

令和元年度 学 位 論 文

論 文 題 目

〈邦 文〉

球形添加剤を用いた新規凍結粉碎技術の開発

〈欧 文〉

Development of novel cryo-milling technology
using spherical additives

名城大学大学院 薬学研究科 薬学専攻 博士課程

氏 名

上 本 好 文

目 次

目 次	1
緒 論	3
第1章 ドライアイスビーズによる粉砕	6
第1節 緒言	6
第2節 ドライアイスビーズの生成と調製	7
第3節 粉砕条件の最適化	12
第4節 粉砕能力	15
第5節 ビーズとしての耐久性	16
第6節 医薬品原薬への適用	19
第7節 小括	21
第2章 球形糖ビーズによる粉砕	22
第1節 緒言	22
第2節 球形糖ビーズによる粉砕推移	22
第3節 粉砕条件の最適化	28
第4節 SDM ビーズの耐久性	35
第5節 粉砕機序	37
第6節 粉砕能力	38
第7節 医薬品原薬への適用	41
第8節 小括	46
第3章 球形セルロースビーズによる粉砕	47
第1節 緒言	47
第2節 球形セルロースビーズによる粉砕推移	47
第3節 粉砕条件の最適化	50
第4節 SCC ビーズの耐久性	59
第5節 粉砕機序	61
第6節 粉砕能力	63
第7節 小括	63
第4章 総括	65
第1節 ドライアイスビーズによる超低温粉砕	65
第2節 球形糖ビーズによる超低温粉砕	65
第3節 球形セルロースビーズによる超低温粉砕	67
第4節 超低温粉砕	67

実験の部	69
引用文献	78
謝 辞	82

緒 論

医薬品製剤を設計し工業化する際には、医薬品原薬はほとんどの場合、粉碎されて用いられる。これは結晶化操作だけでは原薬の結晶サイズを制御し適した粒子径の原薬を得るのが簡単ではないこと、もしくは製剤化に適した粒子径の原薬を結晶化操作で直接得るのが必ずしも効率的ではないからである。粒子径をサブミクロンサイズ、あるいはナノサイズへと粉碎する技術は経口、注射、経肺、経皮、眼内投与など多くの投与経路を意図した製剤設計に採用されてきた¹⁾。実際に、粒子径を細かくして含量均一性を確保したり、溶出性や経口吸収性を改善したり、標的部位まで到達させたりするなど様々な目的で粉碎が行われているが、とりわけ経口固形製剤の開発では溶出性や経口吸収性改善のために粉碎している事例が多い。Karashima らの報告によると、市販された医薬品の開発において、40%の化合物が原薬の溶解性に問題があったと言われている²⁾。溶解性の改善には種々のアプローチがあるが、製薬産業における第一選択は粉碎である。微細化による表面積の増大は溶解速度の増大をもたらし、1~2 μm 以下のサブミクロン領域まで到達すると溶解度自体も増大するとの報告もある³⁾。Jinno らは Cilostazol を例に、粗大な原薬粒子をナノ粒子化 (<1 μm) したことで溶解度が 5100 倍になり、その結果として経口吸収性が改善され、食事の有無による投与後の血中濃度推移の違いが解消されたと報告している⁴⁾。原薬の粒子径は溶出性や経口吸収性に大きく関わり、粉碎によって原薬の粒子径を制御することで溶出性や経口吸収性が確保される場合がある。このように粉碎は経口製剤の有効性を担保するうえで原薬の粒子径を決定づける重要な操作の一つとなっている。

粉碎様式は乾式法と湿式法に分類されるが、分散媒（連続した液相）があり粉碎された後の粒子凝集を抑制できることから微細化には乾式法よりも湿式法の方が有利となる。湿式粉碎は(1) 微小な粉碎媒体（メディア）を用いた湿式ビーズ粉碎、(2) 高圧ホモジナイゼーションによる粉碎（メディアレス粉碎）の二つに大別される。一般に、ビーズやボールといっしょに攪拌して粉碎する前者の方が粉碎対象物を微細化しやすいと言われている⁵⁾。湿式粉碎ではジルコニアやガラス、アルミナ製のビーズが用いられ、特に、電子材料やインク、トナーといった無機材料の粉碎には高密度で耐衝撃性の高いジルコニアビーズが利用される。しかし、これらのビーズは表面が摩耗し製品中に混入すること（コンタミネーション）が指摘されており、混入した成分を摂取した際の安全性の問題から、本粉碎手法の医薬品製造への適用は普及するに至っていない。Howorth はジルコニアビーズの素材や耐摩耗性の向上について検討している⁶⁾。Hennart らも攪拌速度やビーズサイズ、粉碎対象物の硬度などビーズの摩耗に与える要因について報告している⁷⁾。Becker と Schwedes⁸⁾や Flach ら⁹⁾もビーズの摩耗が粉碎対象物の特性からも影響を受けることを報告している。Juhnke らは、具体的な薬物の名称を明らかにしていないが、ジルコニアビーズにて粉碎した際、製品中へのジルコニウムの混入量が 100~500 $\mu\text{g/g}$ であったと報告している¹⁰⁾。Li らは、粉碎条件を最適化し、粉碎時間を短縮してエネルギー消費量を減じることで、ジルコニア混入量を 17~27 $\mu\text{g/g}$ まで

低減できたと報告している¹¹⁾。これ以外にもビーズの摩耗回避のためにコーティングが検討された事例³⁾や添加物を用いることによって摩耗を低減する可能性が報告されているが²⁾、ビーズが摩耗する問題は完全に解消されておらず、医薬品製造に適用する際の難題となっている。

ジルコニウムは血液脳関門を通過し脳に蓄積すると報告されており、成人の体内には 420 mg のジルコニウムが存在すると報告されている¹²⁾。ジルコニウムを含め、医薬品中に含まれる重金属は米国食品医薬品当局（FDA）により規制され、FDA ガイダンス「Q3D 元素不純物」には、元素不純物の潜在的な発生源の特定と定量、および許容一日曝露量（Permitted Daily Exposure : PDE）との比較、リスク評価プロセスの概要が記述されている¹³⁾。このガイダンスに従うと、新医薬品の製造販売承認を受けようとする申請者は、含有する重金属の潜在的な発生源を特定し、最終製品における含有量と PDE 値を比較して重金属の曝露に対して安全性を保証しなければならない。ジルコニウムの PDE 値は 500 µg/日以上で低毒性クラスに分類され、求められるリスク評価はそれほど厳しくない。しかし、仮に安全だとしても異物である摩耗片や欠損断片が製品に混入することは医薬品として許容しがたく、患者にとって望ましい品質とは言えない。

ビーズの摩耗を回避する手段の一つとして、ビーズ素材を高架橋型ポリスチレン樹脂とした特殊ビーズを用いる方法がある¹⁴⁾。この技術はナノクリスタル（NanoCrystal）と呼ばれ、米国ではすでにこの技術を利用した 17 製品が承認されている^{5), 15)}。このうち日本では、抗がん剤治療患者に対する制吐薬アプレピタント製剤（イメンド®カプセル、小野薬品）や、統合失調症治療薬パルミチン酸パリペリドン製剤（ゼプリオン®水濁筋注、ヤンセンファーマ）の 2 製品が承認されるにとどまっている⁵⁾。本技術は米国の製剤開発会社（エラン社、当時）にて開発され、これまで 80 件を超える特許で知的財産権が保護されてきたために、普及するには至らなかった。一部の基本特許が満了して産業利用における制限は限定的となりつつあるが、その特殊なビーズに関わる一部の特許は現在も満了しておらず、権利が保護された状態にある。このため多くの製薬企業は今も医薬品を開発するためビーズミル粉碎の設備やノウハウを保有していない¹⁶⁾。ナノクリスタル技術が開発された 1990 年代当時、多くの製薬企業はその意義を十分に認識していなかったと考えられており、この分野でのノウハウや知的財産権の構築に尽力しなかったとも言われている¹⁷⁾。

創薬スクリーニング技術の進歩にともない、水に極めて難溶な候補化合物が急増した 2000 年代以降、ナノクリスタル技術に代わる異物混入のない粉碎技術が求められてきた。これまでに我々の研究室では、液体窒素を分散媒とすることで-200℃という低温場での超低温粉碎技術を確立した。物質の多くは脆化点以下に冷却されるとガラス様に脆くなる性質（低温脆性）があり、液体窒素中での粉碎は物質の粉碎にとって非常に有利であった。超低温粉碎においてもビーズの摩損を限りなく少なくするという考えからジルコニアビーズを用いてきたが、汎用の湿式ビーズミル粉碎と同様に、摩損したビーズが異物となって混入する可能性があった。

本研究は、ビーズの割れや欠け、摩耗は避けられない状況であると受け入れ、混入しても問題とならない素材によるビーズにて粉碎すれば安全性の問題は解消されるのではないかとという着想を

もとにした。粉碎媒体としては強靱でもなく重質でもないが、(1) 粉碎工程後に完全に消失する物質、あるいは(2) 医薬品に混入しても安全性上問題とならない素材のビーズを用いることを企図した。前者としては、液体窒素中（超低温）では固体状態を維持し、粉碎後は液体窒素の揮発とともに昇華するドライアイス、後者としては、医薬品添加剤として汎用される糖類およびセルロース類をビーズとして用いることを試みた。特にドライアイスではビーズ状製品が市販されていないため、その製造方法の確立についても併せて検討した。また、これらビーズを使用した超低温粉碎において、各ビーズの粉碎能力や工程中でのビーズの耐久性をジルコニアビーズでの粉碎結果と比較し、実用化の可能性について考察した。以下各章にわたり、それぞれのビーズを用いて粉碎検討して得られた知見と成果について詳述する。

なお、本論文は以下の既に公表された論文を総括したものである。

1) Yoshifumi Uemoto, Shogo Toda, Ayumi Adachi, Keita Kondo, Toshiyuki Niwa : Ultra cryo-milling with liquid nitrogen and dry ice beads: Characterization of dry ice as milling beads for application to various drug compounds

Chem. Pharm. Bull., 66, 794–804 (2018).

2) Yoshifumi Uemoto, Keita Kondo, Toshiyuki Niwa : Cryo-milling using a spherical sugar: Contamination-free media milling technology

Eur. J. Pharm. Sci., 136, 104934 (2019)

3) Yoshifumi Uemoto, Keita Kondo, Toshiyuki Niwa : Cryo-milling with spherical crystalline cellulose beads: A contamination-free and safety conscious technology,

Eur. J. Pharm. Sci., 143, 105175 (2020)

第1章 ドライアイスビーズによる粉砕

第1節 緒言

ジルコニアやガラス、アルミナなどを素材とする湿式粉砕用ビーズの摩耗とその摂取による安全性の問題は、いまだ解消されていない。ビーズの摩耗を回避する方法は限られており、医薬品原薬の粉砕に適用できる技術として、安全かつ不活性な素材による湿式粉砕用ビーズが待ち望まれている。ビーズによるコンタミネーションを解消する方法の一つとして、ドライアイスビーズを用いる方法が考案された¹⁸⁾。成分である二酸化炭素は摂取しても安全な素材である。またドライアイスは粉砕後に昇華して容易に、かつ完全に除去できる利点を有する。このため、ジルコニアや他の素材のように製品中に残留することがなく、ビーズの摩耗とその摂取による安全性の問題を根本から解決する手段となりうる。

当初、市販されていたペレット型のドライアイスを粉砕用ビーズとして用いることを企図していたが、検討を行う中でドライアイスペレットが液体窒素中への浸漬で自然崩壊し、より細かなビーズ状になることが判明した。このときの粒子の大きさや形状は汎用される湿式粉砕用ビーズに比較的近く、粉砕用ビーズとして利用できる可能性が考えられた。工業利用のためには、恒常的に一定の品質のビーズが用意されなければならない。それには、まずドライアイスペレットが液体窒素中で崩壊しビーズとなる機序を明らかにする必要がある。次に、一定品質のビーズを得るための調製方法を確立する必要がある。さらに、粉砕に用いた際のドライアイスビーズがどのような粒子径および粒子形状の推移をたどるのかを把握し十分な耐久性を備えることを確認しておく必要がある。加えて、ドライアイスビーズによる粉砕が十分な能力を発揮するかを評価しておくことも要する。工業的な利用にとっては、幅広く適用できることも求められる。

本研究では、二酸化炭素の状態図、ドライアイスペレットの製造過程、液体窒素浸漬前後の性状観察などによりビーズが生成される機序を推定した。次に、求める粒子径のビーズを得るために、崩壊に必要なビーズの浸漬時間を明らかにし、篩分けによって得られることを確認した。さらに、ビーズの性状を経時的に追跡して、粉砕中の粒子径および粒子形状の推移を把握した。加えて、ジルコニアを対照として、ドライアイスビーズによる粉砕がどの程度の粉砕能力を発揮できるのかを比較した。最後に、大きさや形状の異なる各種原薬に適用し、これらにおいても粉砕が可能であるか否か適用性を評価した。本章では、ドライアイスを湿式粉砕用ビーズとして用いることを念頭に、ビーズ生成機序、ビーズの調製方法、粉砕中の粒子径および粒子形状の推移、耐久性、粉砕能力および各種原薬への適用性について述べる。

第2節 ドライアイスビーズの生成と調製

第1項 ドライアイスペレットからのビーズの生成

ドライアイスペレットを液体窒素に浸漬し、ペレットからビーズへの崩壊過程を経時的に観察したところ、ドライアイスペレットは液体窒素への浸漬後 10 秒以内に小さく均一な球状の粒子に崩壊する様子が確認された(図 1)。浸漬後 10 秒で生成したビーズのサイズと形状は、60 分までほとんど変化しなかった。浸漬後各時点での粒子径と形状指数を、それぞれ図 2a と図 2b に示す。粒子径 (D10, D50, および D90) は最初の 10 秒間で大きく低下し、その後 60 分 (D50 = 769 μm) ないし 120 分 (D50 = 761 μm) で一定となった。60 分および 120 分で得られたビーズの D10 および D90 値は、それぞれ約 600 μm および 1000 μm であり、元のドライアイスペレットが自然に崩壊したにもかかわらず、得られたビーズの粒子径分布は広くなかった。真球度と粗さの程度を表す形状指数も最初の 10 秒以内に急速に変化し、その後少なくとも 120 分間は安定した値(真球度指数が約 1.4, 粗さ指数が約 1.2)を維持した。両形状指数は、ペレット浸漬の開始時点から経時的に(完全に滑らかな球体を表す)1 に近づいていった。真球度指数の定義によれば、正三角形, 正方形, 正五角形, および正六角形の値は、それぞれ 2.42, 1.57, 1.32, および 1.21 であり、観察されたドライアイスビーズの真球度指数 (1.4) は、崩壊して生成したドライアイスビーズがおおむね正五角形に近い形状特性であり、粗さ指数 (1.2) は円柱状のペレットが、凹凸のある表面を持つ微細な多面体ビーズに変化したことを示した。

ペレットの崩壊は最初の 10 秒以内に起こり、崩壊した粒子はさらに崩壊することなく大きさと形状を維持することが明らかとなった。本結果によって、液体窒素への浸漬で生成したドライアイス粒子が平均粒子径 761 μm であり、球形とまではいかないが、やや凹凸があって比較的等方性を有したビーズ状であることが明らかとなった。

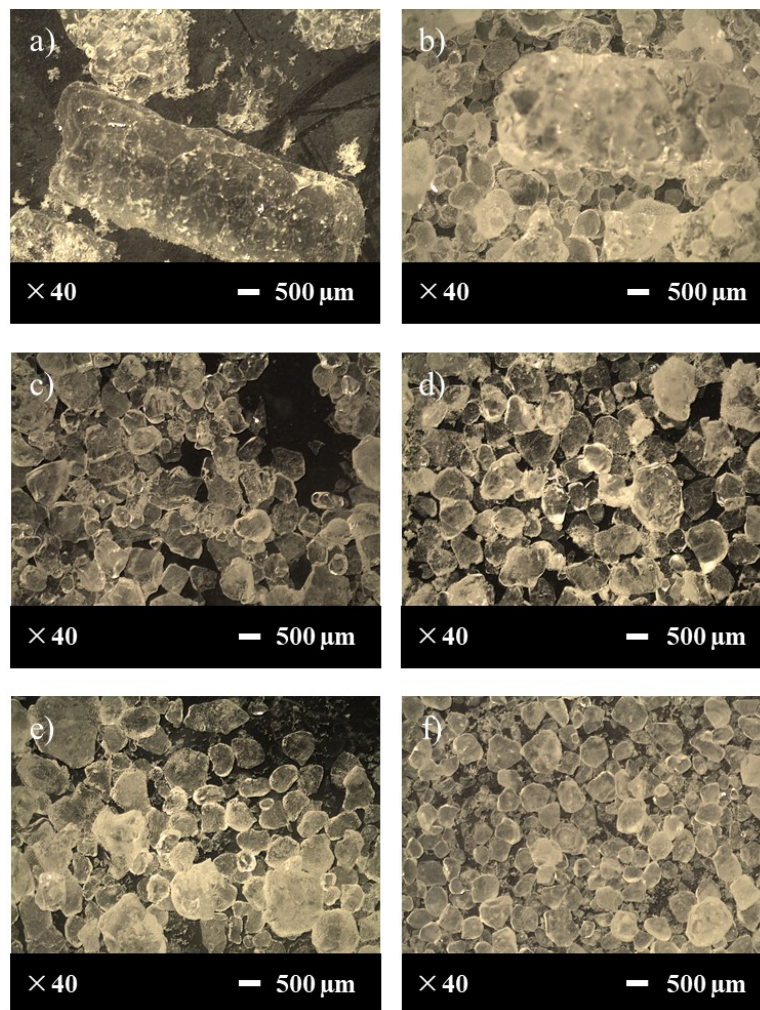


図 1 液体窒素浸漬後のドライアイスビーズの顕微鏡写真
a) 浸漬前, b) 浸漬 1 秒後, c) 浸漬 10 秒後, d) 浸漬 30 秒後, e) 浸漬 1 分後, f) 浸漬 60 分後

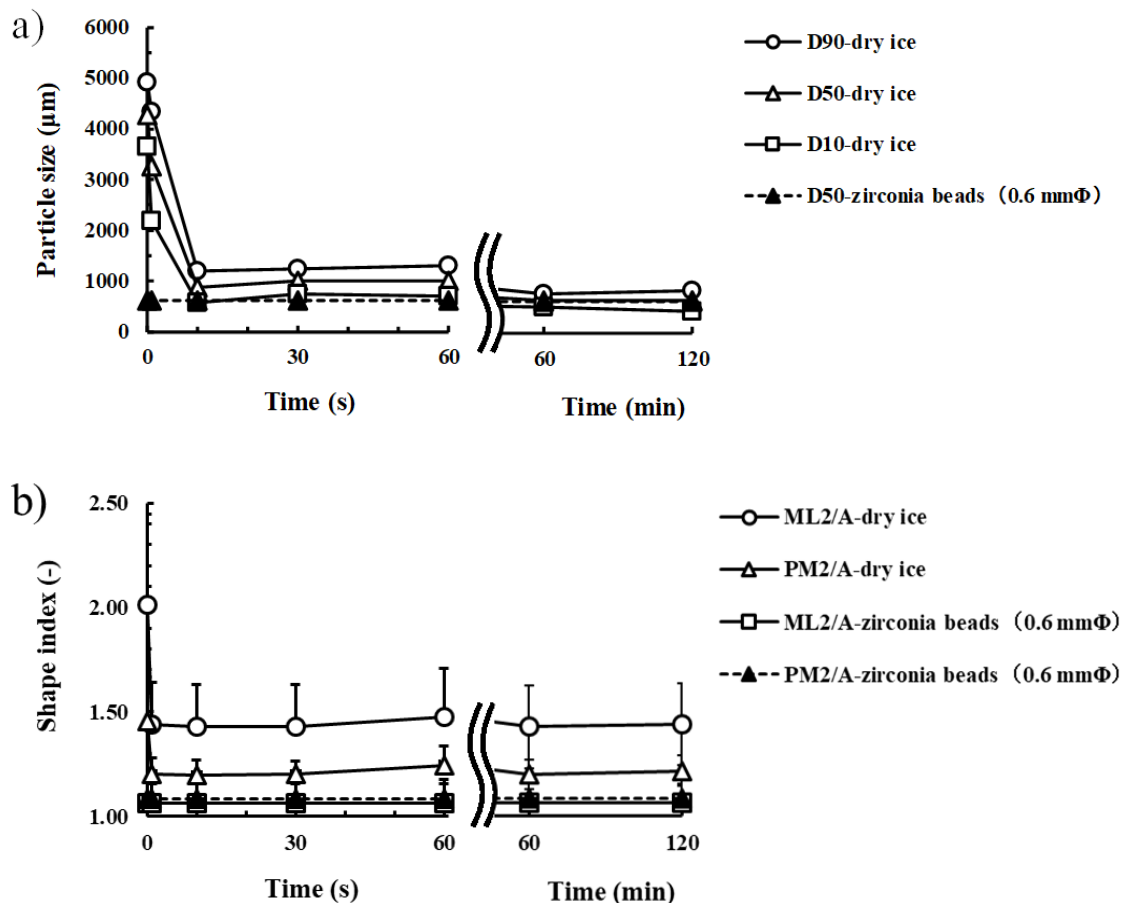


図 2 ドライアイスペレットおよびジルコニアビーズの液体窒素浸漬後の粒子径 (D10, D50 および D90) と形状の時間推移

a) 粒子径 (D10, D50 および D90) ,
b) 形状係数 (ML2/A: 真球度指数, PM2/A: 粗さ指数) ,
n=500, エラーバーは標準偏差を表す

液体窒素中でドライアイスペレットが微小ビーズ状に変化した機序を、ドライアイスペレットが製造される工程と二酸化炭素 (CO_2) の温度—圧力条件下での状態に基づいて推察した。ドライアイスペレットは、次のような工程で製造されている。最初に出発原料である精製された CO_2 ガスを高圧下で液化二酸化炭素 (液体) にする (図 3)。この液状の CO_2 を噴霧して小さな液滴として常圧下に開放すると CO_2 液滴から熱エネルギーが奪われ、液滴の温度が凝固点まで低下する。液滴状の CO_2 は、その粒子径と形状を維持しながら凝固点以下となり瞬時に固化する。このようにして球形固体のドライアイス粒子 (一次粒子) が形成される。ペレットは、これらの球形固体の一次粒子をペレタイザーと呼ばれる成型機内で圧縮した円柱状の成型体である。すなわち、ドライアイスペレットは複数の一次粒子からなる凝集塊である。図 4 の矢印で示されているペレットの表面にみられる多くの亀裂は、ドライアイス一次粒子間の境界と推察される。

次に液体窒素中でドライアイスビーズが崩壊する現象について考察した。ドライアイスペレット

が液体窒素に浸漬された状態は、 -196°C で大気圧である（図 3）。相図からは、この状態では固体から液体または固体から気体といった相変化は起こらないと想定され、急激な温度変化（ -78°C から -196°C ）による他の物理的現象が崩壊をもたらした可能性がある。急激な温度低下は、構成する一次粒子の体積変化をもたらし、ペレット内部に歪みが生じたと推察した。また、ドライアイスの温度（昇華点： -78°C ）が液体窒素の温度よりもはるかに高いため、ドライアイスペレットを液体窒素に浸漬すると液体窒素が激しく沸騰（沸点： -196°C ）し、気化した液体窒素の気泡がドライアイスに振動などの物理的負荷を与えたと推察した。ドライアイスペレットは結晶構造の一次粒子が硬く凝集した塊である。内部には、 CO_2 の結晶構造よりも相対的に強度が低い一次粒子間の接触面があると思われる、これがペレットを破壊させるきっかけ（崩壊面）となり、ペレットを構成する一次粒子へと自発的に破壊したと考えた。以上のように、液体窒素への浸漬による体積変化と液体窒素の沸騰がもたらす物理的負荷によって一次粒子間への崩壊が誘発され、ドライアイスビーズを形成したと考えられた。

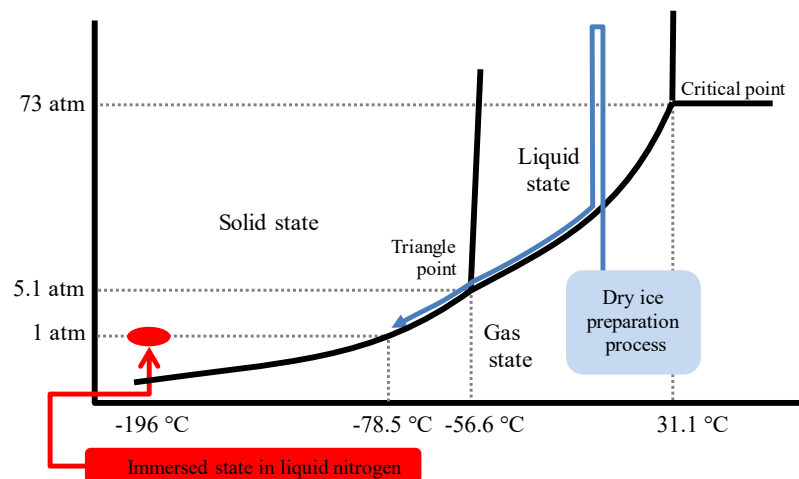


図 3 二酸化炭素の状態図とドライアイスペレットの製造工程における推移
 図中黒線：二酸化炭素の状態図，図中青線：ドライアイスペレットの製造工程
 ＊三重点（Triangle point）は、気体、液体、および固体が同時に存在する状態

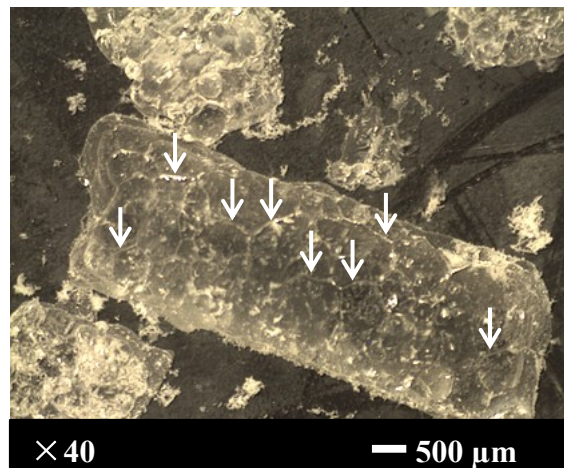


図 4 CCD カメラによるドライアイスペレットの外観
*矢印は一次粒子の境界面

第2項 ドライアイスビーズの調製

粉碎媒体として用いるため、ドライアイスペレットを液体窒素に1分間浸漬させてドライアイスビーズを得た。崩壊して得られたビーズの粒子径は $350\ \mu\text{m}$ ～ $2000\ \mu\text{m}$ とやや広い分布であったため(図 5a)，適度な目開きを有する篩にて3つの画分に篩分けし，小 ($180\sim355\ \mu\text{m}$)，中 ($355\sim710\ \mu\text{m}$)，大 ($710\sim1700\ \mu\text{m}$) の3種類の大きさのビーズを得た。それぞれのビーズの粒度分布は図 5b に示すとおりであり，篩分けした画分のD50は，それぞれ $297\ \mu\text{m}$ ， $469\ \mu\text{m}$ ， $1141\ \mu\text{m}$ であった。このようにして，3種の粒子径を持つ粉碎用ビーズを調製した。

