

固体 NMR を用いたトログリタゾン固体分散体の
物理的安定性予測法の開発

2010 年

伊 藤 敦 俊

目次

総論の部

序論.....	1
第一章 固体 NMR を用いた固体分散体の物理的安定性予測.....	5
第 1 節 トログリタゾン/PVP 固体分散体の物理化学的特性.....	5
第 2 節 固体 NMR を用いた固体分散体中のトログリタゾンの評価.....	11
第 3 節 物理的安定性との相関性.....	14
第 4 節 結論.....	17
第二章 固体分散体製造プロセス管理/最適化に対する固体 NMR の応用.....	19
第 1 節 固体分散体の物理的安定性に及ぼすプロセスパラメーターの影響.....	20
第 2 節 固体 NMR による物理的安定性の予測.....	24
第 3 節 結論.....	28

第三章 固体分散体の物理的安定性へ及ぼす高分子種の影響	29
第1節 評価法の普遍性の確立	30
第2節 固体分散体の結晶化挙動に及ぼす高分子種の影響	35
第3節 結論.....	42
結語.....	43
謝辞.....	44
実験の部.....	45
参考文献.....	50
論文目録.....	61
主査、副査名	62

総論の部

序論

化合物の有効性を十分に発揮させる医薬品を開発するためには、目的や化合物の特性に応じた製剤学的手法を選択することが必要であり、化合物の物理化学的特性を評価することは製剤開発における重要な第一歩である。化合物の結晶性は評価すべき重要な物理的特性の1つであり、化合物の物理化学的安定性[1-3]や溶解性[4,5]、錠剤製造時の成形性[6-8]などに影響を及ぼすことが知られている。結晶性とは、固体における三次元的な分子配列の秩序性の指標であり、特にこれが無秩序な状態を非晶質と呼んでいる[9-11]。一般に、非晶質は結晶よりも高い溶解性を示す[9-11]ため、薬物の微粒子化[12,13]や結晶多形[14]、塩化[15]、界面活性剤の利用[16,17]と並び、難溶性化合物の溶解性改善法として良く知られている。しかしながら、非晶質化した薬物は、結晶よりもエネルギー状態が高くなるため、物理的に不安定となり、保存中に結晶化が起こりやすいという短所がある[9-11]。その短所を補い、物理的安定性を向上させた非晶質製剤を得る手法として、糖類[18,19]や高分子[20]を用いた固体分散体が広く知られている。その調製方法には、粉碎[21-23]、凍結乾燥[19,24]、密封加熱[25,26]、熔融急冷[27-29]、噴霧乾燥[30,31]、溶液からの溶媒の蒸発(溶媒法)[32,33]などがある。これらの手法を用いて調製した固体分散体の品質は必ずしも同じではなく、処方や調製方法の違いに起因した薬物の存在状態に影響を受け、異なる物理的安定性を示すことが報告されている[34-36]。そのため、固体分散体の品質確保のためには、固体分散体中の薬物の存在状態を正確に評価し、その物理的安定性を予測する手法の確立が求められている。

従来より固体分散体中の薬物の固体物性の評価には、粉末X線回折(PXRD)や熱分析などが用いられてきた。しかしながら、PXRDの定量精度は、あまり高くなく、固体分散体中に存在する薬物の微小な領域での結晶性変化のような固体物性の違いを検出することが難しい[37-39]。示差走査熱量計(DSC)に代表される熱分析では、粉末X線回折と

比べて定量精度が高いため、微小な結晶性の違いを評価した例[38,40]が報告されているが、高分子由来の熱的挙動と薬物の熱的挙動が重なることがあり、薬物特有の固体物性を直接評価することが困難な場合がある[29]。そのため、これらの固体物性評価法のみで、固体分散体制剤の溶出性や物理的安定性といった品質管理を行うことは難しいことが多い。そこで、本研究では新規の固体物性評価法として、近年広く普及してきた固体 NMR に着目した。

固体 NMR は試料を固体状態のまま NMR 測定を行う手法であるため、結晶多形[41,42]や分子複合体における分子間相互作用[43]といった構造情報を直接的に取得することが可能である。また、分子を構成する原子を個々に観測することが可能であるため、分子間の識別性が高く、固体分散体のように添加剤と薬物が混在した系でも選択的に薬物分子の評価が可能であることが多い[21,44]。本研究で着目した ^{13}C CP/MAS 法 (Cross Polarization (Dipole Decoupling) and Magic Angle Spinning) は、1) ^1H 核の磁化エネルギーを ^{13}C 核に分極 (移動) して感度を上げる交差分極法 (Cross Polarization: CP)、2) 固体中の強い化学シフト異方性を除去し、分解能を上げる高速マジック角回転法 (Magic Angle Spinning: MAS)、及び、3) 固体中の強い $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 双極子相互作用を効率よく除去する高出力デカップリング法 (Dipole Decoupling: DD) を併用した手法であり、高感度、高分解能の ^{13}C NMR スペクトルの取得を可能とした手法である[45,46]。この ^{13}C CP/MAS 法を用いることで、粉末 X 線回折では検出できない微小な領域での結晶性変化を捉えた例[47]も報告されている。

固体 NMR を用いて固体物性評価や、物理的安定性の予測を行う場合、正確にスペクトルを解析 (数値化) することも重要と考えられる。従来より汎用されている特定ピークの半値幅やピーク面積、ピーク強度を用いたスペクトルの数値化[41,48,49]では、着目したピークが明確に分離されている必要があり、ピークの重なりやベースラインの変化によって正確な数値化が困難な場合がある。そこで、固体 NMR スペクトルの数値化には、近

赤外分光 (NIR) スペクトルやラマン分光スペクトル等で多数の実績[50,51]がある多変量解析法、Partial Least Squares Regression 法 (PLSR 法)に着目した。PLSR 法とは、スペクトルのような多変量の説明変数から、主成分分析を用いて、ある目的変数を予測する解析手法であり、1)説明変数間の相関や、説明変数と目的変数の相関を基に、多変量データを少数の変数(成分)に変換、2)変換した成分と目的変数を用いて回帰式を算出、3) 得られた回帰式より、説明変数から目的変数を予測する、という手順で行われる[52,53]。本法を用いることで、複雑な形状を示すスペクトルデータであっても、その変化とサンプルの変動を詳細に評価することが可能となり、また、サンプルの本質に影響しないスペクトルの変動(ノイズなど)を除去することもできるため、より正確なスペクトルの数値化が可能と考えられる。この PLSR 法を適用した例として、NIR スペクトル及びラマンスペクトルを PLSR 法にて数値化することにより、3 種の indomethacin 多形混合物における各結晶形の識別、定量に成功したことが Heinz らにより報告されている[50]。この報告のように、複数成分の混在により、得られるスペクトルが複雑な形状を示した場合であっても、PLSR 法を適用することで、スペクトルにおける各成分の識別性向上効果が期待される。また、PLSR 法を用いることで、微小なスペクトルの差異を検出した例も報告されており、Kachrimanis らは NIR スペクトルに PLSR 法を適用することで、存在率が 1%程度でも検出可能な paracetamol 多形の定量法を確立した[51]。このように、PLSR 法を用いることで、物理変化の検出力向上効果も期待される。PLSR 法は NIR スペクトルやラマンスペクトルだけではなく、固体 NMR スペクトルにも適用された実績があり、Gustafsson らにより、PLSR 法を用いて固体 NMR スペクトルを数値化することで、乳糖の結晶性の変化を評価したことが報告されている[47]。これらのことから、PLSR 法を用いて、固体 NMR スペクトルを数値化することで、PXRD 法では検出できない固体分散体中の薬物の微少な結晶性の差を検出し、物理的安定性の予測に適応できるのではないかと考えた。

本研究においては難溶性化合物であるトログリタゾンの固体分散体をモデルに選択し

た。トログリタゾンとは、その peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) 活性化作用から、インスリン感受性を亢進する作用機序を有し、糖尿病治療薬としての研究開発が行われているチアゾリジン系化合物[54]の 1 つであり、分子式 $C_{24}H_{27}NO_5S$ 、分子量 441.55 で、Fig. 1 に示す構造を有する白色～黄白色の結晶である。Table 1 に示すように、トログリタゾンは消化管内 pH(1.2～8)では数 $\mu\text{g/mL}$ しか溶解しない難溶性の化合物である。そのため、トログリタゾンの製剤開発を行う場合、固体分散体のような溶出性を高める製剤学的手法を適用する必要がある。本研究では、このトログリタゾンの固体分散体をモデルとし、固体 NMR を用いた固体分散体の物理的安定性予測方法の確立を目指すこととした。第一章では固体物性評価法としての固体 NMR の有用性を評価し、固体 NMR を用いた物理的安定性予測方法の確立を試みた。第二章、第三章では、固体分散体の物理的安定性に影響を及ぼす種々の要因を検証し、第一章で確立した物理的安定性予測法の製剤開発研究への応用性を評価した。

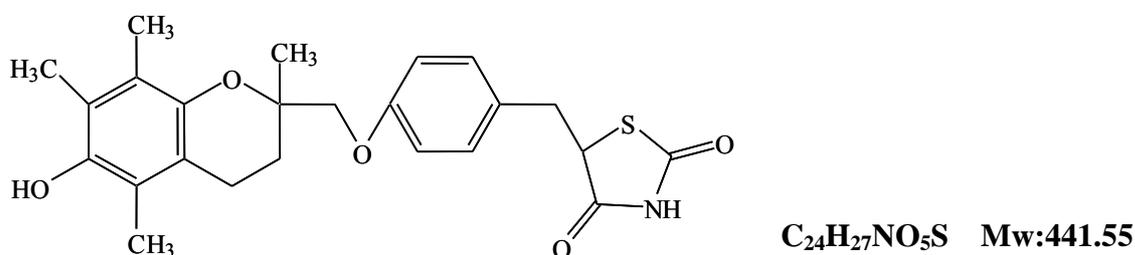


Fig. 1 Chemical structure of troglitazone

Table 1 Solubility of troglitazone at various pH at 37°C

pH	Solubility ($\mu\text{g/mL}$)
1.2	<1
6.8	<1
8.5	6
9.0	41
9.7	151

第一章 固体 NMR を用いた固体分散体の物理的安定性予測

本章では、固体分散体の物理的安定性予測法の確立を目的とし、固体分散体中の薬物の固体物性評価法としての固体 NMR の有用性評価を行った。

モデル薬物はトログリタゾンを選択し、担体には、固体分散において汎用されている高分子であり、Hasegawa らの研究[26]にて、トログリタゾンの固体分散体化に成功した実績があるポリビニルピロリドン K-30 (PVP) を選択した。異なる物理的安定性を持った固体分散体を取得するため、トログリタゾンと PVP を質量比 2:1 で調製した物理混合物 (PM) を混合粉碎 (n 分間の混合粉碎物を n min GM と略)、または、一度、アセトン/エタノール混液に溶解した後、溶媒を留去する (溶媒法) ことにより、固体分散体の調製を行った。得られた固体分散体は、物理的安定性の評価を行うとともに、その固体物性を PXRD 法及び固体 NMR 法によって評価した。固体物性評価法として広く用いられている PXRD 法との比較を行うことで、固体 NMR 法の有用性を検証し、PLSR 法を用いた NMR スペクトルの数値化による、物理的安定性予測の可否を評価した。

第 1 節 トログリタゾン/PVP 固体分散体の物理化学的特性

Fig. 2 にトログリタゾン、PVP、物理混合物 (PM)、混合粉碎物 (GM) 及び溶媒法にて調製した固体分散体の PXRD パターンを示す。PVP は結晶性を持たない高分子であるため、PM の PXRD パターンに現れた回折ピークは全てトログリタゾン由来のピークである。溶媒法で調製した固体分散体の PXRD パターンからはトログリタゾン由来の回折ピークは観測されず、ハローパターンを示した。一方、混合粉碎物は、粉碎時間の延長に伴い、PXRD パターンにおけるトログリタゾン由来の回折ピークは減少し、粉碎 60 分以降はトログリタゾン由来の回折ピークは消失した。PM の見掛けの結晶化度を 100%、溶媒法で調

製した固体分散体の見掛けの結晶化度を 0%と定義し、modified Hermans'法[33]により、各固体分散体の見掛けの結晶化度を算出したところ、60 分以上の混合粉碎を行うことで、溶媒法で調製した固体分散体と同じ、見掛けの結晶化度 0%となる PXRD パターンを得られることがわかった。本研究ではトログリタゾン由来の回折ピークが認められない、すなわち、見掛けの結晶化度 0%を示した 60 min GM, 120 min GM, 180 min GM, 240 min GM 及び溶媒法で調製した固体分散体の 5 種の物理的安定性を評価することとした。

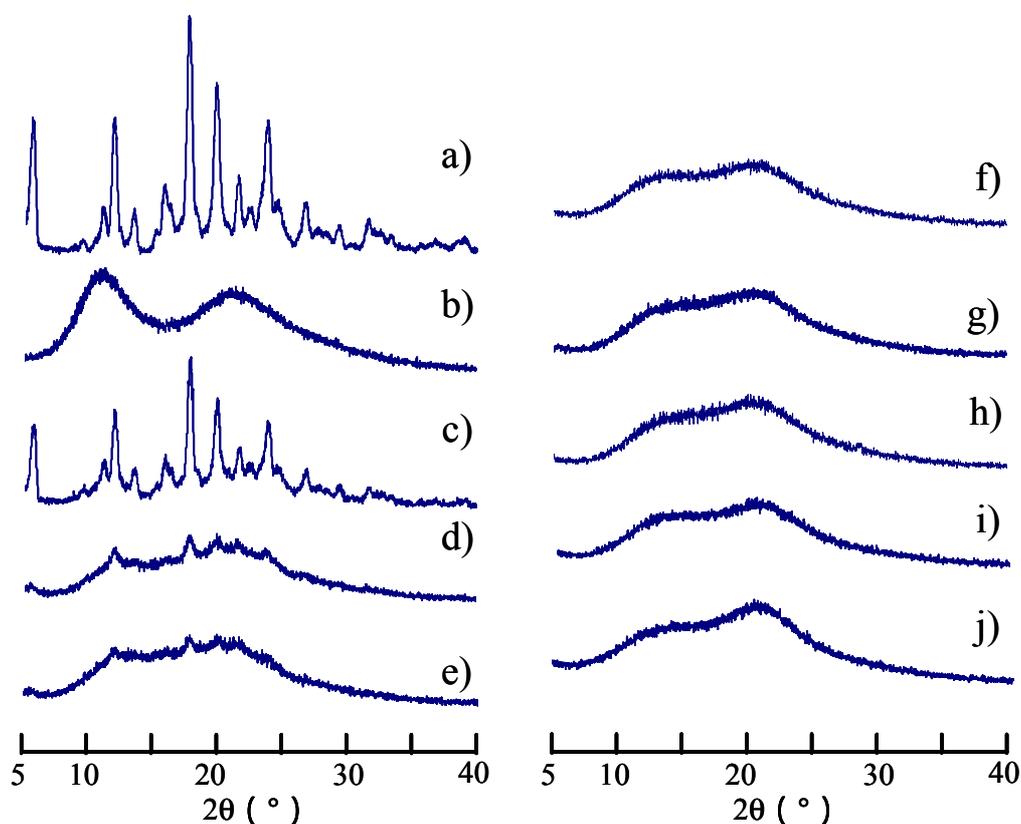


Fig. 2 PXRD patterns of troglitazone, PVP, PM, troglitazone/PVP solid dispersions

a) troglitazone, b) PVP c) PM, d) 15 min GM, e) 30 min GM, f) 60 min GM, g) 120 min GM, h)180 min GM, i) 240 min GM and j) solid dispersion (evaporation)

固体分散体は水分によりその結晶化が促進されることが知られている[55,56]。本研究では調製した固体分散体の物理的安定性を速やかに評価するため、通常の保存条件よりも苛酷な条件である 40°C/94%RH における結晶化挙動を物理的安定性の指標とした。Fig. 3 に 40°C/94%RH に保存した時の 60 min GM、240 min GM、溶媒法で調製した固体分散体の PXRD パターンの変化を示す。この図が示すように、保存開始前の PXRD パターンが同じハローパターンを示す固体分散体であっても、その結晶化挙動が必ずしも一致するとは限らない。60 min GM では保存後 24 時間で、トログリタゾンの結晶化に由来する回折ピークが観測されたのに対し、240 min GM では、保存後 72 時間(3 日間)、溶媒法で調製した固体分散体では 120 時間(5 日間)経過するまで、結晶化のピークは認められなかった。

