

氏名 おかだ こうたろう  
岡田 康太郎

学位の種類 博士 (薬科学)

学位記番号 富医薬博乙第 73 号

学位授与年月日 令和元年 6 月 19 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 4 項該当

学位論文題目  
時間領域 NMR 法および磁気共鳴画像法による  $^1\text{H}$  NMR 緩和測定  
を利用した製剤物性評価  
(Evaluation of physicochemical properties of pharmaceuticals  
using  $^1\text{H}$  NMR relaxation measured by time-domain NMR  
and magnetic resonance imaging)

論文審査委員

(主査) 教授 細谷 健一  
(副査) 教授 水口 峰之  
(副査) 教授 大貫 義則 (紹介教員)

# 論文内容の要旨

## 概要

核磁気共鳴 (NMR) は、様々な化合物の分子情報が得られるため、製剤物性を評価するための基盤技術として広く利用されている。一般的に NMR スペクトルは薬物の化学構造解析や、化合物同士 (例えば薬物と添加剤) の相互作用評価などに活用されるが、観測された NMR 緩和挙動から試料の分子運動性を評価することも可能である。NMR 緩和とは核スピンの吸収されたラジオ波のエネルギーが放出され、元の熱平衡状態へ戻る過程のことである。NMR 緩和と分子運動性との関係は十分に理解されており、例えば、高分子化学の分野では高分子素材の物性評価などに広く用いられている。製剤学の分野においても、NMR 緩和は製剤物性を分子レベルで詳細に理解できるため、有用であると予想されるが、現時点でそのような適用例は極めて限られている。

以上の背景から、本研究では、製剤物性の評価における NMR 緩和の有用性を明らかにすることを目的とした。なお、製剤を幅広く評価するために、固体および液体に関わらず様々な試料の測定を行えることが望ましい。そこで、本研究では、時間領域 NMR (TD-NMR) を用いた緩和測定法を応用することとした。TD-NMR は緩和測定に特化した低磁場の NMR 装置であり、固体および液体試料の NMR 緩和挙動を迅速かつ簡便に測定できる。

最初に、第 1 章では固形製剤中の薬物の結晶状態評価に着目し、TD-NMR によって結晶および非晶質薬物の緩和挙動を詳細に評価した。続く第 2 章では顆粒剤の製造工程に着目した。製造中間体である湿塊を対象とし、試料中の固体および液体成分の緩和挙動を評価し、顆粒物性との因果関係を明らかにした。さらに、第 3 章では、NMR 緩和の製剤物性評価研究への有用性をさらに広げるため、NMR 現象を利用した分子イメージング技術である磁気共鳴画像法 (MRI) を応用して、懸濁液中の微粒子分散状態の可視化を試みた。以上の検討から NMR 緩和による製剤物性評価への有用性を明らかにした。

## 第 1 章 TD-NMR による緩和挙動の測定を利用した薬物の結晶状態評価<sup>1-3)</sup>

近年の医薬品の候補化合物として、難水溶性の薬物の割合が増加しており、溶解性を向上させるために様々な手法が利用されている。例えば、固体分散体による薬物の非晶質化は、薬物の溶解性を向上させる代表的な製剤技術である。非晶質は結晶と比べて熱力学的に不安定であり、必要なエネルギーを与えると溶解性の低い結晶へと転移するため、その結晶状態の評価は重要な検討項目である。そこで本研究では、NMR 緩和によって固形製剤に含まれる薬物の結晶状態を評価することとした。

本研究では難溶性薬物のインドメタシン (IMC) をモデル薬物として選択し、その結晶および非晶質粉末の  $T_1$  および  $T_2$  緩和を TD-NMR で測定した。それぞれの緩和の時定数である  $T_1$  緩和時間 ( $T_1$ ) および  $T_2$  緩和時間 ( $T_2$ ) を算出した結果、いずれのパラメータも結晶形を区別するのに有効であることが明らかになった (図 1)。特に  $T_1$  緩和挙動では結晶および非晶質に大きな差が認められ、結晶の  $T_1$  は非晶質のそれと比べて著しく延長した<sup>1)</sup>。一方、 $T_2$  緩和挙動はわずかな差であるものの、結晶の  $T_2$  は非晶質のそれと比べて有意に短縮した<sup>3)</sup>。