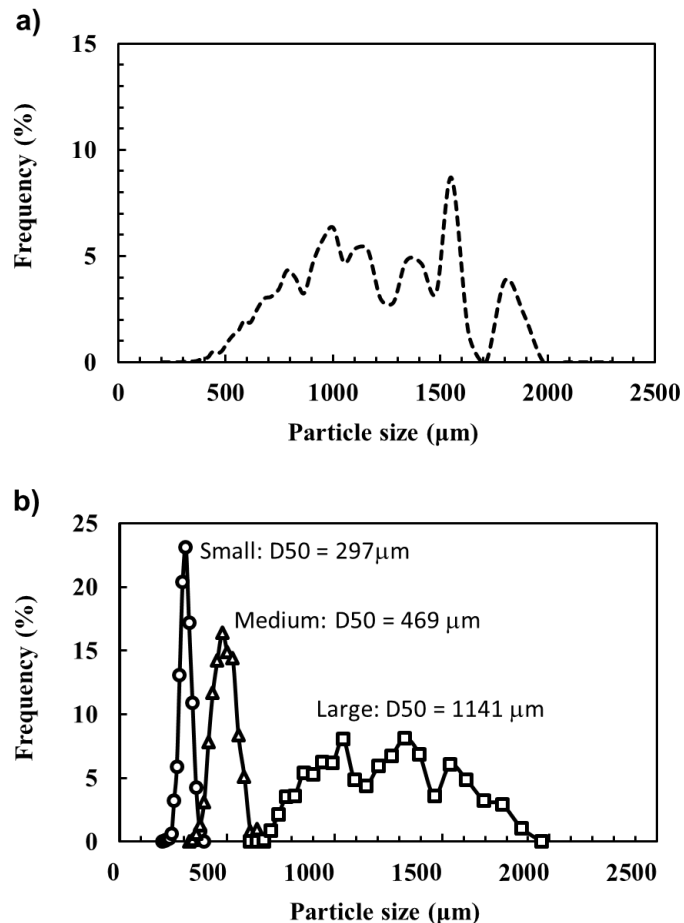


図 5 崩壊したドライアイスビーズの篩分け前後の粒度分布

a) 篩分け前, b) 篩分け後 (*)

* Key: (○)小サイズ画分, (△)中サイズ画分, (□)大サイズ画分

第3節 粉砕条件の最適化

粉砕効率を高めるために、ビーズの粒子径、ビーズの量、攪拌速度などのさまざまな粉砕条件を最適化した。

<ドライアイスビーズの粒子径と形状>

ドライアイスビーズの小、中、大サイズ画分を用いて2時間粉砕したフェニトイン粒子のD50は1.8 μm, 1.9 μm, 2.1 μmで、サブミクロン率はそれぞれ27%, 22%, 19%であった(表1)。これら3つの分布曲線はほぼ重なったが、小サイズ画分のドライアイスビーズを用いた時に最も細かい粒子が得られ、高いサブミクロン率を得た(D50: 1.8 μm, サブミクロン率: 27%)。

表 1 各種粉砕ビーズで粉砕されたフェニトイン粒子径とサブミクロン率

粉砕ビーズ	粒子径 (μm) *			サブミクロン率 ***
	D10**	D50**	D90**	
- (未粉砕フェニトイン)	4.8 ± 0.8	9.2 ± 0.9	16.5 ± 1.2	0% ± 0%
ドライアイスペレット	1.7 ± 0.5	4.4 ± 0.3	10.0 ± 0.4	4% ± 5%
ドライアイスビーズ (小サイズ画分: 180-355 μm)	0.73 ± 0.00	1.8 ± 0.0	4.1 ± 0.1	27% ± 0%
ドライアイスビーズ (中サイズ画分: 355-710 μm)	0.82 ± 0.00	1.9 ± 0.1	4.0 ± 0.2	22% ± 2%
ドライアイスビーズ (大サイズ画分: 710-1700 μm)	0.84 ± 0.00	2.1 ± 0.0	4.7 ± 0.1	19% ± 0%

* 平均 ± 標準偏差 (n=3)

** D10, D50 および D90 は、体積基準による累積粒度分布での 10%, 50%および 90%径

*** 粒度分布におけるサブミクロン (1 μm 未満) の粒子の質量割合

ジルコニアビーズを用いたいくつかの文献では、より小さなビーズで粉砕することで、より小さな粉砕粒子が得られると報告している^{7), 11), 19)}。一方, Takatsuka らは、より小さいビーズ (0.05 mm) や大きいビーズ (1 mm) のいずれでもなく、中間サイズのビーズ (0.1 mm) が最小の粉砕粒子を提供したと報告している²⁰⁾。小サイズのビーズとすることでビーズ数が増えて衝突回数は必然的に増大するが、Takatsuka らの報告では、衝突エネルギーと衝突頻度の両方が、微粉砕の重要な要因になると結論付けており、用いた中間サイズのビーズが衝突エネルギーと衝突頻度の点から最適であったと推察している。Tanaka らも、衝突頻度について報告している。彼らの報告では、特にナノ粉砕の場合、メディア (ビーズ) 間の衝突頻度による影響が支配的であったと報告している²¹⁾。我々が行ったドライアイスビーズを用いた粉砕でも衝突頻度による影響が支配的であった。すなわち、小さな画分のビーズを用いたことでビーズの個数が増えて衝突がより頻繁になり、より小さな粉砕粒子をもたらしたと推察した。

ドライアイスペレットを自然崩壊させて用いた比較的粒度分布の広いビーズと、事前に分級して粒度分布の狭くなるように調製したビーズの両者を用いて、粉砕品の粒子径に対するビーズ粒度の分布の広がりの影響を調査した (表 1)。ペレットは液体窒素に浸漬すると瞬時にビーズになることを前述した (図 1)。おそらくペレットで粉砕した実験においても、ペレットはすみやかにビーズ状となり液体窒素中を流動していたと思われる。この自然崩壊してできたビーズが広い粒度分布を有するのに対し、あらかじめ崩壊させ篩によって分級されたビーズは相対的に狭い粒度分布を有すると推察する。ドライアイスペレットで粉砕したフェニトインの粒子径の D50 とサブミクロン率は、それぞれ 4.4 μm と 4% であり、ペレットによる粉砕品粒子径は、他のいずれのサイズのビーズ

による粉碎品粒子径よりも大きかった。すなわち粒度分布が狭いビーズは、広い分布のビーズより高い粉碎効率を示したと言える。ビーズ粒度の分布による影響を調べている報告はほとんどなく、ほぼすべての研究は均一なサイズのビーズを使用した結果である。Tanaka は、ビーズ粒度の広がり具合を表す指標として、ビーズの最大サイズに対する最小サイズの比率（分布指数と定義）を提唱し、0.01, 0.1, 0.3 の分布指数を持つビーズを用いて、得られた粉碎物の粒子径を比較した²¹⁾。その結果、広い分布のビーズ（分布指数 0.01）は、狭い分布のビーズ（分布指数 0.1 および 0.3）よりも粉碎効果は低いと報告した。Tanaka が提案した分布指数を本ドライアイスビーズに適用すると、小、中、大サイズ画分のドライアイスビーズの分布指数は 0.56, 0.53, 0.36 になり、ペレットが自発的に崩壊して生成した粗ビーズは 0.16 になる。分布が狭くなるように分画されたビーズ（小、中、大サイズ画分）は、粗ビーズによる粉碎よりもより小さい粉碎粒子を提供しており、Tanaka が行った実験結果とよく一致した。このように大きさの異なるビーズ（分布の広い）の衝突よりも同等サイズの（分布の狭い）ビーズ間の衝突のほうが、より高い粉碎効率をもたらすことが示された。ビーズサイズに加えて、サイズの均一性（粒度分布の広がり）が粉碎に影響を与える要因となる可能性が示唆された。

＜ドライアイスビーズ量＞

一般に、ビーズ量は粉碎効率に大きく影響する要因の一つである。我々の結果においても、75 mL, 150 mL, および 300 mL のドライアイスビーズで粉碎したフェニトイン粒子径はそれぞれ 3.8 μm , 1.9 μm , 1.5 μm であり、サブミクロン率は 7%, 22%, 32% と、用いたドライアイスビーズの量に応じて粉碎効率が向上した。他の論文でも、ビーズ量を増やすことによって粉碎効率が向上することが報告されており^{11), 22), 23)}、これらの報告のように、ビーズ量の増加によって衝突頻度が増加したと考えられた。粒子径の制御やスケールアップ時にビーズ量の増減を要する場合があるが、汎用のビーズを用いた粉碎の場合、ビーズ量を増やせばビーズへの付着も増えて回収率低下をもたらしかねない。この点、ドライアイスを用いる超低温粉碎技術では仮にドライアイスビーズに粉碎物が付着してもビーズ自身を昇華させて除去できるため、こういった付着による粉碎物の回収率低下を来さない。このようにビーズ量の増減に伴って回収率が変動しないことは、工業化にとって大きな利点になると考える。

＜攪拌速度＞

ビーズの衝突力を高めるには攪拌速度を高める方法がある。装置性能を考慮した安定稼働できる攪拌速度（1600 rpm）と、これとは別に、装置性能の上限に近い、より速い攪拌速度（2760 rpm）での検討を行い、フェニトイン粒子の粉碎に対する攪拌速度の影響を評価した。その結果、1600 rpm と 2760 rpm で粉碎したフェニトイン粒子の D50 値は 1.9 μm と 2.5 μm 、サブミクロン率はそれぞれ 22% と 14% であり、攪拌速度を上げて必ずしも粉碎は進まなかった。攪拌速度を 2760 rpm と

したことで、適正な範囲を超え、時に粉砕対象物がいくらか粉砕容器から飛び出るほど激しい様子が観察された。過度な攪拌速度にしたことで理想的な流動状態から逸脱し、粉砕効率が低下したと考えられた。効率的に粉砕するため、あるいは意図する粒子径に到達させるためには、容器容量と仕込み量に留意して攪拌速度を決定する必要がある。

第4節 粉砕能力

モデル薬物としてフェニトイン結晶を用いて検討した結果では、ドライアイスビーズ（中サイズ画分, 355～710 μm）による粉砕は、汎用のジルコニアビーズと比較してはるかに遅かった（図 6）。15 分のジルコニア粉砕（ビーズサイズ： 0.6 mm φ）で到達する粒子径の粉砕物を得るには、ドライアイス粉砕では 4～6 時間の粉砕が必要であった。湿式ビーズミルの粉砕メカニズムはビーズや容器壁の衝突として報告され、粉砕効率はその衝突エネルギー（E）に依存すると報告されている^{11), 19)}。

$$E = \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} m v_i^2 \quad (1)$$

W: 被粉砕物の質量

m: ビーズの質量

v: ビーズと被粉砕粒子間の相対速度

ドライアイス（密度：1.56 g/cm³）はジルコニア（密度：6.07 g/cm³）の 4 分の 1 程度の密度ではないため、(1) 式に従うと衝突エネルギーは約 4 分の 1 となる。またドライアイスビーズは、ジルコニアビーズのような均一なサイズの剛体球でないため、1 回衝突あたりの粉砕効果ははるかに小さいと推測される。しかし、ドライアイスビーズによる粉砕 6 時間後のフェニトイン粒子の外観（図 6, 挿入図）からは、ジルコニアビーズによる粉砕と同様に、サブミクロン粒子に微粒化されていることを示している。粉砕時間をジルコニアビーズの 20 倍近く十分に長くする、すなわち衝突回数を増加させるという手段を取れば、ドライアイスビーズが粉砕媒体として機能することを示している。

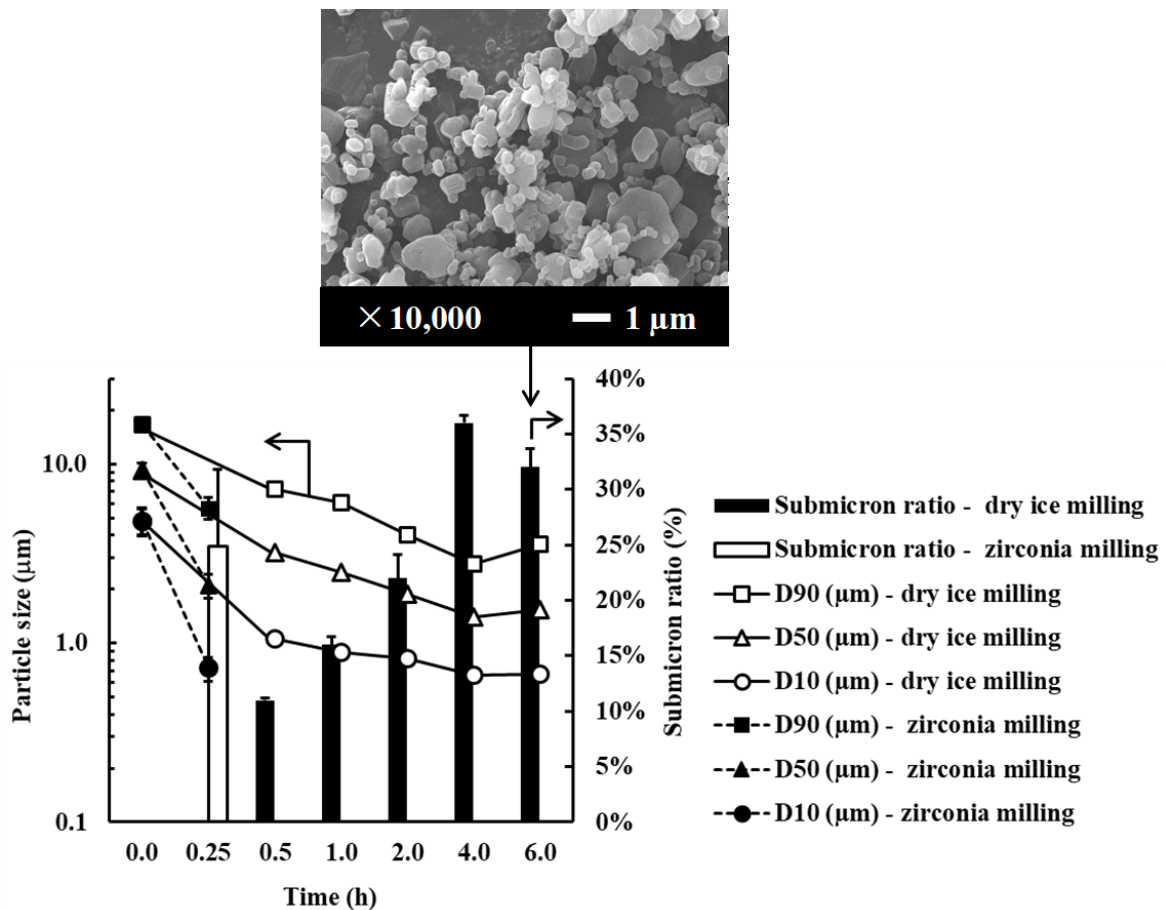


図 6 ドライアイスビーズ, およびジルコニアビーズにより粉砕された経時的なフェニトイン粒子径 (D10, D50, および D90) とサブミクロン率

第5節 ビーズとしての耐久性

第1項 粉砕工程におけるドライアイスビーズの形態

汎用されるジルコニア, アルミナ, スチールビーズなどは, 粉砕工程中, ビーズ径と形状を維持する。しかし, ハンマーなどひとの力で容易に碎けるドライアイスビーズは, これらの汎用ビーズに比べて脆弱であるとの印象が強く, 粉砕媒体としての十分な強度と耐久性を備えているかどうか疑わしかった。そこで, 観察の妨げになるような薬物を投入しないで, ドライアイスビーズのみでの液体窒素中で空運転して粉砕操作中におけるドライアイスビーズの形態変化を観察した。

中サイズ画分 (355~710 μm) のビーズの経時的な外観変化を図 7 に示す。液体窒素中ではドライアイスビーズは攪拌により破碎されることなく, 少なくとも観察を行った 4 時間までは粒子径と形状を維持することが明らかとなった。形態特性を定量的に評価するため, 画像解析にて各時間の代表的粒子径および形状指数を算出した (図 8)。ドライアイスビーズの粒子径は最初の 30 分間で低下が見られ, その後の粉砕工程でも低下はわずかであった。投入時のビーズ粒子径であった 355~710 μm の画分は時間とともに低下したが, 4 時間後でも質量で 60%弱が残存していた。一方, 形

状指数も攪拌初期にわずかに低下したが、その後一定となった。これらの結果から、ジルコニアビーズのような真球には到達しなかったものの、ごつごつとした塊状のビーズが攪拌によって球状に近い形態に変化していくことが明らかとなった。多角形のビーズは攪拌により角が取れ、少しずつ球状に近づいたものと推察する。Bitterich らは、粉砕プロセスは、不規則な形状のビーズよりも球状ビーズの方が効率的であると報告している²⁴⁾。この知見によれば、攪拌にともない粉砕ビーズは粉砕性能を増していき、より効率的な粉砕へ推移したと推察した。以上のように、ドライアイスビーズは激しい攪拌下でも破碎や凝集することなく一定の粒子径と形状を維持し、粉砕媒体として機能することが示された。

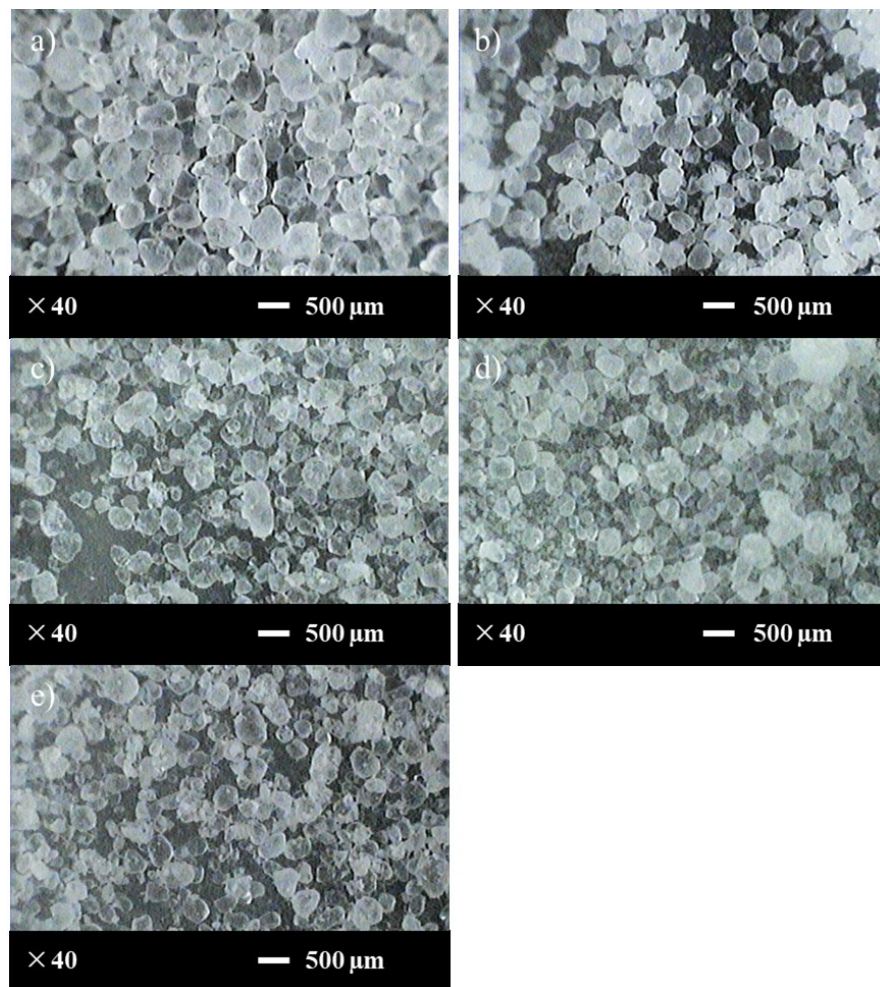


図 7 液体窒素内で攪拌したドライアイスビーズの外観

a) 攪拌前, b) 攪拌 30 分後, c) 浸漬 1 時間後, d) 浸漬 2 時間後, e) 浸漬 4 時間後

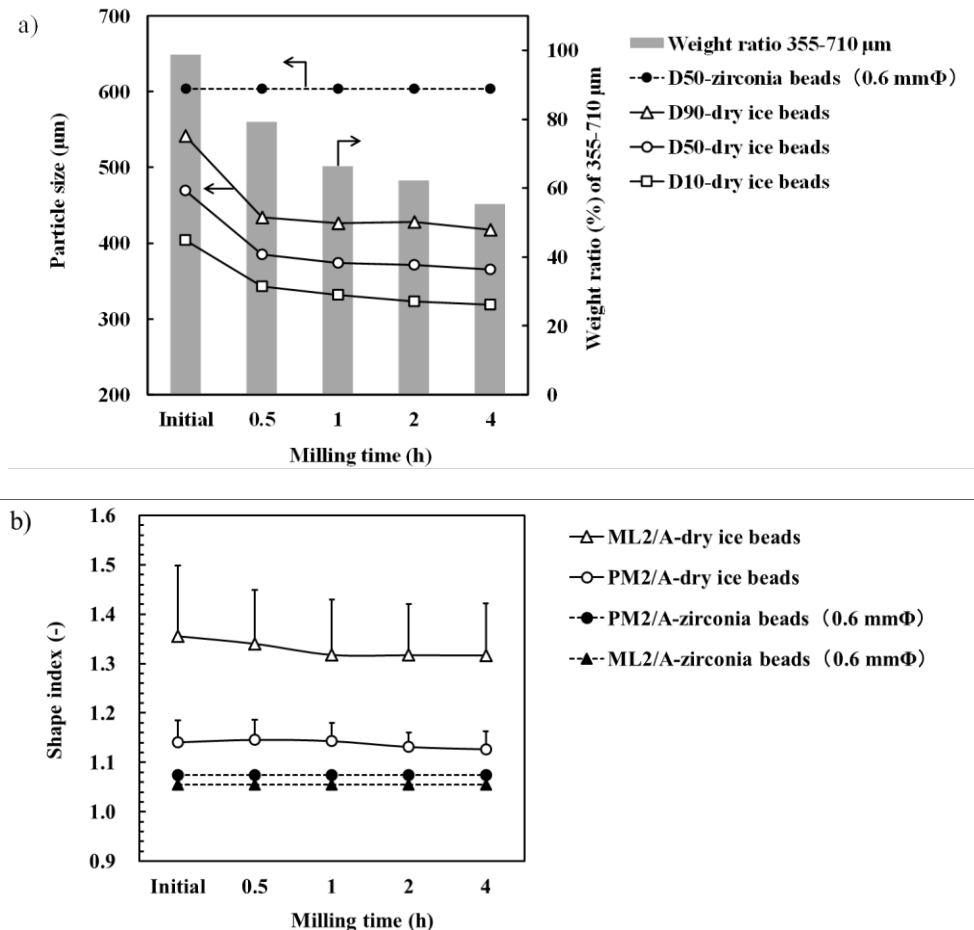


図 8 液体窒素中で攪拌中のドライアイスビーズ*の経時的な粒子径と形状

a) 粒子径 (D10, D50, D90) および 355~710 μm の残留割合,

b) 形状係数 (ML2/A: spherical index, PM2/A: roughness index)

*ドライアイスビーズは中サイズ画分 (355~710 μm) を使用,

n=500, エラーバーは標準偏差を表す

第 2 項 ドライアイスビーズの硬度

ドライアイスのビーズ材料としての有用性について、材料の硬さ度合いの指標であるモース硬度をとり上げ考察した。モース硬度は異なる 2 つの材料を摩擦したときの摩耗強度の尺度であり、この数値が高いほど材料の引っかきに対する耐性が高くなり侵食されにくいことを表す。粉碎に用いられる装置やビーズの素材であるステンレス鋼とジルコニアのモース硬度は、それぞれ「7.5」と「8.5」であり、一方、ドライアイスの硬度は、岩塩または石膏（硫酸カルシウム）のそれに近く「2」とであると報告されている。低硬度であるため、粉碎媒体の素材として相応しくないと見なされる。しかし視点を換えれば、装置部品（ディスク、シャフト、および容器）の素材であるステンレス鋼やジルコニアよりも低硬度であるため、衝突や摩擦によって装置を浸食しないとも考えられる。長期間使用しても装置素材の摩損がなく、ビーズのみならず粉碎機からの摩耗片や摩耗粒が製品に混入する心配がない点で有用である。

第6節 医薬品原薬への適用

＜粉碎品の粒子径＞

本粉碎技術の汎用性を示すため、フェニトイン以外の薬物による粉碎を検討した。これまでに、粉碎される材料の破壊強度について調査したいくつかの報告がある。Drory らは、窒化ガリウムの単結晶を使用して材料硬度を推定するためにビッカース法を導入している²⁵⁾。Cao らは、さまざまな材料の硬度を測定して、それらの圧縮プロファイルとの相関を調査した²⁶⁾。Masterson と Cao は、高分解能イメージングを可能にするナノスコープ原子間力顕微鏡ナノインデンテーションを用い、先端の鋭利なプローブによって与えた負荷とこれによってできた圧痕のサイズから、イブプロフェンを含むさまざまな医薬品材料の硬度をランク付けした（アスコルビン酸>スクロース>ラクトース≈イブプロフェン）²⁷⁾。Taylor らは、ナノインデンテーション法を採用して、医薬品材料の粉碎傾向を推測し、ヤング率、材料の硬度、および亀裂の長さから計算される新しい指標として破壊靱性を提案した²⁸⁾。彼らは、材料の硬度と破壊強度は別の指標であり区別すべきと結論付けている。このように医薬品原薬にもさまざまな硬度のものがおり、医薬品分野で広く適用するためには、粒子径および形状の異なる原薬を用いて広く検討する必要がある。

医薬品原薬への適用を評価するために、顕微鏡写真（図 9 左）に示すように、粒子径の小さい立方体のフェニトイン、柱状のフェキソフェナジン塩酸塩およびやや大きい粒子径で直方体のイブプロフェンを被粉碎材料として選択した。上述した最適条件で粉碎した結果、いずれの薬物結晶においても、元の粒子径と形状に関係なく、ドライアイスビーズを使用した超低温粉碎にてサブミクロンまたはシングルミクロンサイズまで微粒化することができた（図 9 右）。また、粒度分布曲線は、直径 1 μm 未満の粉碎粒子が含まれることを示した（図 10）。いずれの粒子径および形状の原薬においても微粒化に成功し、サブミクロンからシングルミクロンサイズに微粒化された。フェキソフェナジン塩酸塩の場合、粉碎物の粒子径はイブプロフェンやフェニトインに比べてわずかに大きく、サブミクロン率は低かった（7%）。一方で、顕微鏡観察からはこれらの粉碎物の粒子径におおきな違いはなかった（図 9a2, 図 9b2, 図 9c2）。フェキソフェナジン塩酸塩粉碎品がやや大きな粒子径を示したのは、乾式分散による粒度分布測定中に再度凝集していた可能性があった。これらの結果は、ドライアイスを用いた粉碎がフェニトインだけでなく、さまざまな粒子径と形状を持つ他の薬物にも広く適用できることを示している。

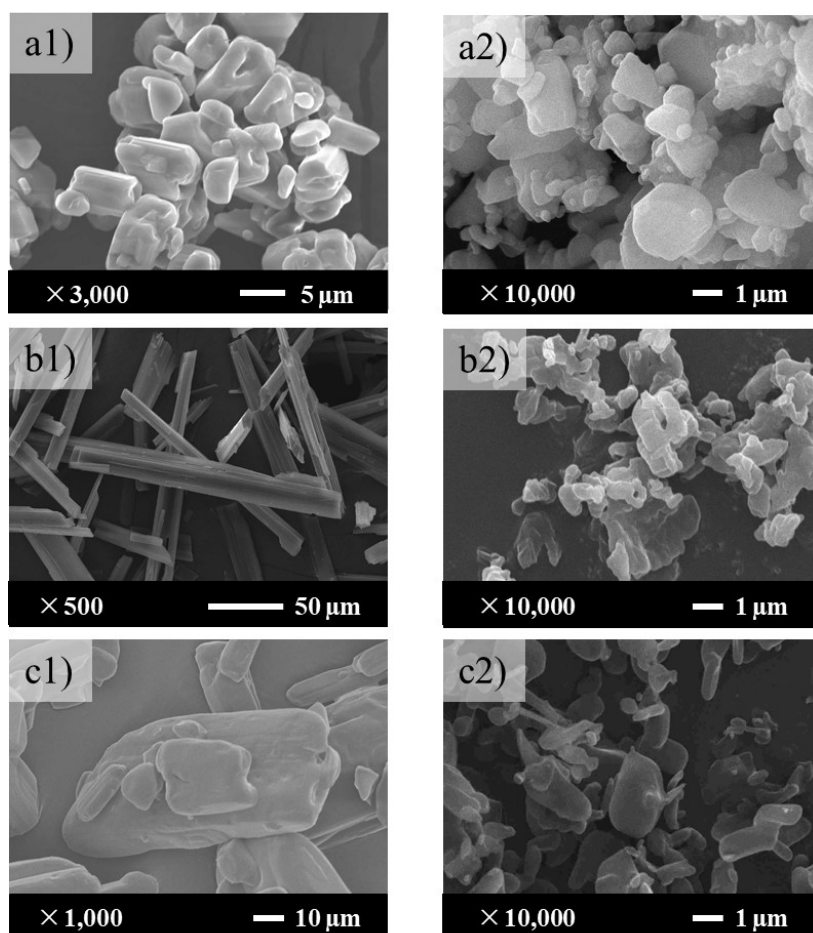


図 9 ドライアイスビーズにより粉碎された各種原薬の電子顕微鏡写真

- a1) 未粉碎フェニトイン, a2) フェニトイン粉碎品,
 b1) 未粉碎フェキソフェナジン塩酸塩, b2) フェキソフェナジン塩酸塩粉碎品,
 c1) 未粉碎イブプロフェン, c2) イブプロフェン粉碎品