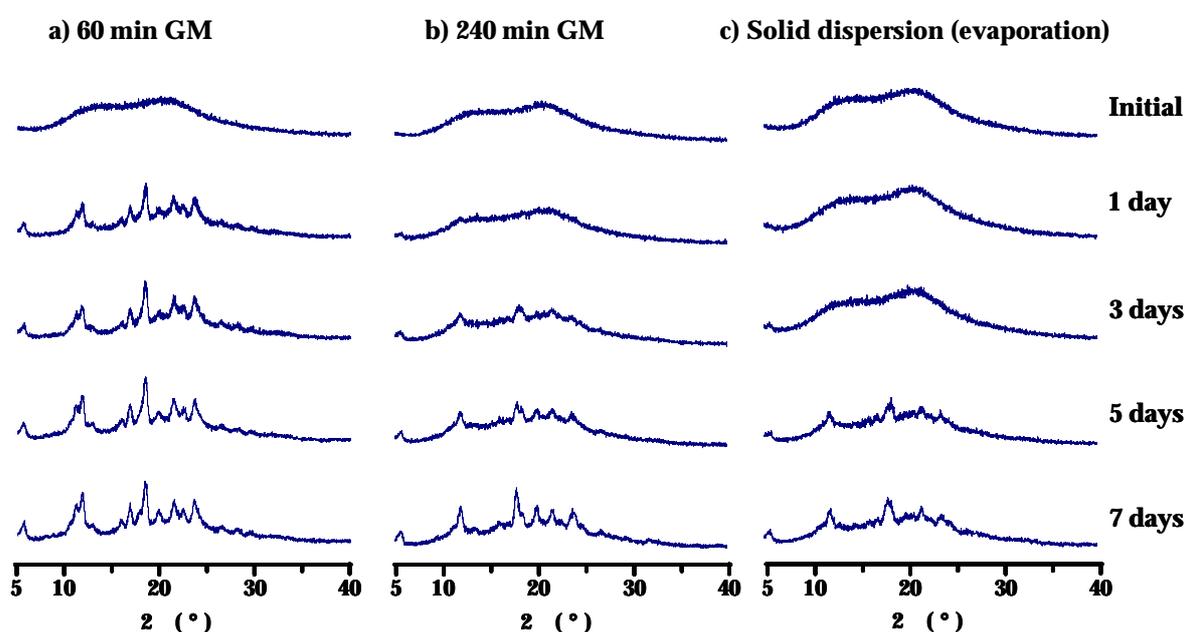


Fig. 3 Changes in PXRD patterns during storage at 40°C/94%RH
a) 60 min GM, b) 240 min GM and c) solid dispersion (evaporation)

Fig. 4 に 40°C/94%RH 保存における各試料の見掛けの結晶化度の推移を示す。混合粉砕の場合、粉砕時間の延長に伴い、得られた固体分散体の結晶化挙動は緩やかとなる傾向が認められた。一方、溶媒法で調製した固体分散体はいずれの混合粉砕物よりも緩やかな結晶化挙動を示した。得られた各固体分散体の結晶化挙動を定量的に評価するため、Kolmogorov-Johnson-Mehl-Avrami (KJMA)式を用いた速度論解析を行った。Fig. 4 に示した実線は、KJMA 式を用いてフィッティングした各固体分散体の結晶化挙動を示したものである。この KJMA 式は非晶質の結晶化挙動の研究に多用されており [44,57,58]、(1)式にて表される。

$$f = 1 - \exp[-(\beta(t - \tau))^n] \quad (1)$$

ここで、 f は結晶化した割合、 t は保存期間を示す。 n は Avrami 指数と呼ばれる定数で、核生成と成長次元に依存した結晶化の機構を表す指数であり、一般に $n=1$ 付近では一次元的な結晶成長を示し、 $n=2$ 付近では 2 次元的、 $n=3$ 付近となると 3 次元的な結晶化挙動を示すと言われている[57,59]。 β 、 τ はそれぞれ結晶核生成-核成長における見掛けの結晶化速度定数、結晶核生成までの誘導期間を表す結晶化速度パラメーターである。(1)で示した KJMA 式は(2)式のように直線式に変形することが可能である。

$$\ln[-\ln(1 - f)] = \ln \beta^n + n \ln(t - \tau) \quad (2)$$

この(2)式に実測の t, f を代入することにより算出した、 n 、 $\beta(\times 10^3 \text{ h}^{-1})$ 、 $\tau(\text{h})$ を Table 2 に示した。この時、得られた結晶化速度パラメーターから算出される各時点の見掛けの結晶化度と実測値との回帰分析を行った結果、相関係数(R^2)がいずれの固体分散体も 0.94 以上と良好な値を示したことから、Table 2 に示す結晶化速度パラメーターは、各固体分

散体の結晶化挙動を適切に表現したものと考えられた。各固体分散体の Avrami 指数 n は 0.5~0.8 と類似していたことから、いずれの固体分散体も同様な機構で結晶化することが示唆された。しかしながら、算出された結晶化速度パラメーターを比較したところ、粉碎時間が長い混合粉碎物ほど、見掛けの結晶化速度定数 β は小さく、核生成までの誘導期間 τ は長くなる傾向が認められ、溶媒法で調製した固体分散体は、いずれの混合粉碎物よりも小さい見掛けの結晶化速度 β 、および長い誘導期間 τ を示した。従って、粉碎時間の長い混合粉碎物ほど物理的に安定であり、溶媒法で調製した固体分散体は、いずれの混合粉碎物よりも物理的に安定であることが速度論的にも立証された。

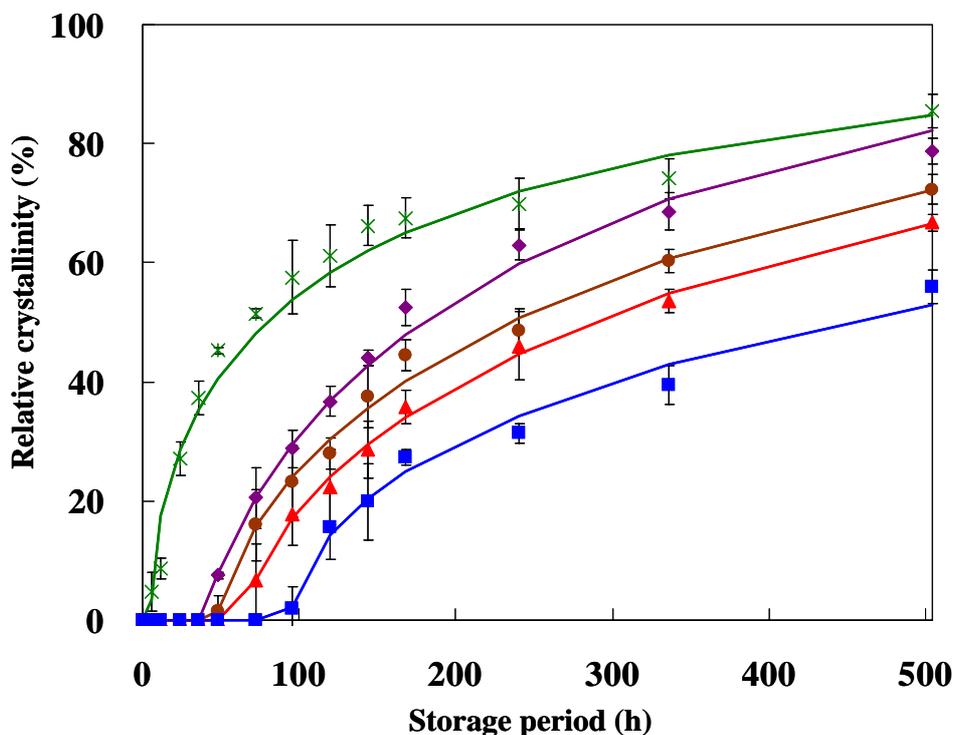


Fig. 4 Changes in relative recrystallinity (\pm standard deviation) during storage at 40°C/94% RH
 (×) 60 min GM, (◆) 120 min GM, (●) 180 min GM, (▲) 240 min GM, and (■) solid dispersion (evaporation)

The solid lines represent the fit to KJMA equation.

Table 2 Change in the kinetic parameters of the KJMA equation

	60 min GM	120 min GM	180 min GM	240 min GM	Solid dispersion (evaporation)
n (-)	0.52	0.75	0.69	0.67	0.56
$\beta \times 10^3$ (h ⁻¹)	6.8	4.4	3.1	2.6	1.5
τ (h)	5.8	39.8	47.3	64.8	95.3

以上の結果より、PXRD では等しく見掛けの結晶化度 0%と判断される試料であっても、調製法や調製条件の違いにより、得られた固体分散体は異なる物理的安定性を示すことが明らかとなった。

第 2 節 固体 NMR を用いた固体分散体中のトログリタゾンの評価

Fig. 5 にトログリタゾン、PVP、及び PM の固体 NMR スペクトルを示す。PVP には 10～50 ppm に 5 員環、及び主鎖の炭素に由来するピークと、176 ppm 付近に、カルボニル炭素に由来するピークが検出された。PM における 75～160 ppm 付近の芳香環炭素に由来するピークは全てトログリタゾン固有のピークであることから、これらのピークを評価することで、固体分散体中のトログリタゾンを選択的に評価することが可能であると判断した。

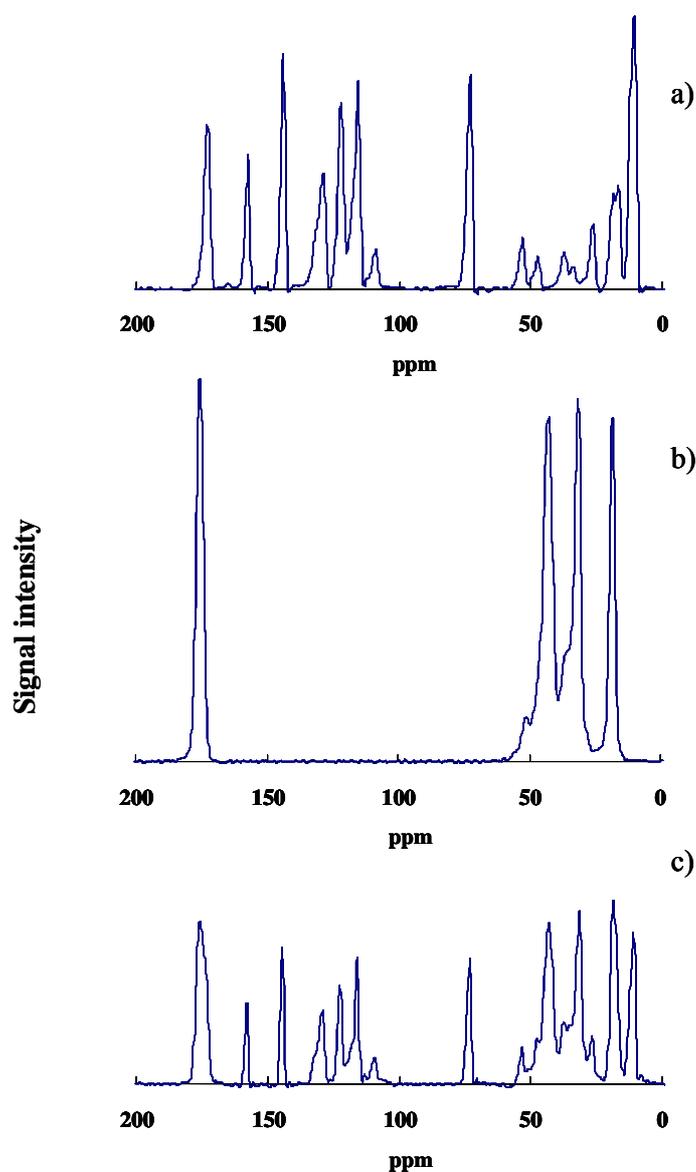


Fig. 5 ^{13}C CP/MAS NMR spectra of a) troglitazone, b) PVP, and c) PM

PXRD では、60 分以上の混合粉碎、もしくは溶媒法で調製した固体分散体は同じハローパターンを示したが、Fig. 6 に示すように、固体 NMR では調製法や調製条件の違いにより、得られたスペクトルに顕著な差異が認められた。混合粉碎物では、粉碎時間の延長に伴い、ピークのブロード化と強度の低下が認められ、溶媒法で調製した固体分散体は最もブロードで、かつピーク強度が低いスペクトルを示した。この時、調製した各固体分散体には化学的な分解が認められなかったことから、固体 NMR スペクトル上に認められた差異は粉末X線回折法では検出できない分子構造のゆがみのような短距離秩序の変化に由来するものと考えられた。

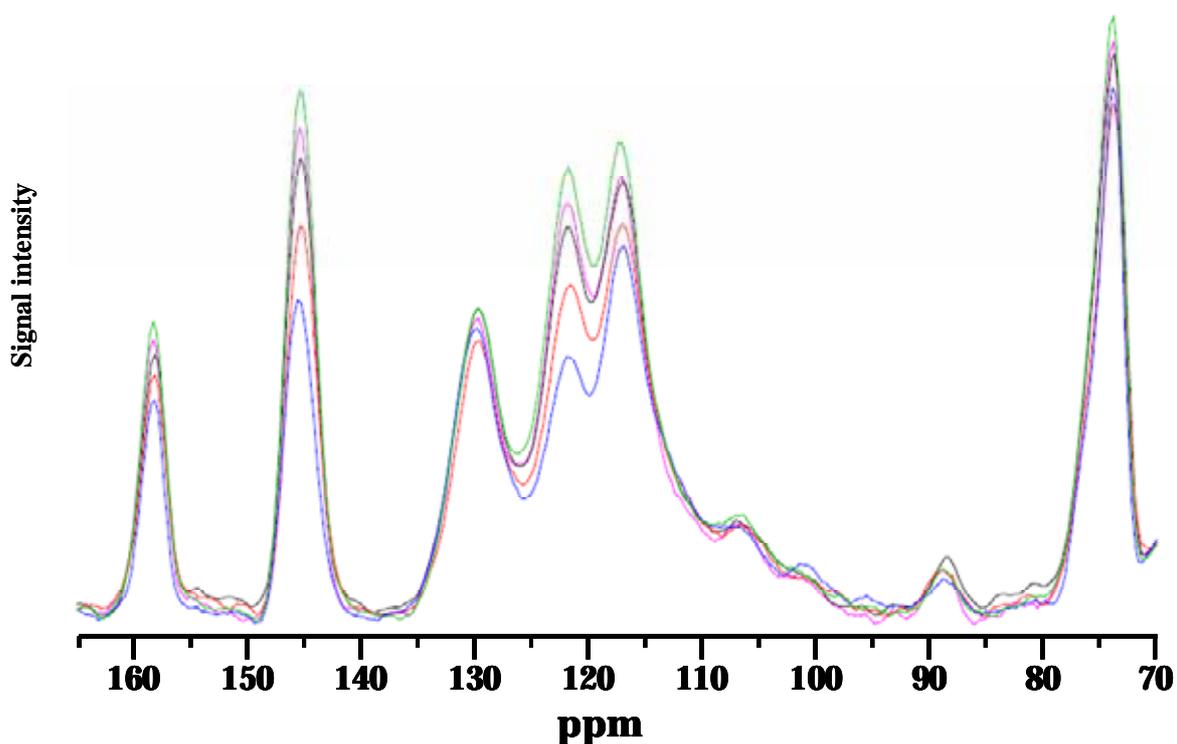


Fig. 6 ^{13}C CP/MAS NMR spectra of troglitazone/ PVP solid dispersion around 70 to 160 ppm (green line) 60 min GM, (pink line) 120 min GM, (black line) 180 min GM, (red line) 240 min GM and (blue line) Solid dispersion (evaporation)

固体 NMR では、観測されるピークは隣接する原子の存在状態に影響を受けるため、非晶質のように分子が無秩序に存在すると、えられるピークはブロード化する傾向がある [37,45,46]。さらに、 ^{13}C CP/MAS 法を用いた場合、隣接する原子の中でも特にプロトンの影響が強い [60,61]。そのため、分子配列の乱れや薬物の分子構造のゆがみが生じ、隣接するプロトン数の減少やと観測核とプロトンの結合距離の伸張が引き起こされると、交差分極の効率が低下し、ピーク強度は低下する傾向を示す [60, 61]。このことから、固体 NMR は隣接する原子の数や原子間の結合距離、結合角といった短距離秩序 (short range order) の変化を検出することが可能な手法と考えられる。

一方、PXRD は、平行に存在する複数の結晶面で回折したX線が互いに干渉し、強めあった回折X線を結晶ピークとして検出する手法である [10,11,39]。このため、分子の周期的な配列が乱れた非晶質を測定すると、X 線の干渉が起こらず、回折ピークが観測されない (ハローパターンを示す)。したがって、PXRD は比較的広い範囲で規則性を持つ結晶の評価、つまり長距離秩序 (long range order) 評価に適した手法であり、分子構造のゆがみのような短距離秩序の評価には適さない手法と言える [39]。従って、本研究において観察された PXRD パターンと固体 NMR スペクトルの違いは、この短距離秩序の変化を検出できたか否かに起因すると考えられた。

