e-12,5.pdf>), (2012).
101. Horisawa E., Danjo K., Haruna M. Physical properties of solid dispersion of a nonsteroidal anti-inflammatory drug (M-5011) with Eudragit E. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26, 1271-1278 (2000).
102. Valizadeh H., Zakeri-Milani P., Barzegar-Jalali M., Mohammadi G., Danesh-Bahreini MA., Adibkia K., Nokhodchi A. Preparation and characterization of solid dispersions of piroxicam with hydrophilic carriers. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 33, 45-56 (2007).
103. Wegiel LA., Zhao Y., Mauer LJ., Edgar KJ., Taylor LS. Curcumin amorphous solid dispersions: the influence of intra and intermolecular bonding on physical stability. *Pharm. Dev. Technol.*, 19, 976-986 (2014).
104. Liu H., Zhang X., Suwardie H., Wang P., Gogos CG. Miscibility studies of indomethacin and Eudragit EPO by thermal, rheological, and spectroscopic analysis. *J. Pharm. Sci.*, 101, 2204-2212 (2012).
105. Chokshi RJ., Shah NH., Sandhu HK., Malick AW., Zia H. Stabilization of low glass transition temperature indomethacin formulations: impact of polymer-type and its concentration. *J. Pharm. Sci.*, 98, 2286-2298 (2008).
106. Löbmann K., Laitinen R., Grohgan H., Gordon KC., Strachan C., Rades T. Coamorphous Drug Systems: Enhanced physical stability and dissolution rate of indomethacin and naproxen. *Mol. Pharm.*, 8, 1919-1928 (2011).

107. Baird JA., Van Eerdenbrugh B., Taylor LS. A classification system to assess the crystallization tendency of organic molecules from undercooled melts. *J. Pharm. Sci.*, 99, 3787-3806 (2010).
108. Priemel PA., Laitinen R., Grohgan H., Rades T., Strachan CJ. In situ amorphisation of indomethacin with Eudragit E during dissolution. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 85, 1259-1265 (2013).
109. Chauhan H., Kuldipkumar A., Barder T., Medek A., Gu CH., Atef E. Correlation of inhibitory effects of polymers on indomethacin precipitation in solution and amorphous solid crystallization based on molecular interaction. *Pharm. Res.*, 31, 500-515 (2014).
110. Ando S., Kikuchi J., Fujimura Y., Ida Y., Higashi K., Moribe K., Yamamoto K. Physicochemical characterization and structural evaluation of a specific 2:1 cocrystal of naproxen-nicotinamide. *J. Pharm. Sci.*, 101, 3214-3221 (2012).
111. Policianova O., Brus J., Hruby M., Urbanova M., Zhigunov A., Kredatusova J., Kobera L. Structural diversity of solid dispersions of acetylsalicylic acid as seen by solid-state NMR. *Mol. Pharm.*, 11, 516-530 (2014).
112. Yua X., Sperger D., Munson EJ. Investigating miscibility and molecular mobility of nifedipine-PVP amorphous solid dispersions using solid-state NMR spectroscopy. *Mol. Pharm.*, 11, 329-337 (2014).
113. Litvinov VM., Guns S., Adriaenssens P., Scholtens BJ., Quaedflieg MP., Carleer R., Van den Mooter G. Solid state solubility of miconazole in poly[(ethylene glycol)-g-vinyl alcohol] using hot-melt extrusion. *Mol. Pharm.*, 9, 2924-2932 (2012).
114. Calucci L., Galleschi L., Geppi M., Molliza G. Structure and dynamics of flour by solid state NMR: effects of hydration and wheat aging. *Biomacromol.*, 5, 1536-1544 (2004).
115. Lim AR., Kim JH., Novak BM. Solid state ¹³C nuclear magnetic resonance for polyguanidines. *Polymer*, 41, 2431-2438 (2000).

116. Luo H., Chen Q., Yang G., Xu D. Phase structure of ethylene-dimethylaminoethyl methacrylate copolymers and its relation to comonomer content as studied by solid-state high-resolution ^{13}C n.m.r. spectroscopy. *Polymer.*, 39, 943-947 (1998).
117. Nunes TG., Viciosa MT., Correia NT., Danède F., Nunes RG., Diogo HP. A stable amorphous statin: solid-state NMR and dielectric studies on dynamic heterogeneity of simvastatin. *Mol. Pharm.*, 11, 727-737 (2014).
118. Claeys B., De Coen R., De Geest BG., de la Rosa VR., Hoogenboom R., Carleer R., Adriaenssens P., Remon JP., Vervaet C. Structural modifications of polymethacrylates: impact on thermal behavior and release characteristics of glassy solid solutions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 85, 1206-1214 (2013).

論文目録

1. Ueda H., Ida Y., Kadota K., Tozuka Y. Raman mapping for kinetic analysis of crystallization of amorphous drug based on distributional images. *Int. J. Pharm.*, 462, 115–122 (2014).
2. Ueda H., Kawai A., Hayashi T., Ida Y., Kakemi M., Tozuka Y.. Process monitoring of ultrasound compaction as a small-scale heating process. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 49, 829-833 (2013).
3. Ueda H., Aikawa S., Kashima Y., Kikuchi J., Ida Y., Tanino T., Kadota K., Tozuka Y. Anti-plasticizing effect of amorphous indomethacin induced by specific intermolecular interactions with PVA copolymer. *J. Pharm. Sci.*, 103, 2829-2838 (2014).
4. Ueda H., Wakabayashi S., Kikuchi J., Ida Y., Kadota K., Tozuka Y. Anomalous role change of tertiary amino and ester groups as hydrogen acceptors in eudragit e based solid dispersion depending on the concentration of naproxen. *Mol. Pharm.*, 12, 1050-1061 (2015).

主査・副査

主査 土井 光暢 教授（大阪薬科大学 分子構造化学研究室）

副査 永井 純也 教授（大阪薬科大学 薬剤学研究室）

副査 戸塚 裕一 教授（大阪薬科大学 製剤設計学研究室）