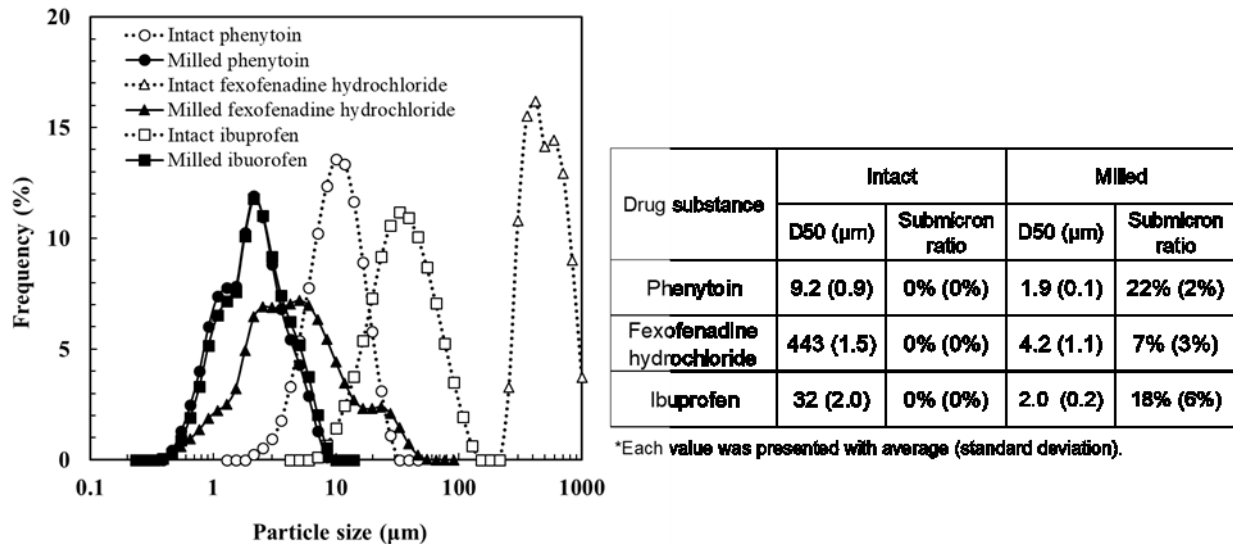


図 10 ドライアイスビーズにより粉砕された各種原薬の粒度分布 (*)

* 乾式による測定結果

第7節 小括

円柱状ペレットからのドライアイスビーズの生成は、液体窒素への浸漬に伴うペレット内の体積変化と物理的負荷によってもたらされた、成型される前の一次粒子への自然崩壊現象であると結論した。形状の変化をモニタリングした結果、ドライアイスビーズは、粉砕工程を通して大きさと形状が維持されており、湿式粉砕用のビーズとして十分な機械的強度と耐久性を備えることが示された。ドライアイスは適度な硬度であり、ビーズの侵食による装置の摩耗と異物混入の懸念が小さいと推察する。

ドライアイスビーズでは、ジルコニアビーズと同等の粉砕を達成するには時間を要し、微細な粉砕粒子を迅速に生成できるという点ではジルコニアビーズには至らなかった。最適化検討の結果、均一なサイズのビーズが効率的な粉砕に適していること、小さなビーズがより小さな粉砕粒子を提供した。検討したすべての原薬は、ドライアイスビーズを用いた超低温粉砕技術により微粒化できた。また小さなビーズがより小さな粉砕品を提供すること、分布の狭い、均一な粒子径のビーズが効率的な粉砕にとって望ましいことが明らかとなった。

ドライアイスを用いた超低温粉砕技術は、汎用されるビーズより時間はかかるが、ビーズの摩耗とこれによる安全性の問題を解決する貴重な粉砕技術であるといえる。

第2章 球形糖ビーズによる粉碎

第1節 緒言

前章ではドライアイスのビーズとしての可能性を述べたが、ドライアイスは昇華したり結露したりしないように粉碎作業まで慎重な取り扱いを要した。さらに医薬品製造に供するために粒度、純度および強度など一定品質のビーズを安定して用意するという点で課題もあった。そこで入手も取り扱いも容易な医薬品添加剤を粉碎用ビーズとして適用することを企図した。我々はコーティング顆粒の核として医薬品製造に汎用される添加剤をビーズとして用いることを発案した。

球形糖は、医薬品添加剤として古くから顆粒剤の核粒子などに用いられてきた。これらは水中で溶解するため水系では使えないが、媒体が液体窒素であれば粉碎ビーズとして利用できる可能性がある。市場にある製品はいずれもスクロースやD-マンニトールなどの糖が成分であり摩耗して混入しても安全性の懸念は小さい。これらは医薬品添加剤であり異物や不純物、純度についても高い品質の製品が市販されている。各種大きさの品目があり粒度分布も管理されているため、ドライアイスのように篩分けや昇華によるロスがない。なお、ショ糖やD-マンニトールを素材としている製品は極めて低水分であり、特にD-マンニトールは薬物との配合性が高いため広く適用できる可能性がある。検討では市販のマンニトール製球形粒（SDM, Spherical D-Mannitol）を液体窒素中での粉碎媒体として利用することを試みた。

本研究では、各種粉碎条件が粉碎物粒子径、粉碎品収量、ビーズの破損などに及ぼす影響について、実験計画法を用いて統計的に評価にした。また、ジルコニアを対照として SDM による粉碎能力を比較した。加えて、粉碎前後でのビーズの性状を比較して粉碎に用いた際の耐久性を評価した。最後に、各種原薬に適用して広く医薬品原薬の粉碎に用いることができるかどうかを判断した。本章では SDM の粉碎能力、耐久性および各種薬物への適用可能性について述べる。

第2節 球形糖ビーズによる粉碎推移

第1項 粉碎時の様子と粉碎品の外観と組成

添加時の液体窒素の急激な沸騰を避けるために、装置での攪拌を開始する前に粉碎対象のフェニトインと SDM ビーズを事前に液体窒素中に浸漬し冷却を行った。この時、フェニトインは液中に浮遊せず、液体窒素中で沈降し SDM ビーズ周辺に集積した。所定の粉碎操作後は粉碎機序の推定や粉碎能力をより詳細に把握するために液体窒素ごと混合物を篩分けし、SDM を含む画分（複合顆粒）と含まない画分（遊離画分）とに分け、乾燥後に各々の画分に含まれるフェニトインの粉碎品粒子径や含量を評価した。

電子顕微鏡観察の結果、篩通過品である遊離画分は、複数の微粒子で構成される凝集体であった（図 11c2, 図 11d2 および図 11e2）。また凝集体を構成する一次粒子径は、未処理の原薬の粒子径

よりも小さいことが確認された。一方、複合顆粒（図 11c1, 図 11d1 および図 11e1）には、1 μm 未満の多くの微粒子が複合材表面に付着しており、針状結晶が複雑に絡み合った外観を有する未処理の SDM ビーズ（図 11a）とは異なった。なお、粉碎後の複合顆粒は損傷なく回収されており、SDM に重大な破損はなかった。複合顆粒は約 5%～7%のフェニトインを含み、粉碎を通して大きく変化しなかった（表 2）。対照的に、回収された遊離画分のうち大部分はフェニトインが成分であった。

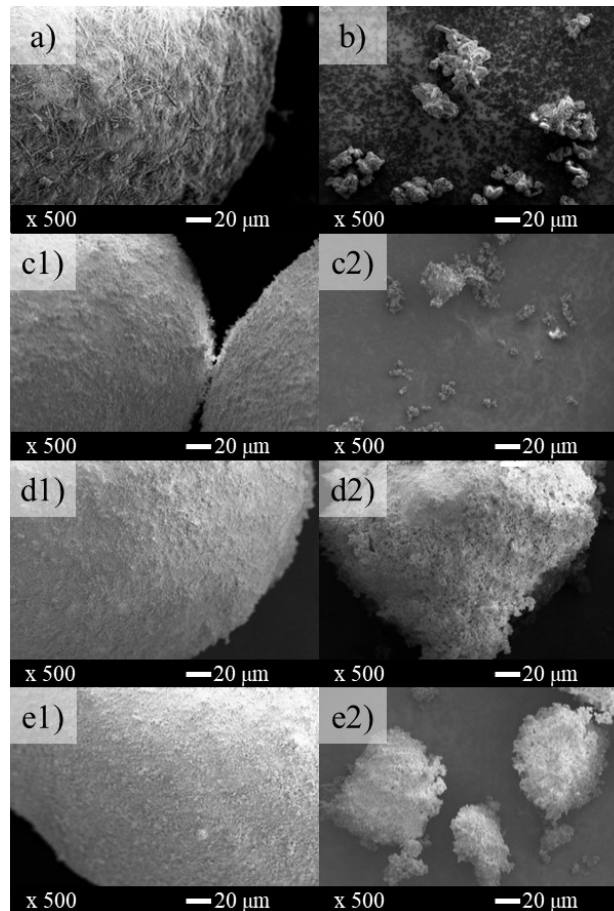


図 11 粉碎後のフェニトイン原薬と SDM ビーズ複合顆粒の電子顕微鏡写真

- a) SDM ビーズ,
- b) フェニトイン原薬,
- c1) フェニトイン原薬－SDM ビーズ複合顆粒／0.5 時間粉碎,
- d1) フェニトイン原薬－SDM ビーズ複合顆粒／1 時間粉碎,
- e1) フェニトイン原薬－SDM ビーズ複合顆粒／2 時間粉碎,
- c2) フェニトイン遊離画分／0.5 時間粉碎,
- d2) フェニトイン遊離画分／1 時間粉碎,
- e2) フェニトイン遊離画分／2 時間粉碎

表 2 両画分に含まれる粉砕時間ごとのフェニトイン濃度

粉砕時間 (時間)	フェニトイン濃度 (重量%, 試料 1g 中のフェニトイン g 数)	
	フェニトイン—SDM 複合顆粒*	遊離画分**
0.5	0.0562	0.889
1	0.0711	0.792
2	0.0593	0.843

* フェニトイン 10 g および SDM110 g を仕込み量としているため、フェニトイン濃度の理論量は、0.0833 g/g (10 g/総質量 120 g) となる。

** フェニトインのみが含まれると想定すると遊離画分の理論量は、1 g/g である。

第2項 フェニトインの所在

ラマンスペクトル分析では、フェニトインは、1600 および 1750 cm^{-1} に 2 つの特定のスペクトルを示した (図 12b)。このフェニトイン特有のラマンスペクトルを用いて複合顆粒の表面にある物質を同定することができる。顕微ラマン分析による 2 次元でマッピングした結果、フェニトインが複合顆粒表面に存在することが確認された (図 12c, 写真中に赤で表示)。観測されたラマンスペクトルの強度に場所ごとの違いがなかったことはフェニトインが SDM の表面に均一に分布していることを示唆している。顕微ラマン分析による 2 次元マッピングによって、SDM を覆う微粒子がフェニトインであることが明らかとなった。

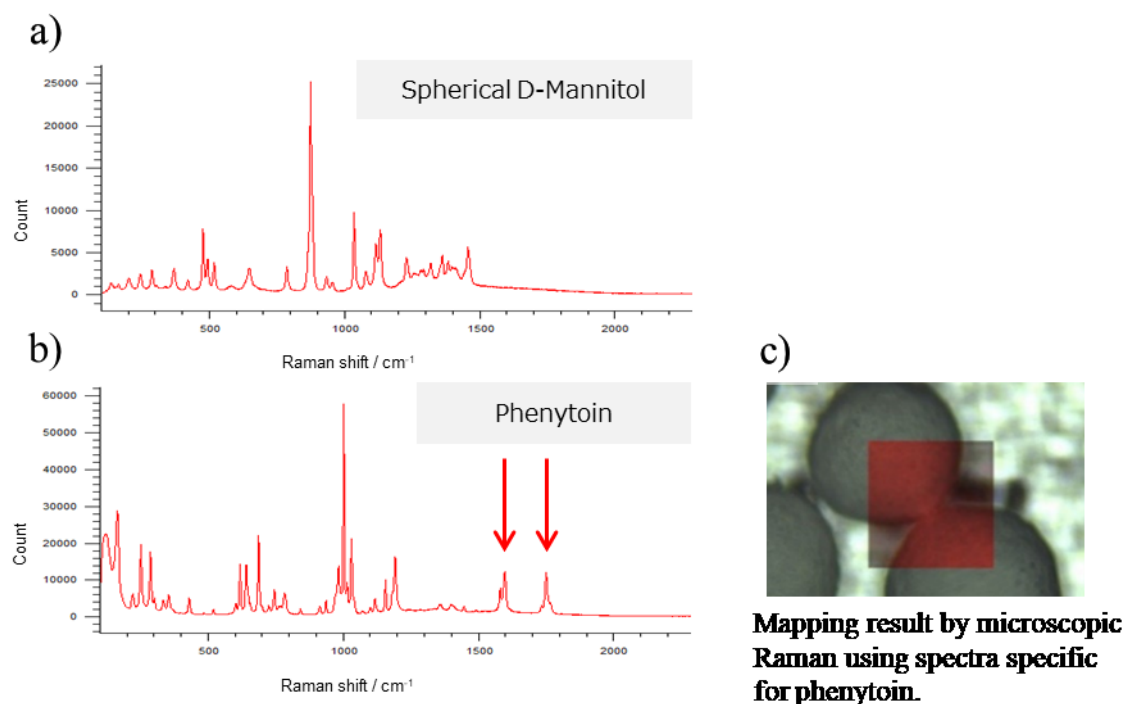


図 12 ラマンスペクトルによる SDM ビーズ表面のフェニトインの二次元マッピング

- a) ラマンスペクトル/SDM ビーズ,
- b) ラマンスペクトル/フェニトイン原薬,
- c) 二次元マッピング/フェニトインの分布 (図中赤で示された部分)

第 3 項 SDM に付着したフェニトインの粒子径推移

粉砕に投入されたフェニトインの平均粒子径 D50 は $14\ \mu\text{m}$ で, D90 は約 $26\ \mu\text{m}$ であった (図 13a)。粒度分布は単一のピークから成っており, 未粉砕のフェニトイン粒子はすべて $3\ \mu\text{m}$ を超えており, サブミクロン粒子は含まれていなかった。粉砕すると, いずれもフェニトインを含む, 複合顆粒と遊離画分が粉砕試験から得られた。

各種時間で粉砕を行い, 複合顆粒と遊離画分に含まれるフェニトイン粒度分布を測定した。その結果, 複合顆粒に付着したフェニトインは二峰性の粒度分布を有した (図 13a)。分布中, 直径約 $14\ \mu\text{m}$ の大きなピークは, 未粉砕の粒子を表していると考えられ, 直径約 $0.7\ \mu\text{m}$ の小さなピークは粉砕によって出現した粒子群だと考えられた。この複合顆粒に含まれるフェニトインの粒度分布は, 粉砕時間によって変化しなかった。フェニトイン—SDM 複合顆粒に付着した未粉砕粒子の割合はわずかに減少するように見えたが, 群内の粒子径 (約 $14\ \mu\text{m}$) は変化しなかった。粉砕された粒子は, いくらかは離脱し, 残りは粉砕後に付着したままとなると推察する (図 13b)。フェニトイン—SDM 複合顆粒に含まれる粉砕前のフェニトイン粒度分布と一致する粒子群 ($14\ \mu\text{m}$) は粉砕によって粒子径が小さくなる方向に推移していないことから, 細かなフェニトイン粒子は未粉砕の粒子表面から徐々に摩耗して生成するのではなく, 一度に複数の小さな粒子が生成していると推察する。Romeis

らは、粉碎により大きな粒子が複数の小さな粒子になることを報告している²⁹⁾。Afolabi らは、粉碎の初期段階に多分散の粒度分布が観察されたことを報告しており、彼らの結果からも大きな粒子から複数の小さな粒子が生成されることを推察できる²²⁾。我々の結果も、彼らの報告に一致しており、一度に細かな複数粒子が生成したと推察した。

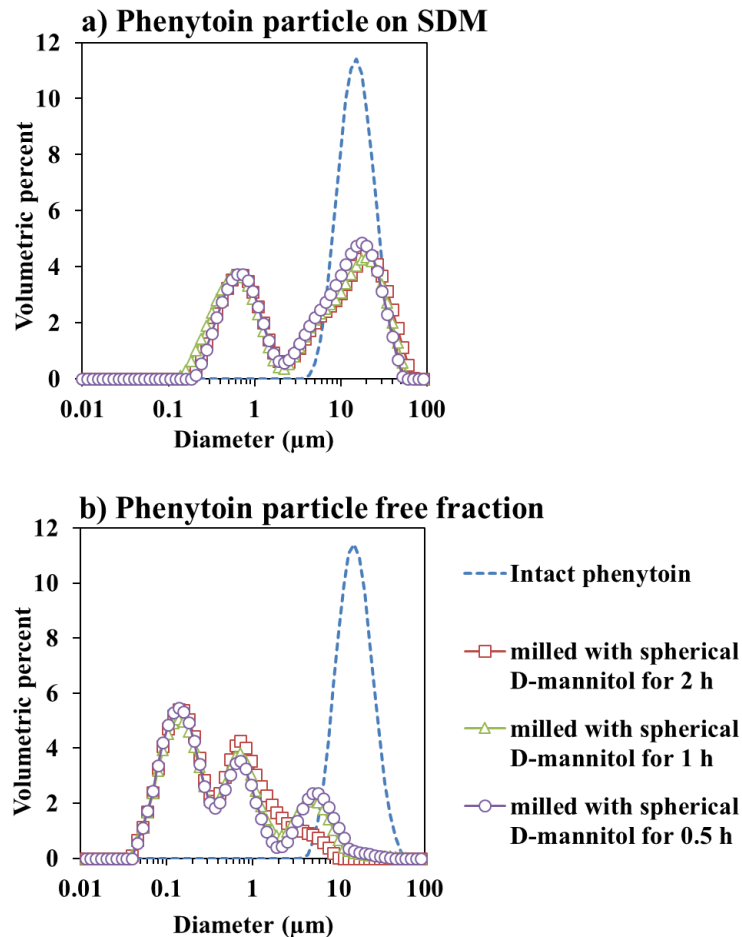


図 13 SDM ビーズで粉碎された経時的なフェニトイン粒度分布（最適化検討前）

a) 複合顆粒中のフェニトイン粒子, b) 遊離画分中のフェニトイン粒子

粉碎条件：攪拌速度 1600 rpm／SDM ビーズ量 110 g

第 4 項 粉碎中の遊離画分におけるフェニトインの粒子径推移

遊離画分のフェニトインは三峰性の粒度分布を示し、複合顆粒に含まれるフェニトイン粒度分布とは異なっていた。また、未粉碎の粒子（約 14 μm ）は、最も短い時間においても遊離画分に含まれていなかった（図 13b）。遊離画分のフェニトインには、直径 0.2 μm 、0.7 μm および 6 μm のピークの粒子群が含まれており、直径 6 μm の粒子群にわずかな減少があったが、0.5 時間と 2 時間とで同等であり粉碎時間による大きな違いはなかった。直径 0.2 μm の粒子群は、直径 0.7 μm の粒子の粉碎によって生じた可能性がある。ただし、1 時間および 2 時間の粉碎では、これら 2 つの粒

子群 (0.7 μm および 0.2 μm) の分布に違いはなく、粉碎プロセスは 1 時間以降進行しなかった。Stražišar と Runovc は、粉碎において次の速度論式 (2) を提供している³⁰⁾：

$$d_{50}(t) = d_{50}(\infty) + [d_{50}(0) - d_{50}(\infty)]e^{-t/\tau} \quad (2)$$

ここで、 $d_{50}(t)$ は時間 t での粒子径のメジアン値、 $d_{50}(0)$ は原料粒子径のメジアン値、 $d_{50}(\infty)$ は無限粉碎時間後の粒子径のメジアン値、 τ は粉碎装置および粉碎試料によって決まる特有の固有の粉碎時間である。

(2) 式は、粉碎工程が初期段階で指数的に進行し、その後の期間で一定になることを示している。今回の我々の粉碎試験では、遊離フェニトイン粒子のサイズは初期段階で指数関数的な進展は観察されなかった。その後も粉碎時間によってほとんど変化しなかった。粉碎の初期段階は 0.5 時間以内に完了して一定となり、以降、粉碎がすすまなかったことが示された。Romeis らは、粒子径が 600~800 nm より小さくなると、粉碎が容易に進行しないことを報告している²⁹⁾。彼らはまた、これらのサイズ付近に達すると、粉碎された材料が脆くて延性になることを報告している。Strobel らは、粉碎された粒子は、500~800 nm のサイズで弾性になり、その後は粉碎がすすまなかったと報告している³¹⁾。我々の実験でも、ある一定の粒子径まで到達させることはできたが、それ以降粉碎がすすまない現象が確認されており、彼らが報告した現象と非常によく似ていた。

第 5 項 原薬と SDM の付着する機構

得られた結果から推察して、フェニトイン粒子は SDM ビーズ表面に付着し、粉碎されると離脱し、系内で凝集体として存在するようになると考えられた。粒子間の付着や離脱には複数の機序が推察される。Ahuja らは、工程中の粉碎品のゼータ電位を調べている³²⁾。また、Karashima らは、ゼータ電位と粉碎品粒子径の関係を調べ、粒子の反発力によって粉碎粒子の粒子径が決定されることを報告している²⁾。彼らは、反対の電荷を持つ粒子は相互作用し、同じ電荷を持つ粒子は反発することを報告している。粉碎技術におけるフェニトインと SDM の表面電位も、SDM 上のフェニトイン粒子の付着と離脱に関与している可能性がある。これ以外にも表面の親水性／疎水性によってもたらされる反発や引力が想定される。液体窒素の比誘電率は非常に低く (≈ 1.4)、典型的な疎水性溶媒であるノルマルヘキサンに近い。液体窒素は系内で相対的に疎水性の特性を示すのに対しフェニトインと SDM は比較的類似した親水性の表面特性を持つと考えられる。フェニトインと SDM は、液体窒素から退けられるが、いずれも親水性の表面特性を持つため互いに引き寄せられていた可能性がある。

第3節 粉砕条件の最適化

分散分析を用いた実験計画法 (DOE) は、結果に対して要因が有意に影響しているか否かを統計的に判断できる。湿式ビーズミル粉砕でも DOE を用いた事例が報告されている^{32), 33), 34), 35)}。本検討では、粉砕能力やビーズの破損に影響を及ぼす可能性のある要因を変動因子として設定し、事前に行われた試行をもとに変動水準幅を設定した。粒子径、粉砕品収率およびビーズ破壊に対して、SDM 量、撹拌速度および粉砕時間の影響を調査した実験計画法の概要を表 3 に示した。

表 3 実験計画法 (DOE) の概要 (SDM ビーズ)

#	位置づけ	粉砕条件		
		ビーズ量 (g)	撹拌速度 (rpm)	粉砕時間 (min)
1	Axial_B (low)	80.0	927.3	60.0
2	Cube6	110.0	1200.0	90.0
3	cp02	80.0	1600.0	60.0
4	Axial_A (low)	29.5	1600.0	60.0
5	Cube1	50.0	1200.0	30.0
6	Cube3	50.0	2000.0	30.0
7	cp03	80.0	1600.0	60.0
8	Axial_C (high)	80.0	1600.0	110.5
9	Cube8	110.0	2000.0	90.0
10	Cube5	50.0	1200.0	90.0
11	Cube4	110.0	2000.0	30.0
12	Cube7	50.0	2000.0	90.0
13	cp01	80.0	1600.0	60.0
14	Axial_A (high)	130.5	1600.0	60.0
15	Axial_B (high)	80.0	2272.7	60.0
16	Cube2	110.0	1200.0	30.0
17	Axial_C (low)	80.0	1600.0	9.5

第1項 遊離画分における粉砕品の粒度分布

<SDM ビーズ量>

遊離画分の粒子径は用いた SDM ビーズの量に依存し、SDM ビーズ量が増えると、D50 と D90 の両方が低下した。D50 の p 値は小さく (0.0001)、SDM ビーズ量が遊離画分の D50 に有意な影響を与えたことを示し (表 4)、D90 に対しても同様の影響が推定された (表 5)。条件次第で D50 を 1 μm 未満 (図 14a2)、D90 も 1 μm まで小さくすることができた (図 14b2)。Ahuja らは、ビーズの量が増えるにつれて接触点が増加して衝突の頻度が高くなり、粉砕物の粒子径が徐々に小さくなることを報告している³²⁾。一方で、ビーズに付着した SDM 複合顆粒中のフェニトイン粒子径 D50 に対して

は、SDM ビーズ量の影響は有意ではなかった ($p=0.5208$)。

表 4 遊離画分中のフェニトイン粒子径 (D50) に対する分散分析結果

項目	平方和	自由度	平均平方	F 値	p 値*
モデル	267.178	9	29.686	11.142	0.0022*
ビーズ量 (A)	163.784	1	163.784	61.472	0.0001*
攪拌速度 (B)	57.541	1	57.541	21.596	0.0023*
粉碎時間 (C)	6.105	1	6.105	2.291	0.1739
ビーズ量×攪拌速度 (AB)	6.658	1	6.658	2.499	0.1579
ビーズ量×粉碎時間 (AC)	4.814	1	4.814	1.807	0.2208
攪拌速度×粉碎時間 (BC)	0.852	1	0.852	0.320	0.5895
ビーズ量×ビーズ量 (AA)	18.706	1	18.706	7.021	0.0330*
攪拌速度×攪拌速度 (BB)	7.095	1	7.095	2.663	0.1467
粉碎時間×粉碎時間 (CC)	15.889	1	15.889	5.964	0.0446*
誤差	18.651	7	2.664		
あてはまりの悪さ	8.168	5	1.634	0.312	0.8731
純粋誤差	10.483	2	5.242		

* $p<0.05$ となった場合に「有意である」とした。

表 5 複合顆粒，遊離画分中のフェニトイン粒子径（D50 および D90）における算定された各パラメーターの β 係数と p 値

パラメーター	フェニトイン—SDM ビーズ複合顆粒				フェニトイン遊離画分			
	D50		D90		D50		D90	
	β 係数 *	p 値 **	β 係数 *	p 値 **	β 係数 *	p 値 **	β 係数 *	p 値 **
切片 (B0)	3.5784	-	14.1212	-	1.9071	-	11.8399	-
ビーズ量 (A)	-0.2937	0.5208	1.6978	0.1957	-3.4631	0.0001	-6.2790	0.0009
攪拌速度 (B)	-1.0909	0.0404	-1.3327	0.2986	-2.0526	0.0023	-2.9573	0.0354
粉砕時間 (C)	-0.8263	0.0989	0.5739	0.6435	-0.6686	0.1739	0.2899	0.8061
ビーズ量×攪拌速度 (AB)	-0.3183	0.5926	0.2550	0.8740	0.9123	0.1579	1.7843	0.2689
ビーズ量×粉砕時間 (AC)	1.2558	0.0626	1.7670	0.2920	-0.7758	0.2208	-2.9648	0.0862
攪拌速度×粉砕時間 (BC)	-0.2203	0.7096	-1.4235	0.3892	0.3263	0.5895	0.2095	0.8918
ビーズ量×ビーズ量 (AA)	0.6863	0.1944	1.2569	0.3680	1.2881	0.0330	0.3052	0.8143
攪拌速度×攪拌速度 (BB)	-0.3194	0.5256	-1.0470	0.4492	0.7933	0.1467	0.2080	0.8727
粉砕時間×粉砕時間 (CC)	-0.5579	0.2816	-1.3748	0.3276	1.1872	0.0446	1.4356	0.2891

