

令和 3 年度 学 位 論 文

論 文 題 目

〈邦 文〉

湿式粉碎法及び滴下凍結乾燥法による溶出性
に優れたシクロスポリン含有経口固形製剤の
開発

〈欧 文〉

Development of cyclosporine oral solid dosage formulations
with excellent dissolution performance using wet milling and
drop freeze-drying techniques

名城大学大学院 薬学研究科 薬学専攻 博士課程

氏 名

小林 正人

目次

序論.....	4
第 1 章 湿式粉碎法と滴下凍結乾燥法によるマイクロスポンジの調製.....	7
第 1 節 緒言	7
第 2 節 ナノ懸濁液を調製するための Cyc 粒子の湿式粉碎	7
第 3 節 滴下凍結乾燥法によるマイクロスポンジの調製.....	9
第 4 節 マイクロスポンジ中の Cyc 含有率の影響.....	13
第 5 節 Cyc 粒子サイズの影響	16
第 6 節 SLS 配合量の影響	22
第 7 節 マイクロスポンジからの薬物放出メカニズム	25
第 8 節 小括	25
第 2 章 Cyc 顆粒の設計	27
第 1 節 緒言	27
第 2 節 含量の異なる Cyc 顆粒剤の調製.....	27
第 3 節 Cyc 顆粒の物理化学的特性評価.....	27
第 4 節 Cyc 顆粒の薬剤学的評価.....	30
第 5 節 小括	31
第 3 章 Cyc 錠の設計.....	33
第 1 節 緒言	33
第 2 節 打錠用顆粒の調製と粒子特性	33
第 3 節 打錠用顆粒の錠剤化.....	36
第 4 節 Cyc 錠の薬剤学的特性	37
第 5 節 Cyc 錠中の MNT 結晶性	41
第 6 節 顆粒剤及び錠剤からの薬物溶出メカニズム	42
第 7 節 小括	43
第 4 章 総括.....	45
1. 試料.....	47
2. 製剤の調製方法.....	47
2.1 湿式粉碎法による Cyc ナノ懸濁液の調製.....	47
2.2 滴下凍結乾燥 (DFD) 法によるマイクロスポンジ及び Cyc 顆粒の調製.....	47
2.3 Cyc 錠の調製 (第 3 章)	48
3. 評価方法.....	48
3.1 走査電子顕微鏡による表面及び断面の観察	48
3.2 粒度分布の測定	48
3.3 粒子密度の測定 (第 3 章)	48
3.4 流動性及び充填性の測定 (第 3 章)	48
3.5 比表面積の測定	49
3.6 厚み及び硬度の測定 (第 3 章)	49

3.7 崩壊時間の測定（第3章）	49
3.8 粉末 X 線回折装置による結晶性の測定（XRPD）	49
3.9 製剤からの薬物粒子の分散性評価	49
3.10 製剤中の薬物含有量の定量	50
3.11 薬物放出性の評価	50
引用文献	51
謝辞	57

本論文は次の論文を総括したものである。

1) Masato Kobayashi, Keita Kondo, Chihiro Nakashima, Yudai Kida, and Toshiyuki Niwa, Design of self-dispersible microsphere containing cyclosporine through wet milling and drop freeze-drying processes to improve dissolution behavior. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **57**, 101577 (2020).

2) 小林正人, 近藤啓太, 中田有紀, 船越映美, 丹羽敏幸, 湿式粉碎及び滴下凍結乾燥法による溶解性改善型シクロスポリン含有顆粒剤及び錠剤の設計. *薬剤学*, **81(2)**, 182-199 (2021).

序論

シクロスポリン (Cyc) は、臓器移植における拒絶反応の抑制や、乾癬、アトピー性皮膚炎の治療に用いられる免疫抑制剤である¹⁾。日本では Cyc の経口投与製剤として液剤、軟カプセル剤及び細粒剤が市販されているが^{2,4)}、経口投与製剤として汎用される顆粒剤、錠剤としての製品はない。市場に複数の剤形を提供することは、患者に多くの選択肢を与え多様化するニーズに応えることができ、服薬アドヒアランスの向上につながる。特に錠剤は患者が服用しやすく、分包などの調剤がし易いことから医療現場からの要求は高く、医薬品市場にはない汎用剤形を開発することは、Cyc による薬物治療の機会を向上するに違いない。

しかしながら、先発薬・後発薬を見渡しても Cyc には汎用な経口固形製剤が提供されていない実情を勘案すれば、こうした剤形の開発の難易度が高いことを物語っている。これは Cyc が超難水溶性の薬物であることに起因しており、市販製剤はいずれも、特別な溶解性改善技術を利用して製剤化されている⁵⁾。すなわち、Cyc の溶解性、ひいては経口吸収性を効果的に向上させる製剤化技術を構築することが、Cyc の経口投与製剤を開発する上での鍵となる。また、難水溶性のため開発途中で脱落する候補化合物が約 3 分の 1 にも及ぶとの報告があり⁶⁾、開発中の有力な化合物を製剤化技術にて救済することは、製薬産業の更なる発展に貢献できると考える。世界で最も広く知られる Cyc の溶解性改善型製剤としてノバルティスファーマ社が開発したネオオーラル®カプセル (軟カプセル剤) がある。本剤は親油性溶媒、親水性溶媒および界面活性剤から構成されており、水中で 100 nm 以下の微細なミセルを形成することで消化管での吸収を向上させる自己乳化型マイクロエマルジョン技術 (SMEDDS: Self-microemulsification Drug Delivery System) が施されている⁷⁾。Cyc の溶解性向上に関する研究論文は数多くあるものの、ネオオーラル®に代表される液状製剤以外の剤形としては、経肺投与製剤を志向した報告が主であり⁸⁻¹⁴⁾、顆粒剤、錠剤などの経口固形製剤化に関する報告は殆ど見られない。

難水溶性薬物の溶解性の改善を図る代表的な製剤手法として、噴霧乾燥法と粉碎法が挙げられる。噴霧乾燥法は、薬物溶液または懸濁液を瞬時に乾燥し粉末化する簡便な手法であり、水溶性高分子といった担体が溶解した薬液を噴霧することで、薬物が非晶質化した固体分散体粒子¹⁵⁾や結晶性薬物との複合粒子¹⁶⁾が得られ、親水化や溶解度の向上に資する。しかし、難溶性薬物の溶剤として有機溶媒が使用されるため、作業への暴露や製剤内の残留溶媒が及ぼす患者の健康面や、揮発溶媒の回収設備に関わる製造コストの観点から課題がある。Takeuchi 等はアンモニア水を有機溶媒の代用とした噴霧乾燥法¹⁷⁾を提示しているが、分子がイオン化しない中性薬物には適用できない。

一方、粉碎法は、薬物粒子を微細化し表面積を増大化することで溶解速度を向上させるというアプローチである。Jia 等はジルコニアビーズを用いた乾式粉碎法によってプロブコールを約 20 μm まで粉碎できることを報告している¹⁸⁾。また、Zellnitz 等は乾式粉碎法の中で最も微粉碎が可能とされるジェットミル粉碎により、ブデソニドを 1.75 μm まで微細化できると報告している¹⁹⁾。これら乾式粉碎法は市販製剤にも汎用されているものの粉碎粒子径には限界があり、一般にマイクロメートルサイズまでしか微細化されない。水系溶媒内で粉碎する湿式粉碎法については、Afolawemi 等がジルコニアビーズを用いた媒体粉碎法にてグリセオフルビンを 200 nm 未満まで微細化した報告²⁰⁾をはじめ、薬物粒子をサブミクロンサイズまで粉碎可能と報告されている^{21,22)}。しかしながら、湿式粉碎法を固形製剤の製造工程として採用する場合、粉碎後の分散媒の除去、即ち乾燥工程が必要となる。Lu 等はジルコニアビーズを用いた湿式粉碎によりサブミクロンサイズ (0.755 μm) まで

