



In Situ ファイバーUV モニタリングシステム搭載溶解度測定システムを用いた新規のカルベジロール塩の溶出性評価

星薬科大学 薬品物理化学研究室 講師 古石 誉之先生

目的

医薬品の塩形成は、難溶性薬物の溶解度や溶解速度を向上させるための一般的な方法である。そのため、医薬品開発初期段階で塩形成のスクリーニングが重要である。本研究では、非選択的 β 遮断薬であるカルベジロール (CVD) を医薬品原薬として選択し、CVD の塩形成による溶出性評価を行った。CVD は高血圧および慢性心不全の治療薬として知られている難水溶性薬物であり、Biopharmaceutics Classification System (BCS) クラス II に属する。米国薬局方 (USP) では溶解度の測定に UV-Vis spectrometry または High Performance Liquid Chromatography を推奨している。しかし、これらの測定方法では、測定に必要な原薬量が必要となる。そこで、本研究では光ファイバーシステムの開発により、医薬品の溶出過程を簡便に測定することが可能となった、Pion 社製 Rainbow と Mini-Bath の組み合わせによる In Situ ファイバーUV モニタリングシステム搭載溶解度測定手法を用いて、数種類の酸性塩と CVD からなる新規塩の溶出過程を評価した。

実験

CVD のカウンター塩としてコハク酸 (SA)、アジピン酸 (AD)、DL-マンデル酸 (DMA) およびテレフタル酸 (TA) を選択した。いずれの塩についてもエタノール中で CVD とカウンター塩とをモル比 1:1 の比率で溶解したのち、再結晶することにより得た。試験に供する溶媒は精製水と 0.2 mol/L のリン酸緩衝液 (pH 6.8) とした。

CVD はメタノールに、各種カウンター化合物群はエタノールに溶解させた後(ストック溶液)、20 mL のリン酸緩衝液の入ったバイアルに加え、37°Cにて各濃度の紫外線 (UV) 吸収スペクトルをそれぞれ求めた。次に UV 吸収スペクトル ($4 \leq n \leq 6$) を用いて各チャンネルの標準検量線を求めた ($R^2 \geq 0.990$)。CVD を例にした標準検量線決定の各チャンネルの全波長スペクトルを図 1 に示す。また、ストック溶液の調製は次のように行った。

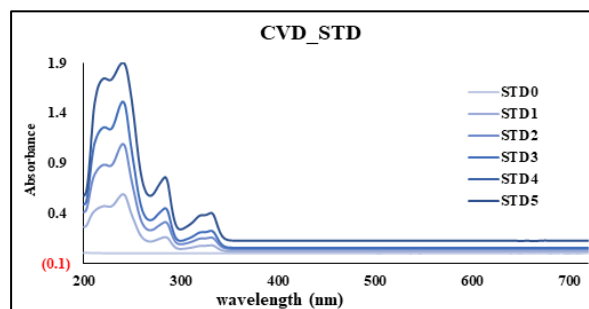


図 1 Ch. 1 の標準検量線の全波長スペクトル



- ストック溶液 1 (1.0 mg/mL)
CVD 原薬 11 mg を秤量し、メタノールに溶解して 10 mL とした。
- ストック溶液 2 (5 mg/mL)
TA 50 mg を秤量し、エタノールに溶解して 10 mL とした。
- ストック溶液 3 (10 mg/mL)
AD 100 mg を秤量し、エタノールに溶解して 10 mL とした。
- ストック溶液 4 (10 mg/mL)
DMA 100 mg を秤量し、エタノールに溶解して 10 mL とした。
- ストック溶液 5 (13 mg/mL)
SA 130 mg を秤量し、エタノールに溶解して 10 mL とした。

なお、今回は CVD とカウンター塩の吸収波長を比較し、溶出試験に適した波長を選択した。本研究では CVD の濃度のみ着目したが、付属のソフトウェア AuPRO Rainbow は、共存する化合物についてそれぞれ標準溶液についてプロファイルを同時取り込みできることから、本ソフトを用いることにより、原薬 (API) とカウンター物質の濃度を同時に算出することが可能である。また、一度 API とカウンター物質の検量線を作成すれば、その後の各物質の溶出量を測定するのに繰り返し使用できる仕様になっている。すべての試験は 37°Cで行い、その他の試験条件は表 1 に示す。

