

プロブコール-ポリビニルピロリドン固体分散体の安定性

久保儀忠,* 八木直美, 関川 彬

Stability of ProbucoI-Polyvinylpyrrolidone Solid Dispersion Systems

Yoshitada KUBO,* Naomi YAGI, and Hitoshi SEKIKAWA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, 1757
Kanazawa, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293, Japan

(Received May 28, 2010; Accepted November 26, 2010; Published online December 7, 2010)

After solid dispersion systems of probuocol-polyvinylpyrrolidone K30 (1 : 9 in weight ratio) were exposed to light (10000 lx) for 7 days, 84% of the probuocol remained. Commercial probuocol fine granules were thus fairly stable under light exposure. When solid dispersion systems were stored in heat-sealed packages at relative humidity (R.H.) of 75% and 92% for 30 days at 30°C, the weight of the samples increased by 22% and 43%, respectively. When these solid dispersion systems were dissolved in water, the probuocol concentration decreased with the duration of storage. The crystalline nature of probuocol in the solid dispersion systems could not be detected by powder X-ray diffraction or differential scanning calorimetry. After passing the dissolution medium through the membrane filter, retention time of the residue on the filter in the HPLC method corresponded to that of probuocol. These results suggest that the partial crystallization of probuocol in the solid dispersion systems may occur during storage under these conditions. Solid dispersion systems in heat-sealed packages were fairly stable when stored under room conditions or in light-resistant tightly sealed containers for 5 months.

Key words—solid dispersion system; stability; probuocol; polyvinylpyrrolidone; fine granule

緒 言

脂質異常症用薬であるプロブコールは、水に対する溶解度が25°Cで約5 ng/mlと報告されており、市販されている難溶性医薬品の中で最も水に溶け難い薬物の1つである。¹⁾ 一般に難溶性医薬品は経口投与後、消化管内での溶解が吸収の律速となるため、プロブコールについても経口投与後の消化管吸収は、乏しいことが報告されている。²⁾ Yagiらは、プロブコールとポリビニルピロリドン (PVP) との固体分散体を調製し、プロブコールの溶解性が顕著に改善したことを報告した。¹⁾ Kuboらは、プロブコール-PVP固体分散体をウサギに単回経口投与した結果、プロブコール結晶粉末投与時と比較し、著しく高い血漿中濃度が得られたことを報告した。³⁾ PVPを用いて固体分散体を調製した場合、PVPは吸湿性の高い高分子化合物であるため、吸湿による固体分散体の性状の変化などが危惧され

る。固体分散体中では、プロブコールが非晶質化した状態で存在し、比較的不安定な状態であることが考えられる。特に湿度は、非晶質の結晶化に対して大きな影響を与える。^{4,5)} 固体分散体に関する研究は数多く行われているものの、本技術を応用して市販されている製品は少ない。その理由として、非晶質化された薬物の安定性が課題として挙げられ、市販されている固体分散体制剤の安定性について検討した報告もある。⁶⁻⁸⁾ そこでプロブコール-PVP固体分散体の吸湿性及び光安定性の検討を行い、比較として市販プロブコール細粒についても同様の安定性を調べた。また、比較的長期間の室内保存における安定性についても検討した。

実 験 の 部

1. 使用薬物 市販プロブコール製剤としてロレルコ®細粒 (lot No. 7J97Z2, 大塚製薬, 東京) を用いた。プロブコール結晶粉末は、ロレルコ®細粒をエタノールで抽出し、ろ液に水を徐々に加え再結晶化し、減圧乾燥、整粒したものを使用した。得

北海道医療大学薬学部

*e-mail: y-kubo@hoku-iryo-u.ac.jp

られたプロブコール結晶粉末の平均粒子径と標準偏差は $119.7 \pm 53.6 \mu\text{m}$, 融点は生化学用プロブコール (lot No. CEM 1066, 和光純薬工業, 大阪) と一致し, 128°C であった. PVP は, PVP K30 (平均分子量 40000, ナカライテスク, 京都) を使用した. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でプロブコールの定量を行う際の内標準物質 (i.s.) にはピレン (和光純薬工業) を用いた. アセトニトリルは HPLC 用規格品, 他は特級試薬を用いた.

