

# 博士論文

湿式造粒工程におけるクラリスロマイシンの結晶転移に  
及ぼす界面活性剤もしくは水溶性高分子の効果

2016年9月

静岡県立大学大学院薬学研究院  
博士後期課程 創剤工学講座

野沢 健児

博士論文

湿式造粒工程におけるクラリスロマイシンの結晶転移に  
及ぼす界面活性剤もしくは水溶性高分子の効果

Effect of surfactants or a water soluble polymer on the crystal  
transition of clarithromycin during a wet granulation process

本論文は静岡県立大学大学院薬学研究科薬科学専攻  
博士論文である

2016年9月

September, 2016

野沢健児

Kenji Nozawa

## 目次

序論	1
第 1 章 精製水を用いた湿式造粒法による CAM の結晶転移に及ぼす各種界面活性剤およびマクロゴール 400 (PEG400) の効果について	3
第 1 節 はじめに	3
第 2 節 実験方法	6
1.2.1 試料	6
1.2.2 精製水を用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の調製	7
1.2.3 精製水を用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の調製	8
1.2.4 粉末 X 線回折 (PXRD) による結晶形評価	8
第 3 節 結果及び考察	9
1.3.1 精製水を用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の PXRD	9
1.3.2 精製水を用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の PXRD	18
第 4 節 まとめ	21
第 2 章 エタノールを用いた湿式造粒法による CAM の結晶転移に及ぼす各種界面活性剤および PEG400 の効果、並びに CAM の相転移メカニズムについて	22
第 1 節 はじめに	22
第 2 節 実験方法	24
2.2.1 試料	24
2.2.2 エタノールを用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の調製	24
2.2.3 エタノールを用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の調製	24
2.2.4 PXRD による結晶形評価	24
2.2.5 PS80, POS40 および PEG400 の IR スペクトル評価粉体の調製	24
2.2.6 CAM Form I とポリオキシエチレン鎖を有する添加剤 (PS80, POS40, PEG400) との物理混合物の調製	25
2.2.7 精製水を用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の調製	25
2.2.8 FT-IR による IR スペクトルの評価	25
第 3 節 結果及び考察	26
2.3.1 エタノールを用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の PXRD	26
2.3.2 エタノールを用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の PXRD	31
2.3.3 CAM Form I と Form II の IR スペクトルの比較	33

2.3.4	CAM Form I と PS80 の相互作用について.....	35
2.3.5	CAM Form I と POS40 の相互作用について.....	37
2.3.6	CAM Form I と PEG400 の相互作用について.....	40
第4節	まとめ.....	42
第3章	Form II を含む CAM 錠の処方設計.....	45
第1節	はじめに.....	45
第2節	実験方法.....	45
3.2.1	試料.....	45
3.2.2	CAM 錠の製剤化検討.....	46
3.2.3	錠剤物性の特性評価.....	48
3.2.3.1	錠剤の厚みおよび硬度測定.....	48
3.2.3.2	崩壊試験.....	48
3.2.3.3	溶出性評価.....	48
3.2.3.4	PXRD による結晶形評価.....	49
3.2.3.5	統計解析.....	49
第3節	結果及び考察.....	50
3.3.1	CAM 錠の製剤化検討.....	50
第4節	まとめ.....	55
総括	.....	56
謝辞	.....	59
主論文目録	.....	60
参考資料	.....	61

## 略語表

本論文では以下の略語を用いた。

CAM	Clarithromycin
DSC	Differential scanning calorimetry
FT-IR	Fourier transform-infrared spectroscopy
GE	Generic drug
LCM	Life cycle management
LCT	Soybean lecithin
L-HPC	Low-substituted hydroxypropyl cellulose
PEG400	Polyethylene glycol 400
POS40	Polyoxyl 40 stearate
PS80	Polysorbate 80
PXRD	Powder X-ray diffraction
SDS	Sodium lauryl sulfate
SFE	Sucrose fatty acid esters

## 序論

14 員環半合成マクロライド系抗生物質であるクラリスロマイシン (CAM) は、エリスロマイシンと比較し酸性領域での安定性に優れ<sup>1)</sup>、広範な抗菌スペクトルを有するため、種々の感染症や *Helicobacter pylori* 除菌治療に用いられている。更に近年、粘膜免疫増強作用も報告され<sup>2)</sup>、インフルエンザウィルス予防への適用が注目されている。また臨床分野で使用される剤形に錠剤や小児用ドライシロップがあり<sup>3,4)</sup>、成人のみならず小児にも適応できる医薬品である。このように臨床的意義が高い CAM 製剤は、発売から 25 年以上経過した現在でもブランドドラッグ、ジェネリックドラッグと合わせて年間 350 億円以上売り上げる製剤である。CAM にはエタノール溶媒和物の Form 0<sup>5)</sup>、準安定形の Form I<sup>6-8)</sup>、安定形の Form II<sup>8-12)</sup>をはじめ、多くの結晶多形<sup>13-18)</sup>が報告されている。一般的に結晶多形間では、安定性、溶出性、さらにはバイオアベイラビリティが異なるため、結晶多形を有する薬物を製剤化する場合には、結晶形の選択が重要となる。市販されている CAM 製剤は熱力学的に安定な Form II で製剤化されており<sup>9, 10, 12)</sup>、そのため Form II を安定的に得る手法がとりわけ重要となる。商業的に実在する Form II を得るための製造法は、Form 0 や Form I から転移する手法が多く、代表的なものとして Form 0 を相転移させることにより得られた Form I を真空下で 140°C 以上の高い温度で加熱することによって行われる<sup>6, 9-12)</sup>。従って、高温度処理することなく Form II を得られる手法、とりわけ製剤化行程中で Form I から II へ転移させる手法を見出すことができれば、原薬製造コストの低減につながるものと期待される。

一方、製剤化について考えた場合、一般的な技術として湿式造粒法や乾式造粒法が挙げられる<sup>19)</sup>が、付着性の強い CAM の製剤化には結合剤を含む造粒液を用いて、粉体粒子の成長を促し、打錠工程に適した流動性を粉体に与えることのできる湿式造粒法が適していると考えられる。造粒溶媒を選択する場合、原薬の造粒溶媒に対する溶解度が重要なファクターであり、原薬の物理化学的性質によっては造粒溶媒に界面活性剤を添加して粒子の成長を促進させる手法が報告されている<sup>20)</sup>。CAM は疎水性であり、有機溶媒に比較的溶けやすい性質を有する。従って、造粒溶媒として水以外に有機溶媒を選択することで、造粒液の表面張力が低下し、CAM の濡れ性が向上することにより良好な造粒状態を得られるものと期待される。更に、様々な目的で特殊な機能性ポリマーを用いて CAM を製剤化する技術が報告<sup>21-22)</sup>されている。機能性ポリマーは非水溶性である

場合が多く、そのため溶媒の使用を考える必要がある。しかし、CAM は製剤学上汎用されるエタノールを用いて湿式造粒を行うことにより Form I に転移する<sup>8)</sup>。従って、使用する造粒溶媒の影響を受けることなく Form II 含有製剤が得られる技術を確立することが出来れば、苦味マスキング等、種々の目的に応じた幅広い製剤化検討に応用が可能となる。本研究は CAM をモデル薬物として、製剤化行程中で CAM の結晶転移を意図的に制御することを目的に企図された。

初めに、湿式造粒法による CAM の多形転移制御は、溶液媒介転移<sup>24)</sup>が利用できると考えた。CAM を練合溶液に過飽和状態とし、その後、溶媒を除去することにより多形転移を制御できると仮定すると、CAM を過飽和状態に導く可溶化剤の選択が重要となる。本研究では、難溶性薬物の溶解性改善に実績がある界面活性剤<sup>25)</sup>あるいは親水性基剤に着目した。界面活性剤は両親媒性で、親水基の化学的特徴により多くの種類が存在する<sup>26)</sup>。またマクロゴールのような親水性基剤は、難溶性薬物 ニフェジピンやロバスタチンの固体分散体を調製する際の材料として使用され、その溶解速度の向上に貢献することが報告されている<sup>27, 28)</sup>。従って、CAM の湿式造粒工程にこれらの添加剤を加えることで、各添加剤の化学的特徴に応じて CAM の練合溶液に対する過飽和状態が異なり、付随して核化現象に差が生じるものと考えた。

第 1 章では、練合溶媒として精製水を使用した場合の、第 2 章ではエタノールを使用した場合の CAM の結晶転移に及ぼす各種界面活性剤およびマクロゴール 400 の効果を評価した。更に、フーリエ変換赤外分光光度計を用いて、CAM の相転移を引き起こす各種添加剤のトリガーと成り得る構造について考察を加えた。第 3 章では実際に CAM 製剤を製造し、打錠工程を含む一連の製剤化工程を経ても Form II への相転移をコントロールできるかを評価した。

本論文の以下の各章において、これらの知見を詳述する。

# 第1章 精製水を用いた湿式造粒法による CAM の結晶転移に及ぼす各種界面活性剤およびマクロゴール 400 (PEG400) の効果について

## 第1節 はじめに

序論で述べたように、本研究の目的は、CAM 製剤の製剤化行程において準安定形の Form I を効率良く安定形である Form II へ転移させることにある。CAM の Form I から II への転移反応は、二次元核成長反応で進行し、その半減期は 30°C で 2.5 年と報告されている<sup>24)</sup>。この転移速度はカルバマゼピンやトルブタミドで見られる結晶多形間の転移速度<sup>24)</sup> に比べ非常に速いものの、数分から数時間単位で行われる製剤化工程を考えると決して十分な速度とは言えない。従って、CAM の Form I から II への結晶転移を促進させる手段が必要である。

CAM の Form I は、Fig.1-1 に示すように示差走査熱量計 (DSC) を用いて昇温速度 10°C/min で測定すると、約 125°C 附近に Form II への結晶転移由来の発熱ピークが観察される。一方、Form II は約 230°C 附近に融解由来の吸熱ピークのみが観察される。

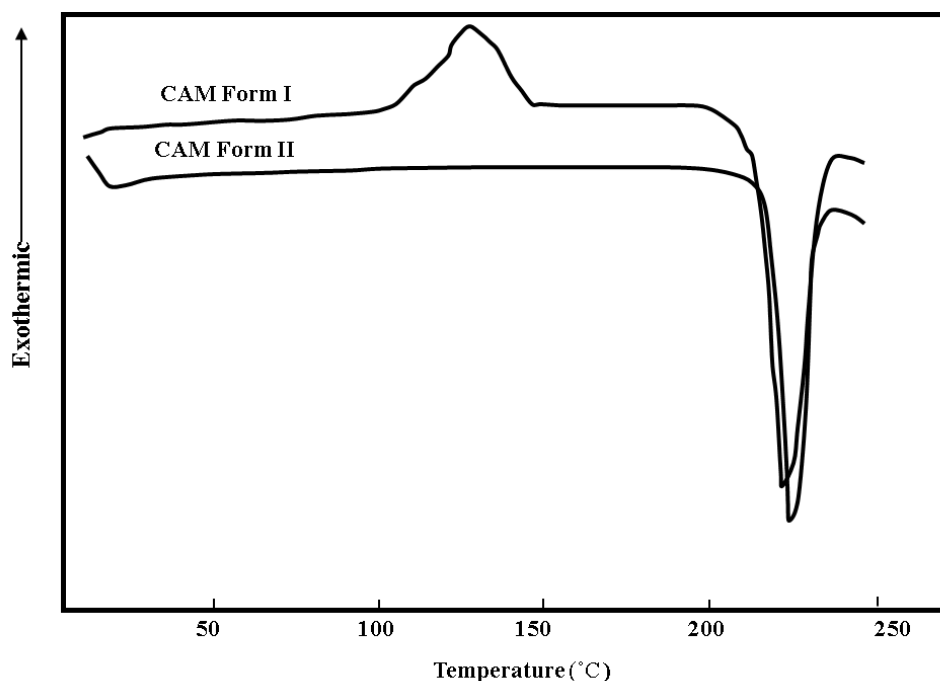


Fig. 1-1. DSC thermograms of forms I and II of CAM

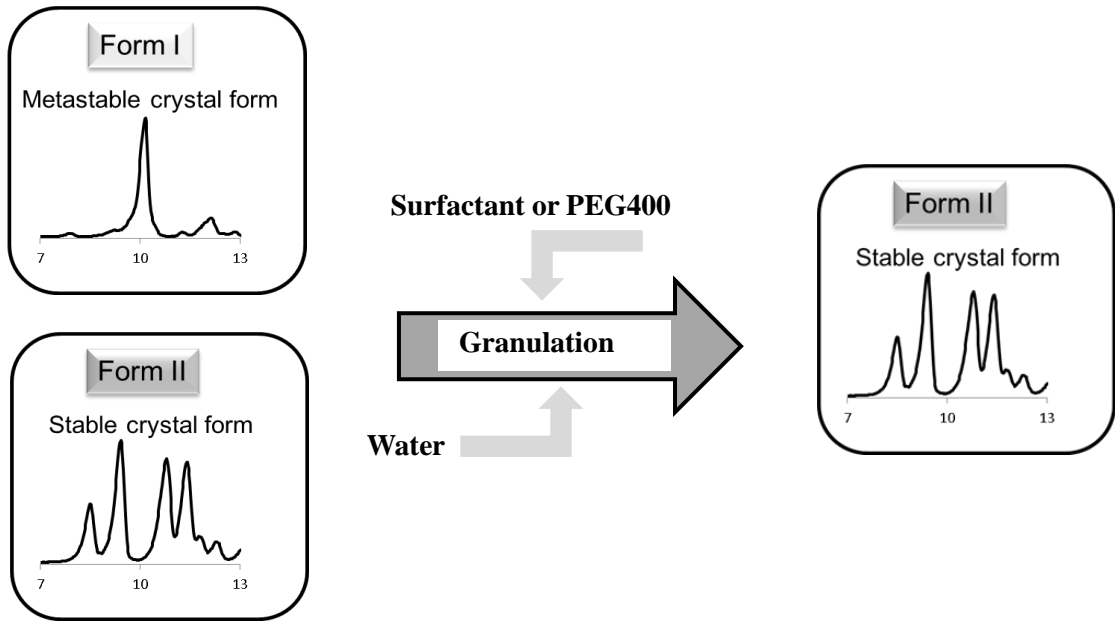
一般的な製剤化工程では、120°C 以上に加温するような工程は存在しないため、通常の製造条件下で Form I の転移反応を進めるには、溶液媒介転移が応用できると考えた。



湿式造粒工程をマクロで考えると、造粒溶媒に CAM が過飽和状態で存在する CAM 溶液が形成されると仮定した。120°C 以下の環境下では、準安定形の溶解度は安定形よりも高く、溶液からの多形の結晶化を行う場合、最初に核化速度の速い準安定形が核化・成長し、溶液濃度は準安定形の溶解度まで低下する。一方で安定形は過飽和状態であるため、次に安定形の核化が生じる。安定形の析出に付随して溶液濃度が低下すると、準安定形については未飽和状態となるため、存在する準安定形の溶解が始まる。準安定形の溶解と安定形の析出が繰り返されることにより、最終的には安定形への相転移が完了すると期待した。

そこで難溶性薬物 CAM の練合溶媒への過飽和状態を達成するため、界面活性剤あるいは親水性基剤に着目した。CAM の相転移をコントロールする湿式造粒法のコンセプトを Fig.1-2 に示す。幾つかの界面活性剤は薬物成分の結晶転移を導くことが報告されていることから<sup>29)</sup>、Form I の湿式造粒工程にこれらの添加剤を加えることで、Form II への相転移を完了させられると期待した。湿式造粒溶媒には汎用性の高い精製水を選択した。またこれらの添加剤を加えても、安定形である Form II は別結晶に相転移することなく、恒常的にその結晶形態を維持できると考えた。

本章では、スタート結晶として Form I の CAM を用い、数種の化学的特徴を有する界面活性剤もしくは PEG400 を加え、精製水を用いて湿式造粒した後の CAM の結晶形を粉末 X 線回折 (PXRD) により評価した。その際、各種親水性添加剤の添加濃度や練合溶媒量に対する CAM の相転移との関係を詳細に検討した。更に、Form II を用いて精製水による湿式造粒を行った際の各種親水性添加剤の相転移に及ぼす影響もあわせて評価した。



**Fig. 1-2. Crystal transition of CAM controlled by wet granulation with surfactant or PEG400.**

## 第2節 実験方法

### 1.2.1 試料

CAM Form II は Kyongbo Pharm (Chungchongnam, Korea) より, Form I は Ercros (Barcelona, Spain) より購入したものをを用いた。

陰イオン性界面活性剤 ラウリル硫酸 Na (Sodium dodecyl sulfate, SDS) はシグマアルドリッチジャパン(株) (Tokyo, Japan) より, 両性の界面活性作用を有する大豆レシチン (Soybean lecithin, LCT) はナカライテスク(株) (Tokyo, Japan) より, 非イオン性界面活性剤となるショ糖脂肪酸エステル (Sucrose fatty acid ester, SFE), ポリソルベート 80 (Polysorbate 80, PS80) およびステアリン酸ポリオキシル 40 (Polyoxyl 40 Stearate, POS40) は, それぞれ三菱化学フーズ(株) (Tokyo, Japan), 関東化学(株) (Tokyo, Japan) および日油(株) (Tokyo, Japan) より購入して使用した。また親水性基剤であるマクロゴール 400 (Polyethylene glycol 400, PEG400) は日油(株) (Tokyo, Japan) より購入して使用した。また精製水として, イオン交換樹脂により脱イオン化された水を使用した。

Fig. 1-3 に CAM の構造式を, Table 1-1 に今回用いた界面活性剤ならびに PEG400 の特徴について示す。

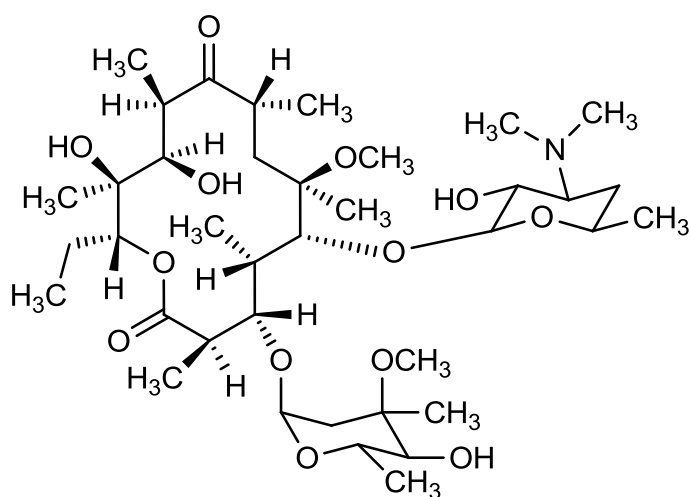
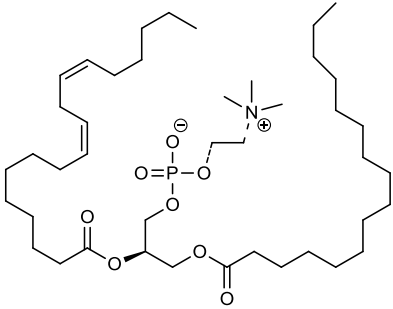
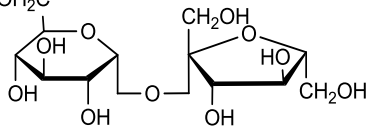
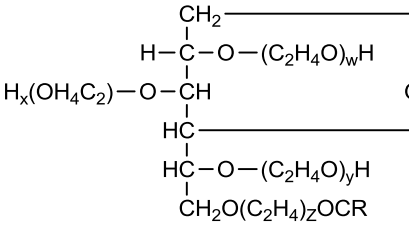
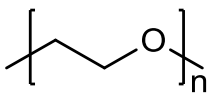