第 3 節 物理的安定性との相関性

固体 NMR を用いた物理的安定性予測法の確立を目的に、各固体分散体の結晶化挙動と PXRD パターンもしくは固体 NMR スペクトルとの相関性を PLSR 法により評価した。目的変数は物理的安定性の指標とした KJMA 式より算出された見掛けの結晶化速度 ($\beta (\times 10^3 \text{ h}^{-1})$)、及び、結晶核生成までの誘導期間 ($\tau (\text{h})$) を用い、説明変数には多変量データに変換した保存試験開始前の PXRD パターン ($2\theta=5^\circ \sim 40^\circ$: データポイント数 1750)、および、保存試験開始前の固体 NMR スペクトルにおけるトログリタゾン固有のピーク (75 ppm, 110~130 ppm, 145 ppm, 160 ppm に観測されたピーク: データポイント数 250) を用いた。この時、各スペクトルに対する数学的な前処理は行わないこととした。PLSR 法のような多変量解析を行う場合、その予測精度向上のため、スペクトルに数学的な前処理を施す場合がある[62-64]。この前処理を行うことによって、ノイズのような試料の本質とは関係のないスペクトル変動による影響を削除して数値化することが可能となる[62-64]。しかしながら、固体 NMR スペクトルや PXRD パターンはピークとノイズの識別性が高く、薬物と担体との識別も明確である。そのため、スペクトルの前処理による利点は少なく、逆に前処理により、試料の本質に関与する微小なスペクトル変化が除去されてしまう危険性があると考え、本研究では前処理を行わないことが適切と考えた。

Figs. 7, 8 に実測の結晶化速度パラメーター (X-軸) と PLSR 法を用いた数値化により予測された結晶化速度パラメーター (Y-軸) との回帰分析の結果を示す。Figs. 7a), 8a) に示したように、PXRD パターンと見掛けの結晶化速度 (β) または結晶核生成までの誘導期間 (τ) との相関係数 (R^2) はそれぞれ 0.1305, 0.6350 と低い値を示し、結晶化速度パラメーターとの相関性は低いと考えられた。したがって、保存試験開始前の固体分散体の粉末 X 線回折法パターンから、その物理的安定性を予測することは難しいと判断された。一方、固体 NMR スペクトルの場合、Figs. 7b), 8b) に示すように、見掛けの結晶化速度 (β)

または結晶核生成までの誘導期間(τ)との相関係数(R^2)はそれぞれ 0.9916、0.9838 と良好な相関性が示された。したがって、PLSR 法によって固体 NMR スペクトルを数値化することにより、固体分散体の物理的安定性を予測できる可能性が示唆された。また、前節にて示したように、固体 NMR スペクトルの変化はトログリタゾンの短距離秩序の差を表していることから、固体分散体における薬物の短距離秩序が物理的安定性に影響を与える重要因子であると考えられた。

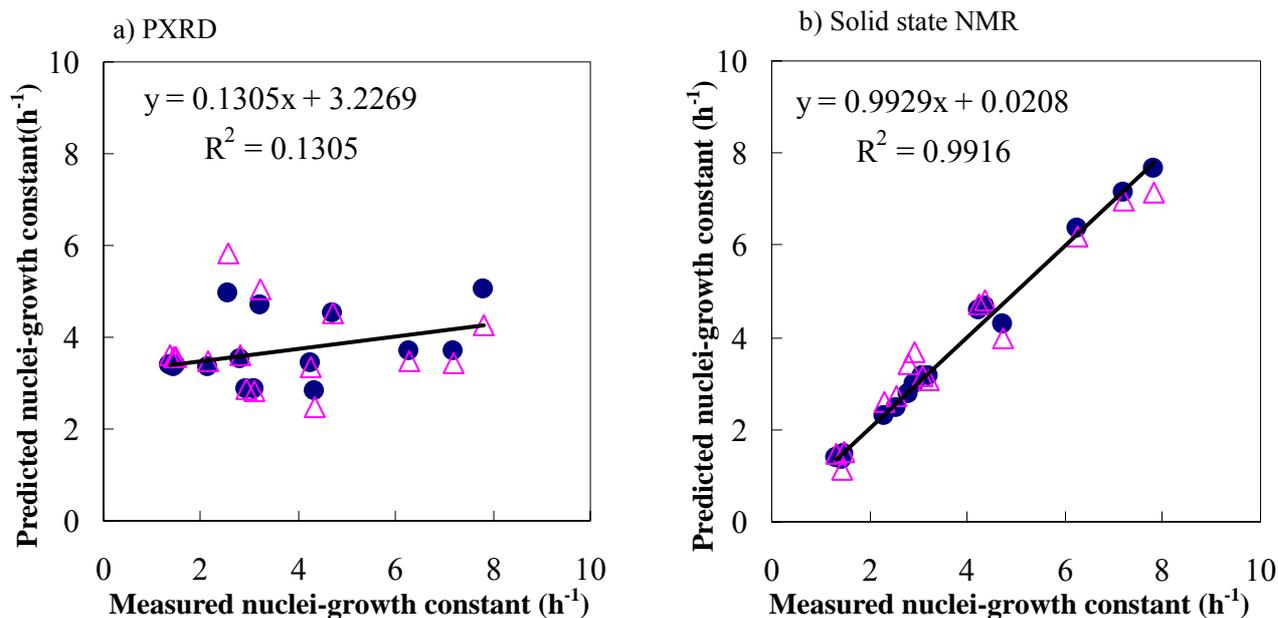


Fig. 7 Correlation between the actual and predicted nuclei-growth constants of solid dispersions a) analyzed using PXRD patterns, b) analyzed using ¹³C CP/MAS NMR spectra.

●) calibration, △) predicted

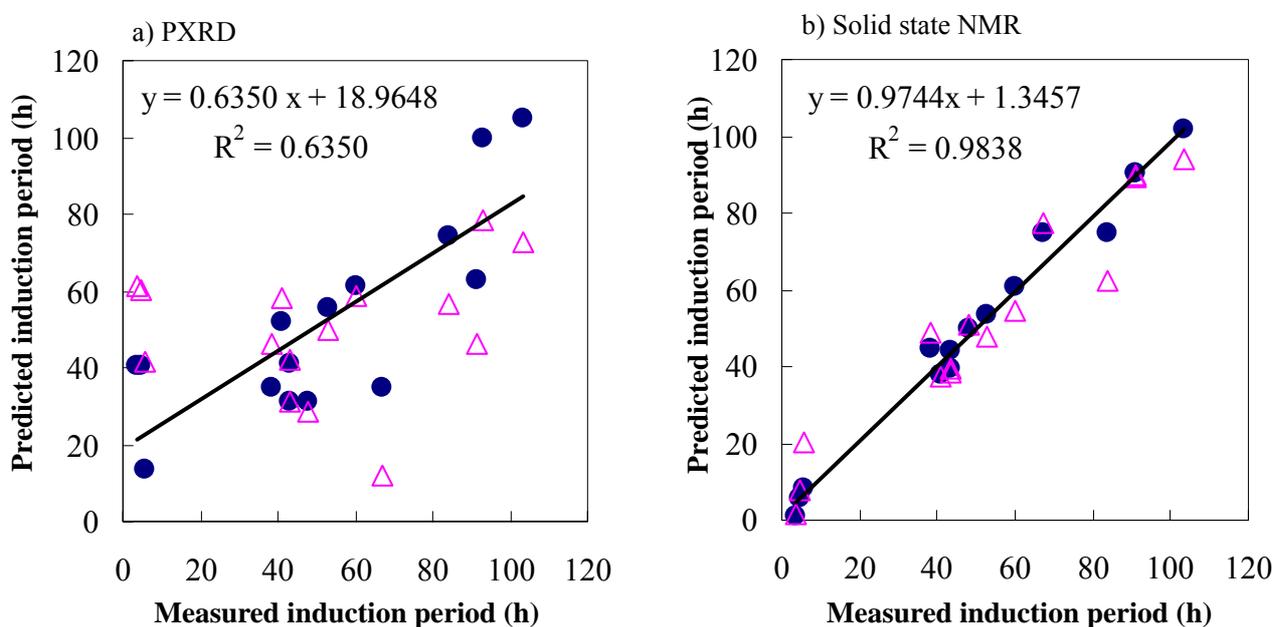
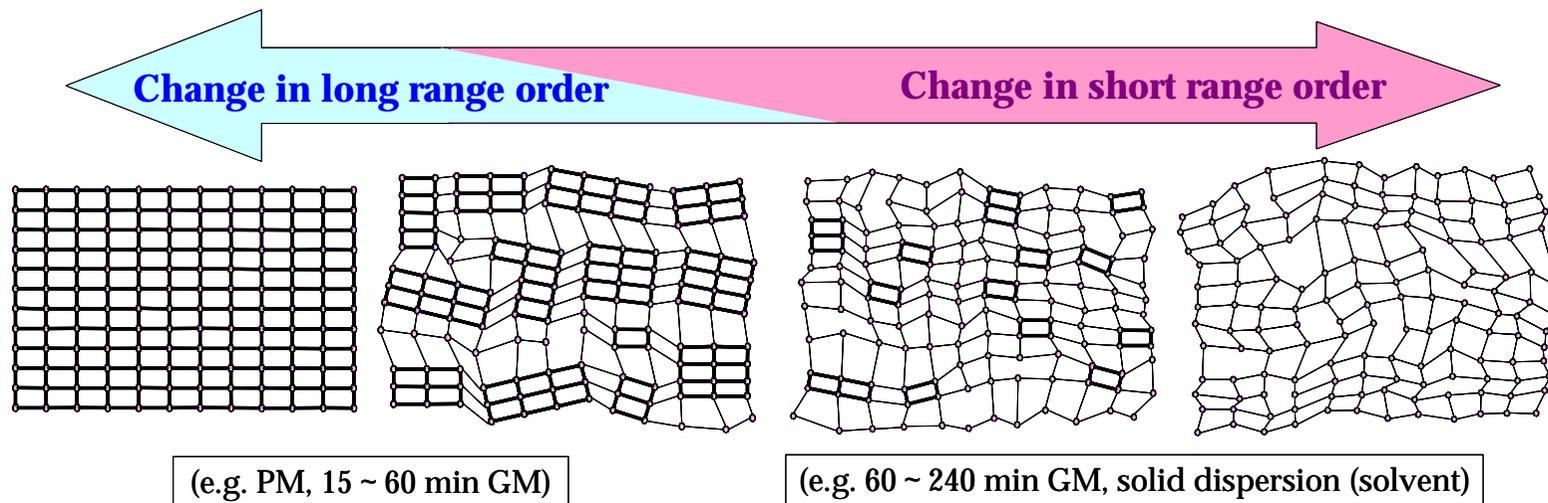


Fig. 8 Correlation between the actual and predicted induction periods of solid dispersions a) analyzed using PXRD patterns, b) analyzed using ¹³C CP/MAS NMR spectra.

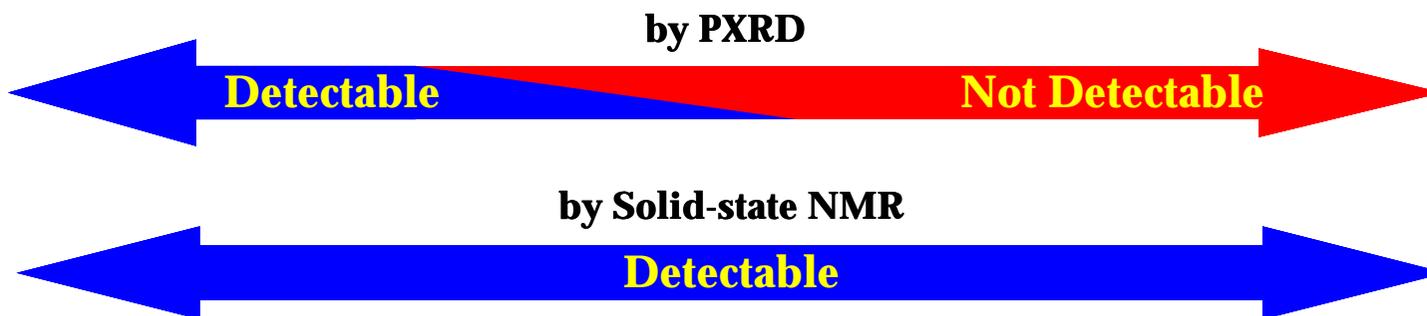
●) calibration, △) predicted

第 4 節 結論

混合粉碎及び溶媒法で調製したトログリタゾン固体分散体において、PXRD で同様のパターンを示す試料間であっても、物理的安定性に差があることが確認された。Scheme 1 に示すように、PXRD ではハローパターンを示す固体分散体であっても、その系中には PXRD では検出できない短距離の秩序性が存在し、得られた固体分散体の物理的安定性の差はこの短距離秩序の差によるものと推察され、粉碎時間の延長や、溶媒法の適用により、この短距離秩序をより消失させた固体分散体ほど物理的に安定となることが示された。したがって、固体分散体の物理的安定性を確保するにあたり、この短距離秩序の差を正確に評価することは重要である。固体 NMR 法ではこれら試料間の短距離秩序の差を明確なスペクトル変化として捉えることが可能であった。従って、固体 NMR は固体分散体の物理的安定性に関わる固体物性評価の手法として有用であると考えられた。さらに、PLSR 法を用いて数値化した固体 NMR スペクトルと固体分散体の結晶化挙動には良好な相関性が認められたことから、固体 NMR は固体分散体の物理的安定性予測に有用な測定手法であることが明らかとなった。



18



Scheme 1 Difference in the detectability of short range order between PXRD and solid state NMR

第二章 固体分散体製造プロセス管理/最適化に対する固体 NMR の応用

本章では、第一章で確立した固体 NMR による物理的安定性予測法の固体分散体制剤の製造プロセス管理および最適化への適用を試みた。

近年の医薬品開発における製剤の品質保証の考え方は、日米 EU 医薬品規制調和国際会議で定められたガイドライン ICH Q8 「製剤開発に関するガイドライン」[65]に記載されているように、完成した製剤を評価することで品質を保証するという考えから、各製造工程の目的や製品品質に与える影響を理解し、各工程、特に製品品質に与える影響が大きい重要工程を管理することで高品質の製剤を作りこむ、すなわち、Quality by Design という考え方に移行しつつある。その実現に向け、実験計画法 (Design of Experiment: DOE) による製造条件最適化やデザインスペースの構築[65-68]、Process Analytical Technology (PAT)を用いた工程管理[69-71]など、様々な取り組みが行われている。混合粉砕法にて固体分散体を製造する場合、粉砕工程は物理的安定性に影響を与える重要工程である。従って、固体分散体の品質を作りこむ上で、粉砕工程プロセスの管理及び最適化は重要事項と考えられる。そこで本研究では、混合粉砕法による固体分散体制剤の製造を想定し、プロセスパラメーターが固体分散体の物理的安定性に及ぼす影響を精査し、固体 NMR スペクトルが固体分散体製造プロセスにおいて重要品質特性である物理的安定性を予測する評価手法となりうるか検証した。

本研究では、実生産での固体分散体製造を見据え、粉砕機に日本コークス工業株式会社製ダイナミックミル MYD2-XA 型を選択した。混合粉砕法により固体分散体を調製する場合、粉砕機に振動ミルが選択されることが多い[21-23]。振動ミルは、試料と粉砕媒体が封入された粉砕ポットが激しく振動することにより、粉砕媒体と試料の衝突が促され、粉砕が進行するという機構の粉砕機である。本機は、粉砕室の容量が小さいため、工程によるロスが少なく、操作も簡便であることから、実験室スケールの固体分散体調製

には有用な粉砕機である。しかしながら、バッチ式の機構であるため、生産効率が低く、また、大量の試料を処理できる大型機も存在しないため、実生産で用いることは難しい。一方、ダイナミックミルは、固定式の粉砕室内の内にアジテーターアームと呼ばれる攪拌羽根が配された構造を有し、このアジテーターアームの回転により、粉砕室内に充填された粉砕媒体と試料の衝突が促され、粉砕が行われる機構である。このダイナミックミルのもう 1 つの特徴として、粉砕室に試料の投入口と排出口が設けられていることが挙げられる。すなわち、粉砕室内に投入された試料は、粉砕処理を受けながら排出口へと移送されるため、連続的な混合粉砕が可能という利点を有している。本研究で用いたダイナミックミル MYD-2XA 型では 1 時間あたりに 30 g から 3 kg の粉砕処理が可能であり、さらに、同機構で 1 時間あたりに 2 kg～2000 kg の粉砕処理が可能な大型のダイナミックミル MYD25-XA 型も開発されている。医薬品の開発において、品質確保は当然のことながら、実生産における生産効率向上も検討すべき重要な事柄である。従って、実生産を見据えた本検討では、振動ミルではなく、連続式粉砕機であるダイナミックミルを用いることが適切であると判断した。