* β 係数／各要因の係数。予測される観測結果は以下の式によって算定される。

$$\begin{aligned}
 Y = & \beta_{AA} \times \text{ビーズ量 (A)}^2 + \beta_{BB} \times \text{攪拌速度 (B)}^2 + \beta_{CC} \times \text{粉砕時間 (C)}^2 \\
 & + \beta_{AB} \times \text{ビーズ量 (A)} \times \text{攪拌速度 (B)} + \beta_{AC} \times \text{ビーズ量 (A)} \times \text{粉砕時間 (C)} + \beta_{BC} \times \text{攪拌速度 (B)} \times \text{粉砕時間 (C)} \\
 & + \beta_A \times \text{ビーズ量 (A)} + \beta_B \times \text{攪拌速度 (B)} + \beta_C \times \text{粉砕時間 (C)} \\
 & + B0
 \end{aligned}$$

** $p < 0.05$ となった場合に「有意である」とした。

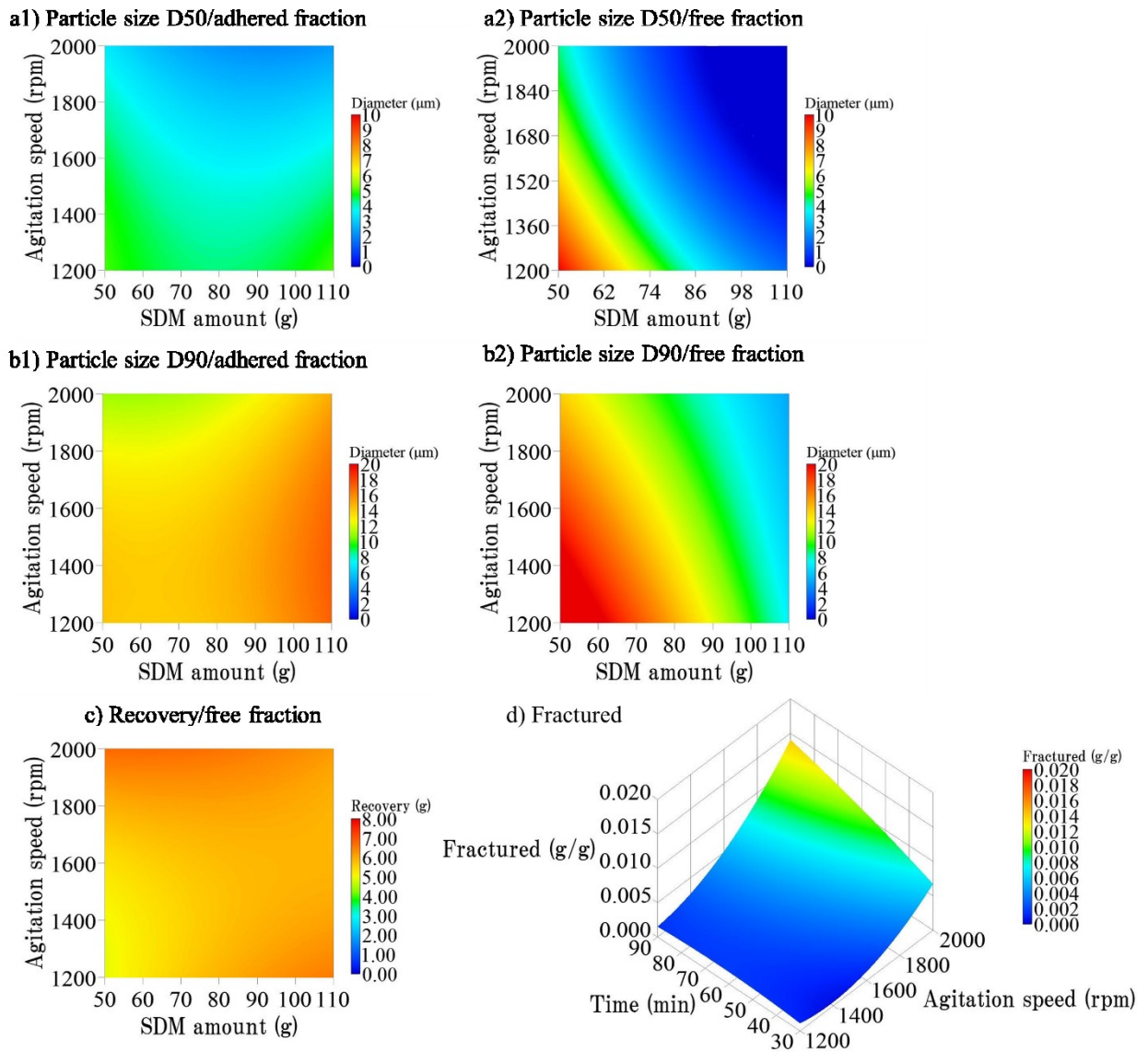


図 14 各種粉碎条件によって粉碎されたフェニトイン粒子径，フェニトイン収量，および SDM ビーズの破碎割合の応答曲面

- a1) D50/フェニトイン—SDM ビーズ複合顆粒,
- a2) D50/フェニトイン遊離画分,
- b1) D90/フェニトイン—SDM ビーズ複合顆粒,
- b2) D90/フェニトイン遊離画分,
- c) フェニトイン収量/フェニトイン遊離画分,
- d) SDM ビーズの破碎割合

< 攪拌速度 >

攪拌速度が大きくなると，遊離画分のフェニトイン粒子径は大幅に低下した。攪拌速度が D50 ($p=0.0023$) および D90 ($p=0.0354$) に及ぼす影響はいずれも有意であった。Afolabi らが報告したように，我々の検討結果においても，攪拌速度は粉碎品の粒子径に対して重要な要因であった

22), 33), 34), 35)。

ストレスエネルギー (SE) は、次の Kwade の式に示すように、ビーズの流動速度 v_t の 2 乗に比例すると言われる³⁶⁾。

$$SE \propto SE_{GM} = d_{GM}^3 \cdot v_t^2 \cdot \rho_{GM} \quad (3)$$

ここで、 d_{GM} はビーズの粒子径、 v_t は流速、 ρ_{GM} はビーズ密度である。

Flach らは、与えられた応力エネルギーと粉碎された材料の粒子径の関係を調べている⁹⁾。彼らの結果は、特定の粒径範囲内で、与えたエネルギーと粉碎品の粒径とで、良好な相関を示し、与えたエネルギーが受けたストレスと相関することも報告した。今回の検討では、より高い攪拌速度 (2273 rpm) は、より低い攪拌速度 (927 rpm) の 2.4 倍であり、Kwade の式 (3) によると、より高い攪拌速度が与えるエネルギーは、より低い攪拌速度に比べて約 6 倍 ($=2.4^2$) となる。Li らは、さまざまなビーズサイズと攪拌速度によって、粉碎品の粒子径の違いを評価している³⁷⁾。彼らの結果は、粒子径が平衡に到達するのに要した時間は攪拌速度に依存した。また粉碎によって到達可能な粒子径は、異なる攪拌速度であっても非常に類似していることを示している。Li らは、到達可能な最小サイズは、攪拌速度とビーズサイズに関係なく一定であると報告している。我々の検討でも各種条件にて行った検討結果間で到達可能な粒子径に大きな違いはなかった。

<粉碎時間>

分散分析の結果から得た p 値から、複合顆粒および遊離画分に含まれるフェニトイン粒子の D50 および D90 に対して、粉碎時間の影響は有意ではなかった (表 5)。0.5 時間の粉碎以降、複合顆粒中のフェニトインの粒子径はほとんど変化がなく、分散分析の結果から粉碎時間によってフェニトイン粒子径が変化しないことが示された。粉碎によって生成した微粒子は、一部は残が多くはビーズから離脱し、未粉碎のフェニトイン粒子のみ複合顆粒に付着したままとなる。したがって、複合顆粒に含まれるフェニトイン粒子径は、粉碎が進行しても変化しないと推察される。粉碎されて SDM ビーズから離脱したフェニトインは、遊離画分として蓄積する。このように生成された粒子のサイズは、複合顆粒、遊離画分のいずれも粉碎時間の変動によって変化しない。粉碎時間が長くなっても検討を行った範囲で粒子径に大きな違いがなかった理由は、粉碎された小粒子が複合顆粒から離脱してしまい、それ以降は粉碎されにくくなったためであると考えられる。

第2項 粉碎品の収量

＜SDM ビーズ量＞

表 6 に示すように SDM ビーズ量が増えると複合顆粒に含まれるフェニトインは有意に増加した ($p=0.000031$)。一方、遊離画分としてのフェニトインの収量に対して、SDM ビーズ量の影響は統計的に有意な影響を及ぼしていなかった ($p=0.4391$)。SDM の量が増加すると衝突とせん断の発生の機会が確実に増加するはずであったが、遊離画分としてのフェニトイン収量増加につながらなかった (図 14c)。SDM ビーズ量が増えると衝突とせん断の機会は増加するが、加わるエネルギーそのものが変化するわけではない。SDM ビーズ量を変えても粉碎品の収量がかわらなかった理由は、ストレスエネルギー量が変化しなかったためであると考えられる。

表 6 複合顆粒、遊離画分中のフェニトイン収量における算定された各パラメーターの β 係数と p 値

パラメーター	フェニトイン—SDM ビーズ複合顆粒		フェニトイン遊離画分	
	β 係数 *	p 値 **	β 係数 *	p 値 **
切片 (B0)	3.4494	-	5.7872	-
ビーズ量 (A)	1.4428	0.000031	0.2691	0.4391
攪拌速度 (B)	-0.2353	0.1667	0.3692	0.2976
粉碎時間 (C)	-0.0643	0.6857	-0.3130	0.3719
ビーズ量×攪拌速度 (AB)	-0.0744	0.7199	-0.5573	0.2348
ビーズ量×粉碎時間 (AC)	0.0202	0.9223	-0.3980	0.3841
攪拌速度×粉碎時間 (BC)	0.0729	0.7253	-0.9115	0.0711
ビーズ量×ビーズ量 (AA)	0.1331	0.4538	-0.1674	0.6570
攪拌速度×攪拌速度 (BB)	-0.2012	0.2695	0.4908	0.2163
粉碎時間×粉碎時間 (CC)	-0.0344	0.8432	-0.4921	0.2152

* β 係数／各要因の係数。予測される観測結果は以下の式によって算定される。

$$\begin{aligned}
 Y = & \beta_{AA} \times \text{ビーズ量}(A)^2 + \beta_{BB} \times \text{攪拌速度}(B)^2 + \beta_{CC} \times \text{粉碎時間}(C)^2 \\
 & + \beta_{AB} \times \text{ビーズ量}(A) \times \text{攪拌速度}(B) + \beta_{AC} \times \text{ビーズ量}(A) \times \text{粉碎時間}(C) + \beta_{BC} \times \text{攪拌速度}(B) \times \text{粉碎時間}(C) \\
 & + \beta_A \times \text{ビーズ量}(A) + \beta_B \times \text{攪拌速度}(B) + \beta_C \times \text{粉碎時間}(C) \\
 & + B0
 \end{aligned}$$

** $p < 0.05$ となった場合に「有意である」とした。

＜攪拌速度＞

攪拌速度の増大によりビーズから離脱するフェニトインの量は増加すると予想されていた。しかし、得られた遊離画分（粉碎製品）の量は増加せず、粉碎品の量に対する攪拌速度の影響は有意ではなかった ($p=0.2976$)。攪拌速度の増大によって増えたエネルギーは、収量の増加につながるよう

な新たな未粉碎粒子の粉碎に費やされたのではなく、より細かい粒子を生成させるために費やされたと推察した。

＜粉碎時間＞

粉碎時間は、複合顆粒のフェニトイン収量に有意な影響を与えなかった ($p=0.6857$)。複合顆粒の表面上の未粉碎粒子が粉碎されるにつれて、未粉碎粒子は徐々に減少すると予想していたが、遊離画分中のフェニトイン量は粉碎時間によって変化せず、複合顆粒に含まれるフェニトイン量も変動しなかった。このことは、粉碎後期になると、未粉碎のフェニトイン粒子の粉碎にエネルギーが費されなかったことを示唆している。今回検討で採用したようなバッチ式での粉碎では、粉碎時間を延長しても添加した粉碎対象物を完全に粉碎することは難しいと考える。

第3項 SDM ビーズの破碎

破碎するビーズ割合を調査した。その結果、表 7 に示された各 p 値から、SDM ビーズ量の変動による影響は、破碎するビーズ割合に対して有意ではないことが示された。一方、攪拌速度の増加は破碎ビーズ割合に影響を及ぼした ($p=0.0055$)。高速の攪拌速度条件下では、粉碎時間が長くなるにつれて、破碎するビーズ割合はわずかに増加した(図 14d)。ただし β 係数は非常に小さく (0.0045)、攪拌速度が増大してもビーズ破碎の増加は小さく、破碎する量は軽微であることが示された。Hennart らは、ビーズサイズと攪拌速度を変動させ、摩耗によってもたらされる Zr, Cr, Fe, Ni などの混入量を定量し、攪拌速度がビーズの摩耗に強く影響すると報告している⁷⁾。我々の検討では高い攪拌速度でビーズが損傷する結果となり、攪拌速度とビーズ摩耗の関係について示した Hennart らの報告と一致していた。一連の検討で確認されたビーズ破損は、高速 (2000 rpm) の攪拌条件で長時間攪拌 (90 分) しても無視できるほど軽微 (1%程度) であり、SDM は湿式ビーズミル粉碎に耐えられる特性を有すると考えられた。

表 7 ビーズ破碎率に対する分散分析結果 (SDM ビーズ)

項目	平方和	自由度	平均平方	F 値	p 値*
モデル	0.000565	9	0.000063	3.498	0.0564
ビーズ量 (A)	0.000000	1	0.000000	0.000	1.0000
撈拌速度 (B)	0.000281	1	0.000281	15.688	0.0055*
粉碎時間 (C)	0.000051	1	0.000051	2.857	0.1348
ビーズ量×撈拌速度 (AB)	0.000087	1	0.000087	4.841	0.0637
ビーズ量×粉碎時間 (AC)	0.000000	1	0.000000	0.000	1.0000
撈拌速度×粉碎時間 (BC)	0.000024	1	0.000024	1.323	0.2877
ビーズ量×ビーズ量 (AA)	0.000025	1	0.000025	1.416	0.2729
撈拌速度×撈拌速度 (BB)	0.000078	1	0.000078	4.343	0.0756
粉碎時間×粉碎時間 (CC)	0.000000	1	0.000000	0.000	1.0000
誤差	0.000126	7	0.000018		
あてはまりの悪さ	0.000123	5	0.000025	22.381	0.0433*
純粹誤差	0.000002	2	0.000001		

* $p < 0.05$ となった場合に「有意である」とした。

第4節 SDM ビーズの耐久性

SDM ビーズの破碎の程度を、試行品 (1600 rpm で 2 時間粉碎) を用いて評価した。定量したフェニトイン含量をもとに D-マンニトール含有量を推定し破碎して混入した SDM ビーズ量を算定した結果、遊離画分に含まれる破碎した SDM ビーズ量は 0.471g となり仕込んだ SDM 量 (110 g) に対して 0.4% に相当した。得られた粉碎物を評価したが、粉碎時間が長くなっても、複合顆粒に重大な損傷は生じていなかった。加えて、複合顆粒の収率低下および遊離画分の増加は観察されなかった。

湿式粉碎用の SDM ビーズの耐久性を評価するためにより苛酷な条件下での評価を行った。Flach らは、摩耗は応力エネルギーだけでなく、ビーズ表面を保護する添加剤によっても影響を受けると報告している⁹⁾。このことから、ビーズ同士が直接接触する状態がワーストケースと考え、原薬を添加しない状態で撈拌してビーズの損傷を評価した。同じ系内に粉碎対象物がないため SDM 表面は露出しており、ビーズ同士が直接衝突したり、せん断したりすると考えられる。長時間 (2 時間) 撈拌した後の SDM 表面は、D-マンニトール結晶の凹凸部でわずかに摩耗が見られた (図 15b1 および図 15b2)。SDM 表面は、ビーズ同士が直接衝突したり、せん断したりして、物理エネルギーが集中したことによってわずかに摩耗したと推察する。なお、篩分けして得られた画分 (300 μm 篩通過品) から、破碎や摩耗など破損した SDM ビーズ量は仕込んだ SDM ビーズに対して 2.6% と少なく軽微であった。

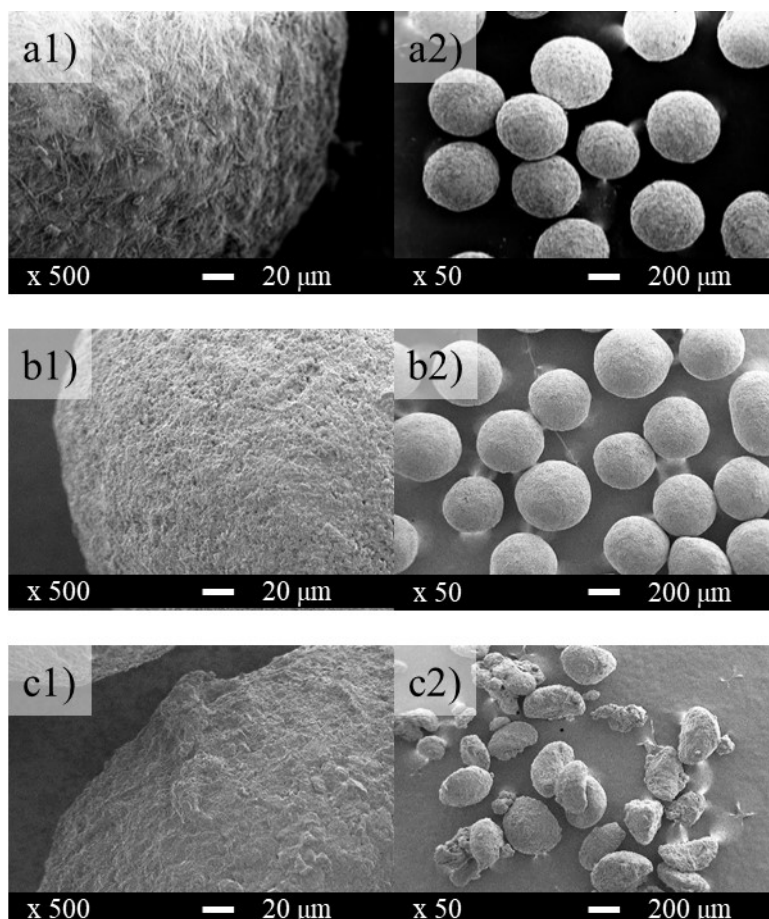


図 15 耐久性試験（1600 rpm, 2 時間）前後での SDM ビーズの電子顕微鏡写真

a1)および a2) 未処理の SDM ビーズ,
b1)および b2) 試験後の 300 μm 篩上品,
c1)および c2) 試験後の 300 μm 篩通過品

粉砕中のビーズの損傷に関する多くの研究が報告されている。ただし、これらの研究は、ほぼすべての研究は破損ではなく摩耗などのビーズ損傷を評価している。粉砕ビーズには、湿式粉砕中の摩耗に耐えるために一定の硬度が必要である。粉砕に適した一般的なジルコニアビーズの硬度は、ビッカース硬度で 1200 (HV 5) であると報告されている⁹⁾。Breitung-Faes と Kwade は、ビーズが硬いほど摩耗が少ないと報告している³⁸⁾。Flach らは、さまざまな硬さのビーズを使用して調査し、粉砕対象物の硬度がビーズ摩耗の重要な要因であると主張している⁹⁾。彼らが検討した粉砕ビーズのビッカース硬度は 625～1405 (HV 5) の範囲であった。粉砕条件の最適化では、粉砕対象物の硬度と意図する目標粒子径を念頭に置いておく必要がある。Flach らが言うように、装置や条件によっては、粉砕対象物の硬度がビーズ摩耗に影響を及ぼす可能性がある。

Flach らは、ヤング率が最も低いビーズで摩耗が最も少なかったことを報告し、摩耗はビーズの硬度だけでなく、ビーズ素材のヤング率によっても左右されることを指摘した⁹⁾。ヤング率の低いビーズ材料は、応力を吸収し、ビーズを破壊から回避できる。Becker と Schwedes は、硬度に加え

てビーズ構造が重要であると報告した⁸⁾。Howorth はまたジルコニアビーズの素材について検討し（イットリア安定化ジルコニア Y-TZP とセリア安定化ジルコニア Ce-TZP とで比較）、より高い硬度と構造変形に対する耐性によって耐摩耗性の向上が期待できると結論付けている⁶⁾。湿式粉碎用のビーズには一定の硬さに加えて、ビーズとしての望ましい構造があると推察される。本研究で使用する SDM ビーズは、一般的に使用されるジルコニアおよびアルミナビーズと比較して強度が極端に劣っているが、Flach らが示唆するように、低ヤング率によって衝撃の一部を吸収し、深刻な損傷を回避できた可能性がある。SDM は粒子構造に空隙があり、本構造も寄与することで粉碎工程中に著しく損傷しなかったと考えられる。

Medarević らは、エネルギーが粉碎対象に集中できている場合は粉碎が効率的となり、破壊に要するエネルギーは比較的小さいと報告している³⁴⁾。原薬の粉碎には、我々が考えるほど高いエネルギーを要しない場合があり、比較的小さいエネルギーで粉碎できる場合もある。低エネルギーで効率的に粉碎できれば、SDM ビーズの有する耐久性の範囲内で原薬を粉碎できる可能性がある。

第5節 粉碎機序

未粉碎の粒子は、複合顆粒でのみ観察され粉碎時間とともに減少していた。一方、未粉碎粒子は遊離画分には含まれていなかった（図 13）。本結果をふまえ、SDM による粉碎の機序を図 16 に示すように模式化した。粉碎の初期に、液体窒素に懸濁した未粉碎のフェニトインはまず SDM の表面に付着すると思われる。付着したフェニトイン粒子は、液体窒素中で SDM とともに流動し衝突またはせん断によって粉碎される。粉碎されて生成した微粒子は離脱し SDM とは別に流動して遊離画分となり、以降物理的エネルギーが加わりにくくなる。遊離画分のフェニトイン粒子径が粉碎時間を延長しても小さくならなかったのは、この粉碎機序によるためと考えられる。

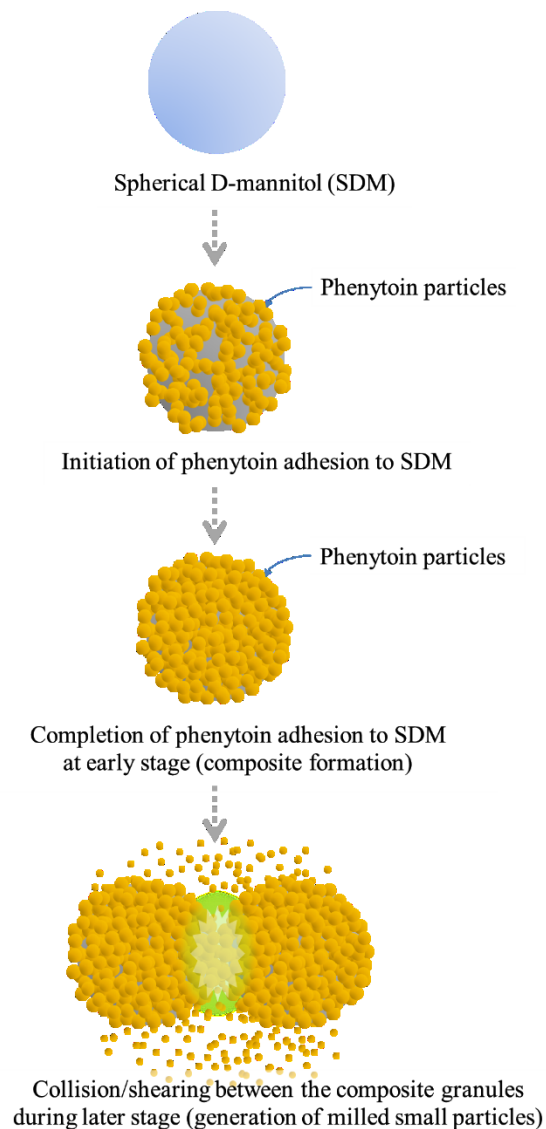


図 16 液体窒素中での SDM ビーズによる粉砕機序の模式図

Beinert らは、粉砕工程中に発生する応力を分類している³⁹⁾。彼らは、粉砕工程によって発生する負荷として、衝撃、せん断、ねじれ、ロールオフ、圧延などの応力を報告した。Eskin らは、与えられるエネルギーが、せん断（液体ビーズの粘性摩擦と潤滑）とビーズ間の衝突に分類されることを示した⁴⁰⁾。Li らは、粘度が低い環境での粉砕の場合、せん断によって消費されるエネルギーは比較的小さいことを示した¹¹⁾。超低温粉砕技術で使用する媒体の液体窒素は、比較的低粘度である。Li らの報告をもとに考えると、攪拌によるエネルギーは、せん断応力ではなく、多くは衝突に変換された可能性が高いと推測された。

第6節 粉砕能力

SDM ビーズを用いてモデル薬物フェニトインを液体窒素中で粉砕し、汎用されるジルコニアビー

ズを対照として比較した。フェニトインをジルコニアビーズで 0.5 時間粉砕すると、ほぼすべてのフェニトイン粒子がジルコニアビーズに付着し (図 17), きわめて少量の遊離画分のみが得られた。ジルコニアビーズに付着したフェニトインの D50 は約 1 μm であった (図 18a)。SDM ビーズを使用すると, SDM-フェニトイン複合顆粒とフェニトイン遊離画分の両方が得られた。遊離画分の粒子径は細くなったが (D50 = 0.3 μm), 粉砕を長時間行っても一定の大きさから小さくならなかった (図 18b)。2000 rpm で 90 分粉砕したときの遊離画分で観察されたフェニトイン粒子径は, ジルコニアビーズを用いて得られた粉砕品に近かった。これらの結果から SDM をビーズとした液体室素中での粉砕は一定の粉砕能力を有すると考えられた。

(3) 式として前述したように, Kwade は応力エネルギーを推定する計算式を提案している³⁶⁾。これは, 応力エネルギーがビーズの比重に比例することを示している。Flach らは, 比重の異なるビーズを使用して, ビーズ比重と得られた粒子径の関係を調査している⁹⁾。この中で, 粉砕の進行に直接影響を与える応力エネルギーは, Kwade が提案した式を使用している。同様に考えると, SDM ビーズの比重 (1.52 g/mL) は, ジルコニアの比重 (6.07 g/mL) の 4 分の 1 である。すなわち, (3) 式によって算定される SDM から生じるストレスエネルギーは, ジルコニアビーズを使用した場合の 4 分の 1 であると推定される。以上のことから, ジルコニアビーズに匹敵する粉砕結果を得るためには, SDM ビーズ量の最適化や攪拌速度の増大などで少なくとも数倍にストレスエネルギーを高める必要があると考えられる。

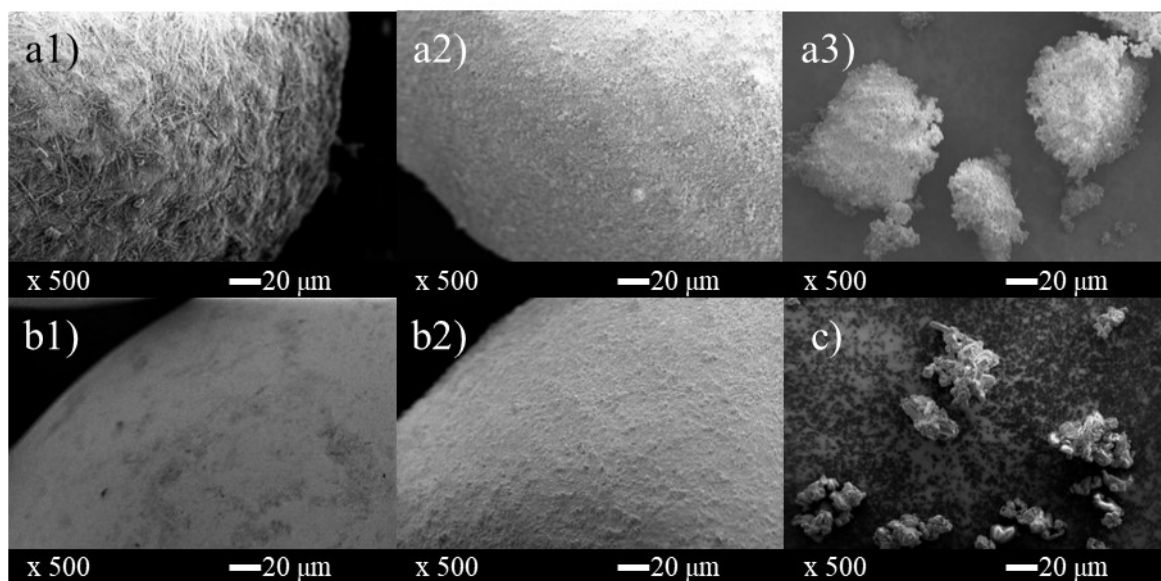


図 17 SDM およびジルコニアビーズにより粉砕されたフェニトイン粒子の電子顕微鏡写真

- a1) SDM ビーズ,
- a2) フェニトイン原薬-SDM ビーズ複合顆粒/2 時間粉砕,
- a3) フェニトイン遊離画分/2 時間粉砕,
- b1) ジルコニアビーズ,
- b2) フェニトイン原薬-ジルコニアビーズ複合顆粒/0.5 時間粉砕,
- c) フェニトイン原薬