Fig. 1-3. Structure of CAM

**Table 1-1 Surfactants and Water-soluble polymer**

Name	Type	HLB	Structural formula
Sodium lauryl sulfate (SDS)	Anionic surfactant,	40	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}^\ominus$
Soybean lecithin (LCT)	Amphoteric surfactant	4	
Sucrose fatty acid ester (SFE)	Non-ionic surfactant	19	$\text{H}_3\text{C}(\text{H}_2\text{C})_{16}\text{OCO}_2\text{C}$ 
Polysorbate 80 (PS 80)	Non-ionic surfactant	18	
Polyoxyl 40 stearate (POS40)	Non-ionic surfactant	17	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{17}\text{CO}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$
Macrogol 400 (PEG400)	Water-soluble polymer	-	

### 1.2.2 精製水を用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の調製

5 g の Form I に対して、各種界面活性剤 (SDS, LCT, SFE, PS80, POS40) や PEG400 をそれぞれ 0 wt% (0 g), 1 wt% (0.05 g), 5 wt% (0.25 g), 10 wt% (0.5 g) および 20 wt% (1 g) 添加し混合した。次いで精製水を CAM の重量に対して 30 wt% (1.5 g) 加え、2 分間乳棒乳鉢練合を行った。その後、8 号篩にて湿式整粒を行い、50°C で約 40 分間乾燥させ、得られた粉末を 16 号篩で篩過することにより湿式造粒粉末を得た。

更に、Form I から Form II への結晶転移に及ぼす精製水量の影響も評価した。まず、5 g の Form I に対して、前述の添加剤を 0 wt% (0 g), 5 wt% (0.25 g) 添加し混合した。

次いで精製水を CAM の重量に対して 15 wt% (0.75 g), 30 wt% (1.5 g) および 60 wt% (3 g) をそれぞれ加え, 2 分間乳棒乳鉢練合を行った。その後, 前述と同様の操作を行い, 湿式造粒粉末を得た。

### 1.2.3 精製水を用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の調製

5 g の Form II に対して, 前述の添加剤をそれぞれ 0 wt% (0 g), 5 wt% (0.25 g) および 20 wt% (1 g) 添加し混合した。次いで精製水を CAM の重量に対して 30 wt% (1.5 g) 加え, 2 分間乳棒乳鉢練合を行った。その後, 1.2.2 と同様の手法により湿式造粒粉末を得た。

### 1.2.4 粉末 X 線回折 (PXRD) による結晶形評価

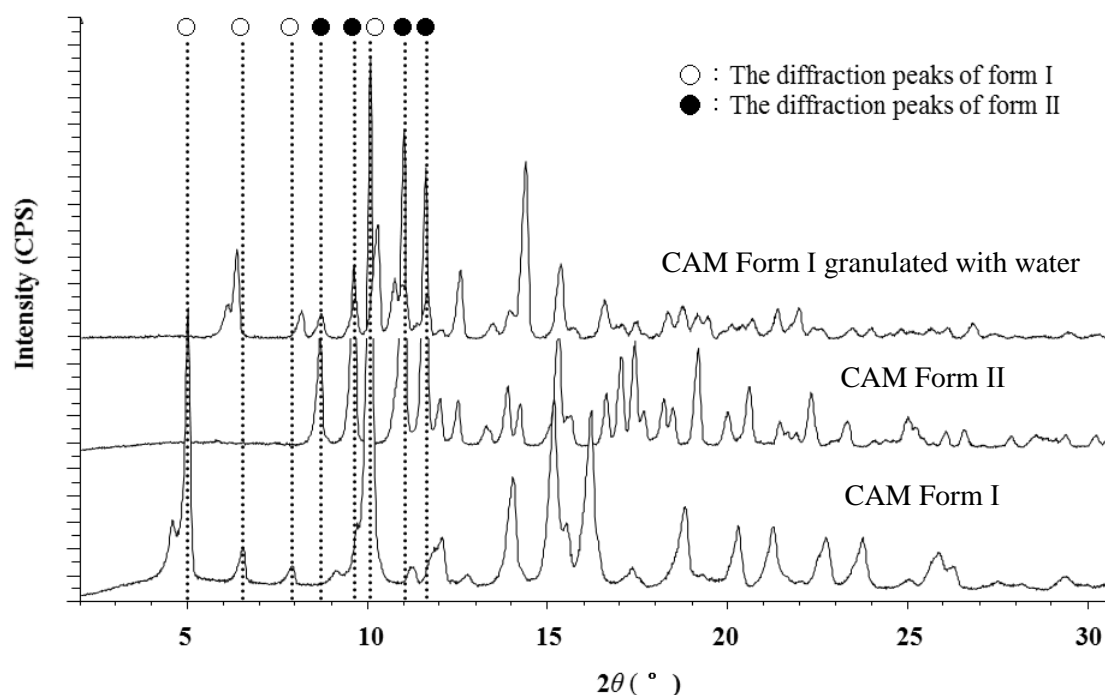
湿式造粒粉体に含まれる CAM の結晶形は粉末 X 線回折 (PXRD) により評価した。PXRD 装置は、ブルカー・エイエックス株式会社 (Kanagawa, Japan) の CuK $\alpha$ を用いた D8 ADVANCE を使用した。測定サンプルをメノウ乳鉢で軽く粉砕後, サンプルカップにパッキングし, PXRD 装置にセットした。管電圧と管電流をそれぞれ 40 kV と 40 mA に設定し, 測定ステップ幅 0.015°, 測定時間 0.1 sec/step で走査軸  $2\theta$  2°から 40°の範囲でスキヤニングを行った。

### 第3節 結果及び考察

#### 1.3.1 精製水を用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の PXRD

Fig. 1-4 の PXRD チャートより、Form II は  $2\theta$  8.5°, 9.4°, 10.8°, 11.4° に、一方 Form I は 5°, 6.5°, 7.9°, 10.0° に特徴的な回折ピークが観察された。このことから、当該ピークの検出の有無により測定サンプル中の CAM の結晶形を定性的に評価した。

Form I のみを精製水 30wt% で湿式造粒した粉末は、Form II に特徴的な回折ピークが発現し強度が増加していることが確認されたが、Form I に特徴的な  $2\theta$  10° の回折ピークは強度の低下が認められるものの完全には消失しなかった (Fig. 1-4)。このことから Form I のみを精製水 30 wt% で湿式造粒しても、一部 Form II に転移するが、完全な Form II 造粒物を得ることは出来ないことが示された。Form II は、Form I もしくは Form 0 の Slurry 水溶液を熱還流することにより得られることが報告されている<sup>9, 10, 12)</sup> ことから、精製水量が増加することにより Form I から Form II への相転移は進むことが期待される。しかしここで設定した精製水量 30 wt% での造粒では、Form I をスラリー状態にするほどではなかったことから、完全な相転移は進まなかったものと考えられた。








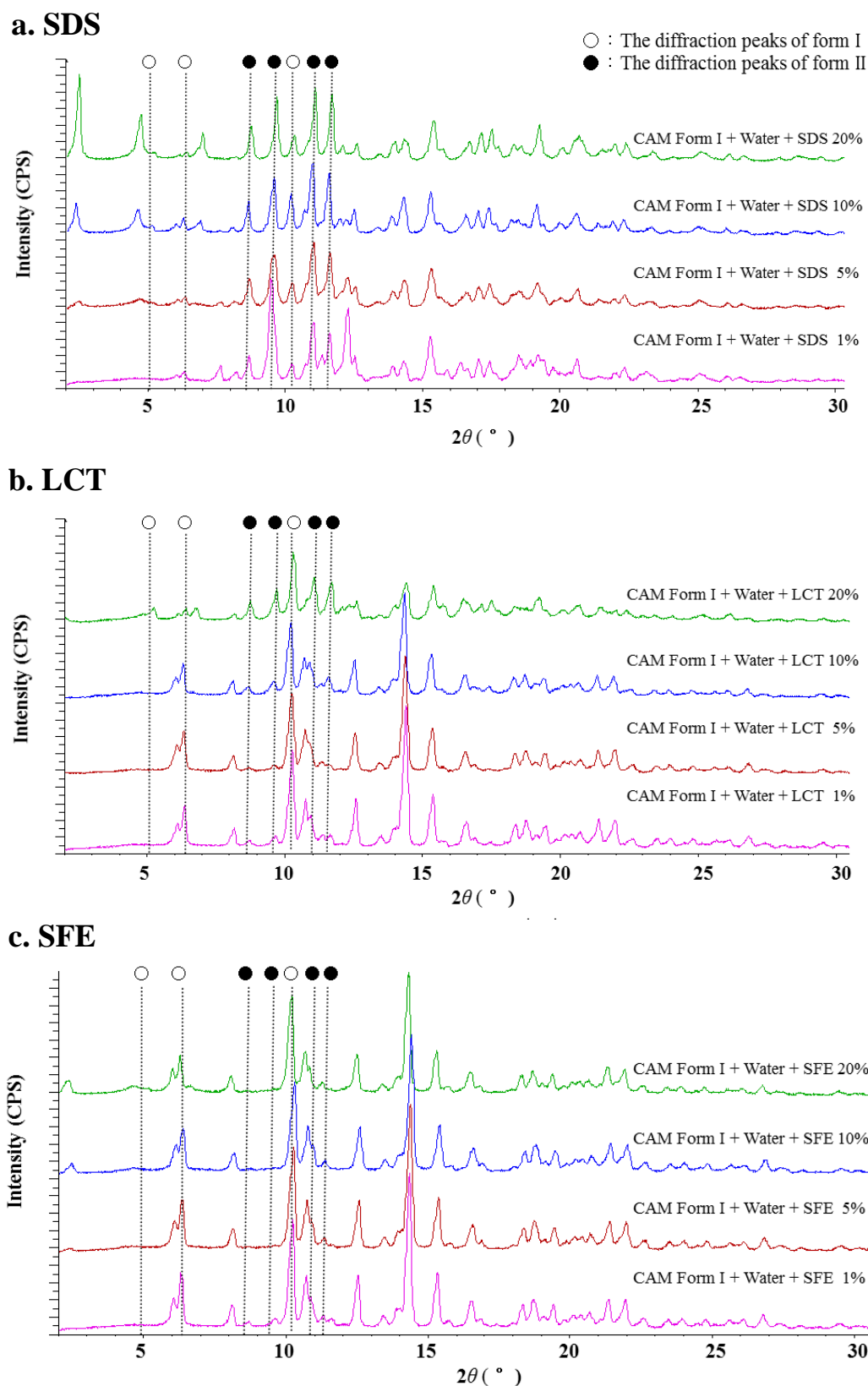
**Fig. 1-4. PXRD patterns of forms I and II, and the wet granulation powders of form I prepared with 30 wt% water in the absence of the surfactants**

Open and closed circles represent the diffraction peaks characteristic to forms I and II, respectively.

次に Form I に各種界面活性剤および PEG400 を添加し、精製水による湿式造粒を行った。一般的な粉体の練合状態の区分について、参考までに Table 1-2 に示す。また得られた造粒粉末の PXRD パターンを Fig.1-5 および Fig.1-6 に示す。Form I に対し SDS を 1wt%、5wt%、10wt% および 20wt% と加え、精製水で湿式造粒した場合は、界面活性剤を添加していない場合と比べて、SDS の添加比率に依存して CAM の濡れ性が向上し、造粒粉体は 5 および 10wt% 添加で Capillary 状態に、20wt% では Slurry 状態となった。しかし造粒粉体における CAM の結晶形は、SDS の添加比率に依存して Form I に対する精製水の分散状態が変化したにも関わらず、Form II への完全な相転移は認められなかった (Fig. 1-5 a)。同様の結果が LCT, SFE を量依存的に添加した造粒粉体においても観察された (Fig. 1-5 b & c)。特に SFE を添加した場合は、20wt% 添加しても粉体の練合状態は Capillary 領域であったにも関わらず、Form II への相転移はほとんど認められなかった。一方、PS80 を加え、精製水で湿式造粒した場合は、PS80 の添加比率依存的に CAM の精製水に対する濡れ性が向上した上、Form I に特徴的な回折ピークは消失し、Form II に帰属する回折ピークが出現した。そして添加比率 5wt% 以上で完全に Form II へ相転移していることが確認された (Fig. 1-6 a)。POS40 および PEG400 においても、5wt% 以上の添加により Form II への完全な相転移が認められた (Fig. 1-6 b & c)。以上の結果より、添加する界面活性剤の種類および添加量、あるいは PEG400 の添加量により、Form I から Form II への転移に与える影響は異なることが確認された。

**Table 1-2 Granulation state depending on quantity of granulation solvent**

State	← Optimal state for granulation →				
					
	Dry	Pendular	Funicular	Capillary	Slurry
Solid phase	Discontinuous	Continuous	Continuous	Discontinuous	Discontinuous
Liquid phase	0	Discontinuous	Continuous	Continuous	Continuous
Gas phase	Continuous	Continuous	Discontinuous	0	0

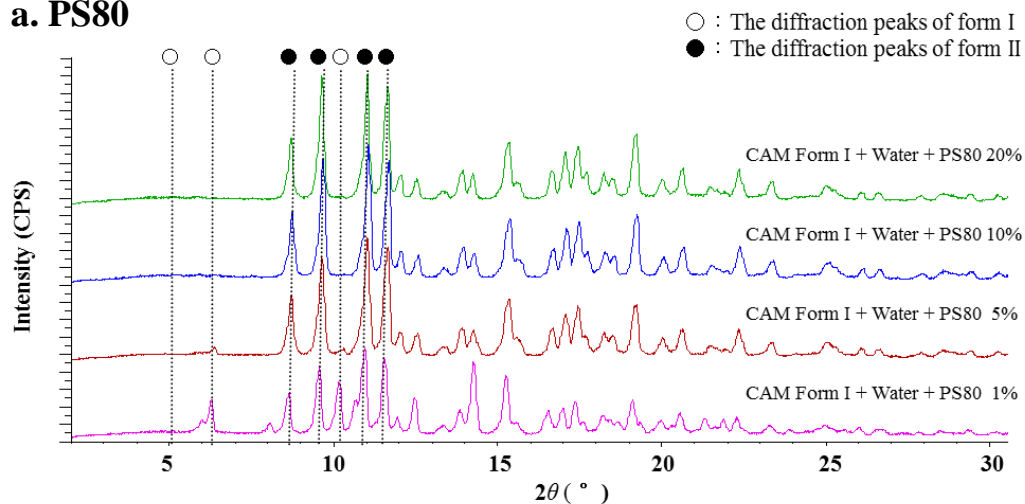


**Fig. 1-5. PXRD patterns of the wet granulation powders of form I prepared with 30 wt% water in the presence of (a) SDS, (b) LCT and (c) SFE.**

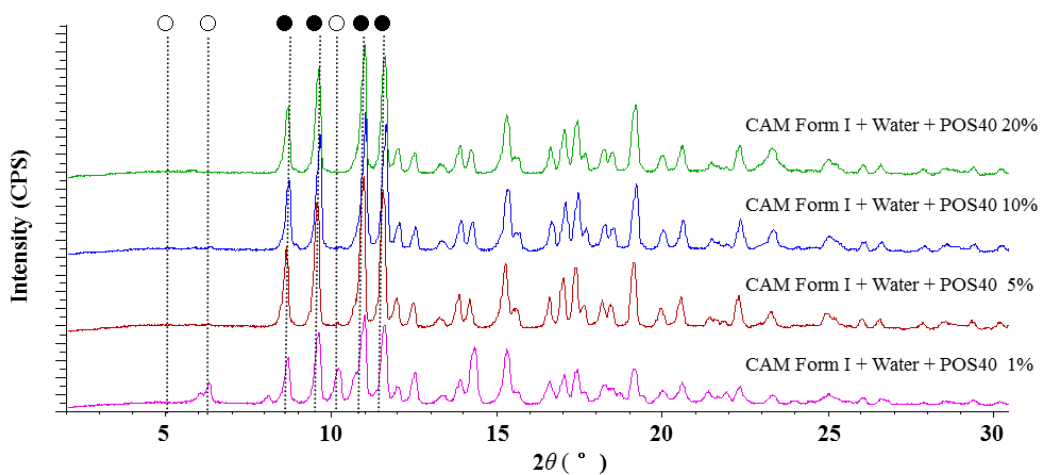
Open and closed circles represent the diffraction peaks characteristic to forms I and II, respectively.



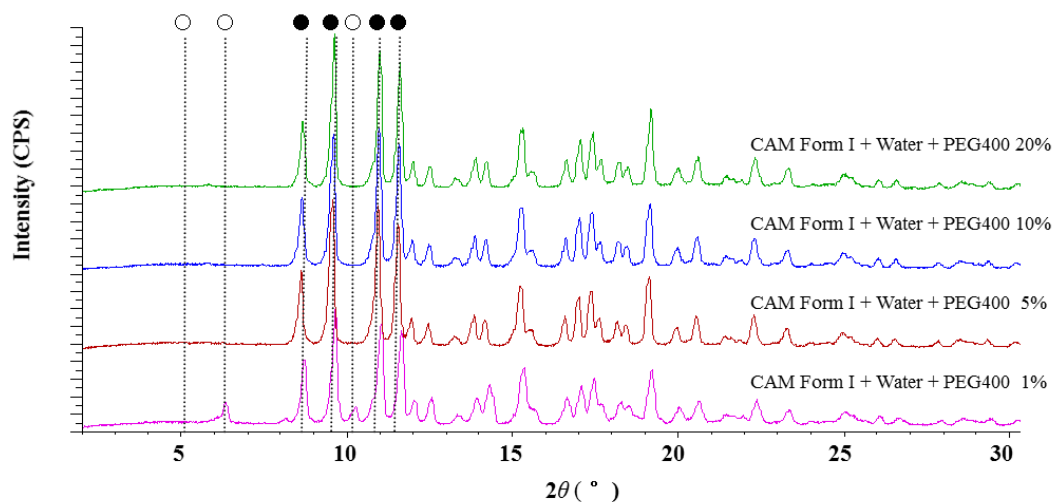
### a. PS80



### b. POS40



### c. PEG400



**Fig. 1-6. PXRD patterns of the wet granulation powders of form I prepared with 30 wt% water in the presence of (a) PS80, (b) POS40 and (c) PEG400.**

Open and closed circles represent the diffraction peaks characteristic to forms I and II, respectively.