続いて、非晶質 IMC を任意の割合でポリビニルピロリドン (PVP) に配合した物理混合物 (PM) および固体分散体 (SD) を調製し、それらの固形製剤に含まれる薬物の結晶状態を TD-NMR によって評価した。 $T_1$  緩和の場合、PM は IMC と PVP の緩和曲線を重ね合わせた二相性の挙動を示した<sup>1)</sup>。一方で、SD は試料の組成によって変化したものの、PM とは異なり、単相性の挙動を示した (図 2)<sup>1,2)</sup>。これらの結果から、 $T_1$  緩和挙動では、PM 中の IMC と PVP 粒子は別々のドメインとして区別されるのに対し、SD は IMC と PVP がナノメートルレベルで均一に混和した単一の構造物と見なされることが明らかになった。一方、 $T_2$  緩和挙動の場合、PM および SD のどちらの試料も単相性を示した<sup>3)</sup>。以上の結果から、 $T_1$  および  $T_2$  緩和では観測する関心領域のサイズが異なり、 $T_1$  緩和のほうが、より狭い領域の分子状態を観測することが示された。

最後に、試料に含まれる IMC において非晶質から結晶への転移を評価するため、PM<sup>1)</sup> および SD<sup>2)</sup> について高温保存 (60°C) による苛酷試験を実施した。経時的に試料の  $T_1$  緩和挙動および粉末 X 線回折を測定した結果、試料中の IMC が非晶質から結晶へ転移するにつれて、 $T_1$  の延長が観察された (図 3)。

以上の結果から TD-NMR による  $T_1$  および  $T_2$  緩和測定は、固形製剤に含まれる薬物の結晶状態を評価する上で有用であることが示された。

## 第 2 章 湿式造粒工程の理解を目的とした製造中間体の緩和挙動評価<sup>4)</sup>

湿式造粒は顆粒剤の製造に広く用いられ、薬物と添加剤に水を加えて混合する工程である。造粒によって湿塊を調製し、乾燥されて顆粒剤となる。湿塊に含まれる水分子の運動性は、添加剤の種類によって大きく変化すると推定され、その後の乾燥工程や、乾燥後の顆粒物性にも深く影響すると考えられる。そこで本研究では湿式造粒法で調製した製造中間体 (湿塊) を試料として、試料中の水分子運動性について詳細な検討を行った。

コーンスターチ (CS)、微結晶セルロース (MCC) および D-マンニトール (MAN) からなる湿塊を調製し、TD-NMR による緩和測定を行った。得られた  $T_2$  緩和挙動について二成分解析を行い、水および固体由来の緩和挙動をそれぞれ求めた (図 4)。解析の結果、CS および MCC の湿塊に含まれる水由来の  $T_2$  は、MAN よりも短い値を示した。このため、MAN と比べて、CS および MCC は水分子と強く相互作用し、湿塊中の水の分子運動性を強く拘束していると考えられる。続いて、湿塊の乾燥特性や顆粒の吸湿特性を評価したところ、添加剤と水分子との相互作用は、それらの特性に大きく影響することが示された。すなわち、水分子との相互作用が強い添加剤を成分とする湿

塊ほど乾燥工程に時間がかかり、顆粒の吸湿性は高くなる傾向が確認された。したがって、造粒時の湿塊に含まれる水の分子運動性は、造粒工程や顆粒物性に強く影響することが明らかになった。

### 第3章 MRIを応用した懸濁液における微粒子分散状態の可視化<sup>5)</sup>

第1章および第2章の研究から、NMR緩和が製剤物性を評価する上で有用な評価指標になることが示された。本章では、その有用性をさらに広げるため、MRIを応用した製剤物性評価を行った。MRIはNMR現象を利用した分子イメージング技術であり、 $T_1$ および $T_2$ を用いれば、NMR緩和の観点で試料の観察が可能である。本研究では日焼け止めクリームなどに用いられる酸化チタン微粒子の懸濁液を試料とし、MRIの $T_2$ 可視化技術( $T_2$ マッピング)を応用して粒子の分散状態の可視化を試みた。