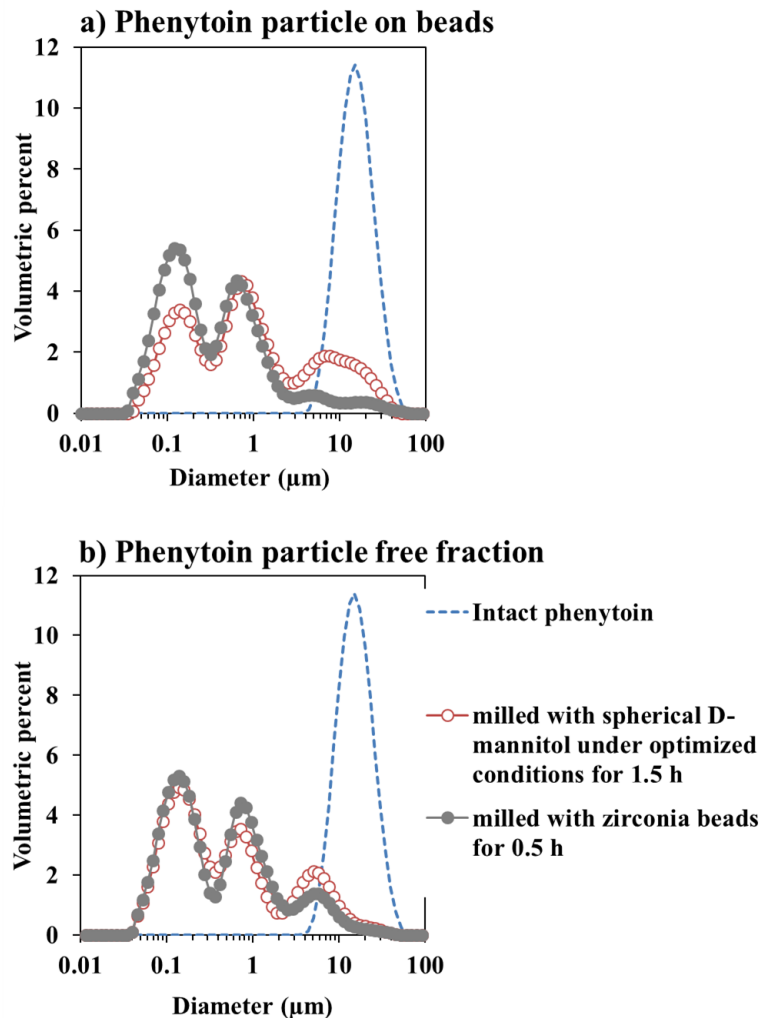


図 18 SDM ビーズで粉砕（最適化検討後）されたフェニトイン粒度分布のジルコニアビーズによる粉砕との比較（粉砕条件：攪拌速度 2000 rpm/SDM ビーズ量 110 g/粉砕時間 90 分）

a) 複合顆粒中のフェニトイン粒子, b) 遊離画分中のフェニトイン粒子

第 7 節 医薬品原薬への適用

＜粉砕品の粒子径＞

SDM ビーズを用いた粉砕の医薬品製造への適用について検証した。フェニトインに加えて、粒径や形状が異なる他の 2 つの原薬を粉砕した。粉砕後の SDM 複合顆粒表面および遊離画分の電子顕微鏡写真を示す（図 19）。いずれも原薬は、粉砕後に SDM の表面に微粒子として付着することが確認され、微粒子で構成された凝集物が遊離画分として得られた。粉砕後にフェニトインの粒子径 (D50) は 14 μm から 0.28 μm に低下し、直径 1 μm 未満の部分の質量比は 0% から 74% に増加した（図 19a4）。フェキソフェナジン塩酸塩の粒子径 (D50) も 24 μm から 0.56 μm に粉砕された（図 19b4）。ただし、粉砕されたイブプロフェンの粒子径 (D50) は 11 μm であり、他の 2 つの薬物と比較して粉砕が進んでいなかった（図 19c4）。直径 1 μm 未満の質量比は 0% から 12% に変化した、粉砕

されたイブプロフェンの直径 1 μm 未満の部分の質量比は他の 2 つの質量比とは異なった。他の 2 つに比べて粉砕が進まなかったのは、イブプロフェンの高い機械的強度と粉砕に供した粒子径 (D50 : 50 μm) が大きかったことが原因と考えられる。大きな粒子をサブミクロンサイズにするには、従来の粉砕技術と同様に他の方法で粗粉砕する必要があると考えられる。

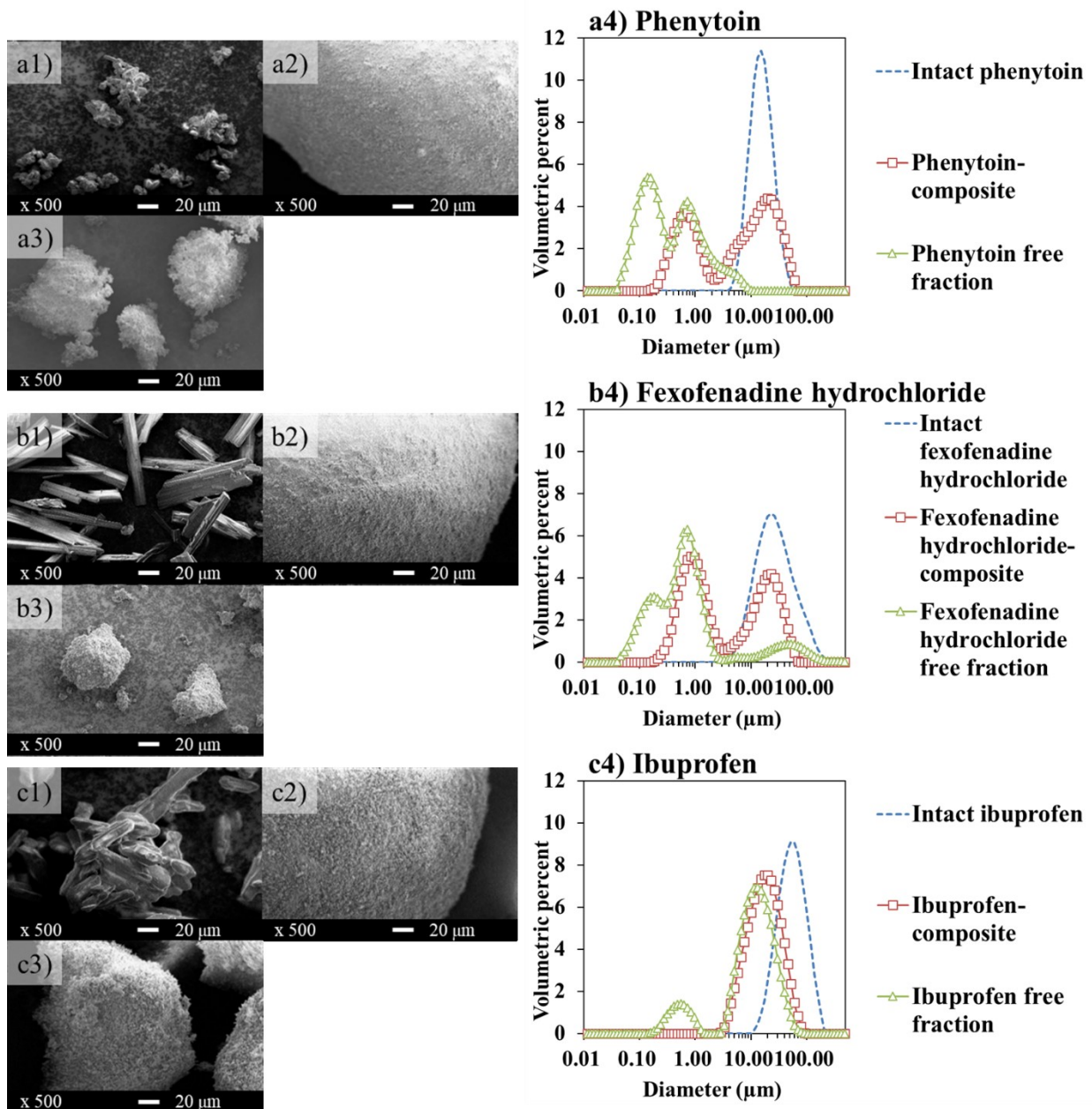


図 19 SDM ビーズにより粉碎された各種原薬の電子顕微鏡写真と粒度分布

a1) 未粉碎フェニトイン,

a2) フェニトイン—SDM 複合顆粒,

a3) フェニトイン遊離画分,

b1) 未粉碎フェキソフェナジン塩酸塩,

b2) フェキソフェナジン塩酸塩—SDM 複合顆粒,

b3) フェキソフェナジン塩酸塩遊離画分,

c1) 未粉碎イブプロフェン,

c2) イブプロフェン—SDM 複合顆粒,

c3) イブプロフェン遊離画分

a4) フェニトイン粒度分布,

b4) フェキソフェナジン塩酸塩粒度分布,

c4) イブプロフェン粒度分布

Flach らは、硬い粉砕対象の場合、ビーズの摩耗が進行すると報告した⁹⁾。粉砕対象の原薬を変えることでSDM ビーズの損傷を懸念していたが、一連の実験ではSDM ビーズの破損は確認されなかった。SDM ビーズは必要な耐久性を有し、医薬品原薬の製造に適用できることが示されたと考える。

＜粉砕品の結晶形＞

医薬品の製造法として適用することを想定し、粉砕品の結晶形を粉末 X 線回折にて評価した。遊離画分のフェニトイン粉砕品は未粉砕と同じ結晶形であり、結晶形変化は起こらなかった(図 20a)。結晶形が変化していないことは、DSC プロファイルによっても確認され、フェニトイン融解による 300℃付近の吸熱ピークが遊離画分のフェニトインでも観察された(図 20b)。なお、観測された広い吸熱ピークからフェニトイン結晶性の低下が推定された。Karashima らは、粉砕によって結晶性が低下する可能性を報告している²⁾。また Bitterlich らも、粉砕によって表面がアモルファスになる可能性を指摘している⁴¹⁾。彼らの報告と同様、本粉砕技術によっても結晶性の低下が示唆された。複合顆粒でも、フェニトイン融解を示す幅広い吸熱ピークが 300℃付近で観察され、遊離画分と同様に結晶性の低下を認めたが、結晶形変化は起こっていなかった。

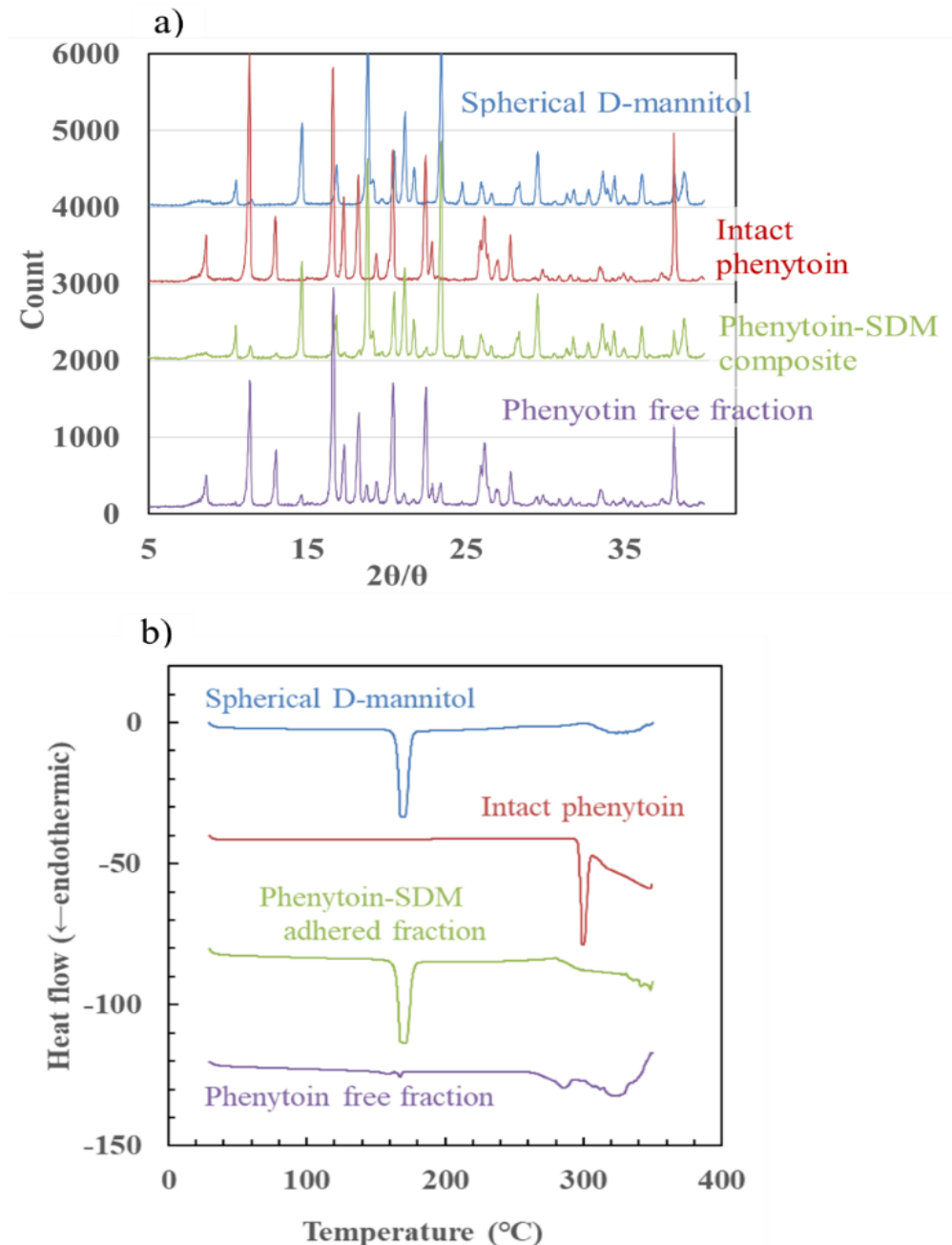


図 20 粉末 X 線回折測定 (XRD) と示差走査熱量分析結果 (DSC)

a) 粉末 X 線回折, b) 示差走査熱量分析

Sharma らは、粉碎中の水分が結晶性物質のアモルファス化を促進し、ガラス転移温度を低下させ、分子運動性を高めることを指摘している⁴²⁾。高い水分はアモルファスが再結晶化する可能性があるため、粉碎品の粒子径を維持するには好ましくない。分散媒として水系以外の溶媒を用いた粉碎も考えられるが、残留や防爆対策などの点から非水系溶媒を用いた粉碎についての報告はほとんどない^{5), 29), 43), 44)}。SDM ビーズによる粉碎は分散媒として水の代わりに液体窒素を用いたため、水分を極めて低いレベルで制御することが可能であり、アモルファスが生成した場合でも再結晶化を回避するうえで好都合である。液体窒素中での粉碎は超低温環境であり、液体窒素は常に沸騰し気化し

ているため安定した環境が維持される。このため粉碎対象物の結晶形を維持するには好ましい状況にあると言える。

第8節 小括

SDM をビーズとして用いる超低温粉碎の実現可能性が示された。検討では、粉碎能力と SDM のビーズとしての耐久性が確認された。また SDM を用いた超低温粉碎技術は、フェニトインだけでなく他の原薬にも適用できた。粉碎対象のフェニトイン粒子は、初期に SDM 表面に付着し、粉碎と同時に離脱した。遊離画分のフェニトインの粒子サイズを制御できる重要な要因はビーズ量と攪拌速度であることが明らかになった。粉碎時間が長くなっても、SDM の損傷はなく耐久性が示されたが、粉碎時間によって遊離画分のフェニトイン粒子径を低下させることはできなかった。このため、目的の粉碎に到達させるには、ビーズ量や攪拌速度など粉碎時間以外で要因を検討する必要がある。

SDM は安価であり取り扱いも容易である。SDM の素材である D-マンニトールは不活性であり、ほぼすべての原薬と適合性があるため、広く適用できると考えられる。D-マンニトールは安全な添加剤でもあり、D-マンニトールが万が一、最終製品に混入しても問題になる可能性は小さい。SDM を用いた超低温粉碎は簡便な方法である。このようなことから、SDM を粉碎用ビーズとして用いる方法はビーズの摩耗とこれによる安全性の問題を解決する一手段になると考える。

第3章 球形セルロースビーズによる粉砕

第1節 緒言

ジルコニアやガラスビーズ、アルミナに代わるビーズとしてドライアイス、またドライアイスビーズの課題を解決できる手段の一つとして球形糖（SDM）を検討してきた。SDMは品質が管理された医薬品添加剤であり、各種大きさの製品が市販され事前調製が不要である。長時間粉砕することでジルコニアによる粉砕に匹敵する粉砕能力が示されたが、高速攪拌時に僅かにビーズの破損があり工業化には懸念があった。

球形結晶セルロース（SCC, Spherical Crystalline Cellulose）もSDMと並んで、経口製剤の添加剤として永らく使われてきた。SCCは安価で各種大きさの製品を入手できる。同じく溶出制御製剤や顆粒剤の核粒子として用いられてきたが、粉砕用のビーズとしての適用事例は報告されていない。SCCは不活性であり配合性に優れるため広く適用できる可能性がある。万が一、少量が製品に混じり込んで摂取しても成分は結晶セルロースであり安全性は高い。

SCCをビーズとして用いる際の課題はSDMと同様に粉砕能力と耐久性であると考えられる。SCCは球形に近いが、ジルコニアやSDMと比較するとややいびつであり、強度や硬度の点ではジルコニアには及ばない。比重が小さいため、どの程度の粉砕能力を有するか確認を要する。低温状態での強度や硬度についての報告例もなく、粉砕ビーズとしての耐久性についてはSDMと同様に慎重な評価を要する。

本研究ではSDMと同様に、SCCを湿式粉砕ビーズとして用いることを念頭に、得られる粉砕物の粒子径、収量およびビーズ破碎に対して、各種粉砕条件が及ぼす影響を実験計画法によって統計的に評価した。次に、ジルコニアやSDMなど他のビーズによる結果と粉砕能力を比較した。ビーズとしての耐久性評価では、SCC粒子の応力-変位曲線から得られた顆粒強度や粘弾性に関わる特性をもとにビーズとしての耐久性について考察した。本章ではSCCの湿式粉砕用ビーズとしての粉砕能力および耐久性、実用化の可能性について述べる。

第2節 球形セルロースビーズによる粉砕推移

第1項 粉砕時の様子と粉砕品粒子径

SDMで検討したときと同様、添加時の液体窒素の急激な沸騰を避けるために、粉砕対象のフェニトインとSCCビーズを液体窒素中に浸漬して冷却を行った。その結果、SDMの時と同様、フェニトインは液体窒素中で沈降してSCCビーズ周辺に集積した。液体窒素中でSCCとフェニトインは反発しあう様子はなく、液体窒素中にて容器底部に集積する様子が確認された。粉砕後は得た混合物を液体窒素ごと篩分けし、その後液体窒素を気化させてSCCビーズとの複合顆粒とSCCビーズを含まない遊離画分とに分画した。図21にはこれらの電子顕微鏡写真を示す。粉砕前SCCビーズ（図

21b1 と図 21b2) は凹凸があるが滑らかな表面であった。これに対して、粉碎後の SCC ビーズ (図 21c1 と図 21c2) は明らかに未処理の SCC ビーズとは外観が異なり、フェニトインと思われる微細な粒子が SCC ビーズ表面に部分的に付着していた。付着しているフェニトインの粒子の多くは小さかったが、粗大な粒子も含まれていた。一方、遊離画分は、ほぼすべてが細かい粒子から成っており (図 21d1 と図 21d2), 複合顆粒にあるような粗大粒子は認められなかった。前章で述べたように SDM をビーズとして用いた低温粉碎では、付着のメカニズムのひとつとして、静電気的な相互作用を推定した⁴⁵⁾。分散媒として用いた液体窒素の比誘電率は、代表的な疎水性溶媒であるノルマルヘキサンに近く非常に小さい ($\epsilon = 1.4$)。これに対して、フェニトインや SCC ビーズの表面は、SCC も SDM 同様、いずれも相対的に親水性の表面特性を持つため互いに引き寄せられていた可能性がある。

ジルコニアを用いた粉碎では、フェニトインがジルコニア表面全体に均一に付着することを報告した。表面がジルコニアほど平滑でない SDM を用いたときでさえもフェニトインは SDM ビーズ表面全体に均一に付着していた。これに対して SCC ビーズで粉碎した際の SCC への付着は部分的であった。したがって表面の平滑性が部分的なフェニトイン付着の要因とは考えにくかった (図 21b1 と図 21b2)。図 21b1 にあるように電子顕微鏡で観察すると、SCC ビーズは球形ではあるがややいびつである。フェニトインが部分的に付着していた理由はこの形状に起因しているのかもしれない。すなわち、ビーズ表面が周囲と比較してくぼんだ箇所にはフェニトインが付着しやすく、また突出した部分は物理的負荷も受けやすく付着したフェニトインは容易に離脱すると考えられた。凹凸があることで部分的に付着してしまった可能性があるかと推察した。

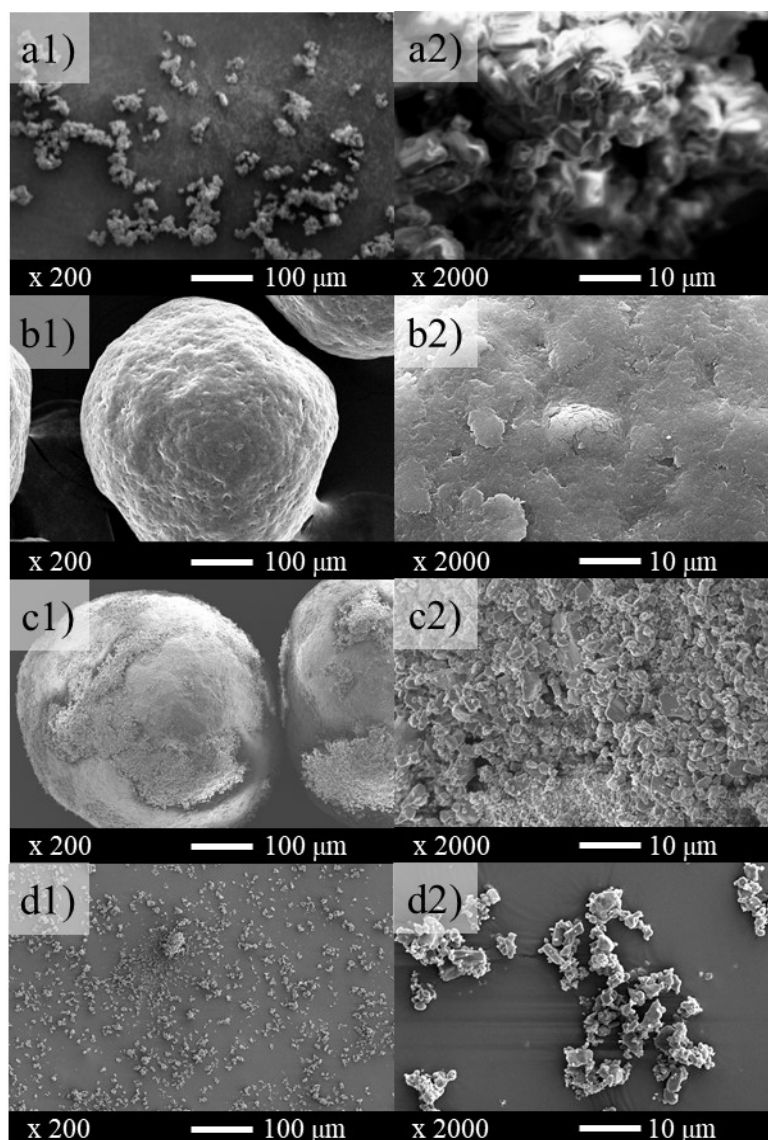


図 21 粉碎後のフェニトイン原薬と SCC ビーズ複合顆粒の電子顕微鏡写真
 a1)および a2) フェニトイン原薬,
 b1)および b2) SCC ビーズ,
 c1)および c2) フェニトイン原薬-SCC ビーズ複合顆粒,
 d1)および d2) フェニトイン遊離画分

低速および高速での攪拌速度にて SCC ビーズによる粉碎を行い、粉碎結果をジルコニアによる粉碎結果と比較した。SCC ビーズを用いた粉碎によって、一部のフェニトインは SCC ビーズに付着した複合顆粒画分として、またいくらかは付着しない遊離画分として回収された（図 22）。粉碎は、低速条件（1200 rpm）ではすすみにくく、10 μm 近くにピークをもった未粉碎品および十分に粉碎されたとみられる一連の粒子群が多く含まれていた。攪拌速度をあげると（2000 rpm）、未粉碎粒子の一群は減少し、それと同時に 1 μm にピークを有する粒子群の量が増え、さらに、0.1 μm 前後にピークを有する細かい粒子群が出現した。遊離画分に含まれたフェニトインの粒子径は、複合顆

粒のそれとは異なった（図 22b）。特に、高速の撹拌条件ではその差異が著しく、未粉碎粒子群は大きく減って 0.1～0.2 μm 前後の粒子群が多くなり、粉碎されて出現した細かい粒子が多くを占めていた。粒度分布から確認されたこれらの粒子径は、顕微鏡写真で観察された微細な粒子と比較的一致する。顕微鏡写真でも 1 μm あるいはそれ以下と推定される粒子が遊離画分に認められていた。電子顕微鏡観察および粒子径測定評価の結果から、医薬品原薬を SCC によって粉碎できる可能性を調査した。その結果粉碎条件によっては一定の粉碎が可能であることが示唆された。

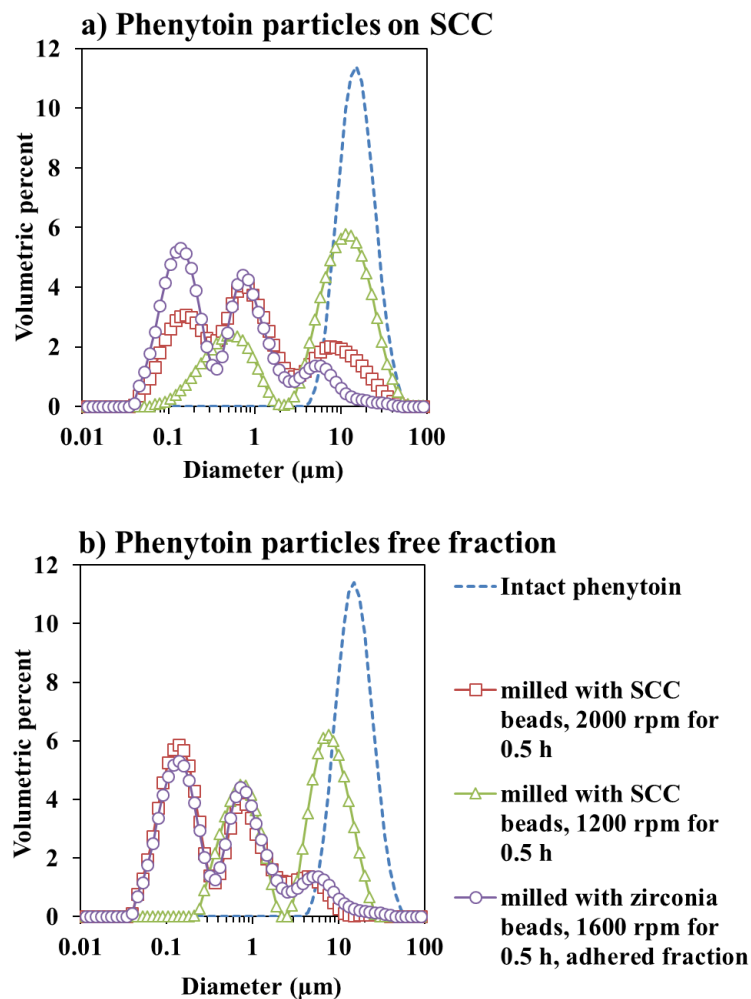


図 22 低速(1200 rpm)および高速(2000 rpm)で 0.5 時間粉碎した SCC ビーズによるフェニトイン粉碎品の粒度分布

a) フェニトイン原薬－SCC ビーズ複合顆粒, b) フェニトイン遊離画分

第 3 節 粉碎条件の最適化

最適化試験に用いられた各種粉碎条件を表 8 に示す。SCC ビーズ量、撹拌速度、および粉碎時間が粒子径、生成物収率、およびビーズ破断に及ぼす影響を調べた。

表 8 実験計画法 (DOE) の概要 (SCC ビーズ)