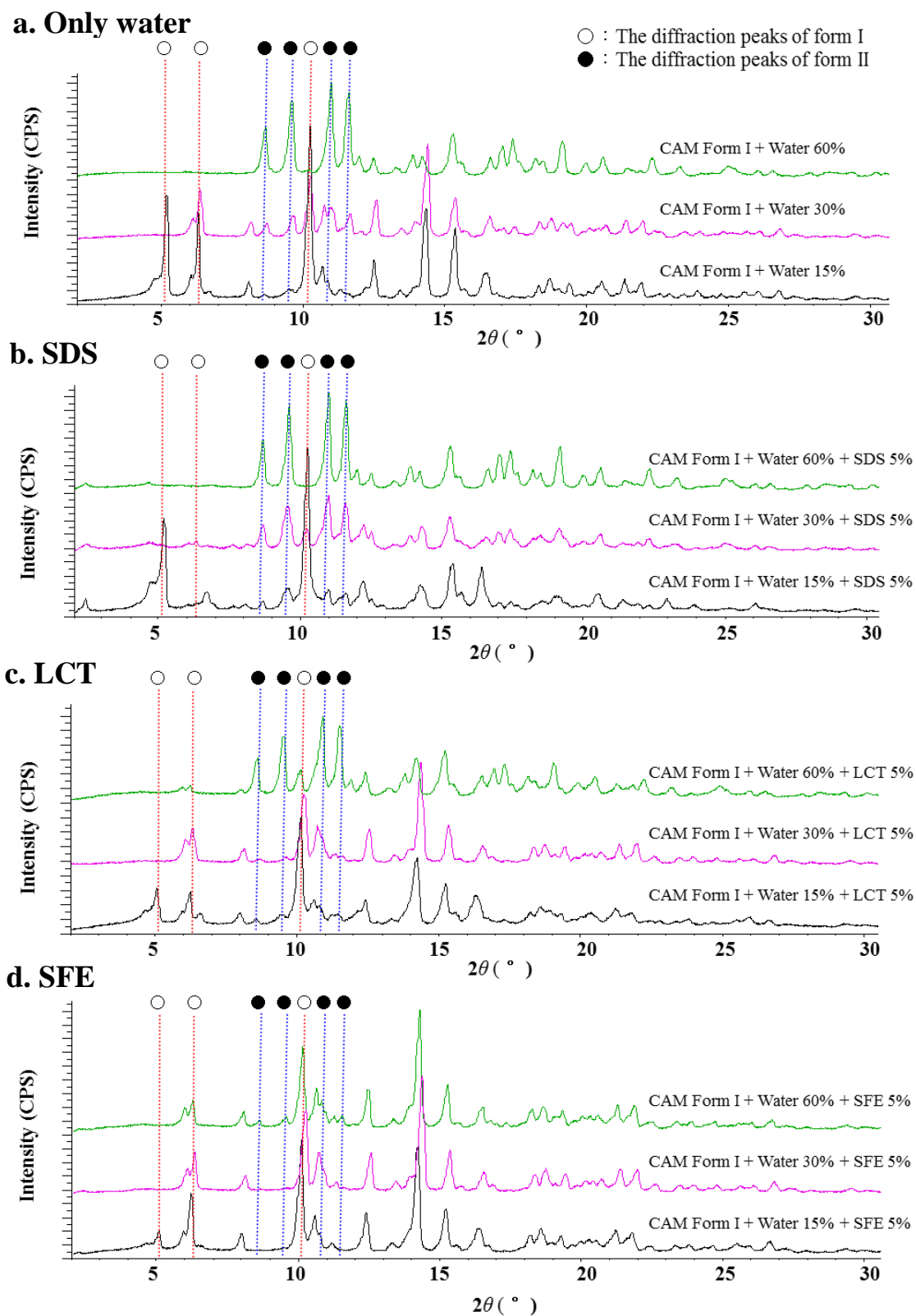
前述の結果において、Form Iを30wt%の精製水で練合することにより、一部Form IIに相転移することが確認された。Form IIは、Form IもしくはForm 0のSlurry水溶液を熱還流することにより得られることが報告されている<sup>9,10,12)</sup>ことから、練合に用いる精製水量を変動させることにより、Form IIへの相転移をコントロールできると考えられた。そこで次に、Form IからIIへの相転移に与える練合液量の影響について評価した。Form Iの湿式造粒に使用する精製水の添加比率は、練合状態としてPendular, FunicularもしくはCapillary, Slurry (Table 1-2) の3種類が得られるように、それぞれ15 wt%, 30 wt%および60 wt%に設定した。界面活性剤やPEG400の添加比率は、前述の結果において特定の添加剤でForm IIへの完全な相転移が認められた最少配合量5 wt%に固定した。得られた湿式造粒粉体のPXRDパターンについてFig.1-7およびFig.1-8に示す。Form Iのみを精製水で湿式造粒した場合は、精製水の添加比率に依存してForm IIに特徴的な回折ピークは減少し、Form II由来の回折ピークが出現した。そして精製水60 wt%の練合でSlurry状態となり、Form IIへの完全な相転移が認められた (Fig. 1-7 a)。同様の結果がSDSを添加した場合にも観察された (Fig. 1-7 b)。LCT添加時は、精製水を60 wt%加えてもForm IIに特徴的な回折ピークの強度は増加するものの、他結晶由来の回折ピークが確認され、完全なForm IIへの相転移は認められなかった (Fig. 1-7 c)。SFE添加時は、精製水量が15~60wt%まで変動しても、それぞれのPXRDチャートはほとんど変化せず、Form IIへの相転移はほとんど認めなかった (Fig. 1-7 d)。

PS80, POS40 および PEG400 を添加した場合は、精製水 15 wt%添加することにより、練合状態は Pendular 領域に到達し、Form I 由来の回折ピーク強度が減少するとともに、Form II 由来の回折ピークが発現することが確認された。更に精製水 30 wt%以上の添加で、完全な Form II への相転移を達成することができた (Fig. 1-8 a & b & c)。

以上の結果より、精製水のみで Form I を湿式造粒した場合、更には SDS を加えた場合は、練合状態が Slurry 領域に到達しないと Form II への相転移が起こらず、製剤化の観点からは好ましいものではなかった。また LCT, SFE を添加した場合は、無添加の場合に比べ、Form I から Form II への相転移速度を低下させることが懸念された。一方、PS80, POS40 および PEG400 を添加した場合は、適正な練合状態において Form I を完全に Form II に相転移させることができ、練合溶媒量に変化しても Form II 製剤を得られる可能性が示唆された。

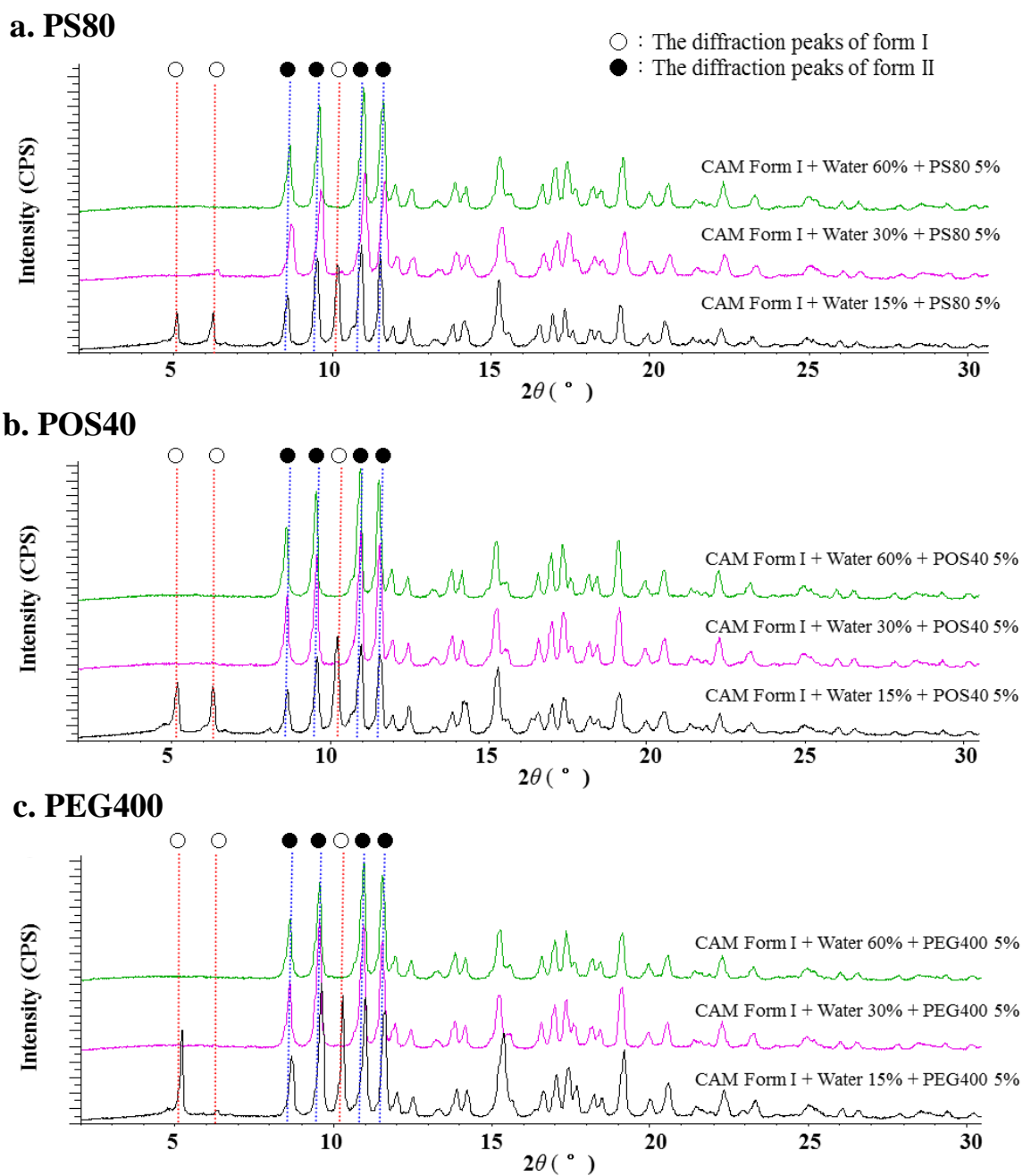
LCT や SFE を添加して練合状態を Slurry 領域に到達させても、Form II への相転移に

及ぼす影響は界面活性剤無添加時と比べて小さかったことから、両親媒性を利用した界面活性効果が CAM の結晶転移に関わっている可能性は小さいと考えられた。更に、疎水基としてオレイン酸を持つ PS80, ステアリン酸を持つ POS40, 疎水基を持たない PEG400 において, Form I を Form II へ完全に相転移させたことから, 疎水基の化学的特徴が起因しているとは考えにくい。一方でこれらの添加剤に共通していることは親水基としてポリオキシエチレン鎖を有していることである。CAM の結晶構造は, Form I においては単一の結晶構造を有しておらず, 一方で Form II は分子内水素結合を介にして zigzag 配列をなしていると報告されている<sup>12)</sup> (Fig. 1-9)。従って, 詳細は不明であるものの, ポリオキシエチレン鎖に付属する水酸基と CAM の水酸基との間で水素結合が形成されることにより, Form I のランダムな結晶配列から Form II のエントロピーの小さい秩序だった結晶配列に移行しやすくなるものと推測した。



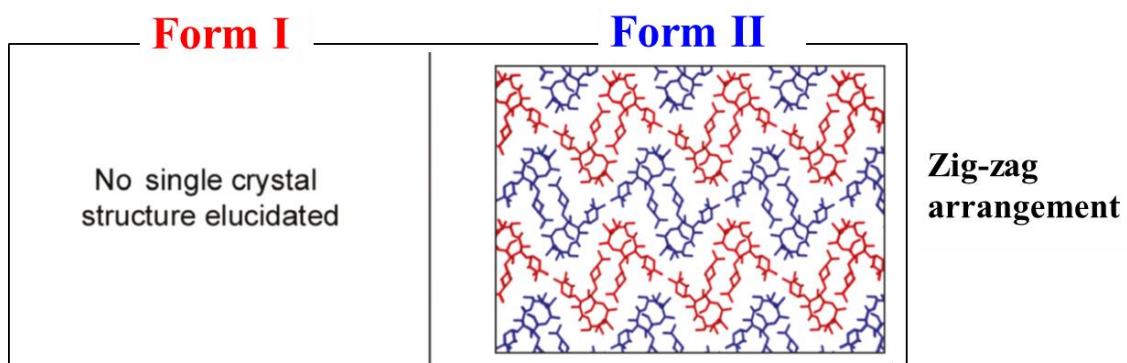
**Fig. 1-7. Effect of the amount of water added during the granulation of form I (a) in the absence of surfactants, and in the presence of (b) 5 wt% SDS, (c) 5 wt% LCT and (d) 5 wt% SFE, on the PXRD patterns of the resulting wet granulation powders.**

Open and closed circles represent the diffraction peaks characterized by forms I and II, respectively.



**Fig. 1-8. Effect of the amount of water added during the granulation of form I CAM crystals in the presence of (a) 5 wt% PS80, (b) 5 wt% POS40 and (c) 5 wt% PEG400, on the PXRD patterns of the resulting wet granulation powders.**

Open and closed circles represent the diffraction peaks characterized by forms I and II, respectively.



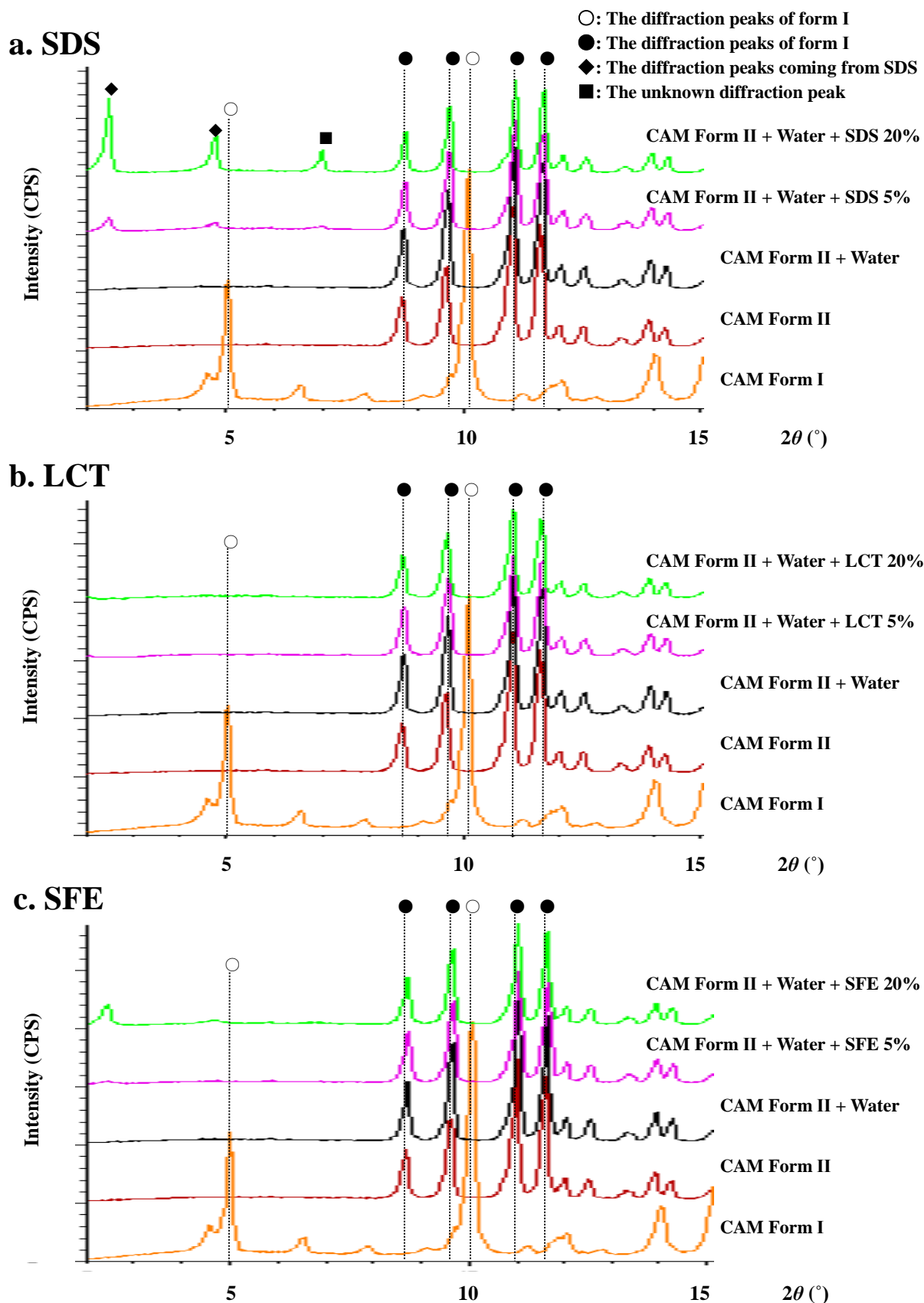
**Fig. 1-9. Crystal structure of CAM<sup>12)</sup>**

### 1.3.2 精製水を用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の PXRD

1.3.1 では、準安定形結晶 Form I の精製水を用いた湿式造粒において、特定の添加剤を加えることにより容易に Form II が得られることを報告した。しかし一方で、これらの添加剤が安定結晶である Form II を別結晶に相転移させる可能性が懸念される。そこで、Form II を精製水で湿式造粒する際の各種界面活性剤および PEG400 の効果についても評価することとした。

各種造粒粉末の PXRD パターンを Fig.1-10 および Fig.1-11 に示す。Form II に対し、それぞれの添加剤を 5 wt%, 20 wt% と加え、30 wt% に相当する精製水量で湿式造粒した場合、添加剤量に依存して造粒状態は Capillary 状態から Slurry 状態となった。一方造粒粉末における CAM の結晶形は、SDS を添加した場合を除き、その全てが添加剤量に依存することなく、練合前と変わらず Form II を維持していることが示された (Fig. 1-10 b & c) および Fig.1-11)。ここで SFE 添加時に認められた  $2\theta=2.5^\circ$  の回折ピークは添加剤由来のものであることを確認している。

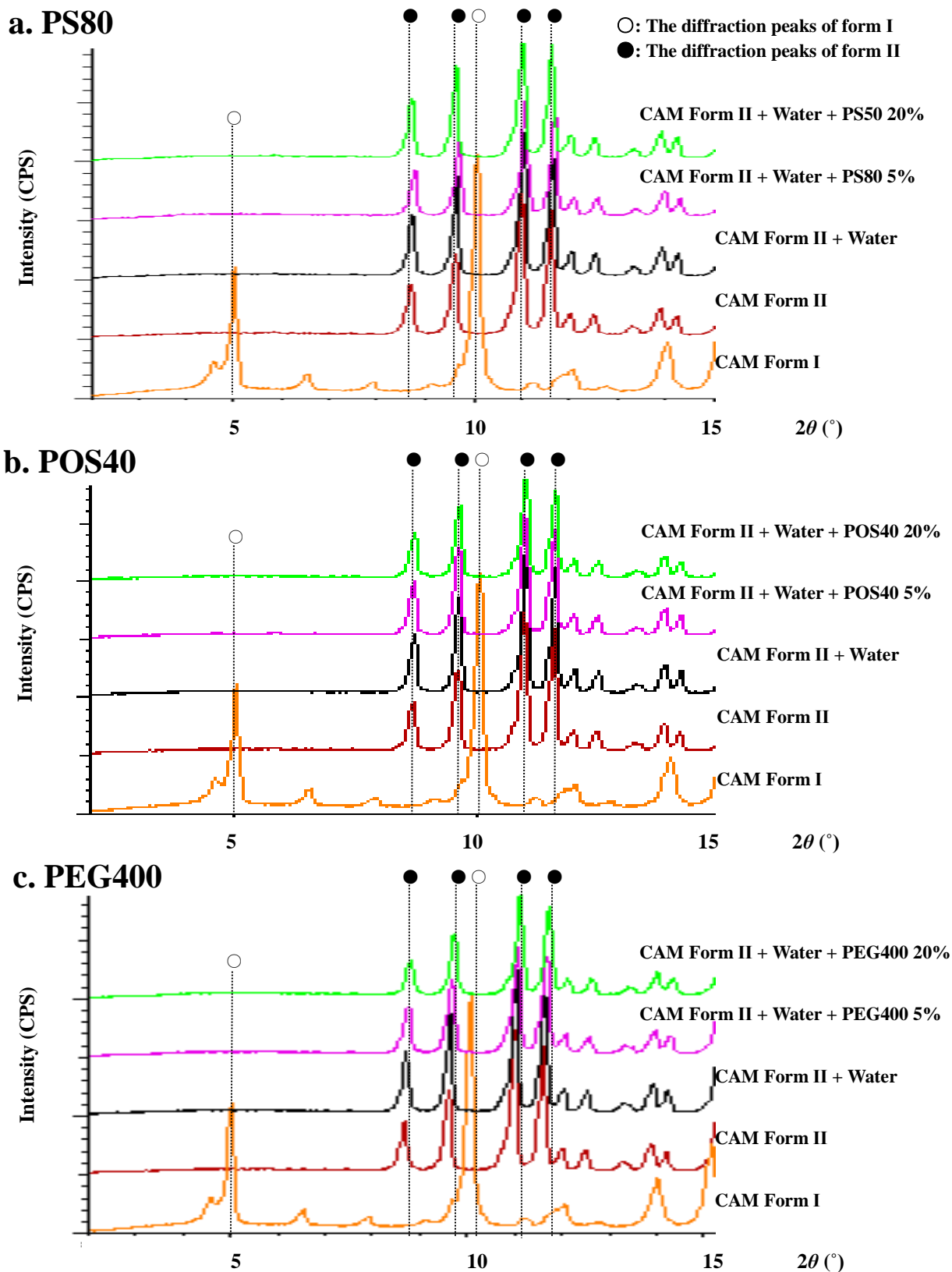
一方、SDS を添加した造粒粉末では、 $2\theta=2.5^\circ$ 、 $4.5^\circ$  および  $6.8^\circ$  に Form II に帰属しない特徴的な回折ピークが添加量依存的に観察された。 $2.5^\circ$ 、 $4.5^\circ$  は SDS 由来のピークであったが、 $6.8^\circ$  のピークは添加剤や既知の CAM 結晶に由来するものではなく、未知の CAM 結晶に帰属するものと考えられた。従って、SDS を添加することにより、安定結晶である Form II は別結晶に一部転移してしまうことが懸念された (Fig. 1-10 a)。このメカニズムは不明であるが、SDS の持つアニオンと CAM の第三級アミノ基の部分で生じるカチオンとの相互作用により、Form II の結晶格子内に生じる分子間水素結合に歪が生じ、Form II 結晶格子とはわずかに異なる別結晶が発生したものと推測する。



**Fig. 1-10. PXRD patterns of the wet granulation powders of form II prepared with 30 wt% water in the presence of (a) SDS, (b) LCT and (c) SFE.**

Open and closed circles represent the diffraction peaks characteristic to forms I and II, respectively.