MRI研究に先立ち、TD-NMRを用いて懸濁液中の微粒子濃度と $T_2$ との関係性を評価した。検討の結果、試料中の微粒子濃度が高くなるにつれて $T_2$ は短縮した。従って、 $T_2$ が懸濁液中の微粒子濃度の評価指標になることが明らかになった。この知見をもとに、MRIの $T_2$ マッピングによって懸濁液中に含まれる微粒子の分散状態を観察した。その結果、目視では確認できない微細な分散状態の変化を $T_2$ 画像によって観察できることが明らかになった(図5)。以上の結果から、TD-NMRのみならず、MRIを応用したNMR緩和測定も製剤物性評価を行う上で有用であることが示された。

### 結論

本研究から、様々な製剤の物性評価にNMR緩和を応用することで、それらの物性を分子運動性の観点から深く理解できることが明らかになった。すなわちNMR緩和測定は製剤物性評価を行う上で、非常に有用な技術である。

### 参考文献

- 1) [Okada K.](#), Hirai D., Kumada S., Kosugi A., Hayashi Y., Onuki Y.  $^1\text{H}$  NMR relaxation study to evaluate the crystalline state of active pharmaceutical ingredients containing solid dosage forms using time domain NMR. *J. Pharm. Sci.*, **108**, 451–456 (2019).
- 2) [Okada K.](#), Hirai D., Hayashi Y., Kumada S., Kosugi A., Onuki Y. A novel approach to evaluate amorphous-to-crystalline transformation of active pharmaceutical ingredients in solid dispersion using time-domain NMR. *Chem. Pharm. Bull.*, **67**, 265-270 (2019).
- 3) [Okada K.](#), Hirai D., Hayashi Y., Kumada S., Kosugi A., Onuki Y.  $T_2$  relaxation study to evaluate the crystalline state of indomethacin containing solid dispersions using time-domain NMR. *Chem. Pharm. Bull.*, **67**, 580-586 (2019).
- 4) Ito T., [Okada K.](#), Leong K. H., Hirai D., Hayashi Y., Kumada S., Kosugi A., Onuki Y. A time-domain NMR study of the state of water in wet granules with different fillers and its contribution to the wet granulation process and to the characteristics of granules. *Chem. Pharm. Bull.*, **67**, 271–276 (2019).
- 5) Ito T., Kida C., [Okada K.](#), Ikeda J., Otomura K., Hayashi Y., Obata Y., Takayama K., Onuki Y. Nondestructive monitoring of the dispersion state of titanium dioxide nanoparticles in concentrated suspensions using magnetic resonance imaging. *Langmuir*, **34**, 12093–12099 (2018).