微細化されたアジルサルタンを含有した懸濁液を噴霧乾燥することで、粒子径 $5\ \mu\text{m}$ 程度の粉末を得て、錠剤化した²³⁾。また Bhakay 等は、湿式粉碎法によりナノサイズ ($0.16\ \mu\text{m}$) まで超微細化されたグリセオフルビンの懸濁液を流動層造粒機によって乳糖に噴霧造粒し、粒子径 $128.0\ \mu\text{m}$ の顆粒が得られることを報告している²⁴⁾。著者の所属する研究室では、湿式ビーズ粉碎にて得た薬物ナノ懸濁液を液体窒素中に噴霧し、得られた氷粒を凍結乾燥して粉末化する噴霧凍結乾燥 (Spray freeze-drying: SFD) 法を開発した。本法にて得られた粉末は、水相へ投入した際に薬物ナノ懸濁液を再構築することを明らかにし、SFD 法が難溶性薬物の溶解性を大幅に改善する粒子設計技術となることを報告してきた^{25,26)}。SFD 法による生成物は乾燥粉末であるため、錠剤や顆粒剤などの固形製剤の製造には適性を有するものの、液滴の噴霧を通じて得られた粒子の大きさは $5\sim 20\ \mu\text{m}$ と微細なため、打錠やカプセル充填といったその後の製品化工程において、ハンドリング性 (流動性や充填性) に劣るという課題があった。これを解決するため、薬液を噴霧する代わりにノズルを通して液体窒素中に自由落下し、凍結顆粒を凍結乾燥する滴下凍結乾燥 (Drop freeze-drying: DFD) 法へと発展させた²⁷⁾。凍結乾燥後に得られる粒子は、液滴径を反映した $200\sim 500\ \mu\text{m}$ ほどの顆粒状であり、固形製剤化工程における粉体操作に適した粉末が得られることを示した。

そこで、本研究では有効成分として Cyc を採用し、湿式粉碎法と滴下凍結乾燥法を組み合わせ、両工程を通して薬物粒子の微細化と粉碎粒子の造粒 (顆粒化) を行い、速溶解性を保持しつつ、粉体としての良好なハンドリング性をも兼ね備えた Cyc 粒子を設計することを企図した。すなわち、サブミクロンサイズの Cyc 粒子 (1 次粒子) の設計、並びに Cyc ナノ粒子が埋め込まれた親水性造粒粒子 (2 次粒子) の同時設計を目指した。更に、優れた溶出挙動 (薬剤特性) と良好な取扱い性 (粉体物性) を併せ持つ顆粒剤と錠剤の開発を到達目標とした。本法 (二工程) にて得られる粒子は多孔質な球形粒子を呈しており、その特徴的構造からマイクロスポンジと命名した。

前半の研究では、湿式粉碎・滴下凍結乾燥の各工程における調製手順や調製条件を最適化し、収率よくマイクロスポンジを得るための工程設計に取り組んだ。また、配合する添加剤の成分や配合量を種々変更し、水相中での急速なナノ粒子への分散性、かつ Cyc の溶解性の向上を図ったマイクロスポンジの処方設計を試みた。具体的には、1) 滴下するナノ懸濁液中の固形分濃度、2) 溶解改善効果をもたらす界面活性剤の配合量について検討した。得られたマイクロスポンジの物理化学的特性 (粉体物性、結晶特性、構造特性) を明らかにし、顆粒剤や錠剤の開発へ向けたマイクロスポンジの特徴づけを行った。特に、消化管内を模擬した試験液中での Cyc 粒子の分散性と薬物溶出性を詳細に調べた。更に、マイクロスポンジからの薬物溶出改善機構を明らかにするため、Cyc 粒子を湿式粉碎することなく粉末のままマイクロスポンジに配合した対照粒子を調製し、薬物粒子の分散・溶出挙動を比較評価した。

後半の研究では、Cyc 顆粒剤を開発するにあたり、口腔内崩壊錠用賦形剤として汎用されるマンニトール (Mannitol: MNT) を処方に配合し、種々の Cyc 含量並びに粒子密度を有するマイクロスポンジの設計を試みた。加えて、Cyc 錠及びそれを製するための打錠用顆粒の設計についても検討した。当初は、第 1 章で得たマイクロスポンジに賦形剤を物理的混合し、混合末としての打錠を検討したものの、マイクロスポンジがかさ高く、混合時の含量均一性の不良や臼へ充填しきれないといった困難に遭遇した。マイクロスポンジを打錠用賦形剤とともに造粒し、打錠に適した顆粒を調製するアプローチも考えられたが、湿式造粒法²⁸⁻³⁰⁾では水と接触する造粒過程において、乾式造粒法³¹⁾では圧縮・解砕過程においてマイクロスポンジが保持する多孔質構造に基づく特有の機能 (優れた溶解性改善性、圧縮成形性) が消失してしまう点が懸念された。そこで、本工程 (湿式粉碎・

滴下凍結乾燥)より得られるマイクロスポンジ(打錠用顆粒)を更なる添加剤を配合することなく、直接打錠することを発案した。実際には、滴下するナノ懸濁液中の固形分濃度をマンニトールの配合量によって変更し、粒子密度の異なる打錠用顆粒を調製したうえ、圧縮成形性や錠剤からの薬物溶出特性を評価した。

本研究の結果、湿式粉碎法と滴下凍結乾燥工程を組み合わせることで、溶解性改善型の粒子設計法を確立した。本法で調製された粒子は、水相に投入した際、包埋する Cyc 一次粒子に自発的に再分散する特性を有しており、これが難水溶性薬物の溶出性を大きく改善させる要因であることを明らかにした。得られるマイクロスポンジは顆粒サイズであることから、そのまま顆粒剤としての取扱いが可能である。また、製剤工程における優れたハンドリング性及び圧縮成形性を有することから、打錠用顆粒としても利用できることを示した。更に、造粒工程を必要としない直打法により錠剤を製することができることから、生産の効率化においても極めて有用な製法であると期待される。本研究にて得られた知見について、以下の各章にて詳述する。

第1章 湿式粉碎法と滴下凍結乾燥法によるマイクロスポンジの調製

第1節 緒言

湿式粉碎法は、難水溶性薬物の溶解性改善技術として学術領域のみならず、製薬産業においても広く検討され、溶解性や消化管吸収性の改善を図った報告が散見される²⁰⁻²²⁾。著者の所属する研究室では、湿式ビーズ粉碎にて得た薬物ナノ懸濁液を噴霧凍結乾燥 (SFD) 法にて粉末化することで、水相へ投入した際に薬物ナノ懸濁液を再構築し、溶解速度が大幅に改善した機能性粒子を設計する製剤化技術を開発した^{25,26)}。しかし、本手法にて得られる粒子は5~20 μm と微細なため、打錠やカプセル充填といった製剤化工程において流動性や充填性などのハンドリング性に課題があった。

200~500 μm ほどの顆粒サイズの凍結乾燥粒子を得るには、液体窒素中に投入する液滴径を大きくすれば良いとのアイデアに基づき、噴霧に代えてノズルを通して薬液を自由落下する滴下凍結乾燥 (DFD) 法を新たに開発した²⁷⁾。この DFD 法を湿式粉碎法と組み合わせ、湿式粉碎した薬物ナノ懸濁液を滴下凍結乾燥処理することで、比表面積を増大させたサブミクロンサイズの薬物粒子を内包し、製剤または錠剤化工程における中間体として取扱い性に優れた顆粒を調製することを企図し、溶解性改善型粒子の設計を行った。