第 1 節 固体分散体の物理的安定性に及ぼすプロセスパラメーターの影響

ダイナミックミルの運転は粉砕媒体であるボールの仕込量、アジテーター回転数、粉砕温度、パス回数の 4 つのプロセスパラメーターを組み合わせた製造条件により制御される。これらのプロセスパラメーターにおいて、物理的安定性への影響を与える因子を効率的、かつ統計的な評価により正確な判断をするため、実験計画法を用いて実験モデルを構築することとした。実験計画法とは、数理統計学を応用し、できるだけ最小規模の実験で、諸要因とアウトプットとの関係性を評価するための実験デザインを構築する手法

[72]であり、ICH Q8 でも「正式な実験計画」として定義され、その活用が推奨されている [65]。本研究では、統計解析ソフト JMP Ver.6.01 を使用し、実験計画法(一部実施要因計画モデル: Fractional Factorial Design [72,73])に基づいて、Table 3 に示すトログリタゾン /PVP K-30 固体分散体の製造条件モデルを構築した。

Table 3 Experimental model conducted by DOE

Lot No.	ボール仕込み量 (g)	回転数 (rpm)	粉碎温度 (°C)	パス回数
1	2000	1000	20	7
2	1000	1000	20	3
3	1000	800	20	7
4	2000	800	20	3
5	2000	1000	5	3
6	1000	1000	5	7
7	2000	800	5	7
8	1000	800	5	3
9	1500	900	12.5	5

構築した実験モデルに従って製造した固体分散体の PXRD パターンを Fig. 9 に示す。いずれの製造条件で製造した固体分散体もハローパターンを示し、各ロット間に明確な差異は認められなかった。しかしながら、Fig. 10 に示すように、これらの固体分散体は 40°C/94%RH 下で保存すると製造条件の違いにより異なる結晶化挙動を示すことが確認された。従って、固体分散体の物理的安定性を確保するためには、各プロセスパラメーターが物理的安定性へ与える影響を把握した上で、最適な製造条件を構築し、工程を適切に管理することが重要であると考えられた。

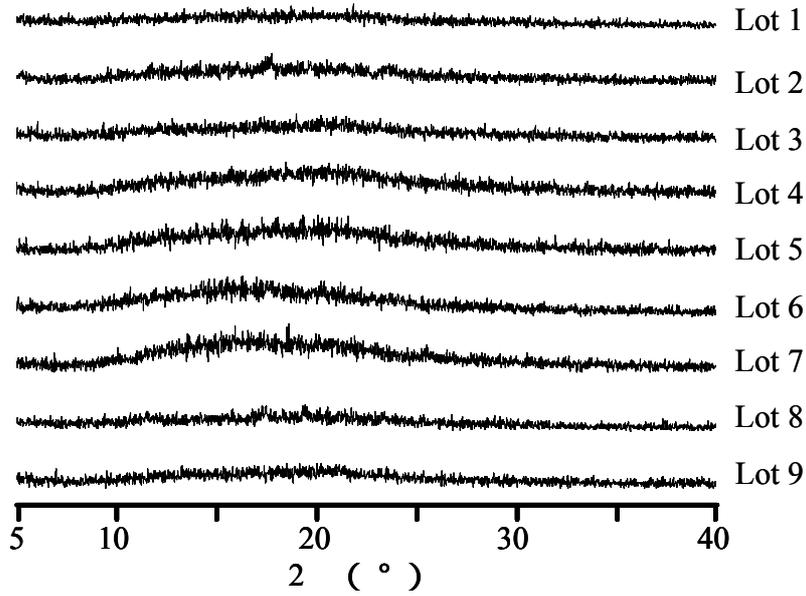


Fig. 9 PXR D patterns of solid dispersions prepared by dynamic mill

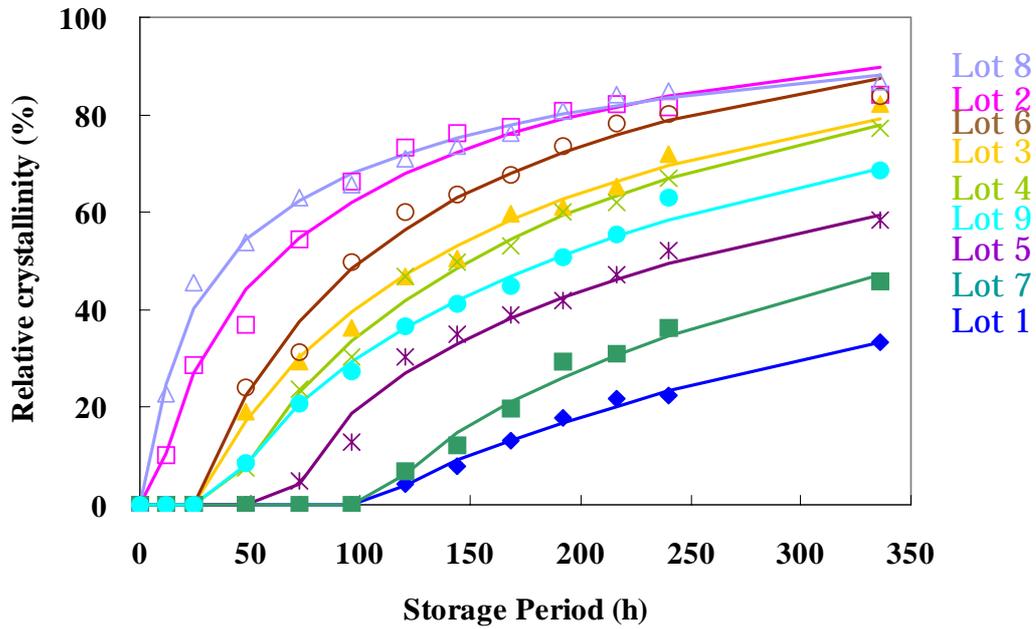


Fig. 10 Changes in relative recrystallinity of solid dispersions during storage at 40°C/94% RH
 ♦) Lot 1, □) Lot 2, ▲) Lot 3, ×) Lot 4, *) Lot 5, ○) Lot 6, ■) Lot 7, ▲) Lot 8, ●) Lot 9
 The solid lines represent the fit to KJMA equation.

第一章と同様に KJMA 式[44,57,58]を用いて、各固体分散体の結晶化挙動から結晶化速度パラメーターを算出し (Table 4)、各プロセスパラメーターとの要因分析を行った結果を Fig. 11 に示す。その結果、粉碎媒体の仕込量及びパス回数を増加させることにより、得られる固体分散体の物理的安定性は向上することが示された。粉碎媒体の仕込量の変化は、すなわち、粉碎媒体と試料の総接触面積の変化と考えることが可能である。そのため、粉碎媒体の仕込量が増加すると、粉碎効率は向上し、物理的安定性に影響を及ぼす重要な固体物性である短距離秩序は消失する方向に進むものと考えられた。また、パス回数は試料が粉碎室を通過する回数であり、繰り返し粉碎を行うことにより、試料に与えられるメカニカルな力が加算され、短距離秩序は同様に消失されるものと考えられた。したがって、固体分散体の短距離秩序に影響を与える因子である粉碎媒体の仕込量及びパス回数は、固体分散体製造において重要なプロセスパラメーターであると判断された。一方、粉碎温度やアジテーター回転数の物理的安定性に及ぼす影響は少なく、粉碎温度 5~20℃、アジテーター回転数 800~1000 rpm の間で、プロセスパラメーターを変動させても、物理的安定性には変化が現れないものと推察された。アジテーター回転数は粉碎媒体の運動性を制御するプロセスパラメーターであるため、その変化は粉碎効率は変動させ、物理的安定性に影響を及ぼすものと考えられた。しかしながら、要因分析の結果から、本パラメーターが物理的安定性へ及ぼす影響が少ないと推察された理由は、アジテーターアームが粉碎媒体の運動と同時に試料を排出口へ移送する役割も担っていることに起因すると考えられた。アジテーター回転数が増加は、粉碎媒体の運動促進と同時に、試料の排出も促進されるため、この相反する二つの効果の相殺により、物理的安定性に及ぼす影響が少なかったものと考えられた。

Table 4 Change in the kinetic parameters of the KJMA equation

Lot No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
n (-)	0.78	0.64	0.73	0.78	0.63	0.75	0.73	0.48	0.73
β (h^{-1})	1.4	11.0	6.1	5.8	3.2	8.6	2.4	14.7	4.2
τ (h)	108.5	9.1	31.2	41.0	69.6	29.3	110.4	7.2	39.4

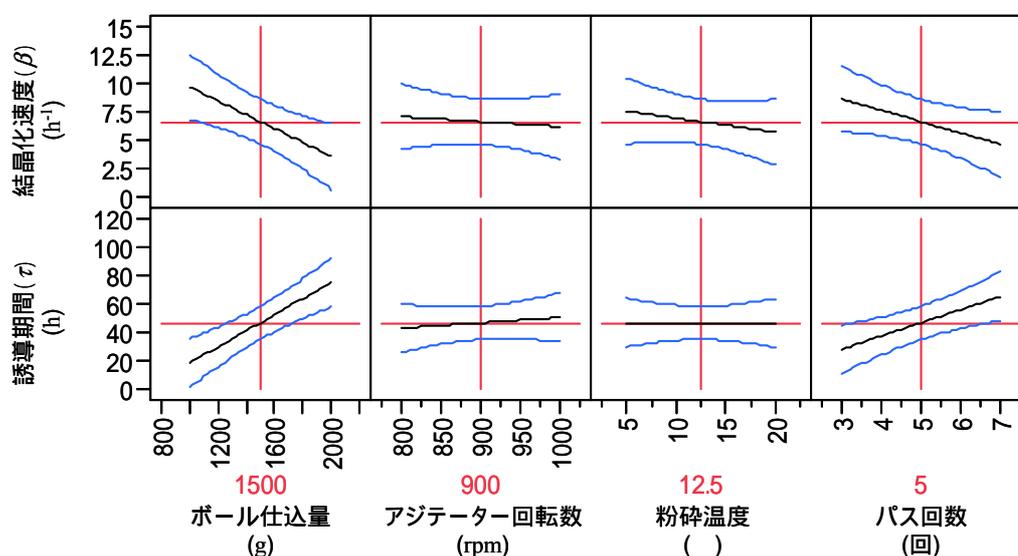


Fig. 11 Results of attribution analysis between kinetic parameters and co-grinding process parameters

第 2 節 固体 NMR による物理的安定性の予測

調製した固体分散体を ^{13}C CP/MAS 法を用いた固体 NMR により評価した結果を Figs. 12、13 に示す。Fig. 13 は Fig. 12 におけるトログリタゾン由来のピークを拡大した図である。Fig. 13 に示すように、調製した固体分散体の ^{13}C CP/MAS NMR スペクトルには顕著な差が認められ、製造条件の違いにより、固体分散体中のトログリタゾンは異なる固体物性 (短距離秩序) を有することが示唆された。

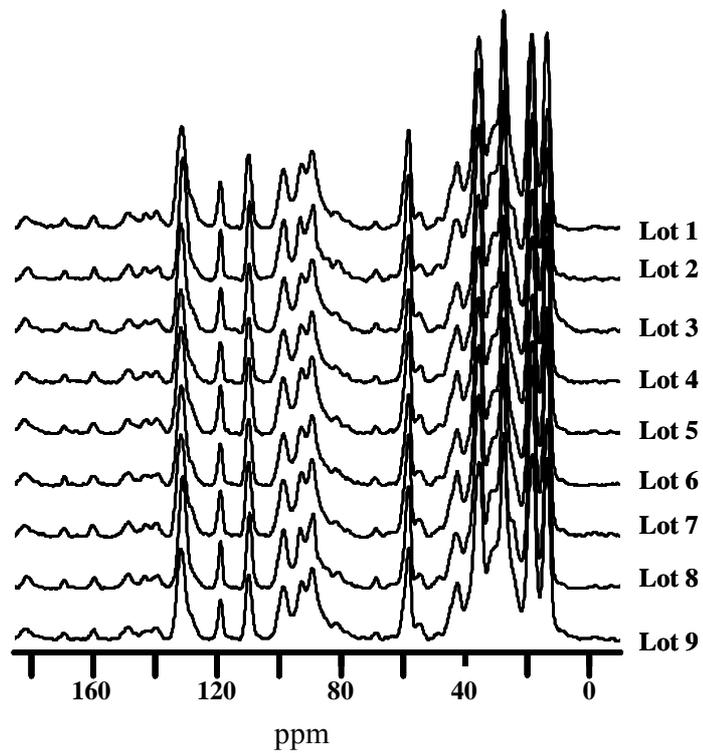


Fig. 12 ^{13}C CP/MAS NMR spectra of solid dispersions prepared by dynamic mill

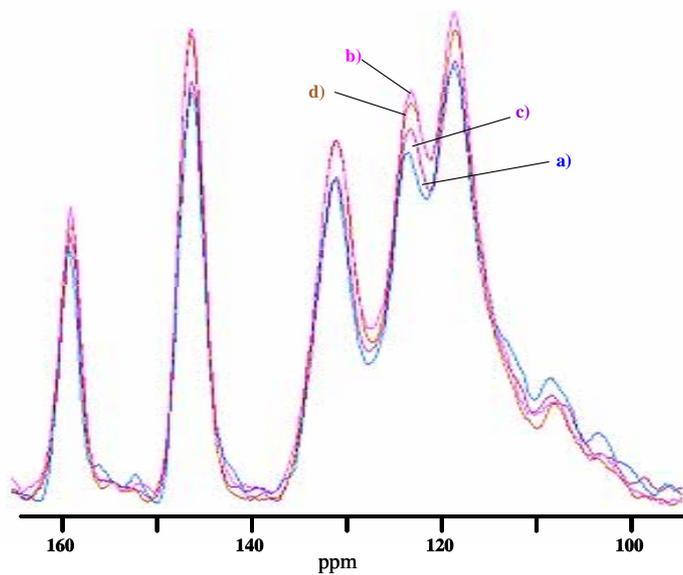


Fig. 13 ^{13}C CP/MAS spectra around 100-160 ppm of troglitazone/PVP solid dispersions
 a) Lot 1, b) Lot 2, c) Lot 5, d) Lot 6

本実験とは別に、予め実験室スケール(振動ミル)で作成しておいた物理的安定性予測の検量線(第一章で作成した検量線)に、今回得られた固体 NMR スペクトルを当てはめ、物理的安定性予測を行ったところ、Table 5 に示すように、予測された結晶化速度パラメーターは、Table 4 に示す実測値とほぼ一致した。さらに、得られた結晶化速度パラメーターの予測値と実測値の相関性を直線回帰分析にて評価したところ、Fig. 14 に示すように、相関係数(R^2)が見掛けの結晶化速度定数では 0.9378、核生成までの誘導期間では 0.9296 と良好な相関関係が示された。したがって、PLSR 法を用いた固体 NMR スペクトルの数値化による物理的安定性予測法の予測精度は良好であると考えられた。以上の結果より、固体 NMR スペクトルが、固体分散体製造プロセスにおいて重要品質特性である物理的安定性を予測するための評価手法となり得ることが明らかとなり、固体分散体の製造プロセス管理/最適化において固体 NMR の適用が可能であることが明らかとなった。また、実験室スケールで作成した検量線を用いて、ダイナミックミルのような実生産を見据えた粉砕機で製造した固体分散体の物理的安定性を精度良く予測できたことから、機器変更やスケールアップにおいても、確立した物理的安定性予測法の応用が可能と考えられた。

Table 5 Recrystallization kinetic parameters predicted from ^{13}C CP/MAS NMR spectra

Lot No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
β (h^{-1})	1.2	13.1	7.4	4.7	4.7	8.8	2.3	13.7	4.9
τ (h)	97.9	13.0	35.8	53.5	58.3	19.5	116.1	13.0	22.8

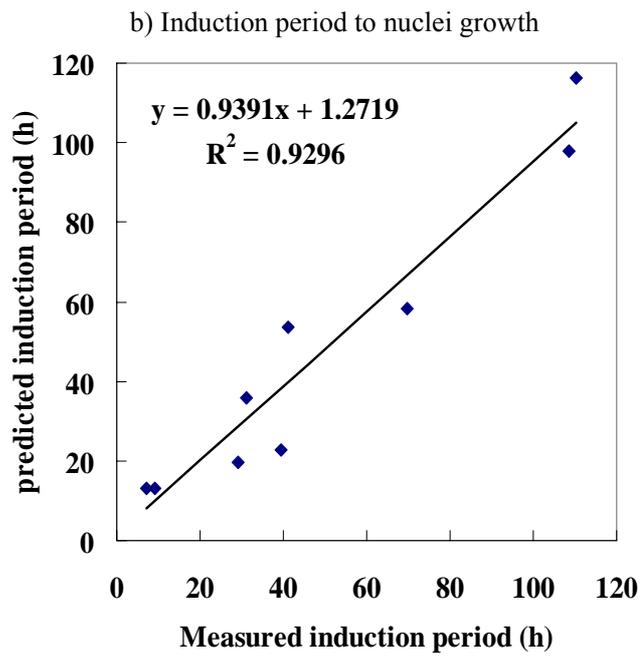
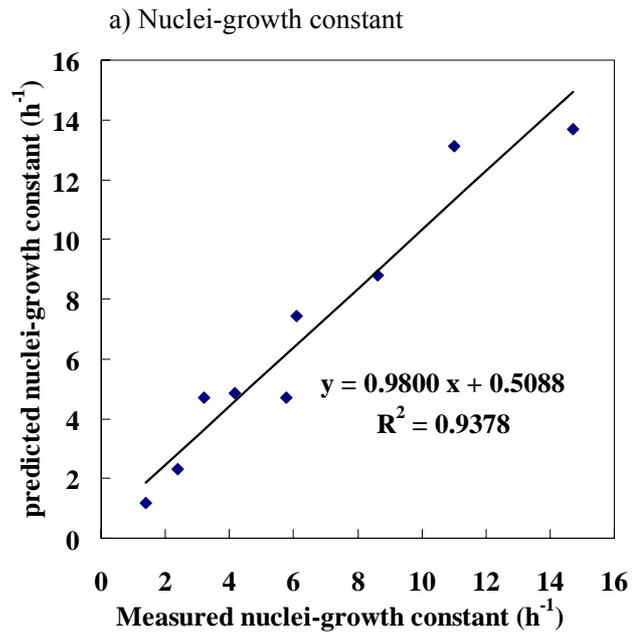


