

NMRとデータサイエンスで探る
3Dプリンター錠剤の放出制御基盤

富山大学 学術研究部薬学・和漢系製剤設計学研究室
特命准教授

おかだ こうたろう
岡田 康太郎

NMRとデータサイエンスで探る 3Dプリンター錠剤の放出制御基盤

富山大学学術研究部薬学・和漢系 調査・研究 実施者氏名 岡田 康太郎

【要旨】

3Dプリンター錠剤の薬物放出挙動解析に向けた基盤情報を得るため、ホットメルトエクストルージョンにより作製したフィラメントを対象に、時間領域NMR(TD-NMR)を用いて乾燥状態における水分値と T_2 緩和挙動との関係を検討した。薬物量、混練温度、および混練速度を因子とした条件検討の結果、水分値は主に薬物量および混練温度により変化した。TD-NMRによる T_2 緩和測定では、水分値の高い試料は比較的単調な減衰を示したのに対し、水分値の低い試料では振動を伴う特徴的な T_2 緩和挙動が観測された。さらに、フィッティング解析および多変量解析により、この振動を伴う挙動が水分値と強く関連することが示された。以上から、TD-NMRによる T_2 緩和測定はフィラメントの水分状態を非破壊的に評価する有用な手法であり、3Dプリンター錠剤の薬物放出挙動の解析基盤となることが示唆された。

1. 調査・研究目的

3Dプリンティングにより作製される3Dプリンター錠剤は、個別化医療やオンデマンド製造を実現しうる技術として注目されており、将来的には、セルフメディケーションへの応用も期待されている。一方で、その薬物放出を支配する基礎理論は、未だ十分に整理されていない。特に、現在広く用いられている熱溶解積層方式では、ホットメルトエクストルージョン(HME)により調製したフィラメントを原料として、3Dプリンター錠剤が作製される。HMEにより調製されるフィラメントは、薬物をポリマー中に分散させた固体分散体として設計される場合が多く、薬物の結晶性やポリマー中への分散状態が、保存安定性や薬物放出性に影響すると考えられる。したがって、水との接触に伴う変化、すなわち薬物放出過程を理解するためには、乾燥状態におけるフィラメントおよび3Dプリンター錠剤の固体状態を明らかにするとともに、水和に伴う内部状態の変化を追跡することが重要である。

フィラメントおよび3Dプリンター錠剤の固体状態を評価する方法として、示差走査熱量測定、粉末X線回折、赤外分光法、ラマン分光法などが広く用いられている^{1,2}。これらの手法は、薬物の結晶性、相転移および分散状態の評価に有用である。また、核磁気共鳴(NMR)によってもフィラメントの固体状態を評価することができる²。固体NMR測定では、NMRスペクトルの取得により官能基レベルの分子環境に関する情報を得ることが一般的であるが、これに加えて

NMRにおける緩和現象を評価することも可能である。NMRの緩和は分子運動性を反映し、代表的にはスピン-格子緩和時間 (T_1) およびスピン-スピン緩和時間 (T_2) を測定する。特に、プロトン (^1H) の共鳴周波数が数 10 MHz 程度の低磁場装置を用いて緩和時間を測定する手法は、時間領域 NMR (TD-NMR) と呼ばれることが多い³。卓上型の低磁場装置を用いた TD-NMR 測定では、広口径プローブを用いることで、直径 10 mm 程度の試料をそのまま測定できるため、3D プリンター錠剤のような成形体を、試料形状を維持したまま非破壊的に評価できる利点がある。このような特徴から、TD-NMR は乾燥状態の固体状態評価に加え、将来的に水和に伴う内部状態の変化を追跡する手法としても有用であると考えられる。

このような背景から、最終的には重水添加下で、3D プリンター錠剤の水和挙動および薬物放出挙動を TD-NMR により評価することを目指している。この手法では、3D プリンター錠剤を構成する薬物およびポリマーが、TD-NMR で検出可能な ^1H を豊富に含む一方、重水は TD-NMR で観測される ^1H 信号にほとんど寄与しないことを利用する。水和挙動および薬物放出挙動の基盤情報を得る第一段階として、本研究では、クロトリマゾールおよび酢酸ビニル・ビニルピロリドン共重合体 (PVPVA) からなるフィラメントを対象に、乾燥状態における水分状態と T_2 緩和挙動との関係を明らかにすることを目的とした。特に、低水分試料に特徴的な T_2 緩和挙動に着目し、フィッティング解析および多変量解析を用いて、水分値と関連する緩和情報の抽出を試みた。