第2節 ナノ懸濁液を調製するための Cyc 粒子の湿式粉碎

粉碎促進剤としてヒドロキシプロピルセルロース (Hydroxypropyl cellulose: HPC) 及びラウリル硫酸ナトリウム (Sodium lauryl sulfate: SLS) を溶解させた水溶液に Cyc 粒子を分散させ、振動型湿式ビーズ粉碎装置を用い Cyc 粒子の湿式粉碎を行った。粉碎条件を最適化するために、著者の所属する研究室で既に確立した比率に基づいて^{26,32)}、薬物と粉碎促進剤を Cyc:HPC:SLS = 20:5:1 の割合に固定し、粉碎溶液中の固形分濃度が 2.6 w/v%、5.2 w/v%、6.5 w/v% となるよう配合分量を調整した。それぞれの処方名を MS-2.6%、MS-5.2%、MS-6.5% とした。処方名 MS は MicroSponge、「-」以降は粉碎溶液中の固形分率を示している (MS-2.6%, MS-5.2%, MS-6.5%, Table 1)。固形分濃度 2.6% においては HPC に加えてポリビニルピロリドン (Polyvinylpyrrolidone: PVP) についても検討し、粉碎効率に及ぼす粉碎促進剤の種類について評価した。粉碎した Cyc 粒子の粒度分布を Fig. 1 に示した。フェニトインを用いた従来の研究において、標準分散剤として選定されている PVP に比べ HPC を配合した方が、粉碎効果が高いことが分かった。Pongpeerapat 等は、懸濁液中にて粉碎された難水溶性薬物であるプロブコール粒子表面に PVP 分子鎖が吸着することで、1 次粒子間の凝集が抑制され、微細な粒子状態が維持されることを提唱している³³⁾。本研究では、粉碎促進剤として、PVP よりも HPC を用いた時により微細な Cyc 粒子を生成できることが示された。これは、HPC (HPC-SL、Mw : 約 100,000) と PVP (Kollidon 30、Mw : 約 40,000) の分子量と分子構造は異なっており、HPC の方が Cyc 粒子の表面への吸着に適している可能性が考えられた。更に、原料メーカーの情報から HPC の 0.5% 水溶液の粘度は、同じ濃度の PVP よりも高く、この分散液の高粘性が、粉碎後の Cyc 粒子の流動を抑制し粉碎の効率化に寄与したものと推察した。以上より、湿式粉碎後の Cyc 粒子の凝集を防ぎ、より微細な懸濁液を調製できることから、粉碎促進剤として HPC を選定した。粉碎促進剤を HPC に固定し、固形分濃度を 2.6%、5.2%、及び 6.5% に設定し調製された粉碎懸濁液中の Cyc の粒子径は、いずれの場合もサブミクロンサイズ (<1 μm) であり、固形分濃度の影響を受けないことが明らかとなった (Fig. 1)。これらの結果より、HPC を Cyc の粉碎促進剤とし、粉碎工程に用いる溶液中の Cyc:HPC:SLS の比率を 20:5:1 に設定した。

Table 1

Formulation of wet milling process to produce Cyc nanosuspension and drop freeze-drying process to produce microsphere with various compositions of drug, water-soluble filler and dispersion stabilizer.

Process	Materials	unit	Symbol						
			MS-2.6%	MS-5.2% (MS10:3 ^b)	MS-6.5%	MS10:5 ^b	MS10:10 ^b	MS10:20 ^b	MS10:40 ^b
Wet-milling	Cyc	mg	300	600	750	600	600	600	600
	HPC	mg	75 ^c	150	187.5	150	150	150	150
	SLS	mg	15	30	37.5	30	30	30	30
	Water	mL	15	15	15	15	15	15	15
Drop freeze-drying ^d	HPC	mg	—	—	—	120	420	1020	2220
	Water	mL	—	—	—	3	9	21	45
	Solid concentration	w/v%	2.6 ^a	5.2 ^a	6.5 ^a	5.0	5.0	5.0	5.0

^a The solid concentration in nanosuspension to be supplied to drop freeze-drying process was varied from 2.6 to 6.5 w/v% while the composition of Cyc:(HPC+SLS) was fixed to 10:3.

^b The composition of Cyc:(HPC+SLS) in suspension to be supplied to drop freeze-drying process was varied from 10:3 to 10:40 while the solid concentration in nanosuspension was fixed to 5.0 w/v%.

^c In only case of MS-2.6%, an additional formulation replacing HPC to PVP was also investigated.

^d The nozzle aperture used in all formulation was fixed to 120 $\mu\text{m}\phi$.

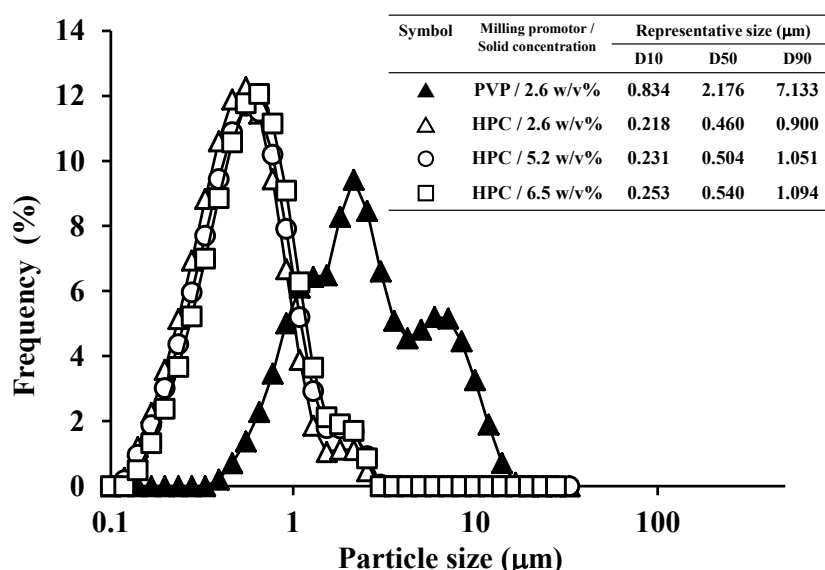


Fig. 1 Particle size distribution of Cyc particles produced through wet milling process under different solid concentration in suspension measured by laser diffraction scattering method (wet mode). The weight ratio of Cyc to additive was set to 10:3 in all formulation.

Key: PVP (▲) or HPC (△,○,□) was used as milling promotor

Solid concentration: (▲,△) 2.6 w/v%, (○) 5.2 w/v% , (□) 6.5 w/v%

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

第3節 滴下凍結乾燥法によるマイクロスポンジの調製

本研究での凍結乾燥工程は、薬物含有液を液滴形成装置のノズルを通して液体窒素に滴下し、凍結乾燥粒子を得る手法（Drop Freeze-drying 法）に基づいている。Cyc は水に溶けにくいいため、本工程を成功させるには、事前に薬物粒子を細かく粉砕して液中に均一に分散させる必要がある。湿式粉砕法により調製したサブミクロンサイズの Cyc 粒子から構成されたナノ懸濁液は、ノズルを物理的に閉塞することなく任意のサイズの開口部を通過できるため、DFD 法に適用するのに有利である。事実、口径 120 μm のノズルを用いた場合でも、検討処方すべてのナノ懸濁液においてノズルの閉塞は観察されなかった。このことから、使用するノズル口径には許容制限はなく、液滴サイズをノズル口径に応じて自由に変更することができる。更に、粉砕された Cyc ナノ粒子は懸濁液中で沈降しないため、滴下工程を通じて連続的に生成される液滴中の薬物濃度を常に均一に維持でき、調製顆粒の薬物含量均一性を確保できる利点も挙げられる。以上より、湿式粉砕法は DFD 工程に供給する滴下溶液の調製法として相応しいと考えられる。

本研究では、滴下溶液中の Cyc:HPC:SLS 比を 20:5:1 に固定し、固形分濃度 (2.6、5.2、6.5 w/v%) の異なる 3 種類の粉砕懸濁液から調製された乾燥顆粒の評価を行った (MS-2.6%, MS-5.2%, MS-6.5%, Table 1)。前節にて示した湿式粉砕工程を通して調製された Cyc ナノ懸濁液を滴下凍結及び凍結乾燥工程に供し、凍結乾燥顆粒を高収率 ($\geq 90\%$) で得ることができた。また、乾燥顆粒中の薬物含量を HPCL により確認した結果、標準的な処方で調製された顆粒 (MS-5.2%, Table 1) の Cyc 含有量は、理論値 0.50 g/g に対して 0.45 g/g であることを確認した。この結果は、湿式粉砕に仕込んだ Cyc の 90%以上が顆粒中に回収されていることを示し、湿式粉砕と滴下凍結乾燥法からなる本法

は、薬物の工程損失が少ない製法であることを明らかにした。このような高い回収率は、マイクロスポンジの調製に関する以前の報告³⁴⁾と同等であった。約 10%の損失は、湿式粉碎工程におけるジルコニアビーズへの付着と、ビーズを除去するろ過工程で用いた篩の金網線への付着が要因と考えられる。