2. 固体分散体の調製 プロブコールと PVP K30 を 1:9 の質量比とし, エタノールに完全に溶解させた後, ロータリーエバポレーターにより減圧下, 35°C でエタノールを除去し乾燥後, さらに 24 時間室温で減圧乾燥した. 得られた固形物は粉碎, 整粒し, 固体分散体とした.

3. 物理的混合物の調製 プロブコールと PVP K30 を 1:9 の質量比とし, 乳鉢中で軽く混合し, 物理的混合物とした.

4. 固体分散体及び物理的混合物の水分含量測定

固体分散体及び物理的混合物中の水分あるいは溶媒の含量は, 赤外線水分計 (FD-600, ケツト科学研究所, 東京) を用いて測定した.

5. 光安定性実験 プロブコール-PVP 固体分散体 2.5 g (プロブコールとして 250 mg), プロブコール-PVP 物理的混合物 2.5 g (プロブコールとして 250 mg), ロレルコ[®]細粒 0.5 g (プロブコールとして 250 mg) を各々ガラス製のシャーレに入れ, 自然光の入らぬ部屋において, 安定装置 (4MT-105H-A E, 東芝, 東京) を取り付けた陽光ランプ (D-400, 3LA500B1, 東芝) を人工光源として照射した. 照射後, 経時的に試料を採取し, HPLC 法により定量を行い, プロブコールの残存率を算出した.

光の強さは, 照射部分が 10000 lx の照度になるように照度計 (A-BS 型, 東京前川科学, 東京) で測定し, 調整した. また, 光を照射中は熱の影響を避けるため, 扇風機を用いて冷却した.

6. 吸湿性実験 プロブコール-PVP 固体分散体 0.5 g, ロレルコ[®]細粒 0.5 g 及びプロブコール結晶粉末 0.25 g をラミネート加工のグラシン紙で分包し, デシケーターに入れ遮光保存した. デシケーター内の相対湿度 (relative humidity, R.H.) を一定にするため, デシケーターの底に以下の溶液を加

えた.

条件 1. R.H. 75%…飽和塩化ナトリウム水溶液

条件 2. R.H. 92%…飽和硝酸カリウム水溶液

デシケーター内の温度は, 恒温槽 (FI-60, 東洋製作所, 千葉) を用いて 30°C に保った. 試料は保存後 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30 日後に質量を測定するとともに外観変化を観察した. また, 同様にラミネート加工のグラシン紙で分包したプロブコール-PVP 固体分散体を室内放置 (温度範囲: $17\text{--}29^\circ\text{C}$, 湿度範囲: $36\text{--}52\%$, 照度範囲: $0\text{--}200 \text{ lx}$) 及び同じ室内において遮光気密容器中に保存した場合の安定性について検討した. 試料は保存後 1 ヶ月間隔で 5 ヶ月後までの質量を測定するとともに外観変化も観察した.

7. 溶出試験

吸湿質量を測定する際に採取したプロブコール-PVP 固体分散体の溶出挙動を検討するため, 日本薬局方溶出試験法のパドル法に準じて溶出試験を行った. 吸湿性実験で採取した固体分散体を減圧下で乾燥し, 乳鉢中で粉碎して試料とした. 溶出試験法の装置 (NTR-1000, 富山産業, 大阪) を用いて, 試験液は水を 500 ml 使用し, 液温 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に調整し, パドル回転数 150 rpm の条件下, 試料をプロブコールとしてそれぞれ 10 mg 相当量を投入した. 経時的に試料を採取し, メンブランフィルター (cellulose nitrate, pore size $0.45 \mu\text{m}$, 東洋濾紙, 東京) を通し, プロブコール濃度を求めた. また, 溶出試験の過程で採取した一部の試験液をメンブランフィルターでろ過し, フィルターを精製水でよく洗浄し, 乾燥後, フィルター上の残渣を採取した. 採取した残渣の一部をエタノールに溶解後, HPLC 法でピークの確認を行った.