#	位置づけ	粉碎条件		
		ビーズ量 (g)	撹拌速度 (rpm)	粉碎時間 (min)
1	Axial_B (low)	80.0	927.3	60.0
2	Cube6	110.0	1200.0	90.0
3	cp02	80.0	1600.0	60.0
4	Axial_A (low)	29.5	1600.0	60.0
5	Cube1	50.0	1200.0	30.0
6	Cube3	50.0	2000.0	30.0
7	cp03	80.0	1600.0	60.0
8	Axial_C (high)	80.0	1600.0	110.5
9	Cube8	110.0	2000.0	90.0
10	Cube5	50.0	1200.0	90.0
11	Cube4	110.0	2000.0	30.0
12	Cube7	50.0	2000.0	90.0
13	cp01	80.0	1600.0	60.0
14	Axial_A (high)	130.5	1600.0	60.0
15	Axial_B (high)	80.0	2272.7	60.0
16	Cube2	110.0	1200.0	30.0
17	Axial_C (low)	80.0	1600.0	9.5

第 1 項 粉碎品の粒度分布

<SCC ビーズ量>

複合顆粒画分および遊離画分におけるフェニトインの粒子径 (D50 および D90) に対する各要因の影響についての分散分析の結果を, それぞれ表 9, 表 10 に記す。

表 9 複合顆粒中のフェニトイン粒子径に対する分散分析結果

パラメーター	D50 *		D90 *	
	β 係数 **	p 値 ***	β 係数 **	p 値 ***
切片 (B0)	4.171	—	16.158	—
ビーズ量 (A)	-1.383	0.3097	-2.583	0.3103
攪拌速度 (B)	-2.615	0.0771	-4.999	0.0721
粉砕時間 (C)	-0.538	0.6826	-0.944	0.7014
ビーズ量×攪拌速度 (AB)	-2.157	0.2324	-3.952	0.2411
ビーズ量×粉砕時間 (AC)	1.683	0.3416	1.490	0.6439
攪拌速度×粉砕時間 (BC)	-0.583	0.7344	-1.137	0.7234
ビーズ量×ビーズ量 (AA)	1.093	0.4572	-0.058	0.9827
攪拌速度×攪拌速度 (BB)	0.081	0.9553	-0.740	0.7842
粉砕時間×粉砕時間 (CC)	-0.377	0.7941	-0.658	0.8073

* D50 および D90 は、体積基準による累積粒度分布での 50%および 90%径

** β 係数／各要因の係数。予測される観測結果は以下の式によって算定される。

$$\begin{aligned}
 Y = & \beta_{AA} \times \text{ビーズ量 (A)}^2 + \beta_{BB} \times \text{攪拌速度 (B)}^2 + \beta_{CC} \times \text{粉砕時間 (C)}^2 \\
 & + \beta_{AB} \times \text{ビーズ量 (A)} \times \text{攪拌速度 (B)} + \beta_{AC} \times \text{ビーズ量 (A)} \times \text{粉砕時間 (C)} + \beta_{BC} \times \text{攪拌速度 (B)} \times \text{粉砕時間 (C)} \\
 & + \beta_A \times \text{ビーズ量 (A)} + \beta_B \times \text{攪拌速度 (B)} + \beta_C \times \text{粉砕時間 (C)} \\
 & + B_0
 \end{aligned}$$

*** $p < 0.05$ となった場合に「有意である」とした。

表 10 遊離画分中のフェニトイン粒子径に対する分散分析結果

パラメーター	D50 *		D90 *	
	β 係数 **	p 値 ***	β 係数 **	p 値***
切片 (B0)	0.211	—	4.018	—
ビーズ量(A)	-2.330	0.0001	-4.434	0.0001
攪拌速度(B)	-1.507	0.0014	-2.889	0.0014
粉碎時間(C)	-1.033	0.0101	-2.262	0.0054
ビーズ量×攪拌速度(AB)	0.054	0.8932	-0.598	0.4478
ビーズ量×粉碎時間(AC)	-0.171	0.6724	-0.697	0.3797
攪拌速度×粉碎時間(BC)	0.388	0.3497	0.707	0.3739
ビーズ量×ビーズ量(AA)	1.466	0.0028	1.962	0.0166
攪拌速度×攪拌速度(BB)	1.216	0.0073	2.116	0.0118
粉碎時間×粉碎時間(CC)	0.707	0.0666	1.157	0.1073

* D50 および D90 は、体積基準による累積粒度分布での 50%および 90%径

** β 係数／各要因の係数。予測される観測結果は以下の式によって算定される。

$$\begin{aligned}
 Y = & \beta_{AA} \times \text{ビーズ量}(A)^2 + \beta_{BB} \times \text{攪拌速度}(B)^2 + \beta_{CC} \times \text{粉碎時間}(C)^2 \\
 & + \beta_{AB} \times \text{ビーズ量}(A) \times \text{攪拌速度}(B) + \beta_{AC} \times \text{ビーズ量}(A) \times \text{粉碎時間}(C) + \beta_{BC} \times \text{攪拌速度}(B) \times \text{粉碎時間}(C) \\
 & + \beta_A \times \text{ビーズ量}(A) + \beta_B \times \text{攪拌速度}(B) + \beta_C \times \text{粉碎時間}(C) \\
 & + B0
 \end{aligned}$$

*** $p < 0.05$ となった場合に「有意である」とした。

分散分析の結果、D50 および D90 に対する p 値は小さい値 (0.0001) を示した。これによって、SCC ビーズ量が、得られる遊離画分のフェニトインの粒子径 D50 および D90 に有意に影響することが示された (表 10)。遊離画分の粒子径は SCC ビーズ量に依存し、増加するにつれて D50 (図 23a2) および D90 (図 23b2) の両方が低下した。ビーズ量の増加によって衝突が促進され粉碎粒度が小さくなることが報告されている³²⁾。今回提示した結果もこれまで報告された結果と一致していた。SCC ビーズ量が多くなると、原薬の付着表面が大きくなる。SCC ビーズ量の異なる条件で得られた粉碎物の粒度分布には、微細な粒子群 (約 0.1 μm) における大きな違いがあった (図 24)。これは SCC ビーズ量が多くなることで大きくなった付着表面がより多くの粉碎機会をもたらしたか、あるいは粉碎で生成した細かい粒子をさらに細かく粉碎させることができた結果であると推定した。

複合顆粒に含まれるフェニトインの粒子径については、D50 ($p=0.3097$) および D90 ($p=0.3103$) のいずれも SCC ビーズ量による影響は有意ではなかった (図 23a1 と図 23b1)。このことは、系内に存在する SCC ビーズ量を変動させても付着している原薬粒子径は変動しないことを意味しており、既に報告した SDM による粉碎に類似している⁴⁵⁾。SDM による粉碎では次のような機序を推察した。すなわち、粉碎初期に原薬がビーズに付着し、粉碎されると同時にビーズから離脱する。言い換えれば、離脱していない、すなわち粉碎されていない原薬はそのままビーズに付着したままの状

態である。複合顆粒に存在するフェニトインの粒子径が大きく変動しなかったのは、この粉碎に伴うビーズからの離脱挙動のためであった。SCC による粉碎においてもこれに類似した機序が推察される。付着機構や付着力において違いがあるかもしれないが、いったんは未粉碎品が SCC ビーズに付着し粉碎されて離脱しているため、付着画分は粉碎されていない画分だと考えられる。

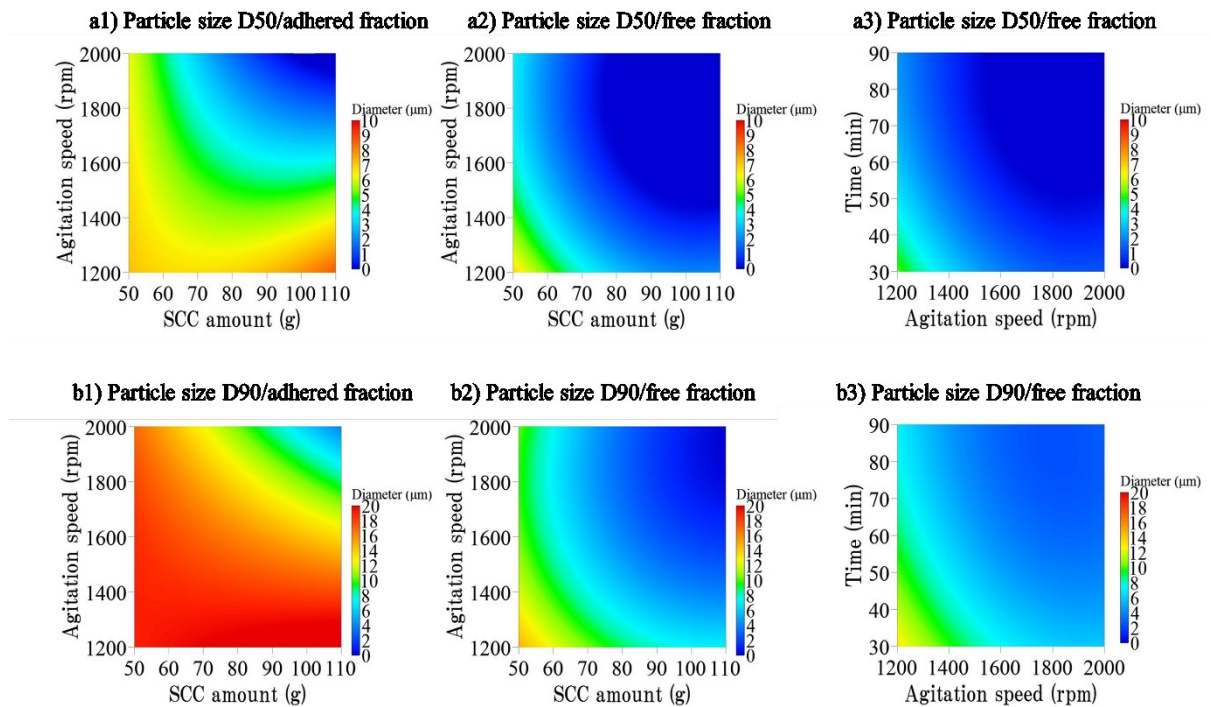


図 23 各種粉碎条件によって粉碎されたフェニトイン粒子径の応答曲面

- a1) D50/フェニトイン—SCC ビーズ複合顆粒,
- b1) D90/フェニトイン—SCC ビーズ複合顆粒,
- a2)および a3) D50/フェニトイン遊離画分,
- b2)および b3) D90/フェニトイン遊離画分

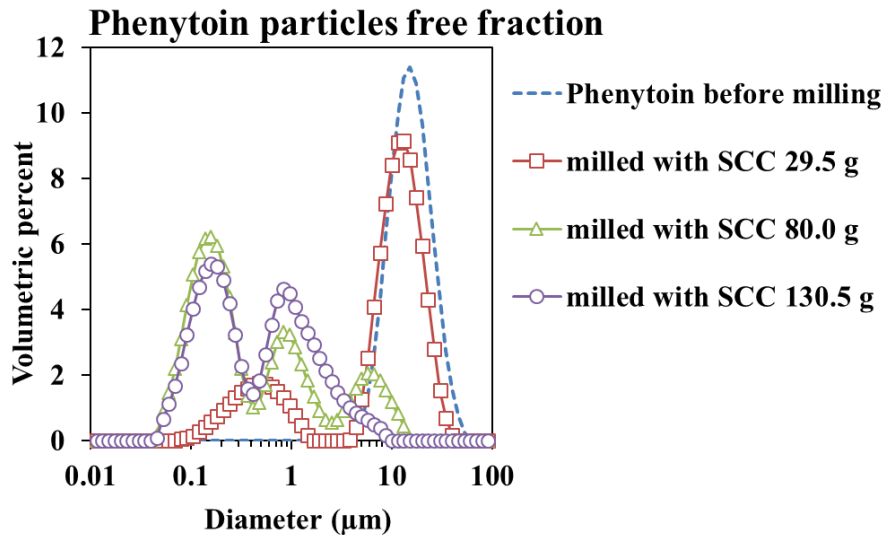


図 24 各種 SCC ビーズ量で 1 時間粉碎した際の
フェニトイン粉碎品の粒度分布（攪拌速度：1600 rpm）

<攪拌速度>

攪拌速度が増すにつれて、遊離画分のフェニトイン粒子サイズ D50 および D90 のいずれも低下した（図 23a2 と図 23b2）。分散分析の結果から、攪拌速度による影響は、遊離画分のフェニトインの粒子径に関して、D50 ($p=0.0101$) および D90 ($p=0.0054$) のいずれに対しても有意であった。攪拌速度が粉碎粒子サイズを決定する要因であることは数多く報告されている^{22), 33), 34), 35)}。いずれも攪拌速度の増加により負荷されるエネルギーが高まり、より細かい粒子を提供するという内容であり、我々の結果はこれらの報告に一致していた。

<粉碎時間>

分散分析の結果から、粉碎時間によって遊離画分のフェニトイン粒子径 D50 ($p=0.0101$) および D90 ($p=0.0054$) が有意に低下する結果となった（表 10, 図 23a3 と図 23b3）。SDM で粉碎した際には、時間が長くなっても粒子径は小さくならなかった。また、SCC により粉碎した際の特徴の一つは、複合顆粒（図 25a）と遊離画分（図 25b）に含まれるフェニトイン粒度分布が非常に似ていることであった。SDM による粉碎では、複合顆粒と遊離画分の粒度分布は明らかに異なっており、SCC 特有の現象であった。SCC ビーズの少ない比較的ストレスエネルギーの小さい粉碎条件による粉碎結果をみると、遊離画分においても未粉碎と推察されるフェニトイン粒子群が認められた（図 24）。遊離画分に未粉碎のフェニトイン粒子群が認められたことも SDM による粉碎にはなかった現象であり、はっきりと異なる点であった。これらのことは、SCC による粉碎が SDM による機序とはやや異なることを想起させた。SCC による粉碎では未粉碎のフェニトイン粒子であっても粉碎工程中にビーズへの付着と離脱が繰り返されていると推察される。いったんはビーズに付着しているが、

SCC の場合、ビーズに付着した原薬は SDM と比較して付着力が弱い、なんらかの理由で離脱しやすくなっている可能性があった。

＜最適条件＞

最も細かい粉砕粒子を提供するであろうと考えられる最適条件にて SCC ビーズによって粉砕した結果をジルコニアによる粉砕結果と比較した（図 25）。遊離画分を比較すると、ジルコニアビーズおよび SCC ビーズにより粉砕したフェニトインの D50 は各々約 0.2 μm から 0.3 μm であった。遊離画分において、ジルコニアによる粉砕結果は、D50=0.356 μm であったのに対し、一方 SCC ビーズによる粉砕品の D50 は 0.315 μm であった。また最適化された条件では未粉砕品がほぼ消失しており、10 μm 前後の粒子群がない。代わりに 0.1 μm や 1 μm の、粉砕されて初めて出現した粒子群を含んでいた。粉砕時に加わる負荷ストレスエネルギーは、以下の式に示すようにビーズ速度 v_t の 2 乗に比例すると言われている³⁶⁾。

$$SE \propto SE_{GM} = d_{GM}^3 \cdot v_t^2 \cdot \rho_{GM} \quad (3)$$

ここで、 d_{GM} はビーズの粒子径、 v_t は流速、 ρ_{GM} はビーズ密度である。

SDM ビーズについて論じた際にもあったように、Kwade が報告したこの (3) 式は、与えるストレスエネルギーがビーズの密度に依存することを示している。SCC の成分である結晶セルロースの密度は 1.59 g/mL であり、ジルコニアの密度 6.07 g/mL の 1/4 でしかないが、エネルギーを補うために攪拌速度増大や時間延長によって同じエネルギーを与えればジルコニアによる粉砕結果に近い粒子径の粉砕物を得られると推察できた。Afolabi らは、2 つの弾性ビーズが衝突時に与える衝撃力は、ビーズ比重の 3/5 乗、さらにヤング率の 2/5 乗に比例すると報告している²²⁾。Knieke らは、到達できる粒子径はビーズ素材のヤング率によって決まると報告している⁴⁶⁾。イットリウム安定化ジルコニアのヤング率は、200 GPa²²⁾、SCC のヤング率は、8 GPa 程度⁴⁷⁾と言われるため、SCC のヤング率はイットリウム安定化ジルコニアのそれと比べると著しく小さく、Afolabi らの報告に従うと、衝突時にもたらず SCC による衝撃力は、ジルコニアより各段に小さいことになる。我々の検討では、SCC ビーズでは攪拌速度を、ジルコニアビーズでの粉砕の 1.25 倍にした。Kwade の式に従えば、与えるストレスエネルギーは速度の 2 乗に比例するため、1.6 倍となる。SCC の 1/4 の比重によるエネルギー不足を補填するためには攪拌速度を変動させることで、ジルコニアによる粉砕と同等の結果をえることができた。最も細かい粉砕粒子を提供する条件での粉砕結果（SCC ビーズ 110 g、攪拌速度 2000 rpm、粉砕時間 90 分）は、D50=0.315 μm であった。攪拌速度が高いと短時間で 0.3 μm の大きさまで到達できた。ただし、低速でも時間をかければ SDM、SCC のいずれも 0.3 μm 程度の大きさまで到達できることも示された。いずれのビーズでも到達粒子径はほぼ同じであり、本

粉碎技術における到達可能な粒子サイズは $0.3\ \mu\text{m}$ (D50) 程度と推察された。

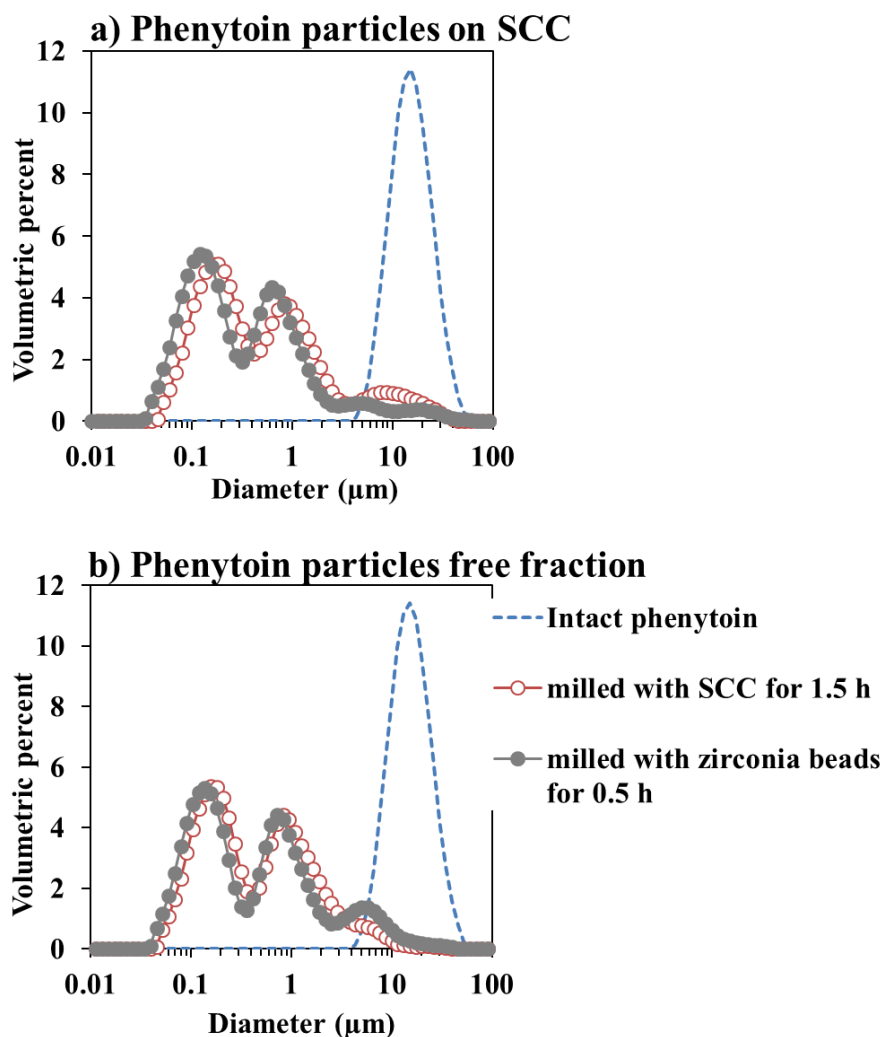


図 25 最適化条件において SCC ビーズで粉碎されたフェニトイン粒度分布
a) フェニトイン—SCC ビーズ複合顆粒, b) フェニトイン遊離画分

第2項 粉碎品の収量

得られたフェニトインの収量に対する各粉碎パラメーターの分散分析の結果を表 11 に示した。分散分析の結果は、複合顆粒におけるフェニトインの付着量が SCC ビーズ量の変動から受ける影響が統計的に有意であることを示した。これは付着できる表面積が変動したためであると推察した。一方、SCC ビーズ量が増えて付着量が増えれば相対的に遊離画分は減ると見込まれていたが、遊離画分中のフェニトイン収量は SCC ビーズ量を変動させても有意に変動しなかった ($p=0.1709$)。粉碎のために添加した (8 割近い) ほとんどが遊離画分として得られており、付着量が少ない。付着している量が少ないため、SCC ビーズ量を変化させても他方の遊離画分に対する影響が軽微であり検出できなかったものと推察した (図 26a)。

撹拌速度の増加は遊離画分のフェニトインの量を増加させなかった ($p=0.2976$)。SCC ビーズによる粉砕では、未粉砕の粒子であっても、粉砕工程中にフェニトイン粒子の付着と離脱が繰り返されており、撹拌速度に変動によってこの平衡状態が変動しないことを意味していた。SCC による粉砕では、粉砕時間も遊離画分 ($p=0.0740$)、複合顆粒 ($p=0.3419$) のフェニトイン収量に有意な影響を及ぼさなかった。粉砕が進行しても、粉砕工程中に起こるフェニトイン粒子の付着画分と遊離画分との平衡状態は変化しないことが示唆された。

表 11 複合顆粒および遊離画分におけるフェニトイン収量に対する各粉砕パラメーターの p 値

パラメーター	フェニトイン—SCC ビーズ 複合顆粒	フェニトイン 遊離画分
切片 (B0)	—	—
ビーズ量 (A)	0.0008*	0.1709
撹拌速度 (B)	0.3315	0.7204
粉砕時間 (C)	0.0740	0.3419
ビーズ量×撹拌速度 (AB)	0.3976	0.2469
ビーズ量×粉砕時間 (AC)	0.3156	0.1845
撹拌速度×粉砕時間 (BC)	0.3111	0.2872
ビーズ量×ビーズ量 (AA)	0.1896	0.7159
撹拌速度×撹拌速度 (BB)	0.4936	0.6730
粉砕時間×粉砕時間 (CC)	0.5869	0.7031

* $p<0.05$ となった場合に「有意である」とした。

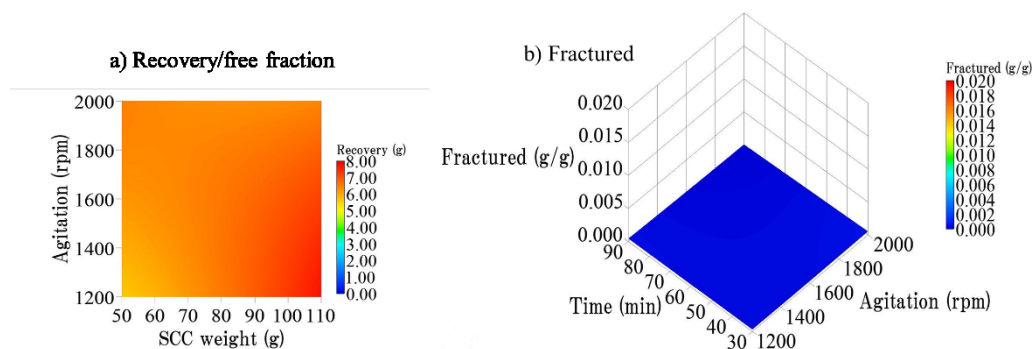


図 26 各種粉砕条件によるフェニトイン収量と SCC ビーズの破碎割合
a) 各種粉砕条件によるフェニトイン収量, b) SCC ビーズの破碎割合

第3項 SCC ビーズの破碎

検討を行った条件において、全く破碎は認められなかった (図 26b)。SDM では撹拌速度の高い領

域，攪拌時間を長くすると 1%程度のビーズが破砕されていたが⁴⁵⁾，SCC ではその兆候はなかった。SCC ビーズは，破砕の懸念が全くなく攪拌速度や攪拌時間の影響も SCC の破損割合に対して統計的に有意ではなかった。

第4節 SCC ビーズの耐久性

湿式粉碎用の SCC ビーズの耐久性を評価した。SDM での検討と同様，SCC ビーズ同士を直接衝突またはせん断させるために原薬を添加しないで液体窒素中にて攪拌したが，SCC ビーズ表面が露出していても SCC ビーズは破損する兆候を認めなかった。攪拌したあとの SCC ビーズの表面（図 27b1 と図 27b2）は，攪拌前の SCC ビーズ表面（図 27a1 と図 27a2）と比べても変化がなく摩耗していなかった。300 μm の篩を通過した粒子がごく少量あったが，その外観から破壊した様子は確認されなかった（図 27c1 と図 27c2）。300 μm の篩を通過した粒子は攪拌前の SCC と比較しても形状に大きな違いはなかった。

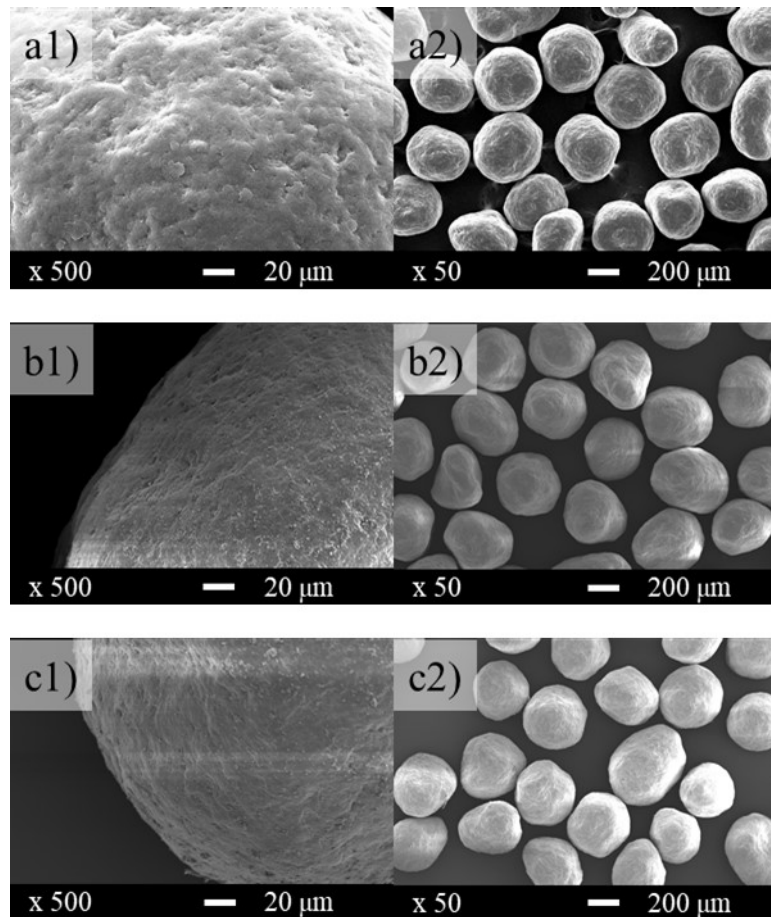


図 27 耐久性試験（1600 rpm, 2 時間）前後での SCC ビーズの電子顕微鏡写真
 a1)および a2) 未処理の SCC ビーズ,
 b1)および b2) 試験後の 300 μm 篩上品,
 c1)および c2) 試験後の 300 μm 篩通過品

