

《若手研究者紹介》



マッピング技術を用いたトログリタゾン-PVP 固体分散体評価

古 山 奈 穂* Naho Furuyama

第一三共株式会社製剤技術研究所

1. は じ め に

社会人になる直前の3月、私は西アフリカ・ブルキナファソにいた。私の卒業論文が、サヘル地域であるこの国の農耕と土壌の性質・養分量に関する研究であったことから、指導教官のお手伝いを兼ねて現地に赴いたのである。このように異なる分野から製薬会社に入社し、これまで製剤技術研究に携わってこられたのは周りの方々に丁寧にご指導頂いたおかげである。

入社して半年ほど経った頃、上司が行っていた固体分散体に関する実験に参加する機会を頂いた。それが私と固体分散体との最初の出会である。調製方法や調製条件によって、固体分散体が異なる性質を示すことに私は興味を惹かれた。そこでモデル薬物としてトログリタゾンを用いた研究を行うこととした。

トログリタゾンは、消化管内 pH である pH 1.2~8 で非常に低い溶解度を示す化合物であり、製剤化には溶解性改善が必要であった。トログリタゾンには、ジアステレオマーの関係にある2種類のラセミ結晶 (L-pair, H-pair) が存在する。通常、ジアステレオマーは溶解度などの物理化学的性質が異なり、トログリタゾンの L-pair, H-pair も結晶状態で異なる融点 (L-pair: 120°C, H-pair: 175°C)、粉末 X 線パターンを示す。また L-pair, H-pair それ

ぞれから加熱急冷法にて調製した非晶質は異なる物理的安定性を示すことが分かっている¹⁾。

固体分散体中に非晶質で存在する薬物の物理的安定性 (結晶化) は、固体分散体から成る製剤の開発において重要な要素となる。その物理的安定性に影響を及ぼす因子の1つとして固体分散体中の薬物分布の均一性が挙げられるが、単なる成分の分布だけではなく、その物理状態 (結晶か非晶質か) にも留意が必要である。またトログリタゾンのように物理化学的特性の異なるジアステレオマーが存在する場合、固体分散体中に残存する結晶についても識別して評価を行うことが、固体分散体の調製過程の理解や調製条件の最適化に有用である。そこで固体分散体中の薬物の分布や物理状態、残存する結晶の識別評価を行うことを目的とし、結晶多形や溶媒和物の研究に用いられる振動分光法を用いて検討を行うこととした。

検討には、2種類のラセミ結晶の等量混合物であるトログリタゾン原薬、分別晶析により得られた L-pair, H-pair、担体としてポリビニルピロリドン (PVP) を用いた。

2. 振動分光法を用いたトログリタゾン原薬評価

振動分光法の一つであるラマン分光法は、ジアステレオマーのような分子構造中のわずかな違いをも測定可能であり、結晶多形、溶媒和物、塩形態の特定及び結晶状態などの評価が可能である。さらに芳香族ではない添加剤や非晶質で親水性の添加剤の場合には、芳香族を有する多くの薬物に比べてラマン散乱強度が弱いため、製剤中の薬物ピークを識別することが可能である。

*2001年3月京都大学農学部卒業、同年4月三共株式会社 (現第一三共株式会社) 入社。以降、現在まで固形製剤研究に従事。2012年3月東邦大学より博士号 (薬学) を授与される。趣味: スキー, 旅行, 温泉, 読書。連絡先: 〒140-8710 東京都品川区広町 1-2-58
E-mail: furuyama.naho.gh@daiichisankyo.co.jp

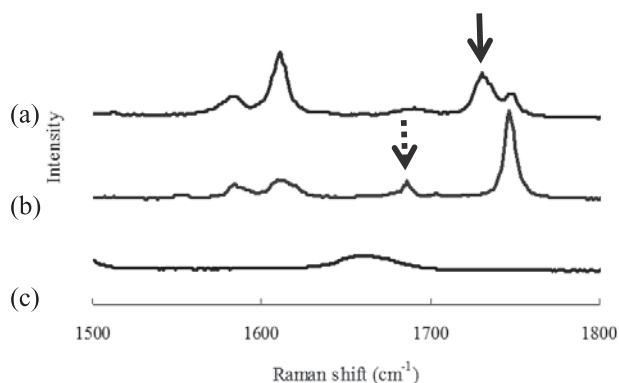


図1 結晶トログリタゾン (a) L-pair, (b) H-pair, (c) PVP のラマンスペクトル (↓) 結晶 L-pair 特有ピーク, (⇓) 結晶 H-pair 特有ピーク