8. プロブコールの定量 プロブコールの定量は HPLC 法で行った.³⁾ HPLC の条件は, ポンプ: LC-10AD (島津製作所, 京都), 検出器: SPD-10A (島津製作所), 検出波長: 254 nm, カラム: Shim-pack CLC-ODS ($150 \times 6 \text{ mm i.d.}$, particle size $5 \mu\text{m}$, 島津製作所), 移動相: アセトニトリル: ヘキサン: 0.1 M 酢酸アンモニウム = 90:3.5:6.5, カラム温度: 40°C , 流速: 1.0 ml/min とした. 保持時間は, プロブコール 14.5 分, ピレン 5.4 分であった.

9. 結晶性の確認 固体分散体中におけるプロブコールの結晶性を確認するために, 以下の測定を

行った。

示差走査熱量測定には、示差走査熱量計 (DSC, DT-40, 島津製作所) を用いた。DSC の測定条件は、各試料 3–5 mg をそれぞれアルミニウムパンに入れ open 条件で、開始温度 36°C, 昇温速度 10°C/min で行った。

粉末 X 線回折には、粉末 X 線回折装置 (Geiger-flex, Model-2013 Diffractometer, 理学電機, 東京) を用いた。粉末 X 線回折の測定条件は Ni フィルター, Cu-K α 線で 30 kV, 20 mA, 走査速度 1°/min, レンジ 5 K で行った。

結 果

1. 光安定性実験 プロブコール-PVP 固体分散体及びロレルコ®細粒に陽光ランプを 10000 lx の照度で照射した場合のプロブコール残存率を Fig. 1 に示す。ロレルコ®細粒は、若干の変動はあったものの 7 日目の残存率は 100% を保ち安定であった。プロブコール-PVP 固体分散体においては、7 日目の残存率は 84% に低下した。プロブコール-PVP 固体分散体は淡いピンク色の粉末であるが、1 日照射後には鮮やかな濃いピンク色を示した。ロレルコ®細粒は白色の粉体であるが、4 日目照射後には淡い褐色となり、5 日目照射後には濃い褐色を示した。また、プロブコール-PVP 物理的混合物は、色調の変化もみられず、7 日間のプロブコール残存率は変動も少なく 100% を保った。

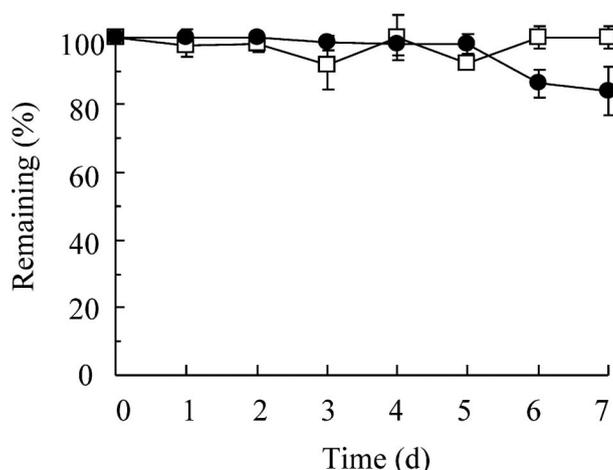


Fig. 1. Time Courses of the Photodegradation of Probucool Samples by Irradiation of Daylight Lamp® at 10000 lx

●, solid dispersion system; □, Lorelco® fine granules. Each point represents the mean \pm S.D. of 3 determinations.

2. 吸湿性実験 プロブコール-PVP 固体分散体、ロレルコ®細粒及びプロブコール結晶粉末を R.H. 75% 及び R.H. 92% で 30 日間保存した際の質量増加率を Table 1 に示す。また、プロブコール-PVP 固体分散体の質量増加率の推移を Fig. 2 に示す。プロブコール-PVP 固体分散体は、いずれの条件においてもロレルコ®細粒及びプロブコール結晶粉末と比べ吸湿性が高く、質量は増加した。固体分散体は R.H. 75% における 20 日目以降、R.H. 92% における 10 日目以降の保存で、吸湿により試料が飴状になった。

