

湿式造粒により調製した練合顆粒中の
低置換度ヒドロキシプロピルセルロースと
水溶性薬物の分子間相互作用に関する研究

2013 年

伏見 升成

目次

総論の部

湿式造粒により調製した練合顆粒中の低置換度ヒドロキシプロピルセルロースと水溶性薬物の分子間相互作用に関する研究

緒言	2
実験の部	4
第一節 湿式造粒による CA/L-HPC 相互作用評価	
1-1. 粉末 X 線回折測定による CA 結晶状態評価	12
1-2. 示差走査熱量測定による CA 結晶状態評価	14
1-3. フーリエ変換赤外分光法による CA/L-HPC 相互作用評価	16
1-4. 重水素置換による CA/L-HPC 相互作用部位評価	18
第二節 密封加熱による CA/L-HPC 相互作用評価	
2-1. 粉末 X 線回折測定による CA の結晶状態評価	24
第三節 湿式造粒による AA/L-HPC 相互作用評価	
3-1. 粉末 X 線回折測定による AA 結晶状態評価	26
3-2. 示差走査熱量測定による AA 結晶状態評価	28
3-3. フーリエ変換赤外分光法による AA/L-HPC 相互作用評価	30
3-4. 重水素置換による AA/L-HPC 相互作用部位評価	32
第四節 CA/L-HPC, AA/L-HPC 練合顆粒の比較	
4-1. SEM 写真による練合顆粒表面の比較	34
4-2. 練合顆粒の水蒸気吸着試験	36
4-3. 相互作用システムの比較	39

第五節 湿式造粒による NA/L-HPC 相互作用評価	
5-1. 粉末 X 線回折測定による NA 結晶状態評価	41
5-2. 示差走査熱量測定による NA 結晶状態評価	43
5-3. フーリエ変換赤外分光法による NA/L-HPC 相互作用評価	45
5-4. 重水素置換による NA/L-HPC 相互作用部位評価	47
第六節 総括	49
参考文献	50
結語	54
謝辞	55
論文目録	56

略語一覧

AA:	アスコルビン酸
CA:	無水カフェイン
DSC:	示差走査熱量 (測定)
FT-IR:	フーリエ変換赤外分光法
HPC:	ヒドロキシプロピルセルロース
L-HPC:	低置換度ヒドロキシプロピルセルロース
MCC:	結晶セルロース
NA:	ニコチンアミド
PM:	物理的混合物
PXRD:	粉末 X 線回折
SEM:	走査型電子顕微鏡
T_g :	ガラス転移温度

総論の部

湿式造粒により調製した練合顆粒中の
低置換度ヒドロキシプロピルセルロースと
水溶性薬物の分子間相互作用に関する研究

緒 言

賦形剤の選択は有効成分の安定性やバイオアベイラビリティに影響を及ぼすため、固形製剤の処方設計で極めて重要である。製剤中有効成分の安定性に関しては、賦形剤の有効成分への直接的な物理化学的相互作用を考慮するだけでなく、賦形剤のもつ特性が有効成分の安定性に及ぼす影響についても十分に検証する必要がある¹⁻³⁾。例えば結晶セルロースやヒドロキシプロピルセルロースなどのセルロース誘導体はそのバラエティに富んだ性質から一般的な賦形剤として幅広く利用されているが、セルロース誘導体の持つ特有の吸湿性が製剤の安定性に影響を及ぼすことが知られている⁴⁾。セルロース誘導体の吸湿性は水分子と結合しやすいセルロース分子内の非晶領域に依存するため、セルロース誘導体の結晶性を測定することで吸湿しやすさの推測が可能である⁵⁾。例えば、セルロース誘導体の結晶性の評価には粉末 X 線回折 (PXRD) 法が簡便である⁵⁻⁶⁾。また赤外分光法による、特定波数の吸収強度の比から求める方法や非晶質 OH 基を重水素置換して測定する結晶性評価は、PXRD 法で結晶性を評価しにくい非晶質なセルロース誘導体の評価に適している⁷⁻⁸⁾。

非晶領域の多いセルロース誘導体の一つである低置換度ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC) は、セルロースの低置換度ヒドロキシプロピルエーテル体で日本薬局方および The United States Pharmacopeia and The National Formulary 収載の医薬品添加剤である。化学構造式及び Chemical Abstracts Service (CAS) ナンバーはヒドロキシプロピルセルロース (HPC) と同一 (CAS No.9004-64-2) であるが、HPC はヒドロキシプロピル基含量が 53.4~77.5% で水やアルコールに可溶であるのに対し、L-HPC はヒドロキシプロピル基含量が 5.0~16.0% と少なくアルコールには不溶となり、水に対しては吸水

して膨潤する特性を有する。このような特性から L-HPC は主に崩壊剤として用いられるが、性状が微粉末から繊維状であり圧縮成型性にも優れているため結晶セルロースのような乾式バインダーとしての機能も持つ⁹⁻¹¹⁾。崩壊剤以外で水に対する L-HPC の特性を利用した研究として、L-HPC を粉砕すると膨潤力が低下しゲルを形成する特性があることからマトリックス基材として用いた徐放性製剤の研究や、高い吸水能が精製水添加による湿式造粒時の条件設定を容易とし、また膨潤によりスクリーンへの抵抗が少なくなることから押し出し造粒へ利用した研究がある¹²⁻¹⁴⁾。押し出し造粒後の顆粒に不溶性高分子皮膜を施し皮膜内部への水の透過性を調整して、一定時間後に L-HPC の膨潤力により皮膜を破壊する時限放出製剤への応用も研究されている¹⁵⁾。

近年、L-HPC を過量の水で湿式造粒することで、水に不安定な有効成分や配合禁忌の組み合わせの成分安定性を向上できることが示された。その結果、いままで同時に配合できなかつた複数成分を 1 顆粒中に配合でき、単純な製造工程での生産を可能とした¹⁶⁾。Onuki らは L-HPC とアスコルビン酸およびチアミン硝酸物を過量の水で湿式造粒し、顆粒を調製して安定性を評価している¹⁷⁾。通常の製法では配合変化を起こす 2 成分が、練合顆粒中でそれぞれ非晶質状態となっているにもかかわらず安定性が向上したと報告している。L-HPC の持つ吸湿性が水分活性を低下させ、薬物周辺の自由水量が低下したことが安定性向上に寄与していると推察している。しかしながら、製剤中の薬物と L-HPC の相互作用に着目した検討はされていない。

本研究では薬物分子と L-HPC の相互作用を解明するため、モデル薬物として水に対する溶解性の異なる無水カフェイン (CA)、アスコルビン酸 (AA) およびニコチンアミド (NA) を L-HPC と湿式造粒し、得られた練合顆粒中の薬物の結晶状態および薬物と L-HPC の相互作用について検討を行った。

実験の部

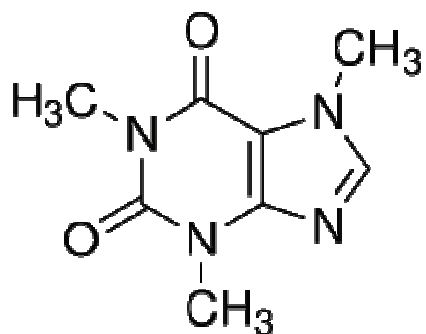
(1) 試薬

無水カフェイン (CA) は 小華薬品株式会社製市販品を、アスコルビン酸 (AA) は BASF Japan 社製市販品を、ニコチンアミド (NA) はロンザジャパン株式会社市販品をそれぞれ購入してそのまま使用した。

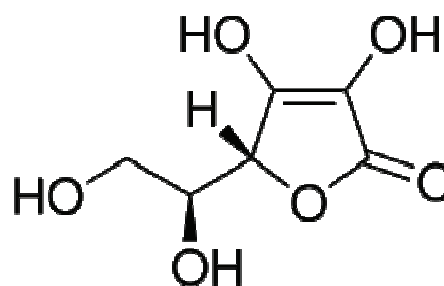
低置換度ヒドロキシプルピルセルロース(L-HPC)は信越化学社製の LH-31 市販品を購入してそのまま使用した。

重水は和光純薬工業株式会社製 99.9%NMR 用を購入してそのまま使用した。その他の試薬は市販特級品を使用した。

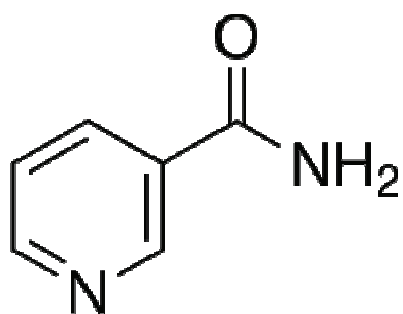
構造式を Fig. 1 に示す。



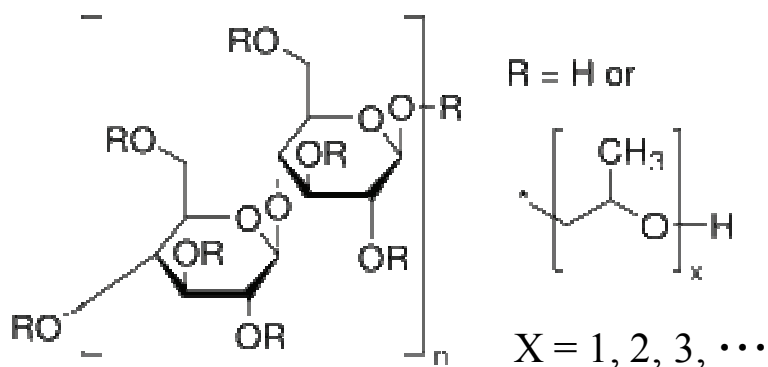
(a)



(b)



(c)



(d)

Fig. 1 Chemical structures of (a) caffeine anhydrous (CA), (b) ascorbic acid (AA), (c) nicotinamide (NA) and (d) Low substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC).

(2) 試料調製法

練合顆粒

Table 1 に示した処方に従い、薬物を精製水に溶解して練合液とし顆粒を製した。小型高速攪拌造粒機・メカノミル（岡田精工株式会社製 MM-10）を使用して、L-HPC 40g を容器内に投入後、所定の薬物水溶液を加えながらブレード回転数 1000 rpm にて 3 分間練合した。続いて、練合物を目開き 0.8 mm の篩から押し出し、造粒物を調製した。更に、この造粒物を 60 °C で 3 時間静置乾燥後、目開き 1.0 mm の篩を用いて篩過を行い、練合顆粒を調製した (Scheme 1)。

物理的混合物 (PM)

Table 1 に示した処方に従い、L-HPC 40g および所定量の薬物をメカノミル内に投入し、3 分間混合することにより、物理的混合物 (PM) を調製した。

密封加熱物 (SH)

CA の PM (C1PM、C2PM および C3PM) それぞれ約 0.2g を 2mL のガラスアンプルに入れ密封し、180 °C で 15 分間加熱して密封加熱物 (SH) を調製した。

重水素置換試料

Nara らの方法を一部変更した以下の方法にて、重水素置換後試料を調製した¹⁸⁾。

5mL のガラス容器に試料約 0.2g を取りデシケータ（五酸化リン存在下、真空状態）に 2 日間保存して乾燥させた後、約 10mL の重水の入ったデシケータ

タ中で陰圧下 1 日静置する。その後試料の入ったガラス容器を再びデシケーター（五酸化リン存在下、真空状態）に 2 日間保存して乾燥させ、重水素置換後試料とした。

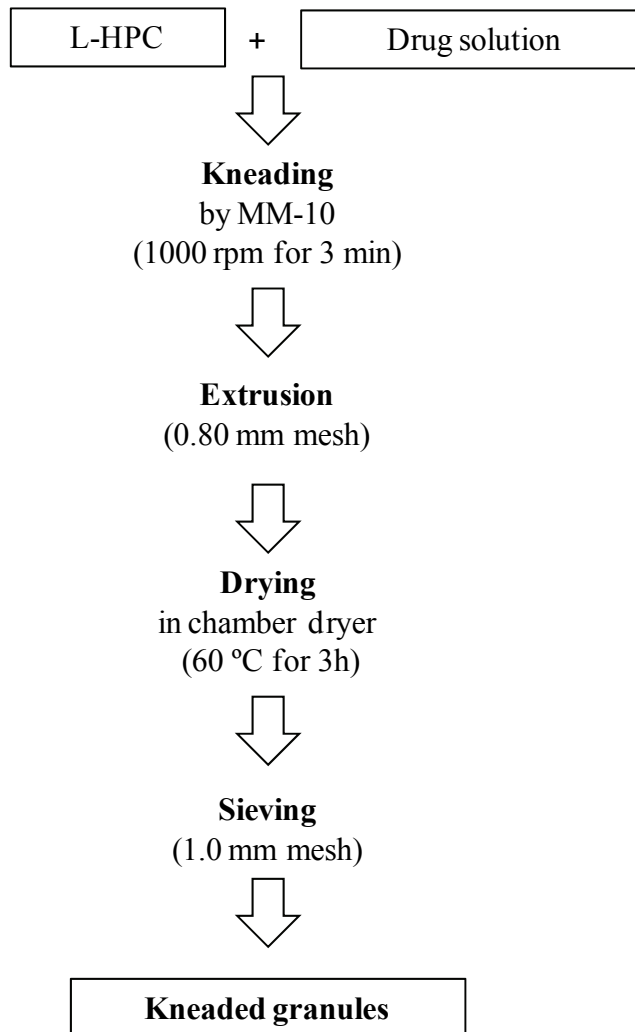
Table 1. Formulation of kneaded granules

	Weight (g)			Sample code ^b
	L-HPC	Drug	Purified water ^a	
Caffeine anhydrous (CA)	40	5	150	C1W30
		10	50	C1W10
			100	C1W20
			150	C2W30
			15	150
Ascorbic acid (AA)	40	10	80	A2W08
			80	A2W16
			120	A2W24
		20	120	A4W24
Nicotinamide (NA)	40	5	40	N1W08
			80	N1W16
			120	N1W24
		10	120	N2W24
		15	120	N3W24

^aKneading liquid

^bSample code representing the weight ratio of drug and purified water.

Example; C1W30 means caffeine anhydrous:water = 5:150 = 1:30.



Scheme 1 Preparation of kneaded granules

(3) 測定方法

粉末 X 線回折(PXRD)測定

試料をアルミニウムホルダーに充填し、表面を均一にして大気圧下、室温で測定を行った。

<装置>

X 線発生装置；株式会社リガク製マルチフレックス型

X 線管球；株式会社東芝製 A-41-Cu

回折装置；対称反射法

X 線検出装置；株式会社リガク製シンチレーションカウンタ SC-70

<測定条件>

Target : Cu Filter : Ni

Voltage : 40 kv Current : 20 mA

Scanning speed : 3°/min Scanning angle : 2-35°

示差走査熱量 (DSC) 測定

デシケータ（五酸化リン存在下、真空状態）に 2 日間保存して乾燥させた試料（薬物量として約 2mg に対応量）をアルミクランプパンに入れ、昇温速度、毎分 10 °C で測定した。

<装置>

熱分析装置：株式会社リガク製 Thermo plus DSC8230

フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) 測定

全反射 (ATR) 法を用いて試料の FT-IR 測定を行った。

<装置>

フーリエ変換赤外分光光度計；日本分光株式会社製 FT/IR-6100

測定条件；分解能 4 cm^{-1} ，スキャン範囲 $4,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ，スキャン回数 8 回

走査型電子顕微鏡 (SEM) 写真

練合顆粒の表面形状を観察するために走査型電子顕微鏡 (JSM-5510LV, JEOL Ltd., Japan) を用いた。チャージアップを防ぐため、白金コーティングを施した後、加速電圧を 20 kV に調整してサンプルの観察を行った。

水蒸気吸着試験

空の質量を測定した 15mL のガラス容器に、試料約 0.5g を入れ質量を測り初期質量とする。試料を入れたガラス容器を、臭化ナトリウム飽和水溶液で相対湿度を 57% に調節したデシケータに入れて 25 °C で保存する。保存開始 3、6、9、12 および 15 時間後の試料入りガラス容器の質量を測り、初期質量との差を水蒸気吸着量とする。水蒸気蒸着量を試料質量（初期質量－ガラス容器質量）で除して、水蒸気吸着率を算出した。

第一節 湿式造粒による CA/L-HPC 相互作用評価

1-1. 粉末 X 線回折測定による CA 結晶状態評価

Table 1 の処方に従い CA/L-HPC 練合顆粒を調製した。CA は 80°C に加温した精製水に溶解して練合した。調製した CA/L-HPC 練合顆粒および PM 中の CA の結晶状態を評価する目的で、PXRD 測定を実施した。その結果を Fig. 2 に示す。なお、試料調製に過量の水を用いていることから、無水カフェインが水和物になる可能性も考えられるためカフェイン 1 水和物の PXRD 測定も行ったが、練合顆粒では水和物とはなっていないことが確認された。

CA intact および各 PM で確認される $2\theta=12^\circ$ 付近のピークは、練合顆粒のうち C1W30 では消失し、それ以外の試料では強度が低下した。また同様に $2\theta=$ 約 27° 付近の 2 本のピークも C1W30 では消失し、それ以外の試料では 1 本のブロードなピークになった。一般的に薬物の結晶性が低下すると PXRD パターンにおいてピーク強度の低下やピークのブロード化などが観察されることから、練合顆粒では CA の結晶性が低下しておりその低下傾向は精製水量に依存していると推察された。また、CA 添加量の少ない C1W30 では CA は非晶質状態で存在していると考えられた。

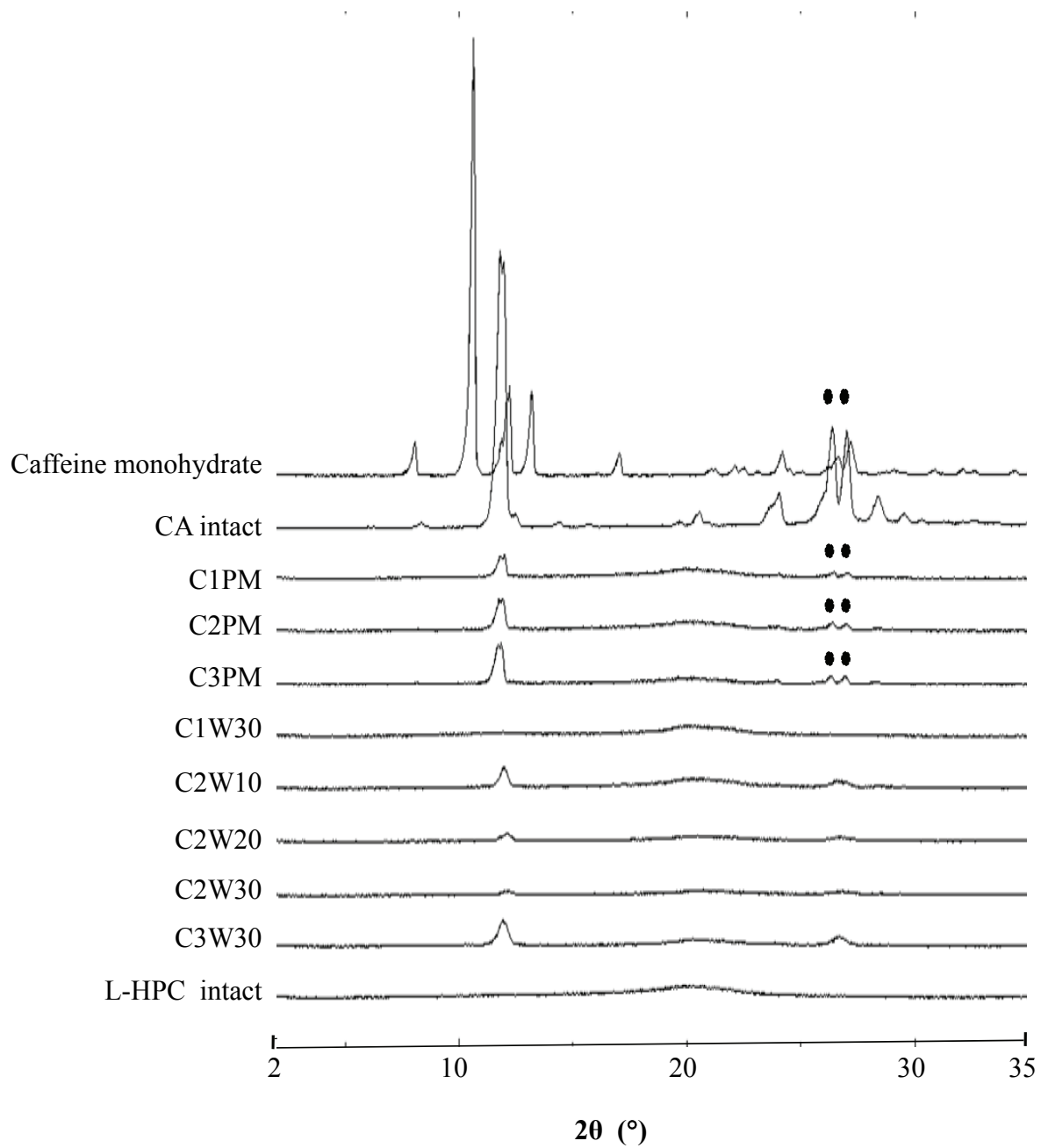


Fig. 2 XRD patterns of caffeine anhydrous/L-HPC samples

1-2. 示差走査熱量測定による CA 結晶状態評価

調製した CA/L-HPC 練合顆粒および PM 中の CA の結晶状態を評価する目的で DSC 測定を実施した。その結果を Fig. 3 に示す。CA/L-HPC 練合顆粒および PM の DSC 曲線を CA intact と比較すると、PM ではそれぞれ 150 °C 付近に昇華点由来の吸熱ピークが確認されたが、240 °C 付近の融点由来の吸熱ピークは消失 (C1PM)、あるいは融点より低温側にブロードなピークとして確認された。一方練合顆粒の場合、C1W30 では DSC 曲線に変化は認められず、C2W10、C2W20、C2W30 および C3W30 では昇華点由来のピークの消失と融点より低温側にブロードなピークが確認された。PXRD 測定結果と同様に C1W30 では CA は非晶質状態で存在していると考えられた。