Fig. 14 Relationship between predicted and measured recrystallization kinetic parameters of troglitazone/PVP solid dispersion

a) nuclei-growth constant, b) induction period to nuclei growth

第3節 結論

実験計画法により策定した異なる製造条件で調製したトログリタゾン/PVP K-30 固体分散体は、プロセスパラメーター、特に粉碎媒体の仕込量とパス回数により、異なる結晶化挙動を示した。固体 NMR を用いることで、プロセスパラメーターの影響に起因する固体分散体中のトログリタゾンの固体物性の差異を検出することが可能であった。第一章にて確立した物理的安定性予測の検量線を用いて算出した結晶化速度パラメーターは実測値とよく一致しており、固体 NMR スペクトルが固体分散体製造プロセスにおいて重要品質特性である物理的安定性を予測するための評価手法となり得ることが明らかとなった。従って、製造プロセス管理/最適化において固体 NMR の適用が可能であることが示された。

第三章 固体分散体の物理的安定性へ及ぼす高分子種の影響

固体分散体の製造において、適した高分子を選択することは重要なことである。担体に用いる高分子の種類は固体分散体の品質に影響を及ぼす要因の 1 つであり、選択した高分子種の違いにより、物理的安定性や溶出特性が異なった例が多数報告されている。例えば、Konno らは異なる 3 種の高分子を用いて Felodipine 固体分散体を調製したところ、得られた固体分散体は、用いた高分子の吸湿性の差に起因して、異なる物理的安定性を示したことを報告している[55]。また、選択した高分子種によって、薬物－高分子間の相互作用や Miscibility に違いが生じ、溶解性改善効果や物理的安定性が異なった例も多数報告されている[20,74-76]。従って、良好な品質を持つ固体分散体制剤を開発するためには、高分子が及ぼす溶解性や物理的安定性への影響や、そのメカニズムの違いを評価した上で、適切な高分子を選択することが重要である。そこで、第一章にて確立した固体 NMR による物理的安定性予測法の高分子担体スクリーニングへの適用を目指し、以下の検討を行った。

まず、確立した物理的安定性予測法の普遍性を検証することを目的に、PVP K-30 とは分子量の異なる PVP (PVP K-17, K-90) やポリビニルピロリドンビニルアセテート (PVP-VA)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) を高分子担体としたトログリタゾン固体分散体を調製し、その物理的安定性の比較を行った。また、HPMC、PVP を担体とした固体分散体に着目し、高分子種の違いによる物理的安定性向上の機構の違いについての考察を行い、確立した物理的安定性予測方法の高分子担体スクリーニングへ適用可否を検証した。

第 1 節 評価法の普遍性の確立

Fig. 15 に物理混合物 (PM) 及び混合粉碎物 (GM) の PXRD パターンを示す。担体を用いた PVP K-17, K-90, PVP-VA, HPMC はいずれも結晶性を持たない高分子であり、いずれの系においても、PXRD パターンに観測されるピークは全てトログリタゾン由来のピークである。Fig. 15 に示すように、物理混合物を振動ミルで 60 min 以上の混合粉碎することで、いずれの高分子を用いた場合でも、担体に PVP K-30 を用いた場合と同様に、トログリタゾン由来の回折ピークが消失した。また、所定時間の混合粉碎 (60, 120, 180, 240 min) により調製した固体分散体は、いずれの高分子を用いた場合であっても、粉碎時間の延長に伴い、物理的安定性が向上することが確認された (Fig. 16)。KJMA 式を用いて算出した結晶化速度パラメーターと多変量解析 (PLSR 法) により数値化した固体分散体の固体 NMR スペクトルの間には Figs. 17, 18 に示すように、良好な相関関係が見出された。以上の結果より、第一章にて確立した PLSR 法を用いた固体 NMR スペクトルの数値化による物理的安定性予測方法が、高分子の種類によらない普遍的な手法であることが確認された。

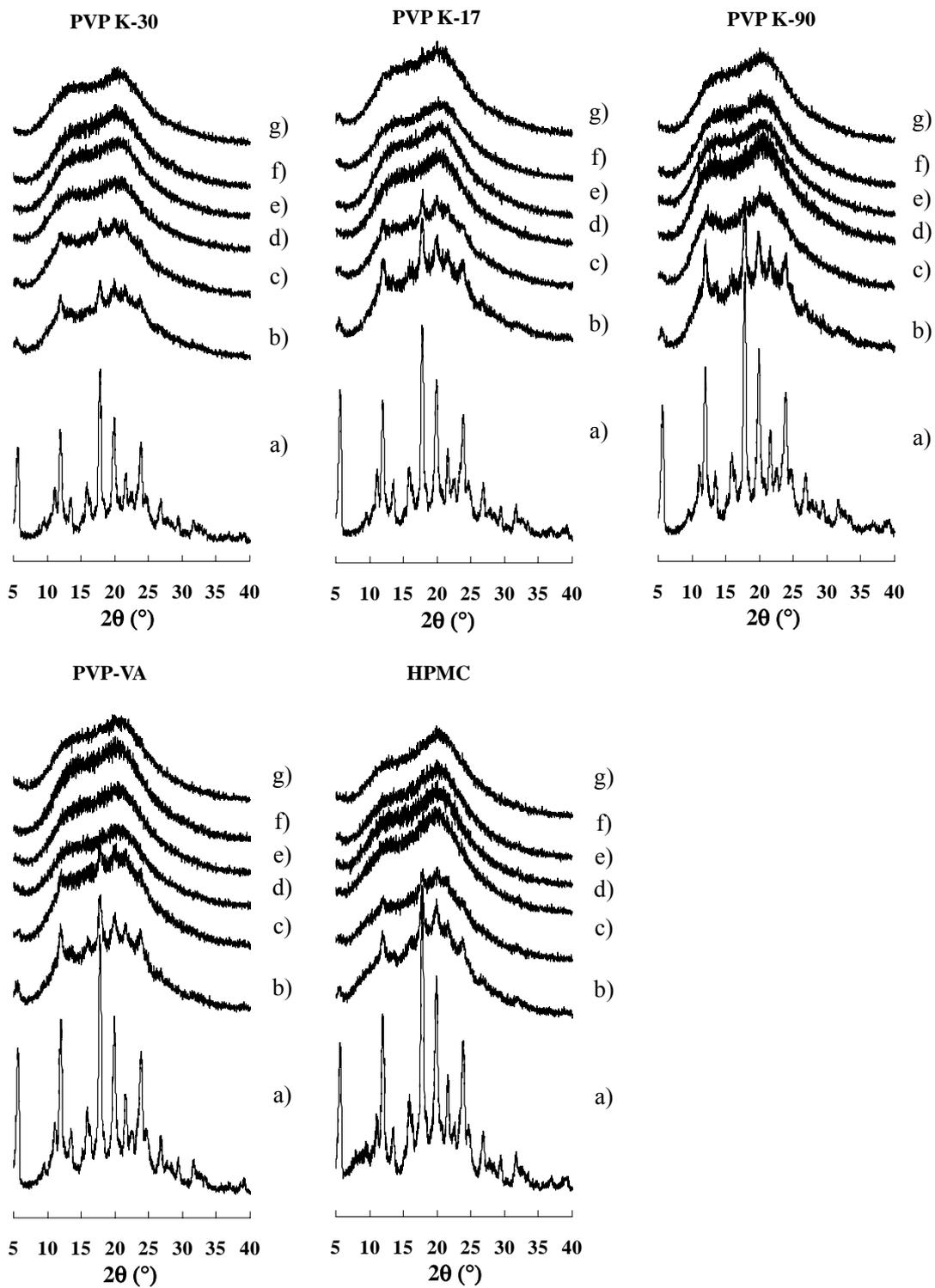


Fig. 15 PXRD patterns of physical mixtures and ground mixtures
a) Physical mixture, b) 15 min GM, c) 30 min GM, d) 60 min GM, e) 120 min GM, f) 180 min GM, g) 240 min GM

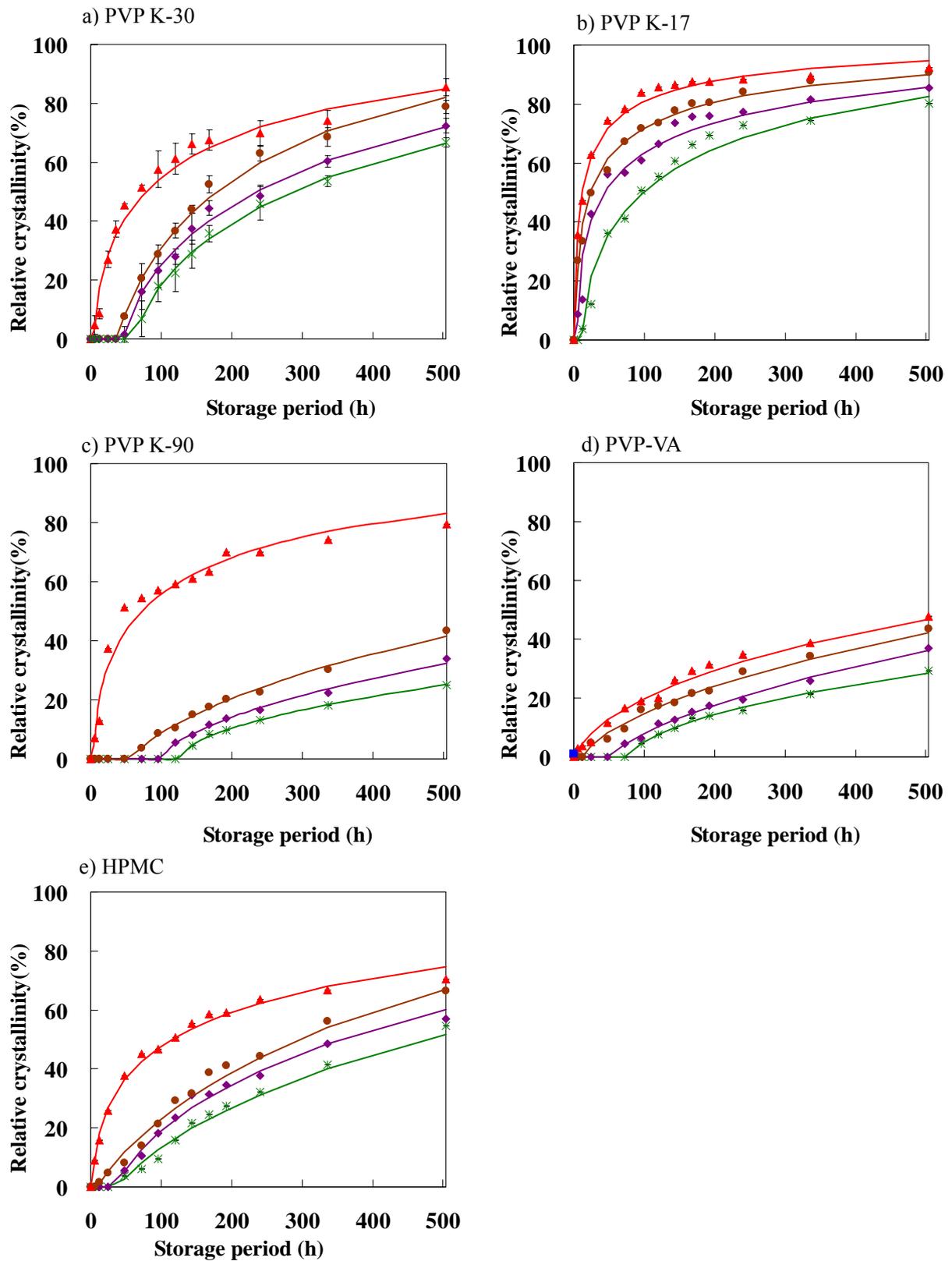


Fig. 16 Recrystallization behaviors of each troglitazone solid dispersions under 40°C/94%RH
 ▲) 60 min GM, ●) 120 min GM, ◆) 180 min GM, ×) 240 min GM

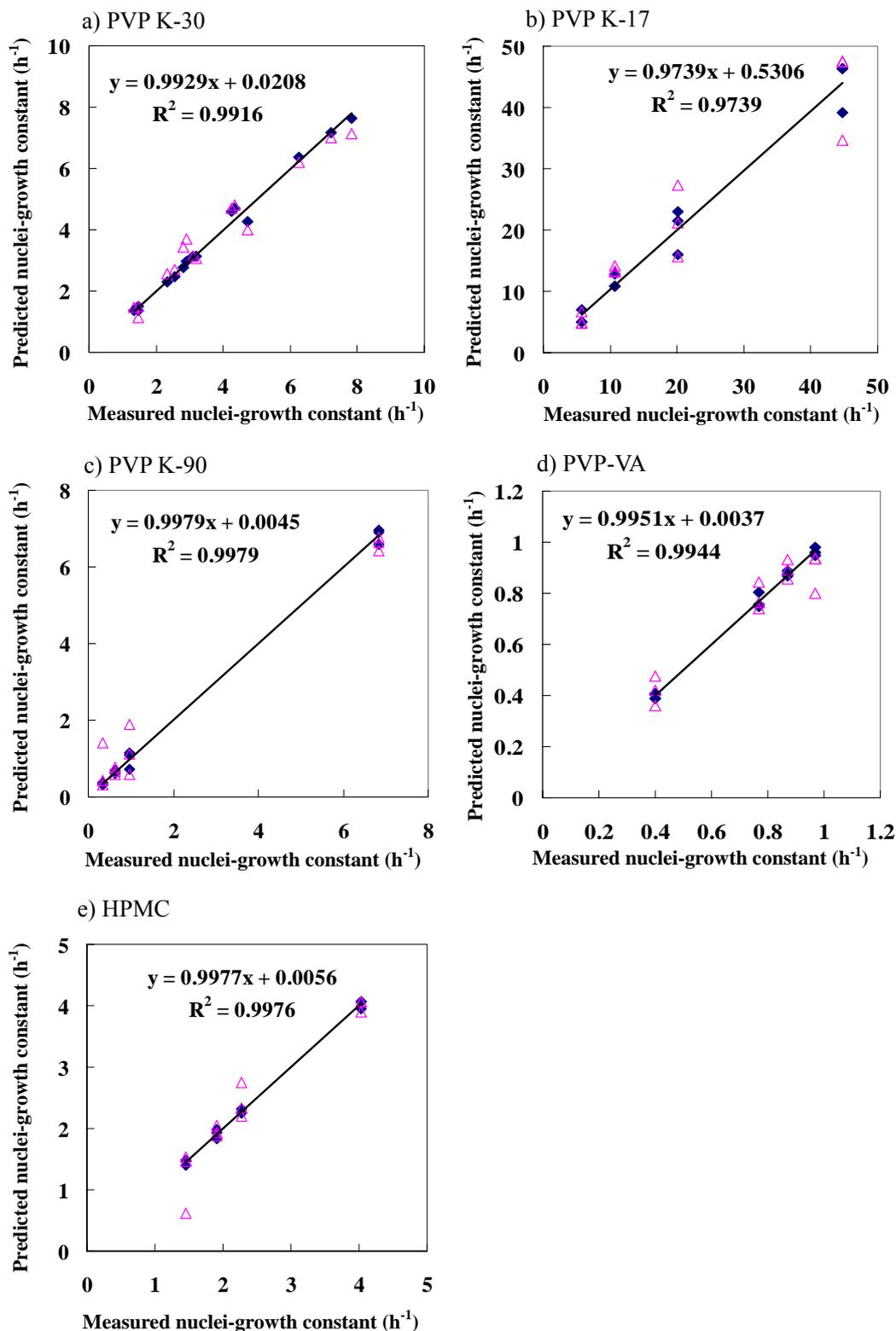


Fig. 17 Correlation between the actual nuclei-growth constant and predicted nuclei-growth constant of each troglitazone solid dispersion