3 種の固形分濃度から得られた顆粒の電子顕微鏡 (SEM) 画像を Fig. 2 に示した。高倍率での拡大像を観察すると、多孔性で球状の顆粒であることがうかがわれた (b-2, c-2, Fig. 2)。次節にて詳述するが、本顆粒は無数の微細な細孔を有するスポンジ状の内部構造を有しており、既に複数の研究者から報告されている同様の構造を持った多孔性球形顆粒の名前を引用し^{35,36)}、マイクロスポンジ (MS) と名付けた。著者の所属する研究室での別の研究にて、湿式粉碎して得た薬物懸濁液を噴霧凍結乾燥 (SFD) 工程にて処理すると、噴霧された液滴が液体窒素中で瞬時に凍結し、生成した氷結粒は自身の形状を保ったまま水分が蒸発するため、サイズと形状が液滴と同等な微細な球形粒子が生成すると報告した²⁶⁾。Fig. 2 に示す SEM 画像は、噴霧工程より得た 5~20 μm の粒子に比べて 20 倍以上の粒子径を呈しており、滴下工程による DFD 法の場合でも、同じ原理で顆粒状粒子が形成されることを示している。また、固形分濃度 2.6 w/v% で調製した場合 (MS-2.6%)、多くの顆粒が完全な球形を維持できず (a-1, Fig. 2)、断片状の外観を呈していた。これは、懸濁液中の固形分濃度が低い場合、凍結粒子中の氷の割合が高くなり、氷を昇華させた後の空洞体積が増すためスポンジ構造が脆弱となり、凍結乾燥中に顆粒が破断したものと考察した。低頻度ではあるが、この現象は MS-5.2%、MS-6.5% でも見られた (b-1, c-1, Fig. 2)。

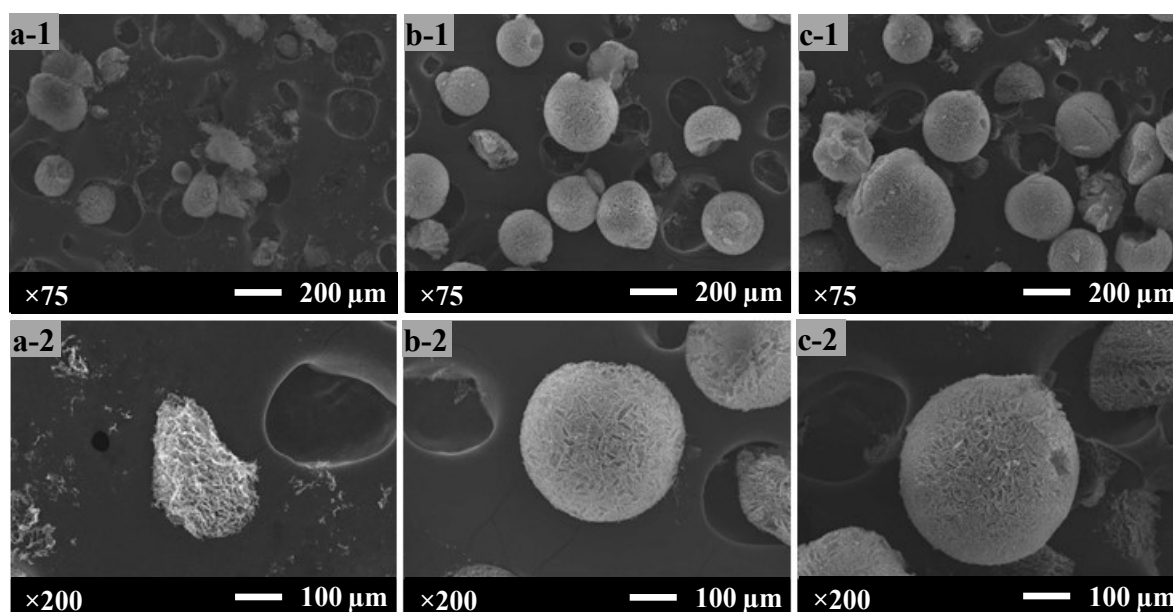


Fig. 2 Scanning electron microphotographs of microsponges prepared from milled suspension with various solid concentration. Solid concentration in suspension during drop freeze-drying process: (a) MS-2.6%, (b) MS-5.2%, (c) MS-6.5%

Appearance under 1) low and 2) high magnification.

乾式分散方式にて測定したマイクロスポンジの粒度分布を Fig. 3 に示した。MS-5.2%及び MS-6.5%の D50 値は約 200 μm であった。カプセル化装置の製造元から提供された情報によると、本装置の液滴形成部はノズル口径の 2~3 倍程度の液滴を高速かつ連続的に形成するよう設計されてお

り、本研究においても、使用するノズル口径（120 μm ）の2倍に相当するサイズのマイクロスポンジが形成された。加えて、粒度分布曲線の形状は、ピーク値（モード径）から小さい粒子径の方向（左側）に向かって広いテーリングを示した。これは、Fig. 2 に示した SEM 画像に見られた小断片に起因しており、凍結乾燥時に壊れた顆粒の粒度を反映していると考えた。MS-2.6%については、顆粒が高頻度で破損するため、全体的に粒度分布曲線が小さい粒子径の方向にシフトした。また、いずれの処方においても言えることであるが、振動により液滴を滴下する際、主要な液滴から離散した微細な液滴（小サテライト滴）が発生し、これが乾燥して生じた小粒子が含まれていることも小粒径側のテーリングに起因していると推察した。顆粒強度を増強するため、固形分濃度を 15 w/v% まで上昇した処方についても試作したが、懸濁液中の薬物粒子の凝集や粘度の上昇に伴うノズルの閉塞が生じ、連続的に滴下出来なかったため断念した。この結果から、Cyc:HPC:SLS 比を 20:5:1 に固定した処方において、DFD 工程に供する Cyc ナノ懸濁液の至適固形分濃度は 5~10 w/v% 程度であると結論した。第4節のマイクロスポンジ中の Cyc 含有量、及び第5節の Cyc 粒子サイズに関する検討では、滴下溶液の固形分濃度を 5.0 w/v% に固定して検討することとした。

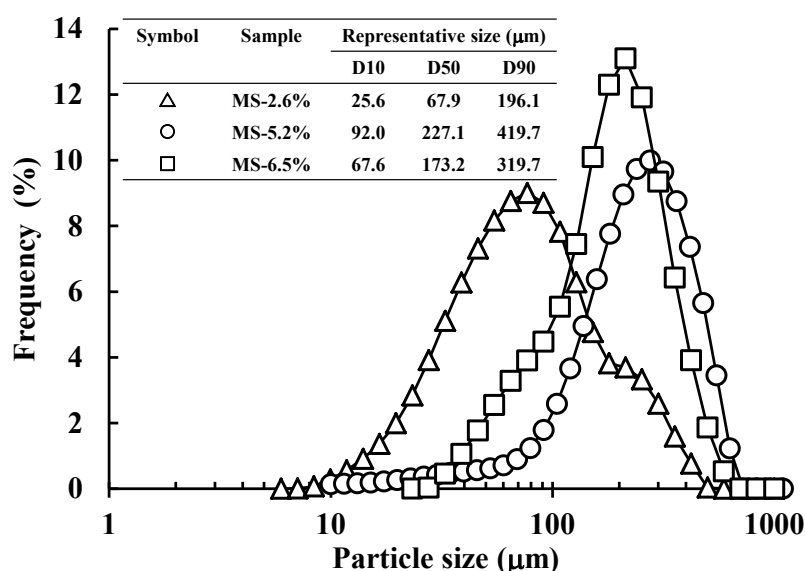


Fig. 3 Effect of solid concentration in dropping suspension on particle size distribution of microsponges measured by laser diffraction scattering method (dry mode).

Key: (Δ) MS-2.6%, ($\circ$) MS-5.2 %, ($\square$) MS-6.5%

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

次に、2.6~6.5 w/v%の固形分濃度で調製したマイクロスポンジの薬剤学的特性に関し、水相中での Cyc 粒子の分散挙動、並びに Cyc 溶出挙動を測定した (Fig. 4)。前者においては、マイクロスポンジを水相に投入後、分散した Cyc 粒子の粒度分布を経時的に測定することで分散挙動を定量化した。予備検討の結果、精製水、日局溶出試験第1液 (pH 1.2)、日局溶出試験第2液 (pH 6.8) 中での分散挙動は同等であることが示されたため、分散試験と溶出試験で用いる分散液として精製水を選択した。Fig.4 (a)は、投入後の経過時間に対して分散粒子のメジアン径 (D50 値) をプロットしたグラフである。マイクロスポンジを構成する成分のうち、Cyc 以外 (HPC、SLS) は水溶性であり水相中で速やかに溶解することから、検出された粒子は Cyc と特定できる。調製時の固形分濃度に関係なく、マイクロスポンジは水相投入後、測定セル内の緩やかな攪拌において速やかに分散した。そ