5 ヶ月間に渡って室内放置及び遮光気密容器保存したプロブコール-PVP 固体分散体の吸湿による質量増加率を Table 2 に示す。室内放置した固体分散体の試料は、その時点における湿度が影響し、質量増加率は変動した。また、遮光気密容器中に保存した場合、吸湿を抑えることができた。両条件とも 5 ヶ月保存後においても外観変化、光分解は認められ

Table 1. Increased Weight Percentage of Probucool Samples after 30 Days Stored in R.H. 75% and 92% at 30°C

Samples	R.H. 75%	R.H. 92%
Solid dispersion system	22.4 \pm 0.19	43.1 \pm 0.42
Lorelco® fine granules	1.24 \pm 0.06	1.95 \pm 0.10
Probucool powder	0.24 \pm 0.11	0.83 \pm 0.14

Each data represents the mean \pm S.D. of 7–10 determinations.

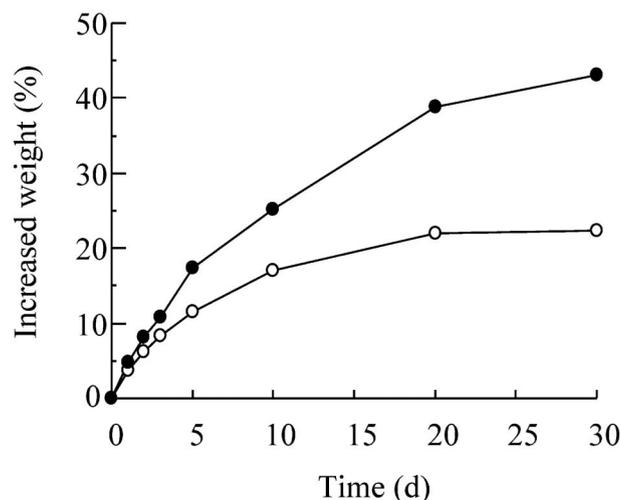


Fig. 2. Increased Weight Profiles of Solid Dispersion System Stored in R.H. 75% and R.H. 92% at 30°C

○, R.H. 75%; ●, R.H. 92%. Each point represents the mean \pm S.D. of 7–16 determinations. Ranges of S.D. were within the size of symbols.

なかった。

3. 溶出試験 吸湿による質量増加率を測定する際に採取したプロブコール-PVP 固体分散体の溶出試験の結果を Fig. 3 に示す。プロブコール-PVP

Table 2. Increased Weight Percentage of Solid Dispersion System in Heat-Sealed Packages for 5 Months

Time (month)	Stored under room conditions (%)	Stored in the light-resistant tightly sealed container (%)
1	9.02±0.18	0.99±0.14
2	7.26±0.11	1.81±0.14
3	8.92±0.11	2.49±0.22
4	5.59±0.12	2.88±0.21
5*	4.45	2.26

Each data represents the mean ± S.D. of 3–6 determinations. * The data represents the mean of 2 determinations.

固体分散体を R.H. 75% で 10 日間保存することにより、プロブコールの溶出率は 100% に保たれたが、20 日目の保存により溶出率はわずかに低下し、試験液は薄い白濁を呈した。30 日目の保存により、溶出率は 70% に低下し、試験液は濃い白濁を呈した。また、R.H. 92% の 5 日目の保存において溶出率は 100% に保たれたが、10 日目の保存により溶出率はわずかに低下し、試験液は薄い白濁を呈した。20 日目以降の保存により、溶出率は 30% 以下に低下し、試験液は濃い白濁を呈した。

室内放置及び遮光気密容器中で保存したプロブコール-PVP 固体分散体の溶出試験の結果を Fig. 4 に示す。両条件共に 5 ヶ月間の保存においてプロブコールの溶出率は 100% に保たれており、比較的長期間の保存においても固体分散体中のプロブコール