**Fig. 1-10.** PXRD patterns of the wet granulation powders of form II prepared with 30 wt% water in the presence of (a) PS80, (b) POS40 and (c) PEG400.

Open and closed circles represent the diffraction peaks characteristic to forms I and II, respectively.

#### 第4節 まとめ

本章において、CAM の準安定形結晶である Form I と安定形結晶である Form II の精製水による湿式造粒におよぼす各種添加剤の影響を検討することで、以下の知見が得られた。

- 1) Form I を精製水により湿式造粒する場合、PS80、POS40 及び PEG400 を CAM の重量に対して少なくとも 5wt% 以上加えることにより、従来<sup>9, 10, 12)</sup>の方法に比べ容易に Form II へ相転移させることができた。更に、前述の添加剤を加えることにより認められた相転移は、練合溶媒量の変動しても誘発されることが示された。
- 2) Form II を精製水により湿式造粒する場合、SDS を添加した場合のみ、添加量依存的に安定結晶を別結晶へ転移させることが示唆された。一方、それ以外の添加剤は、安定結晶の相転移を誘発しないことが示された。

精製水を用いた CAM の湿式造粒において、特定の添加剤を加えることにより相転移をコントロールできたことは、製剤開発を行う上での重要な基礎的知見になるものと期待される。

一方、各種添加剤における CAM の相転移をコントロールするメカニズムについては、特定の添加剤に共通して存在するポリオキシエチレン鎖と CAM の分子間相互作用が関与していると推測した。次章では、CAM の相転移メカニズムにも焦点をあて、検討を行うこととした。

## 第2章 エタノールを用いた湿式造粒法による CAM の結晶転移に及ぼす各種界面活性剤および PEG400 の効果、並びに CAM の相転移メカニズムについて

### 第1節 はじめに

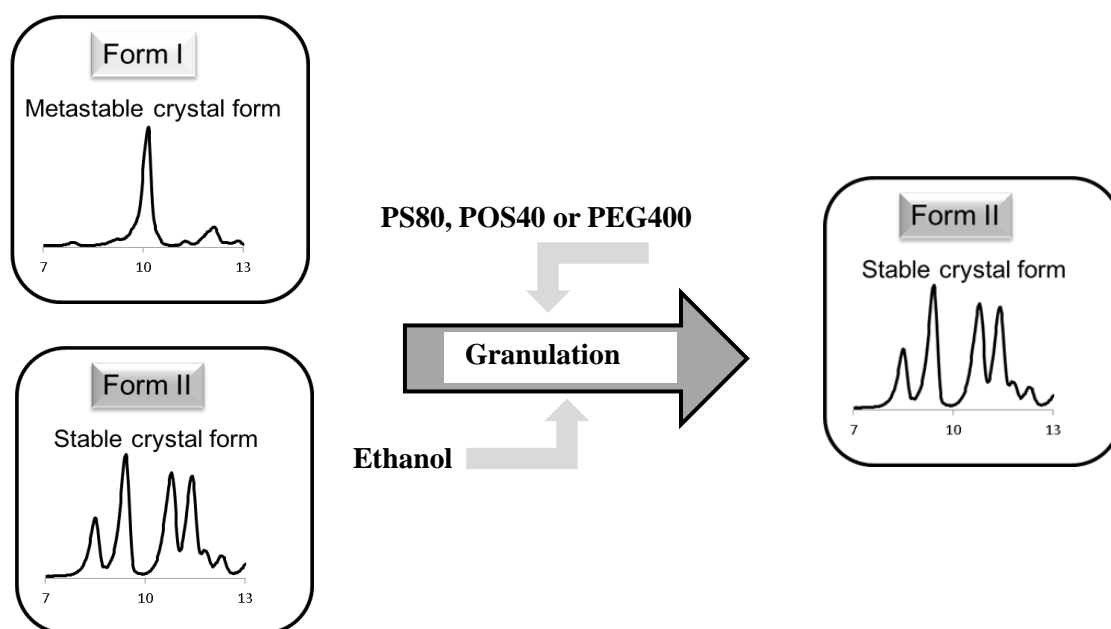
湿式造粒工程において、粉体の化学的特性に応じて練合溶媒を選択することは最適な造粒状態を得るために重要である。CAM は疎水性であり、水に比べ有機溶媒に溶けやすい性質を有する。このことから造粒溶媒として有機溶媒を選択することで、CAM の濡れ性が向上し、良好な造粒状態が得られるものと期待される。また昨今、CAM において有機溶媒に溶かして使用する水不溶性の機能性ポリマーを用いた製剤化技術が報告<sup>21-22)</sup>されており、医療現場のニーズに沿った CAM 製剤の開発が行われている。以上より、CAM 製剤の湿式造粒には有機溶媒が使用されるケースが想定されるが、スタート物質として Form II の CAM を選択した場合、序論でも述べた通り汎用性の高いエタノールを用いて湿式造粒を施すと、Form I へ転移することが報告されている<sup>8)</sup>。従って、使用する造粒溶媒の影響を受けることなく Form II 含有製剤が得られる技術を確立することが出来れば、目的に応じた多岐にわたる CAM の製剤化検討に応用が期待される。

前章では、Form I を精製水にて湿式造粒する場合、特定の添加剤 (PS80, POS40 もしくは PEG400) を加えることにより Form II への相転移が促進されることを報告した。従って、Form II をエタノールで湿式造粒した場合も、PS80, POS40 あるいは PEG400 を添加することにより Form II をそのまま維持できる、もしくは Form 0 や Form I に一度転移したとしても、速やかに Form II へ相転移することが期待された。以上を踏まえ、本章における CAM の相転移の制御コンセプトを Fig.2-1 に示す。本章では、Form II に各種界面活性剤および PEG400 を加え、エタノールによる湿式造粒を行うことにより得られた粉体の PXRD パターンについて評価した。あわせて、Form I のエタノールにより誘発される相転移に及ぼす各種親水性添加剤の影響も評価した。

また前章までの検討において、界面活性剤や親水性基剤の種類や添加量によって CAM の相転移に及ぼす影響は異なっていた。これは特定の添加剤中に存在するポリオキシエチレン鎖に付属する水酸基と、CAM の水酸基との間で水素結合が形成されることにより CAM の相転移が進行するためと考えられた。そこで本章では、CAM のエタノールを用いた湿式造粒法における各種添加剤の影響を調査することに加え、CAM の

相転移メカニズムを明らかにすべく、Form I の精製水による湿式造粒に焦点を絞った検討も行うこととした。

一般的に、有機化合物は多くの官能基を有している。そしてこれらの赤外 (IR) スペクトルを測定することにより、各種官能基に由来する特徴的な分子の振動や回転に関する情報を収集することが可能となる。付随して、二種の異なる有機化合物間で新たに水素結合が形成された場合、O-H に帰属した伸縮振動の吸収を測定することができるため、分子間相互作用を評価する上でもフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR) は有用な知見を与えてくれるものと期待される。実際に FT-IR を用いて分子間相互作用を評価した多くの結果が報告<sup>41-44)</sup>されている。そこでポリオキシエチレン鎖と CAM の分子間相互作用を考察するため、FT-IR によるスペクトル評価を実施した。



**Fig. 2-1. Crystal transition of CAM controlled by wet granulation with PS80, POS40 or PEG400.**

## 第2節 実験方法

### 2.2.1 試料

CAM, 各種界面活性剤および PEG400 は 1.2.1 に示すものを使用した。合成エタノール(>95%) は日本合成アルコール株式会社 (Kanagawa, Japan)より購入したのものを使用した。

### 2.2.2 エタノールを用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の調製

5 g の Form II に対して, 各種界面活性作用を有する添加剤 (SDS, LCT, SFE, PS80, POS40) や PEG400 をそれぞれ 0 wt% (0 g), 5 wt% (0.25 g) 添加し混合した。次いでエタノールを CAM の重量に対して 30 wt% (1.5 g) 加え, 2 分間乳棒乳鉢練合を行った。その後, 1.2.2 と同様の方法により湿式造粒粉末を得た。

更に, Form II から Form I への結晶転移に及ぼすエタノール量の影響も評価した。まず, 5 g の Form II に対して, 前述の添加剤を 0 wt% (0 g), 5 wt% (0.25 g) 添加し混合した。次いでエタノールを CAM の重量に対して 15 wt% (0.75 g), 30 wt% (1.5 g) および 60 wt% (3 g) をそれぞれ加え, 2 分間乳棒乳鉢練合を行った。その後, 1.2.2 と同様の操作を行い, 湿式造粒粉末を得た。

### 2.2.3 エタノールを用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の調製

5 g の Form I に対して, 前述の添加剤をそれぞれ 0 wt% (0 g) および 5 wt% (0.25 g) 添加し混合した。次いでエタノールを CAM の重量に対して 30 wt% (1.5 g) 加え, 2 分間乳棒乳鉢練合を行った。その後, 2.2.2 と同様の手法により湿式造粒粉末を得た。

### 2.2.4 PXRD による結晶形評価

1.2.4 に示す方法により, エタノールによる各種湿式造粒粉体に含まれる CAM の結晶形を評価した。

### 2.2.5 PS80, POS40 および PEG400 の IR スペクトル評価粉体の調製

PS80, PEG400 は常温では粘性のある液体として存在するため, KBr との混合粉末を調製した。PS80, PEG400 の秤取量に対し, 15 倍量の KBr を加え乳棒乳鉢練合を行った。一方, POS40 は固体として存在するため, 乳棒乳鉢にて軽く粉碎した粉体を調製し

た。

#### **2.2.6 CAM Form I とポリオキシエチレン鎖を有する添加剤 (PS80, POS40, PEG400) との物理混合物の調製**

1 g の Form I に対して, PS80, POS40, PEG400 をそれぞれ 20wt% (0.20 g) 添加し混合した。次いで混合粉末を 16 号篩にて篩過を行い物理混合物 (PM) とした。

#### **2.2.7 精製水を用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の調製**

1 g の Form I に対して, PS80, POS40, PEG400 をそれぞれ 20wt% (0.2 g) 添加し混合した。次いで混合粉末を 16 号篩にて篩過を行った後, 精製水を CAM の重量に対して 30wt% (0.3 g) 加え, 2 分間乳棒乳鉢練合を行った。その後, 50°C で約 40 分間乾燥させ, 得られた粉末を 16 号篩で篩過することにより湿式造粒粉末 (GP) を得た。

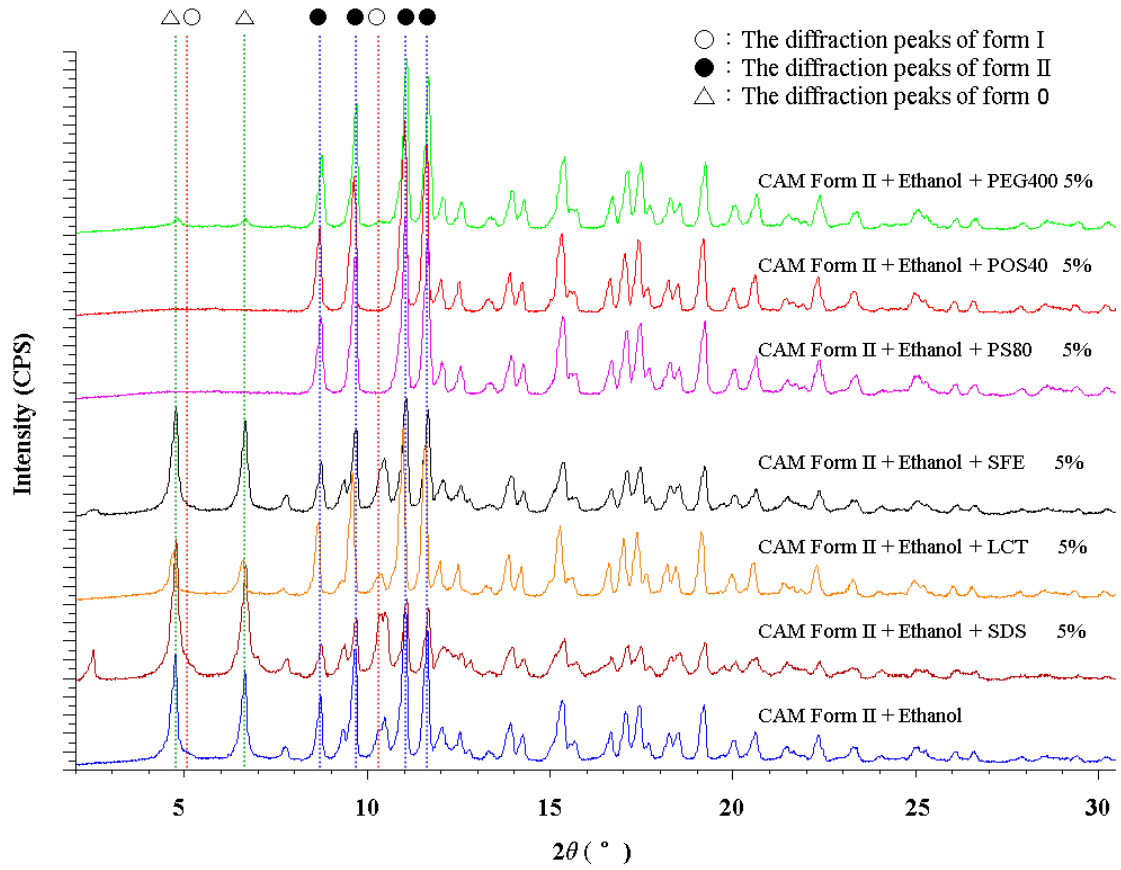
#### **2.2.8 FT-IR による IR スペクトルの評価**

FT-IR (日本分光株) を用いて, ATR 法により 2.2.5, 2.2.6 および 2.2.7 で調製した各種粉末の IR スペクトルを評価した。また結晶形違いの CAM の IR スペクトルを評価するため, Form I および Form II の粉末も測定した。

### 第3節 結果及び考察

#### 2.3.1 エタノールを用いた CAM Form II の湿式造粒粉末の PXRD

Form II はエタノールを用いて湿式造粒を行うことにより Form I に相転移する可能性が考えられる<sup>8)</sup>。しかし第1章で示した結果に基づいて、PS80、POS40 および PEG400 を添加することにより、Form II をエタノールで湿式造粒しても Form II をそのまま維持できる、もしくは Form 0 や I に一旦転移後、再び Form II へ相転移させる可能性を考えた。そこで、Form II に各種界面活性剤および PEG400 を 5 wt% 加え（前章で示した Form I から Form II への完全な相転移を起こすことができた添加剤の最少配合比率）、エタノールによる湿式造粒を行い、得られた粉体の PXRD パターンについて評価した。結果を Fig. 2-2 に示す。Form II のみをエタノール 30 wt% で湿式造粒した粉末は、Form 0 に特徴的な  $2\theta = 4.7^\circ$ ,  $6.6^\circ$  の回折ピークが発現し強度が増加していることが確認され、Form II に特徴的な回折ピークは強度の低下が認められた。このことから Form II をエタノールで湿式造粒することにより、Form 0 を含む Form II とは別の結晶形に一部相転移することが確認された。同様の結果が SDS、LCT および SFE を添加した造粒粉体においても観察された (Fig. 2-2)。一方、Form II に PS80、POS40 および PEG400 を加えてエタノールによる湿式造粒を行った粉体は、Form 0 や Form I に特徴的な回折ピークはほとんど認めず、Form II の PXRD チャートとほぼ一致した。このことから Form II に PS80、POS40 および PEG400 を 5 wt% 添加してエタノールにて造粒することにより、最終的に得られる粉末中の CAM は Form II であることが明らかとなった。以上の結果より、Form II にエタノールを加えることにより起きる相転移に関しても、使用する界面活性剤や親水性基剤の種類により影響は異なることが確認され、前章に引き続き、特定の添加剤中に存在するポリオキシエチレン鎖が CAM の相転移に関与していることが考えられた。



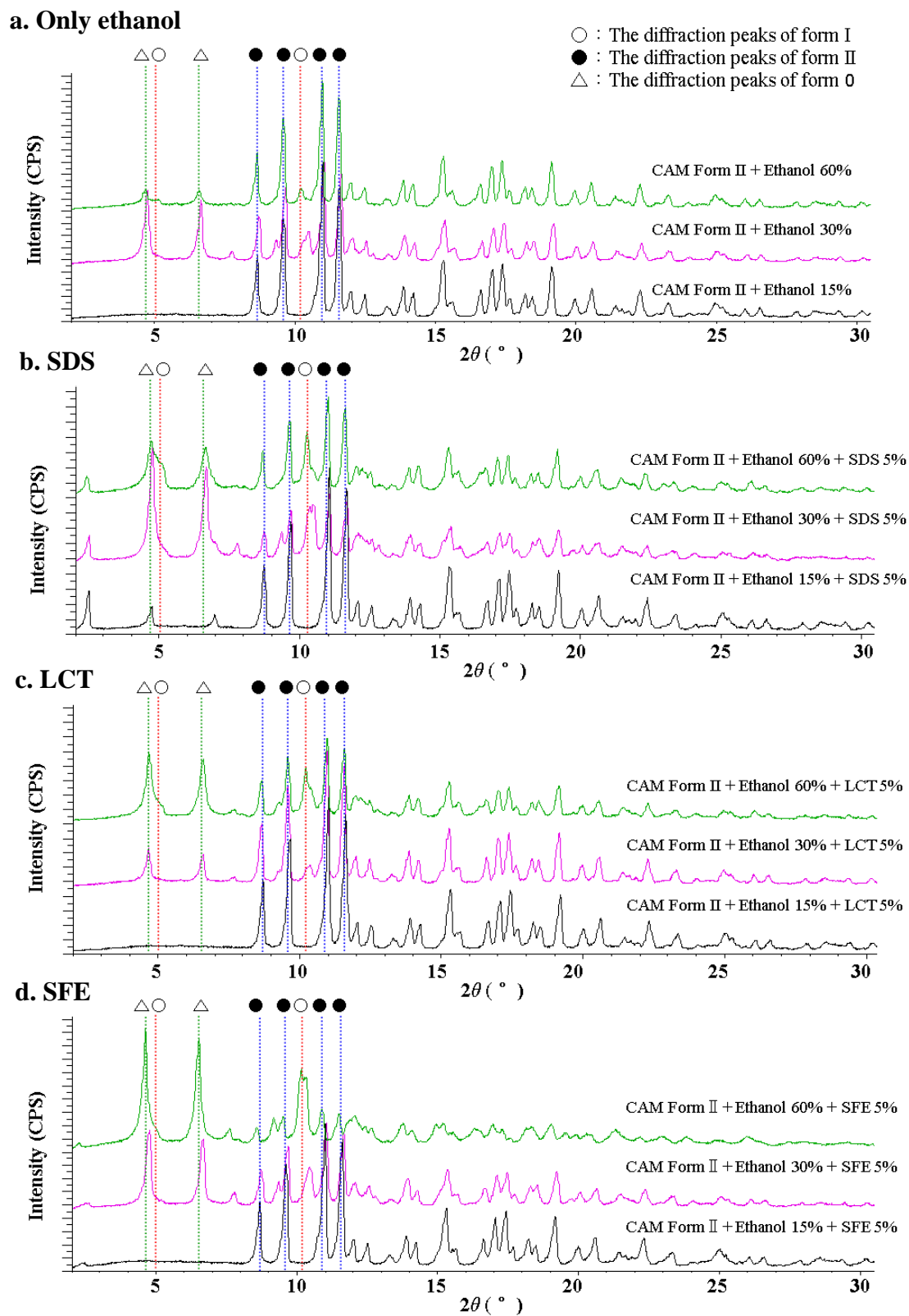
**Fig. 2-2. PXRD patterns of the wet granulation powders of form II prepared with 30 wt% ethanol in the absence or presence of a surfactant or polymer.** Open circles, closed circles and open triangles represent the diffraction peaks characterized by forms I, II and 0, respectively.