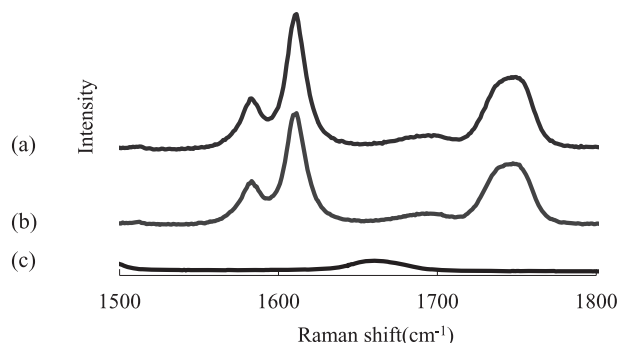


図2 (a) L-pair, (b) H-pair から調製した非晶質トログリタゾン, (c) PVP のラマンスペクトル

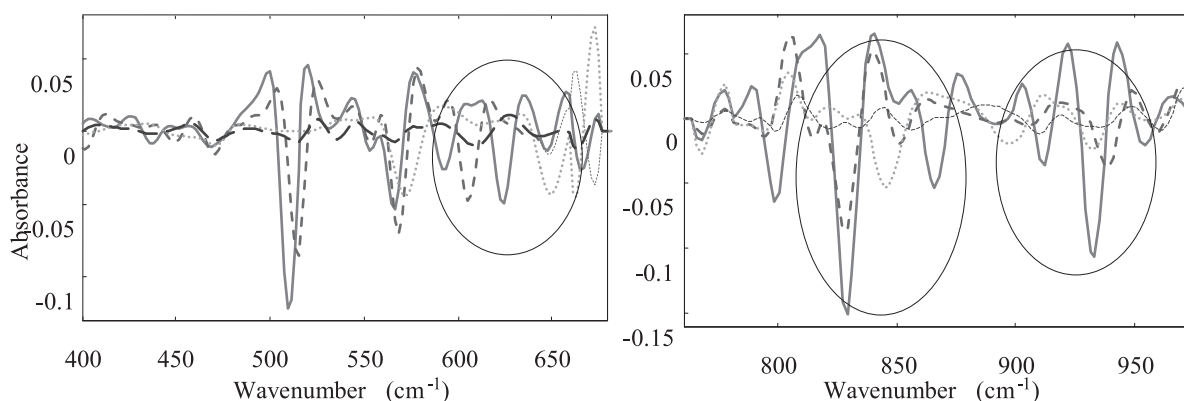


図3 結晶トログリタゾン L-pair (---), H-pair (—), 非晶質トログリタゾン (-·-), PVP (····) の IR-テラヘルツスペクトル (正規化, 二次微分実施) 丸で囲った部分は, 各成分ともに違いが認められたところ

図1にトログリタゾン結晶 L-pair, H-pair 及び PVP のラマンスペクトルを示す。矢印で示したように結晶 L-pair, H-pair はそれぞれ $1,730\text{ cm}^{-1}$, $1,685\text{ cm}^{-1}$ に特有のピークを示し, 識別が可能であった。一方, 図2に示すように非晶質トログリタゾンは, そのランダムな性質を反映して全体的にブロードなスペクトルであり, どちらから調製した非晶質も同じラマンスペクトルを示すことがわかった。また結晶状態と比較して, L-pair, H-pair に特有のピークの消失, $1,747\text{ cm}^{-1}$ 付近のピークの半値幅の増大が見られ, ラマンスペクトルによりその物理的状態を評価できることが示された²⁾。PVP は本検討で着目した $1,500\sim 1,800\text{ cm}^{-1}$ の範囲ではトログリタゾン由来のピークとほとんど重ならなかった。

さらに, IR シンクロトロン放射光を光源として使用することにより, 通常の IR よりも高輝度で広い波長 (波数領域: $100\sim 20,000\text{ cm}^{-1}$) での測定が可能である SPring-8 BL43IR (赤外顕微分光ビームラ

イン)において, IR-テラヘルツ領域の波長を用いて評価を行った。波数領域 $100\sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ における各構成成分 (結晶 L-pair, 結晶 H-pair, 非晶質トログリタゾン, PVP) の単独スペクトルを透過測定にて取得し, ノイズ部分を除いて解析を実施した (図3)。スペクトル処理として正規化及び二次微分処理を行うことで, 明確に分離可能な領域が認められた³⁾。

ラマン分光法や赤外顕微分光計を用いることで, トログリタゾンの2種類のラセミ結晶 L-pair, H-pair のみならず, 非晶質トログリタゾンを識別可能であることが示された。