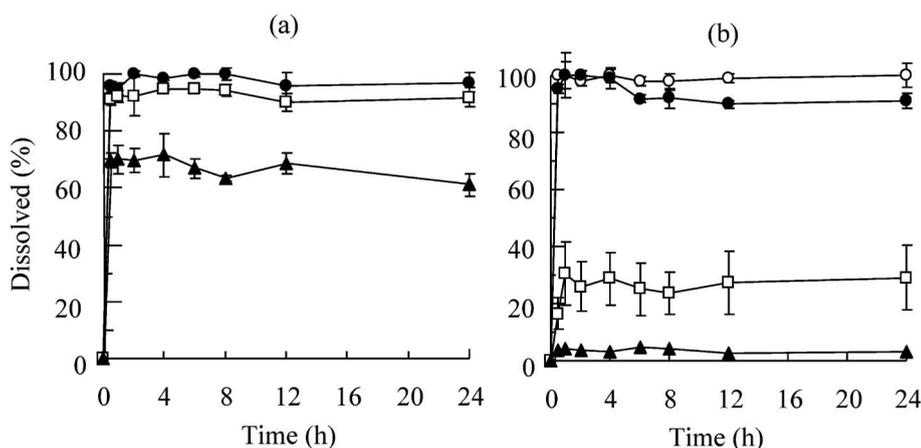


Fig. 3. Dissolution Profiles of Probucole from Solid Dispersion System Stored in R.H. 75% (a) and R.H. 92% (b) at 30°C. ○, 5 d; ●, 10 d; □, 20 d; ▲, 30 d. Each point represents the mean ± S.D. of 3 determinations.

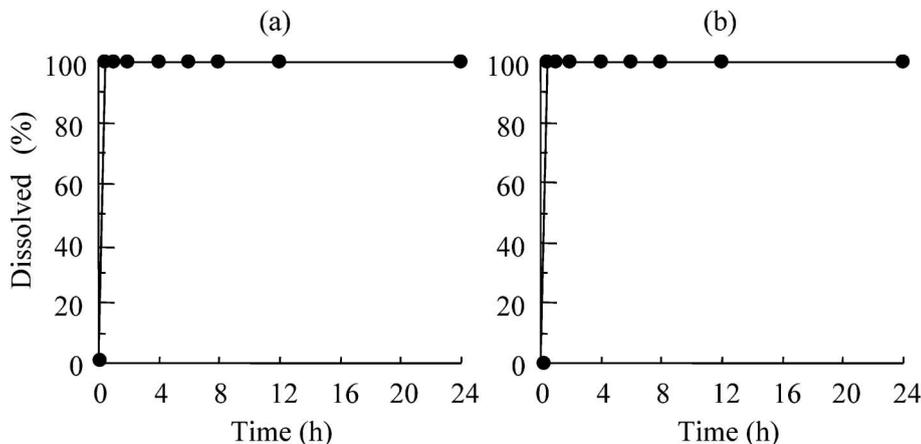


Fig. 4. Dissolution Profiles of Solid Dispersion System in Heat-Sealed Package after 5 Months (a) stored in the room and (b) stored in the light-resistant and tight container. Each point represents of the mean of 2 determinations.

は非晶質化した状態で存在し、安定であることが示された。

4. 結晶性の確認 プロブコール-PVP 固体分散体の吸湿に伴う結晶成長の確認のため、Fig. 5 に示差走査熱量測定、Fig. 6 に粉末 X 線回折の結果を示す。示差走査熱量測定の結果、R.H. 92% で 30 日間保存後のプロブコール-PVP 固体分散体において、ゆるやかで大きな吸熱ピークは認められたが、プロブコールの融点である 128°C 付近における融解に伴う吸熱ピークは認められなかった。また、ロレルコ®細粒、プロブコール結晶粉末及びプロブコール-PVP 物理的混合物においては、128°C 付近における吸熱ピークが認められた。ロレルコ®細粒における 145–148°C 付近の吸熱ピークは、添加物として含まれている乳糖のピークであった。固体分散体、物理的混合物及び PVP には、ゆるやかな吸熱ピークが観察された。赤外線水分計による測定では、固体分散体で 9.0%、物理的混合物で 6.5% の水分又は溶媒を含んでいることを確認した。