◆) Calibration, △) Predicted

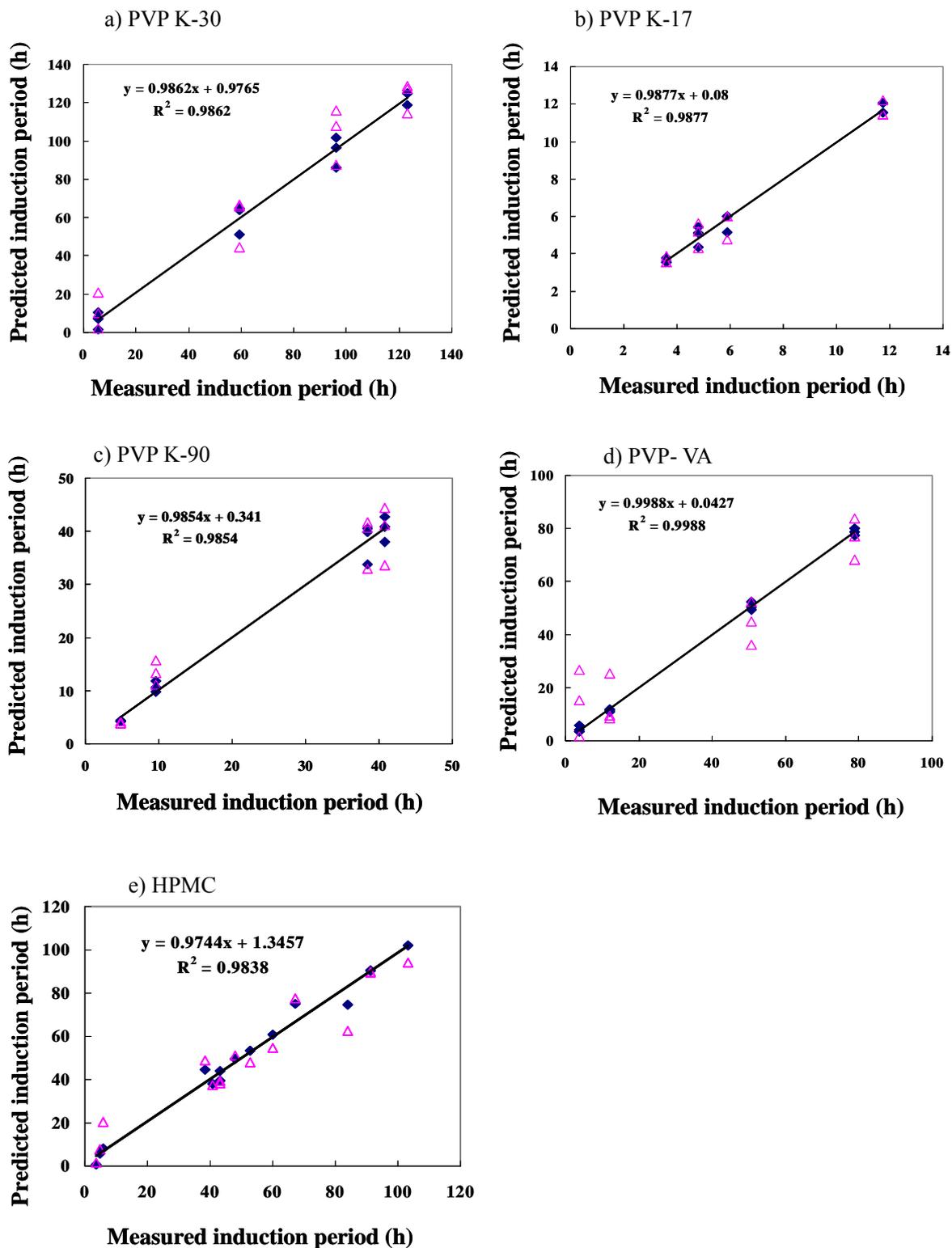


Fig. 18 Correlation between the actual induction period and predicted induction period of each troglitazone solid dispersion

◆) Calibration, △) Predicted

第 2 節 固体分散体の結晶化挙動に及ぼす高分子種の影響

確立した固体 NMR による物理的安定性予測法は、高分子担体が同一の固体分散体間における短距離秩序の差を評価する手法である。ある高分子に対して、PLSR 法を用いて作成した検量線がその他の高分子に対しても普遍的に適用可能であれば、確立した物理的安定性予測法が、高分子のスクリーニングへ適用が可能と考えた。そこで、トログリタゾン/PVP K-30 固体分散体を用いて作成した検量線に、HPMC を用いた固体分散体の固体 NMR スペクトルの当てはめを試みた。しかしながら、Fig. 19 に示すように予測された結晶化速度定数と実測値には大きな乖離が示され、高分子種が異なる場合、短距離秩序の差を評価する本手法だけでは物理的安定性を予測することができないことが明らかとなった。

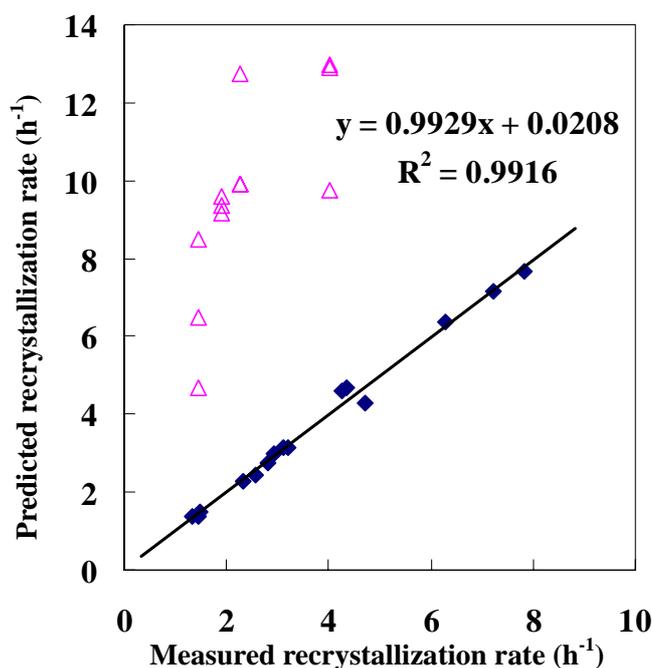


Fig. 19 Recrystallization rates of each troglitazone solid dispersion predicted by using the calibration curve of troglitazone/PVP K-30 solid dispersions

◆) PVP K-30, △) HPMC

高分子種の違いによる物理的安定性向上の機構の差を解明するために、HPMC、PVP を担体としたトログリタゾン固体分散体の ^{13}C CP/MAS NMR スペクトルを精査したところ、175 ppm 付近に現れるカルボニル炭素に由来するピークに顕著な違いが確認された。Fig. 20 に HPMC 及び PVP K-30 を用いた物理混合物及び 240 分の混合粉碎で調製した固体分散体の ^{13}C CP/MAS NMR スペクトル(175 ppm 付近)を示す。高分子担体に PVP K-30 を用いた場合には、トログリタゾンのカルボニル基に由来する 175 ppm 付近のピークは固体分散体と物理混合物でほぼ同位置に観測された。一方、HPMC を用いた場合には、固体分散体化により、175 ppm 付近のピークの低磁場シフトが観測された。このことから、HPMC を用いて製した固体分散体は、トログリタゾンのカルボニル基を介した薬物-高分子間相互作用を有し、PVP を用いた固体分散体では、トログリタゾンのカルボニル基を介した薬物-高分子間相互作用は存在しないと推察された。

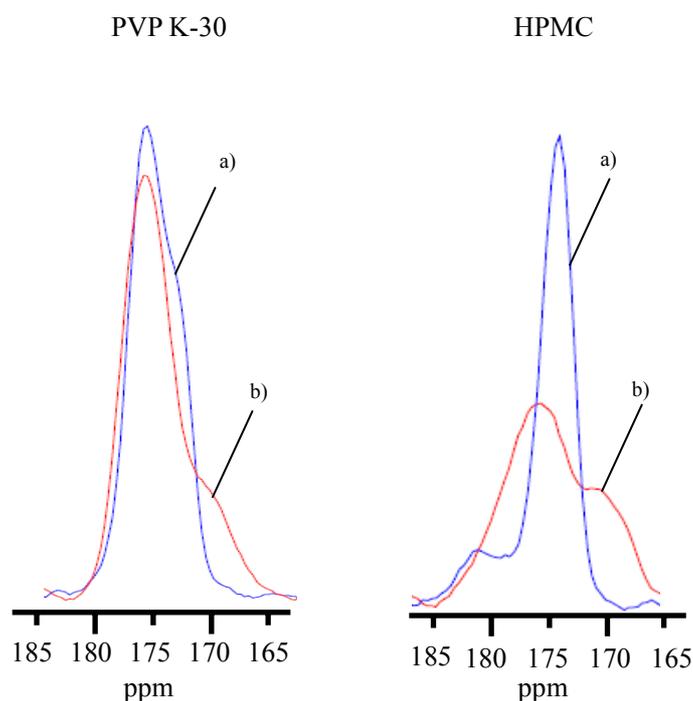


Fig. 20 ^{13}C CP/MAS NMR spectra of physical mixtures and troglitazone solid dispersions around 175 ppm, a) Physical mixture, b) 240 min GM

検出された薬物-高分子間相互作用が、物理的安定性に影響を及ぼしうる因子であるか否かを考察するため、パルス間隔を変化させた ^{13}C CP/MAS NMR 測定を行い、固体分散体中のトログリタゾンの分子運動性評価を試みた。 ^{13}C CP/MAS NMR 測定を行うにあたり、パルスの間隔は重要な測定パラメーターであり、パルス間隔は、通常、測定分子の緩和時間よりも長い間隔で設定される。パルス間隔を分子の緩和時間よりも短く設定した場合、パルスの飽和が起こり、積算を重ねても十分なピーク強度を得ることができないことがその理由である。しかし、このパルスの飽和現象を逆に利用し、あえて短いパルス間隔で ^{13}C CP/MAS NMR 測定を行い、運動性の異なる分子の存在を検出した例が報告されている[77]。そこで、本研究でも、このパルスの飽和現象を利用し、パルス間隔とピーク強度の関係を評価することで、固体分散体におけるトログリタゾンの運動性の違いを評価できるのではないかと考えた。Fig. 21 に PVP、Fig. 22 に HPMC を用いて調製した物理混合物と固体分散体(240 分混合粉碎物)におけるカルボニル炭素のピーク強度とパルス間隔の関係を示す。Fig. 21 に示すように、PVP を用いた固体場合、パルス間隔の変化に対するピーク強度の変化は物理混合物と固体分散体で大きな差は認められなかった。一方、HPMC を用いた場合、固体分散体のピーク強度は、PM と比して、パルス間隔の短縮に伴って速やかに低下する傾向が認められた。この結果は、カルボニル基を介した HPMC との相互作用形成による、トログリタゾン分子の運動性低下を示唆するものと考えられた。従って、トログリタゾン固体分散体において、薬物-高分子間相互作用は物理的安定性に影響を及ぼす因子の 1 つと推察された。

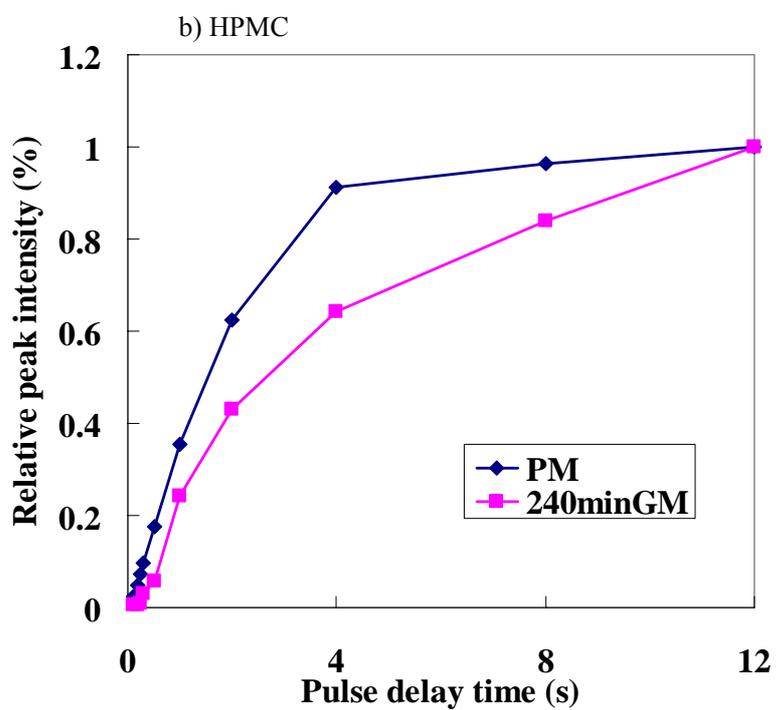
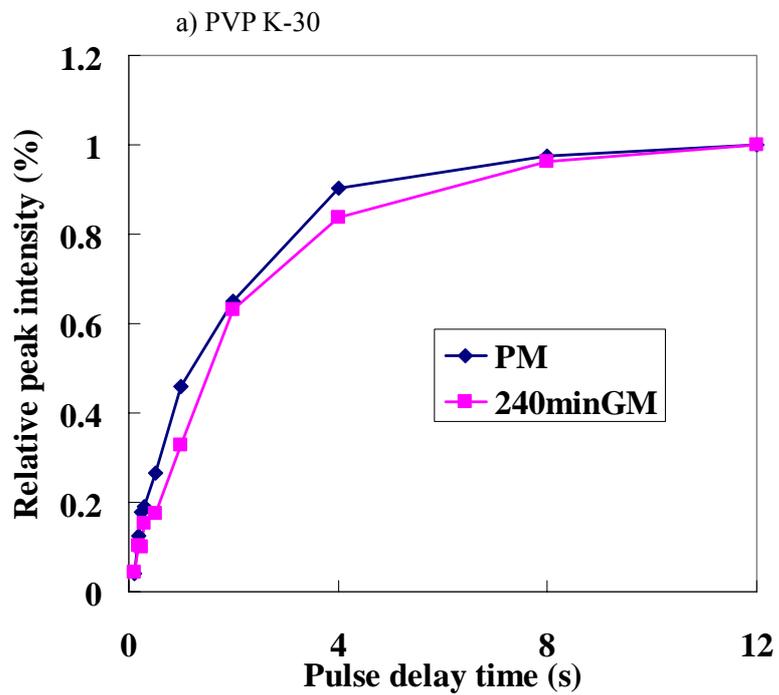


Fig. 21 Relationship between pulse delay time and relative peak intensity

a) troglitazone/PVP K-30 PM and 240 min GM, b) troglitazone/HPMC PM and 240min GM

第一章では、短距離秩序の差を優先的に評価するために、相互作用が起りやすいカルボニル基に由来する 175 ppm 付近のピークは PLSR のモデルに組み込まず、トログリタゾンの芳香環の炭素に由来するピークを優先的に用いて評価系を確立した。相互作用も含めて評価するため、このピークも入力因子に加えた PVP K-30 の検量線を作成し、HPMC を用いた固体分散体の NMR スペクトルの当てはめを行った。その結果、Fig. 22 に示したように、結晶化速度パラメーターの予測値と実測値との相関性が高まり、相互作用を勘案しない Fig. 19 の結果と比べ、明らかに予測精度が向上した。従って、短距離秩序に加え、相互作用様式の違いが固体分散体の物理的安定性へ影響を与える因子であることが明らかとなった。

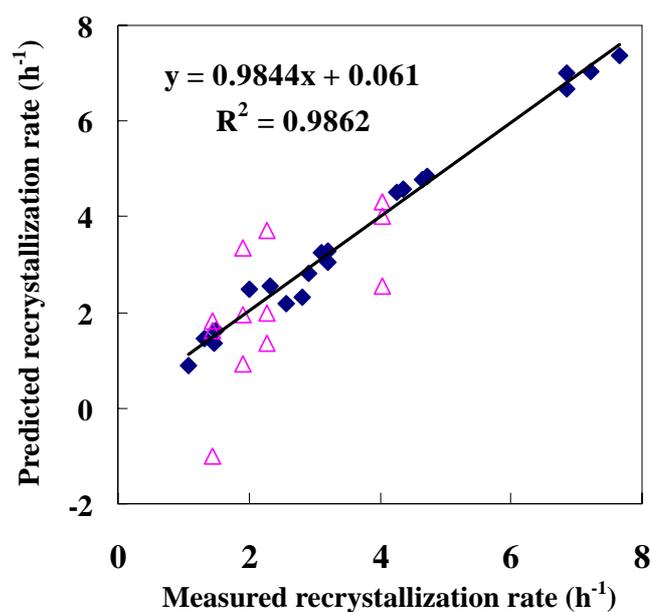


Fig. 22 Recrystallization rates of troglitazone/HPMC solid dispersions predicted by using the calibration curve of troglitazone/PVP K-30 solid dispersions