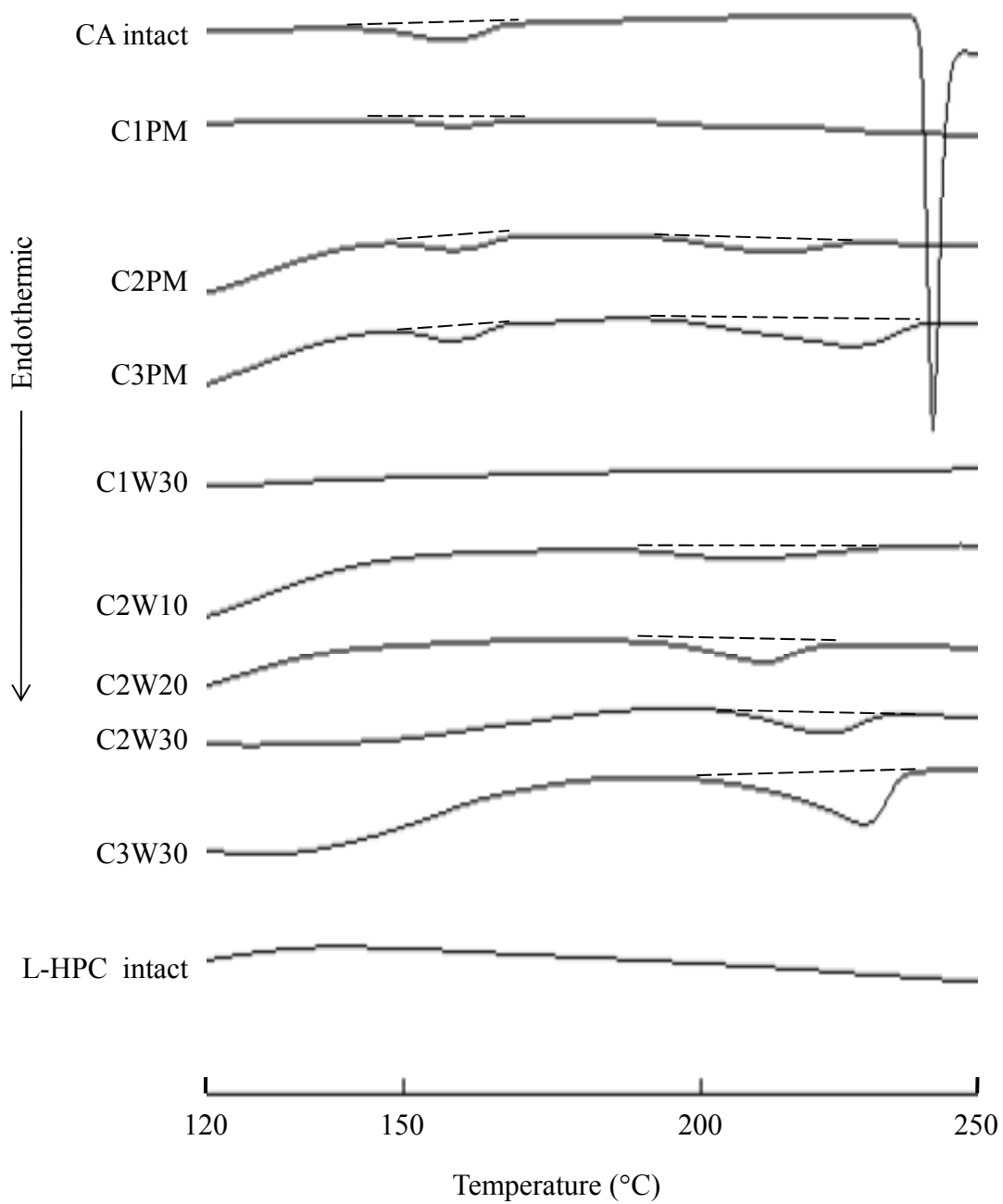


Fig. 3 DSC thermograms of caffeine anhydrous/L-HPC samples
(heating rate, $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$)

1-3. フーリエ変換赤外分光法による CA/L-HPC 相互作用評価

練合顆粒中の CA と L-HPC の相互作用を評価するため、CA intact、C2PM、C2W10、C2W20 および C2W30 の FT-IR スペクトルを測定した。その結果を Fig. 4 に示す。CA の C=O 由来の 1692cm^{-1} および 1641cm^{-1} の 2 本のピークは C2PM では変化しなかったが、練合顆粒 (C2W10、C2W20 および C2W30) においてはそれぞれ高波数側にシフトしていることが確認され、CA を溶解した精製水で湿式造粒することにより L-HPC 分子と CA 分子が相互作用したと考えられた。

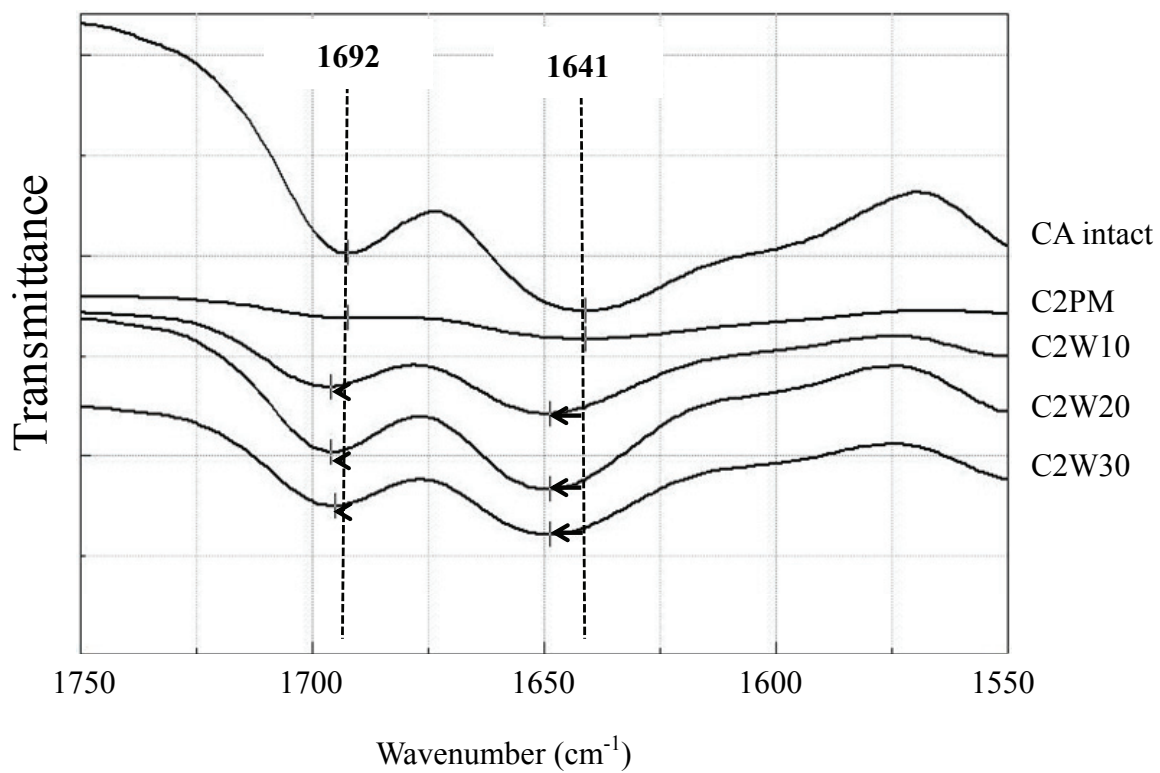


Fig. 4 FT-IR spectra of caffeine anhydrous/L-HPC samples

1-4. 重水素置換による CA/L-HPC 相互作用部位評価

L-HPC の結晶化度の測定は PXRD 測定では困難であるが、赤外分光法では分子内に約 50% の非晶領域を持つと報告されている^{4, 8)}。練合顆粒の L-HPC の分子状態を評価するにあたり L-HPC の持つ非晶領域に着目し、非晶質 OH 基から OD 基への置換しやすさを利用した重水素置換法にて評価した。CA intact、C2PM および精製水量を変えた練合顆粒 (C2W10、C2W20 および C2W30) の重水素置換前後の FT-IR スペクトルを Fig. 5a に示す。C2PM および練合顆粒で重水素置換により 2500cm^{-1} 付近に現れた OD 伸縮振動は、L-HPC 分子内の非晶質 OH \rightarrow OD 置換に由来するが練合顆粒では精製水量により OD 基由来のピークの大きさに差がみられた。そこで OH 基、OD 基由来のピーク面積を、重水素置換で変化の起こらない CH 基 (2900cm^{-1}) のピーク面積との比を利用して比較しその結果を Fig. 5b に示した。なお、星印で示した 3106cm^{-1} および 2951cm^{-1} に CA 由来のピークが重なっているため、重なり分を補正した上でピーク面積比を算出した。Fig. 5b に認められるように重水素置換前 OH/CH 比と置換後 OH/CH 比は試料間で大きな差は認められなかったが、重水素置換後の OD/CH 比は精製水量に依存して低下する傾向が認められた。確認のため CA を入れずに L-HPC を精製水のみで練合した LW10、LW20 および LW30 を調製し重水素置換にて OD/CH 比を比較した。重水素置換前後の FT-IR スペクトルとピーク比の結果を Fig. 6a, b に示す。その結果、CA のない練合顆粒ではいずれのピーク比の変化も確認されなかった。このことから CA を水溶液として L-HPC と湿式造粒すると、CA は L-HPC の非晶領域 OH 基と相互作用することが確認された。

L-HPC の精製水量を一定にして CA 量を C1W30、C2W30、C3W30 と変化させた試料についても同様に重水素置換を行った。重水素置換前後の FT-IR

スペクトルとピーク比の結果を Fig. 7a, b に示す。ピーク比と CA 量との関係を比較した場合、CA 量が C1W30 から C2W30 に変化すると若干の OD/CH 比の低下が見られたが、C2W30 から C3W30 に変化した場合ではほとんど差がなく OD/CH 比の低下の頭打ちが認められた。これは L-HPC の相互作用部位が C1W30 に相当する CA 量でほぼ占有されたことによると考えられた。この結果は Fig. 3 の DSC 曲線で C1W30 の融点由来のピークは消失したものの、C2W30 および C3W30 ではブロードなピークとなって観察された結果を支持している。

L-HPC の基本骨格をなす結晶セルロース (MCC) は粉砕により非晶質の OH 基が増加し、薬物と共粉砕すると非晶領域で相互作用すると報告されている¹⁹⁾。一方 L-HPC は intact で非晶領域の多いセルロース誘導体である⁸⁾。今回の重水素置換後の OD/CH 比が減少するという結果は、CA を精製水に溶解して L-HPC と練合すると CA 分子が L-HPC 非晶領域の OH 基と相互作用することを示唆している。

高分子や非晶質医薬品に対し水分は可塑剤として働き、固有のガラス転移温度 (T_g) を降下させる²⁰⁻²¹⁾。また非晶質な糖類において T_g より高い温度では分子内水素結合が弱まり反応性が高くなる²²⁻²³⁾。本研究ではセルロース誘導体である L-HPC に過量の水を加えた湿式造粒にて顆粒を調製していることから、湿式造粒時には T_g が低下して L-HPC の非晶領域 OH 基の運動性が高まり薬物と反応しやすい状態と考える。一方 CA は水に対する溶解度が約 2mg/mL (20 °C) とあまり高くなく、試料調製では 80 °C に加温した精製水に溶解させているが、今回のような高濃度領域 (0.33% (0.15mM) 以上) では CA は自己会合により dimer や polymer を形成することが報告されている²⁴⁾。L-HPC 非晶領域の OH 基の反応性は高い状態でありながら CA の自己会合が優先して起こるため、CA 分子と L-HPC 非晶領域の OH 基との相互作用が制

限され、一部は非晶質状態となるが残りは結晶性の低い状態で相互作用していると考えられる。

乾燥状態の L-HPC 固有の T_g は、測定方法により異なるが、Gómez-Carracedo らは約 220 °C としている²⁵⁾。CA の DSC 曲線 (Fig. 3) で C2W10、C2W20、C2W30 および C3W30 に融点より低温側にブロードなピークが発現したのは、弱く相互作用していた CA 分子が L-HPC の T_g 付近で水素結合が弱まり相互作用が切れてしまったためと考えられる。CA 量が少なく濃度の薄い C1W30 ではすべてが非晶質状態で相互作用となったため、 T_g 以上となっても変化が起きなかったと考えられた。

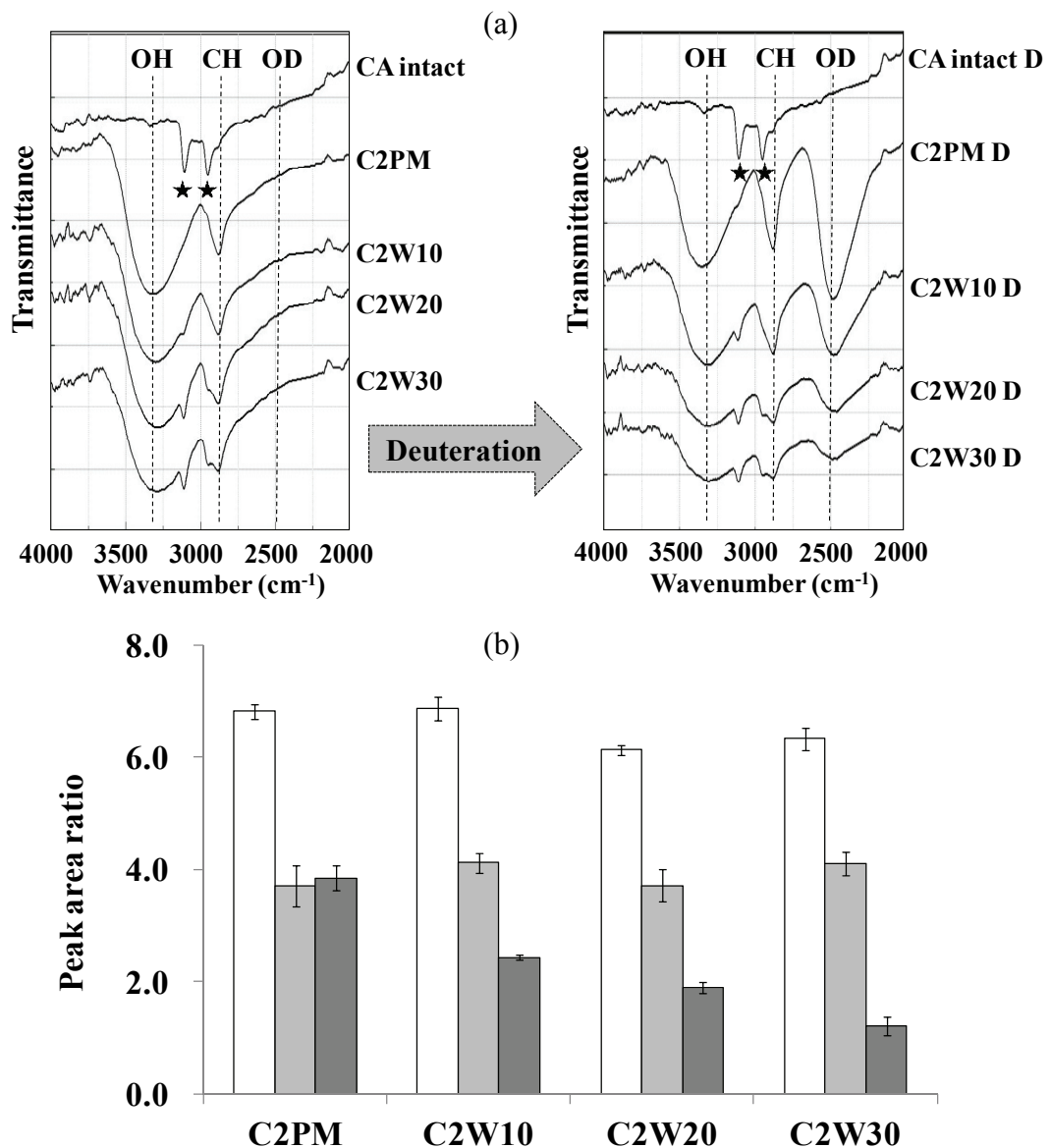


Fig. 5a Effect of deuteration on FT-IR spectra of caffeine anhydrous/L-HPC samples
‘D’ attached sample codes show the deuterated samples.

Stars show the position of the CA-derived peaks at 3106 cm^{-1} and 2951 cm^{-1} .

Fig. 5b Peak area ratio of OH/CH and OD/CH in FT-IR spectra before and after deuteration

Each column represents the mean \pm S.D. ($n = 3$).

□ : OH/CH ratio before deuteration

■ : OH/CH ratio after deuteration

■ : OD/CH ratio after deuteration

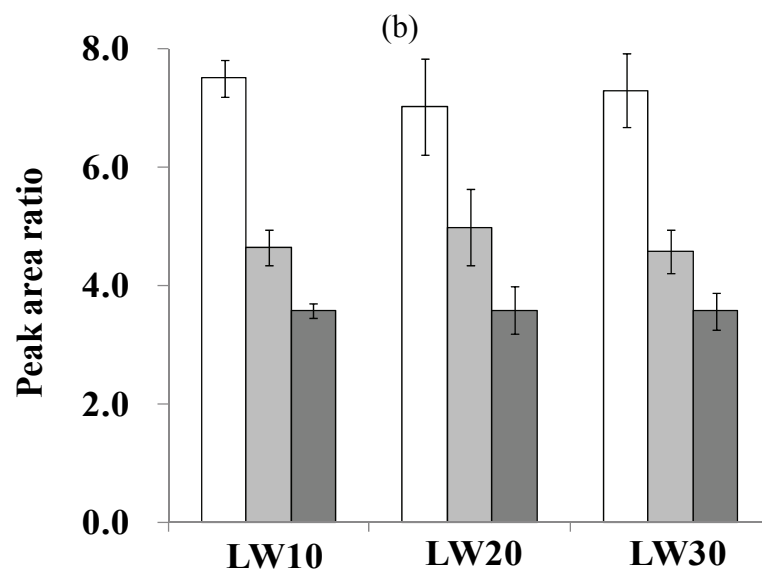
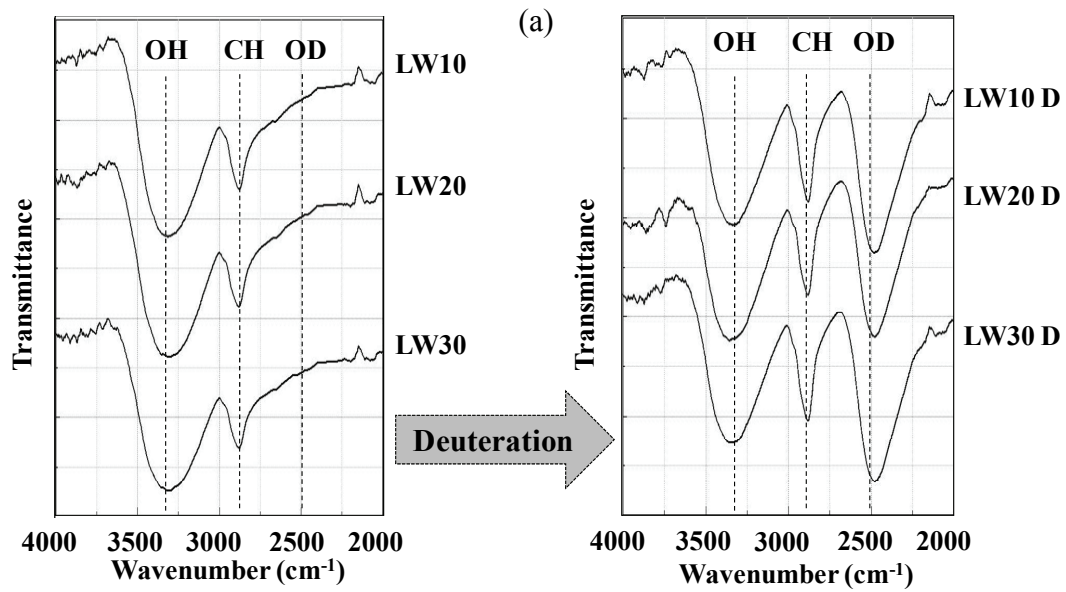


Fig. 6a Effect of deuteration on FT-IR spectra of L-HPC kneaded granules

'D' attached sample codes show the deuterated samples.