表 1 新規 CVD 塩の測定条件

	Time Delay (s)	Stirring Rate (rpm)	Solvent	Calculate Wavelength Range (nm)	Path Length
CVD_AD	35s	250	water	310~340	10mm
CVD_SA	40s	300	phosphate buffer	300~350	5mm
CVD_DMA	35s	300	phosphate buffer	300~350	10mm
CVD_AD	35s	300	phosphate buffer	300~350	5mm
CVD_TA	35s	250	water	310~340	10mm
CVD_TA	35s	250	phosphate buffer	310~335	10mm



結果・考察

各種新規 CVD 塩について、CVD 単味と比較した溶出プロファイルを図 2~5 に示す。なお、いずれも溶出時間を 1500 分とした。各新規 CVD 塩の溶出速度 (DR) と 1500 分後の CVD 濃度は、TA 塩を除いて CVD 単味よりも高い値を示した。AD と SA は直鎖のジカルボン酸でアルキル鎖長が異なる。また、DMA は芳香環を持つモノカルボン酸、TA は芳香環を持つジカルボン酸である。このとき新規 CVD 塩の溶解性改善の順位としては、SA>AD>DMA>TA となった。

一方で、カウンター塩自身に着目すると、AD と SA の溶解度は DMA>SA>AD>TA である。DMA を除いて、カウンターイオンの溶解度に応じて新規 CVD 塩の溶出速度ならびに溶解度に反映されたものと推察された。一方、DMA はモノカルボン酸であることから、他のジカルボン酸類とは異なる結晶構造形成をしていると可能性があり、構造類似性が異なるカウンターイオンを溶解度の比較のみで結論づけることは困難であると考えられた。

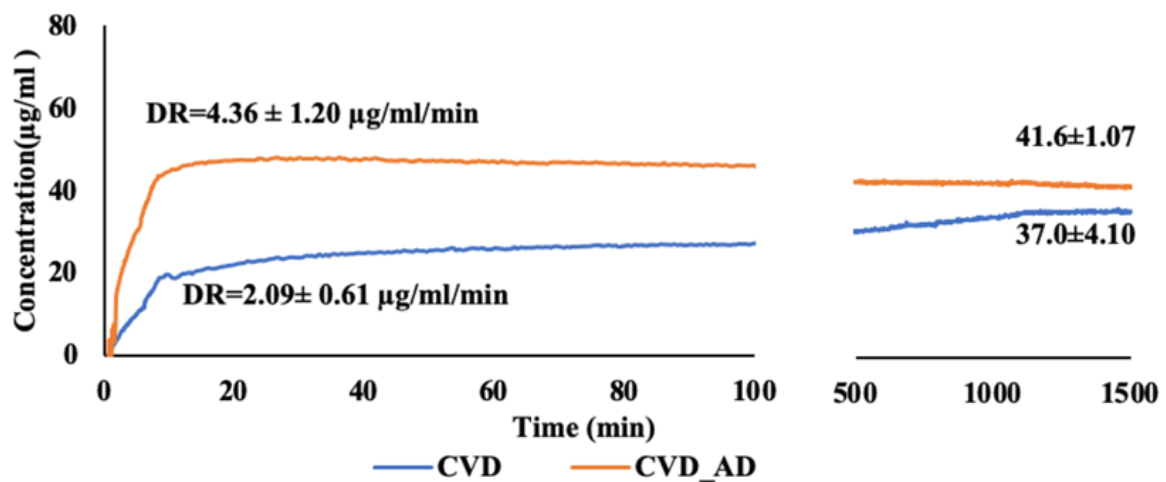


図2 CVD_AD 塩の溶出曲線 (n = 3)