◆) PVP K-30, △) HPMC

PVP と HPMC を用いた場合の薬物-高分子間相互作用の違いに対して、さらなる考察を加えるため、 ^{15}N CP/MAS NMR による評価を行った。Fig. 23 に示すように、HPMC を用いた固体分散体では、トログリタゾンの NH 基由来のピークは、物理混合物と同位置に観測されたのに対し、PVP を用いた固体分散体の NH 基由来のピークは、物理混合物より高磁場側に観測された。この結果より、トログリタゾン/PVP 固体分散体はトログリタゾンの NH 基を介した薬物-高分子間相互作用を有することが明らかとなった。従って、トログリタゾン固体分散体は、Scheme 2 に示すように担体に HPMC を用いた場合と PVP を用いた場合とでは、異なる薬物-高分子間相互作用を有することが明らかとなった。

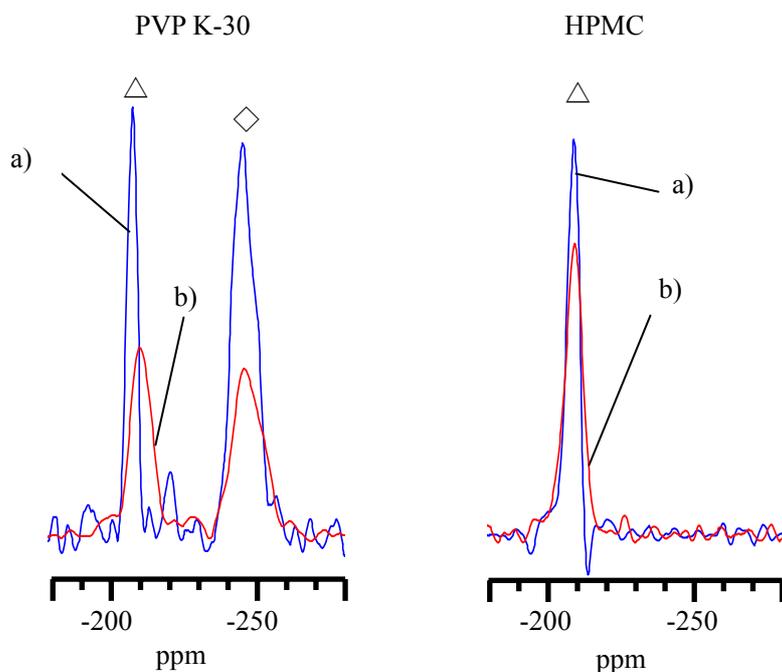
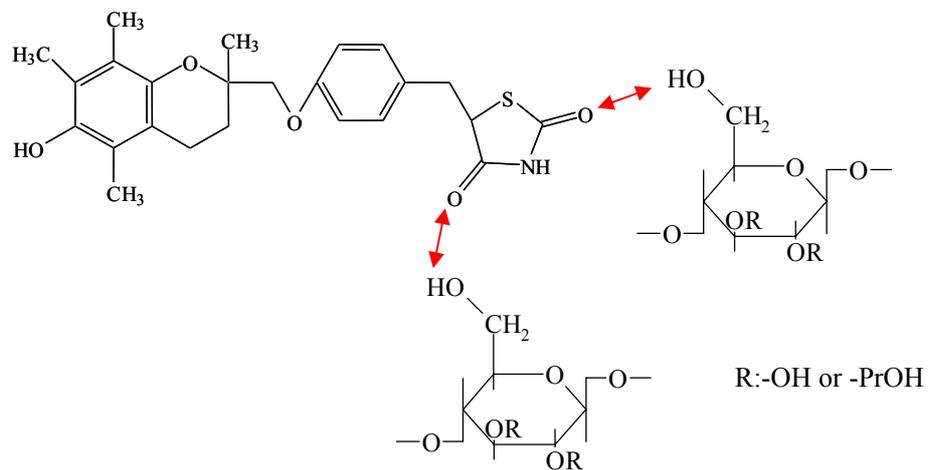


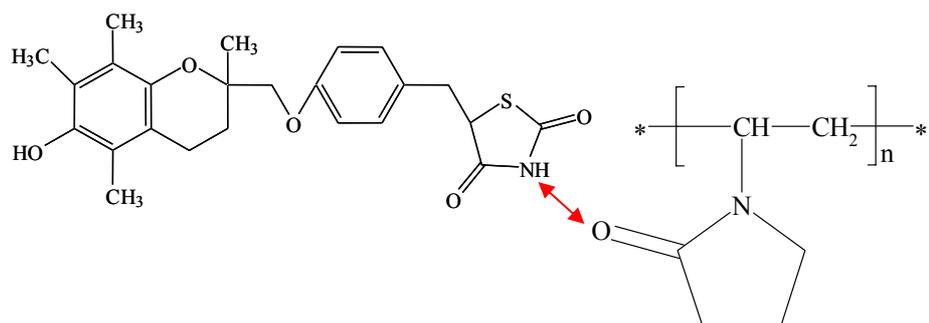
Fig. 23 ^{15}N CP/MAS NMR spectra of physical mixtures and troglitazone solid dispersions around -280 to -180 ppm, a) Physical mixture, b) 240 min GM

△) Troglitazone, ◇) PVP

Troglitazone/HPMC



Troglitazone/PVP



Scheme 2 Difference of drug-polymer interaction between troglitazone/HPMC solid dispersion and troglitazone/PVP solid dispersion

第3節 結論

多変量解析(PLSR法)を用いた固体NMRによる固体分散体の物理的安定性予測法が、高分子種によらない普遍的な手法であることが示された。固体NMRを用いることで、PVP K-30 または HPMC を用いて製した固体分散体は、異なる様式の薬物-高分子間相互作用を有することが示唆され、その相互作用様式の違いも物理的安定性に影響を及ぼす因子であることが明らかとなった。

短距離秩序の変化に加え、薬物-高分子間相互作用を加味したNMRスペクトルの数値化を行うことで、異なる高分子間における物理的安定性の予測精度が向上した。高分子種の異なる固体分散体の物理的安定性予測を行う場合、その結晶性(短距離秩序)だけではなく、薬物-高分子間相互作用など、物理的安定性に影響を与える因子を包括的に検討する必要があり、これらを踏まえることで、異なる高分子間であっても固体分散体の物理的安定性の予測が可能になると考えられた。従って、短距離秩序や、薬物-高分子間相互作用など、固体分散体の物理的安定性に影響を与える因子を個々に評価可能である固体NMRが、高分子担体のスクリーニングにおいても有用である可能性が示唆された。

結語

本研究では、トログリタゾンモデル薬物として、難溶性薬物の溶解性改善を目的とした固体分散体調製における固体 NMR 法の有用性を評価し、その物理的安定性予測法の確立を行った。

固体分散体中の薬物の短距離秩序の変化は物理的安定性に影響を及ぼす重要な因子であり、その短距離秩序を検出できる固体 NMR を用い、PLSR 法によりスペクトルを数値化することで、粉末 X 線回折法では達成できなかった固体分散体の物理的安定性予測が可能となることが示唆された。本手法については、固体分散体の製造プロセス管理及び最適化への応用が可能であり、また、高分子の種類によらず、普遍的に用いることが可能であった。さらに、固体 NMR を用いることで、薬物-高分子間相互作用の様式の違いも検出することも可能であることが導かれ、固体 NMR が薬物の物理的安定性に影響を及ぼす因子を個々に評価することも可能であることが明らかとなった。固体 NMR を用いて、結晶性(短距離秩序)や、相互作用の影響など、物理的安定性に影響を与えるこれらの因子を包括的に評価することで高分子種の異なる固体分散体の物理的安定性予測も可能であることがわかった。

以上のことから、固体分散体の固体物性評価法として固体 NMR は高い有用性が期待できると考えられた。

謝辞

終わりに臨み、本研究に際して終始御懇篤なるご指導ならびに御鞭撻を賜りました恩師 千葉大学大学院 薬学研究院 教授 山本恵司先生に衷心より深甚なる謝意を表します。

また、本研究を遂行するにあたり、有益なる御指導、御助言を賜りました千葉大学大学院 薬学研究院 准教授 森部久仁一先生ならびに千葉大学大学院 薬学研究院 助教 東頭二郎先生に深く感謝いたします。

また、本研究の機会を与えていただき、貴重な御支援を賜りました第一三共株式会社 製剤技術研究所長 中上博秋博士に心より厚く御礼申し上げます。

また、本研究完成に至るまで、終始有益なる御指導ならびに御助言を賜りました第一三共株式会社 製剤技術研究所 固形剤研究第一グループ長 矢田修一博士、固形剤研究第三グループ長 濱浦健司博士ならびに固形剤研究第二グループ 渡部知行博士に心より厚く御礼申し上げます。

さらに、本研究を遂行するにあたり種々の御協力をいただきました第一三共株式会社 製剤技術研究所 固形剤研究第二グループ 田邊秀章氏ならびに中川弘司氏に心から感謝の意を表します。

また、本研究を遂行するにあたり、終始御助言、御協力をいただきました第一三共株式会社 製剤技術研究所の諸氏ならびに千葉大学大学院 薬学研究院 製剤工学研究室の皆様心より感謝いたします。

実験の部

1. 試料

トログリタズンは第一三共株式会社製を使用した。ポリビニルピロリドン(PVP) K-17、K-30、K-90 は BASF ジャパン株式会社製を使用した。ポリビニルピロリドンビニルアセテート(PVP-VA)は ISP ジャパン株式会社製を使用した。ヒドロキシプロピルメチルセルローズ(HPMC)は信越化学工業株式会社製ヒプロメロースを使用した。固体分散体の調製及び固体物性評価に用いたエタノール、アセトン、水酸化ナトリウム、リン酸水素ナトリウム、リン酸水素カリウム、リン酸二水素カリウムは試薬特級または HPLC 用を用いた。

2. 試料の調製

2-1 物理混合物の調製

第 1 章、第 3 章では、メノウ乳鉢を用い、トログリタズンと高分子担体(PVP K-17, PVP K-30, PVP K-90, PVP-VA または HPMC)を質量比 2:1 で混合した後、60 メッシュで篩過した後、再度混合することで物理混合物を得た。

第 2 章では、高速攪拌混合機ハイスピードミキサーLFS-GS-1(深江パウテック株)を用い、トログリタズンと PVP K-30 を質量比 2:1 で 5 分間混合を行うことで、物理混合物を得た。ブレード回転数は 200 rpm、クロススクリュー回転数は 300 rpm とした。

2-2 振動ミルを用いた混合粉碎

物理混合物をジルコニア製のサンプルセルに投入し、振動ミル(サンプルミル TI-100)(平工製作所製)を用いて調製した。粉碎媒体にはジルコニア製のロッドを用い、粉碎による発熱防止のため、15 分の運転毎に 15 分間の放冷期間を設けて 240 分まで粉碎した。また、得られた混合粉碎物は 150 メッシュで篩過した。

2-3. ダイナミックミルを用いた混合粉砕

物理混合物約 25g をダイナミックミル(日本コークス工業株式会社)の粉砕室内に投入し、調製した。粉砕媒体には $\phi = 5 \text{ mm}$ のジルコニア製ボールを用いて調製した。セルのジャケットには外部密閉系冷却水循環装置クールニクスサーキュレーター(ヤマト科学株式会社)を用いて、5°Cまたは 20°Cに調整した精製水を循環させ、粉砕中の温度を制御した。得られた固体分散体は 150 メッシュで篩過した。

2-4. 溶媒法による固体分散体の調製

物理混合物をアセトン、エタノールの 2:1 混液に溶解させ、50°C に加温しながら、溶媒を留去することにより調製した。得られた固体分散体は 150 メッシュで篩過した。

3. 試験方法

3-1. 粉末X線回折測定(PXRD)

株式会社リガク製粉末X線回折装置 Rint2200/PC を用い、室温で測定した。測定は 40 kV/40 mA の Cu ターゲットの $K\alpha$ 線を用い、平行ビーム法を用いて、5°から 40°(2 θ)まで、4°/min の速度で測定した。

3-2. 示差走査熱量測定(DSC)

株式会社リガク製示差走査熱量計 Thermo Plus 2 DSC8230C を用いて測定した。試料約 6 mg をアルミニウムパンに充填し、アルミニウム製の蓋で密封した。測定は、窒素ガス還流下で行い、試料測定温度 30~250°C、昇温速度は 10°C/min とした。

3-3. 固体 NMR

BRUKER 製 Avance 400 MHz に 7 mm CP/MAS プローブを接続して使用した。試料約 210 mg を内径 7 mm のジルコニア製サンプルセルに充填し、 ^{13}C CP/MAS 法または ^{15}N CP/MAS 法にて ^{13}C 核、 ^{15}N 核を観測した。 ^{13}C CP/MAS 法では 90° パルス 5.0 μs 、コンタクト時間 1 ms、積算回数 1024 回、パルス繰り返し時間 4 s、サンプル回転数 7 kHz、取り込み時間 25 ms とし、 ^{15}N CP/MAS 法では 90° パルス 5.0 μs 、コンタクト時間 3 ms、積算回数 25,000 回、パルス繰り返し時間 4 s、サンプル回転数 7 kHz、取り込み時間 35 ms とした。

3-4. 安定性試験

リン酸二水素カリウムを用いた飽和塩法により 40°C/94%RH に調湿したデシケーター中に一定期間保存した。

4. データ解析

4-1. 相対結晶化度

PXRD パターンにおける結晶部分(ピーク部分)の面積を PXRD パターン総面積で除することにより見掛けの結晶化度を算出した。物理混合物の見掛けの結晶化度を 100%、溶媒法で調製した固体分散体の見掛けの結晶化度を 0%と定義し、以下の式(modified Hermans' method [33])を用いて各試料の相対結晶化度を算出した。

$$\text{Relative crystallinity (\%)} = \frac{P_{\text{Samp}}/T_{\text{Samp}} - P_{\text{SD}}/T_{\text{SD}}}{P_{\text{PM}}/T_{\text{PM}} - P_{\text{SD}}/T_{\text{SD}}} \times 100 \quad (1)$$

where

P_{Samp} : 測定試料の PXRD パターンにおけるピーク面積

T_{Samp} : 測定試料の PXRD パターンの総面積

P_{PM} : 物理混合物の PXRD パターンにおけるピーク面積

T_{PM} : 物理混合物の PXRD パターンの総面積

P_{SD} : 溶媒法で調製した固体分散体の PXRD パターンにおけるピーク面積

T_{SD} : 溶媒法で調製した固体分散体の PXRD パターンの総面積

4-2. 結晶化挙動の速度論解析

Kolmogorov-Johnson-Mehl-Avrami 式(式(2)) [44,57,58]を直線式に変形した式(3)を用い、40°C/94%RH 保存における各時点 (t) の見掛けの結晶化度 (f) を代入し、直線回帰分析により、結晶化速度パラメーター (β 及び τ) を算出した。

$$f = 1 - \exp[-(\beta(t - \tau))^n] \quad (2)$$

$$\ln[-\ln(1 - f)] = \ln \beta^n + n \ln(t - \tau) \quad (3)$$

n : Avrami 指数

f : 再結晶化した割合

β : 結晶核生成-成長における見掛けの結晶化速度定数

τ : 結晶核生成までの誘導期間

t : 保存期間

4-3. 固体 NMR スペクトルおよび PXRD パターンの PLSR 法による多変量解析

CAMO 社製 The Unscrambler Ver. 6.0 を用い、PLS1 プログラムにて Full cross validation 法にて行った。また得られた検量線を用いた物理的安定性の予測値算出も同様に CAMO 社製 The Unscrambler Ver. 6.0 を用いて行った。

4-4. 実験計画法を用いた要因分析

プロセスパラメーターと結晶化挙動の要因分析は SAS Institute Japan 株式会社製統計解析ソフト JMP Ver 8.0.1 を用いて行った。

参考文献

- [1] M.J. Pikal, D.R. Rigsbee; The Stability of insulin in crystalline and amorphous solids: observation of greater stability for the amorphous form. *Pharm. Res.* 14, 1379-1387 (1997)
- [2] Y. Aso, S. Yoshioka, T. Otsuka, S. Kojima; The physical stability of amorphous nifedipine determined by isothermal microcalorimetry. *Chem. Pharm. Bull.* 43, 300-303 (1995)
- [3] S. Yoshioka, Y. Aso; Correlations between molecular mobility and chemical stability during storage of amorphous pharmaceuticals. *J. Pharm. Sci.* 96, 960-981 (2007)
- [4] B.A. Hendriksen; Characterization of calcium fenoprofen 1. Powder dissolution rate and degree of crystallinity. *Int. J. Pharm.* 60, 243-252 (1990)
- [5] A.A. Elamin, C. Ahlneck, G. Alderborn, C. Nystrom; Increased metastable solubility of milled griseofulvin, depending on the formation of a disordered surface structure. *Int. J. Pharm.* 111, 159-170 (1994)
- [6] K. Matsumoto, T. Kimura, Y. Nakai, E. Yonemochi, T. Oguchi, K. Yamamoto; Relationship between the physical properties of various lactoses on the market and characteristics of their tablets. *J. Pharm. Sci. Technol. Jpn.* 57, 1-7 (1997)
- [7] T. Sebhatu, G. Alderborn; Relationships between the effective interparticulate contact area and the tensile strength of tablets of amorphous and crystalline lactose of varying particle size. *Eur. J. Pharm. Sci.* 8, 235-242 (1999)
- [8] T. Suzuki, H. Nakagami; Effect of crystallinity of microcrystalline cellulose on the