2. 調査・研究方法

2-1. 試薬

モデル薬物としてクロトリマゾールを用い、ポリマーとして PVPVA を用いた。

2-2. 試料の作製

クロトリマゾールと PVPVA を重量比 2:8、4:6、6:4、8:2 となるよう秤量し、V 型混合器 (VM-2、筒井理化学器械) を用いて物理混合物を調製した。得られた物理混合物 7 g をマイクロコンパウンダー (MiniLab 3、Thermo Fisher Scientific) に投入し、表 1 に示す条件で溶融混練した。

2-3. Karl Fischer 法

Karl Fischer 水分計 (KF-31、日東精工アナリテック) を用い、容量滴定法により、試料中の水分量を測定した。滴定剤にはアクアミクロン SS-Z 3 mg (日東精工アナリテック)、脱水溶剤にはアクアミクロン GEX (日東精工アナリテック) を用いた。

2-4. 熱重量示差熱分析 (TG-DTA)

試料 5-10 mg をアルミパンに秤量し、熱重量示差熱同時分析装置 (Thermo plus 2、リ

ガク) を用いて測定した。測定条件は、窒素気流下、室温から 200° C まで昇温速度 10° C/min とした。120° C までの重量減少率を水分値とした。

2-5. TD-NMR

試料の ^1H T_2 緩和は、minispec mq20 (Bruker) を用い、 ^1H の共鳴周波数 20 MHz、25° C にて、solid echo シーケンスにより測定した。測定条件は、scan 32、recycle delay 10–80 s、dummy shot 1 とした。フィッティング解析は、TDNMR Analyze software (Bruker) を用いて行い、式 1 を適用した。

$$\frac{M(t)}{M_0} = \exp\left\{-\frac{1}{2}\left(\frac{t}{T_2}\right)^2\right\} + offset \quad (1)$$

ここで、 $M(t)$ および M_0 それぞれ時間 t および 0 における横磁化、 t は観測時間、 T_2 は T_2 緩和時間を示す。

2-6. Partial least squares (PLS) 回帰

PLS 回帰には JMP Student Edition (SAS Institute Inc.) を用いた。説明変数には、各 T_2 緩和曲線を構成する信号強度を用い、目的変数には Karl Fischer 法および TG-DTA から得られた水分値を用いた。説明変数は、0.00016 ms 間隔で取得した 626 点の T_2 緩和データから構成した。Calibration データとして Exp. 1–8 を用い、validation データとして Exp. 9–12 を用いた。決定係数 (R^2) および二乗平均平方根誤差 (RMSE) によりモデル評価を行い、重要度の評価には variable importance in projection を用いた。

3. 調査・研究成果

3-1. HME 条件に応じたフィラメントの水分値

HME 条件がフィラメントの水分値に及ぼす影響を検討するため、薬物量、混練温度、および混練速度を因子とした 2 水準 3 因子の実験計画によりスクリーニングを行った。その結果、混練速度と比較して、薬物量および混練温度に対応する水分値の変動が大きかった。具体的には、薬物量が高い条件では水分値は低く、また混練温度が高い条件では水分値が低かった。そこで、薬物量および混練温度に着目し、条件数を増やした追加実験を行った。その結果、薬物量および混練温度の違いに応じた、フィラメント水分値の変化が確認された (図 1)。

3-2. フィラメントの水分量に応じた T_2 緩和

薬物量および混練温度を変更した各試料について、solid echo 法により T_2 緩和を測定したところ、その減衰挙動は水分値の異なる試料間で明確に異なった (図 2)。高い水分