3. マッピング技術を用いたトログリタゾン 固体分散体評価

3.1 調製条件の異なる固体分散体中の結晶 L-pair, H-pair, 非晶質トログリタゾンの分布

トログリタゾン, PVP 及び可塑剤として水を用い

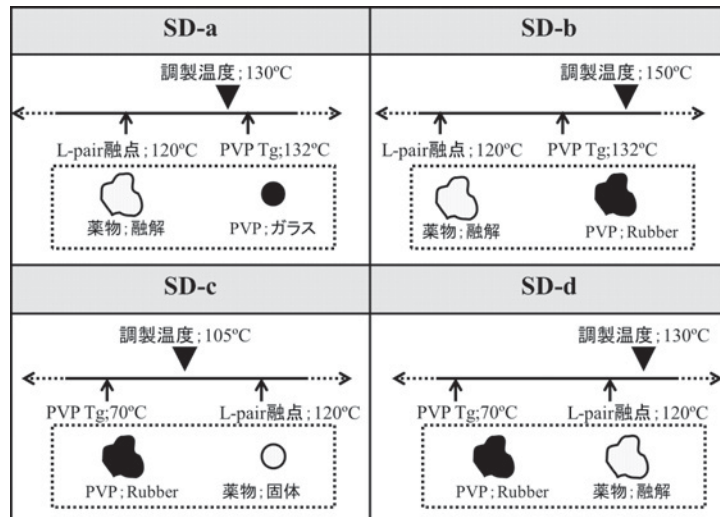


図4 固体分散体の調製条件 (融点; 原薬中の L-pair の融点)

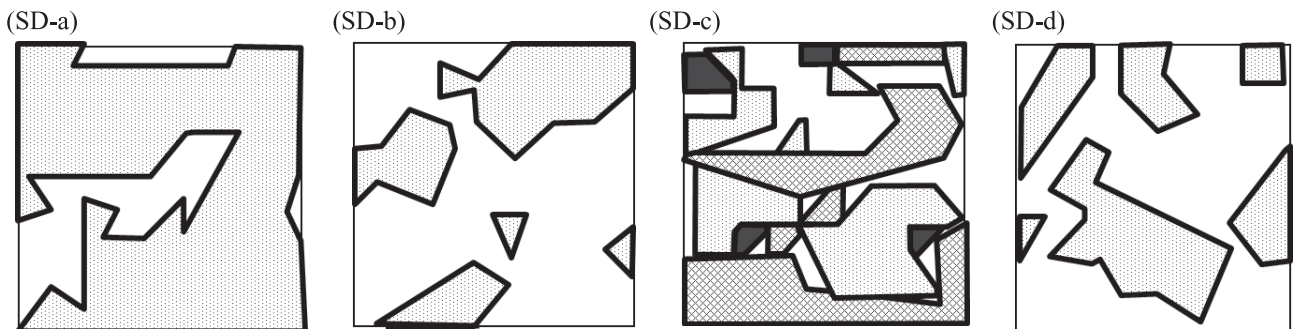


図5 調製条件の異なる固体分散体中の結晶トログリタゾンの分布 (太枠で囲った部分が結晶トログリタゾン) 結晶 H-pair (□), 結晶 L-pair (■), 結晶 L-pair, H-pair 両方 (▨)

て、密封加熱溶融法⁴⁾にて調製した固体分散体を用いた。トログリタゾン、PVPを2:1の比率で混合した物理的混合物 (PM) を異なる湿度条件下に保存し、2種類の水分値を持つPMを調製した。調湿後のPVPのガラス転移点 (Tg) は、70°C、132°Cになっていると考えられた。このPMを用いて、加熱温度を105°C (L-pair, H-pairの融点以下)、130°C (L-pairの融点以上、H-pairの融点以下)、150°C (L-pairの融点以上、H-pairの融点以下) の3条件とした4つの固体分散体を調製した (図4)。なお、可塑剤である水分は、密封加熱後に開栓、加熱して乾燥し、固体分散体中から除去した。

調製した固体分散体はマッピング中に焦点を合わせやすくするため、軽く圧縮して表面を平らにした後、一定の面積 (200 μm × 200 μm) 内で10 μmごとにラマンスペクトルを取得した。