Fig. 6b Peak area ratio of OH/CH and OD/CH in FT-IR spectra before and after deuteration

Each column represents the mean \pm S.D. ($n = 3$).

□ : OH/CH ratio before deuteration

■ : OH/CH ratio after deuteration

■ : OD/CH ratio after deuteration

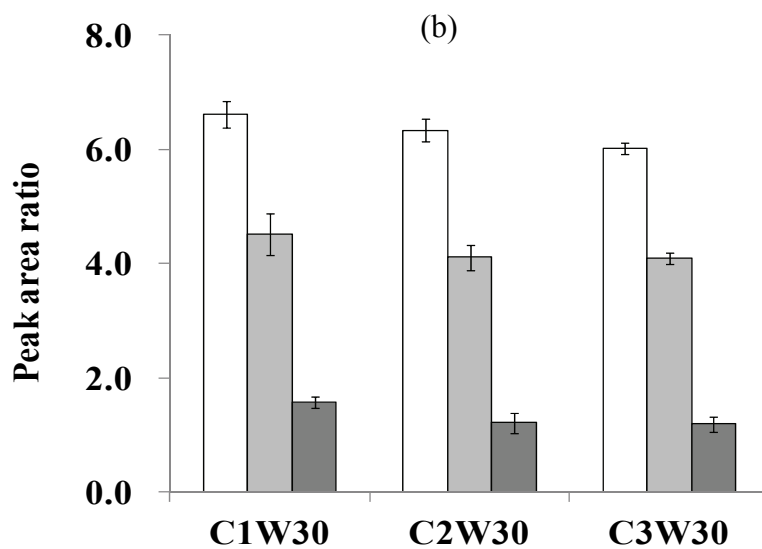
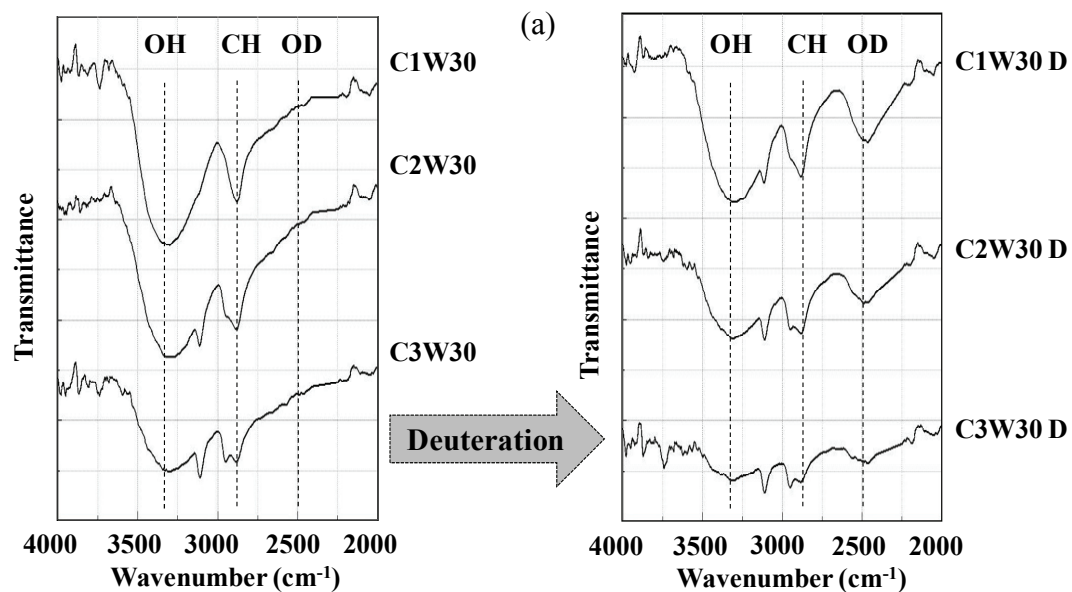


Fig. 7a Effect of deuteration on FT-IR spectra of caffeine anhydrous/L-HPC samples 'D' attached sample codes show the deuterated samples.

Fig. 7b Peak area ratio of OH/CH and OD/CH in FT-IR spectra before and after deuteration

Each column represents the mean \pm S.D. ($n = 3$).

□ : OH/CH ratio before deuteration □ : OH/CH ratio after deuteration
 ■ : OD/CH ratio after deuteration

第二節 密封加熱による CA/L-HPC 相互作用評価

2-1. 粉末 X 線回折測定による CA の結晶状態評価

Fig. 3 の DSC 曲線で CA の融点ピークが C1PM では消失、C2PM および C3PM では低温側にブロードなピークとして確認された原因を解明するため、C1PM、C2PM および C3PM の密封加熱物 (SH) を調製し PXRD 測定を行った。その PXRD パターンを Fig. 8 に示す。SH でも練合顆粒と同様に $2\theta =$ 約 27° 付近の 2 本のピークが消失 (C1SH)、あるいは 1 本のピーク (C2SH、C3SH) となり結晶性が低下していると考えられた。

Nakai らは、揮発性薬物を多孔性ガラス粉末と混合すると薬物は濃度に依存して混合物内で 3 種の状態で存在し、結晶状態を phase 1、DSC チャートで融点よりも低温側にブロードなピークが現れる状態を phase 2 (結晶格子が乱れた状態)、PXRD パターンおよび DSC 曲線に変化が現れない状態を phase 3 (非晶質、あるいは多孔質に吸着された状態) と報告している²⁶⁾。また別に、これらの現象は多孔性ガラス粉末のポアサイズに依存し、mesopore size (20 to 500Å) では phase 2 となるが 1000 Å では phase 1 になると報告している²⁷⁾。今回 Fig. 3 で各 PM が昇華後に結晶格子が乱れた状態 (phase 2) となったのは、SH の PXRD 測定の結果 (Fig. 8) および L-HPC が平均ポアサイズ約 15nm の多孔性セルロース誘導体⁹⁾であることから、熱分析時に加熱によりアルミクランプパン内で CA が昇華して結晶性が低下し L-HPC の細孔部で相互作用したためと考えられた。C1PM の DSC 曲線で融点由来のピークが消失し C2PM および C3PM ではブロードなピークとして観察されることから、L-HPC の細孔部の相互作用部位は C1SH に相当する CA 量でほぼ占有されてしまったものと考えられた。

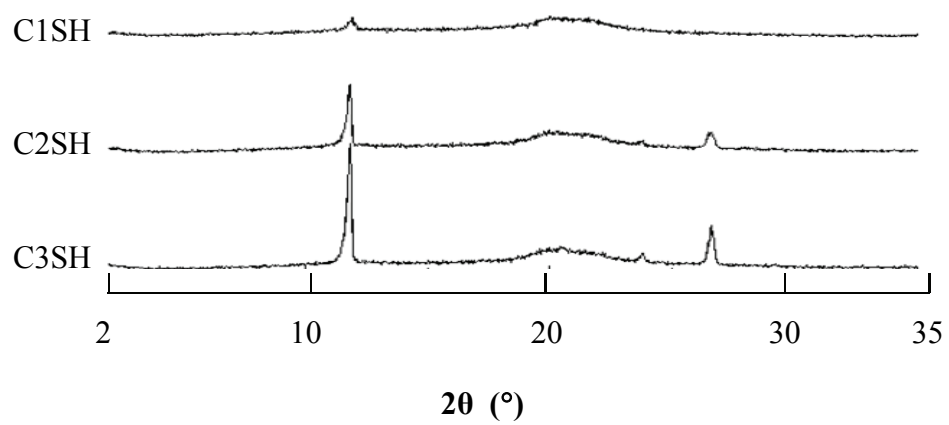


Fig. 8 PXR D patterns of caffeine anhydrous/L-HPC samples after sealed heating

第三節 湿式造粒による AA/L-HPC 相互作用評価

3-1. 粉末 X 線回折測定による AA 結晶状態評価

Table 1 の処方に従い AA 練合顆粒を調製した。なお、AA は精製水に溶解して練合した。PM および練合顆粒中の AA の結晶状態を評価するために PXRD 測定を実施した。結果を Fig. 9 に示す。A2PM および A4PM ではいずれも AA 結晶由来のピークが確認されたが、練合顆粒は AA 量、精製水量にかかわらず、いずれの練合顆粒もハローパターンを示し AA は非晶質状態で存在していると考えられた。

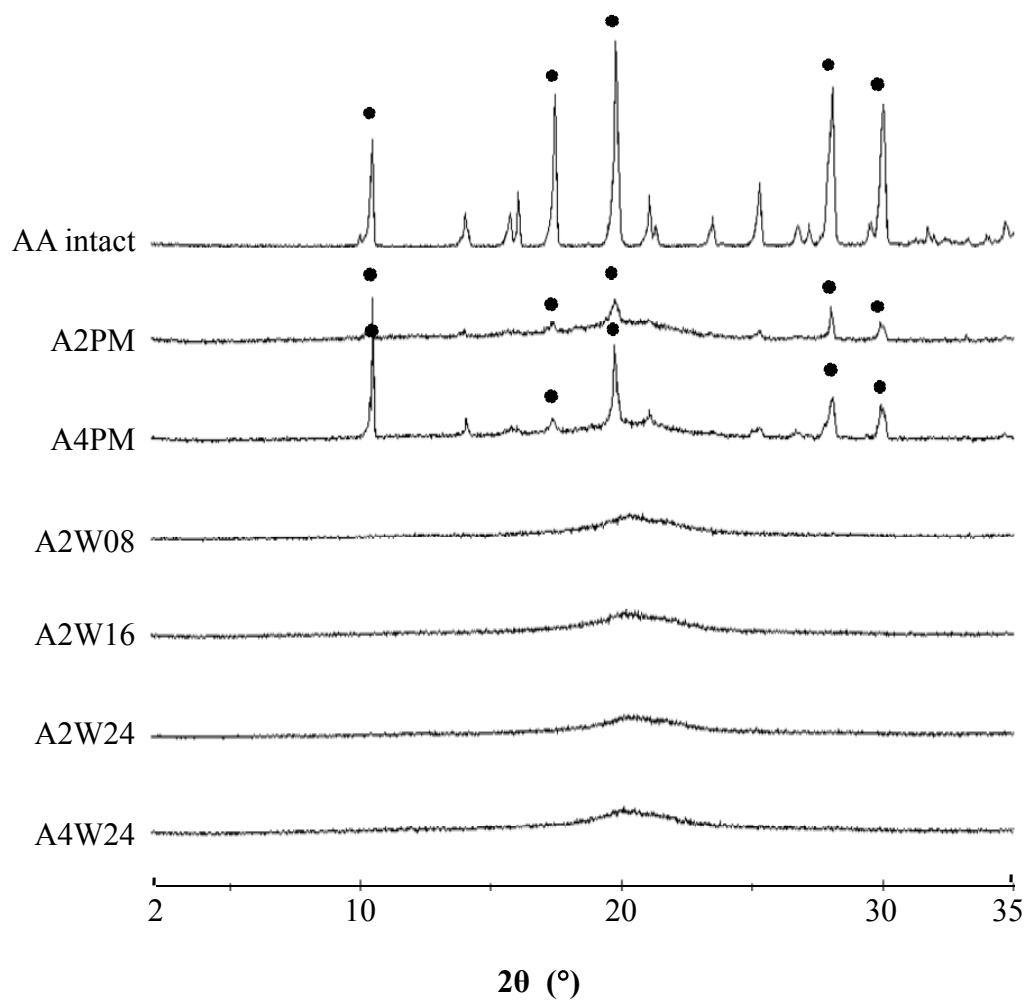


Fig. 9 PXR D patterns of ascorbic acid/L-HPC samples

3-2. 示差走査熱量測定による AA 結晶状態評価

PM および練合顆粒中の AA の結晶状態を評価するために DSC 測定を実施した。結果を Fig. 10 に示す。A2PM および A4PM ではいずれも 190 °C 付近に AA の分解に由来する吸熱ピークが確認され AA は結晶状態で存在していることが確認されたが、練合顆粒ではいずれもピークが消失し AA は非晶質状態で存在していると考えられた。

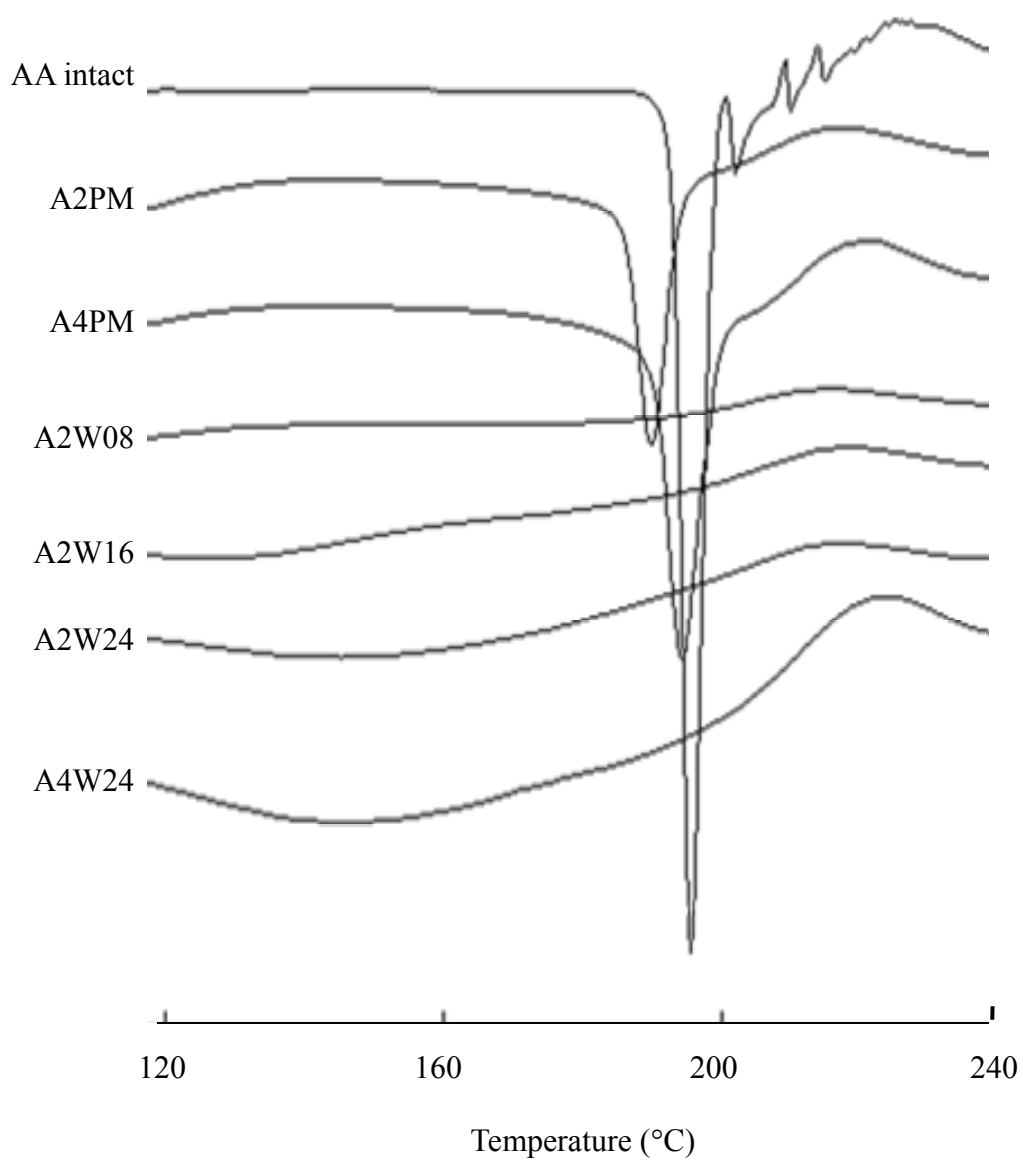


Fig. 10 DSC thermograms of ascorbic acid/L-HPC samples (heating rate, $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$)

3-3. フーリエ変換赤外分光法による AA/L-HPC 相互作用評価

練合顆粒中の AA と L-HPC の相互作用を評価するため、AA intact、A2PM、A2W08、A2W16 および A2W24 の FT-IR スペクトルを測定した。その結果を Fig. 11 に示す。AA の C=O 由来の 1751cm^{-1} のピークと C=C 由来の 1651cm^{-1} のピークでは後者に大きな変化が認められ、A2PM ではほとんど変化しなかったが A2W08、A2W16 および A2W24 においては、それぞれ高波数側に大きくシフトしていることが確認された。AA を溶解した精製水で練合することにより L-HPC 分子と AA 分子が相互作用したと考えられた。

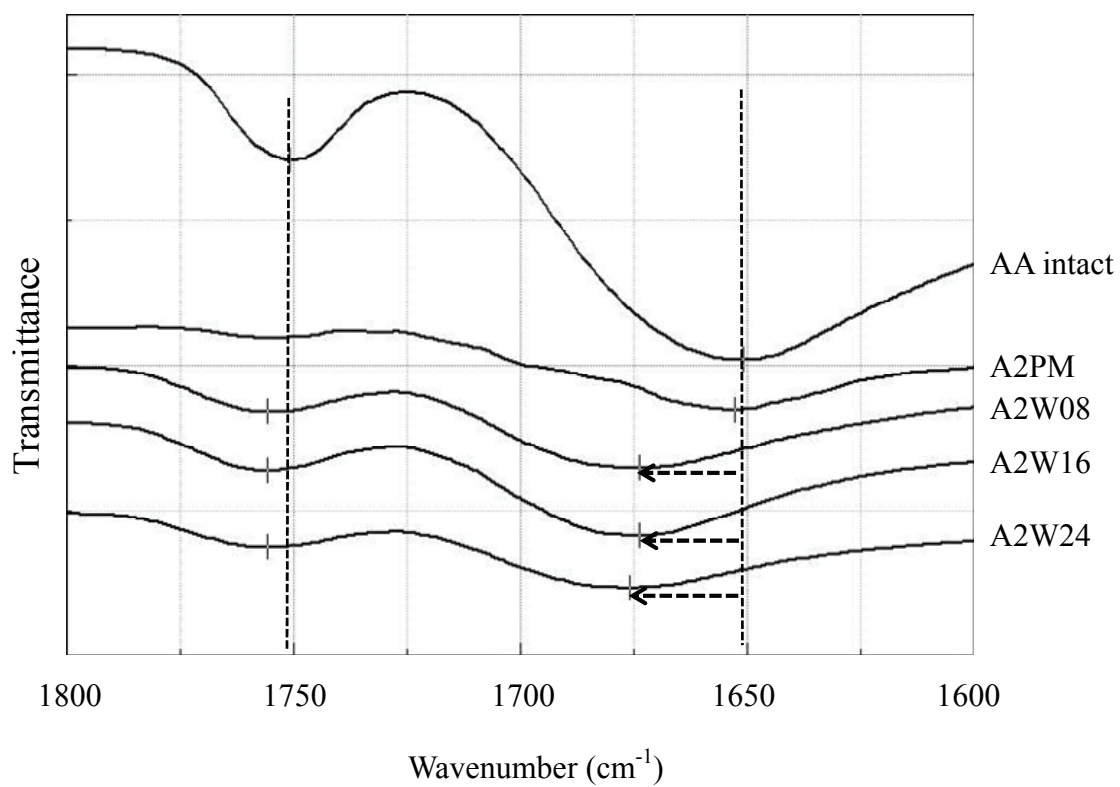


Fig. 11 FT-IR spectra of ascorbic acid/L-HPC samples

3-4. 重水素置換による AA/L-HPC 相互作用部位評価

AA 練合顆粒の L-HPC の分子状態を重水素置換前後の FT-IR スペクトルを比較して評価した。その結果を Fig. 12 に示す。重水素置換により PM および練合顆粒には OD 基由来のピークが認められるが、PM に比べ A2W08、A2W16 および A2W24 の練合顆粒では明らかにピークが小さくなっている。また、AA 量の多い A4W24 では重水素置換により AA intact とほとんど同じスペクトルを示し、OD 基由来のピークは認められなかった。重水素置換前後の OH/CH 比、OD/CH 比については、AA のスペクトルの影響を強く受けるため CA のような関係性は得られなかった。しかしながら A4W24 の重水素置換後のスペクトルで OD 基由来のピークが確認できないことから、AA も水溶液として L-HPC と練合すると L-HPC 非晶領域の OH 基と相互作用することが示唆された。