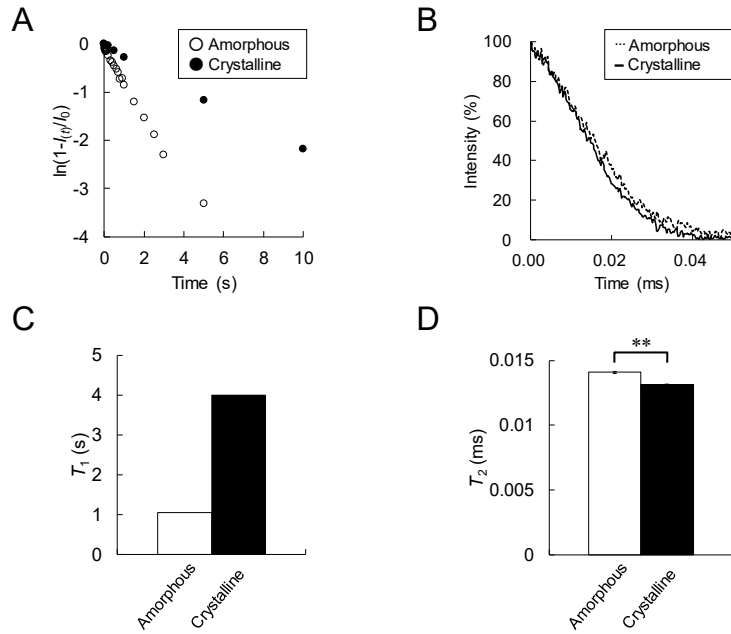


図1. 非晶質および結晶インドメタシンのNMR緩和挙動  
 (A)  $T_1$ および (B)  $T_2$ 緩和挙動、(C)  $T_1$ および (D)  $T_2$ 緩和時間

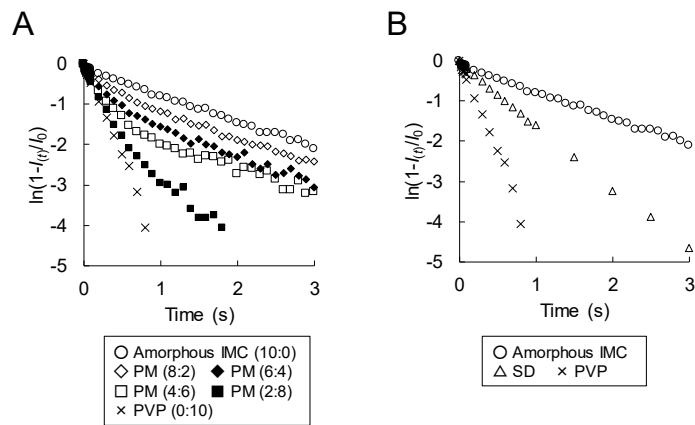


図2. (A) 物理混合物および (B) 固体分散体の  $T_1$  緩和挙動

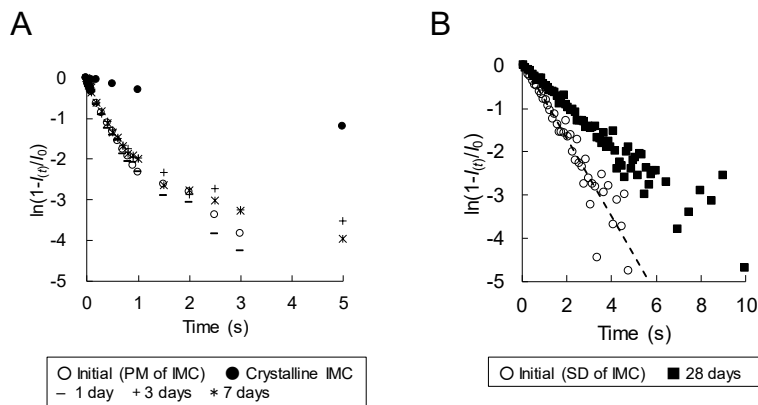


図3. インドメタシンおよびPVPからなる (A) 物理混合物および  
 (B) 固体分散体の高温保存 (60°C) に伴う経時的な  $T_1$  緩和挙動変化