粉末 X 線回折の結果は、示差走査熱量測定の結

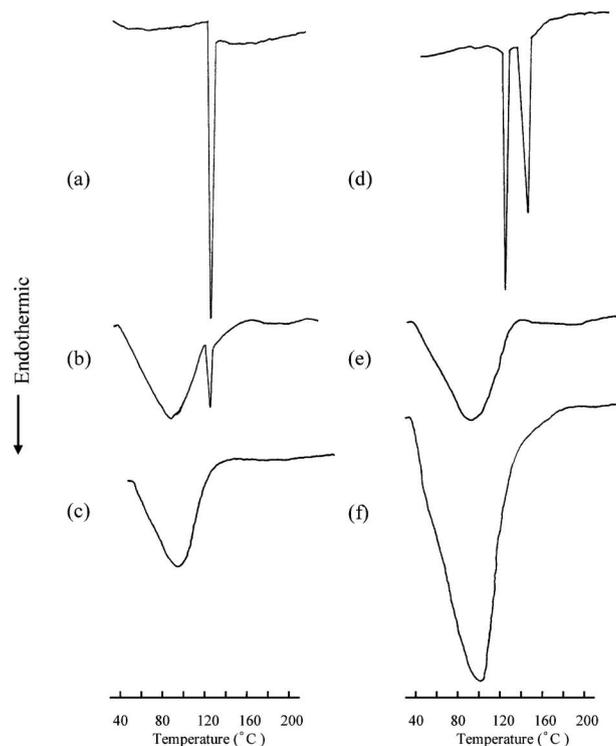


Fig. 5. DSC Thermograms of ProbucoL-PVP K30 Systems
(a) ProbucoL, (b) ProbucoL : PVP K30=1 : 9 (Physical mixture), (c) PVP K30, (d) Lorelco® fine granules, (e) ProbucoL : PVP K30=1 : 9 (Solid dispersion system), and (f) ProbucoL : PVP K30=1 : 9 (Solid dispersion system) R.H. 92% after 30 days.

果と同様に、R.H. 92% で 30 日間保存後のプロブコール-PVP 固体分散体においてピークは認められず、通常の吸湿していない固体分散体と同じハローパターンを示した。また、溶出試験において白濁した試験液をメンブランフィルターでろ過した際、フィルター上の残渣は微量で、大量の試験液をろ過した場合、フィルターが目詰まりを起こし、粉末 X 線回折や示差走査熱量測定に用いることができる十分な量の残渣を得ることができなかった。しかし、フィルター上の残渣をエタノールに溶解し、HPLC で測定したところ、検出したピークはプロブコールの保持時間と一致した。

考 察

光安定性の検討の結果、プロブコール-PVP 固体分散体は、市販製剤であるロレルコ®細粒や物理的混合物と比較して分解の程度が大きかったのは、ロレルコ®細粒や物理的混合物中のプロブコールは結晶形で存在しているのに対し、固体分散体中のプロブコールは無晶形の状態で存在しているためであると考えられる。Sakazume らは、ニフェジピン持効性細粒をポリエチレンセロファン紙に包装し、白色蛍光灯を用いて 500 lx の条件で光照射した場合、72 時間で残存率は 2% であると報告している。⁶⁾ 固体分散体中のプロブコールは、10000 lx の高い照度の光照射で 7 日間の残存率が 84% であれば、比較的光には安定であると考えられる。ロレルコ®細粒

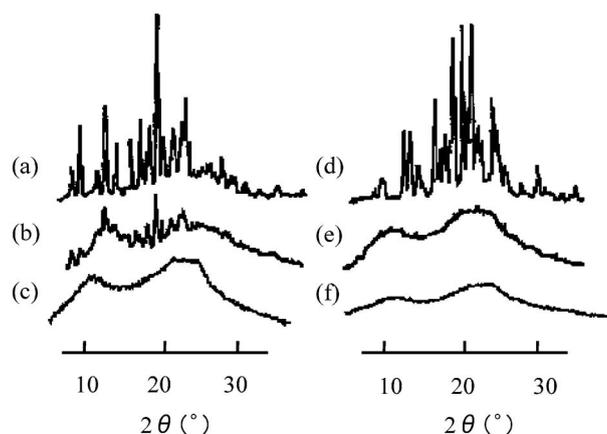


Fig. 6. Powder X-Ray Diffraction Spectra of ProbucoL-PVP K30 Systems

(a) ProbucoL, (b) ProbucoL : PVP K30=1 : 9 (Physical mixture), (c) PVP K30, (d) Lorelco® fine granules, (e) ProbucoL : PVP K30=1 : 9 (Solid dispersion system), and (f) ProbucoL : PVP K30=1 : 9 (Solid dispersion system) R.H. 92% after 30 days.