値を有する試料では、比較的単調な減衰挙動を示し、その緩和曲線は Gaussian 関数と exponential 関数を組み合わせた式 2 に良好にフィットした。一方、低い水分値を有する試料では、信号は一様には減衰せず、振動を伴いながら減衰する挙動を示した。特に、薬物量 80% の試料および混練温度 150° C の試料では、Gaussian 関数と Abragamian 関数を足し合わせた式 3 に良好にフィットした。一方、混練温度 120° C の試料のように中間的な減衰挙動を示す試料では、式 2 および式 3 のいずれによっても、一定程度のフィッティングが可能であり、単一のフィッティングモデルにより特徴を一義的に記述することは困難であった。

$$\frac{M(t)}{M_0} = P_{Gauss} \exp \left\{ -\frac{1}{2} \left(\frac{t}{T_{2(Gauss)}} \right)^2 \right\} + P_{exp} \exp \left(-\frac{t}{T_{2(exp)}} \right) \quad (2)$$

ここで、 $M(t)$ および M_0 は、それぞれ時間 t および 0 における横磁化、 t は観測時間を示す。 $T_{2(Gauss)}$ および $T_{2(exp)}$ は、それぞれ Gaussian 関数および exponential 関数の T_2 緩和時間を示す。 P_{Gauss} および P_{exp} は、それぞれ $T_{2(Gauss)}$ および $T_{2(exp)}$ に対応する 1H の比率を示す。

$$\frac{M(t)}{M_0} = P_{Gauss} \exp \left\{ -\frac{1}{2} \left(\frac{t}{T_{2(Gauss)}} \right)^2 \right\} + P_{Abragam} \exp \left\{ -\frac{1}{2} \left(\frac{t}{T_{2(Abragam)}} \right)^2 \right\} \cdot \frac{\sin(\omega t)}{\omega t} \quad (3)$$

ここで、 $M(t)$ および M_0 は、それぞれ時間 t および 0 における横磁化、 t は観測時間、および ω は角周波数を示す。 $T_{2(Gauss)}$ および $T_{2(Abragam)}$ は、それぞれ Gaussian 関数および Abragamian 関数の T_2 緩和時間を示す。 P_{Gauss} および $P_{Abragam}$ は、それぞれ $T_{2(Gauss)}$ および $T_{2(Abragam)}$ に対応する 1H の比率を示す。

3-3. T_2 緩和に基づくフィラメント水分状態の実用的評価

前節で示したように、薬物量 80% の試料および混練温度 150° C の試料などの顕著な振動挙動を示す試料の T_2 緩和は、Gaussian 関数と Abragamian 関数を組み合わせた式 3 により記述できた。一方で、すべての試料を単一のフィッティング式で整理することは困難であった。そこで、offset 項を有する Gaussian 関数である式 1 を用いて全試料の T_2 緩和を解析し、得られたパラメータと水分値との関係を調査した。その結果、式 1 から得られた offset 値を水分値に対してプロットしたところ、両者の間に強い正の相関が示された (図 3)。Karl Fischer 法および TG-DTA により見積もられた水分値に対する相関係数 (r) は、それぞれ 0.9406 および 0.9170 であった。

さらに、 T_2 緩和曲線全体を説明変数、水分値を目的変数として PLS 回帰を行った。その結果、理論値 - 予測値プロットにおける R^2 は、Karl Fischer 法および TG-DTA でそれぞれ 0.9382 および 0.5113 であり、RMSE はそれぞれ 0.0476 および 0.1526 であった (図 4)。

また、PLS 回帰において重要度の高い説明変数は、特徴的な振動挙動が観測された時間領域に分布した (図 5)。

4、考察

本研究では、HME により作製したフィラメントの T_2 緩和挙動を比較した結果、水分値の低い試料において特徴的な振動現象が観測された (図 2)。一般に、固体試料において分子運動が強く制限されると、単調な Gaussian 関数や exponential 関数では記述しにくい、非単調な緩和挙動が現れ、Abragamian 関数などで記述されることがある⁴。また、高い結晶性を有するポリマーでは、このような T_2 緩和の振動現象は著しく運動性が制限された相の特徴として報告されている。Uehara らは、超高分子量ポリエチレンの T_2 緩和を TD-NMR にて測定し、Abragamian 関数により記述される振動現象が、高い結晶性を有する試料において強調されることを示した⁵。一方、本研究において T_2 緩和の振動現象が特に顕著であった薬物量 80% の試料および混練温度 150 °C の試料における T_2 緩和は、Gaussian 関数と Abragamian 関数を足し合わせた式 3 に当てはまった。したがって、本研究で観測された T_2 緩和の振動現象も、分子運動が強く制限された局所環境を反映している可能性がある。ただし本研究では、Uehara らが対象とした高結晶性のポリエチレンとは異なり、低分子薬物およびポリマーからなる固体分散体であるフィラメントを試料として扱っており、かつ PVPVA は結晶性の低いポリマーである。このため、本研究で確認された T_2 緩和の振動現象を結晶相そのものに由来すると断定することは困難であり、水分の減少に伴う局所環境の剛直化や分子運動性の低下を反映している可能性がある。