次に製剤化工程における練合溶媒量の変動を考慮して、Form II から Form I への相転移に与えるエタノール量の影響について評価した。実験は、前章で報告した練合溶媒量の検討と同様に、各種添加剤の添加比率を 5 wt% に設定した上で、エタノールの添加比率を 15 wt%、30 wt% および 60 wt% と変動させた。得られた湿式造粒粉体の PXRD パターンを Fig. 2-3 および Fig. 2-4 に示す。エタノールのみで Form II を湿式造粒した場合は、エタノールの添加比率に依存して Form 0 や Form I に特徴的な回折ピークが出現し、純粋な Form II として存在できないことが確認された (Fig. 2-3 a)。同様の結果が SDS, LCT および SFE を添加した場合にも観察された (Fig. 2-3 b & c & d)。

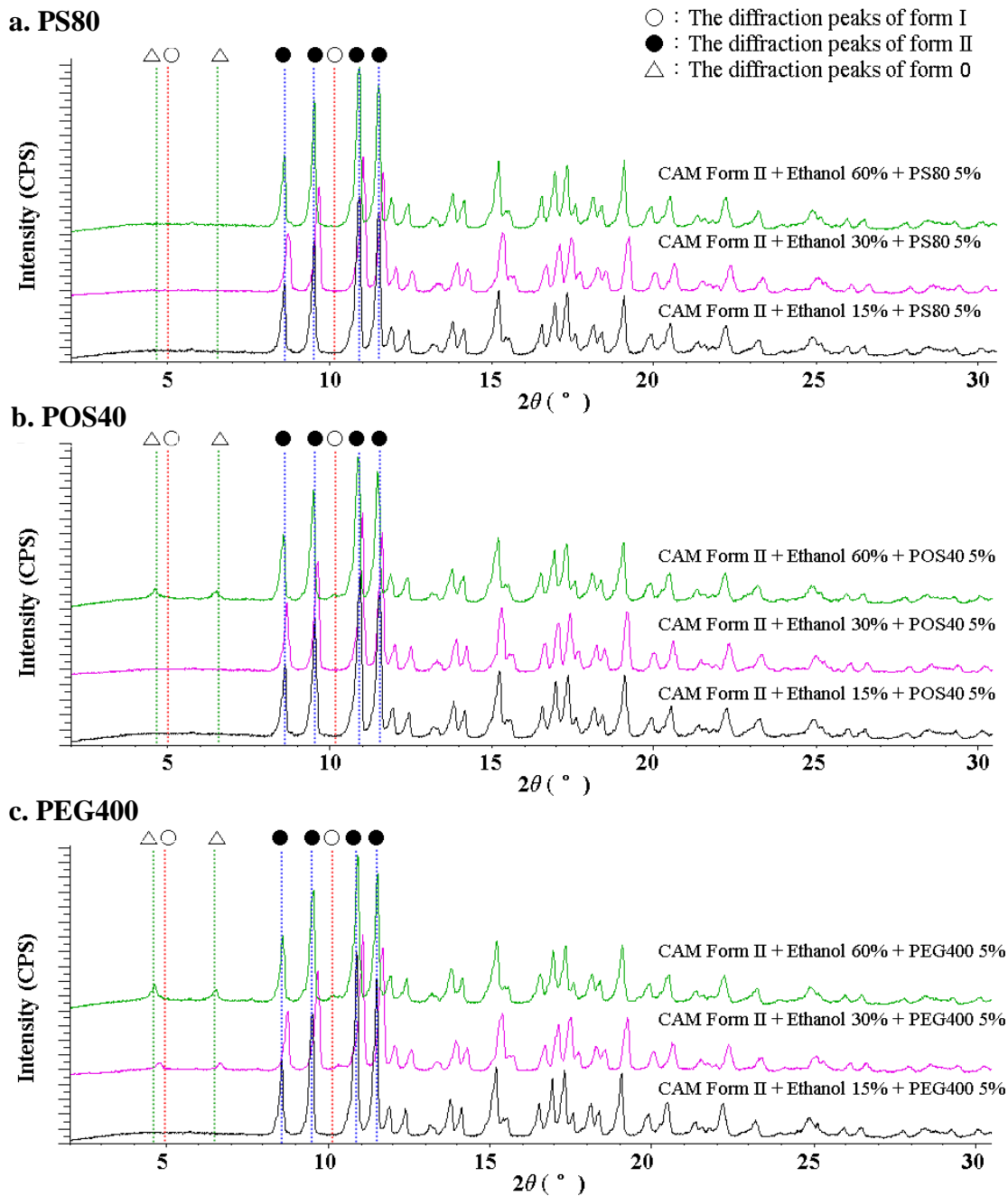
一方、PS80 を Form II に添加した場合は、エタノール添加比率が 15~60 wt% に変動しても Form II の PXRD パターンを示した (Fig. 2-4 a)。POS40 もしくは PEG400 を添加した場合は、エタノール添加量が 60 wt% に到達すると、Form 0 に特徴的な回折ピークがわずかに検出され、Form II から一部別結晶に相転移することが観察された。しかし、SDS, LCT および SFE 添加時に比べ別結晶への転移率は低いものであった (Fig. 2-4 b & c)。以上の結果より、エタノールで Form II を湿式造粒する場合、適切な練合状態において PS80, POS40 および PEG400 を添加することにより Form II は相転移を起こさない、もしくは Form 0 や I に一旦転移したとしても、これらの添加剤の影響により瞬時に Form II に戻る可能性が示唆された。その中でも PS80 を選択することにより、エタノール量の変動して Slurry 状態になっても Form II を得ることができ、頑健性の高い Form II 製剤の製造法を確立できるものと期待された。

前章で、Form I は PS80, POS40 および PEG400 と共に精製水を用いた湿式造粒を施すことにより Form II に完全に相転移することを報告した。このことも合わせて考えると、Form I もしくはそれが発生しやすい環境下から Form II に向けた負のエンタルピー反応は、添加する界面活性剤の親水基の性質 (非イオン性、イオン性および両性) や HLB に起因して促進されるものではなく、PS80, POS40, PEG400 の共通分子構造であるポリオキシエチレン鎖 (-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH) が関与している可能性が考えられた。



**Fig. 2-3. Effect of the amount of ethanol added during the granulation of form II in (a) the absence of surfactants, and in the presence of (b) 5 wt% SDS, (c) 5 wt% LCT and (d) 5 wt% SFE, on the PXRD patterns of the resulting wet granulation powders.**

Open circles, closed circles and open triangles represent the diffraction peaks characterized by forms I, II and 0, respectively.



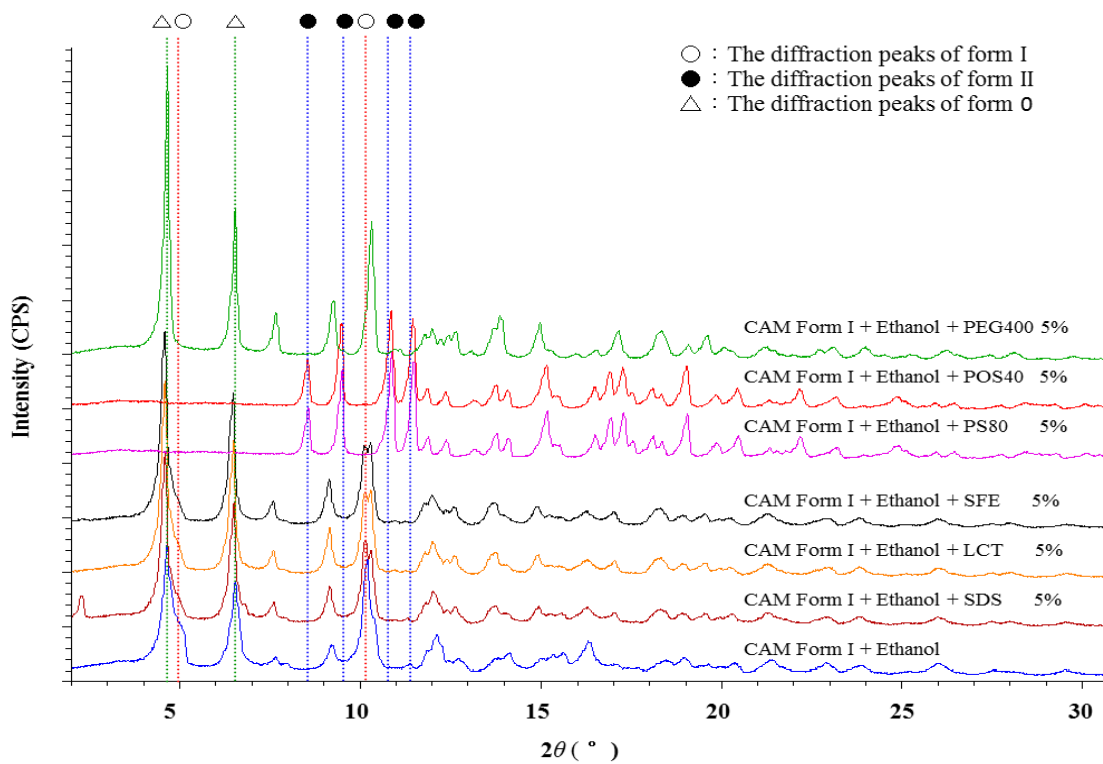
**Fig. 2-4. Effect of the amount of ethanol added during the granulation of form II in the presence of (a) 5 wt% PS80, (b) 5 wt% POS40 and (c) 5 wt% PEG400 on the PXRD patterns of the resulting wet granulation powders.**

Open circles, closed circles and open triangles represent the diffraction peaks characterized by forms I, II and 0, respectively.

### 2.3.2 エタノールを用いた CAM Form I の湿式造粒粉末の PXRD

次に、CAM の Form I をエタノールで湿式造粒する際の各種添加剤の効果について検討した。Form I を 30 wt% のエタノールで湿式造粒した粉末は、Form II に特徴的な回折ピークは認めず、エタノールの溶媒和物である Form 0 に特徴的な  $2\theta=4.7^\circ$  および  $6.6^\circ$  の回折ピークが出現し強度が増加していることが認められた。更に同様の結果が SDS, LCT, SFE および PEG400 を添加した造粒粉末でも観察され、完全な Form II 粉体を得ることは出来なかった。一方、PS80 もしくは POS40 を加えた場合は、Form 0 および Form I に特徴的な回折ピークは消失し、Form II へ完全に相転移していることが確認された (Fig. 2-5)。

以上より、Form II の種晶が発生しにくい Form I のエタノール造粒においては、PEG400 と PS80 および POS40 の効果は異なっており、PEG400 は PS80 と POS40 に比べ、Form I から II に向けた負のエンタルピー反応を高める効果は弱いものと考えられた。PS80 や POS40 は親水基と疎水基を有する界面活性構造を有しているのに対し、PEG400 には疎水基が存在しない。従って、Form I のエタノール造粒に起因する相転移には、ポリオキシエチレン鎖に加え、親水基と疎水基を有する両親媒性構造が関与しているものと考えられた。



**Fig. 2-5. PXRD patterns of the wet granulation powders of form I prepared with 30 wt% ethanol in the absence or presence of a surfactant or polymer.**

Open circles, closed circles and open triangles represent the diffraction peaks characterized by forms I, II and 0, respectively.

### 2.3.3 CAM Form I と Form II の IR スペクトルの比較

前章も含め、ここまでの結果より CAM の相転移には特定の添加剤に共通して存在するポリオキシエチレン鎖が関与している可能性が示唆された。このことを確認するため、Form I の精製水による湿式造粒に焦点を絞り FT-IR を用いた評価を実施することとした。

最初に、Form I と Form II の IR スペクトルを比較することにより、結晶構造の違いを把握することに努めた。その結果、両結晶間では A:  $3300\sim 3470\text{ cm}^{-1}$ , B:  $2770\sim 2980\text{ cm}^{-1}$ , C:  $1250\sim 1460\text{ cm}^{-1}$  のスペクトルに違いが認められた (Fig. 2-6)。

A の領域は、分子内水素結合に起因する O-H の伸縮振動に帰属すると考えられ、Form I には  $3459\text{ cm}^{-1}$  にピークを有するブロードな吸収が 1 つ認められたのに対し、Form II には  $3467\text{ cm}^{-1}$  と  $3395\text{ cm}^{-1}$  にピークを有する吸収が確認された。このことから各結晶形により形成される水素結合の種類や強さが異なっているものと推察された。

一方、B の領域は  $\text{CH}_3$  基に由来する C-H 伸縮振動、C の領域は  $\text{CH}_3$  基に由来する C-H の変角振動に帰属するものと推定された。CAM の分子内には水酸基やメチル基が多数存在しており、これらの結晶構造内における配列が水素結合の影響を受けて変化することにより、両結晶形における FT-IR の結果に差が生じたものと考えられた。実際に、Form I を精製水で湿式造粒することにより Form II に一部転移していることから、CAM の相転移には水素結合が関与しているものと思われた。

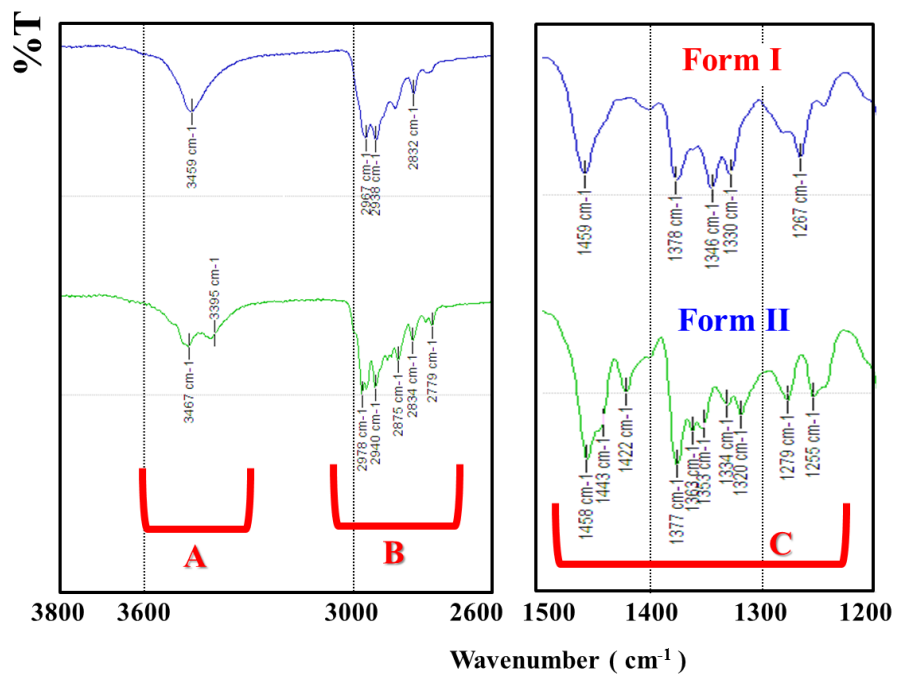


Fig. 2-6. IR spectrums of CAM form I and form II

### 2.3.4 CAM Form I と PS80 の相互作用について

次に Form I の相転移に及ぼす PS80 の効果を評価するため、Form I 単独、PS80 単独、それぞれの PM および GP の IR スペクトルを比較評価した。この時、PS80 の親水基 ポリオキシエチレン鎖 (-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-OH) 由来の分子振動や回転の情報を収集するため、1100~1500 cm<sup>-1</sup> の指紋領域のスペクトルに着目した。得られた IR スペクトルを Fig. 4-3 に示す。

まず PS80 単独の吸収スペクトルについて、下記の通りに帰属した。

1735 cm<sup>-1</sup> : エステル由来の C=O の伸縮振動

1458 cm<sup>-1</sup> : CH<sub>2</sub> 直鎖由来の C-H 変角振動

1350 cm<sup>-1</sup> : CH<sub>2</sub> 由来の C-H 変角振動

1298 cm<sup>-1</sup> : -O-H 由来の O-H 変角振動

1249 cm<sup>-1</sup> : エーテル由来の C-O 伸縮振動

続いて、PS80 単独の IR スペクトルが Form I と接触することにより、どのように変化するのか、PM および GM の IR スペクトルと見比べることにより下記の通り考察した。なお、PM 中の CAM は Form I から Form II に一部転移していることを PXRD によって確認した。

1350 cm<sup>-1</sup> 付近の吸収に着目すると、PS80 単独ではこの付近に CH<sub>2</sub> 由来の C-H 変角振動に帰属すると思われる吸収が認められたのに対し、Form I との PM、GP では短波長側にシフトする傾向を示した (1350 cm<sup>-1</sup> から 1355 cm<sup>-1</sup> 付近へ)。このことから、PS80 の-CH<sub>2</sub> 由来の吸収が CAM との相互作用により影響を受けたものと推察した (Fig. 2-7, A)。

次に 1298 cm<sup>-1</sup> 付近の吸収に着目すると、PS80 単独ではこの付近に-O-H 由来の O-H 変角振動に帰属すると思われるブロードな吸収が認められたのに対し、Form I との PM、GP には認めなかった。この場合、PM や GP では、PS80 の濃度が低く、PS80 に帰属する吸収を評価するには検出限界以下であった可能性も考えられるが、吸収スペクトルを拡大してもノイズレベルの吸収すら認めなかったことから、当該吸収が Form I と接触することにより弱まったと考えることが妥当と判断した。従って、PS80 の-OH