融点より低温側にブロードなピークが観察された CA 練合顆粒の DSC 曲線 (Fig. 3) と異なり、AA 練合顆粒ではすべてが非晶質となった (Fig. 10)。その分子状態の差はそれぞれの薬物の水溶液中の分子状態に起因していると考えられる。水に対する溶解度が約 2mg/mL (20 °C) と低く dimer などを形成して反応性の低い CA に比べ、AA は溶解度が約 150 倍高く (約 333mg/mL in water at 20 °C)、溶解後はほとんどが解離してイオン型となり反応性が高い状態であるため、 T_g が低下して反応性の高い状態の L-HPC 非晶領域の OH 基と強く相互作用し、結果として DSC 曲線に変化が現れなかったものと考えられた。

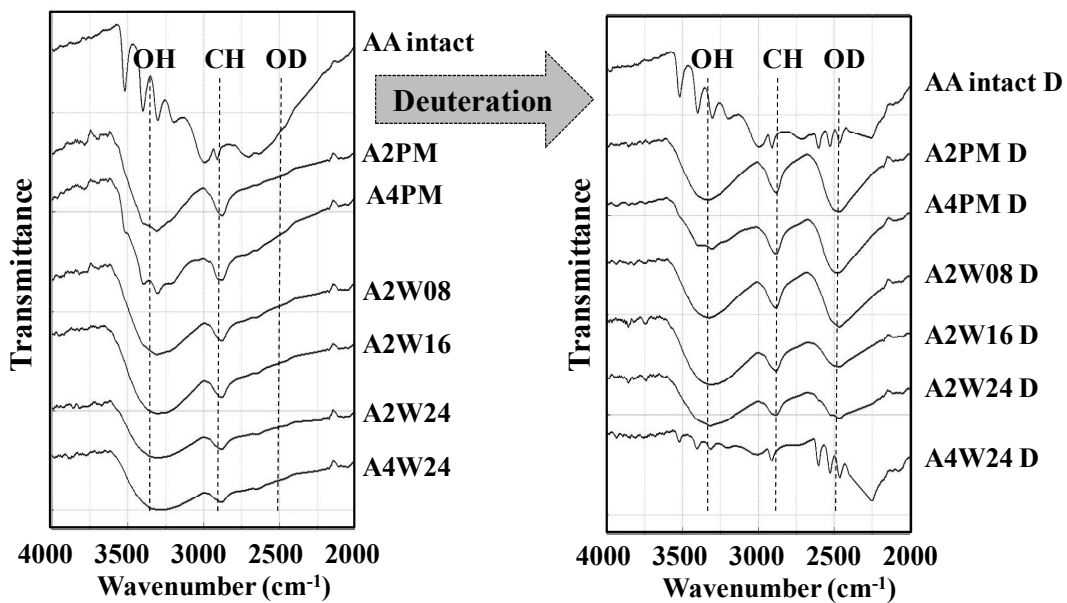


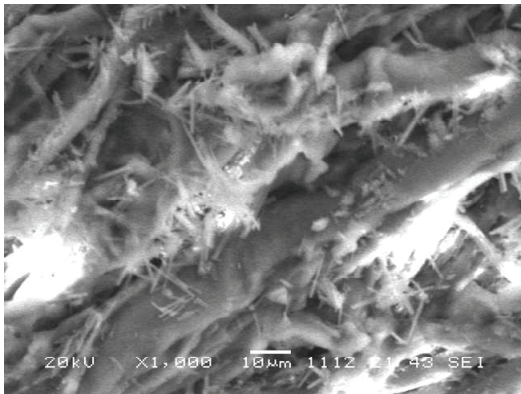
Fig. 12 Effect of deuteration on FT-IR spectra of ascorbic acid/L-HPC samples
 'D' attached sample codes show the deuterated samples.

第四節 CA/L-HPC, AA/L-HPC 練合顆粒の比較

4-1. SEM 写真による練合顆粒表面の比較

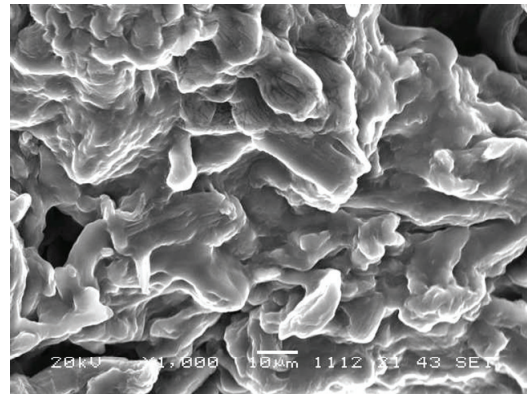
C2W30 および A2W24 の表面状態を SEM にて観察した。練合顆粒表面の SEM 写真を Fig. 13 に示す。C2W30 では表面に CA の針状結晶が部分的に確認されるが、A2W24 では滑らかな表面で AA の結晶は確認されなかった。CA は練合顆粒中で結晶性が低下した状態であるのに対し、AA は完全に非晶質状態で存在しているという PXRD (Fig. 2, 9) や DSC (Fig. 3, 10) の測定結果を支持するものである。

(a)



C2W30 — :10µm

(b)



A2W24 — :10µm

Fig. 13 SEM photographs of caffeine anhydrous/L-HPC (a) and ascorbic acid/L-HPC (b) samples

4-2. 練合顆粒の水蒸気吸着試験

L-HPC の非晶領域 OH 基は水蒸気を吸着しやすい領域であるが、OH 基が薬物と相互作用した場合水蒸気吸着量に影響がでることが予想される。そこで薬物存在下での水蒸気吸着量の変化を検討するため、以下の試料で水蒸気吸着試験を実施した。なお、AA を配合せず L-HPC を精製水のみで湿式造粒したものを L-HPC 練合顆粒とした。

- ① L-HPC 練合顆粒：L-HPC intact、LW08、LW16 および LW24
- ② CA 練合顆粒：C2PM、C2W10、C2W20 および C2W30
- ③ AA 練合顆粒：A2PM、A2W08、A2W16 および A2W24

それぞれ十分乾燥（25 °C、減圧、五酸化リン存在下、2days）後、水蒸気吸着試験法に従って 25 °C 57%RH 条件に開放状態で放置した時の水蒸気吸着率を算出した。その経時変化を Fig. 14a, b, c に示す。L-HPC intact と薬物を配合しない L-HPC 練合顆粒の水蒸気吸着量は、若干だが精製水量に依存して吸着速度が低下した。Badawy らは、MCC は水で湿式造粒すると多孔性が減少し比表面積も併せて減少すると報告しており、その減少傾向は造粒状態に依存（過少練合<過多練合）するとしている²⁸⁾。MCC 同様多孔性の L-HPC⁹⁾ の場合も同様な現象が起こると考えられる。L-HPC は MCC よりも膨潤性が高いため、その造粒性はより精製水量の影響を受ける。すなわち精製水量に依存して押し出し造粒性は高くなり、L-HPC 量、精製水量に依存して顆粒が収縮する^{14, 28-29)}。その結果、L-HPC 練合顆粒の多孔性は減少し水蒸気吸着を抑制したと考えられる（Fig. 14a）。

CA 練合顆粒の水蒸気吸着量も精製水量に依存して低下したが、吸着速度は L-HPC 練合顆粒よりも低下した（Fig. 14b）。AA 練合顆粒も同様に精製水量に依存して吸着量が低下し、L-HPC、CA 練合顆粒よりも吸着速度の低下は

増強した (Fig. 14c)。いずれも精製水量に依存して水蒸気吸着速度が低下する傾向が認められ、薬物が存在するとその低下傾向は増強された。その傾向は〔薬物なし<CA<AA〕の順で強かったが、薬物が水蒸気吸着部位である非晶領域 OH 基と相互作用しているため、水蒸気の吸着を妨害し吸着速度の低下が認められたものとする。

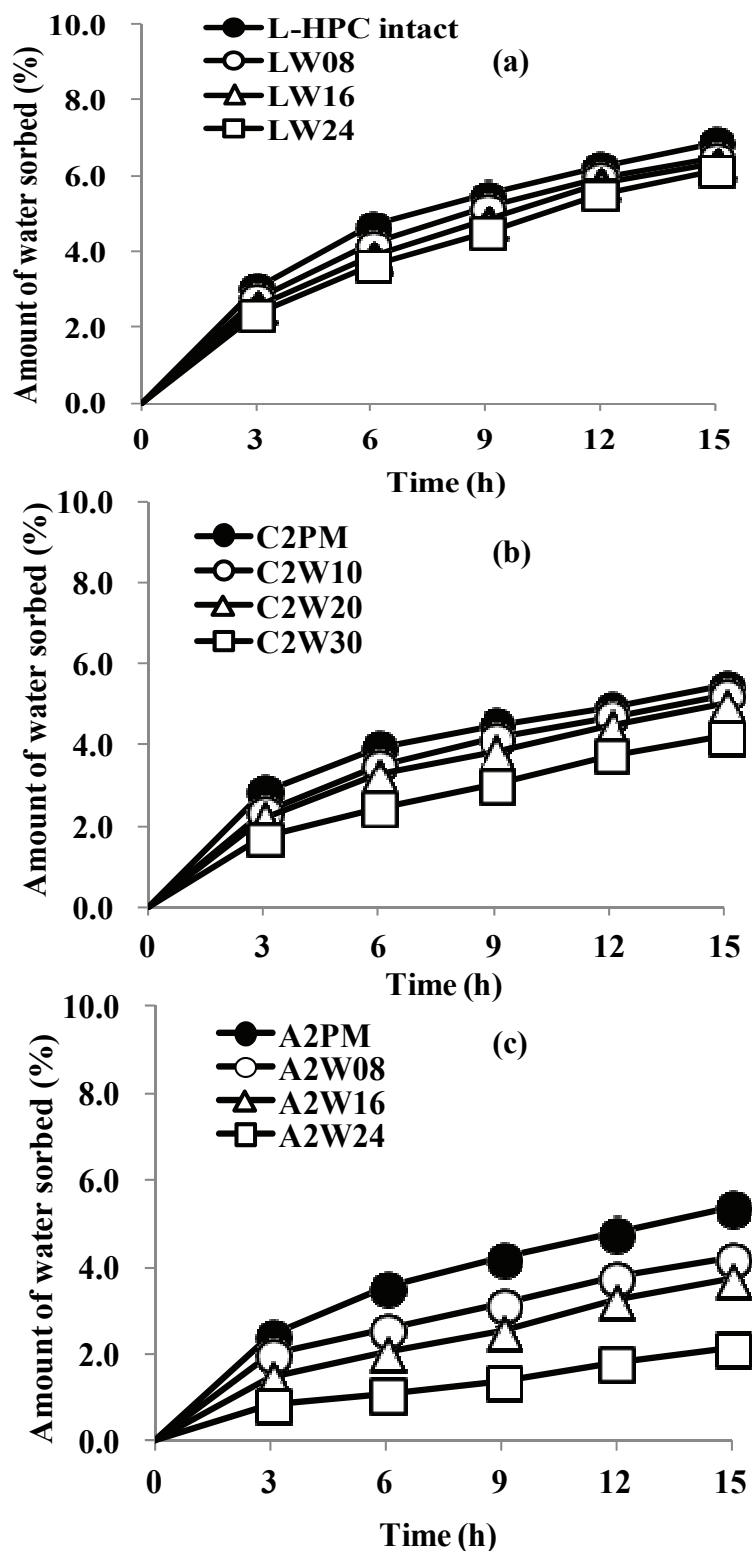


Fig. 14 Water vapor sorption rate of L-HPC (a), caffeine anhydrous/L-HPC (b) and ascorbic acid/L-HPC (c) samples at 25 °C, 57% RH

Values are expressed as the mean \pm S.D. ($n = 3$).

4-3. 相互作用システムの比較

L-HPC と、過量の水で湿式造粒した時の CA 分子または AA 分子の相互作用システムを Fig. 15 に示す。

L-HPC intact では、近隣の L-HPC ポリマーの水酸基同士で水素結合してパッキングしたところが結晶領域、ヒドロキシプロポキシル基により水素結合できずに緩んだところが非晶領域となる。水分子は非晶領域の OH 基に容易に吸着される (Fig. 15a)。CA 水溶液で湿式造粒を行うと水により L-HPC の T_g が低下し非晶領域の OH 基の運動性は高まった状態となるが、CA は自己会合が優先して起こるため無水カフェイン分子と L-HPC の非晶領域 OH 基との相互作用が一部に制限され、それ以外は結晶性が低下した状態として存在していると考えられる (Fig. 15b)。

一方、高い溶解度で溶解後ほとんどが解離してイオン型となる AA は反応性が高い状態であるため、湿式造粒時に T_g が低下して反応性の高い状態の L-HPC 非晶領域 OH 基と強く相互作用していると考えられる (Fig. 15c)。

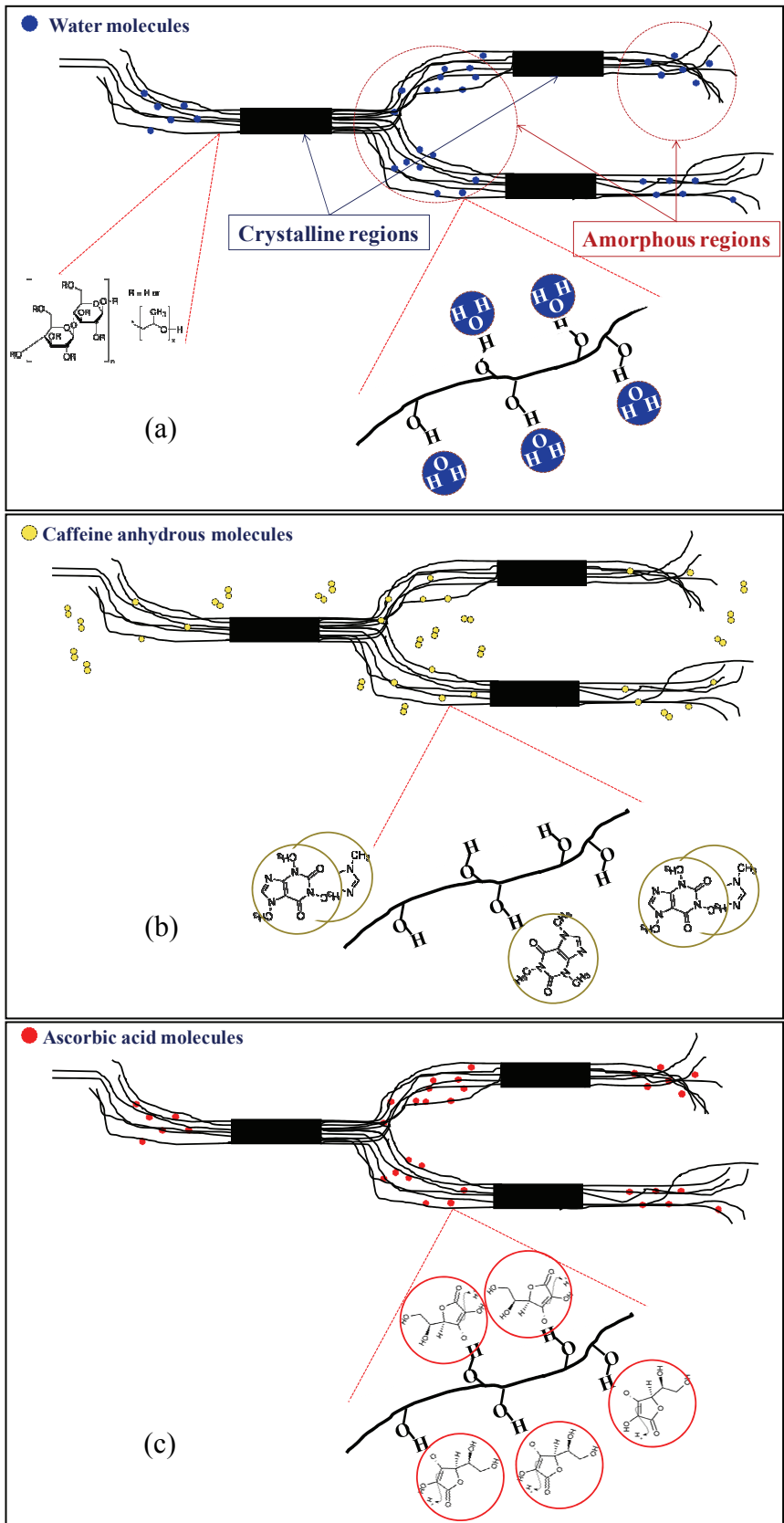


Fig. 15 Schematic diagram of L-HPC (a), CA/L-HPC (b) and AA/L-HPC (c) samples

第五節 湿式造粒による NA/L-HPC 相互作用評価

5-1. 粉末 X 線回折測定による NA 結晶状態評価

Table 1 の処方に従い NA を精製水に溶解して NA 練合顆粒を調製した。PM および練合顆粒中の NA の結晶状態を評価するために PXRD 測定を実施した。その結果を Fig. 16 に示す。N1PM、N2PM および N3PM ではいずれも NA 結晶由来のピークが確認されたが、練合顆粒では NA 量、精製水量にかかわらず、いずれの練合顆粒もハローパターンを示し NA は非晶質状態で存在していると考えられた。

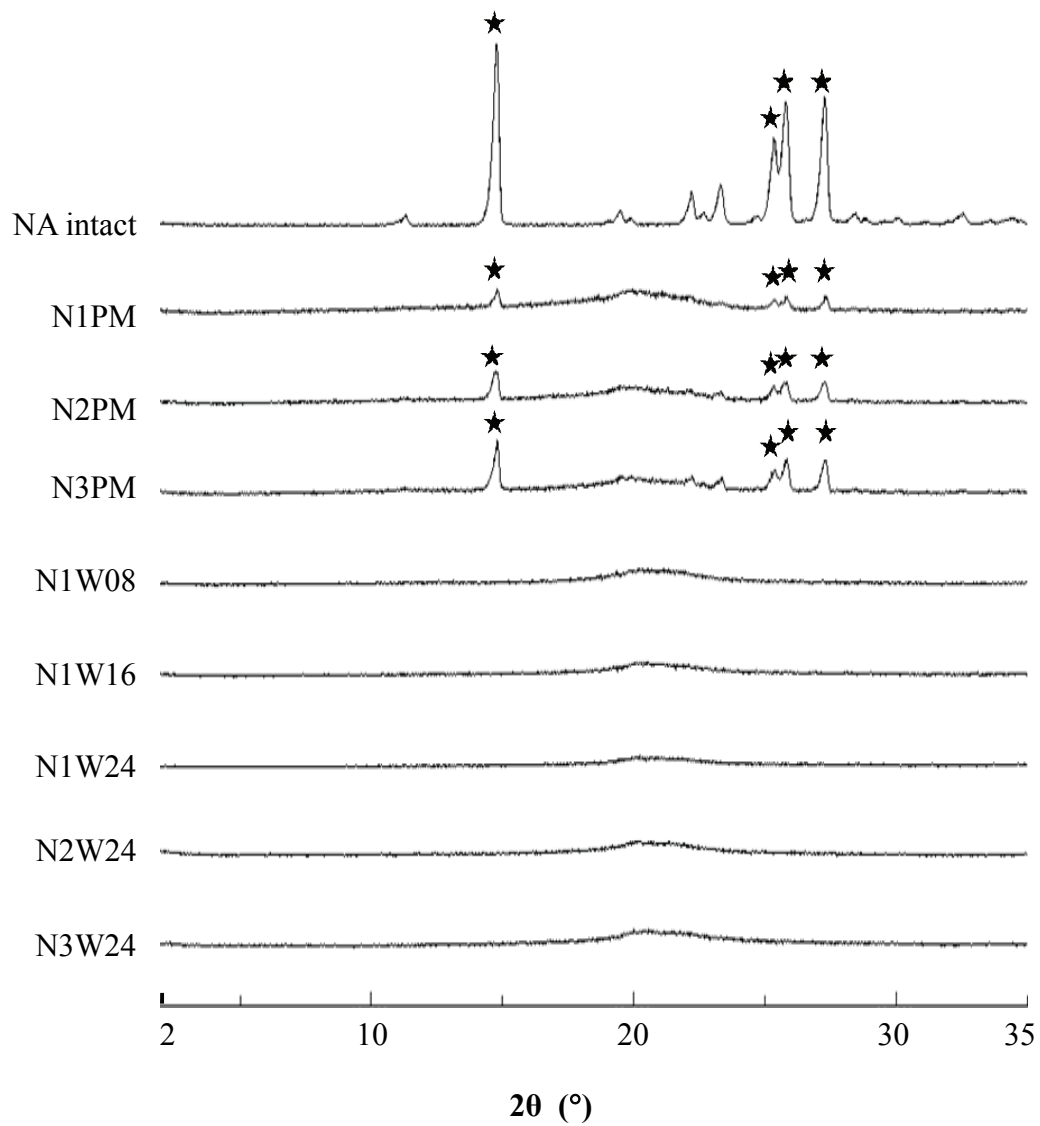


Fig. 16 PXR D patterns of nicotinamide/L-HPC samples

5-2. 示差走査熱量測定による NA 結晶状態評価

PM および練合顆粒中の NA の結晶状態を評価するために DSC 測定を実施した。結果を Fig. 17 に示す。N1PM、N2PM および N3PM ではいずれも 130 °C 付近に NA の融点由来の吸熱ピークが確認され、NA は結晶状態で存在していることが確認された。一方練合顆粒では N1W08 で融点付近にわずかに吸熱ピークが確認されたが、それ以外の練合顆粒はいずれもピークが消失し NA は非晶質状態で存在していると考えられる。