図 2 に示されたように、低い水分値を有する試料では、 T_2 緩和の振動現象が顕著であった。そこで本研究では、 T_2 緩和の振動現象が水分値と関係することを検証するため、フィッティング解析および多変量解析の二つの手法を用いた。フィッティング解析では、Gaussian 関数に offset 項を足し合わせた、比較的簡便な式 1 を適用した。 T_2 緩和挙動について、Gaussian 関数からの逸脱を反映する経験的指標として offset 項に着目した。その結果、式 1 へのフィッティングから得られた offset 項の比率は、水分値と強い正の相関を示した (図 3)。Offset 項自体の物理的意味は現時点では明確でないが、単純な Gaussian 関数では記述しきれない T_2 緩和の変化を offset 項が担ったと考えられる。少なくとも本研究においては、offset 項の比率は低水分試料に現れる特徴的な波形変化を簡便に数値化する経験的指標として機能したとみなせる。

続いて、水分値を反映する情報が T_2 緩和曲線のどの領域に含まれるかを検討するため、PLS 解析により、 T_2 緩和曲線を構成する各測定点の重要度を variable importance in projection により評価した。Karl Fischer 法により測定された水分値を目的変数とした PLS モデルでは、validation set において、 R_2 は 0.9382、RMSE は 0.0476 であり、本研究の条件では比較的良好な予測性を示した。また、この PLS モデルにおいて重要度の高い説明変数は T_2 緩和の振動現象が観測された領域に分布した (図 5)。この結果は、低水分試料で認められた特徴的な T_2 緩

和の振動現象が、水分値と関連していることを支持している。

なお、PLS 回帰では、TG-DTA により測定した水分値よりも、Karl Fischer 法により測定した水分値を目的変数とした場合の方が、予測性の高いモデルが得られた。TG-DTA は加熱に伴う重量減少を評価する手法であり、水分の吸着状態や揮発挙動が試料間で異なる場合には、水分量を一義的に反映しない可能性がある。一方、Karl Fischer 法は水そのものを定量する手法であり、Karl Fischer 法により得られる水分値は、TG-DTA における総重量減少率よりも、水そのものの情報をより直接的に反映していると考えられる。したがって、本研究において Karl Fischer 法に対してより良好な予測モデルが得られたことは、 T_2 緩和が、総重量減少よりも水そのものの影響を強く反映している可能性を示している。また、試料の含水率が 1% 程度あるいはそれ未満であることを考慮すると、 T_2 緩和信号の大部分はフィラメントの構成成分であるクロトリマゾールおよび PVPVA に由来すると考えられる。したがって、吸着した水分によるクロトリマゾールおよび PVPVA の分子運動性の変化が、 T_2 緩和挙動に反映された可能性がある。

5、まとめ

本研究では、クロトリマゾールおよび PVPVA からなり、HME により調製されたフィラメントを対象に、水分状態と ^1H T_2 緩和挙動との関係を明らかにした。低水分試料では振動を伴う特徴的な T_2 緩和挙動が観測され、その挙動は offset 項を含むフィッティング解析および PLS 回帰により水分値と強く関連することが示された。これらの結果から、TD-NMR による T_2 緩和測定はフィラメントの水分状態を非破壊的に評価する有用な手法であり、将来的な 3D プリンター錠剤の水和および薬物放出挙動の解析に向けた基盤的知見となることが示唆された。

6、調査・研究発表（口頭又は誌上発表）

該当なし。現在、国際学術雑誌への投稿を準備中である。

7、引用文献

- 1) Khalid G. M., Billa N., *Pharmaceutics*, 14 (2022).
- 2) Repka M. A., Bandari S., Kallakunta V. R., Vo A. Q., McFall H., Pimparade M. B., Bhagurkar A. M., *Int. J. Pharm.*, 535, 68–85 (2018).
- 3) Almeida L. S., Carneiro J., Colnago L. A., *Int. J. Pharm.*, 669, 125027 (2025).
- 4) Besghini D., Mauri M., Simonutti R., *Applied Sciences*, 9 (2019).
- 5) Uehara H., Aoike T., Yamanobe T., Komoto T., *Macromolecules*, 35, 2640–2647 (2002).