図 28 に、SDM および SCC の応力－変位曲線を示す。室温において SDM は、個々で曲線のバラつきが大きかった（図 28a1）。なかには、一定の変位まで応力が増大しにくい粒子もあり、SDM は SCC に比べて低応力で破断した。一方、SDM を液体窒素中に浸漬すると、曲線のバラつきは室温のそれに比べて小さく（図 28b1）、おしなべて室温と液体窒素中とで同じ破断強度であった。直線部分から得られた傾きに室温と液体窒素中とで大きな違いはなかった。これに対して、SCC は測定装置の最大荷重である 3 N においても破断しなかった（図 28a2）。SCC は SDM よりも破断に対してより高い強度を有し、応力－変位曲線は粒子個々でのバラつきが大きくなかった。この傾向は液体窒素中でもほぼ同じであり（図 28b2）、SDM よりもより高い破断強度を示した。

第 2 章第 4 節で述べたように、耐摩耗性は高い硬度のみならず、ビーズの構造によっても左右される^{6), 8), 9)}。図 27 に示したように SCC は結晶セルロース繊維からなる造粒物であり内部に空隙を伴うと推定され、衝突や圧縮時に弾性変形して損傷を回避すると推察される。また、前述した Flach らが報告しているように、低ヤング率の素材のビーズは摩耗もしにくいと考えられる⁹⁾。低ヤング率を有するビーズ材料は応力を吸収することができ、構造的に変形してビーズの摩耗を回避できる。

SCC のヤング率は 8 GPa 程度⁴⁷⁾と報告されており、イットリウム安定化ジルコニアの 200 GPa²²⁾に比べて著しく低いヤング率である。SCC が湿式粉碎用のビーズとして必要な耐久性を有していたのは、このような特性が寄与した結果であると考えられる。SCC は破損も摩耗もなく湿式ビーズミル粉碎に耐えられる十分な特性を有していると考えられた。

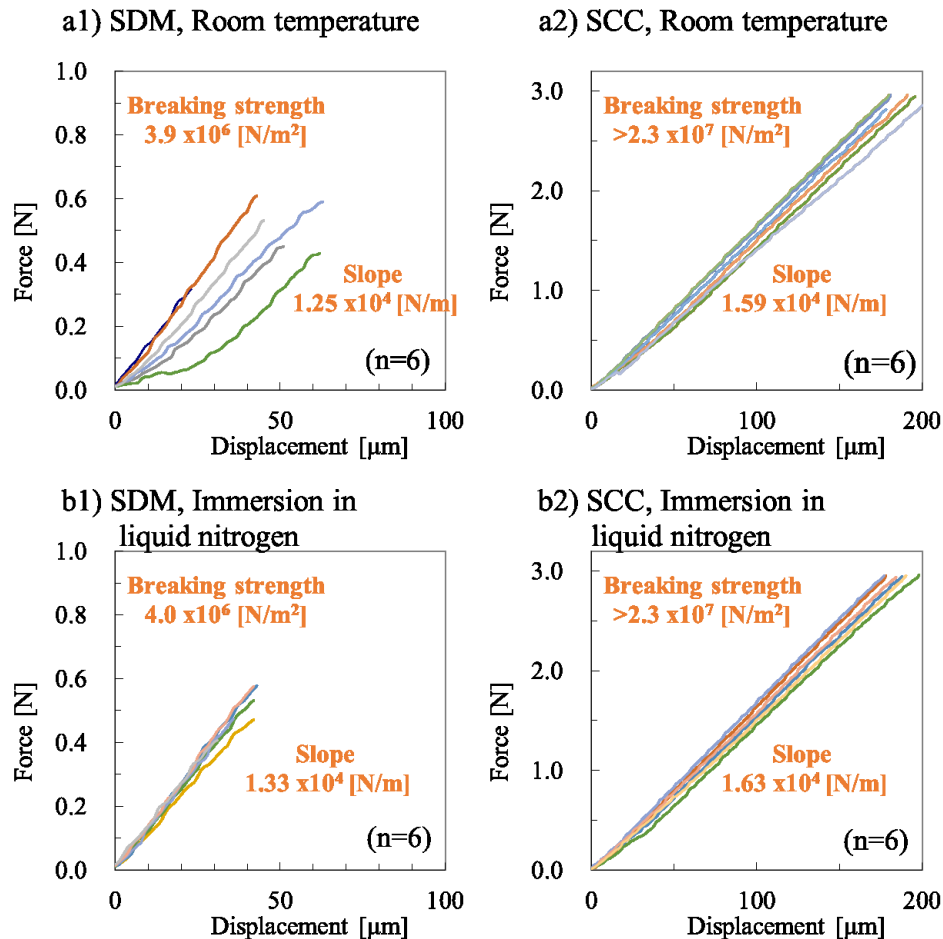


図 28 SDM および SCC ビーズの応力-変位曲線

- a1) SDM ビーズ, 室温保管, a2) SCC ビーズ, 室温保管,
b1) SDM ビーズ, 液体窒素中浸漬品 (取り出し直後に測定),
b2) SCC ビーズ, 液体窒素中浸漬品 (取り出し直後に測定)

第5節 粉碎機序

最適化検討の結果を見ると、添加したフェニトイン量 (10.0 g) に対して、多くのフェニトインは遊離画分として存在し、SCC 複合顆粒に存在する割合は小さかった (図 26a)。粉碎中の外観を顕微鏡写真で観察すると、フェニトインの SCC への付着は部分的であった (図 21c1)。SCC 表面のこういった部分に付着するのかは定かではないが、SDM のような表面全体への均質な付着とは異なった。さらに、顕微鏡写真での観察からは、粉碎された微細な粒子もビーズ表面に検出されていた。

SCC によって得られたビーズ付着物と遊離画分のフェニトインの粒度分布はほぼ同じであった。最適化検討の結果から、遊離画分のフェニトインも、時間をかければより細かくできる点で SDM とは異なっていた。ビーズに付着したフェニトイン粒子は物理ストレスを受けやすい。他方、遊離画分のフェニトインはビーズによるストレスを受けにくいと推察する。粉碎されて生成した粒子が再度付着しなければ、時間をかけてもさらに細かくするのは難しいかもしれない。以上のことから、SCC による粉碎では未粉碎のフェニトイン粒子であっても粉碎工程中にフェニトイン粒子の付着と離脱が頻繁に、そして随時繰り返されていると推察された (図 29)。主に付着しているフェニトイン粒子がビーズから衝突やせん断などのストレスを受けて微細化が進行すると推定する。粉碎された粒子は離脱と付着を繰り返し、さらにストレスを受けて微細化がすすむ。粉碎は粉碎環境と条件に依存した一定粒度まで進行し、一定の下限に到達してしまうとそれ以降は粉碎が進行しなくなると推察される。

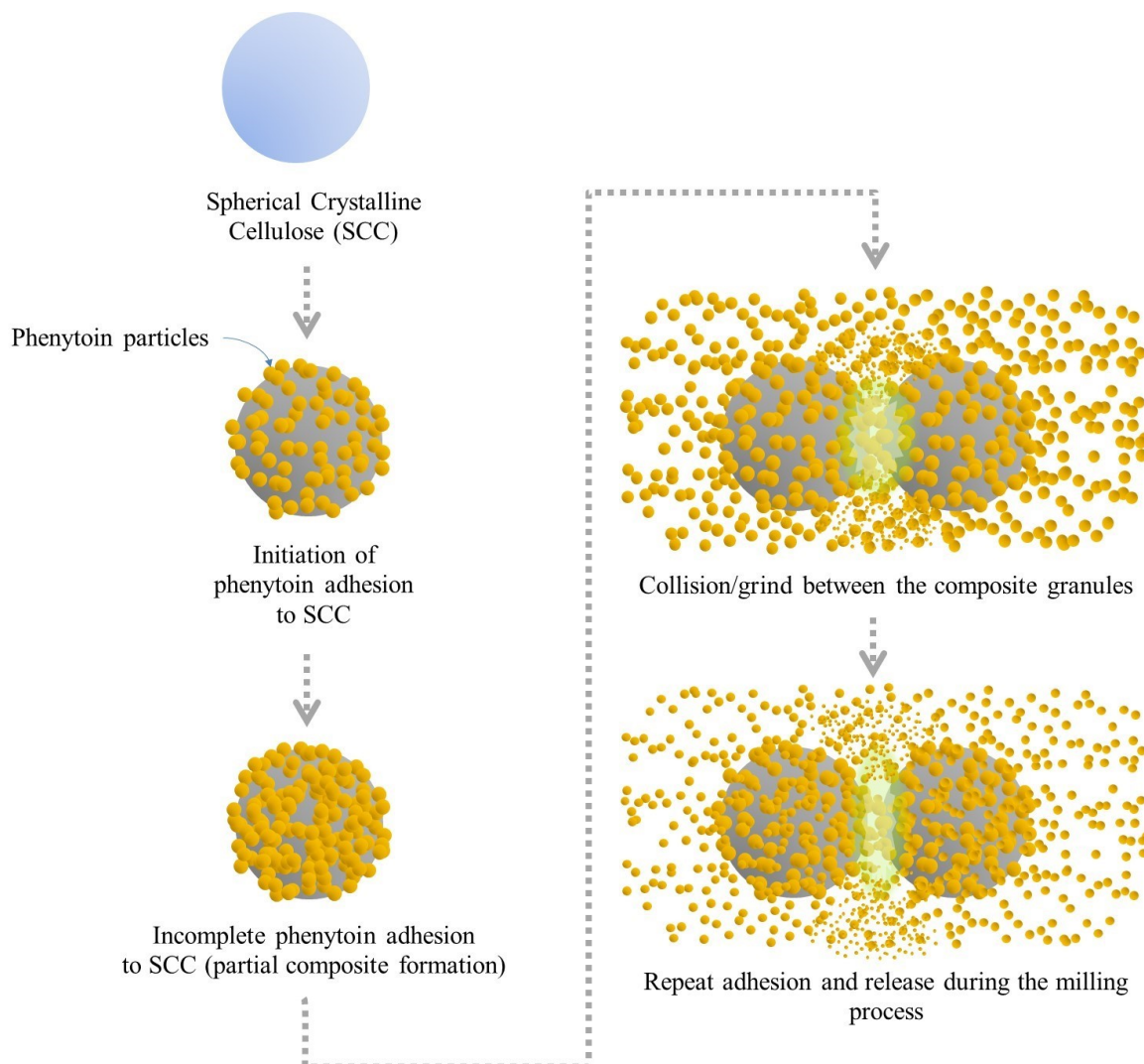


図 29 液体室素中での SCC ビーズによる粉碎機序の模式図

第6節 粉砕能力

SCC ビーズによって得た粉砕品の粒子径 D50 をジルコニアビーズ, SDM ビーズによる粉砕品 D50 と比較した (図 30)。攪拌速度 1600 rpm で 30 分粉砕したジルコニアビーズによる粉砕品は, 0.356 μm であった。これに対し, SDM, SCC のいずれのケースも, 低速条件 (1200 rpm や 1600 rpm) では粉砕がすすみにくく, 30 分の粉砕による D50 はサブミクロンサイズではなかった。なお, 粉砕能力の点では, 図 30 の結果から SCC は SDM ビーズよりもやや高いと思われる。高速攪拌では, SDM および SCC のいずれのケースも 30 分の粉砕でサブミクロンの粒子をもたらしたが, 低速攪拌の場合でも, 60 分ないし 90 分行えば粉砕品はサブミクロンになった。SCC によってジルコニアと同等の粉砕品を得るには数倍の時間を要する。言い換えれば, 時間をかければ同程度の粒子径の粉砕品を得ることができると考えられる。

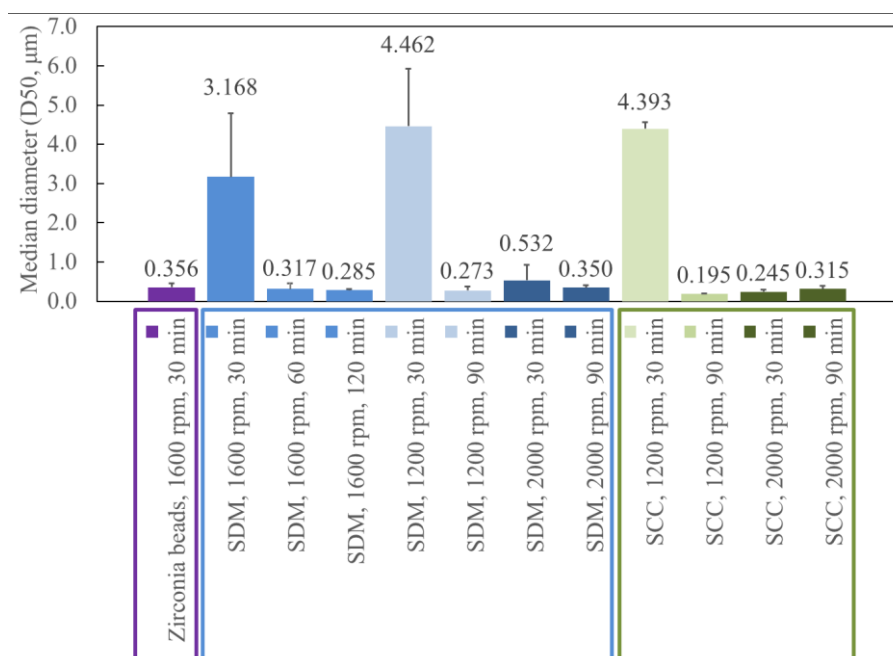


図 30 各種条件 (ビーズ種, 攪拌速度, 粉砕時間) で粉砕したフェニトイン粒子径 (D50), $n=3$, エラーバーは標準偏差を表す

第7節 小括

SCC ビーズによる液体窒素中での粉砕は, 攪拌速度や粉砕時間を検討することでジルコニアビーズと同程度の粉砕能力を発揮できる。粉砕機序として, 薬物粒子は粉砕ビーズへの付着と離脱を繰り返して, 工程中で連続的に微粒子化されるものを推定された。さらに各要因が粒子径に与えた影響についての分散分析の結果から, ビーズ添加量, 攪拌速度, 粉砕時間のいずれの要因も粉砕されたフェニトイン粒子径に有意な影響を与えることを明らかにした。粉砕時間を変更することで, ビーズが損傷することなく, 粉砕物の粒子径を制御できることも判明した。

SCC ビーズは、長時間の粉砕でも損傷せず、湿式粉砕における十分な耐久性があった。攪拌速度を上げ、粉砕時間を延長しても、ビーズの破損はない。

液体窒素と SCC はどちらも不活性であり、不安定な化合物にも適用できる。使用した SCC の成分は結晶セルロースであり経口摂取後の安全性は極めて高い。破損や摩耗はほぼないと思われるが、万が一、少量が混じり込んでも安全性を危惧する必要がない。高価なジルコニアやガラスビーズは回収して洗浄してからしか再利用できないのに対して、SCC も SDM 同様、安価であり使い捨てにできる。SCC による粉砕も SDM と並んでコンタミネーションの問題を回避する有用な粉砕方法になると考えられる。

第4章 総括

第1節 ドライアイスビーズによる超低温粉碎

ビーズの摩耗片が混入する問題を解消する方法として、ドライアイスビーズが考案された。ペレットを崩壊させてビーズが得られるが、検討にてドライアイスペレットが液体窒素への浸漬後すみやかに自然崩壊し、以降、長時間置いても粒子径も形状もほとんど変化しないことが明らかとなった。液体窒素への浸漬で生成したドライアイス粒子は多角形状であり、凹凸のある微細なビーズであった。この自然崩壊は、ドライアイスペレットが液体窒素に浸漬されて体積変化し、歪みが発生して構成する一次粒子に戻る現象であると考えられる。

小、中、大サイズ画分では、小さなサイズ画分のドライアイスビーズで最も細かい粉碎粒子が得られた。多くの報告にあるように小さな画分を用いるとビーズの個数が増えて衝突箇所が多くなったと推察された。またドライアイスビーズのサイズに加えて、粒度分布が狭いほうが広いよりも高い粉碎効率を示した。ただし、攪拌速度を高めて、ビーズの衝突力を高めることも可能であるが、適正範囲を超えないように容器の容量と仕込み量に留意して慎重に攪拌速度を決定する必要がある。一般的に、ビーズによる粉碎の場合、ビーズ量が増えると付着分が増えて粉碎物回収量が低下するが、ドライアイスビーズの場合は完全に気化して除去できるために付着による回収量低下はなく、工業化にとって大きな利点となる。

ドライアイスビーズによる粉碎は、汎用のジルコニアビーズと比較して遅かった。比重および表面の粗さのために、ドライアイスビーズがもたらすエネルギーはジルコニアビーズよりも小さいが、長時間かければ同程度の粉碎物が得られた。検討では、各種粒子径および形状を有する原薬への適用事例を示し、いずれも元の粒子径と形状に関係なく、サブミクロンまたはシングルミクロンサイズまで微粒化でき、広く適用可能であることを示した。さらに、ドライアイスビーズは、粉碎用ビーズに必要な一定の強度と硬度を備えていた。また、液体窒素中の攪拌でもドライアイスビーズの破損はなく、わずかに小さくなるものの長時間、粒子径と形状を維持した。粉碎装置に用いられる素材に比べてドライアイスの硬度が低いことは衝突や摩擦によって装置を浸食しない利点を有する。

第2節 球形糖ビーズによる超低温粉碎

SDM は液体窒素を分散媒とする粉碎でビーズとして機能した。モデル薬物のフェニトインは液体窒素中で SDM ビーズ周辺に集積した。フェニトインを SDM ビーズで粉碎すると、複合顆粒と遊離画分が得られ、遊離画分は粉碎された粒子の凝集物であった。一方、複合顆粒に含まれるフェニトイン粒度分布は二峰性の粒度分布であり、未粉碎の粒子とより小さな粒子群が含まれていた。複合顆粒のフェニトイン粒度分布のうち未粉碎の粒子群の大きさは時間によって変化しなかった。粉碎さ

れていない粒子は離脱しないで付着したままとなり、粉碎された粒子から離脱していくためであると推察した。

SDM ビーズ量が増えると、遊離画分のフェニトイン粒子径は小さくなった。一方で、複合顆粒中のフェニトイン粒子径は変動しなかった。また、攪拌速度が大きくなると、遊離画分のフェニトイン粒子径は大幅に低下した。複合顆粒および遊離画分に含まれるフェニトイン粒子径に対して、粉碎時間は影響しなかった。粉碎によって生成した微粒子は、一部は残るが多くはビーズから離脱し、未粉碎のフェニトイン粒子のみ複合顆粒に付着したままとなる。したがって、複合顆粒に含まれるフェニトイン粒子径は粉碎が進行しても変化しなかったようである。なお、本粉碎技術による到達可能な粒子径は、約 0.3 μm と推定された。

SDM ビーズ量が増えて複合顆粒表面が大きくなると付着量は増えた。一方の遊離画分のフェニトイン収量は増加も減少もしなかった。攪拌速度の増大でも粉碎時間の延長でも得られた遊離画分も複合顆粒中のフェニトイン量も変動しなかった。複合顆粒に付着した粒子は、時間を延長しても、すべてを完全に粉碎して離脱させることはできなかった。系内に存在する遊離画分が衝突やせん断時の障害となるのか、あるいはエネルギーが伝わりにくくなるのかは不明であるが、粉碎品の回収量を改善するためには生成した遊離画分を系内から随時取り出したり、複合顆粒をそのまま用いて次のバッチの粉碎に用いるなど改善を要する。

SDM ビーズ量の変動しても破碎したビーズ割合は変化しなかった。粉碎時間が長くなっても、著しく高速攪拌でない限り SDM ビーズは破碎しなかった。SDM ビーズは装置や条件次第で摩耗する可能性はあるが、確認されたビーズ破損は無視できるほど軽微であり湿式ビーズミル粉碎に用いるビーズとして耐えうることが示された。

SDM ビーズを使用すると、回収された遊離画分のフェニトイン粒子径は、ジルコニアビーズを用いた結果に近かった。SDM は汎用の素材に比べて比重も小さく硬度も高くない。また表面も平滑ではない。粉碎能力を高めるには SDM ビーズ量を適切に設定したうえで攪拌速度の増大で粉碎エネルギーを高める必要がある。SDM ビーズは粉碎時間が長くなっても重大な損傷は生じなかった。耐久性試験でも SDM 表面の凹凸部でわずかに摩耗したが、破損した SDM ビーズの割合は軽微であった。検討の結果から、SDM が破損しない程度の攪拌で、医薬品原薬は十分に粉碎されと考えられ、SDM ビーズは湿式粉碎用ビーズとして必要な耐久性を備えるとみられる。

粒径や形状が異なる原薬の粉碎適用例が示された。機械的強度が高く、大きな粒子径の場合は従来の粉碎技術と同様に粗粉碎を要したが、そうでないものについては、サブミクロンサイズを得ることができた。また粉碎品に結晶形変化は起こっていなかった一方で、結晶性の低下が確認された。低下した結晶性は水分などで再結晶化して粒子径が増大する可能性があるが、分散媒に液体窒素を用いている本粉碎技術は水分を低レベルで制御できる。粉碎がなされる極低温条件は粉碎対象物の結晶形維持にとっても好ましい環境であると考えられる。

第3節 球形セルロースビーズによる超低温粉碎

SCC ビーズによる粉碎も複合顆粒付着と遊離画分が確認され、SDM ビーズと同様、遊離画分のみ SCC ビーズ量の増加につれてフェニトイン粒子径が低下した。また攪拌速度の増大によっても遊離画分のフェニトイン粒子径は低下した。SDM ビーズとは異なり粉碎時間の増大によって遊離画分のフェニトイン粒子径が低下した。遊離画分においても未粉碎のフェニトイン粒子群が認められたり、複合顆粒と遊離画分とで類似したフェニトイン粒度分布を示したりすることも SCC 特有の結果であった。SCC ビーズで粉碎すると、高速攪拌では30分の粉碎で早々にサブミクロンの粒子をもたらした。低速条件では粉碎がすすみにくかったが、時間をかければサブミクロンになり、ジルコニアビーズによる粉碎と同等の粉碎物を得ることができた。

遊離画分中のフェニトイン収量は SCC ビーズ量によって変わらなかった。一方、複合顆粒におけるフェニトイン収量は SCC ビーズ量の変動に伴って変化した。付着できる表面積が変動したためと考えられる。攪拌速度や粉碎時間の変動では、得られる遊離画分の量は変わらなかった。前述したように粉碎時間の延長でより小さな粒子へと変化した、遊離画分として得られる総量に変化がなく、粉碎がすすまない状況にあったと推察された。

フェニトインと SCC ビーズを液体窒素中に浸漬すると、フェニトインは SCC ビーズ周辺に集積していた。粉碎後、複合顆粒と遊離画分が得られたが、SDM ビーズとは異なり、複合顆粒への付着は部分的であった。粉碎の初期には、複合顆粒にも遊離画分にも未粉碎品と推察される一群の粒子が多く含まれていた。時間をかければより細かく粉碎できる点で SDM ビーズとは異なった。粉碎をすすめると、SCC によって得られたビーズ付着物と遊離画分のフェニトインの粒度分布はほぼ同じになった。以上のことから、SCC による粉碎では SDM ビーズほどの付着力に至らず、未粉碎のフェニトイン粒子も工程中に SCC から離脱と再付着が随時頻繁に繰り返されていると推察された。

SCC ビーズは破損の懸念が全くなく、優れた耐久性を示した。耐久性試験でも SCC ビーズは表面の摩耗もなく、破損の兆候を認めなかった。SCC は湿式粉碎用のビーズとして使用するのに必要な耐久性を有すると考えられた。個々の SDM ビーズに応力のバラつきが大きく低応力で破断したのに対して、SCC は破断に対してより高い強度を有した。また粒子個々での応力のバラつきも大きくなかった。内部に空隙を有する SCC は、衝突や圧縮時に弾性変形してストレスの一部を吸収して損傷を回避すると推察された。

第4節 超低温粉碎

ドライアイスの成分である二酸化炭素は大量に摂取しない限り安全な素材であり、ドライアイスビーズは粉碎後に昇華して除去される。用いる分散媒とビーズが完全に除去されれば、残された粉末は純粋な成分となり、他の成分を含ませたくない粉碎においてはとりわけ有用な粉碎法である。ただし、ビーズを事前に調製する必要があったり、粉碎作業まで慎重な取り扱いを要したり、また

工程中に徐々に小さくなる点に留意が必要である。

球形糖は安価な添加剤であり、成分のD-マンニトールは安全な添加剤である。万が一、最終製品に混入しても多くの場合、安全性上の問題はない。用いた球形糖成分であるD-マンニトールは不活性な添加物であり、ほぼすべての原薬と適合性がある。また水系で溶解することは、注射剤や他の液性製剤に適用できる可能性があるなど後述のSCCにはない利点がある。粉砕能力と耐久性は示されたがドライアイスや球形セルロースに比べると強度が乏しい点に留意が必要である。

球形セルロースはD-マンニトール同様に不活性な添加物であり、中性であり原薬と適合性が高い。反応性に乏しく安定性に懸念がある化合物にも適用できる。セルロースは経口吸収されることがなく、食物成分にも含まれ摂取しても安全である。ただし、水に溶解しない添加剤であり一旦血中に入るとその体外に排泄するのは難しい。球形セルロースは安価な添加剤として容易に入手でき、粉砕能力や耐久性はSDM ビーズよりも高く、粉砕時間によって粉砕物の粒子径を制御可能である。SCC ビーズ粒子個々での応力変動ばらつきも小さく、効率的な粉砕が期待できる。摩耗して混入する可能性は高くはないが、万が一混入することも想定し経口製剤や外用製剤に限定して用いるなど安全性に配慮して選択する必要がある。

液体窒素は不活性であり、不安定な化合物にも適用できる。超低温粉砕では、材料は液体窒素に懸濁されて非常に低い温度となる。場合によって、粘弾性のあった材料もガラスのように壊れやすく脆い性質になると推察する。液体窒素の超低温条件下での材料の機械的特性をさらに調査する必要があるが、本技術はサブミクロンサイズの粒子を生成するため、さまざまな種類の原薬の微粒化に有用である。液体窒素中での粉砕は極めて低温条件となる。そのため、粉砕対象の熱による変性を回避することができる。また液体窒素は不活性であり水分に対して不安定な化合物にも適用できる。加えて、温度が低いため揮発性物質にも使用できる。さらに、酸素から遮断されるため酸化されやすい化合物にも適用できる。場合によっては、爆発性物質もより安全に粉砕することもできると期待される。到達させたい粒子径や最終製品によって慎重な検討を要するが、用いるビーズにもいくつかの選択肢が用意された。目標によって複数候補の中からビーズを選定できることは本技術の適用範囲を広げ、本技術が応用されて広く発展する可能性をもたらす。ドライアイスや球形添加剤を用いた液体窒素中での湿式粉砕が、将来医薬品製造において広く、また大きな価値を提供することを期待する。

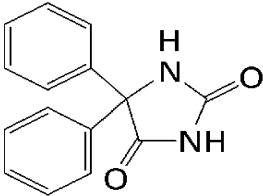
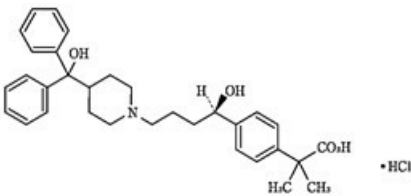
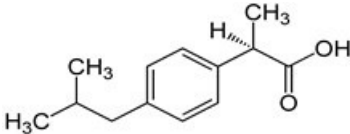
実験の部