NA の水に対する溶解度は約 1000mg/mL (20 °C) と AA (約 333mg/mL) よりも約 3 倍高いにもかかわらず、N1W08 では融点付近に吸熱ピークが発現した。NA は pKa 約 3 の塩基性物質で精製水に溶解するとほとんどが分子型となるため、比較的反応性は高くないと考えられる。また N1W08 は湿式造粒に要した精製水量が少ないため、水により運動性が高まる非晶領域の OH 基量が少ないことから PXRD パターンではハローパターンを示したが、L-HPC の非晶領域 OH 基と相互作用できなかった分子が少量あり DSC 曲線に融点由来の小さな吸熱ピークが発現したものと考えられた。

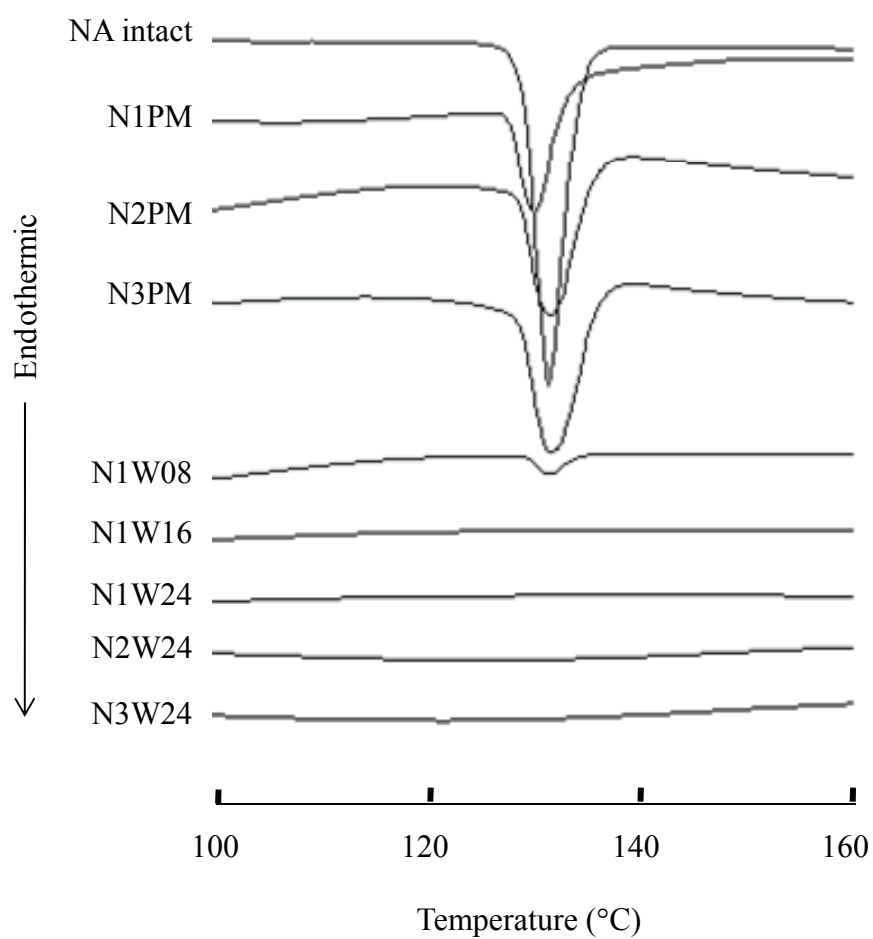


Fig. 17 DSC thermograms of ascorbic acid/L-HPC samples
(heating rate, $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$)

5-3. フーリエ変換赤外分光法による NA/L-HPC 相互作用評価

練合顆粒中の NA と L-HPC の相互作用を評価するため、NA intact、N1W24、N2W24 および N3W24 の FT-IR スペクトルを測定した。その結果を Fig. 18a, b に示した。Fig. 18a では 1699 cm^{-1} に NA の C=O 由来のピークが認められるが、NA intact および練合顆粒で変化は認められなかった。Fig. 18b では intact に N-H 由来の二つのピークが 3348 cm^{-1} と 3138 cm^{-1} にみられる。練合顆粒では L-HPC の OH 基由来のピークが $3000\sim 3600\text{ cm}^{-1}$ に重なるため、N1W24、N2W24 では変化がわからないが、NA 量の多い N3W24 で 3138 cm^{-1} のピークが高波数側にシフトしていた。NA を溶解した精製水で練合することにより L-HPC 分子と NA 分子が相互作用したと考えられた。

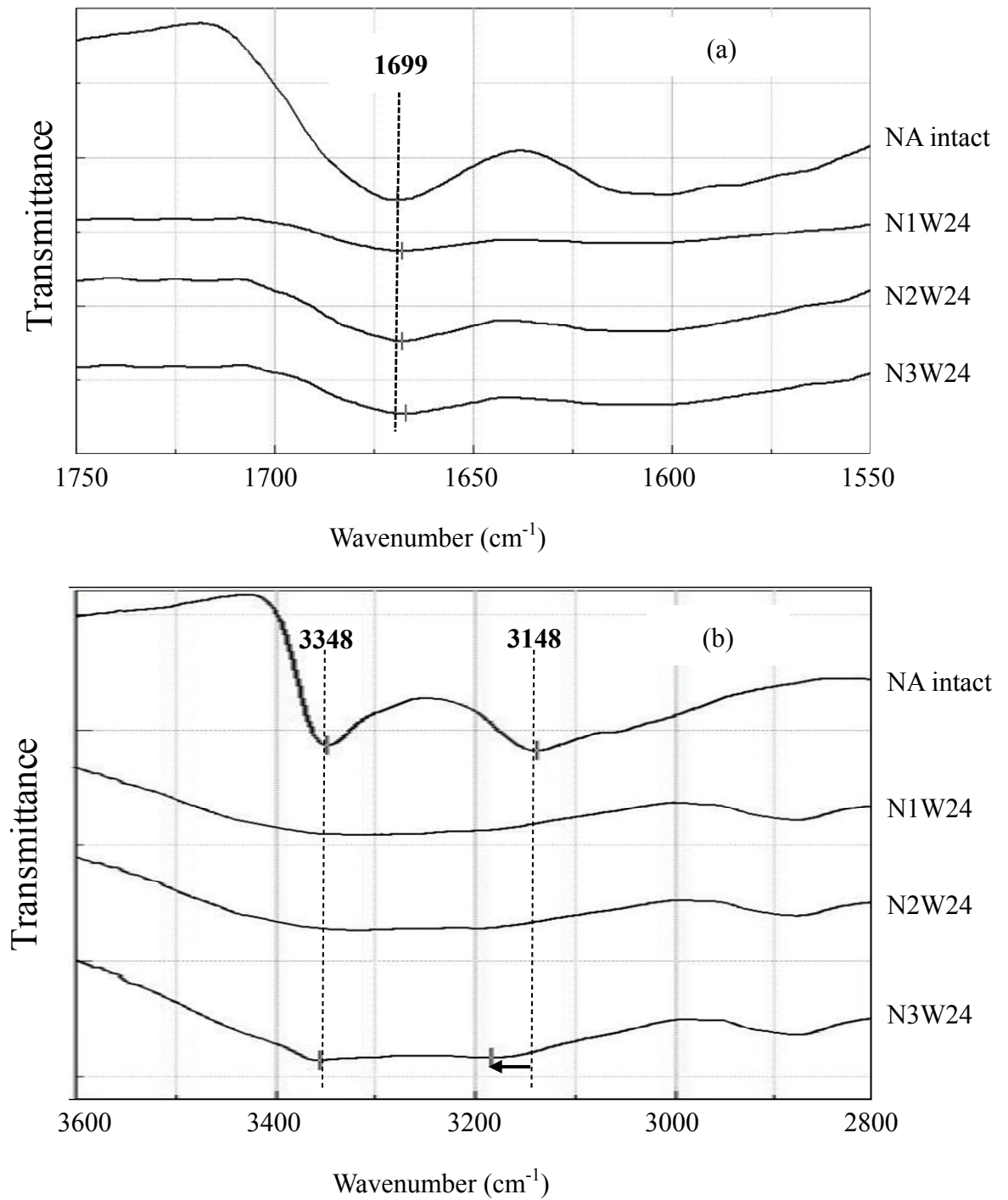


Fig. 18 FT-IR spectra of nicotinamide/L-HPC samples

(a) C=O vibration peaks, (b) N-H vibration peaks

5-4. 重水素置換による NA/L-HPC 相互作用部位評価

NA 練合顆粒の L-HPC の分子状態を重水素置換前後の FT-IR スペクトルを比較して評価した (Fig. 19a, b)。重水素置換により PM および練合顆粒には OD 基由来のピークが認められた。精製水量を変化させた系 (Fig. 19a) では、精製水量に依存して OD ピークが小さくなった。また、精製水量を一定にして NA 量を変化させた系 (Fig. 19b) ではそれぞれ PM に比べ OD 基由来ピークが明らかに小さくなっており、NA も水溶液として L-HPC と湿式造粒すると L-HPC の非晶領域 OH 基と相互作用することが確認された。重水素置換前後の OH/CH 比、OD/CH 比については、NA のスペクトルの影響を強く受けるため CA のような関係性は得られなかった。

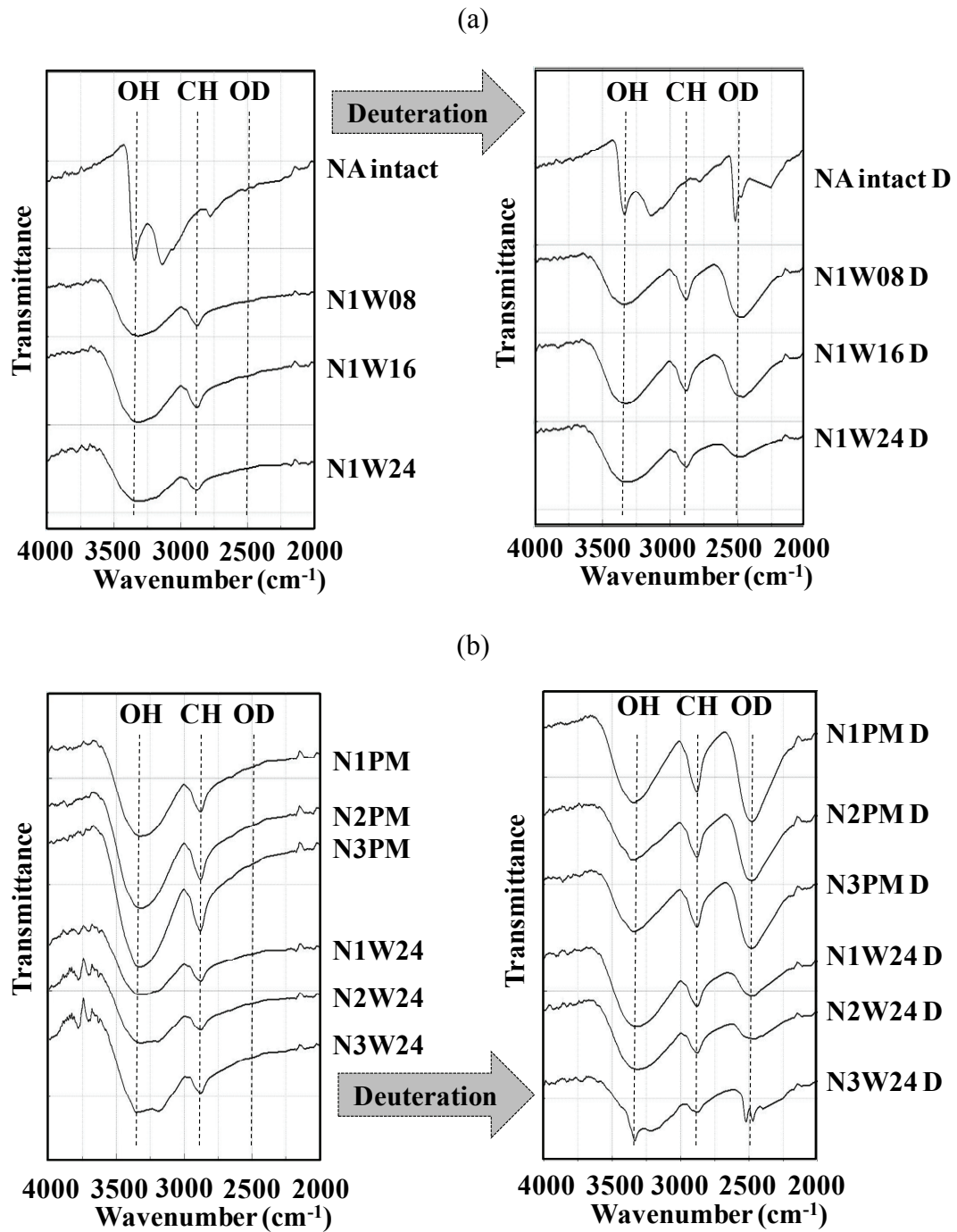


Fig. 19 Effect of deuteration on FT-IR spectra of nicotinamide/L-HPC samples

(a) effect of water amount, (b) effect of nicotinamide content

'D' attached sample codes show the deuterated samples.

第六節 総括

セルロース誘導体系賦形剤のひとつである L-HPC は、その多様な特性から固形製剤において広く用いられている。本研究では過量の水を用いた湿式造粒による L-HPC と水溶性薬物の相互作用を明らかにした。

無水カフェイン、アスコルビン酸およびニコチンアミドの結果から、水溶性薬物を過量の水で L-HPC と湿式造粒すると L-HPC は薬物と相互作用することが明らかとなった。重水素置換前後の FT-IR 測定結果は L-HPC の非晶領域 OH 基と薬物分子が相互作用することを支持し、PXRD、DSC 測定結果から、その時の薬物分子の状態は非晶質あるいは結晶性が低下した状態であることが分かった。結晶状態は薬物の水に対する溶解性や溶解後の分子状態に依存しており、溶解度が比較的低く溶解後に dimer などを形成する無水カフェインは結晶性の低下した状態で相互作用し、溶解度の高いアスコルビン酸やニコチンアミドは非晶質状態となった。ニコチンアミドとアスコルビン酸では溶解後ほとんどが分子型となるニコチンアミドに比べ、溶解度はその約 1/3 だがほとんどがイオン型となるアスコルビン酸の方がニコチンアミドよりも強く相互作用することが分かった。過量の水と L-HPC を用いた湿式造粒による練合顆粒においてアスコルビン酸など反応性の高い水溶性薬物は、L-HPC の非晶領域 OH 基と相互作用することで製剤中の他の成分との相互作用が減少し、有効成分の安定性が向上する要因の一つと考えられた。

L-HPC の一般的な賦形剤としての利用だけでなく、ユニークな薬物キャリアーとしての利用が期待される。

参考文献

- 1) S. S. Bharate, S. B. Bharate, A. N. Bajaj, Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review, *J. Excipients and Food Chem.* 1, 3–26 (2010)
- 2) S. Airaksinen, M. Karjalainen, N. Kivikero, S. Westermarck, A. Shevchenko, J. Rantanen, J. Yliruusi, Excipient selection can significantly affect solid-state phase transformation in formulation during wet granulation, *AAPS PharmSciThec*, **6**, E311–E322 (2005)
- 3) H. Patel, A. Stalcup, R. Dansereau, A. Sakr, The effect of excipients on the stability of levothyroxine sodium pentahydrate tablets, *Int. J. Pharm.*, **264**, 35–43 (2003)
- 4) S. Airaksinen, M. Karjalainen, A. Shevchenko, S. Westermarck, E. Leppänen, J. Rantanen, J. Yliruusi, Role of water in the physical stability of solid dosage formulations, *J. Pharm. Sci.*, **94**, 2147–2165 (2005)
- 5) A. Mihranyan, A. P. Llagostera, R. Karmhag, M. Strømme, R. Ek, Moisture sorption by cellulose powders of varying crystallinity, *Int. J. Pharm.*, **269**, 433–442 (2004)
- 6) M. Ioelovich, A. Leykin, Study of sorption properties of cellulose and its derivatives, *BioResources*, **6**(1), 178–195 (2011)
- 7) C. Alvarez-Lorenzo, J. L. Gómez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto, A. Concheiro, Interactions between hydroxypropylcelluloses and vapour/liquid water, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 307–318 (2000)
- 8) Y. Nakai, E. Fukuoka, S. Nakajima, J. Hasegawa, Crystallinity and physical characteristics of microcrystalline cellulose, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 96–101

(1977)

- 9) P. M. Desai, C. V. Liew, P. W. S. Heng, Understanding disintegrant action by visualization, *J. Pharm. Sci.*, **101**, 2155–2164 (2012)
- 10) C. Alvarez-Lorenzo, J. L. Gómez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto. A. Concheiro, Evaluation of low-substituted hydroxypropylcelluloses (L-HPCs) as filler-binders for direct compression, *Int. J. Pharm.*, **197**, 107–116 (2000)
- 11) P. D. Martino, L. Malaj, R. Censi, S. Martelli, E. Joiris, C. Barthélémy, The role of several L-HPCs in preventing tablet capping during direct compression of metronidazole, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **33**, 1308-1317 (2007)
- 12) Y. Kawashima, H. Takeuchi, T. Hino, T. Niwa, T. Lin, F. Sekigawa, Preparation of sustained-release matrix tablet of acetaminophen with pulverized low-substituted hydroxypropylcellulose *via* dry granulation, *Chem. Pharm. Bull.*, **41** 1827-1831 (1993)
- 13) P. Kleinebudde, Application of low substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) in the production of pellets using extrusion/spheronization, *Int. J. Pharm.*, **96**, 119–128 (1993)
- 14) H. Kanbe, T. Hayashi, Y. Onuki, T. Sonobe, Manufacture of fine spherical granules by an extrusion/spheronization method, *Int. J. Pharm.*, **337**, 56–62 (2007)
- 15) 神戸英芳, 時限放出製剤, 特許公開 2009-191034
- 16) 神戸英芳, 経口投与用製剤, 特許第 4845087 号
- 17) Y. Onuki, K. Higashi, K. Moribe, K. Yamamoto, Improved chemical stability of ascorbic acid and thiamine nitrate in L-HPC granules, *Adv. Powder Technol.*, **20**, 576–581 (2009)
- 18) S. Nara, H. Takeo, T. Komiya, Studies of the accessibility of starch by