CVD よりも 2.1 倍速く溶解し、1500 分での濃度は CVD よりも 5 µg/mL 高くなった。

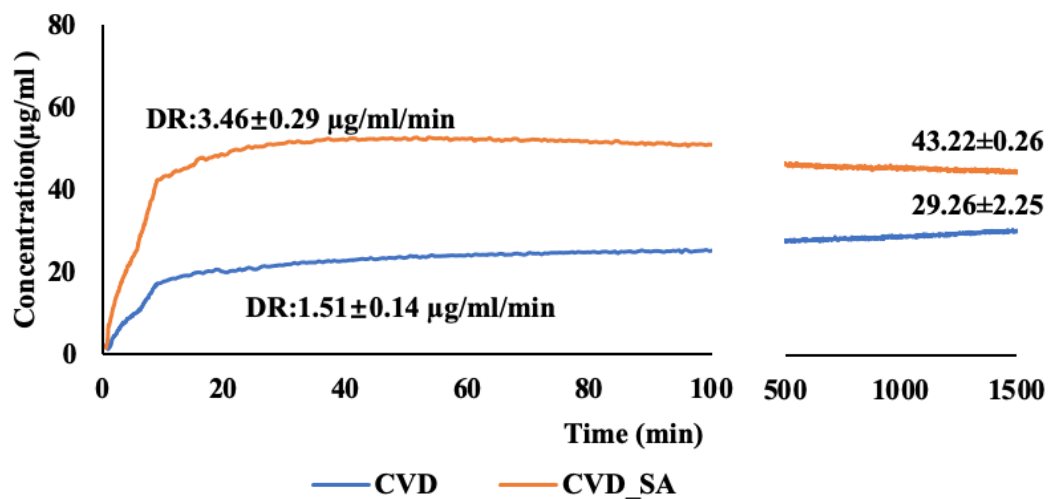


図3 CDV_SA 塩の溶解曲線 (n = 3)

CVD よりも 2.3 倍速く溶解し、1500 分での濃度は CVD よりも約 14 µg/mL 高くなった。

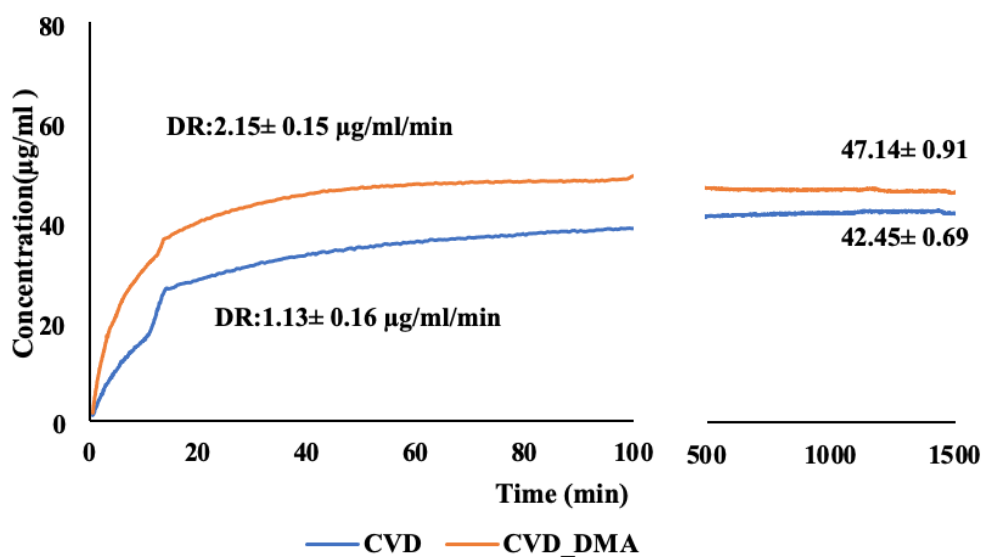


図4 CVD_DMA 塩の溶解曲線 (n = 3)

CVD よりも 1.9 倍速く溶解し、1500 分での濃度は CVD よりも約 5 µg/mL 高くなった。

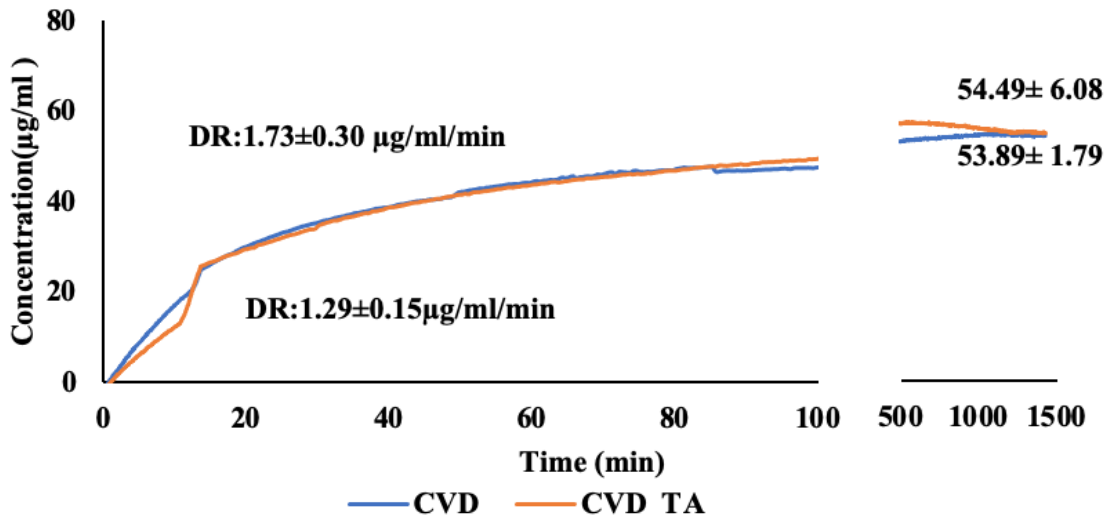


図5 CVD 原薬と CVD_TA 塩の溶解曲線 (n = 3)