の結果、水相へ投入直後には D50 値が約 10 μm の微細な Cyc 粒子へと再分散した。マイクロスポンジに特徴的な多孔質構造により空隙への水の浸透を促進し、続いて水溶性 HPC から構成される支持体（マトリックス）が溶解した後、スポンジ内に包埋された Cyc 粒子が放出され、微細な粒子から構成される懸濁液を形成したものと考察した。前節（第 1 章 第 2 節）で述べたように、HPC 分子鎖による立体障害の効果と負電荷 SLS の電氣的相互作用の効果により、分散した Cyc 粒子の水中での凝集が防止されたと考えられた。Onoue 等は Cyc と様々なポリマー（HPC、PVP、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、プルラン）で構成される固体分散体が湿式粉碎と凍結乾燥法によって調製できることを報告している³⁷⁾。なかでも、HPC を使用した固体分散体、特に低分子量 HPC（SSL または L）で最も優れた溶解挙動を示した。更に、HPC 固体分散体の FT-IR スペクトルにより、低分子量 HPC と Cyc の間に分子相互作用が生じた結果、Cyc 分子の立体構造に変化が生じていることが示唆され、この構造変化が Cyc の溶解速度の改善に寄与していることを提唱している。しかしながら、再分散した Cyc 粒子は、点線（D50 = 0.5 μm ）で示される乾燥前の（元の）ナノ懸濁液中の Cyc 粒子サイズには到達しなかった。

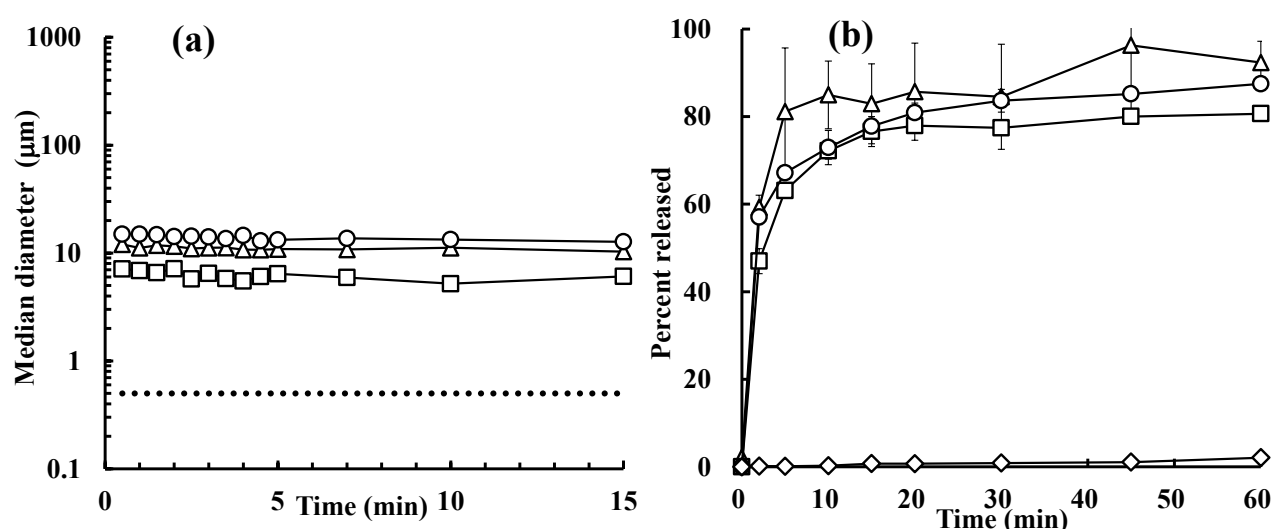


Fig. 4 Effect of solid concentration in dropping suspension on (a) self-dispersion profiles of microsphere in water and (b) dissolution profiles of Cyc from microsphere in water.

Key: (Δ) MS-2.6 %, ($\circ$) MS-5.2%, ($\square$) MS-6.5%, ($\diamond$) Cyc-L bulk.

Dotted line indicates D50 value of original nanosuspension.

Each point represents the measured value of $n=1$ in (a).

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$) in (b).

一方、Cyc 原末と比較し、溶出挙動はいずれのマイクロスポンジにおいても劇的に改善した (Fig. 4(b)). 本研究で設計されたマイクロスポンジからの優れた溶出挙動は、上述した HPC と Cyc の分子間相互作用に起因するものと考察した。また、溶出開始時の溶解速度は 2.6 w/v% > 5.2 w/v% > 6.5 w/v% の順となった。滴下液中の固形分濃度が低くなるほど顆粒内の空隙（進入路）が増して水の浸入速度が増大することから、マイクロスポンジのマクロ構造が溶出改善の一因となることが示唆された。MS-2.6% の場合、Fig. 2 (a-1) に示したように、調製工程中で部分的に壊れた顆粒が生成し、これらの顆粒が比表面積を増加させるため、溶出が更に加速されたと考察した。マイクロスポンジに包埋された Cyc 粒子が元のナノ懸濁液の粒子サイズに完全に再分散しなかったにもかかわらず、

Cyc の溶出性が大幅に改善したのは、マイクロスポンジのマトリックスを構成する親水性基剤の急速な湿潤及び溶解特性が、Cyc の迅速な溶解を強く促進したためと推論した。これらの結果に基づき、湿式粉碎と凍結乾燥を組み合わせた粒子設計技術は、難水溶性薬物の溶解性を改善する有用な手法であると帰結した。

第4節 マイクロスポンジ中の Cyc 含有率の影響

マイクロスポンジに包埋された Cyc 粒子の水相中での分散性をいっそう改善するため、マイクロスポンジの処方成分の配合比について検討した。HPC を粉碎促進剤として用いて Cyc 粒子を粉碎し、基本処方 (MS-5.2%, Table 1) にてナノ懸濁液を調製した。基剤の親水性を高めるため、粉碎ナノ懸濁液に種々の質量の HPC を追加添加し、Cyc: (HPC+SLS) 比が 10:5、10:10、10:20、及び 10:40 の 4 処方を新たに設定した。なお滴下液中の固形分濃度を 5.0 w/v% に統一するため、希釈用の水を固形分量に応じて追加添加した (Table 1)。こうして HPC と水を追加添加しない従来処方 (MS-5.2% = MS10:3) を含む 5 処方の滴下液を調製し、滴下凍結乾燥工程を経て 5 種のマイクロスポンジを調製した。それぞれ MS10:3、MS10:5、MS10:10、MS10:20、及び MS10:40 と表記した (Table 1)。処方名の MS 以降は滴下溶液中の Cyc: (HPC+SLS) 比を示している。なお、Cyc と SLS の比率は全ての処方で 20:1 に固定している。いずれの処方においても、滴下工程中、ノズル (120 μ m) の閉塞による問題は発生しなかった。

Cyc と (HPC+SLS) の比率を変えて調製したマイクロスポンジの SEM 画像を Fig. 5 に示す。全てのマイクロスポンジは HPC の含有量に関係なく、スポンジ様の多孔質構造を呈した真球状顆粒であった。一方、表面構造は処方毎に異なっており、MS10:3 の表面は最も粗く、HPC の配合比率の増加に従い顆粒の表面状態が滑らかになっていた。MS10:3 の拡大写真では、HPC の繊維状ネットワーク (骨組み) に多くの微粒子が点在していることが明らかとなった (d-3, Fig. 5)。これらの粒子は、粒子径が約 1 μ m 以下であり、Fig. 1 に示したレーザー回折法で測定されたサイズと一致していることから、粉碎された Cyc 粒子であると断定した。従って、微粉化した Cyc 粒子は、固化した HPC の表面または内部に単一粒子として内包していることが示された。一方、HPC の配合比率の高いマイクロスポンジに見られる平滑な表面構造は、凍結中の水滴と液体窒素の間の界面で生じたポリマーの沈積層であると推察した。