- compactability and dissolution of tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47, 225-230 (1999)
- [9] 栗津荘司, 川島嘉明, 北澤式文; 第6改稿版 最新薬剤学, 廣川書店, 61 (1995)
- [10] B.C. Hancock, G. Zografi; Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. *J. Pharm. Sci.* 86, 1-12 (1997)
- [11] 寺田勝英, 山本恵司, 米持悦生, 固体医薬品の物性評価, 株式会社じほう, pp. 9-17 (2003)
- [12] G.G. Liversidge, K.C. Cundy; Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. *Int. J. Pharm.* 125, 91-97 (1995)
- [13] G.G. Liversidge, P. Conzentino; Drug particle size reduction for decreasing gastric irritancy and enhancing absorption of naproxen in rats. *Int. J. Pharm.* 125, 309-313 (1995)
- [14] A.A. Ali, A. Farouk; Comparative studies on the bioavailability of ampicillin anhydrate and trihydrate. *Int. J. Pharm.* 9, 239-243 (1981)
- [15] S.M. Berge, L.D. Bighley, D.C. Monkhouse; Pharmaceutical salts. *J. Pharm. Sci.* 66, 1-19 (1977)
- [16] J.R. O'Reilly, O.I. Corrigan, C.M. O'Driscoll; The effect of simple micellar systems on the solubility and intestinal absorption of clofazimine (B663) in the anaesthetised rat. *Int. J. Pharm.* 105, 137-146 (1994)
- [17] P.C. Sheen, V.K. Khetarpal, C.M. Cariola, C.E. Rowlings; Formulation studies of a poorly water-soluble drug in solid dispersions to improve bioavailability. *Int. J. Pharm.*

118, 221-227 (1995)

- [18] M. Saito, T. Ugajin, Y. Nozawa, Y. Sadzuka, A. Miyagishima, T. Sonobe; Preparation and dissolution characteristics of griseofulvin solid dispersions with saccharides. *Int. J. Pharm.* 249, 71-79 (2002)
- [19] T. Oguchi, E. Yonemochi, K. Yamamoto; Freeze-drying of drug-additive binary systems. IV. Effects of saccharide addition on the crystallization of cefazolin sodium in frozen aqueous solution. *Pharm. Acta Helv.* 70, 113-116 (1995)
- [20] H. Suzuki, H. Sunada; Influence of water-soluble polymers on the dissolution of nifedipine solid dispersions with combined carriers. *Chem. Pharm. Bull.* 46, 482-487 (1998)
- [21] T. Watanabe, S. Hasegawa, N. Wakiyama, A. Kusai, M. Senna; Comparison between polyvinylpyrrolidone and silica nanoparticles as carriers for indomethacin in a solid state dispersion. *Int. J. Pharm.* 250, 283-286 (2003)
- [22] Y. Yoshihashi, H. Kitano, E. Yonemochi, K. Terada; Quantitative correlation between initial dissolution rate and heat of fusion of drug substance. *Int. J. Pharm.* 204, 1-6 (2000)
- [23] T. Oguchi, K. Matsumoto, E. Yonemochi, Y. Nakai, K. Yamamoto; Dissolution studies in organic solvents for evaluating hydrogen-bond matrix of cellulose in the ground mixture. *Int. J. Pharm.* 113, 97-102 (1995)
- [24] G.V. Betageri, K.R. Makarla; Enhancement of dissolution of glyburide by solid dispersion and lyophilization techniques. *Int. J. Pharm.* 126, 155-160 (1995)

- [25] Y. Tozuka, T. Oguchi, K. Yamamoto; Adsorption and entrapment of salicylamide molecules into the mesoporous structure of folded sheets mesoporous material (FSM-16). *Pharm. Res.* 20, 926-930 (2003)
- [26] S. Hasegawa, T. Hamaura, N. Furuyama, A. Kusai, E. Yonemochi, K. Terada; 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)
- [27] T. Miyazaki, S. Yoshioka, Y. Aso, S. Kojima; Ability of polyvinylpyrrolidone and polyacrylic acid to inhibit the crystallization of amorphous acetaminophen. *J. Pharm. Sci.* 93, 2710-2717 (2004)
- [28] P. Gupta, V.K. Kakumanu, A.K. Bansal; Stability and solubility of celecoxib-PVP amorphous dispersions: A molecular perspective. *Pharm. Res.* 21, 1762-1769 (2004)
- [29] S.R. Vippagunta, K.A. Maul, S. Tallavajhala, D.J.W. Grant; Solid-state characterization of nifedipine solid dispersions. *Int. J. Pharm.* 236, 111-123 (2002)
- [30] A.A. Ambike, K.R. Mahadik, A. Paradkar; Spray-dried amorphous solid dispersions of simvastatin, a low T_g drug: in vitro and in vivo Evaluations. *Pharm. Res.* 22, 990-998 (2005)
- [31] F. Cilurzo, P. Minghetti, A. Casiraghi, L. Montanari; Characterization of nifedipine solid dispersions. *Int. J. Pharm.* 242, 313-317 (2002)
- [32] S. Okonogi, S. Puttipatkhachorn; Dissolution improvement of high drug-loaded solid dispersion. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 7, E1-E6 (2006)

- [33] F. Usui, K. Maeda, A. Kusai, M. Ikeda, K. Nishimura, K. Yamamoto; Dissolution improvement of RS-8359 by the solid dispersion prepared by the solvent method. *Int. J. Pharm.* 170, 247-256 (1998)
- [34] D. Law, S.L. Krill, E.A. Schmitt, J.J. Fort, Y. Qiu, W. Wang, W.R. Porter; Physicochemical considerations in the preparation of amorphous ritonavir-poly(ethylene glycol) 8000 solid dispersions. *J. Pharm. Sci.* 90, 1015-1025 (2001)
- [35] Y. Yoshihashi, H. Iijima, E. Yonemochi, K. Terada; Estimation of physical stability of amorphous solid dispersion using differential scanning calorimetry. *J. Therm. Anal. Cal.* 85, 689-692 (2006)
- [36] K.J. Crowley, G. Zografis; The Effect of low concentrations of molecularly dispersed poly(Vinylpyrrolidone) on indomethacin crystallization from the amorphous state. *Pharm. Res.* 20, 1417-1422 (2003)
- [37] B. Shah, V.K. Kakumanu, A.K. Bansal; Analytical techniques for quantification of amorphous/crystalline phase in pharmaceutical solids. *J. Pharm. Sci.* 95, 1641-1665 (2006)
- [38] E. Yonemochi, S. Kitahara, S. Maeda, S. Yamamura, T. Oguchi, K. Yamamoto; Physicochemical properties of amorphous clarithromycin obtained by grinding and spray drying. *Eur. J. Pharm. Sci.* 7, 331-338 (1999)
- [39] 作花濟夫; アモルファス, 共立出版, pp. 86-96 (1983)
- [40] T. Miyazaki, S. Yoshioka, Y. Aso, T. Kawanishi; Crystallization rate of amorphous

- nifedipine analogues unrelated to the glass transition temperature. *Int. J. Pharm.* 336, 191-195 (2007)
- [41] Y. Tozuka, A. Ito, H. Seki, T. Oguchi, K. Yamamoto; Characterization and quantitation of clarithromycin polymorphs by powder X-ray diffractometry and solid-state NMR spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.* 50, 1128-1130 (2002)
- [42] K. Masuda, S. Tabata, Hi. Kono, Y. Sakata, T. Hayase, E. Yonemochi, K. Terada; Solid-state ^{13}C NMR study of indomethacin polymorphism. *Int. J. Pharm.* 318, 146-153 (2006)
- [43] A. Terakita, H. Matsunaga, T. Ueda, T. Eguchi, M. Echigoya, K. Uemoto, M. Godo; Investigation of intermolecular interaction in molecular complex of tryptamine and benzoic acid by solid-state 2D NMR. *Chem. Pharm. Bull.* 52, 546-551 (2004)
- [44] T. Watanabe, N. Wakiyama, F. Usui, M. Ikeda, T. Isobe, M. Senna; Stability of amorphous indomethacin compounded with silica. *Int. J. Pharm.* 226, 81-91 (2001)
- [45] P.A. Tishmack, D.E. Bugay, S.R. Byrn; Solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy- pharmaceutical applications. *J. Pharm. Sci.* 92, 441-474 (2003)
- [46] R.T. Berendt, D.M. Sperger, P.K. Isbester E.J. Munson; Solid-state NMR spectroscopy in pharmaceutical research and analysis. *Trends Anal. Chem.* 25, 977-984 (2006)
- [47] C. Gustafsson, H. Lennholm, T. Iversen, C. Nystrom; Comparison of solid-state NMR and isothermal microcalorimetry in the assessment of the amorphous component of lactose. *Int. J. Pharm.* 174, 243-252 (1998)

- [48] T. Watanabe, S. Hasegawa, N. Wakiyama, A. Kusai, M. Senna; Prediction of apparent equilibrium solubility of indomethacin compounded with silica by ^{13}C solid state NMR. *Int. J. Pharm.* 248, 123-129 (2002)
- [49] B.T. Farrer, A. Peresypkin, R.M. Wenslow; Quantitation of crystalline material within a liquid vehicle using $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ CP/MAS NMR. *J. Pharm. Sci.* 96, 264-267 (2007)
- [50] A. Heinz, M. Savolainen, T. Rades, C.J. Strachan; Quantifying ternary mixtures of different solid-state forms of indomethacin by raman and near-infrared spectroscopy. *Eur. J. Pharm. Sci.* 32, 182-192 (2007)
- [51] K. Kachrimanis, D.E. Braun, U.J. Griesser; Quantitative analysis of paracetamol polymorphs in powder mixtures by FT-Raman spectroscopy and PLS regression. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43, 407-412 (2007)
- [52] D.M. Haaland, E.V. Thomas; Partial least-squares method for spectral analyses. 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. *Anal. Chem.* 60, 1193-1202 (1988)
- [53] Y. Roggo, P. Chaluz, L. Maurer, C. Lema-Martinez, A. Edmond, N. Jent; A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 44, 683-700 (2007)
- [54] J.M. Lehmann, L.B. Moore, T.A. Smith-Oliver, W.O. Wilkison, T.M. Willson, S.A. Kliewer; An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ). *J. Biol. Chem.* 270, 12953-12956 (1995)
- [55] H. Konno, L.S. Taylor; Ability of different polymers to inhibit the crystallization of

- amorphous felodipine in the presence of moisture. *Pharm. Res.* 25, 969-978 (2008)
- [56] S. Airaksinen, M. Karjalainen, A. Shevchenko, S. Westermarck, E. Leppanen, J. Rantanen, J. Yliruusi; Role of water in the physical stability of solid dosage formulations. *J. Pharm. Sci.* 94, 2147-2165 (2005)
- [57] C.W. Price; Use of Kolmogorov-Johnson-Mehl-Avrami kinetics in recrystallization of metals and crystallization of metallic glasses. *Acta Metall. Mater.* 38, 727-738 (1990)
- [58] X. Li, S.L. Nail; Kinetics of glycine crystallization during freezing of sucrose/glycine excipient systems. *J. Pharm. Sci.* 94 625-631 (2005)
- [59] 中島章夫, 北丸竜三, 浜田文將; 高分子の結晶化, 株式会社化学同人, pp. 199-206 (1966)
- [60] R.J. Smernik, J.A. Baldock, J.M. Oades; Impact of remote protonation on ¹³C CPMAS NMR quantitation of charred and uncharred wood. *Solid State Nucl. Magn. Resonance* 22, 71-82 (2002)
- [61] A.R. Sheth, J.W. Lubach, E.J. Munson, F.X. Muller, D.J.W. Grant; Mechanochromism of piroxicam accompanied by intermolecular proton transfer probed by spectroscopic methods and solid-phase changes. *J. Am. Chem. Soc.* 127, 6641-6651 (2005)
- [62] S. Wold, H. Antti, F. Lindgren, J. Ohman; Orthogonal signal correction of near-infrared spectra. *Chemometr. Intell. Lab. Syst.* 44 175-185 (1998)
- [63] R.J. Barnes, M.S. Dhanoa, S.J. Lister; Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Appl. Spectrosc.* 43, 772-777

(1989)

- [64] P. Geladi, D. Macdougall, H. Martens; Linearization and scatter-correction for near-infrared reflectance spectra of meat. *Appl. Spectrosc.* 39, 491-500 (1985)
- [65] 厚生労働省医薬品食品局審査管理課; 製剤開発に関するガイドライン (2006)
- [66] M.J. Maltesen, S. Bjerregaard, L. Hovgaard, S. Havelund, M. van de Weert; Quality by design - Spray drying of insulin intended for inhalation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 70 828-838 (2008)
- [67] S. Verma, Y. Lan, R. Gokhale, D.J. Burgess; Quality by design approach to understand the process of nanosuspension preparation. *Int. J. Pharm.* 377, 185-198 (2009)
- [68] J. Huang, G. Kaul, C. Cai, R. Chatlapalli, P. Hernandez-Abad, K. Ghosh, A. Nagi; Quality by design case study: An integrated multivariate approach to drug product and process development. *Int. J. Pharm.* 382, 23-32 (2009)
- [69] T.R.M. De Beer, C. Bodson, B. Dejaegher, B. Walczak, P. Vercruysse, A. Burggraeve, A. Lemos, L. Delattre, Y. Vander Heyden, J.P. Remon, C. Vervaet, W.R.G. Baeyens; Raman spectroscopy as a process analytical technology (PAT) tool for the in-line monitoring and understanding of a powder blending process. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 48, 772-779 (2008)
- [70] J.J. Moes, M.M. Ruijken, E. Gout, H.W. Frijlink, M.I. Ugwoke; Application of process analytical technology in tablet process development using NIR spectroscopy: Blend uniformity, content uniformity and coating thickness measurements. *Int. J.*

- Pharm. 357, 108-118 (2008)
- [71] T.R.M. De Beer, P. Vercruyssen, A. Burggraef, T. Quinten, J. Ouyang, X. Zhang, C. Vervaet, J.P. Remon, W.R.G. Baeyens; In-line and real-time process monitoring of a freeze drying process using Raman and NIR spectroscopy as complementary process analytical technology (PAT) tools. *J. Pharm. Sci.* 98, 3430-3446 (2009)
- [72] 二見良治, 西敏明; 課題解決のための実験計画法 I, 日科技連出版社, pp. 2-14 (2001)
- [73] Y.M. Rane, R.C. Mashru, M.G. Sankalia, V.B. Sutariya, P.P. Shah; Investigations of factors affecting chitosan for dissolution enhancement of oxcarbazepine by spray dried microcrystal formulation with an experimental design approach. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 33, 1008-1023 (2007)
- [74] P.J. Marsac, S.L. Shamblin, L.S. Taylor; Theoretical and practical approaches for prediction of drug-polymer miscibility and solubility. *Pharm. Res.* 23, 2417-2426 (2006)
- [75] T. Matsumoto, G. Zografu; 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)
- [76] I. Weuts, D. Kempen, A. Decorte, G. Verreck, J. Peeters, M. Brewster, G. van den Mooter; Physical stability of the amorphous state of loperamide and two fragment molecules in solid dispersions with the polymers PVP-K30 and PVP-VA64. *Eur. J. Pharm. Sci.* 25, 313-320 (2005)

- [77] 山本恵司、東頭二郎、戸塚裕一、森部久仁一；サリチル酸、 γ -シクロデキストリン (4:1、2:1)包接化合物の固体 NMR による検討. 第 25 回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集, pp. 120-121 (2007)

論文目録

本学位論文内容は、下記の発表論文による。

A. Ito, T. Watanabe, S. Yada, T. Hamaura, H. Nakagami, K. Higashi, K. Moribe, K. Yamamoto; Prediction of recrystallization behavior of troglitazone/PVP solid dispersion by solid-state NMR. *Int. J. Pharm.* 383, 18-23 (2010)

主査、副査名

本学位論文の審査は、千葉大学大学院医学薬学府で指名された下記の審査委員により行われた。

主査	千葉大学大学院教授(薬学研究院)	薬学博士	根矢三郎
----	------------------	------	------

副査	城西国際大学薬学部教授	Ph.D.	佐藤秀次
----	-------------	-------	------

副査	千葉大学大学院教授(薬学研究院)	薬学博士	高山廣光
----	------------------	------	------