表 1. 試料の調製条件.

試料番号	薬物含量	混練温度	混練速度
Exp. 1	20%	120°C	10 rpm
Exp. 2	20%	120°C	100 rpm
Exp. 3	20%	140°C	10 rpm
Exp. 4	20%	140°C	100 rpm
Exp. 5	60%	120°C	10 rpm
Exp. 6	60%	120°C	100 rpm
Exp. 7	60%	140°C	10 rpm
Exp. 8	60%	140°C	100 rpm
Exp. 9	60%	130°C	10 rpm
Exp. 10	60%	150°C	10 rpm
Exp. 11	40%	140°C	10 rpm
Exp. 12	80%	140°C	10 rpm

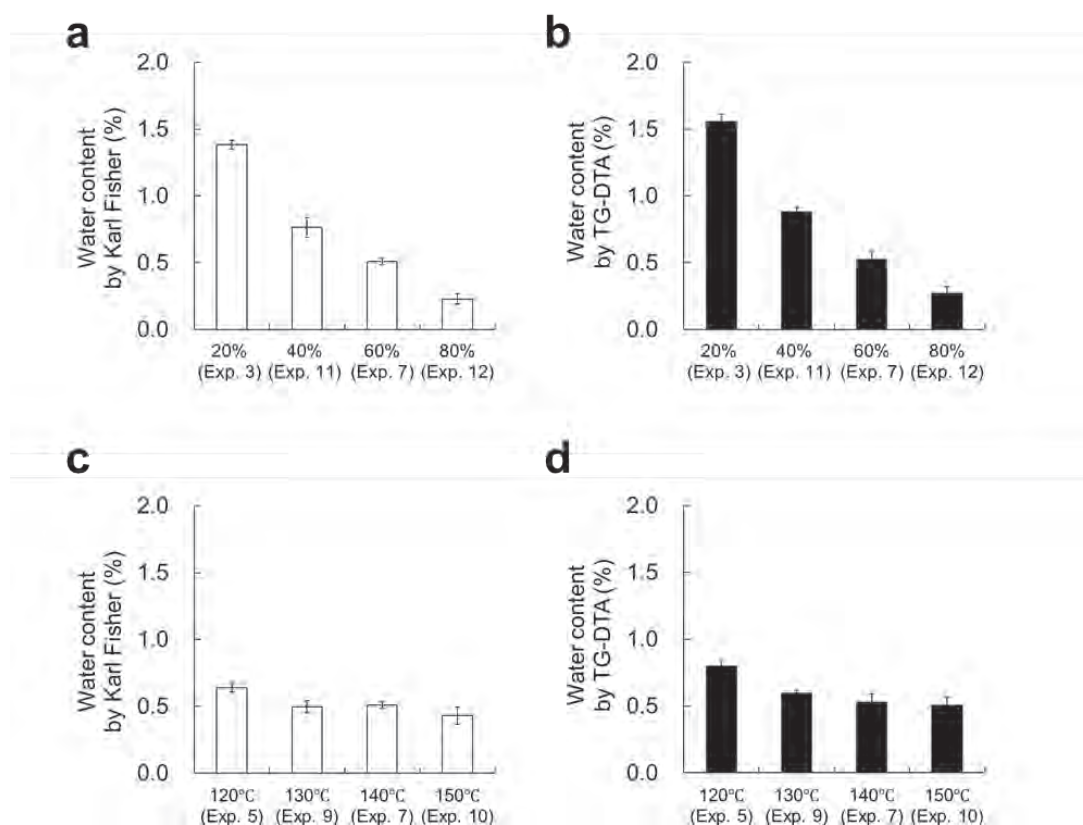


図 1. 薬物含量および混練温度を変化させた試料の水分値 ($n = 3$) .