- deuteration, *Starch*, **33**, 329–331 (1981)
- 19) Y. Nakai, E. Fukuoka, S. Nakajima, Y. Iida, Effect of grinding on physical and chemical properties of crystalline medicinals with microcrystalline cellulose. II. Retention of volatile medicinals in ground mixture, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2983–2989 (1978)
- 20) H. Batzer, U. T. Kreibich, Influence of water on thermal transitions in natural polymers and synthetic polyamides, *Polym. Bull.*, **5**, 585–590 (1981)
- 21) B. C. Hancock, G. Zografi, The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids, *Pharm. Res.*, **11**, 471–477 (1994)
- 22) K. Izutsu, Y. Hiyama, C. Yomota, T. Kawanishi, Near-infrared analysis of hydrogen-bonding in glass- and rubber-state amorphous saccharide solids, *AAPS PharmSciThec*, **10**, 524–529 (2009)
- 23) B. C. Hancock, S. L. Shamblin, G. Zografi, Molecular mobility of amorphous pharmaceutical solids below their glass transition temperatures, *Pharm. Res.*, **12**, 799–806 (1995)
- 24) M. Mejri, A. BenSouissi, V. Aroulmoji, B. Rogé, Hydration and self-association of caffeine molecules in aqueous solution: Comparative effects of sucrose and β -cyclodextrin, *Spectrochim. Acta, Part A*, **73**, 6–10 (2009)
- 25) A. Gómez-Carracedo, C. Alvarez-Lorenzo, J. L. Gómez-Amoza, A. Concheiro, Chemical structure and glass transition temperature of non-ionic cellulose ethers DSC, TMDSC® Oscillatory rheometry study, *J. Therm. Anal. Cal.*, **73**, 587–596 (2003)
- 26) Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada, J. Ichikawa, Interaction of medicinals and porous powder. I. Anomalous thermal behavior of porous glass mixture, *Chem.*

Pharm. Bull., **32**, 4566–4571 (1984)

- 27) Y. Nakai, K. Yamamoto, S. Izumikawa, Interaction of medicinals and porous powder. III. Effect of pore diameter of porous glass powder on crystalline properties, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 435–438 (1989)
- 28) S. I. F. Badawy, D. B. Gray, M. A. Hussain, A study on the effect of wet granulation on microcrystalline cellulose particle structure and performance, *Pharm. Res.*, **23**, 634–640 (2006)
- 29) P. Kleinebudde, Shrinking and swelling properties of pellets containing microcrystalline cellulose and low substituted hydroxypropylcellulose: I. Shrinking properties, *Int. J. Pharm.*, **109**, 209–219 (1994)

結 語

本邦の OTC 医薬品市場の傾向として、複数の有効成分を配合した製品が多いということが挙げられる。複数の成分を配合させるには製剤的な工夫で配合変化を起こす薬物同士をなるべく接触させないことが必要となり、通常「顆粒分け」、「有核錠」、「二（または三）層錠」や「コーティング」などの技術を用いて製剤化している。その結果、工程数は増え複雑でコストのかかる製造工程となる。

そのような中で L-HPC を用いて過量の水で湿式造粒して顆粒を得る技術は、過量の水を使用しているにも関わらず水に不安定な有効成分や配合禁忌の組み合わせの成分の安定性を向上させるというユニークなものであり、その結果、いままで同時に配合できなかつた複数成分が 1 顆粒中に配合でき、さらに単純な工程での製造が可能となった。この技術による安定化のシステムについて、薬物分子の相互作用に着目した研究は今までなかった。

本研究では水溶性薬物と L-HPC を湿式造粒することで L-HPC の非晶領域 OH 基と水溶性薬物が、水溶液中の薬物分子状態に依存して相互作用することを明らかにした。水溶性薬物が製剤中の L-HPC 非晶領域 OH 基と相互作用することで他の成分との相互作用が減少し、安定性が向上する要因の一つと考えられた。水溶性ビタミンなどの配合剤が多い OTC 医薬品だけでなく、配合剤が検討され始めた医療用医薬品への応用も期待される技術である。

謝 辞

終りに臨み、本研究の機会をお与え下さり、終始御懇切なご指導ならびに御鞭撻を賜りました千葉大学大学院薬学研究院教授 山本恵司先生に深甚なる謝意を表します。

また、本研究完成に至るまで、終始有益な御指導ならびに御助言を賜り、御激励を戴きました千葉大学大学院薬学研究院准教授 森部久仁一先生に心より厚く御礼申し上げます。

また、本研究を遂行するにあたり、有益な御指導ならびに御助言を賜り、本研究に御協力戴きました千葉大学大学院薬学研究院助教 東頭二郎先生に心より厚く御礼申し上げます。

また、本研究を遂行するにあたり、励ましと御協力下さいました製剤工学研究室の卒業生、教室員の皆様に心より感謝いたします。

本研究の機会をお与え頂きましたエスエス製薬株式会社代表取締役会長 鳥居正男氏、同代表取締役社長 石橋利哉氏、同執行役員 坂井裕貴氏、同元ライフサイエンスインスティテュート所長 今森勝美博士に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、絶えざる御助言、御協力を頂きましたエスエス製薬株式会社 岡田実博士、林哲男博士、池田保夫博士、宮台信夫博士、小貫洋一博士、廣田浩之氏、千葉亮氏、大澤瑞穂氏、元エスエス製薬株式会社 村田豊氏、神戸英芳博士に深く感謝いたします。

本研究の実験に対する適切な御助言、御協力を頂きましたエスエス製薬株式会社 成田研究所の諸氏に感謝いたします。

最後に、終始暖かく見守ってくれた妻 真由美、娘 友希ならびに優花に心より感謝します。

論文目録

主論文

1. M. Fushimi, K. Higashi, K. Moribe, K. Yamamoto, Intermolecular interaction between low-substituted hydroxypropylcellulose and water-soluble drugs in granules prepared by wet granulation, J. Pharm. Sci. Technol., Jpn., **73** (1), 72-81 (2013)

主査、副査名

本学位論文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） 工学博士 根矢 三郎

副査 千葉大学大学院教授（薬学研究院） 薬学博士 堀江 利治

副査 千葉大学大学院教授（薬学研究院） 薬学博士 戸井田 敏彦

**Intermolecular interaction between low-substituted hydroxypropylcellulose and
water-soluble drugs in granules prepared by wet granulation**

Summary: We investigated various physical properties of granules composed of low-substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) and water-soluble drugs (caffeine anhydrous or ascorbic acid) prepared by wet granulation. The crystalline state of the drugs in the granules was evaluated using powder X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, and attenuated total reflectance Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. Caffeine anhydrous showed a reduction in crystallinity that was dependent on the amount of purified water added as kneading liquid, while ascorbic acid was observed to be in an amorphous state with any amount of purified water. Deuterated samples of each drug showed decrease in the area of the amorphous OH band of L-HPC in the FT-IR spectra. These results suggested the possibility that both drugs interacted with OH groups of the L-HPC amorphous domain by wet granulation independent of the amount of purified water added. The rate of water vapor sorption by the granules was reduced dependent on the amount of purified water added. The rate of water vapor sorption was suppressed in the presence of drugs. It was considered that the interaction between the drugs and the OH groups of the amorphous domain of L-HPC interfered with water vapor sorption.

Keywords: low-substituted hydroxypropylcellulose; caffeine anhydrous; ascorbic acid; wet granulation; amorphous; molecular interaction

1. Introduction

The selection of excipients is important in drug formulation design for solid preparations. It is necessary not only to consider any direct physiochemical interactions with the active pharmaceutical ingredients (APIs)¹⁾, but also to think about the effect of the excipients' properties on the stability of the APIs^{2,3)}. Although cellulose derivatives are widely used as excipients because of their rich variety of properties, it is known that their characteristic moisture sorption properties can have a negative effect on pharmaceutical stabilities⁴⁾. Because the moisture sorption of cellulose derivatives is dependent on the amorphous domain within cellulose molecules that has high affinity for water molecules⁵⁾, it is possible to infer the tendency of moisture sorption by measuring the crystallinity of cellulose derivatives. For example, powder X-ray diffraction (PXRD) is a simple and convenient method for evaluating the crystallinity of cellulose derivatives⁶⁾. The crystallinity evaluation

by measuring the infrared absorption of deuterated samples of amorphous OH ⁷⁾ is considered to be appropriate for the evaluation of amorphous cellulose derivatives whose crystallinity is difficult to evaluate with PXRD.

Low-substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) is an amorphous cellulose derivative with low-substituted hydroxypropyl ether body. Because its particle shape ranges from fine to fibrous, L-HPC acts as a dry binder in a similar manner to microcrystalline cellulose^{8,9)}, but it is also used as a disintegrant due to its extremely characteristic high swelling property¹⁰⁾. The high water-absorption capability of L-HPC allows for wet granulation conditions to be modified simply by adding purified water¹¹⁾. L-HPC is a particularly good excipient option for extrusion granulation because of the low screen pressure attributable to its high swelling property¹²⁾. L-HPC has a lot of amorphous domains that readily associate with water molecules, and the moisture in the pharmaceutical preparation is retained as bound water, which consequently reduces the amount of free water. This characteristic of L-HPC has been reported to contribute to increasing the stability of APIs that are unstable in the presence of water¹³⁾.

By preparing granules of L-HPC, amorphous and water-swelling materials, and water-soluble APIs by wet granulation with different amounts of purified water, we found that the drug molecules interacted with the L-HPC. In this study, we have utilized caffeine anhydrous (CA) and ascorbic acid (AA), which have different water solubilities, as model drugs for the preparation of granules by wet granulation with purified water, to clarify the interactions between drug molecules and L-HPC. We then evaluated the crystalline states of the drugs in the granules and at the drug/L-HPC interaction site.

2. Experimental

2.1. Materials

Caffeine anhydrous and ascorbic acid were purchased from Shoka Pharmacy Co., Ltd. (Japan) and BASF Japan, respectively. Low substituted hydroxypropylcellulose LH-31 (L-HPC) was purchased from Shin-Etsu Chemical Co., Ltd. (Japan). All sample powders were of JP XVI grade, and were used without further purification. Deuterium oxide (99.9%, for NMR) was purchased from Wako Pure

Chemical Industries, Ltd. (Japan). Other reagents were commercially available special grade products.

2.2. Preparation of samples

Sample formulations are presented in Table 1. Purified water was used as the kneading liquid. Each drug was completely dissolved in the given quantity of purified water. A Mechanomill (MM-10; Okada Seiko Co., Ltd., Japan) was used for kneading with the blade set at 1000 rpm. After the addition of the drug solution to the L-HPC powder mass, kneading was carried out for 3 min. The kneaded mass was passed through a 20-mesh sieve by hand. The granules were then dried at 60 °C for 3 h and pulverized to pass through a 16-mesh sieve to obtain the final kneaded granules. A physical mixture (PM) was prepared by blending each drug and L-HPC at the given weight ratio in the Mechanomill for 3 min. Sealed-heated samples (SH) were prepared by sealing of PMs with CA:L-HPC ratios of 1:8, 2:8, or 3:8 in a glass ampoule and heating for 15 min at 180 °C.

Table 1. Formulation of caffeine anhydrous and ascorbic acid granules

	Weight (g)			Sample code ^b
	Drug	L-HPC	Purified water ^a	
Caffeine anhydrous	5	40	150	CL18W30
	10	40	50	CL28W10
			100	CL28W20
			150	CL28W30
			15	40
Ascorbic acid	10	40	40	AL28W08
			80	AL28W16
			120	AL28W24
			20	40

^aKneading liquid

^bSample code representing the weight ratio of drug, L-HPC and purified water

^{ex}) CL18W30 shows caffeine anhydrous:L-HPC:water = 5:40:150 = 1:8:30

2.3. Evaluation of samples

2.3.1. PXRD measurement

The PXRD patterns of samples were determined using a diffractometer (MultiFlex; Rigaku Corp., Japan) with Ni-filtered Cu K α radiation at 20 mA and 40 kV. Each sample was packed into an aluminum holder, and scanned with a diffraction angle ranging from 2° to 35°. The scanning speed and the step size were 3°/min and 0.020°, respectively.

2.3.2. Differential scanning calorimetry measurement

Prior to the measurements, each sample was stored in a desiccator containing P₂O₅ in vacuo at 25 °C for 2 days. Differential scanning calorimetry (DSC) measurement of the samples were carried out on a Thermo plus DSC8230 (Rigaku Corp., Japan) under a stream of nitrogen gas at a heating rate of 10 °C/min. A solids sample pan was used with cramping.

2.3.3. Deuteration and Fourier transformed infrared measurement

Deuteration was carried out using a modified version of the method reported by Nara¹⁴).

Briefly, about 0.2 g of each sample in a 5 mL glass tube was stored in a desiccator containing P₂O₅ in vacuo at 25 °C for 2 days before the deuteration. The dried sample was exposed to deuterium oxide vapor in a chamber where liquid deuterium oxide was placed under low pressure for 1 day at room temperature. Each sample was then stored in a desiccator containing P₂O₅ in vacuo at 25 °C for 2 days prior to taking the measurements. Fourier transformed infrared (FT-IR) measurements were taken using an FT/IR-6100 (JASCO Corp., Japan) with ATR (attenuated total reflection) FT-IR techniques. The spectra were obtained in the range of 4,000–400 cm⁻¹ with a resolution of 4 cm⁻¹ and an acquisition of 8 scans in transmission mode.

2.3.4. Scanning electron microscopy observation

Surface morphologies of the samples were observed using a scanning electron microscope (SEM) (JSM-5510LV; JEOL Ltd., Japan) with an accelerating voltage of 20 kV. The samples were coated in platinum to prevent build-up of charge.

2.3.5. Rate of water vapor sorption

About 0.5 g of each sample was placed in a 15 mL glass bottle. A relative humidity (RH)-controlled 57% environmental chamber at 25 °C was prepared using saturated sodium bromide solution. Each sample was stored in a constant RH chamber, and the rate of water vapor sorption in the condition was determined by the weight gain of the samples after storage for 3, 6, 9, 12 and 15 h.

The test samples were fully dried in a desiccator containing P₂O₅ in vacuo at 25 °C for 2 days before the determination. The samples used were as follows: (1) PM with a CA:L-HPC ratio of 2:8 and kneaded granules with different amounts of kneaded water (in a ratio of 10 to 30 by weight), (2) PM with an AA:L-HPC ratio of 2:8 and kneaded granules with different amounts of kneaded water (in a ratio of 8 to 24 by weight), and (3) L-HPC kneaded granules with different amounts of kneaded water in a ratio of 8 to 24 by weight)

3. Results and Discussion

3.1 Evaluation of caffeine anhydrous preparations

Various kinds of caffeine anhydrous (CA)/L-HPC kneaded granules were prepared according to the formulation shown in Table 1. Caffeine anhydrous was dissolved in purified water heated to 80 °C. After mixing with L-HPC, the mixture was kneaded for 3 min. The PXRD and DSC measurements were carried out to evaluate the crystalline state of CA in kneaded granules and PMs. The results are shown in Fig. 1 and Fig. 2, respectively.

As can be seen in Fig. 1, the PXRD peak due to CA crystals at $2\theta = 12.8^\circ$ disappeared in CL18W30, showing the amorphous state of CA in the granules. The PXRD peak intensity at $2\theta = 12.8^\circ$ was reduced in all other kneaded granules. Two diffraction peaks observed around at $2\theta = 27^\circ$ also disappeared in CL18W30, while in other kneaded granules, these peaks became a single broad peak. Generally, when the crystallinity of a drug was reduced, the peak intensities in PXRD patterns were also reduced and/or the peaks became broad. It was found that the crystallinity of CA in kneaded granules was reduced, and this reduction trend depended on the amount of

purified water. Figure 2 shows DSC thermograms of various CA samples. Endothermic peak was observed at around 150 °C for CA intact and PMs, where this peak should be due to sublimation of CA in the cramped DSC pan¹⁵). Endothermic peak due to fusion of CA at around 240 °C was observed only for CA intact. In PMs, a broad endothermal event was observed between 200 and 240 °C. In all kneaded granules except for CL18W30, one broad endothermic peak was observed at temperatures lower than the melting point of CA. CL18W30 showed no endothermic peak, where CA was assumed to be in an amorphous state.

To investigate why the melting peak of CA disappeared or became broader in PMs and kneaded granules, as shown in Fig. 2, sealed-heated samples (SH) were prepared. The PXRD patterns of SHs are shown in Fig. 3. Similar to kneaded granules, the two peaks around at $2\theta = 27^\circ$ either disappeared (CL18SH) or became a single broad peak (CL28SH, CL38SH). These results possibly indicated that the crystallinity of CA in SH was reduced. Nakai et al. reported that when volatile drugs are mixed with porous glass powder, there are 3 different states of drug aggregation structure in the mixture depending on drug concentration¹⁶). Phase 1 is a crystalline

state; phase 2 is a disordered crystal lattice state that exhibits a broad peak at temperatures lower than the melting point on DSC charts; phase 3 consists of amorphous state or adsorbed state in the porous region that exhibits no diffraction peaks on PXRD patterns or no thermal events on the DSC charts. This phenomenon was also reported to be dependent on the pore size of the porous glass powder, as phases 2 and 3 occurring with a pore size of 20 to 500 Å, and phase 1 with a pore size more than 1000 Å¹⁷⁾. In the process of heating PMs, two thermal events occurred. With sublimation of CA, caffeine molecules interacted with the porous structure of L-HPC till the pore volume was fully occupied, resulting in the amorphous state of CA. In the case of CA intact, it was impossible to form amorphous CA as there was no porous material in the matrix. The following thermal event was due to the disordered crystal lattice of CA on the surface of L-HPC particles, corresponding to the broad endothermic peak between 200 and 240 °C. These estimations were supported by the PXRD patterns of SH shown in Fig. 3 and also by the fact that L-HPC is a porous cellulose derivative with an average pore size of approximately 150 Å⁸⁾. The DSC results for kneaded granules (Fig. 2) showed similar DSC curves to

those proposed by Nakai et al., namely, the presence of phase 3 (CL18W30) and the presence of phases 2 and 3 (other kneaded granules). As a sublimation point-derived peak was not observed in any of the kneaded granules, it was concluded that dissolved caffeine molecules got into the swollen L-HPC particles during wet granulation of CA solution and L-HPC, and that the interactions are taking place inside the L-HPC particles.

To evaluate the molecular state of caffeine that interacted with L-HPC molecules in kneaded granules, FT-IR spectra were determined for CA intact, PM (CL28PM), and kneaded granules (CL28W10-CL28W30) (Fig. 4). The C=O stretching peak positions at 1692 cm^{-1} and 1641 cm^{-1} for CA were not changed in PM compared to CA crystals, but a slight shift to the high wave number was observed in the case of each kneaded granule. These results indicated that kneading with purified water led to interactions between L-HPC molecules and caffeine molecules.

We focused on the amorphous domain of L-HPC and made use of the deuteration method to evaluate the molecular state of L-HPC in kneaded granules, which utilized the high exchangeability of OH to OD in the amorphous region.

FT-IR spectra before and after deuteration are shown in Fig. 5. The OD stretching vibration observed at around 2500 cm^{-1} was due to the results of deuteration. There were considerable differences in the OD-derived peaks depending on the relative amounts of purified water and CA. Then, the areas of the OH-derived (3300 cm^{-1}) and OD-derived (2500 cm^{-1}) peaks were divided by the area of the CH-derived peak (2900 cm^{-1}). Because the CH-derived peak does not change by deuteration, it works as an internal standard. The results of the calculations are shown in Fig. 6. There was overlap of the CA-derived peaks at 3106 cm^{-1} and 2951 cm^{-1} . Thus, the peak area ratio was calculated after correcting for the overlapping portion. As seen in Fig. 6, the OD/CH ratio after deuteration decreased in relation to both the amount of purified water (Fig. 6a) and CA (Fig. 6b). It has been reported that amorphous OH increased when microcrystalline cellulose (MCC) was ground, and that interaction was found between the amorphous domain and the drugs by co-grinding¹⁸⁾. As L-HPC is an amorphous cellulose derivative even when not treated⁴⁾, the decrease in the OD/CH ratio after deuteration suggests that caffeine molecules interacted with the amorphous OH groups of L-HPC when CA was dissolved in purified water and

kneaded with L-HPC.