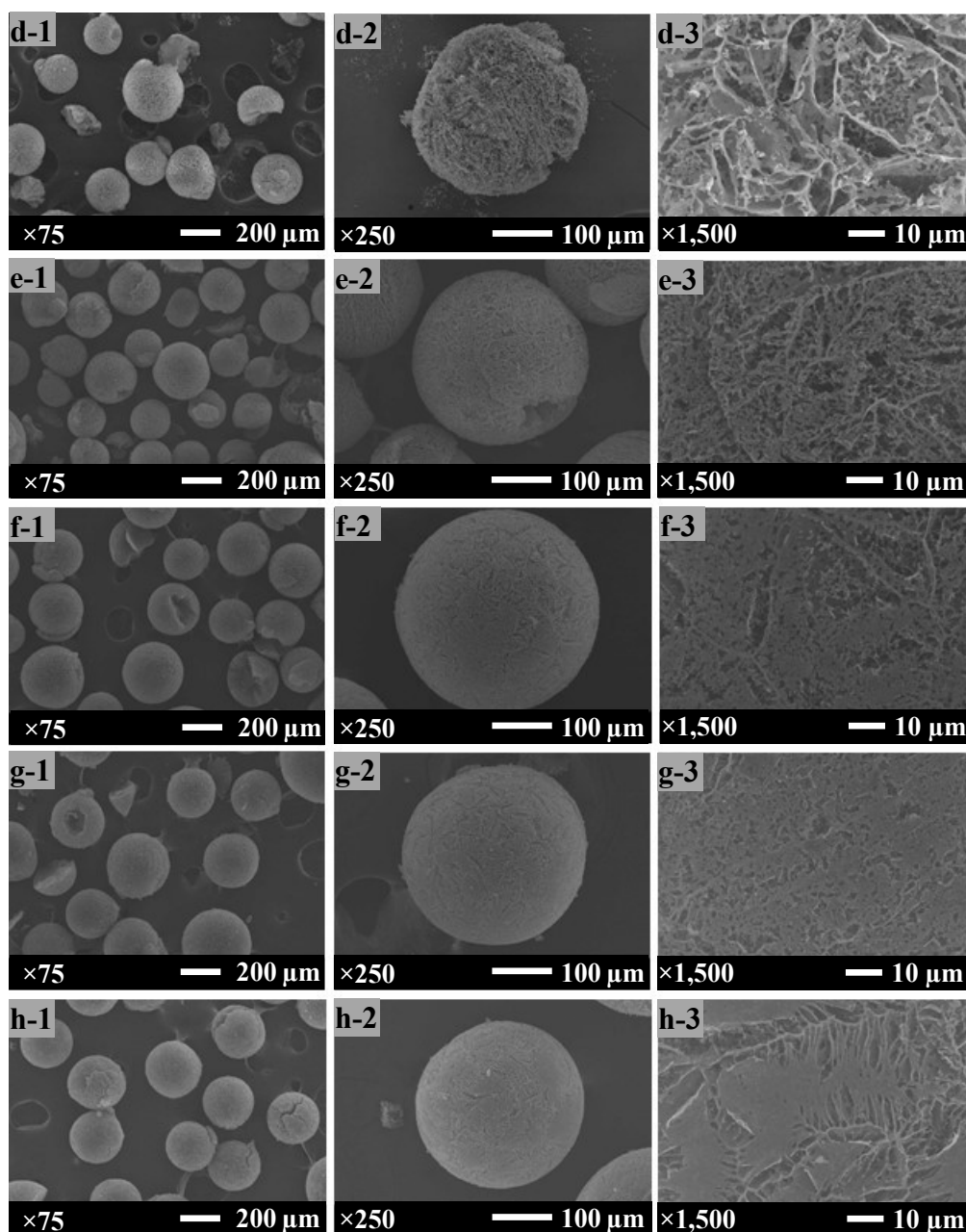


Fig. 5 Scanning electron microphotographs of microsponges prepared from milled suspension with various drug content.

Key: (d) MS10:3, (e) MS10:5, (f) MS10:10, (g) MS10:20, (h) MS10:40.

Appearance under 1) low, 2) middle and 3) high magnification.

乾式分散して測定したマイクロスポンジの粒度分布をFig. 6に示した。メジアン径が200～300 μm 程度の所期の目的に合致した顆粒が得られた。これは前述した経験則の通り、用いたノズル口径(120 μm)の2倍程度であることから、処方が異なった場合でも滴下工程が順調に行われたことを示している。特筆すべき点は、HPCの配合比率が高い処方(MS10:10, MS10:20, MS10:40)では、配合比率が低い処方(MS10:3, MS10:5)に見られる粒子径の小さい範囲でテーリングが認められず、分布幅の狭い分布曲線となった。これは、HPCの比率の増加に伴い顆粒が緻密になった結果、乾燥中での破損が減少したこと、及び滴下溶液中の粘性が増加した結果、主となる液滴の周囲に発生する小サテライト滴の生成を防いだことが要因であると推論した。

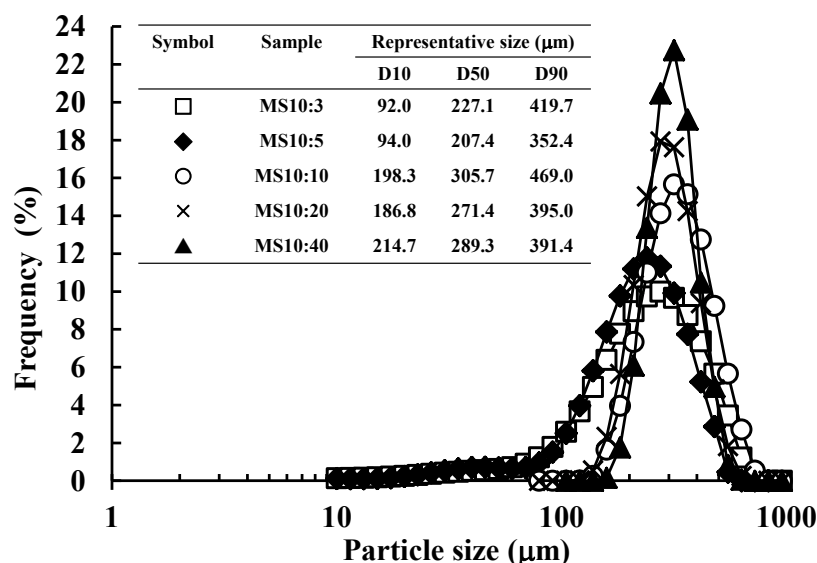


Fig. 6 Effect of drug content on particle size distribution of microsponges prepared from milled suspension measured by laser diffraction scattering method (dry mode).

Key: (□) MS10:3, (◆) MS10:5, (○) MS10:10, (×) MS10:20, (▲) MS10:40

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

Cyc 含有率の異なるマイクロスポンジからの Cyc 粒子の分散挙動及び薬物溶出挙動を、それぞれ Fig. 7 (a) 及び 7 (b) に示す。前節で述べたように、HPC 含有率の少ないマイクロスポンジ (MS-5.2% = MS10:3) では、急速に Cyc 粒子が分散したものの、分散粒子径 (D50) は約 10 μm で平衡となった (Fig. 4 (a))。HPC の配合比率を増加させた場合、MS10:5 までは平衡値は 10 μm 付近であったが、HPC 比率が Cyc と同等あるいはそれ以上の処方 (MS10:10, MS10:20, MS10:40) では、分散した粒子径 (D50 値) は 0.50 μm ほどまで微細分散した (Fig. 7 (a))。この平衡径は、湿式粉碎後 (凍結乾燥前) の元の懸濁液中の Cyc 粒子サイズと同等であった (Fig. 7 (a) の点線)。すなわち、これらの系ではマイクロスポンジを水相に投入すると、元のナノ懸濁液が再構築することを意味している。元のナノ懸濁液が再構成するまでに要する時間を比較すると、MS10:10 では 1 分以内、MS10:20、MS10:40 では 2.5 分を要した。後者の HPC 配合比率が高い 2 タイプのマイクロスポンジは、投入直後、試験液の表面に浮遊することが観察され、水との接触面で粘性が高くなった結果、マイクロスポンジ全体の水濡れに時間を要したためと推察した。以上、Cyc と同量以上の HPC を含むマイクロスポンジは、即時かつ自発的なナノ分散特性を有すると結論した。

一方、溶出試験結果により、MS10:40 を除く全てのマイクロスポンジが速やかな放出特性を示し、20 分時点で 80% を超える溶出率に達することが明らかとなった (Fig. 7 (b))。特に MS10:10 は、その優れた再分散挙動と相関し、最も高い溶出率と速やかな溶出挙動を示した。一方、MS10:40 では投入後 20 分時点まで僅かに遅延した溶出挙動を示した。この遅延は上記の分散挙動の結果でも述べたように、HPC 比率の高いマトリックスで構成されるマイクロスポンジが、接水直後に一時的かつ局所的に高粘度のコアセルバート相を形成し、Cyc 粒子の自発的分散、ひいては薬物溶出を遅延したものと推察した。MS10:3 及び MS10:5 も良好な溶解挙動を示したが、再分散粒子は元の懸濁液の粒子サイズには到達できず、初期溶出性は MS10:10 よりも劣っていた。これらの結果は、マイクロスポンジの HPC の配合比率が、包埋された Cyc 粒子の再分散性だけでなく、難水溶性薬物の溶