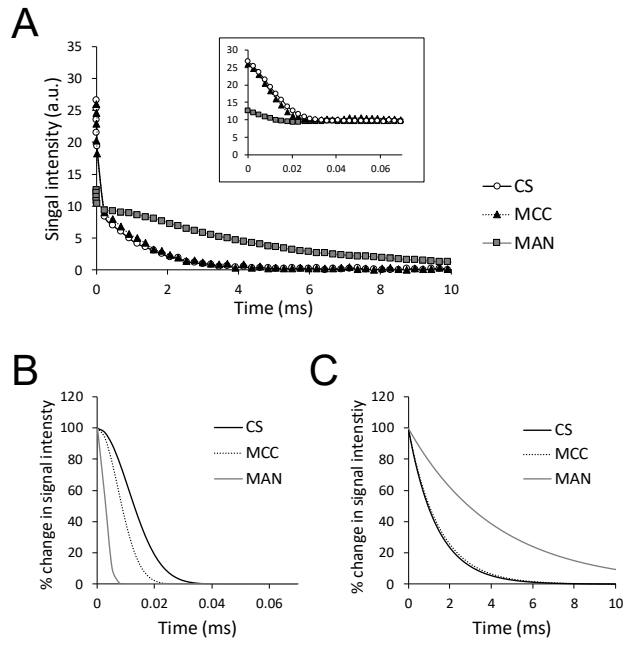


図4. 各種添加剤で調製した湿塊の  $T_2$  緩和挙動  
 (A) 試料全体の  $T_2$  緩和挙動、二成分解析によって得た  
 (B) 固体および (C) 水由来の  $T_2$  緩和挙動

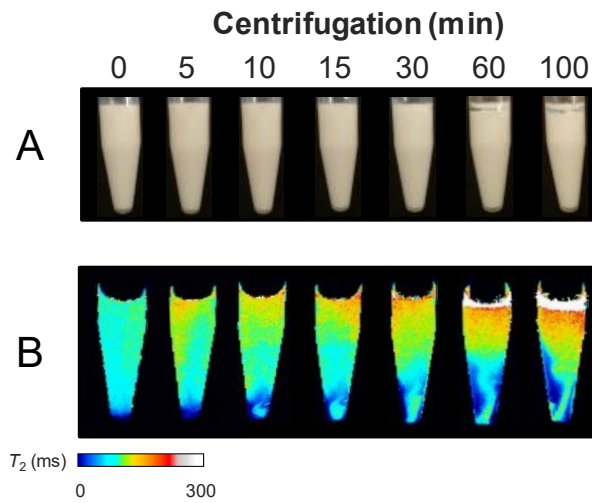


図5. MRI  $T_2$  マッピングによる酸化チタン懸濁液中の  
 微粒子分散状態の可視化 (A) 目視 (B)  $T_2$  画像

# 学位論文審査の要旨

核磁気共鳴 (NMR) 法は製剤物性評価のための基盤分析法の一つであり、日本薬局方の物理的試験法に収載される。本手法では、NMRスペクトルを取得して薬物の化学構造解析や、化合物同士 (例えば薬物と添加剤) の相互作用などが主に評価されるが、観測されたNMR信号にはスペクトル情報のほかにNMR緩和に関する情報が含まれており、このNMR緩和挙動を精査することで、試料の分子運動性を評価することも可能である。分子運動性は製剤の重要特性と密接に関わるため、NMR緩和測定は製剤物性評価においても有用であると考えられるものの、現時点ではそのような適用例は限られる。このような背景から、本研究では製剤物性評価におけるNMR緩和測定の有用性を明らかにするため、下記の事例研究を行った。なお、本研究の遂行にあたり、固体および液体に関わらず様々な試料の緩和挙動測定を迅速かつ簡便に行える時間領域NMR (TD-NMR) を活用した。

## **1. TD-NMRによる緩和挙動の測定を利用した薬物の結晶状態評価**

近年の医薬品の候補化合物として、難水溶性の薬物の割合が増加しており、溶解性を向上させるために様々な手法が利用される。固体分散体による薬物の非晶質化は、薬物の溶解性を向上させる代表的な製剤技術である。非晶質製剤の開発過程では、結晶と比べて熱力学的に不安定な非晶質の評価は重要な検討項目である。このような背景から、本研究では、難溶性薬物のインドメタシン (IMC) をモデル薬物として、製剤中における IMC の結晶状態を TD-NMR を用いて詳細に評価した。解析の結果、非晶質 IMC の緩和挙動は、結晶 IMC とは大きく異なり、それらの  $T_1$  および  $T_2$  緩和時間によってそれらの結晶状態の違いを明確に識別できることが明らかになった。さらに、非晶質 IMC を任意の割合でポリビニルピロリドンに配合した物理混合物および固体分散体を試料とし、それらの苛酷試験を行った結果から、高温保存に伴う製剤中の IMC の結晶転移を緩和挙動によって評価できることが明らかになった。以上の結果から、NMR 緩和測定は、固形製剤に含まれる薬物の結晶状態を評価する上で有用であることが示された。