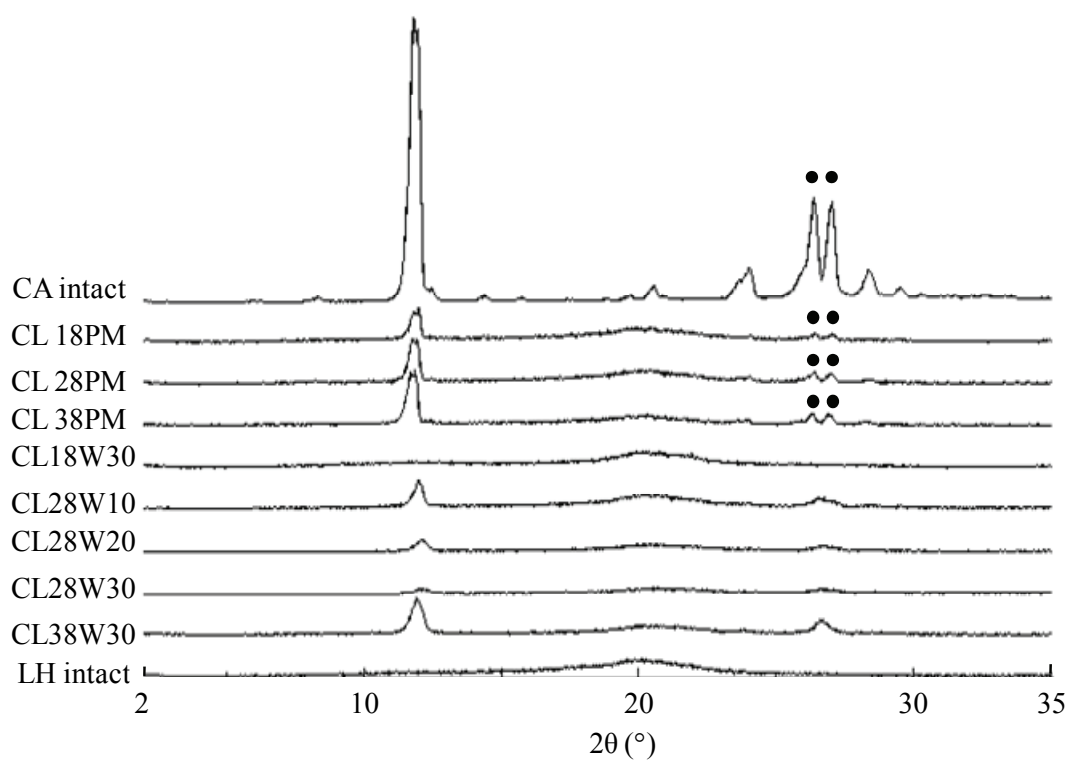


Fig. 1 PXR D patterns of caffeine anhydrous/L-HPC samples

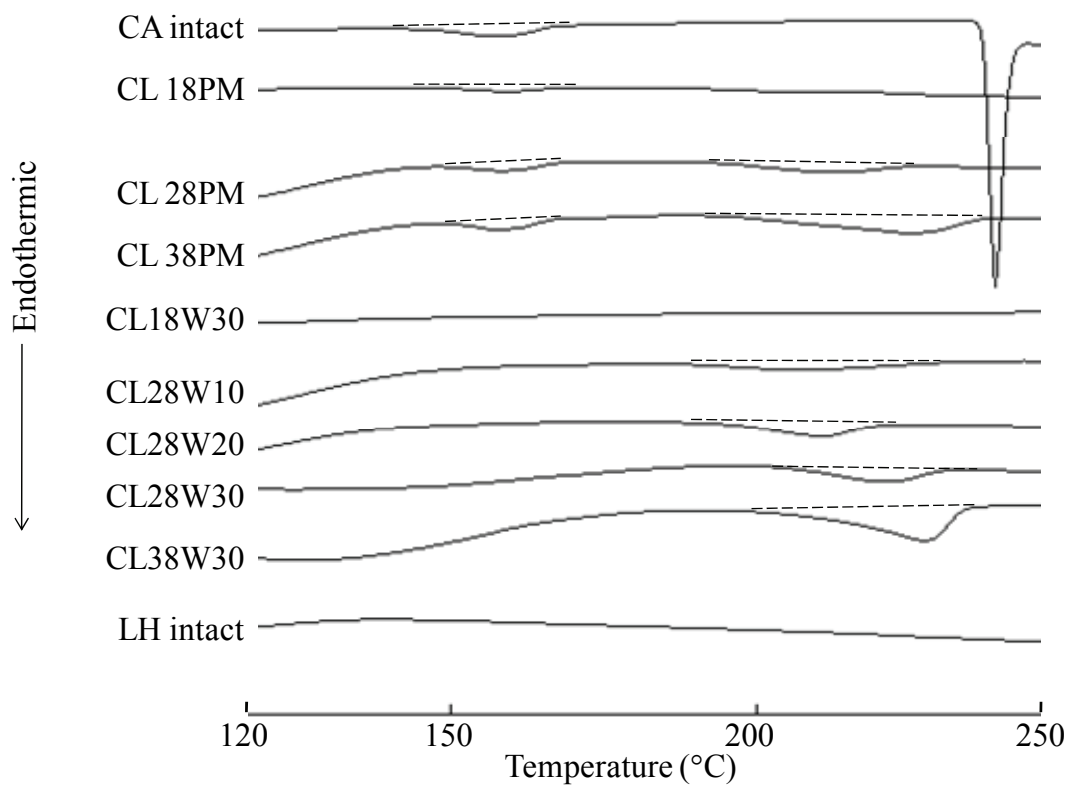


Fig. 2 DSC thermograms of caffeine anhydrous/L-HPC samples (heating rate, 10 °C min⁻¹)

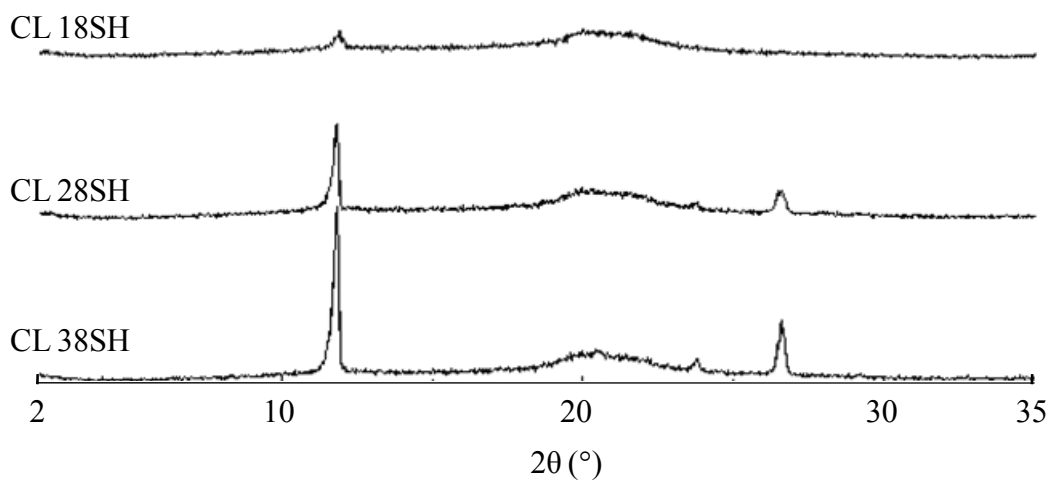


Fig. 3 PXRD patterns of caffeine anhydrous/L-HPC samples after sealed heating

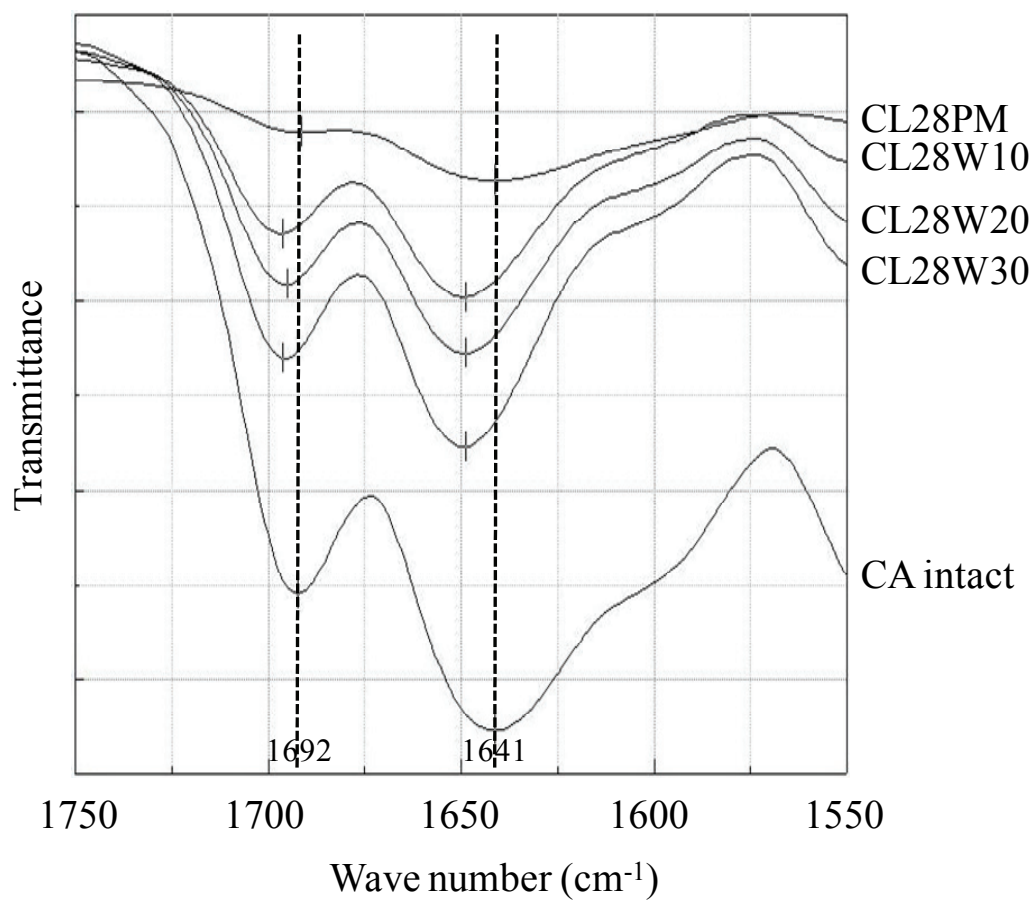


Fig. 4 FT-IR spectra of caffeine anhydrous/L-HPC samples

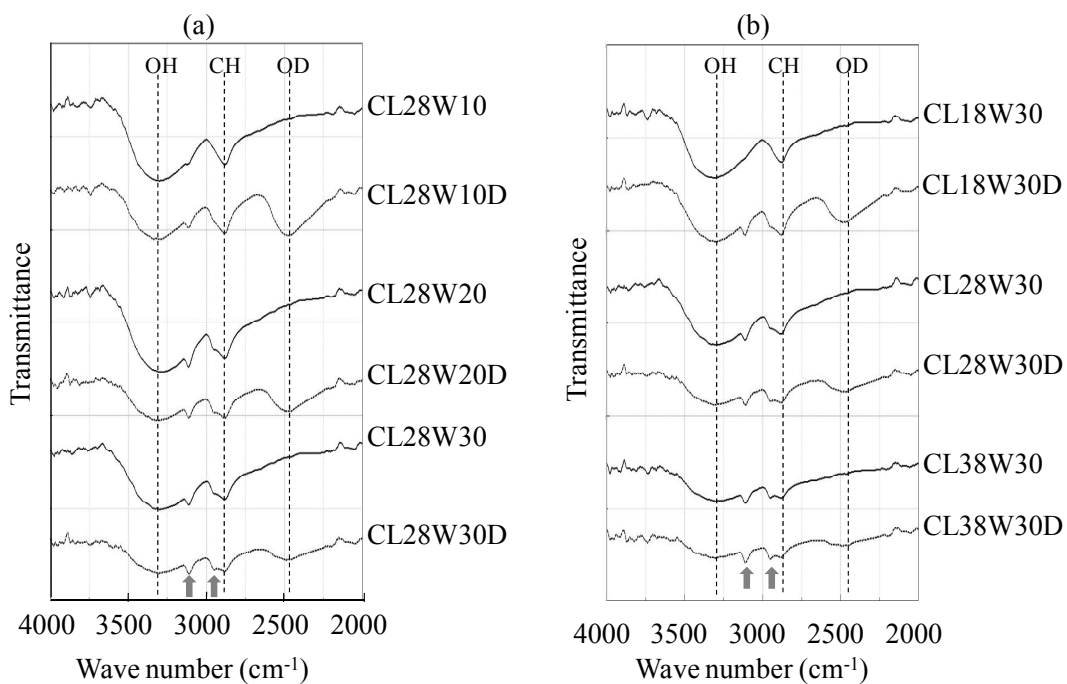


Fig. 5 Effect of deuteration on FT-IR spectra of caffeine anhydrous/L-HPC samples

'D' attached sample codes show the deuterated samples.

Arrows show the position of the CA-derived peaks at 3106 cm^{-1} and 2951 cm^{-1} .

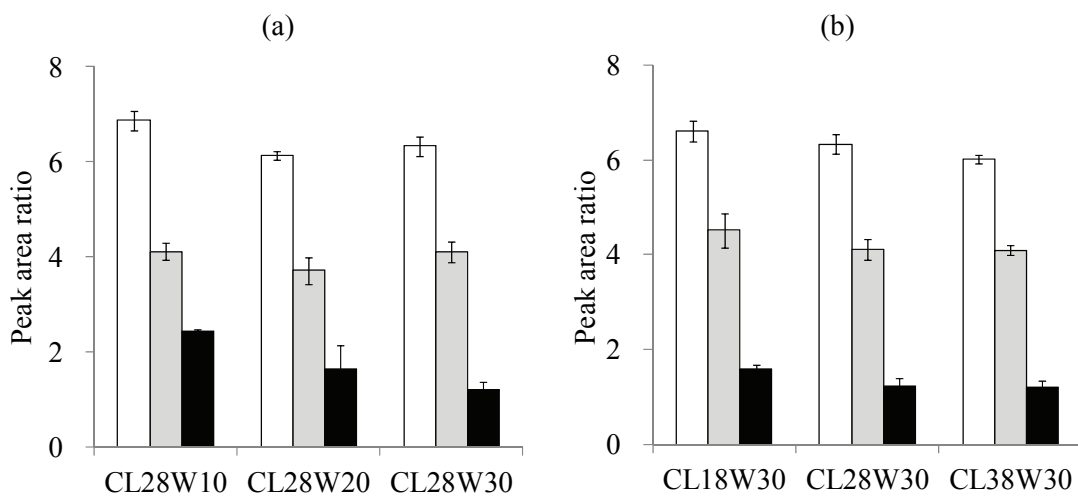


Fig. 6 Peak area ratio of OH/CH and OD/CH in FT-IR spectra before and after deuteration

Each column represents the mean \pm S.D. (n = 3).

□: OH/CH ratio before deuteration

■: OH/CH ratio after deuteration

■: OD/CH ratio after deuteration

3.2 Evaluation of ascorbic acid preparations

In the next set of experiments, CA was replaced by more water-soluble ascorbic acid (AA), various kinds of AA/L-HPC kneaded granules were prepared according to the formulation shown in Table 1. Ascorbic acid was dissolved in purified water. The PXRD and DSC measurements were carried out to evaluate the crystalline state of AA in kneaded granules and PMs. These results are shown in Fig. 7 and Fig. 8, respectively. As can be seen in Fig. 7, AA kneaded granules samples showed a halo pattern unlike with CA (Fig. 1), whereas the PXRD peaks due to AA crystals were observed in PMs. Figure 8 shows DSC thermograms of various AA samples. Endothermic peak due to fusion of AA at around 190 °C was not observed for all kneaded granules samples, while this peak was observed in PMs. Ascorbic acid was assumed to be in an amorphous state (phase 3), different from the phase 2 state of CA.

The molecular interaction between L-HPC and AA in kneaded granules was determined with FT-IR and the results are shown in Fig. 9. In Fig. 9(a), the C=O stretching peak position around at 1751 cm⁻¹ showed slight shift from AA

intact in PM and kneaded samples, but there was no difference between PM and kneaded samples. A remarkable shift to high wave number was observed in each kneaded granule for the C=C stretching peak position observed at 1651 cm^{-1} in AA intact, while there was nearly no peak shift for PM compared to the AA crystal. Comparisons of FT-IR spectra before and after deuteration are shown in Fig. 9(b). Great differences in the OD-derived peaks were observed depending on the relative amounts of purified water and AA, just as seen in the case of CA. These results indicated that kneading with purified water could lead to molecular interactions between L-HPC molecules and AA molecules in a similar manner to those seen between L-HPC and CA.

The differences in the molecular states of CA (mainly phase 2) and AA (phase 3) in kneaded granules shown in Fig. 2 and Fig. 8 were considered to be caused by the different molecular states of the respective drugs in solution. AA has high solubility (about 333 mg/mL in water at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$) and dissociates after dissolving, while the solubility of CA is about 150 times lower (about 2 mg/mL in water at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$). The formation of caffeine dimers and polymers has been reported to take place through

self-association at high concentrations, similar to our experimental condition (greater than 0.33% (0.15 mM))¹⁹). Due to high levels of self-association under these conditions, the interactions between caffeine molecules and the amorphous OH groups in L-HPC should be suppressed, leading to mostly phase 2 molecular states in kneaded granules. On the other hand, because AA is in a highly reactive state after disassociation, an intense interaction with the amorphous OH groups in L-HPC was found, leading to phase 3 states and the differences observed in the DSC curves. The above results propose that when water-soluble drugs dissolved in water were kneaded with L-HPC, the drugs interacted with amorphous OH groups of the L-HPC molecules, which were in an amorphous or low-crystallinity state, depending on their molecular state in the solution.

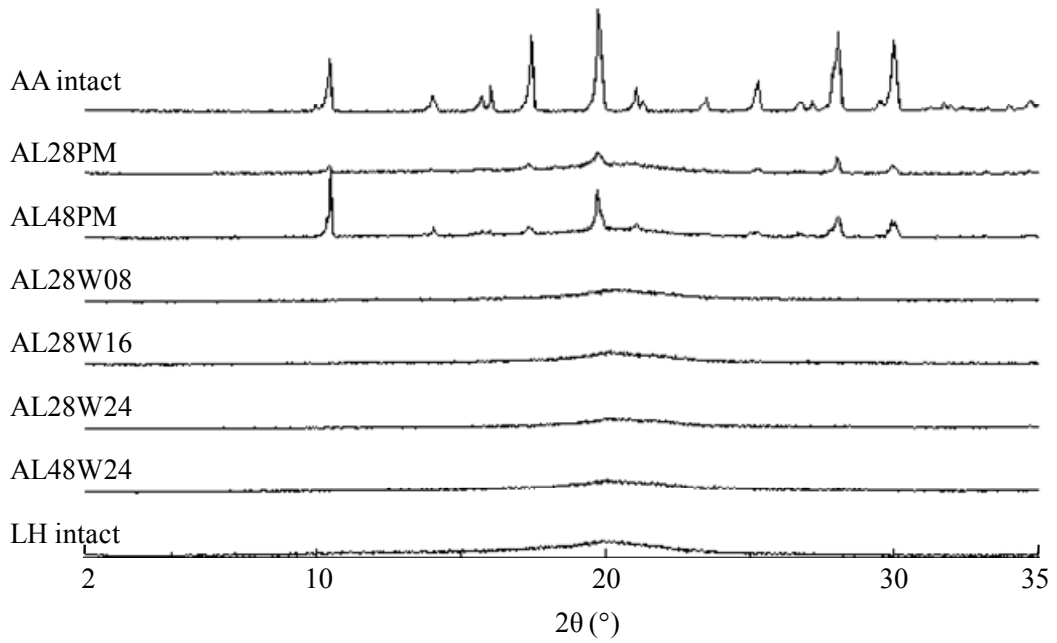


Fig. 7 PXRD patterns of ascorbic acid/L-HPC samples

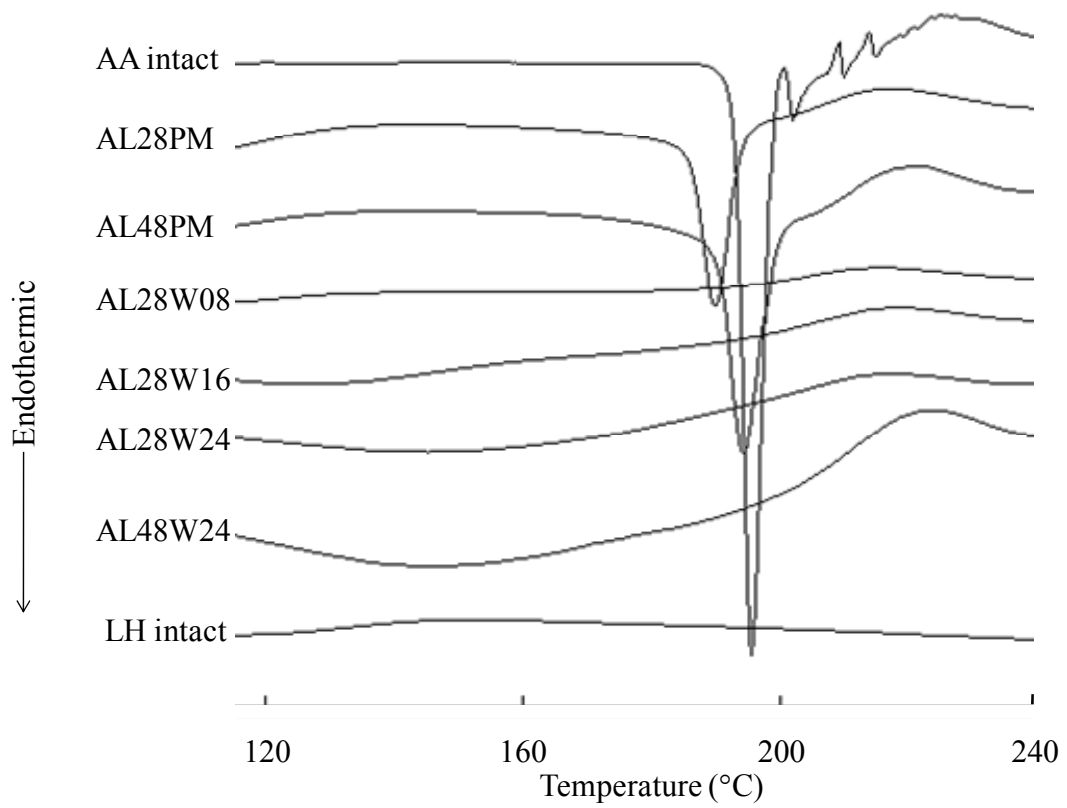


Fig. 8 DSC thermograms of ascorbic acid/L-HPC samples (heating rate, 10 °C min⁻¹)