が CAM との相互作用に関係していると推察した (Fig. 2-7, B)。

最後に  $1249\text{ cm}^{-1}$  付近の吸収に着目すると、PS80 単独ではエーテル由来の C-O 伸縮振動に帰属すると思われる吸収が認められた。一方、Form I との PM, GP では  $1243\text{ cm}^{-1}$  にブロードな吸収が検出され、PS80 単独の場合よりも長波長側にシフトする傾向を示した。これより PS80 の C-O 伸縮振動が CAM との相互作用により影響を受けたと推察した (Fig. 2-7, C)。

以上のことより、PS80 のポリオキシエチレン鎖が CAM との相互作用に関係していると推察した。

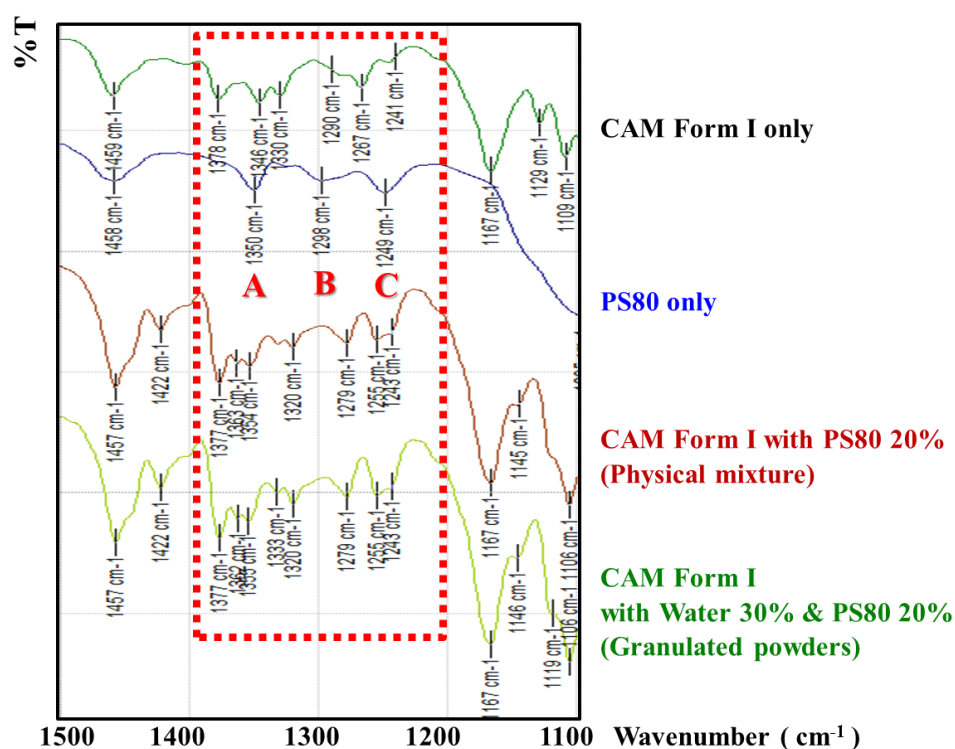


Fig. 2-7. Comparison of IR spectrums of form I, PS80, the physical mixture of form I and PS80, and the wet granulation powders of form I prepared with 30 wt% water in the presence of PS80.

### 2.3.5 CAM Form I と POS40 の相互作用について

Form I の相転移に及ぼす POS40 の効果を評価するため、2.3.4 と同様に 1100～1500  $\text{cm}^{-1}$  の指紋領域のスペクトルに着目し、それぞれの粉末における IR スペクトルを比較評価した。得られた IR スペクトルを Fig. 2-8 に示す。

まず POS40 単独の吸収スペクトルについて、下記の通りに帰属した。

1736  $\text{cm}^{-1}$  : エステル由来の C=O の伸縮振動。

1467  $\text{cm}^{-1}$ , 1413  $\text{cm}^{-1}$  : CH<sub>2</sub> 直鎖由来の C-H 変角振動。

1360  $\text{cm}^{-1}$  : -O-H 由来の O-H 変角振動。

1341  $\text{cm}^{-1}$  : エステル由来の C-O 伸縮振動。

1279  $\text{cm}^{-1}$ , 1240  $\text{cm}^{-1}$  : エーテル由来の C-O 伸縮振動。

続いて、POS40 単独の IR スペクトルが Form I と接触することにより、どのように変化するのか、PM および GM の IR スペクトルと見比べることで下記の通り考察した。なお、PM 中の CAM は Form I のままであり、相転移していないことを PXRD によって確認した。

1467  $\text{cm}^{-1}$  付近の吸収に着目すると、POS40 単独では 1467  $\text{cm}^{-1}$  に吸収が認められた。一方、Form I との PM では 1460  $\text{cm}^{-1}$  に、GP では 1457  $\text{cm}^{-1}$  に吸収が検出され、Form I 単独、Form II 単独で認められるものと波数がほぼ一致していることから、POS40 由来の吸収は検出限界以下となったと考えられた。POS40 のこの波長における吸収は大きいいため、CAM と相互作用していないのならば GP にも 1467  $\text{cm}^{-1}$  付近にショルダーを持つ吸収が検出されるはずである。それにも関わらず、GP における当該波長の吸収は、シャープな形状となったことから、POS40 の C-H 変角振動が CAM との相互作用により影響を受けたものと推察した (Fig. 2-8, A)。

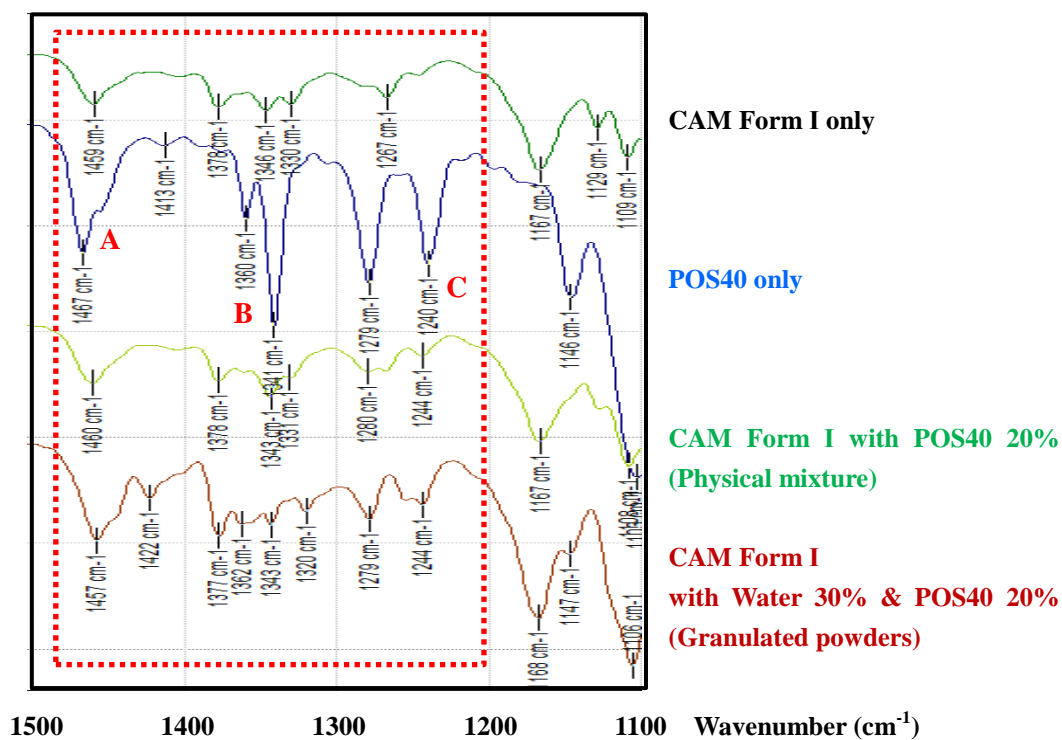
次に 1360  $\text{cm}^{-1}$  付近の吸収に着目すると、POS40 単独ではこの付近に -O-H 由来の O-H 変角振動に帰属すると思われるブロードな吸収が認められた。一方、Form I との PM において、この吸収はわずかに認められるものの検出限界に近い状態となった。しかし GP では PM に比べ、1362  $\text{cm}^{-1}$  の吸収が再び強くなる傾向を示した。この吸収は GP 中の CAM が Form II に転移したことに起因して生じたものと考えられるが、Fig. 2-6 に示

す Form II 単独の場合よりもブロードであることが観察された。従って、POS40 の-OH が CAM との相互作用に関係していると推察した (Fig. 2-8, B)。

最後に  $1240\text{ cm}^{-1}$  付近の吸収に着目すると、POS40 単独では  $1240\text{ cm}^{-1}$  に吸収が認められた。一方、Form I との PM および GP では  $1244\text{ cm}^{-1}$  にブロードな吸収が検出され、POS40 単独の場合よりも短波長側にシフトする傾向を示した。このことより POS40 の C-O 伸縮振動が CAM との相互作用により変化したものと推察した (Fig. 2-8, C)。

以上より、PM において CAM は相転移していないものの、POS40 自体の IR スペクトルは CAM との接触により影響を受けているものと考えられた。そして、水が媒介となることにより CAM の相転移が急速に進むものと思われる。

上述のことより POS40 ポリオキシエチレン鎖が CAM との相互作用に関係していると推察した。



**Fig. 2-8.** Comparison of IR spectrums of form I, POS40, the physical mixture of form I and POS40, and the wet granulation powders of form I prepared with 30 wt% water in the presence of POS40.

### 2.3.6 CAM Form I と PEG400 の相互作用について

Form I の相転移に及ぼす PEG400 の効果を評価するため、2.3.4, 2.3.5 と同様に 1100 ~1500  $\text{cm}^{-1}$  の指紋領域のスペクトルに着目し、それぞれの粉末における IR スペクトルを比較評価した。得られた IR スペクトルを Fig. 2-9 に示す。

まず PEG400 単独の吸収スペクトルについて、下記の通りに帰属した。

1455  $\text{cm}^{-1}$  :  $\text{CH}^2$  直鎖由来の C-H 変角振動。

1351  $\text{cm}^{-1}$  :  $\text{CH}^2$  由来の C-H 変角振動。

1297  $\text{cm}^{-1}$  : -O-H 由来の O-H 変角振動。

1250  $\text{cm}^{-1}$  : エーテル由来の C-O 伸縮振動。

続いて、PEG400 単独の IR スペクトルが Form I と接触することにより、どのように変化するのか、PM および GM の IR スペクトルと見比べることに下記の通り考察した。なお、PM 中の CAM は Form I から Form II に一部転移していることを PXRD によって確認した。

1298  $\text{cm}^{-1}$  付近の吸収に着目すると、PEG400 単独ではこの波長に-O-H 由来の O-H 変角振動に帰属すると思われる吸収が存在したものの、Form I との PM, GP には認められず完全に消失した。この場合、PM や GP では、PEG400 の濃度が低く、PEG400 に帰属する吸収を評価するには検出限界以下であった可能性も考えられるが、吸収スペクトルを拡大してもノイズレベルの吸収すら認めなかったことから、当該吸収が Form I と接触することにより弱まったと考えることが妥当と判断した。これより、PEG400 の -OH が CAM との相互作用に影響を受けたものと推察した (Fig. 2-9, A)。

次に 1249  $\text{cm}^{-1}$  付近の吸収に着目すると、PEG400 単独では 1249  $\text{cm}^{-1}$  にエーテル由来の C-O 伸縮振動に帰属すると思われる吸収が認められたが、Form I との PM および GP では 1255~1243  $\text{cm}^{-1}$  にブロードな吸収が認められ、PEG400 単独の場合と比べ、吸収帯が変化している傾向を示した。これにより、PEG400 の C-O 伸縮振動が CAM との相互作用により影響を受けたものと推察した (Fig. 2-9, B)。

以上のことより、PEG400 のポリオキシエチレン鎖が CAM との相互作用に関係していると推察した。

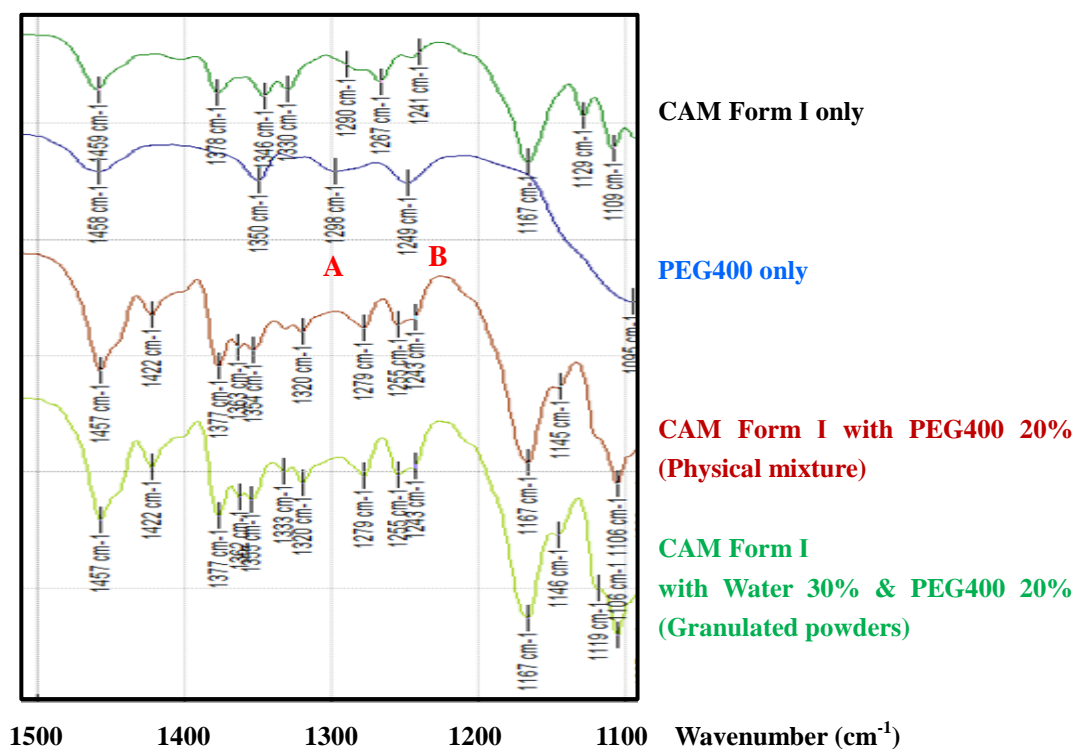


Fig. 2-9. Comparison of IR spectrums of form I, PEG400, the physical mixture of form I and PEG400, and the wet granulation powders of form I prepared with 30 wt% water in the presence of PEG400.

## 第4節 まとめ

本章において、CAM の準安定形結晶である Form I と安定形結晶である Form II のエタノールによる湿式造粒におよぼす各種添加剤の影響を検討することで、以下の知見が得られた。

- 1) Form II をエタノールにより湿式造粒した場合、PS80、POS40 及び PEG400 を CAM の重量に対して少なくとも 5wt%加えることにより、最終的に得られる造粒粉末は Form I ではなく Form II であった。特に PS80 を加えることによりエタノール量が変わ動しても Form I への相転移は認めず、頑健性の高い Form II の製造法を確立できるものと思われる。
- 2) Form I をエタノールにより湿式造粒する場合、PS80 および POS40 を添加した場合のみ、Form II へ相転移することが確認された。一方、それ以外の添加剤は、Form 0 を含む Form II 以外の結晶が生じることが示された。

また、FT-IR を用いて Form I とポリオキシエチレン鎖を有する添加剤(PS80, POS40, PEG400) との相互作用を評価した結果より、以下の知見を得た。

- 3) Form I と Form II では結晶構造内に形成される水素結合の種類や強さが異なっており、それに付随し、CAM の結晶構造内に存在するメチル基の配列位置に違いが生じているものと推察された。
- 4) 通常、界面活性剤は添加する量により、分子構造内に存在する疎水基の長さや親水基の大きさ、親水基の性質（非イオン性、イオン性および両性）等によって疎水性薬物の表面状態や凝集性が変わることが報告されている<sup>32)</sup>。従って、界面活性剤や親水性基剤の添加量や親水基、疎水基の化学的性質が薬物の結晶転移に関わっていることが推測される。FT-IR の結果より、Form I の水を媒介にした Form II への相転移は、ポリオキシエチレン鎖由来の水酸基と CAM の水酸基との間で形成される水素結合が起点となり、エントロピーの高い Form I の結晶構造からエントロピーの低

い Form II へと相転移が誘発されたものと示唆された。

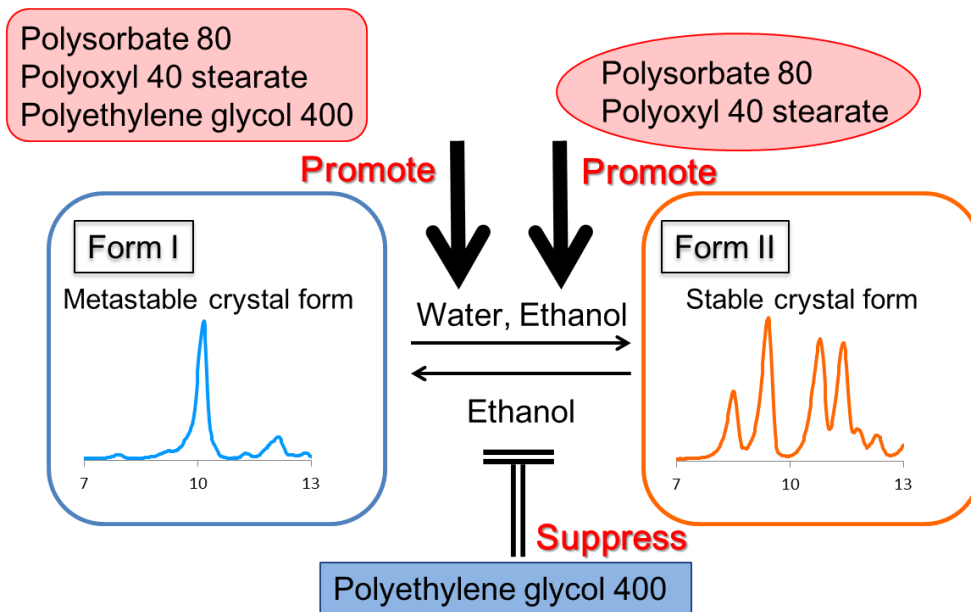
前章も含め、これまで得られた結果を考え合わせると、CAM の湿式造粒工程において、次のような経路で CAM の相転移が進むものと推察された (Fig.2-10)。

A: Form II の種晶が発生しやすい Form I の精製水による湿式造粒において、PS80, POS40 および PEG400 を加えることにより Form II への相転移が促進される。

B: Form II はエタノールにより湿式造粒される場合、一般的に Form 0 を介して Form I への相転移が認められる。そこに PS80 および POS40 を加えることにより、A の効果と同様に、発生した Form 0 並びに I を再び Form II へ相転移させているものと考えられる。また Form I のエタノールによる湿式造粒においても、当該添加剤により Form II への相転移が促進していると推察した。

C: PEG400 は、Form I のエタノールによる湿式造粒に配合しても、Form II への転移を促進する能力は乏しかった。従って、当該添加剤は PS80 や POS40 と異なり、Form I から Form II に向けた負のエンタルピー反応を高める効果は弱いものと考えられた。従って、Form II のエタノールによる湿式造粒における PEG400 の効果は、B で記述したものとは異なり、Form II の別結晶への転移を抑制しているものと推察した。





**Fig. 2-10. The effect of excipients owning polyoxyethylene chain affecting the crystal transition of CAM**

特に PS80 および POS40 を用いることにより，CAM の造粒前の結晶形や湿式造粒溶媒に依存することなく Form II が得られることが明らかとなった。