CVD 原薬は CVD_TA 塩より 1.3 倍速く溶解した。

1500 分での CVD 原薬と CVD_TA 塩の濃度は同じと見なすことができた。

(CVD 原薬 : $53.89 \pm 1.79 \mu\text{g/mL}$ 、CVD_TA 塩 : $54.49 \pm 6.08 \mu\text{g/mL}$)

本手法による API の新規塩形成における溶解性の比較を行うにあたり、従来のフラスコ振とう法と比較して、非常に簡便である。フラスコ振とう法では、試料と溶媒を用意した後、バイアル瓶等に入れた水浴等の中で振とうしたのち、ろ過して吸光度計や HPLC で、API の濃度を測定する。この手法は、平衡に達したときの濃度測定するには適した方法だが、溶出速度を算出するにはサンプリングする度に溶媒から懸濁液をサンプリングすることから、比較的試料量が必要となり、またその操作も煩雑である。一方、今回の Rainbow システムを用いた API の溶出試験ではバイアル瓶に試料と溶媒を入れた後、吸収データと濃度データを自動的に測定し保存することができる。また、試料をスキャンして測定するため、

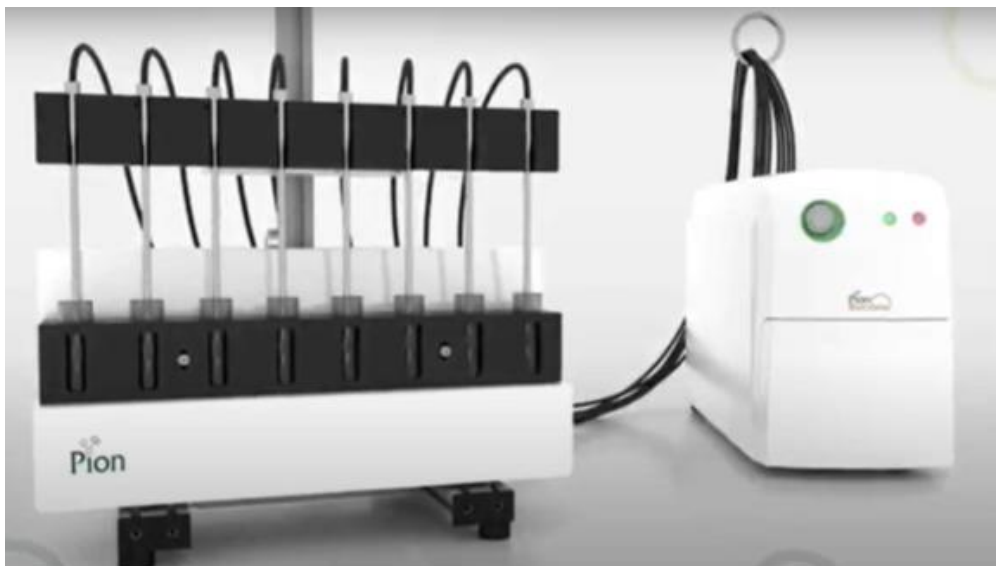
同じ試料を繰り返し測定することができ、試料採取やろ過などの操作が不要である。以上より、Rainbow システムを使用することで、サンプルの使用量や溶出試験の複雑さを大幅に軽減することが可能となり、開発初期における API の新規塩のみならず、複合体のセレクションに活用できることが示唆された。



結論

本研究により、AD、SA、DMA との塩形成により、CVD の溶出速度が 2 倍程度向上することがわかった。DMA の塩形成により、CVD の溶出速度が 2 倍改善された。Rainbow では、光路長の異なる複数のプローブチップが用意されており、これを取り替えることにより広い濃度範囲

が測定できるようになる。また、フラスコ振とう法と比較して、追加の実験操作や計算をすることなく、多くの濃度データを取得することが可能となる。このように、Rainbow の使用により、さまざまな形態の API や中間体の溶出過程を簡単に得ることができることから、本装置の活用が期待される。



μDISS

(In Situ ファイバーUV モニタリングシステム搭載 小ボリューム溶解度測定システム)