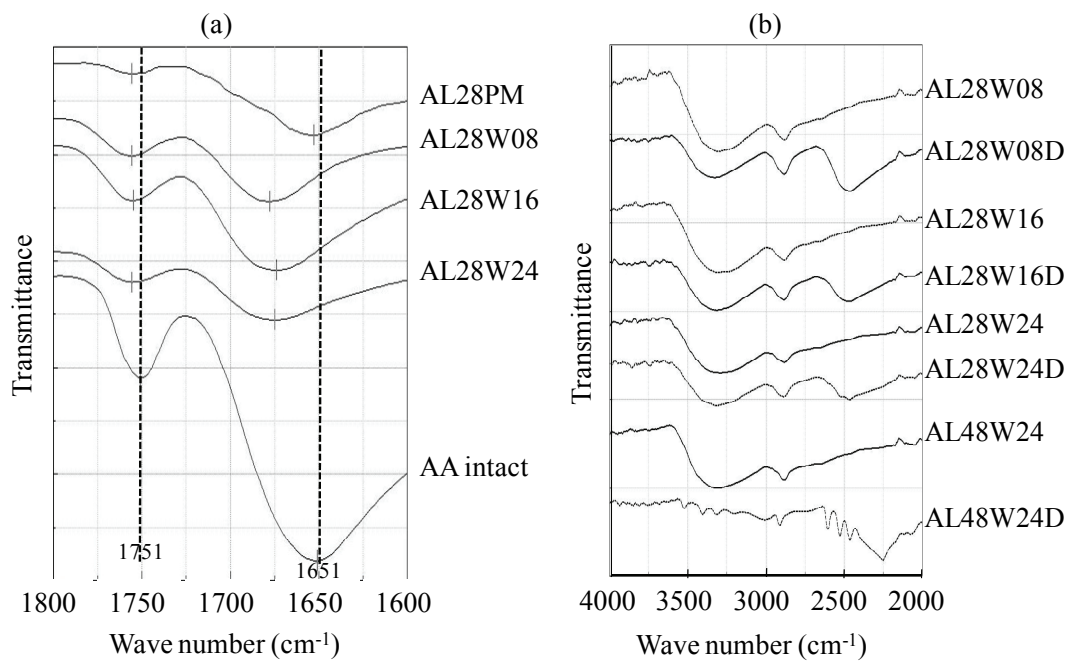


Fig. 9 (a) FT-IR spectra of ascorbic acid/L-HPC samples

(b) Effect of deuteration on the FT-IR spectra of ascorbic acid/L-HPC samples

'D' attached sample codes show the deuterated samples.

3.3 SEM observations

The morphologies of the samples were observed with an SEM (Fig. 10). Parts of the CL28W30 surface exhibited needle-shaped crystals of CA, while the surface of AL28W24 was smooth and no AA crystals were observed. These observations support the differences in kneaded granules with regard to the reduced crystallinity of CA and the completely amorphous state of AA.

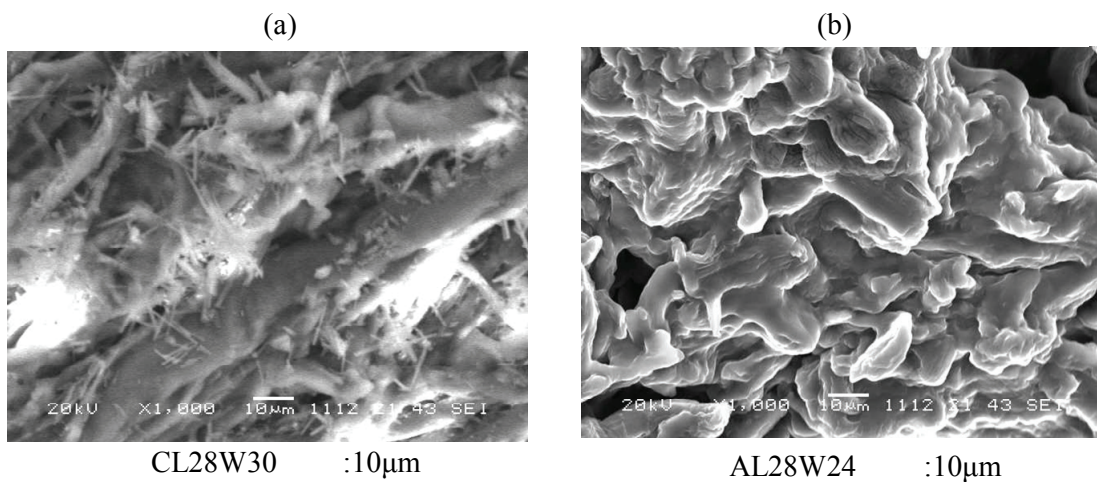


Fig. 10 SEM photographs of caffeine anhydrous/L-HPC (a) and ascorbic acid/L-HPC (b) samples

3.4 Rate of water vapor sorption

The OH groups in the amorphous L-HPC domain readily associates with water molecules. When drugs interact with the OH groups, it influences the amount of water vapor adsorbed. Thus, we investigated water vapor sorption in the presence of drugs. The samples were exposed to water vapor at 25 °C, 57% RH, and the rate of water vapor sorption was determined by weight gain. The changes in weight gain over time are shown in Fig. 11. In all systems, the increase in the amount of kneaded water caused the decrease in the rate of water vapor sorption. The greatest difference in the sorption rate was observed in AA kneaded granules, while L-HPC alone showed only a small difference among samples.

Badawy et al. reported that the porosity and specific surface area of microcrystalline cellulose (MCC) decreased when kneaded with purified water in a wet granulation and that this decreasing trend depended on the granulation state (undergranulation < overgranulation)²⁰⁾. A similar phenomenon would take place with L-HPC, because it has similar porosity to MCC⁸⁾. As L-HPC has higher swelling property than MCC, its granulation should be more affected by the amount of

kneaded water. That is to say, extrusion granularity increases depending on the amount of kneaded water^{12,21)} and the granules shrink based on the amount of L-HPC and kneaded water²¹⁾. This explains the decreased porosity of L-HPC in kneaded granules and suppressed water vapor sorption (Fig. 11c). As shown in Fig. 11a and 11b, this suppression of water vapor sorption was enhanced in kneaded granules that contain drugs. The blocking of OH groups in the amorphous region by the drug molecules could lead to a decrease in the water vapor sorption rate.

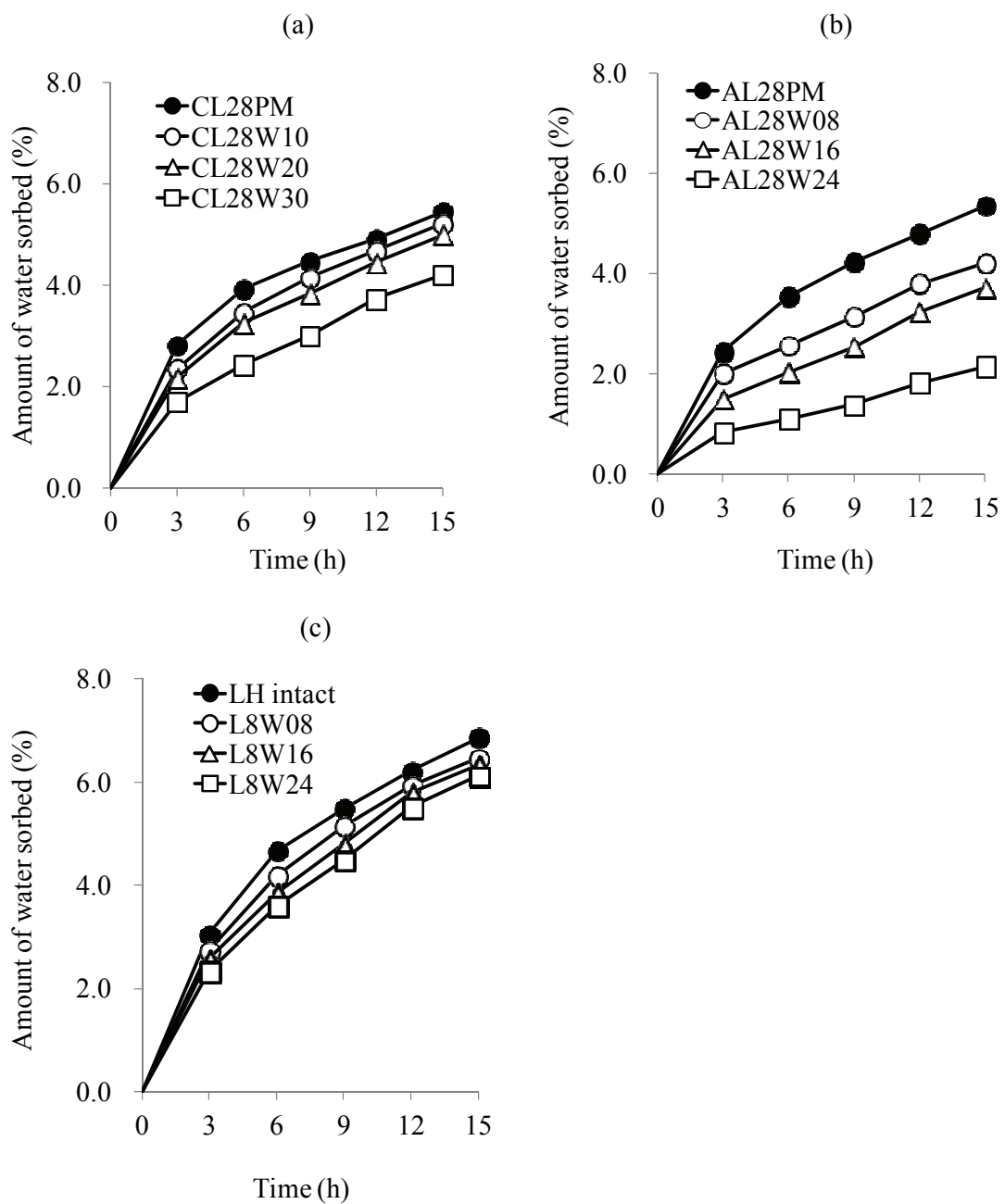


Fig. 11 Water vapor sorption rate of caffeine anhydrous/L-HPC (a), ascorbic acid/L-HPC (b) and L-HPC (c) samples at 25 °C, 57% RH

Values are expressed as the mean \pm S.D. (n = 3).

Moisture acts as a plasticizer for polymers and amorphous drugs, and reduces the glass transition temperature (T_g) of the drug molecules^{22,23}). Furthermore, the reduction of the intermolecular hydrogen-bonding band intensity at temperatures above T_g ^{24,25}) causes higher molecular mobility in amorphous saccharides. In this study, the preparation of granules through kneading granulation by adding excess water to the L-HPC could have decreased the T_g of L-HPC during granulation, increased its motility, and produced a state more conducive to reactions with drugs. Therefore, the drugs in solution interacted with amorphous OH groups and caused intermolecular interactions that were dependent on the state of the drug in the solution. AA, which is highly reactive in solution, produced firm interactions in an amorphous state. On the other hand, as CA formed dimers and polymers in solution that had low reactivity with L-HPC, the caffeine molecules interacted with L-HPC mostly in a disordered crystal lattice state and partially in an amorphous state.

The characteristic T_g of dry L-HPC varies according to the measurement method, but Gómez-Carracedo et al. reported it to be about 220 °C²⁶). The phase 2 states shown in the DSC curves of CA samples (CL28W10-CL28W30 and CL38W30)

could be explained by the fact that the weak hydrogen bonds between the caffeine molecules and the amorphous OH groups of the L-HPC molecules were weakened around the T_g of L-HPC, which caused cancellation of the interactions. This phenomenon suggests that caffeine molecules also weakly interact with L-HPC after sublimation. No change was observed even above the T_g of L-HPC in CL18W30, which had the lowest CA concentration among the CA kneaded granules, and all AA kneaded granules samples, because they were in a completely amorphous state.

Onuki et al. reported that preparing AA and thiamine nitrate (TN) granules by kneading with L-HPC and excess water improved the stability of the normally unstable combination of these drugs despite both of them existing in an amorphous state¹³). The moisture sorption of L-HPC reduces water activity, and the reduced amount of moisture around the drugs is thought to contribute to improvement of stability. Considering this from the viewpoint of the results of this study, it is assumed that AA and TN, which were in an amorphous state, interacted with the amorphous OH groups of the L-HPC molecules, thus reducing intermolecular interactions between drug molecules and increasing their stability.

Conclusion

L-HPC, an excipient of the cellulose derivatives, is widely used in drug formulations owing to its various characteristics. The results of the present study clearly demonstrated the new potential of L-HPC. By wet granulation of L-HPC and water-soluble drugs such as caffeine anhydrous and ascorbic acid, L-HPC could interact with water-soluble drugs. The PXRD, DSC and FT-IR measurements supported the possible intermolecular interaction between amorphous OH groups of L-HPC and drug molecules, which can be maintained in an amorphous or low-crystallinity state through their interactions. Further, we found that caffeine molecules could interact with the porous structure of L-HPC via a sealed-heating method. Thus, L-HPC should prove to be a unique carrier of drugs, apart from its common use as an excipient.

References

- 1) S. S. Bharate, S. B. Bharate, A. N. Bajaj, Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review, *J. Excipients and Food Chem.* **1**, 3–26 (2010)
- 2) S. Airaksinen, M. Karjalainen, N. Kivikero, S. Westermarck, A. Shevchenko, J. Rantanen, J. Yliruusi, Excipient selection can significantly affect solid-state phase transformation in formulation during wet granulation, *AAPS PharmSciThec* **6**, E311–E322 (2005)
- 3) H. Patel, A. Stalcup, R. Dansereau, A. Sakr, The effect of excipients on the stability of levothyroxine sodium pentahydrate tablets, *Int. J. Pharm.*, **264**, 35–43 (2003)
- 4) S. Airaksinen, M. Karjalainen, A. Shevchenko, S. Westermarck, E. Leppänen, J. Rantanen, J. Yliruusi, Role of water in the physical stability of solid dosage formulations, *J. Pharm. Sci.*, **94**, 2147–2165 (2005)
- 5) A. Mihranyan, A. P. Llagostera, R. Karmhag, M. Strømme, R. Ek, Moisture sorption by cellulose powders of varying crystallinity, *Int. J. Pharm.*, **269**,

433–442 (2004)

- 6) M. Ioelovich, A. Leykin, Study of sorption properties of cellulose and its derivatives, *BioResources* 6(1), 178–195 (2011)
- 7) Y. Nakai, E. Fukuoka, S. Nakajima, J. Hasegawa, Crystallinity and physical characteristics of microcrystalline cellulose, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 96–101 (1977)
- 8) C. Alvarez-Lorenzo, J. L. Gómez-Amoza, R. Martínez-Pacheco, C. Souto. A. Concheiro, Evaluation of low-substituted hydroxypropylcelluloses (L-HPCs) as filler-binders for direct compression, *Int. J. Pharm.*, **197**, 107–116 (2000)
- 9) P. D. Martino, L. Malaj, R. Censi, S. Martelli, E. Joiris, C. Barthélémy, The role of several L-HPCs in preventing tablet capping during direct compression of metronidazole, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **33**, 1308-1317 (2007)
- 10) P. M. Desai, C. V. Liew, P. W. S. Heng, Understanding disintegrant action by visualization, *J. Pharm. Sci.* **101**, 2155–2164 (2012)
- 11) P. Kleinebudde, Application of low substituted hydroxypropylcellulose (L-HPC) in the production of pellets using extrusion/spheronization, *Int. J. Pharm.*, **96**,

- 119–128 (1993)
- 12) H. Kanbe, T. Hayashi, Y. Onuki, T. Sonobe, Manufacture of fine spherical granules by an extrusion/spheronization method, *Int. J. Pharm.*, **337**, 56–62 (2007)
- 13) Y. Onuki, K. Higashi, K. Moribe, K. Yamamoto, Improved chemical stability of ascorbic acid and thiamine nitrate in L-HPC granules, *Adv. Powder Technol.*, **20**, 576–581 (2009)
- 14) S. Nara, H. Takeo, T. Komiya, Studies of the accessibility of starch by deuteration, *Starch*, **33**, 329–331 (1981)
- 15) R. Ruiz-Caro, M. D. Veiga-Ochoa, Characterization and dissolution study of chitosan freeze-dried systems for drug controlled release, *Molecules*, **14**, 4370-4386 (2009)
- 16) Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada, J. Ichikawa, Interaction of medicinals and porous powder. I. Anomalous thermal behavior of porous glass mixture, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4566–4571 (1984)
- 17) Y. Nakai, K. Yamamoto, S. Izumikawa, Interaction of medicinals and porous

- powder. III. Effect of pore diameter of porous glass powder on crystalline properties, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 435–438 (1989)
- 18) Y. Nakai, E. Fukuoka, S. Nakajima, Y. Iida, Effect of grinding on physical and chemical properties of crystalline medicinals with microcrystalline cellulose. II. Retention of volatile medicinals in ground mixture, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2983–2989 (1978)
- 19) M. Mejri, A. BenSouissi, V. Aroulmoji, B. Rogé, Hydration and self-association of caffeine molecules in aqueous solution: Comparative effects of sucrose and β -cyclodextrin, *Spectrochim. Acta, Part A*, **73**, 6–10 (2009)
- 20) S. I. F. Badawy, D. B. Gray, M. A. Hussain, A study on the effect of wet granulation on microcrystalline cellulose particle structure and performance, *Pharm. Res.*, **23**, 634–640 (2006)
- 21) P. Kleinebudde, Shrinking and swelling properties of pellets containing microcrystalline cellulose and low substituted hydroxypropylcellulose: I. Shrinking properties, *Int. J. Pharm.*, **109**, 209–219 (1994)
- 22) H. Batzer, U. T. Kreibich, Influence of water on thermal transitions in natural

- polymers and synthetic polyamides, *Polym. Bull.*, **5**, 585–590 (1981)
- 23) B. C. Hancock, G. Zografi, The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids, *Pharm. Res.*, **11**, 471–477 (1994)
- 24) K. Izutsu, Y. Hiyama, C. Yomota, T. Kawanishi, Near-infrared analysis of hydrogen-bonding in glass- and rubber-state amorphous saccharide solids, *AAPS PharmSciThec*, **10**, 524–529 (2009)
- 25) B. C. Hancock, S. L. Shamblin, G. Zografi, Molecular mobility of amorphous pharmaceutical solids below their glass transition temperatures, *Pharm. Res.*, **12**, 799–806 (1995)
- 26) A. Gómez-Carracedo, C. Alvarez-Lorenzo, J. L. Gómez-Amoza, A. Concheiro, Chemical structure and glass transition temperature of non-ionic cellulose ethers DSC, TMDSC[®] Oscillatory rheometry study, *J. Therm. Anal. Cal.*, **73**, 587–596 (2003)