は4日目以降の照射により、着色が起こっているが、残存率がほぼ100%であることから、光分解が細粒の表面に限定されるものと考えられる。固体分散体とロレルコ®細粒の光分解による色調の差が生じた理由として、光分解の程度、添加剤の差、及び光分解物と添加剤との相互作用などが考えられる。

プロブコール-PVP 固体分散体の吸湿性を検討した結果、R.H. 75%及びR.H. 92%での保存における固体分散体は、吸湿により質量は増加し、さらに溶出試験の結果、溶出率は低下し、試験液は白濁を呈した。試験液をメンブランフィルターでろ過し、フィルター上の残渣についてHPLCを用いてピークの確認を行った結果、プロブコールの保持時間と一致したことから、試験液の白濁はプロブコールの微細な結晶の分散によるものと考えられ、非晶質の状態で存在する固体分散体中のプロブコールが、吸湿によって一部が結晶化したものと推察された。また、溶出試験において、各保存条件下における時間の経過により、溶出率が次第に低下することから、結晶化の割合が大きくなるものと推測される。吸湿性実験において、固体分散体中の結晶性の確認に示差走査熱量測定及び粉末X線回折を用いたが、プロブコール結晶の確認に至らなかったのは、PVPの質量比が大きかったことやPVP中に分散するプロブコールの結晶が非常に微細であったためと推察される。

プロブコール自身の水への溶解度は25°Cで5 ng/mlと極めて低いが、¹⁾プロブコール-PVP 固体分散体を水に溶解した場合は、Fig. 4のように溶解性が改善する。高い湿度の条件下で保存したプロブコール-PVP 固体分散体を水に溶解した場合、溶出率が低下した理由として、試料中でプロブコールの一部が結晶化したためと考えられる。今後、溶出液中に析出したプロブコールの微結晶の確認を行い、詳細

な結晶化の検討を行う必要があると考える。

今回調製したプロブコール-PVP 固体分散体は、室内において5ヵ月間に渡り保存した場合、光分解は認められず安定であった。さらに、遮光気密容器中で保存することにより、吸湿を抑えることができた。室内で5ヵ月間保存後における固体分散体からのプロブコールの溶解性は良好で、保存中に結晶成長がなかったことを示していた。しかし、プロブコール-PVP 固体分散体は、高い湿度の条件下において吸湿によりプロブコールが再結晶化するため、保存条件に十分配慮しなければならず、適切な条件で保存することによって、長期的に安定な製剤として使用することが可能であると考えられる。

REFERENCES

- 1) Yagi N., Terashima Y., Kenmotsu H., Sekikawa H., Takada M., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 241-244 (1996).
- 2) Heeg J. F., Hiser M. F., Satonin D. K., Rose J. Q., *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1758-1763 (1984).
- 3) Kubo Y., Terashima Y., Yagi N., Nochi H., Tamoto K., Sekikawa H., *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, 1880-1884 (2009).
- 4) Imaizumi H., Nambu N., Nagai T., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2510-2512 (1983).
- 5) Sugimoto I., Sasaki K., Kuchiki A., Ishihara T., Nakagawa H., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4479-4488 (1982).
- 6) Sakazume S., Yamashita T., Ono M., Satoh H., Tanno K., *Jpn. J. Hosp. Pharm.*, **19**, 209-215 (1993).
- 7) Yagi N., Kenmotsu H., Sekikawa H., Saijo K., Nishihana M., Katakura M., Itaya K., *Jpn. J. Hosp. Pharm.*, **19**, 427-434 (1993).
- 8) Hirasawa N., Ishise S., Miyata H., *Yakugaku Zasshi*, **124**, 19-23 (2004).