解特性にも影響を与えることを示唆した。以上より、MS10:10、即ち Cyc: (HPC + SLS) = 10:10 のマイクロスポンジが最も Cyc の溶解性を改善する処方であることを見出した。

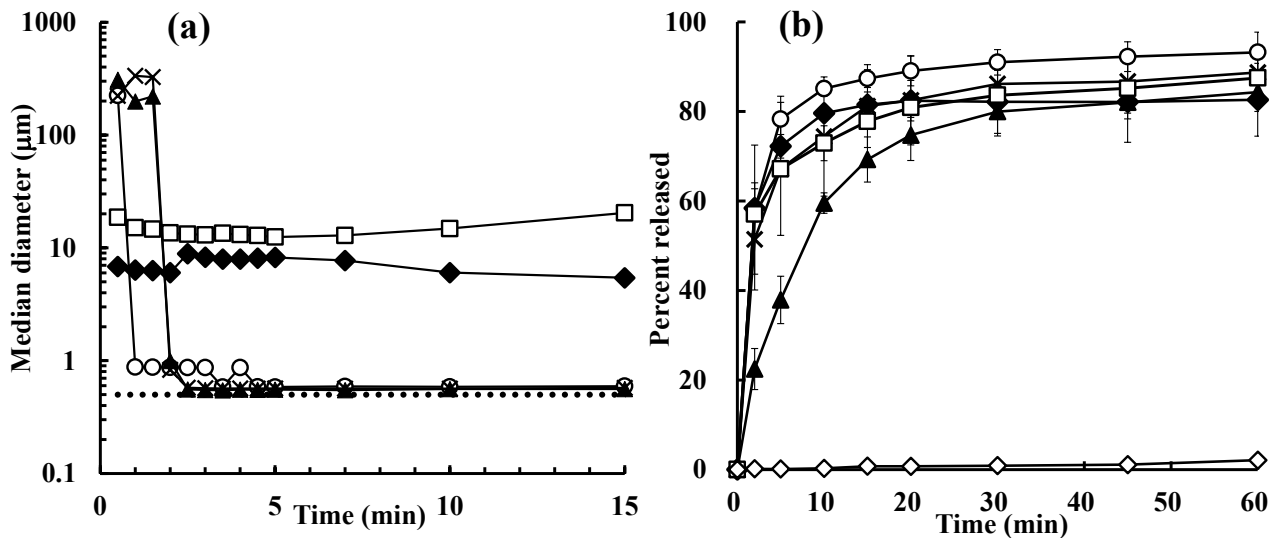


Fig.7 Effect of drug content in dropping suspension on (a) self-dispersion profiles in water and (b) dissolution profiles of Cyc from microsponges in water.

Key: (□) MS10:3, (◆) MS10:5, (○) MS10:10, (×) MS10:20, (▲) MS10:40, (◇) Cyc-L bulk.

Dotted line indicates D50 value of original nanosuspension.

Each point represents the measured value of $n=1$ in (a).

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$) in (b).

第5節 Cyc 粒子サイズの影響

本節では、マイクロスポンジに包埋する Cyc の粒子サイズが、その薬剤学的特性に及ぼす影響について検討した。DFD 工程に供給する滴下溶液として、これまでの湿式粉碎ナノ懸濁液に加え、粒子径の異なる 2 種類の Cyc 原薬を直接分散液に懸濁し、大・中・微小粒子の 3 水準の懸濁液を適用することで、マイクロスポンジに包埋する Cyc 粒子のサイズを意図的に変更した。すなわち、原薬の供給元によりカッターミルにて粉碎処理された Cyc 原末 (Cyc-S) 及び粉碎処理されていない Cyc 原末 (Cyc-L) を用い、湿式粉碎工程を経ることなく、HPC/SLS 混合水溶液に直接原薬を懸濁して滴下溶液を新たに調製した。レーザー回折・散乱法にて測定した Cyc 懸濁液の D50 値は、従来の湿式粉碎ナノ懸濁液 0.50 μm に対し、それぞれ 4.77 μm と 57.00 μm であった。こうして得た Cyc 懸濁粒子径の異なる 3 種類の滴下液にてマイクロスポンジを調製し、種々の物性を比較評価した。滴下液中の成分/組成及び固形分濃度は、前節までに見出された最適な処方、Cyc:(HPC + SLS) = 10:10 及び 5 w/v% に固定した。Table 2 に示すように、3 種類のマイクロスポンジは同一処方、同一製法から成り、内包する Cyc 粒子サイズのみが異なっている。ただし、湿式粉碎工程を経ず Cyc 原末 (Cyc-S、Cyc-L) を分散させた懸濁液では、滴下の際に流路の閉塞が危惧されたため、前節で使ったノズル口径を 120 μm から 300 μm へ変更した。液滴中に分散した Cyc 粒子の D50 値 (0.50、4.77、57.00 μm) に基づき、それらのマイクロスポンジを MS-s0.5、MS-s5、及び MS-s60 と命名した。「s」は Suspension に由来する。なお MS-s0.5 は、前節で示した MS10:10 と同一のマイクロスポンジである。

Table 2

Formulation of suspension with different Cyc particle sizes to be supplied to drop freeze-drying process with same composition of drug, water-soluble filler and dispersion stabilizer.

Symbol		MS-s0.5 (MS10:10)	MS-s5	MS-s60
Type of Cyc (Particle size D ₅₀ ^a , μm)		Wet-milled (0.50)	Cyc-S (4.77)	Cyc-L (57.00)
Wet-milling process		Done	Not done	Not done
Cyc : (HPC + SLS)		10:10	10:10	10:10
Materials	unit			
Cyc	mg	600 ^b	600 ^c	600 ^c
HPC	mg	570	570	570
SLS	mg	30	30	30
Water	mL	24	24	24
Solid concentration	%	5.0	5.0	5.0
Nozzle size	μm	120	300	300

^a The particle size of Cyc was measured by dispersing in water using a magnetic stirrer.

^b Cyc particles were previously wet-milled using the oscillating beads-milling apparatus and supplied to the drop freeze-drying process.

^c Intact Cyc particles without being milled were directly suspended in aqueous solution of HPC/SLS and supplied to the drop freeze-drying process.

得られたマイクロスポンジと本節で使用した 2 種類の Cyc 原末 (Cyc-L, Cyc-S) の SEM 写真を Fig. 8 に、乾式分散して測定した粒度分布を Fig. 9 に示す。これまで通り全てのマイクロスポンジは球形粒子であり、滴下工程で使用したノズル口径に対応し、MS-s5 と MS-s60 は、MS-s0.5 よりも大きな顆粒であった (前者のノズル口径 : 300 μm、後者のノズル口径 : 120 μm)。また粒度測定より得られた D50 値は、それぞれ 550 μm と 300 μm 付近にあり、本調製においても液滴サイズがノズル口径の約 2 倍となる一般則に合致していた。この結果により、マイクロスポンジのサイズは、配合する Cyc の一次粒子サイズには影響を受けることなく、ノズル口径により一義的に決定されることが示された。また、マイクロスポンジの断面の拡大図を Fig. 8 (A-2, B-2, C-2, A-3) に示した。断面の低倍率 SEM 写真 (A-3) から、顆粒の内部がスポンジ状の多孔質構造を持っていることが明らかとなった。より詳細な写真 (A-2, B-2, C-2) からは、全てのサンプルにおいて繊維質な網目構造の隙間に異質な粒子が包埋した様相を呈していた。網目状のネットワークは HPC であり、包埋粒子は試料ごとに大きさが異なっていた。MS-s0.5 では 1 μm 以下の粒子が観察され (A-2, 矢印)、

これは Fig. 1 に示した湿式粉碎後の Cyc 粒子のサイズと一致した ($D_{50}=0.5\ \mu\text{m}$)。また、MS-s5 と MS-s60 内の包埋粒子 (B-2, C-2, 矢印) は、それぞれ調製時に仕込んだ Cyc 原末 (D: Cyc-S, E: Cyc-L) と形態学的に一致することから、包埋粒子は Cyc 粒子であると断定した。これら観察結果から、未粉碎、粉碎いずれであれ、Cyc 粒子は調製時に仕込んだ粒径のまま、マイクロスポンジの多孔質マトリックスに埋め込まれることが示された。