## **2. 湿式造粒工程の理解を目的とした製造中間体の緩和挙動評価**

湿式造粒法は、薬物と添加剤に水を加えて顆粒を調製する製法である。湿式造粒法において、製造中間体である湿塊に含まれる水分子の運動性は、添加剤の種類によって大きく変化し、その後の乾燥工程や、乾燥後の顆粒物性にも深く影響すると考えられる。そこで本研究ではコーンスターチ、微結晶セルロースおよび D-マンニトールといった代表的な添加剤を用いて湿塊を調製し、湿塊中の水分子運動性を TD-NMR を用いて詳細に評価した。解析の結果、湿塊に含まれる水の分子運動性は、添加剤の種類によって大きく変化することが明らかになった。さらに、湿塊の乾燥特性や顆粒の吸湿特性を評価したところ、添加剤と水分子との相互作用は、それらの特性に大きく影響した。以上の結果から、造粒時の湿塊に含まれる水の分子運動性は、造粒工程や顆粒物性に強く影響することが示された。

## **3. MRI を応用した懸濁液における微粒子分散状態の可視化**

上記の研究から、NMR緩和が製剤物性を評価する上で有用な評価指標になることが示された。本研究では、その有用性をさらに広げるため、磁気共鳴画像法 (MRI) を応用した製剤物性評価を行った。MRIはNMR現象を利用した分子イメージング技術であり、 $T_1$  および  $T_2$  マッピングなどによって、NMR緩和の観点から試料の観察を行うことが可能である。本研究では酸化チタン微粒子の懸濁液を試料として用い、MRIの $T_2$  マッピングによって試料中の微粒子の分

散状態を非破壊的に観察した。解析の結果、目視では確認できない微細な分散状態の変化を $T_2$ 画像によって観察できることが明らかとなった。以上から、TD-NMRのみならず、MRIを応用したNMR緩和測定も製剤物性評価を行う上で有用であることが示された。

以上の研究から、NMR緩和の測定を活用し、分子運動性の観点から製剤物性を評価することによって、製剤特性を深く理解できることが示された。本研究成果は、NMR緩和の製剤物性評価における新たな活用法や有用性を示す重要な知見として、薬剤学・製剤学の更なる発展に大きく貢献するものと考えられる。

主査および副査は、岡田 康太郎氏に面接試験ならびに学力確認試験を行うとともに論文内容について審査を行い、博士（薬科学）の学位を授けるに値すると判定した。

- 1) Okada K., Hirai D., Kumada S., Kosugi A., Hayashi Y., Onuki Y.  $^1\text{H}$  NMR relaxation study to evaluate the crystalline state of active pharmaceutical ingredients containing solid dosage forms using time domain NMR. *J. Pharm. Sci.*, 108, 451–456 (2019).
- 2) Okada K., Hirai D., Hayashi Y., Kumada S., Kosugi A., Onuki Y. A novel approach to evaluate amorphous-to-crystalline transformation of active pharmaceutical ingredients in solid dispersion using time-domain NMR. *Chem. Pharm. Bull.*, 67, 265–270 (2019).
- 3) Okada K., Hirai D., Hayashi Y., Kumada S., Kosugi A., Onuki Y.  $T_2$  relaxation study to evaluate the crystalline state of indomethacin containing solid dispersions using time-domain NMR. *Chem. Pharm. Bull.*, 67, 580–586 (2019).
- 4) Ito T., Okada K., Leong K. H., Hirai D., Hayashi Y., Kumada S., Kosugi A., Onuki Y. A time-domain NMR study of the state of water in wet granules with different fillers and its contribution to the wet granulation process and to the characteristics of granules. *Chem. Pharm. Bull.*, 67, 271–276 (2019).
- 5) Ito T., Kida C., Okada K., Ikeda J., Otomura K., Hayashi Y., Obata Y., Takayama K., Onuki Y. Nondestructive monitoring of the dispersion state of titanium dioxide nanoparticles in concentrated suspensions using magnetic resonance imaging. *Langmuir*, 34, 12093–12099 (2018)