第1章の実験

1-1 試料

フェニトインは和光純薬株式会社から購入した。フェキソフェナジン塩酸塩および(R) - (-) - イブプロフェンは、それぞれ株式会社大阪合成化学研究所および BASF ジャパン株式会社から入手した。液体窒素は、岩谷産業ガス株式会社から購入した。ドライアイスペレット (ショットドライ®) は、岩谷産業株式会社から購入した。他のすべての化学物質と溶媒は分析試薬グレードであり、検討を通して脱イオン蒸留水を使用した。用いたモデル薬物の特性を表 12 に示す。

表 12 用いたモデル薬物の特性

薬物名	構造	特性
フェニトイン	 分子量：252.27 融点：269 °C	適応：抗てんかん薬 形状：ブロック状 (小)
フェキソフェナジン 塩酸塩	 分子量：501.656 融点：199.3 °C	適応：抗アレルギー薬 形状：角柱状
(R) - (-) - イブプロ ロフェン	 分子量：206.28 融点：77~78 °C	適応：鎮痛薬 形状：ブロック状 (大)

1-2 粉碎操作

バッチ式ビーズ粉碎機（レディーミル RMB-04, アイメックス株式会社）（図 31）を用いて、粉碎対象物およびビーズを加えて、液体窒素を静かに注いだ後、100 rpm で攪拌させて 1 分間予備冷却した。粉碎は、150 mL のドライアイスビーズを用いて、1600 rpm の攪拌速度にて 2 時間行った。粉碎中、一定量の液体窒素量を維持するために、揮発相当量の液体窒素を 2 分おきに約 50 mL 補充した。攪拌後、粉碎対象物、ビーズを含んだ液体窒素の懸濁液を大気圧室温下で放置し液体窒素とドライアイスを気化させた。得られた乾燥粉末は気密容器に充填し評価まで室温下で保管した。

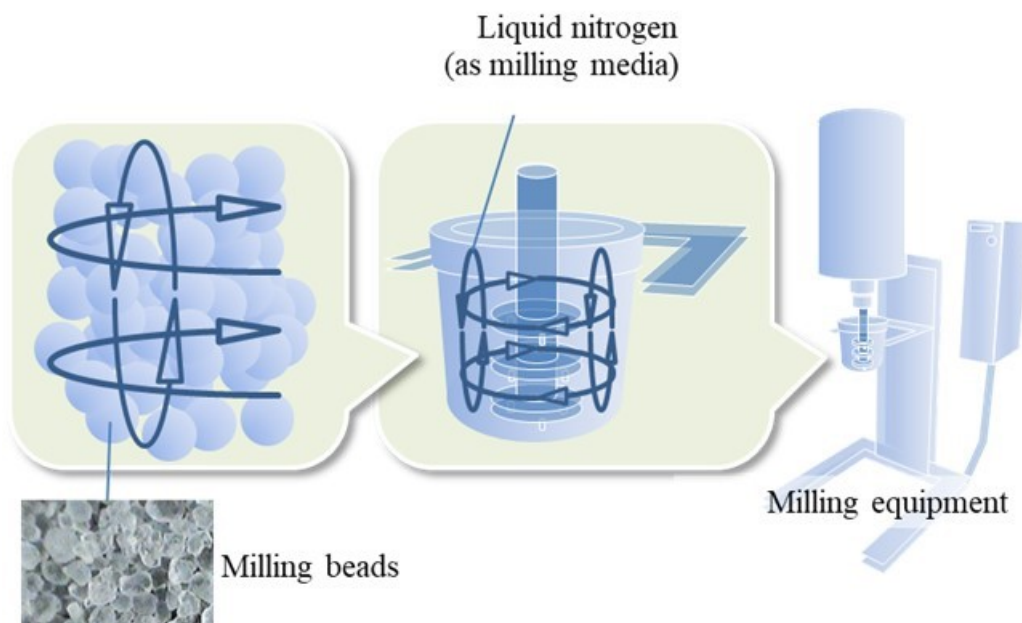


図 31 超低温粉碎装置

1-3 ドライアイスペレットのビーズ崩壊現象の追跡

入手したペレットは断面が約 3 mm の円柱状であった。本ペレットを液体窒素中に種々の時間で浸漬することで、小さな塊であるドライアイスビーズを得た。液体窒素中への浸漬時間によるビーズ形態の変化を検討するため、1, 10, 30 秒および 1, 60, 120 分の各種時間で浸漬を行った。

1-4 ドライアイスビーズの調製

ドライアイスビーズ（ドライアイス粒）は、ドライアイスペレットを液体窒素中に浸漬することで自然崩壊させて得た。特に記載がない場合は、液体窒素中に 10 分以上浸漬して調製したドライアイスを用いた。浸漬後、篩にて分級し、以下の 3 種類の大きさのビーズを調製した。得られたド

ライアイスビーズは気化しないよう粉碎や評価に用いるまで液体窒素中で保管した。

＜分級されたドライアイスビーズサイズ＞

- (1) 小サイズ画分 (180～355 μm) /D50 : 297 μm
- (2) 中サイズ画分 (355～710 μm) /D50 : 469 μm
- (3) 大サイズ画分 (710～1700 μm) /D50 : 1141 μm

1-5 粒子外観／電子顕微鏡観察

粒子の外観を走査型電子顕微鏡 (JSM-6060, 日本電子株式会社) にて観察した。なお, 絶縁性両面テープを貼り付けたサンプル台に試料をのせ, 白金蒸着装置 (JFC-1600 Auto fine coater, 日本電子株式会社) にて, 30 mA で 90 秒処理して, 一定量の白金を蒸着させた後観察した。

1-6 粉碎物粒子径／粒度分布

粉碎品の粒度分布をレーザー回折散乱式粒度分布測定装置 (LSM-30, 株式会社セイシン企業) にて測定した。同じく代表粒子径のメジアン径 D50 および体積平均径における 90%累積粒子サイズ (D90) を算定した。これらに加えて, 1 μm 未満の粒子の質量割合をサブミクロン率と定義し, 粉碎能力の指標とした。

＜乾式測定＞

圧縮空気 (0.4 MPa) で乾式によって粉末を分散させ, 測定した。

＜湿式測定＞

試料粉末約 5.0 mg を精製水 30 mL に分散し, 30 分間超音波処理した。得られた懸濁液 2 mL にさらに精製水 8 mL を加えて測定用セルに投入し測定した。

1-7 粉碎条件の最適化

各種要因による影響を調べるため, ドライアイスビーズの形態, ドライアイスビーズの分画サイズ, ドライアイスビーズ装填量, 攪拌速度, 粉碎時間を変動させて粉碎した。粉碎における変動要因と標準的な条件を表 13 に示す。

表 13 粉砕における変動要因と標準的な条件

粉砕装置	バッチ式ビーズ粉砕機 (レディーミル RMB-04, アイメックス株式会社)
粉砕ベッセル	400 mL 容量
粉砕物仕込み量 (g)	10.0
ドライアイスビーズ ／形態	ペレット ビーズ**
ドライアイスビーズ ／分画サイズ (μm)	小サイズ画分 (180～355 μm) ／D50 : 297 μm 中サイズ画分 (355～710 μm) ／D50 : 469 μm ** 大サイズ画分 (710～1700 μm) ／D50 : 1141 μm
ドライアイスビーズ ／装填量 (mL) *	75 150** 300
攪拌速度 (rpm)	1600** 2760
粉砕時間 (時間)	0.5 1 2** 4 6

*嵩容量

**標準とする粉砕条件

1-8 粉砕能力

粉砕能力を評価するために、対照として、汎用のジルコニアビーズによる粉砕を行った。装置は図 31 記載のものをを用い、フェニトイン (10.0 g) をモデル薬物として使用し、1600 rpm の攪拌速度で、液体窒素中にて嵩体積で約 150 mL 分のジルコニアビーズ (0.6 mm φ) で 0.25 時間粉砕した。

1-9 ビーズとしての耐久性

<粉砕操作>

粉砕工程中のドライアイスビーズの形態変化を肉眼的に観察するため、薬物を粉砕装置に投入しないでドライアイスビーズのみでの空運転（液体窒素中での攪拌）を行った。装置は図 31 記載の機器を用い、1600 rpm の攪拌速度で、液体窒素中にて 2 時間攪拌した。

<ビーズ粒度分布>

ドライアイスペレットおよびドライアイスビーズを CCD カメラ（サイエンススコープ，BS-2，ケニス株式会社）によって常温下で撮影した。ドライアイスビーズは液体窒素から取り出し，速やかに撮影台に乗せて撮影した。CCD カメラで得た画像から画像解析装置（LUZEX-AP，株式会社ニレコ）にて Heywood 径を測定し体積基準粒度分布を算出した（ $n=500$ ）。対照として $0.6\text{ mm}\phi$ ジルコニアビーズの粒度分布も同様に測定した。

<ビーズ粒子形状>

ドライアイスビーズについて，CCD カメラで得た画像から画像解析装置（LUZEX-AP，株式会社ニレコ）にて形状係数を算出した（ $n=500$ ）。対照として $0.6\text{ mm}\phi$ ジルコニアビーズの粒度分布も同様に測定した。丸さの度合として真球度指数 $ML2/A(=\pi/4 \times (\text{最大長})^2/\text{面積})$ を，凹凸の度合として粗さ指数 $PM2/A(=1/(4\pi) \times (\text{周囲長})^2/\text{面積})$ を採用した。形状係数 $ML2/A$ および $PM2/A$ のいずれも真球に近いほど 1 に近づく指標である。ジルコニアビーズの真球度指数と粗さ指数を測定し，各々 1.06 と 1.08 として算定され変化がなかったことから測定結果の妥当性を確認した。

1-10 医薬品原薬への適用

1-4 記載の中サイズ画分のドライアイスビーズを用い，モデル原薬として，フェニトインに加えて，フェキシフェナジン塩酸塩および (R) - (-) -イブプロフェンを，1-2 記載の方法で，表 13 記載の標準条件にて粉碎した。

第2章の実験

2-1 試料

球形糖（SDM，ノンパレル 108[®]， $355\sim 500\text{ }\mu\text{m}$ ，32～42 号篩）は，フロイント産業株式会社から提供された。その他のものは 1-1 記載の試料を用いた。

2-2 粉碎方法

SDM ビーズを用いた以外は，1-2 に記した手順と同じ方法で粉碎した（図 31）。粉碎は SDM ビーズ 110.0 g を用いて，フェニトイン 10.0 g を 1600 rpm の攪拌速度にて各種時間（0.5，1，2 時間）で行った。粉碎中，1-2 に記した手順と同様に液体窒素を補充した。攪拌完了後，目開き $300\text{ }\mu\text{m}$ の篩でビーズを含む複合粒子画分と遊離画分とに分級した。両方の画分（篩で保持された複合粒子

画分および篩を通過した遊離画分)を室温で2~3時間放置して、液体窒素を完全に揮発させて除去した。各画分の質量を測り、質量割合を算定した。

2-3 粒子外観／電子顕微鏡観察

粒子の外観を走査型電子顕微鏡(VE-7800, 株式会社キーエンス)にて観察した。このとき、サンプルをカーボン標本ホルダーに置き、白金蒸着なしで観察した。

2-4 粉碎物粒子径／粒度分布

粉碎された粒子の粒度分布は、Mie理論によるレーザー回折散乱式粒度分布測定装置(Mastersizer 2000, スペクトリス株式会社)を使用して測定された。粉碎された粉体や粒子などの試料を約100 mgの原薬を含むように秤量し、攪拌により0.1w/v%ドデシル硫酸ナトリウムを含む0.5%ポリビニルピロリドン溶液2 mLに分散させた。得られた懸濁液を、粒子径測定の前に超音波浴槽を使用して2分間超音波処理した。フェニトイン粒子のみを含む懸濁液を作るために、可溶性成分の球形糖を完全に溶解させた。また球形セルロースは沈降させて上清を用いた。メジアン径(D50)および体積平均径における90%累積粒子サイズ(D90)を算定した。

2-5 薬物の定量

付着した遊離画分の薬物含有量は、逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC, タイプ1100, アジレント・テクノロジー株式会社)を用いて定量した。ODSカラム(150 mm-4.6 mm, ゲル径:5 μ m, YMC-pack Pro C18 / AS-302, ワイエムシー)を用いて分離し、紫外258 nmの波長によって検出した。そのほか逆相高速液体クロマトグラフィーについては以下の条件にて分析を行った。定量は2度繰り返し、得られた値の平均値を用いた。

＜逆相高速液体クロマトグラフィー分析条件＞

移動相組成: 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH3.0) / メタノール (9:11)

流速: 1.0 mL / 分

試料注入量: 20 μ L

カラム温度: 45 $^{\circ}$ C

2-6 粉末X線回折

結晶形については、粉末X線回折装置(スマートラボ, 株式会社リガク)を使用して測定した。

対陰極に CuK α を用い、管電圧および電流をそれぞれ 40 kV および 30 mA で測定した。走査範囲 (2θ) は $5.0^\circ \sim 40.0^\circ$ とし、走査速度 $5^\circ/\text{分}$ で走査した (走査ステップ: 0.02°)。

2-7 示差走査熱分析

解析用ソフトウェア (TA-60WS, 株式会社島津製作所) を装備した示差走査熱量測定 (DSC60, 株式会社島津製作所) を使用して、DSC プロファイルを取得した。各試料 (5~10 mg) をアルミニウムパンで密閉し、 $10.0^\circ\text{C}/\text{分}$ のスキャン速度で、 $30\sim 350^\circ\text{C}$ の温度範囲で、窒素雰囲気下 ($20\text{ mL}/\text{分}$) で加熱した。DSC プロファイルは、空のパンを使用してベースラインを補正した後に評価した。

2-8 ラマン分光スペクトル

解析用ソフトウェア (WiRE 4.3, レニショー株式会社) を備えたラマン顕微鏡 (inVia, レニショー株式会社) を使用してラマンスペクトルを取得した。ラマン分光法には、785 nm の励起波長を使用した。フェニトインには特有のスペクトルがあり、二次元マッピング画像はフェニトイン特有の波長を発する部分を着色して作成した。

2-9 粉砕条件の最適化と統計処理

多変量解析・実験計画ソフトウェア (The Unscrambler® X, 株式会社カモソフトウェアジャパン) を用いて、粉砕プロセスを最適化するための中心複合計画 (CCD) による実験をデザインした。中心複合計画での実験では、変動要因として、重要なプロセスパラメーターであると想定されたビーズ量、攪拌速度、および粉砕時間を選択した。実験は中心点で 3 回繰り返す、要因ごとに 3 つのレベル (-1, 0, +1) を適用し、品質に対する各種粉砕パラメーターの影響を調査した。実験計画法 (DOE) に使用した計画の概要を表 3 に示した。

得られた結果に対して分散分析による判定を上述の多変量解析・実験計画ソフトウェアにて行い、各要因の影響が結果に対して有意であったか否かを p 値によって定量化した。p 値が 0.05 未満となった場合に、各要因による影響を「有意である」とした。

2-10 粉砕能力

粉砕能力を評価するために、対照として、汎用のジルコニアビーズによる粉砕を行った。装置は図 31 記載のものを用い、フェニトインをモデル薬物として使用し、1600 rpm の攪拌速度で、液体窒素中にてジルコニアビーズ (ビーズサイズ: $0.6\text{ mm}\phi$) で 0.5 時間粉砕した。

2-1 1 SDM ビーズの耐久性

ビーズ (135 g) を液体窒素に分散させた後、1600 rpm の速度で 2 時間粉碎した。攪拌完了後、目開き 300 μm の篩でビーズを含む複合粒子画分と遊離画分とに分級した。両方の画分 (篩で保持された複合粒子画分および篩を通過した遊離画分) を室温で 2~3 時間放置して、液体窒素を完全に揮発させて除去した。各画分の質量を測り、質量割合を算定した。また 1-2 に記載された方法によって外観を観察した。

さらに遊離画分のフェニトイン含有量を、2-5 に記した逆相高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC) にて定量した。遊離した画分の収量とこれに含まれるフェニトイン含量から、破損して混入したビーズ量を推定した。フェニトインを除く残留成分は、ビーズの破損から生じ、遊離画分に混入したビーズ成分と見なした。

2-1 2 医薬品原薬への適用

ビーズとして SDM を用いたほか、モデル原薬としてフェニトインに加えてフェキソフェナジン塩酸塩および (R) - (-) -イブプロフェンを、2-2 記載の方法で、表 13 記載の標準条件にて粉碎した。

第 3 章の実験

3-1 試料

球形セルロース (SCC, セルフィア CP305/粒子径 300-500 μm) は、旭化成工業株式会社から提供された。その他のものは 1-1 記載の試料を用いた。

3-1 粉碎方法

SCC ビーズを用いた以外は、1-2 に記した手順と同じ方法で粉碎した (図 31)。以降、2-2 に記載と同じ操作を行った。

3-2 粒子外観/電子顕微鏡観察

2-3 記載の方法で評価した。

3-3 顆粒強度

ビーズの粒子 1 つに、粒子硬度測定装置 (GRANO, 岡田精工株式会社) を用いて、荷重を加え、粒子を破断させた。破断時の荷重から、以下の (4) 式によって圧壊強度を算出した。測定は、室温保管の状態および液体窒素から取り出してすぐの 2 条件にて行った (n=10)。

$$\text{顆粒強度} = \text{破断時の荷重} / [\pi \times (\text{粒子半径})^2] \quad (4)$$

3-4 粉碎物粒子径／粒度分布

2-4 記載の方法で評価した。

3-5 薬物の定量

2-5 記載の方法で評価した。

3-6 粉碎条件の最適化と統計処理

2-9 記載の方法で評価した。実験計画法 (DOE) に使用された計画の概要を表 8 に示した。

3-7 SCC ビーズの耐久性

2-1 1 記載の方法で評価した。

引用文献

- 1) Mohana K., Srivalli R., Mishra B. : Drug nanocrystals : A way toward scale-up
Saudi Pharm. J., **24**, 386–404 (2016)
- 2) Karashima M., Kimoto K., Yamamoto K., Kojima T., Ikeda Y. : A novel solubilization technique for poorly soluble drugs through the integration of nanocrystal and cocrystal technologies
Eur. J. Pharm. Biopharm., **107**, 142–150 (2016)
- 3) Junghanns J.-U. A. H., Müller R. H. : Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications
Int. J. Nanomedicine, **3**, 295–309 (2008)
- 4) Jinno J. I., Kamada N., Miyake M., Yamada K., Mukai T., Odomi M., Toguchi H., Liversidge G. G., Higaki K., Kimura T. : Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs
J. Control. Release, **111**, 56–64 (2006)
- 5) Möschwitzer J. P. : Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development process
Int. J. Pharm., **453**, 142–156 (2013)
- 6) Howorth C. J., Lee W. E., Rainforth W. M. : Contamination rates from Ce- and Y-TZP ball milling media
Br. Ceram. Trans. J., **90**, 18–21 (1991)
- 7) Hennart S. L. A., Domingues M. C., Wildeboer W. J., van Hee P., Meesters G. M. H. : Study of the process of stirred ball milling of poorly water soluble organic products using factorial design
Powder Technol., **198**, 56–60 (2010)
- 8) Becker M., Schwedes J. : Comminution of ceramics in stirred media mills and wear of grinding beads
Powder Technol., **105**, 374–381 (1999)
- 9) Flach F., Konnerth C., Peppersack C., Schmidt J., Damm C., Breitung-Faes S., Peukert W., Kwade A. : Impact of formulation and operating parameters on particle size and grinding media wear in wet media milling of organic compounds — A case study for pyrene
Adv. Powder Technol., **27**, 2507–2519 (2016)
- 10) Juhnke M., Martin D., John E. : Generation of wear during the production of drug nanosuspensions by wet media milling
Eur. J. Pharm. Biopharm., **81**, 214–222 (2012)
- 11) Li M., Yaragudi N., Afolabi A., Dave R., Bilgili E. : Sub-100 nm drug particle suspensions prepared via wet milling with low bead contamination through novel process intensification
Chem. Eng. Sci., **130**, 207–220 (2015)

- 12) Ghosh S., Sharma A., Talukder G.:Zirconium
Biol. Trace Elem. Res., **35**, 247–271 (1992)
- 13) U.S. Food and Drug Administration : Q3D elemental impurities
FDA Guidance for Industry (2015)
- 14) Liversidge G. G., Cundy K. C., Bishop J. F., Czekai D. A. : Surface modified drug nanoparticles
United States Patent, US005145684A (1992)
- 15) Malamataris M., Taylor K. M. G., Malamataris S., Douroumis D., Kachrimanis K. :
Pharmaceutical nanocrystals: production by wet milling and applications
Drug Discov. Today, **23**, 534–547 (2018)
- 16) Müller R. H., Keck C. M.:Twenty years of drug nanocrystals : Where are we, and where do we go?
Eur. J. Pharm. Biopharm., **80**, 1–3 (2012)
- 17) Cooper E. R.:Nanoparticles : A personal experience for formulating poorly water soluble drugs
J. Control. Release, **141**, 300–302 (2010)
- 18) Sugimoto S., Niwa T., Nakanishi Y., Danjo K. : Development of a novel ultra cryo-milling technique for a poorly water-soluble drug using dry ice beads and liquid nitrogen
Int. J. Pharm., **426**, 162–169 (2012)
- 19) Cerdeira A. M., Gander B., Mazzotti M. : Role of milling parameters and particle stabilization on nanogrinding of drug substances of similar mechanical properties
Chem. Eng. Technol., **34**, 1427–1438 (2011)
- 20) Takatsuka T., Endo T., Jianguo Y., Yuminoki K., Hashimoto N. : Nanosizing of poorly water soluble compounds using rotation/revolution mixer
Chem. Pharm. Bull., **57**, 1061–1067 (2009)
- 21) Tanaka T. : Determining the optimum diameter of grinding media used for ultrafine grinding mechanisms
Adv. Powder Technol., **6**, 125–137 (1995)
- 22) Afolabi A., Akinlabi O., Bilgili E. : Impact of process parameters on the breakage kinetics of poorly water-soluble drugs during wet stirred media milling: A microhydrodynamic view
Eur. J. Pharm. Sci., **51**, 75–86 (2014)
- 23) Patel D. J., Patel J. K., Pandya V. M. : Improvement in the dissolution of poorly water soluble drug using media milling technique
Thai J. Pharm. Sci., **34**, 155–164 (2010)
- 24) Bitterlich A., Laabs C., Busmann E., Grandeury A., Juhnke M., Bunjes H., Kwade A. : Challenges in nanogrinding of active pharmaceutical ingredients
Chem. Eng. Technol., **37**, 840–846 (2014)
- 25) Drory M. D., Ager J. W., Suski T., Grzegory I., Porowski S. : Hardness and fracture

toughness of bulk single crystal gallium nitride

Appl. Phys. Lett., **69**, 4044–4046 (1996)

26) Cao X., Morganti M., Hancock B. C., Masterson V. M. : Correlating particle hardness with powder compaction performance

J. Pharm. Sci., **99**, 4307–4316 (2010)

27) Masterson V. M., Cao X. : Evaluating particle hardness of pharmaceutical solids using AFM nanoindentation

Int. J. Pharm., **362**, 163–171 (2008)

28) Taylor L. J., Papadopoulos D. G., Dunn P. J., Bentham A. C., Mitchell J. C., Snowden M. J. : Mechanical characterisation of powders using nanoindentation

Powder Technol., **143-144**, 179–185 (2004)

29) Romeis S., Schmidt J., Peukert W. : Mechanochemical aspects in wet stirred media milling

Int. J. Miner. Process., **156**, 24–31 (2016)

30) Stražišar J., Runovc F. : Kinetics of comminution in micro- and sub-micrometer ranges

Int. J. Miner. Process., **44-45**, 673–682 (1996)

31) Strobel A., Romeis S., Wittpahl S., Herre P., Schmidt J., Peukert W. : Characterization of stressing conditions in mills – A comprehensive research strategy based on well-characterized model particles

Powder Technol., **305**, 652–661 (2017)

32) Ahuja B. K., Jena S. K., Paidi S. K., Bagri S., Suresh S. : Formulation, optimization and in vitro–in vivo evaluation of febuxostat nanosuspension

Int. J. Pharm., **478**, 540–552 (2015)

33) Singare D. S., Marella S., Gowthamrajan K., Kulkarni G. T., Vooturi R., Rao P. S. : Optimization of formulation and process variable of nanosuspension: An industrial perspective

Int. J. Pharm., **402**, 213–220 (2010)

34) Medarević D., Djuriš J., Ibrić S., Mitrić M., Kachrimanis K. : Optimization of formulation and process parameters for the production of carvedilol nanosuspension by wet media milling

Int. J. Pharm., **540**, 150–161 (2018)

35) Singh S. K., Srinivasan K. K., Gowthamarajan K., Singare D. S., Prakash D., Gaikwad N. B. : Investigation of preparation parameters of nanosuspension by top-down media milling to improve the dissolution of poorly water-soluble glyburide

Eur. J. Pharm. Biopharm., **78**, 441–446 (2011)

36) Kwade A. : A stressing model for the description and optimization of grinding processes

Chem. Eng. Technol., **26**, 199–205 (2003)

37) Li M., Alvarez P., Bilgili E. : A microhydrodynamic rationale for selection of bead size in preparation of drug nanosuspensions via wet stirred media milling

Int. J. Pharm., **524**, 178–192 (2017)

- 38) Breitung-Faes S., Kwade A. : Use of an enhanced stress model for the optimization of wet stirred media milling processes
Chem. Eng. Technol., **37**, 819–826 (2014)
- 39) Beinert S., Fragnière G., Schilde C., Kwade A. : Multiscale simulation of fine grinding and dispersing processes : Stressing probability, stressing energy and resultant breakage rate
Adv. Powder Technol., **29**, 573–583 (2018)
- 40) Eskin D., Zhupanska O., Hamey R., Moudgil B., Scarlett B. : Microhydrodynamics of stirred media milling
Powder Technol., **156**, 95–102 (2005)
- 41) Bitterlich A., Laabs C., Krautstrunk I., Dengler M., Juhnke M., Grandeury A., Bunjes H., Kwade A. : Process parameter dependent growth phenomena of naproxen nanosuspension manufactured by wet media milling
Eur. J. Pharm. Biopharm., **92**, 171–179 (2015)
- 42) Sharma P., Denny W. A., Garg S. : Effect of wet milling process on the solid state of indomethacin and simvastatin
Int. J. Pharm., **380**, 40–48 (2009)
- 43) Peltonen L., Hirvonen J. : Drug nanocrystals — Versatile option for formulation of poorly soluble materials
Int. J. Pharm., **537**, 73–83 (2018)
- 44) Steiner D., Finke J. H., Breitung-Faes S., Kwade A. : Breakage, temperature dependency and contamination of Lactose during ball milling in ethanol
Adv. Powder Technol., **27**, 1700–1709 (2016)
- 45) Uemoto Y., Kondo K., Niwa T. : Cryo-milling using a spherical sugar: Contamination-free media milling technology
Eur. J. Pharm. Sci., **136**, 104934 (2019)
- 46) Knieke C., Sommer M., Peukert W. : Identifying the apparent and true grinding limit
Powder Technol., **195**, 25–30 (2009)
- 47) Kwan C. C., Mio H., Qi Chen Y., Long Ding Y., Saito F., Papadopoulos D. G., Craig Benthall A., Ghadiri M. : Analysis of the milling rate of pharmaceutical powders using the Distinct Element Method (DEM)
Chem. Eng. Sci., **60**, 1441–1448 (2005)

謝 辞

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました名城大学大学院薬学研究科 丹羽敏幸教授に深甚なる感謝の意を表します。

本論文の作成にあたり、御指導と御助言を賜りました名城大学大学院薬学研究科 岡本浩一教授ならびに灘井雅行教授をはじめ名城大学大学院薬学研究科の先生方に深謝致します。

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました名城大学大学院薬学研究科 近藤啓太助教に深く感謝いたします。

本研究に際し、ご理解をいただきましたエーザイ株式会社製剤研究部部長 木村進様に厚くお礼を申し上げます。

本研究に際し、ご協力いただきました戸田翔悟氏、足立鮎美氏に謝意を表します。

本研究に使用したドライアイスを提供してくださった森六ケミカルズ 中西康雄様に感謝いたします。

最後に、本研究を行うにあたり、理解いただいた家族に心から感謝します。