(a, b) 薬物含量を変化させた試料, (c, d) 混練温度を変化させた試料

(a, c) Karl Fischer 法により測定した水分値, (b, d) TG-DTA により測定した水分値

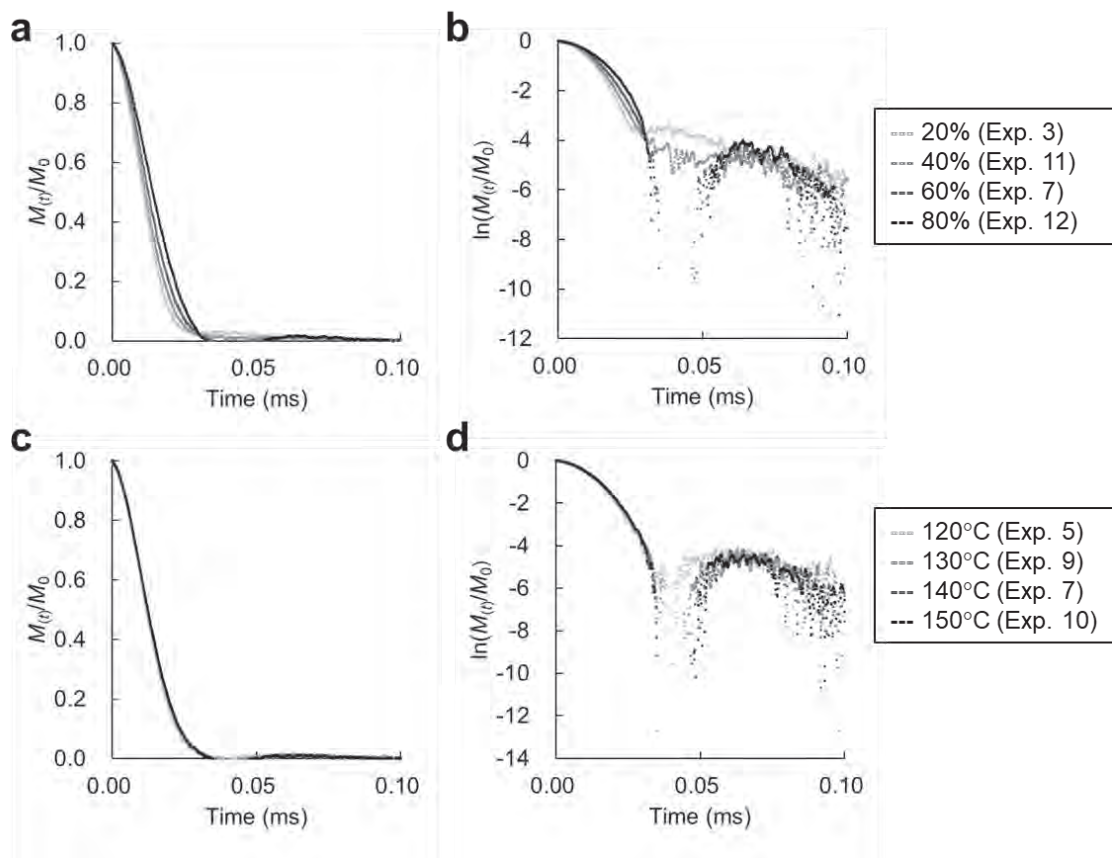


図 2. 薬物含量および混練温度を変化させた試料の ^1H T_2 緩和挙動。
 (a, b) 薬物含量を変化させた試料, (c, d) 混練温度を変化させた試料
 (a, c) 正規化した T_2 緩和, (b, d) その対数表示