## 第3章 Form II を含む CAM 錠の処方設計

### 第1節 はじめに

一般的に製剤の製造プロセスには、一定の混合状態にある原料粉末に、結合剤等を添加して粒子を成長させる造粒操作、湿式造粒粉末を乾燥、整粒して得られた粉末と少量の滑沢剤を均一に混合する滑沢混合操作、滑沢混合粉末を一定の圧縮圧力で成形して錠剤を得る打錠操作等が挙げられる。ここで、セフェム系抗生物質セファレキシンや血糖降下剤クロルプロパミドの結晶多形において、打錠時の圧縮圧力に依存して結晶化度が低下し、安定性が悪化することが報告されている<sup>33,34)</sup>。降圧剤カンデサルタンメドキシミルも打錠圧力に依存して安定性が悪化するが、低融点物質やマクロゴールを処方中に配合することにより、これを回避する手段が報告されている<sup>35,36)</sup>。従って、結晶多形を有する物質を製剤化する場合、造粒工程以外に打錠工程における圧縮圧力が結晶転移のトリガーとなる場合も考えられるため注意する必要がある。

前章では、CAM の湿式造粒工程において特に PS80 を配合することにより CAM の相転移を制御できることが示された。そこで本章では、CAM 錠の製剤化工程において実際に PS80 を配合し、打錠プロセスを含む一連の製造工程を経ても、目的とする Form II 製剤が得られることを確認することとした。あわせて、CAM の結晶形と溶出性および製剤物性との関係を明確にすることを試みた。

### 第2節 実験方法

#### 3.2.1 試料

CAM, PS80 および精製水は 1.2.1 に示すものを使用した。合成エタノールについては、2.2.1 に示すものを使用した。CAM Form I の粉砕物は、ハンマーミル (フリッチュ・ジャパン (株)) により粉砕することで得られた。CAM 錠において賦形剤として使用するトウモロコシデンプンは日本食品化工より、崩壊剤として使用する低置換度ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC) の LH-11(平均粒子径: 55  $\mu\text{m}$ , 置換度: 11%) は、信越化学工業株式会社より購入した。また流動化剤である軽質無水ケイ酸はフロイント産業株式会社より、滑沢剤であるステアリン酸マグネシウム (植物性) は太平化学産業株式会

社より購入したものを使用した。

### 3.2.2 CAM 錠の製剤化検討

処方 Table 3-1 に示す。また製剤化に用いた CAM の粒度を Table 3-2 に示す。

Table 3-1 に従い、CAM、トウモロコシデンプン、L-HPC および軽質無水ケイ酸を 250 錠/ロットスケールに相当する量を秤量し、乳鉢乳棒で 1 分混合した。次いで PS80 を溶解させた練合液を加えて湿式造粒を施した。練合粉末を 8 号篩で湿式整粒し、水練合粉末の場合は 70°C、エタノール練合粉末の場合は 50 °C で 1~2 時間乾燥を行った。乾燥後、22 号篩で整粒を行い、整粒粉末に軽質無水ケイ酸、ステアリン酸マグネシウムを加え、ビニール袋にて 60 回混合した。その後、コンパクションアナライザー（株）菊水製作所）にて直径 10mm の 2 段 R 杵を用いて打圧約 6.0kN で成形することにより、320 mg/錠の錠剤を得た。

**Table 3-1. Compositions of the CAM tablets.**

Ingredient		Formulation					
		F1	F2	F3	F4	F5	F6
Granulation	Form II of CAM – intact	200.0	—	—	—	200.0	200.0
	Form I of CAM – intact	—	200.0	200.0	—	—	—
	Form I of CAM – hammer milling	—	—	—	200.0	—	—
	Corn starch	52.4	62.4	52.4	52.4	62.4	52.4
	L-HPC	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
	Light anhydrous silicic acid	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	Polysorbate 80	10.0	—	10.0	10.0	—	10.0
	Granulation solvent	Water	Water	Water	Water	Ethanol	Ethanol
Before compression	Light anhydrous silicic acid	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
	Magnesium stearate	9.6	9.6	9.6	9.6	9.6	9.6
Total		320.0	320.0	320.0	320.0	320.0	320.0

The each value represents the amount (mg/tablet) of each additives added in CAM tablet.

**Table 3-2. Particle sizes of the untreated CAM and the hammer milled CAM samples.**

Form of CAM	Particle size (µm)			
	Intact		Ground	
	$D_{50}$	$D_{90}$	$D_{50}$	$D_{90}$
<b>II</b>	$3.1 \pm 0.4$	$12.9 \pm 0.7$	—	—
<b>I</b>	$25.1 \pm 2.6$	$100.3 \pm 8.2$	$16.5 \pm 0.9$	$47.2 \pm 3.2$

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

### 3.2.3 錠剤物性の特性評価

#### 3.2.3.1 錠剤の厚みおよび硬度測定

得られた CAM 錠について、厚みおよび硬度をダイヤルゲージ（榊尾崎製作所）、硬度測定装置（フロイント産業株）を用いてそれぞれ測定した。測定は、3 錠に対して行い平均値を算出した。

#### 3.2.3.2 崩壊試験

崩壊試験は、崩壊試験装置（宮本理研工業株）を用いて、第 16 局日本薬局方に準じて実施した。試験液には  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  の精製水を用いた。測定は、3 錠に対して行い平均値を算出した。

#### 3.2.3.3 溶出性評価

溶出試験は、溶出試験装置（富山産業株）を用いて、第 16 局日本薬局方 パドル法により実施した。試験液は  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  の溶出試験第 I 液（pH1.2 液）、溶出試験第 II 液（pH6.8 液）900 mL を用い、パドル回転は 50 rpm に設定した。あらかじめ設定した時間間隔で試験液 20 mL をサンプリングし、同容量の試験液を補充した。サンプリングした試験液は口径 0.45  $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過した後、薄めた 0.2 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（1→3）で希釈した。

試験溶液中に溶出した CAM 量は、Shimadzu LC-20AD ポンプ、Shimadzu SPD-20A UV 検出器、Shimadzu CTO-20AC カラムオーブンおよび Shimadzu SIL-20AC オートインジェクター（以上、株島津製作所）よりなる高速液体クロマトグラフィー（HPLC）システムにより測定した。操作条件は次の通りである。UV 波長：210 nm、カラム：内径 4.6 mm×長さ 15 cm のステンレス管に 5  $\mu\text{m}$  の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリカゲルを充填した Inertsil ODS-2（ジーエルサイエンス株式会社）、カラム温度：50 $^{\circ}\text{C}$  付近の一定温度、移動相：薄めた 0.2 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（1→3）とアセトニトリル（13：7）の混合溶液、流速：1.3 mL/min。

pH1.2 液における CAM の溶出率は、沢井製薬 クラリスロマイシン錠 200 mg「サワイ」の承認申請書<sup>37)</sup>に準拠し、HPLC にて検出された CAM ピーク面積および CAM の分解物ピークを感動係数 1.07 で除した値の総和より産出した。

pH6.8 液における CAM の溶出率は、沢井製薬 クラリスロマイシン錠 200 mg「サワイ」の承認申請書<sup>37)</sup> および第 16 局日本薬局方クラリスロマイシン錠の項<sup>38)</sup> に準拠し、HPLC にて検出された CAM ピーク面積を用いて算出した。

試験は、3 錠に対して行い平均値を算出した。

#### 3.2.3.4 PXRD による結晶形評価

1.2.4 に示す方法により、CAM 錠に含まれる CAM の結晶形を評価した。

#### 3.2.3.5 統計解析

各種 CAM の硬度および崩壊時間は、Table 3-1 に示す F1 の物性値を対象として、それ以外の処方により得られた CAM 錠の値について有意差検定を行った。最初に F 検定により、2 標本間の分散について検定を行った後、等分散が仮定された場合はスチューデントの  $t$  検定により、非等分散が仮定された場合はウェルチの  $t$  検定により有意水準 1% で平均値の差を検定した。

## 第3節 結果及び考察

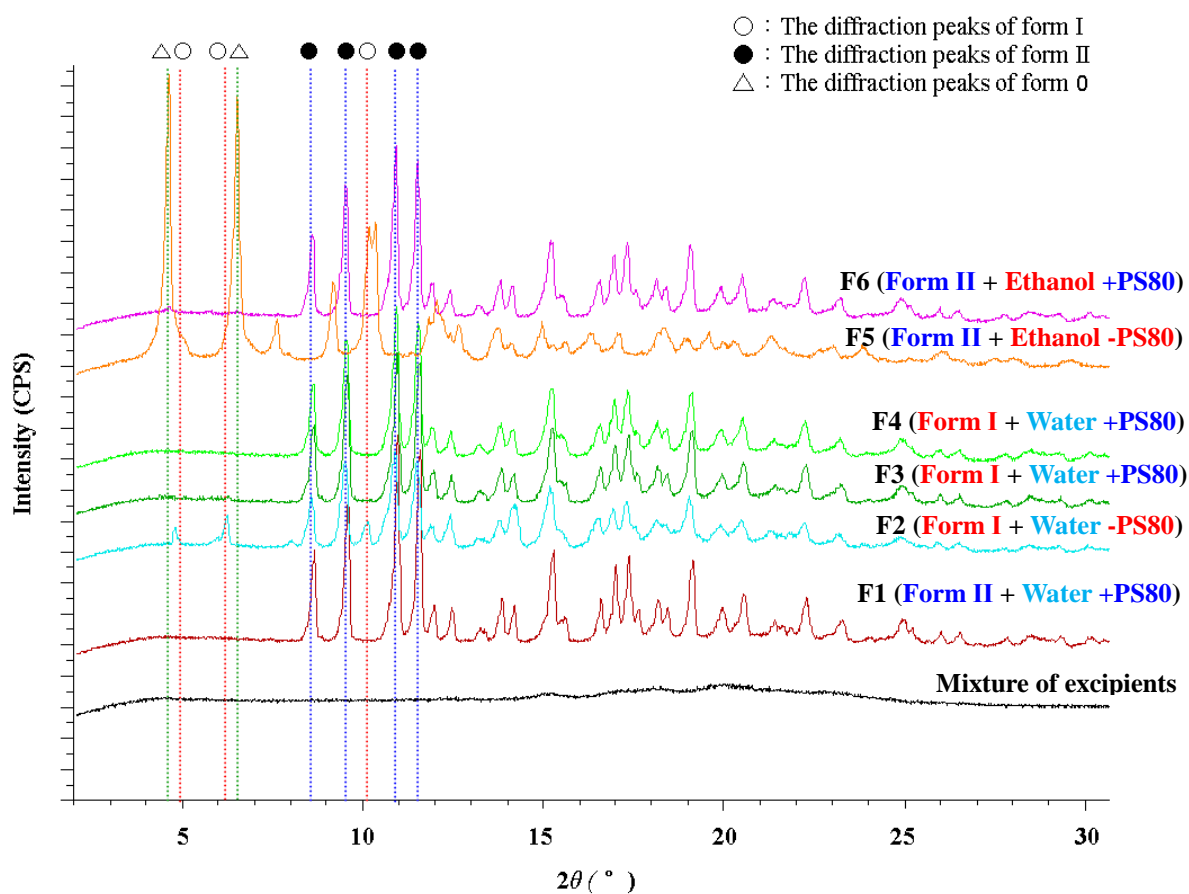
### 3.3.1 CAM 錠の製剤化検討

前章までに示した通り、CAM の湿式造粒工程において PS80 を配合することにより CAM の相転移を制御できることが明らかとなった。そこで、CAM 錠の製剤化工程において実際に PS80 を配合し、CAM の結晶転移に及ぼす影響を調査した。

最初に Table 3-1 に従って得られた CAM 錠について、PXRD パターンを評価した。結果を Fig. 3-1 に示す。F1 は Form II に PS80 を添加し、精製水で湿式造粒を行ったオーソドックス処方であり、最終製剤中の CAM は Form II の PXRD パターンを示した (Fig. 3-1, F1)。F2, F3 および F4 は、Form I を用いて水練合を行った場合の PS80 の効果について検討した処方群である。F3 で用いた Form I の粒子径は Form II に比べ大きく (Table 3-2)、このことが CAM 錠の物理化学的性質に影響を及ぼすことが懸念された。従って F4 では、Form I 粉碎物を使用し、粒子径の影響についても評価することとした。なお、Form I は粉碎により別結晶に転移しないことを確認している。その結果、Form I に PS80 を添加せずに水練合を行うことで得られた錠剤中の CAM は、Form II に特徴的な回折ピークの強度は増加しているものの、Form I に特徴的な回折ピークを認め、Form II への完全な相転移は認められなかった (Fig. 3-1, F2)。一方で、PS80 を添加した場合は、CAM の粒子径に依存することなく Form II に完全に相転移した製剤が得られた (Fig. 3-1, F3 & F4)。

F5 および F6 は、Form II を用いてエタノール練合を行った場合の PS80 の効果について検討した処方群である。その結果、PS80 無添加にて得られた F5 の CAM は、Form 0 および Form I に特徴的な回折ピークを認め、Form II 以外の別結晶に一部相転移していることが確認された (Fig. 3-1, F5)。しかし PS80 を添加することにより得られた製剤中の CAM は、Form II の PXRD パターンと完全に一致した (Fig. 3-1, F6)。

以上より、Form I を用いて精製水による湿式造粒を行った場合、更には Form II を用いてエタノールによる湿式造粒を行った場合、CAM の重量に対して少なくとも PS80 を 5wt% 添加することにより、最終的に得られた錠剤中の CAM は、安定形の Form II であることが明らかとなった。



**Fig. 3-1. PXRD patterns of the various CAM tablets and a mixture of excipients.**

Open circles, closed circles and open triangles represent the diffraction peaks characterized by forms I, II and 0, respectively.



次に、PS80 を添加することにより最終的に Form II 錠として得られた F1, F3, F4 および F6 の製剤物性を比較することにより、PS80 の製剤物性に与える影響を評価した。得られた CAM 錠の製剤物性を Table 3-3 に示す。

**Table 3-3. Physical properties of the CAM tablets.**

Formulation	Hardness (N)	Thickness (mm)	Disintegration time (min)
F1	60.0 ± 2.6	5.03 ± 0.02	9.3 ± 0.5
F2	117.7 ± 8.3*	5.25 ± 0.02	1.0 ± 0.2*
F3	93.7 ± 1.5*	5.10 ± 0.01	3.6 ± 0.2*
F4	107.0 ± 7.2*	5.14 ± 0.01	2.6 ± 0.1*
F5	132.0 ± 5.0*	5.06 ± 0.03	28.0 ± 3.0*
F6	83.3 ± 5.1*	5.07 ± 0.01	4.4 ± 0.8*

Each data represents the mean value ± S.D. (n=3). \*  $p < 0.01$ , compared with F1.

その結果、Form II を精製水にて湿式造粒した F1 は成形性が低下した上、崩壊も延長する傾向を示した。一方、Form I を精製水にて湿式造粒して得られた F3, F4, Form II をエタノールにて湿式造粒して得られた F6 は、界面活性剤を添加したにも関わらず、成形性や崩壊性が悪化せず、F1 とは異なる製剤物性を示した。このことは PS80 を添加した Form II 錠において、製造時の結晶形や練合溶媒を変えることにより、界面活性剤の固体粒子表面に偏析する度合いが変化し、付随して製剤物性に差が生じたものと考えられた。

CAM 錠は低 pH 条件下において、錠剤表面にゲル層が形成されることにより、錠剤内部への低 pH 溶液の浸透を防ぎ、酸に弱い CAM の分解が抑制されることが薬効発現に寄与しているものと報告されている<sup>39)</sup>。従って、錠剤からの理想的な CAM の放出挙動は、胃内 (pH1.2 液) ではその放出速度が抑制され、小腸 (pH6.8 液) に到達した時点で速やかに崩壊、放出されることにある。本検討において、PS80 の添加の有無により、最終製剤の結晶形が異なり溶出性が変わることが考えられる。更には最終製剤の結晶形が同一であっても、界面活性剤の固体粒子表面に偏析する度合いが異なる場合、溶出試験における試験液の導水性が変化し、付随して崩壊律速となる溶出パターンを示すことが考えられる。以上より、pH1.2 液および pH6.8 液における CAM の溶出挙動に与える PS80 の影響について、各種検討製剤を用いて評価することとした。溶出結果に

ついて Fig. 3-2 に示す。pH1.2 液の溶出挙動は、最終製剤中の CAM の結晶形や界面活性剤の配合量に影響されることなく、いずれの製剤も溶出は類似しており、0 次放出パターンを示した (Fig. 3-2 (a) )。pH6.8 液に関しては、PS80 を添加して最終的に Form II 錠として得られた F1, F3, F4 および F6 では、異なる溶出挙動を示した。その中で最も初期溶出速度が速やかな製剤は、Form II をエタノールで湿式造粒した F6 であり、次いで Form I を用いて精製水で湿式造粒を行った F3, F4, 最も遅かったものは Form II を用いて精製水で湿式練合を行った F1 であった。この結果は、崩壊試験の結果と関連しており、F1, F3, F4 および F6 では、粒子表面における PS80 の偏析度合いが異なっているものと考えられた。また F3, F4 の比較において、スタート時点の Form I の粒子径を調整することにより溶出速度を制御できるものと考えられた。最終製剤の結晶形が Form II とは異なる F2, F5 は他の製剤よりも溶出速度が遅い傾向を示した。特に F5 は Form I へ一部結晶転移した影響により崩壊が延長しており、溶出試験開始から 30 分経過した時点でも完全に崩壊することはなかった。これは Form I を含む場合、錠剤表面に針状結晶 (Form II, Form IV) が形成され、これにより錠剤内部への導水が抑制されることにより崩壊遅延が発生したものと考えられた<sup>40)</sup>。一方、F2 の崩壊は速やかであったが、含まれる CAM は Form I と II の混晶であったため、付随して崩壊粒子が凝集しやすく、溶出速度が遅かったものと考えられた (以上, Fig. 3-2 (b) )。

以上の結果より、Form I もしくは Form II に PS80 を加え、練合溶媒に水もしくはエタノールを使用することにより得られた CAM 錠は、pH1.2 における溶出性は 0 次放出パターンを示しながら、pH6.8 液では溶出速度に違いが認められた。このことから、本手法は製剤化の目的に応じた CAM 錠の調製に有効な手段になると考えられた。

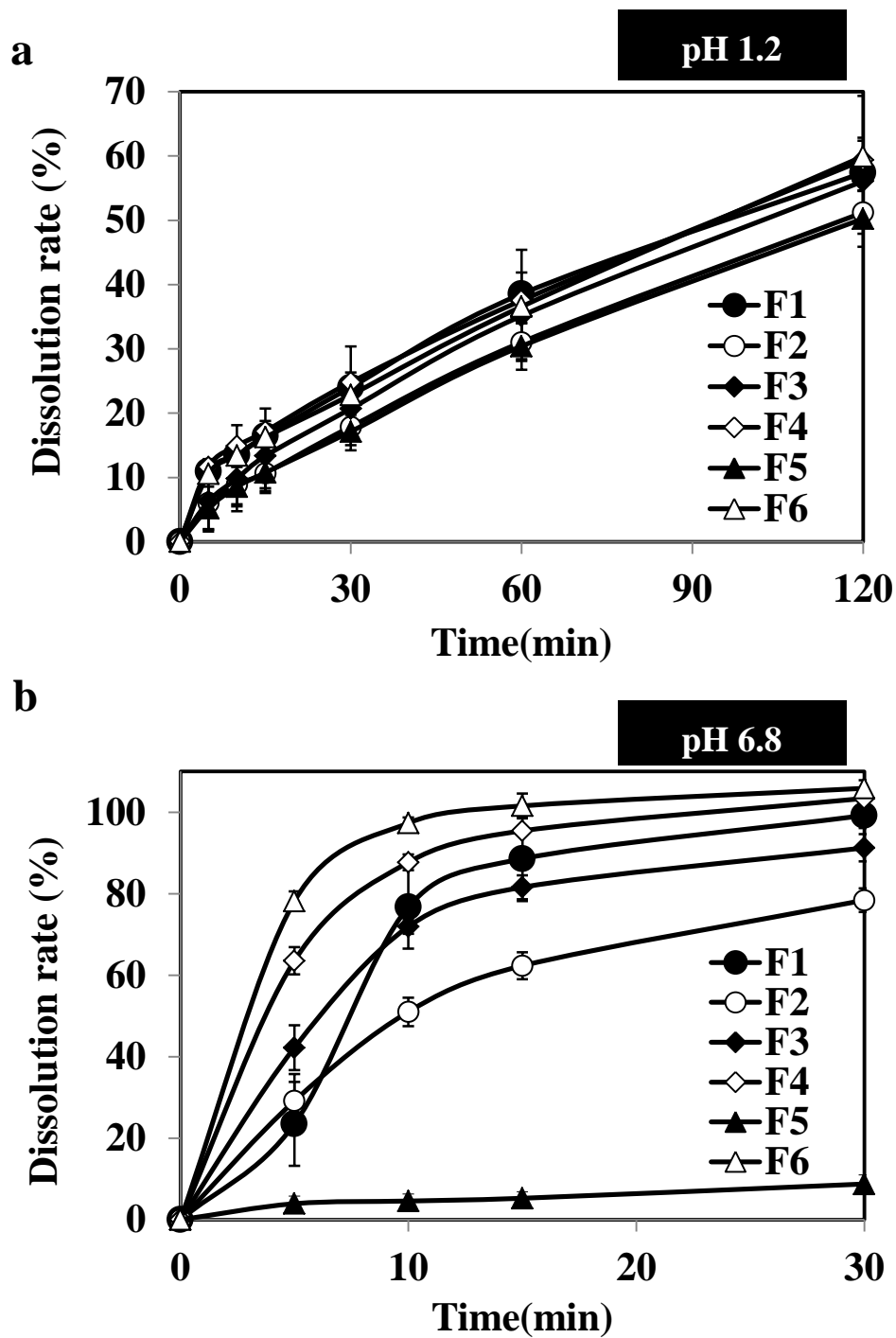


Fig. 3-2. Dissolution behaviors of various CAM tablets at (a) pH 1.2 and (b) pH 6.8. Each point represents the mean value  $\pm$  S.D. ( $n=3$ ).