マッピングによって得られた全ラマンスペクトルから結晶 L-pair、結晶 H-pair、非晶質トログリタゾ

ンの分布を図示化した (図5)。SD-a と SD-b、SD-c と SD-d の比較から、密封加熱時のPMの水分値が同じ (= PVPのTgが同じ) であれば加熱温度が高いほど残存する結晶が少なくなり、SD-a と SD-d の比較から、加熱温度が同じであれば密封加熱中のPMの水分値が高い (= PVPのTgが低い) ほど残存する結晶が少なくなることを視覚的に示すことができた。また分布図より、加熱温度がL-pair, H-pairのどちらの融点よりも低いSD-cでも非晶質トログリタゾンが存在することが確認できた。

このようにラマンマッピング技術を用いることで固体分散体の状態を分子レベルで評価可能であり、薬物分布のみならず、薬物の物理状態、残存する結晶の識別評価が可能であった。この結果は、固体分散体の最適な調製条件を決定するのに有用な情報になり得ると考えられる。

3.2 トログリタゾン非晶質化過程に関する考察
SD-cを厚みが均一になるように圧縮した後、

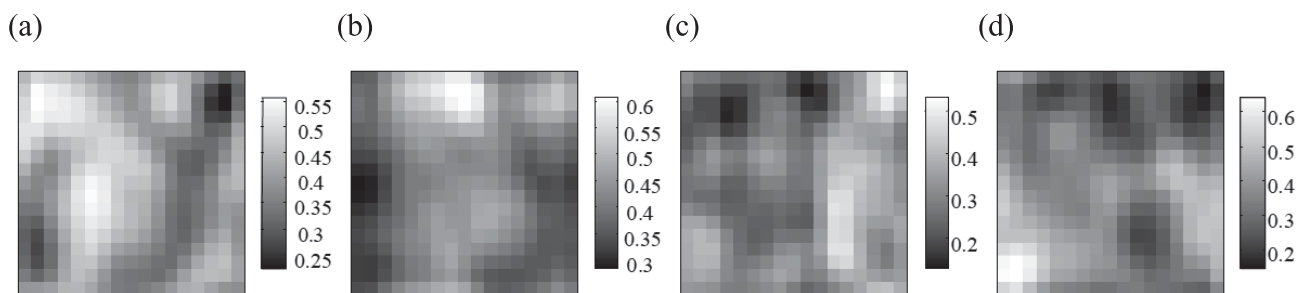


図6 SD-c中の各成分の分散イメージ (a)結晶 L-pair, (b)結晶 H-pair, (c)非晶質トログリタゾン, (d)PVP

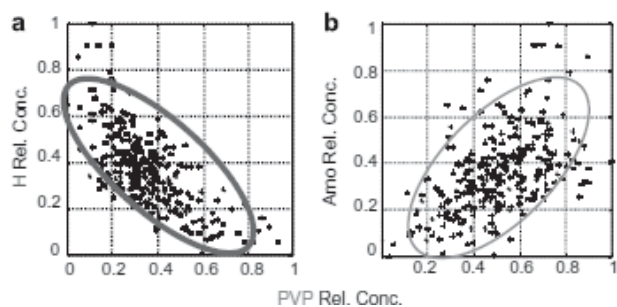


図7 SD-c中の (a)結晶 H-pairとPVP, (b)非晶質トログリタゾンとPVPのスクアッタープロット

SPring-8 BL43IRの赤外顕微分光計を用いて透過法により一定の面積 (400 $\mu\text{m} \times 400 \mu\text{m}$) 内で 25 μm 毎にスペクトルを取得した。得られたスペクトルの正規化及び2次微分を行った後、固体分散体中に存在する各構成成分の定量値を算出するため、Partial least squares 2解析を行った。解析波数を 85~975 cm^{-1} , 85~669 cm^{-1} , 771~975 cm^{-1} に分けて定量値を算出し、得られた結果の平均値を最終的な定量値とした。

図6にSD-c中の各構成成分の分散イメージを示す。白い部分はその構成成分の存在を示している。定量値は、結晶 H-pair 34%, 結晶 L-pair 26%, 非晶質トログリタゾン 21%, PVP 19%であり、一部のトログリタゾンが非晶質化していた。SD-cの調製中はPVPのT_gが加熱温度よりも低く、PVPはゴム状態にあったと考えられる。トログリタゾンはこのゴム状態になったPVPへ溶解することによって非晶質化したと考えられ、この場合、PVPと非晶質トログリタゾンの分布の多くが重なると推測できる。そこで、2種類の構成成分の各ピクセルでの存在割合を表すスクアッタープロットを用いて、固体分散体中のPVPと非晶質トログリタゾンの分布を比較することとした。スクアッタープロットでは、正の相関を示すと2種類の構成成分がほぼ同じ分布を示