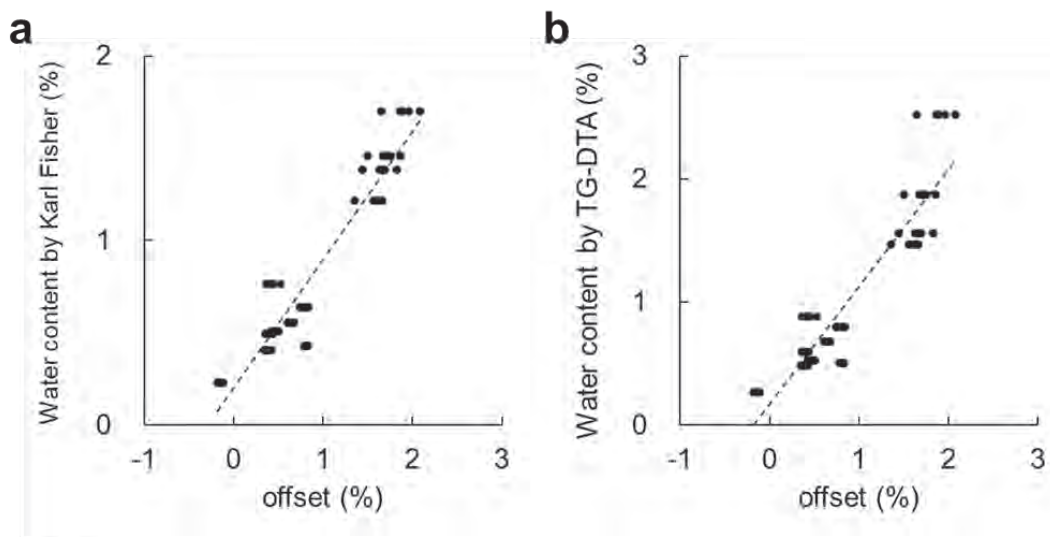


図 3. 式 1 へのフィッティング解析により得られた offset 値と水分値との関係。
 (a) Karl Fischer 法により測定した水分値, (b) TG-DTA により測定した水分値

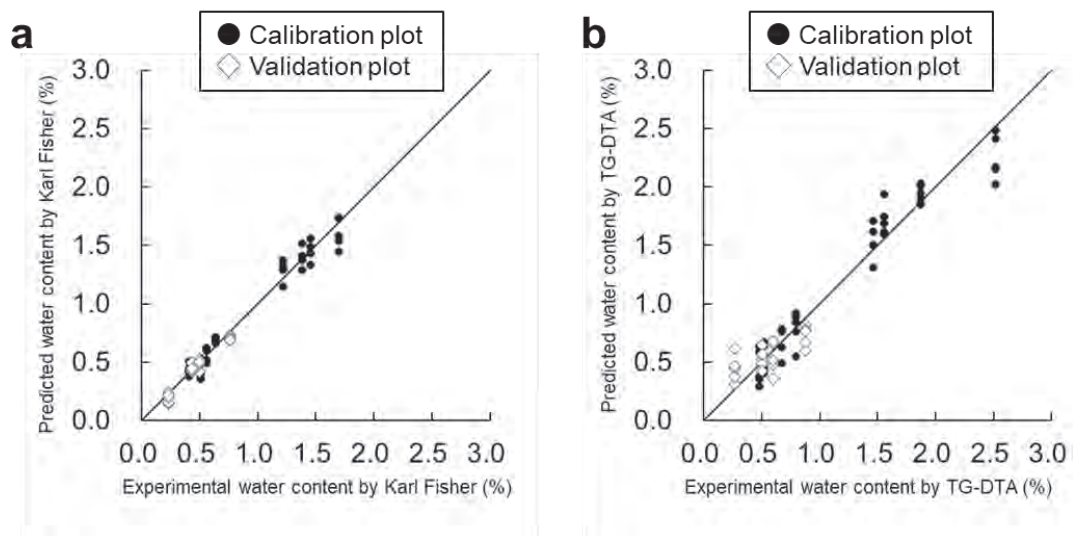


図 4. ^1H T_2 緩和を説明変数とした PLS 回帰による水分値の予測結果。
 (a) Karl Fischer 法により測定した水分値, (b) TG-DTA により測定した水分値

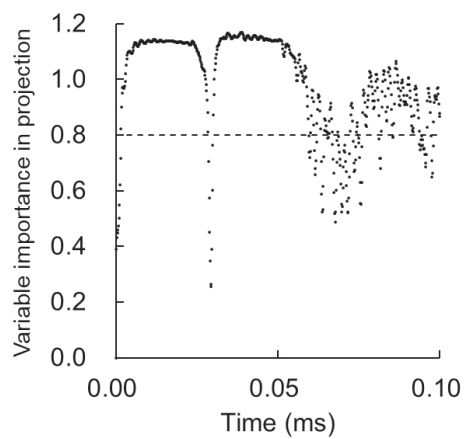


図 5. Karl Fischer 法により測定した水分値を目的変数とした PLS 回帰から得られた重要度変数.