## 第4節 まとめ

本章において、PS80 を処方中に配合することにより、製造前の CAM の結晶形や造粒溶媒に依存することなく Form II 錠剤が得られるか、更に製剤物性に与える影響を検討し、以下の知見が得られた。

- 1) CAM 錠の製剤化工程において実際に PS80 を配合し、打錠プロセスを含む一連の製造工程を経ても、目的とする Form II 製剤が得られることが実証できた。
- 2) 製剤製造時点の CAM 結晶や使用する練合溶媒によって、PS80 の造粒粒子表面に存在する割合が変わることにより、得られた製剤の製剤物性や溶出挙動を製剤設計の目的に応じて調節することが出来るものと示唆された。

PS80 を配合した CAM 錠の製剤化工程において、Form II への相転移をコントロールできたことは、下記に示すメリットが考えられ、CAM 製剤の新たな製剤設計技術として、今後の応用が期待される。

- A: ここで実証された Form II 製剤の製造法は、過去に報告されている技術<sup>9, 10, 12)</sup> に比べ簡便かつ低コストであることから、CAM 錠の製造を継続していく上で、新たな利益増出戦略へと応用が期待される。
- B: ここで実証された技術は、エタノールによる湿式造粒を施しても、安定結晶である Form II 錠を製造することが可能であったことから、機能性ポリマーを有機溶媒を用いて使用しても結晶転移を誘発することなく、恒常的に Form II 製剤を製造することが出来ると思われる。従って CAM 製剤の LCM の取り組みにも応用可能な技術として期待される。

## 総括

今回、我々は CAM をモデル薬物とし、①製剤化工程中で CAM の相転移を制御し、従来よりも低コストで安定結晶 (Form II) を産出でき、②LCM を考慮して、造粒前の結晶形や造粒溶媒に関わらず安定的に Form II 製剤を得る手法の確立を目的に検討を行った。

以下に得られた知見を総括する。

### 1) 精製水を用いた湿式造粒法による CAM の結晶転移に及ぼす各種界面活性剤および PEG400 の効果について

CAM の準安定形結晶である Form I と、安定形結晶である Form II の精製水による湿式造粒におよぼす各種添加剤の影響を検討した。その結果、Form I を精製水により湿式造粒する場合、PS80、POS40 及び PEG400 を CAM の重量に対して少なくとも 5wt% 以上加えることにより、容易に Form II に相転移させることができた。更に、前述の添加剤を加えることにより認められた相転移は、練合溶媒量の変動しても誘発されることが示された。一方、Form II を精製水により湿式造粒する場合、SDS を添加した場合のみ、添加量依存的に安定結晶を別結晶へ転移させることが示唆された。一方、それ以外の添加剤は、安定結晶の相転移を誘発しないことが示された。

### 2) エタノールを用いた湿式造粒法による CAM の結晶転移に及ぼす各種界面活性剤および PEG400 の効果、並びに CAM の相転移メカニズムについて

続いて Form I と Form II のエタノールによる湿式造粒におよぼす各種添加剤の影響を検討した。その結果、Form II をエタノールにより湿式造粒する場合、PS80、POS40 及び PEG400 を CAM の重量に対して少なくとも 5wt% 加えることにより、最終的に得られた造粒粉末は Form I ではなく Form II であった。特に PS80 を加えることによりエタノール量の変動しても Form I への相転移は認めず、頑健性の高い Form II の製造法が確立できるものと期待された。更に、Form I をエタノールにより湿式造粒する場合、PS80 および POS40 を添加した場合のみ、Form II へ相転移することが確認された。

次に各種添加剤の及ぼす CAM の相転移メカニズムを明らかにすべく、Form I の精製水による湿式造粒に焦点を絞り検討を加えた。

Form I とポリオキシエチレン鎖を有する添加剤 (PS80、POS40、PEG400) との相互

作用を FT-IR を用いて評価した結果、Form I の水を媒介にした Form II への相転移は、前述の添加剤に共通して存在する分子構造 ポリオキシエチレン鎖由来の水酸基と CAM の水酸基との間で形成される水素結合が起点となり、エントロピーの高い Form I の結晶構造からエントロピーの低い Form II へと相転移が誘発されたものと示唆された。

ここまでの結果より、CAM の湿式造粒工程に少なくとも PS80、POS40 を加えることにより、造粒前の CAM の結晶形や造粒溶媒に関わらず安定的に Form II 製剤を得る手法が確立できることが示唆された。

従って次の段階として、CAM 錠の製剤化工程において実際に PS80 を配合し、打錠プロセスを含む一連の製造工程を経ても、目的とする Form II 製剤が得られるかを確認することとした。

### 3) Form II を含む CAM 錠の処方設計

Form I もしくは Form II に PS80 を加え、練合溶媒に水もしくはエタノールを使用して湿式造粒を行った。その後、圧縮工程を経ることにより CAM 錠を調製した。その結果、PS80 を加えた CAM 錠は結晶形や造粒溶媒に依存することなく、製剤中の結晶形は全て Form II であることを確認した。更に pH1.2 における溶出性は 0 次放出パターンを示しながら、pH6.8 液ではいずれも比較的速やかな溶出性を有することを実証した。

以上より、可溶化作用を有しポリオキシエチレン鎖を分子構造内に持つ親水性添加剤を用いることにより、CAM の相転移を湿式造粒法により制御することに成功した。また、今回得られた難溶性薬物の多形転移に親水性添加剤の構造特異性が関与するという知見は、多くの可能性を秘めていると考えられる。新薬候補化合物は難溶性の特性を有していることが多く<sup>46)</sup>、更に現在市販されている薬物では約 40% が難溶性薬物である<sup>47)</sup>と推定されている。従って、難溶性薬物の生物学的利用能 (BA) を改善する等の検討は今後も継続されるだろう。その手段の一つとして、汎用性の高い界面活性剤の可溶化作用を利用することは有用である。その上で、当該添加剤の配合により、難溶性薬物の相転移を制御できる可能性があり、BA 改善とともに相転移制御効果に着目することは製剤化技術の更なる発展につながると考える。実際に界面活性剤を用いて製剤中で結晶形の相転移を制御した事例として、セフェム系抗生物質セフジトレンピボキシルの

非晶質製剤<sup>48,49)</sup>があり、当該添加剤を用いた製剤化手法の可能性が期待される。

可溶化作用を有する親水性添加剤を用いて、CAMの相転移を湿式造粒法により制御したという成果は、企業の利益創出戦略へつながり、更に今後の新薬候補化合物の探索戦略にも有用な知見を与えるものとして、低コストでスピーディーな粒子設計技術に成り得ると期待する。

## 謝辞

終わりに臨み、本研究を遂行するにあたり、終始ご懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜りました静岡県立大学薬学部 板井 茂教授、岩尾 康範准教授、野口 修治元准教授（現東邦大学薬学部 教授）に深甚なる謝意を表します。

また、本論文作成にあたり、種々のご助言、ご校閲を賜りました本薬学部 奥 直人教授、並木 徳之教授ならびに尾上 誠良教授に謹んで感謝の意を表します。

更に本研究の機会を与えてくださりご配慮を賜りました沢井製薬株式会社 製剤研究部 徳永 雄二 部長、柳 敏宏マネージャーに心より感謝申し上げます。

最後に、研究遂行中及び論文執筆中に公私にわたり様々な場面でお世話になりました方々に感謝致します。

2016年9月



## 主論文目録

- 1) Nozawa K, Iwao Y, Noguchi S, Itai S. Effect of surfactants or a water soluble polymer on the crystal transition of clarithromycin during a wet granulation process. *Int. J. Pharm.* 495, 204-217 (2015).
  
- 2) 野沢健児, 岩尾康範, 野口修治, 板井 茂: “クラリスロマイシン II 型結晶の低コスト製造法と製剤技術への利用”. *化学工業* (化学工業社), Vol. 66, No. 12, 57-67, (2015)

## 参考資料

- 1) Nakagawa, Y., Itai, S., Yoshida, T., Nagai, T. (1992). Physicochemical properties and stability in the acidic solution of a new macrolide antibiotic, clarithromycin, in comparison with erythromycin. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 725–728.
- 2) 木戸博, 鈴木悟, 岩瀬一弘, 水野大, 澤淵貴子, 多田仁美, クラリスロマイシンの短期投与はインフルエンザ感染にどのように効果的か? –粘膜免疫増強作用と気道粘膜絨毛運動改善効果–. (2007). *The Japanese journal of antibiotics.* 60.
- 3) Yajima, T., Umeki, N., Itai, S. (1999). Optimum spray congealing conditions for masking the bitter taste of clarithromycin in wax matrix. *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 220–225.
- 4) Yajima, T., Fukushima, Y., Itai, S., Kawashima, Y. (2002). Method of evaluation of the bitterness of clarithromycin dry syrup. *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 147–152.
- 5) Spanton, S.G., Henry, R.F., Riley, D.A., Liu, J.-H. (1999). Crystal form 0 of clarithromycin. US Patent No. 5945405.
- 6) Liu, J.-H., Riley, D.A., Spanton, S.G. (1999). Crystal form I of clarithromycin. US Patent No.5858986.
- 7) Noguchi, S., Miura, K., Fujiki, S., Iwao, Y., Itai, S. (2012). Clarithromycin form determined by synchrotron X-ray powder diffraction. *Acta. Cryst.* **C68**, 041-044.
- 8) Tozuka, Y., Ito, A., Seki, H., Oguchi, T., Yamamoto, K. (2002). Characterization and quantitation of clarithromycin polymorphs by powder X-Ray diffractometry and solid-state NMR spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 1128–1130.
- 9) Liu, J.-H., Riley, D.A. (1998). Preparation of crystal form II of clarithromycin. US Patent No.5844105.
- 10) Suh, K.-H., Seong, M.-R., Kim, N.-D., Lee, G.-S. (2002). Method of preparing form II crystals of clarithromycin. US Patent No. 6444796.
- 11) Sohn, Y.-T., Rhee, J.-K., Im, W.-B. (2000). Polymorphism of Clarithromycin. *Arch. Pharm.Res.* **23**, 381–384.
- 12) Tian, J., Dalgarno, S.J., Atwood, J.L. (2011). A new strategy of transforming pharmaceutical crystal forms. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 1399–1404.
- 13) Liu, J.-H., Henry, R.F., Spanton, S.G., Riley, D.A. (2003). 6-O-methylerythromycin A crystal form III. US Patent No. 6627743.
- 14) Avrutov, I., Lifshitz, I., Borochoy, R., Masarwa, B., Schwartz, E. (2003). Processes for preparing clarithromycin polymorphs and novel polymorph IV. US Patent No. 6599884.

- 15) Gruss, M. (2008). Polymorph of Clarithromycin (Form V). US Patent No. 20080249035.
- 16) Parvez, M., Arayne, M.S., Sabri, R., Sultana, N. (2000). Clarithromycin hydrochloride 3.5-hydrate. *Acta Crystallogr.* **C56**, 398–399.
- 17) Iwasaki, H., Sugawara, Y., Adachi, T., Morimoto, S., Watanabe, Y. (1993). Structure of 6-*O*-methylerythromycin A (clarithromycin). *Acta Crystallogr.* **C49**, 1227–1230.
- 18) Jacco van de streek. (2012). Peinterpretation of the monohydrate of clarithromycin from X-raypowder diffraction data as a trihydrate. *Acta Crystallogr.* **C68**, 0369-0372.
- 19) 神谷明良, 製造プロセスと品質特性, 1-3, 三恵社, (2009).
- 20) Cheoong, Wan L.S., Jeyabalan, T. (1986). Effect of binders on the formation of pellets. I. water, alcohol and alcohol-water mixtures. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 4744–4752.
- 21) Gwnc, L., Demirel, M., Yazan, Y. (2006). Preparation of prolonged release clarithromycin microparticles for oral use and their *in vitro* evaluation. *Arch. Phama. Res.* **29**, 921–927.
- 22) Rajinikanth, P.S., Karunagaran, L.N., Barasubramaniam, J., Mishra, B. (2008). Formulation and evaluation clarithromycin microspheres for eradication of *Helicobacter pylori*. *Chem. Pharm. Bull.* **56**, 1658–1664.
- 23) 樋崎雅也, 野沢健児. "経口製剤用組成物及びその製造方法" 特開2006-232789
- 24) 寺田勝英, 固体医薬品の物性評価, 株式会社じほう, (2003).
- 25) 川上恒作, 難水溶性薬物の物性評価と製剤設計の新展開, (2010).
- 26) 村田敏郎, 福田英平, 小泉保, 薬剤学 (改訂第4版), (1994).
- 27) Emara, L.H., Badr, R.M., Elbary, A.A. (2002). Improving the dissolution and bioavailability of nifedipine using solid dispersions and solubilizers. *Drug Dev Ind Pharm.* **28**, 795-807.
- 28) Patel, R.P., Patel, M.M. (2007). Physicochemical characterization and dissolution study of solid dispersions of Lovastatin with polyethylene glycol 4000 and polyvinylpyrrolidone K30. *Pharma Dev Technol.* **12**, 21-33.
- 29) Roderiguez-Hornedo, N., Murphy, D. (2004). Surfactant-facilitated crystallization of dehydrate carbamazepine during dissolution of anhydrous polymorph. *J. Pharm. Sci.* **93**, 449–460.
- 30) Stange, U., Führling, C., Gieseler, H. (2014). Taste masking of naproxen sodium granules by fluid-bed coating. *Pharm Dev Technol.* **19**, 137-147.
- 31) Thakral, S., Thakral, N.K., Majumdar, D.K. (2013). Eudragit: a technology evaluation. *Expert Opin Drug Deliv.* **10**, 131-149.

- 32) Sinha, B., Muller, R.H., Moschewitzer, J.P. (2013). Bottom-up approaches for preparing drug nanocrystals: Formulations and factors affecting size. *Int. J. Pharm.* **453**, 126–141.
- 33) Kaneniwa, N., Imagawa, K., Otsuka, M. (1985). Effect of tableting on the degree of crystallinity and on the dehydration and decomposition points of cephalexin crystalline powder. *Chem Pharm Bull.* **33**, 802-809.
- 34) Matsumoto, T., Kaneniwa, N., Higuchi, S., Otsuka, M. (1991). Effects of temperature and pressure during compression on polymorphic transformation and crushing strength of chlorpropamide tablets. *J Pharm Pharmacol.* **43**, 74-78.
- 35) 槇野正, 水上喜雄, 菊田潤一. "経口用医薬組成物およびその製造法" 特許 2682353号
- 36) 中川智哉, 福原康史. "カンデサルタンシレキセチル含有製剤" 特表 2016-501181
- 37) 沢井製薬株式会社 社内資料
- 38) 第 16 改正日本薬局方 クラリスロマイシン錠
- 39) Fujiki, S., Iwao, Y., Kobayashi, M., Miyagishima, A., Itai, S. (2011). Stabilization mechanism of clarithromycin tablets under gastric pH conditions. *Chem. Pharm. Bull.* **59**, 553–558.
- 40) Fujiki, S., Watanabe, N., Iwao, Y., Noguchi, S., Mizuguchi, M., Iwamura, T., Itai, S. (2015). Suppressed Release of Clarithromycin from Tablets by Crystalline Phase Transition of Metastable Polymorph Form I. *J. Pharm. Sci.* **104**, 2641-2644..
- 41) Hajihashemi, Z., Nasirpour, A., Scher, J., Desobry, S. (2014). Interactions among lactose,  $\beta$ -lactoglobulin and starch in co-lyophilized mixtures as determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *J Food Sci Technol.* **51**, 3376-3382.
- 42) He, M., Wang, H., Dou, W., Chou, G., Wei, X., Wang, Z. (2016). Preparation and drug release properties of norisoboldine-loaded chitosan microspheres. *Int J Biol Macromol.* **16**, 30622-30625.
- 43) Iizhar, S.A., Syed, I.A., Satar, R., Ansari, S.A. (2016). In vitro assessment of pharmaceutical potential of ethosomes entrapped with terbinafine hydrochloride. *J Adv Res.* **7**, 453-461.
- 44) Liu, H., Zhang, X., Suwardie, H., Wang, P., Gogos, C.G. (2012). Miscibility studies of indomethacin and Eudragit® E PO by thermal, rheological, and spectroscopic analysis. *J Pharm Sci.* **101**, 2204-2212.
- 45) Tishmack, P.A., Bugay, D.E., Byrn, S.R. (2003). Solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy--pharmaceutical applications. *J Pharm Sci.* **92**, 441-474.

- 46) Williams, H.D., Trevaskis, N.L., Charman, S.A., Shanker, R.M., Charman, W.N., Pouton, C.W., Porter, C.J. (2013). Strategies to address low drug solubility in discovery and development. *Pharmacol Rev.* **65**, 315-499.
- 47) Takagi, T., Ramachandran, C., Bermejo, M., Yamashita, S., Yu, L.X., Amidon, G.L. (2006). A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. *Mol Pharm.* **3**, 631-643.
- 48) 横井由紀子, 近勢茂, 山口博之. "抗菌性医薬品組成物" 特開 2003-300885
- 49) 野沢健児, 菊岡広晃. "抗菌性医薬品組成物" 特開 2007-106684