し、負の相関を示すと両者が分離した状態で存在することを示す。図7にSD-cのスクアッタープロットを示す。結晶 H-pairとPVPのスクアッタープロットは負の相関を示し、両者が分離して存在することを示した。非晶質トログリタゾンとPVPとは正の相関を示し、両成分がほぼ同じ分布状態であることを示し、SD-c中のトログリタゾン非晶質化の過程に関する推察を支持する結果となった。一方、調製時の加熱温度が密封加熱中のPVPのT_g以下、L-pairの融点以上であるSD-aのスクアッタープロット (data not shown) では、結晶 H-pairとPVPもしくは非晶質トログリタゾンとPVPとがどちらも負の相関を示し、それぞれ分離して存在することを示した。この結果は、SD-aではトログリタゾンの非晶質化がPVPへの溶解によるものではないことを示す。SD-a中では、密封加熱中のPVPはガラス状態であったと考えられ、トログリタゾンは融解によってのみ非晶質化したと考えられる。このようにスクアッタープロットを用いて異なる成分の分布状態を視覚化することによって、固体分散体調製中のトログリタゾン非晶質化の過程を明らかとすることができた。

次に、ゴム状態になったPVPへの結晶 L-pair, H-pairの溶解量を比較するため、前述のSD-c中に残存するそれぞれの定量値を比較すると、残存している結晶はH-pairが多かった。PMを同様の手法で定量した時のL-pair, H-pairの定量値は29%, 27%とほぼ同量であることから、この結果はL-pairのほうがPVPへの溶解量が多いことを示している。ポリマーへの薬物の溶解度は融点及び融解熱と関連しており、より高融点、高融解エンタルピーを示す化合物はより低い溶解度を示すことが報告されている⁵⁾。トログリタゾンにおいても融点及び融解エンタルピーの高いH-pairの溶解量が低い結果となった。

4. お わ り に

マッピング技術を用いることで固体分散体の状態を分子レベルで評価可能であり、薬物分布のみならず、薬物の物理状態、残存する結晶の識別評価が可能であった。また、マッピングデータにケモメトリクスを適用することにより、各構成成分の分布を視覚的に示すのみならず、各成分の含有量を定量評価することが可能となった。スキャッタープロットを用いた構成成分の分布の比較は、固体分散体の調製過程の理解に有用である。調製過程の理解を深めることは、固体分散体の調製条件や処方最適化に役立つと考えられ、振動分光法のマッピング技術は固体分散体の開発において有用な手法であると考えられた。

最後に本研究に当たり懇切なるご指導を賜りました東邦大学薬学部・寺田勝英教授、星薬科大学・米持悦生教授に心から感謝の意を表します。また、本研究の機会を与えて頂き、ご指導を賜りました日本ジェネリック株式会社研究開発本部長兼医薬研究所長・中上博秋博士(元第一三共株式会社)、第一三共プロファーマ株式会社・脇山尚樹博士(元第一三共株式会社)、ならびに第一三共株式会社 CMC 企画

部・濱浦健司博士、製剤技術研究所・矢田修一博士、長谷川晋博士と関係者の方々に厚く御礼申し上げます。

引 用 文 献

- 1) N. Furuyama, S. Hasegawa, S. Yada, T. Hamaura, N. Wakiyama, E. Yonemochi, K. Terada, G. Buckton, Do amorphous troglitazones prepared from two diastereomer-pairs have the same molecular mobility and crystallization rate at the surface?, *Chem. Pharm. Bull.*, **59**, 1452–1457 (2011).
- 2) N. Furuyama, S. Hasegawa, T. Hamaura, S. Yada, H. Nakagami, E. Yonemochi, K. Terada, Evaluation of solid dispersions on a molecular level by the Raman mapping technique, *Int. J. Pharm.*, **361**, 12–18 (2008).
- 3) E. Yonemochi, N. Furuyama, M. Bunko, T. Moriwaki, Y. Ikemoto, K. Terada, Evaluation of dispersion state of the two racemic compounds of troglitazone in pharmaceutical granules using IR-to-THz imaging, *Infrared Phys. Technol.*, **51**, 450–4534 (2008).
- 4) S. Hasegawa, T. Hamaura, N. Furuyama, S. Horikawa, A. Kusai, E. Yonemochi, K. Terada, Uniformity and physical states of troglitazone in solid dispersions determined by electron probe microanalysis and microthermal analysis, *Int. J. Pharm.*, **280**, 39–46 (2004).
- 5) P. J. Marsac, S. L. Shamblin, and L. S. Taylor, Theoretical and practical approaches for prediction of drug-polymer miscibility and solubility, *Pharm. Res.*, **23**, 2417–2426 (2006).