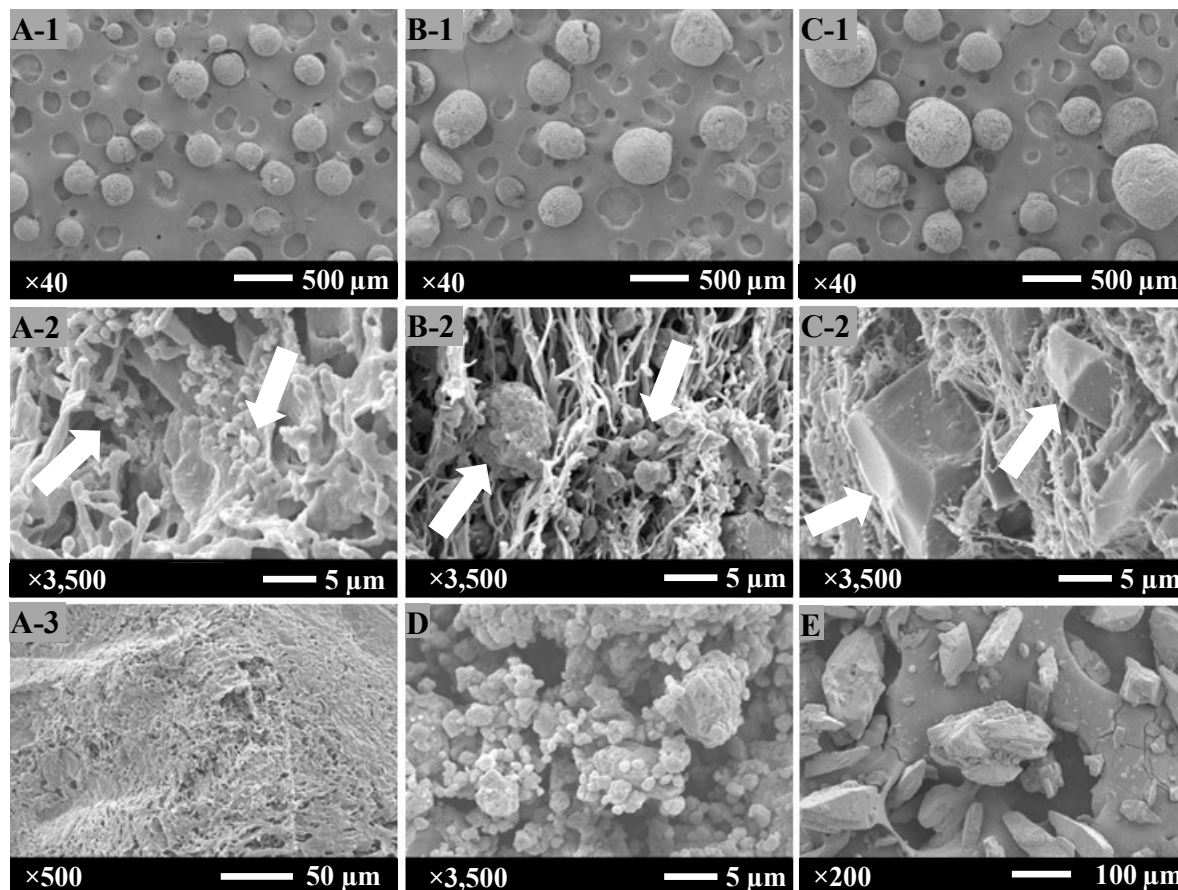


Fig. 8 Scanning electron microphotographs of microsphere embedded Cyc particles (milled Cyc, Cyc-S, Cyc-L) and intact Cyc particles.

(A) MS-s0.5, (B) MS-s5, (C) MS-s60; (D) intact Cyc-S, (E) intact Cyc-L.

1) Appearance under low magnification, 2) cross-section under high magnification and 3) cross-section under low magnification

Cyc particles embedded in the microsphere are observed as indicated by arrows.

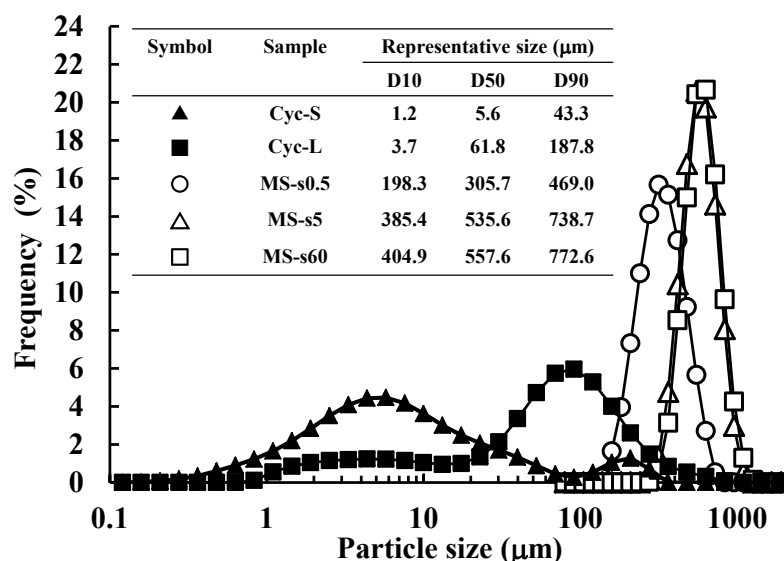


Fig. 9 Particle size distribution of microsponges measured by laser diffraction scattering method (dry mode).

Key: Intact bulk of (▲) Cyc-S, (■) Cyc-L. Microsponges of (○) MS-s0.5, (△) MS-s5, (□) MS-s60.

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

粒子サイズの異なる Cyc 粒子を包埋したマイクロスポンジの水中での再分散挙動を評価した。マイクロスポンジから分散した Cyc 粒子の D50 値を経時的にプロットした (Fig. 10 (a))。また、5 分時点での粒度分布を元の滴下懸濁液のそれと比較した (Fig. 10 (b))。白色マークは、マイクロスポンジから再分散した Cyc 粒子、黒色マークは DFD 工程に供給した凍結乾燥前の懸濁液中の Cyc 粒子である。MS-s0.5 では 1 分以内の遅延が見られたが、再分散した懸濁液の D50 値は速やかに元の懸濁液の D50 値と同等になることが分かった。その結果、再分散 5 分時点の粒度分布曲線は、DFD 工程に供給した各粒子の粒度分布曲線とほぼ重なる結果となった (湿式粉碎された Cyc と MS-s0.5、Cyc-S と MS-s5、Cyc-L と MS-s60)。このことは、包埋された Cyc 粒子の大小に関係なく、マイクロスポンジを水相に投入すると、元の (乾燥前の) 懸濁液が再構築することを意味している。こうした懸濁液の復元挙動は、マイクロスポンジの構造的特徴 (HPC から構成されたスポンジ様水溶性マトリックス) に起因していると推察した。マイクロスポンジの内部構造をより明らかにするため、アルゴンガス吸着法により顆粒の比表面積を測定した (Table 3)。カッターミルにより粉碎された Cyc-S 原末は、Cyc-L 原末の 17 倍の比表面積値を示した (3.24 対 0.19 m²/g)。一方、マイクロスポンジは更に増加し Cyc-L 原末の 56~63 倍の値を有していた。マイクロスポンジの極めて高い比表面積は、凍結乾燥工程により形成された特徴的なスポンジ様構造に起因すると考えられた。3 種類のマイクロスポンジ間の測定値を比較すると、包埋された Cyc の粒子サイズが小さくなるに従い比表面積が増加する傾向が認められた (MS-s0.5 > MS-s5 > MS-s60)。しかし、これらの差異は、Cyc 原末間の違い程大きくなかったことから、いくつかの Cyc 粒子は、HPC のネットワークの表面に吸着されただけでなく、網目構造の支持体内に内包されて存在するため、比表面積に反映されなかったものと推察した。3 種類のマイクロスポンジ (MS-s0.5、MS-s5、MS-s60) は全て、Fig. 10 (a) に示したように水中投入後元の懸濁液を再構築した。比表面積値はマイクロスポンジに包埋された薬物粒子の再分散性に大きく影響する重要なパラメーターであると考え。今回、3 種類のマイクロスポンジはいずれも比表面積値が非常に大きく、全てのマイクロスポンジは十分に大きな表面積を

有していたことから (Table 3)、本検討における再分散速度に比表面積値の影響が認められなかったものと推察した。これらの結果から、マイクロスポンジが有する大きな表面積と基剤の親水性は、Cyc の一次粒子への迅速な自己再分散を促す重要な要因であると結論した。

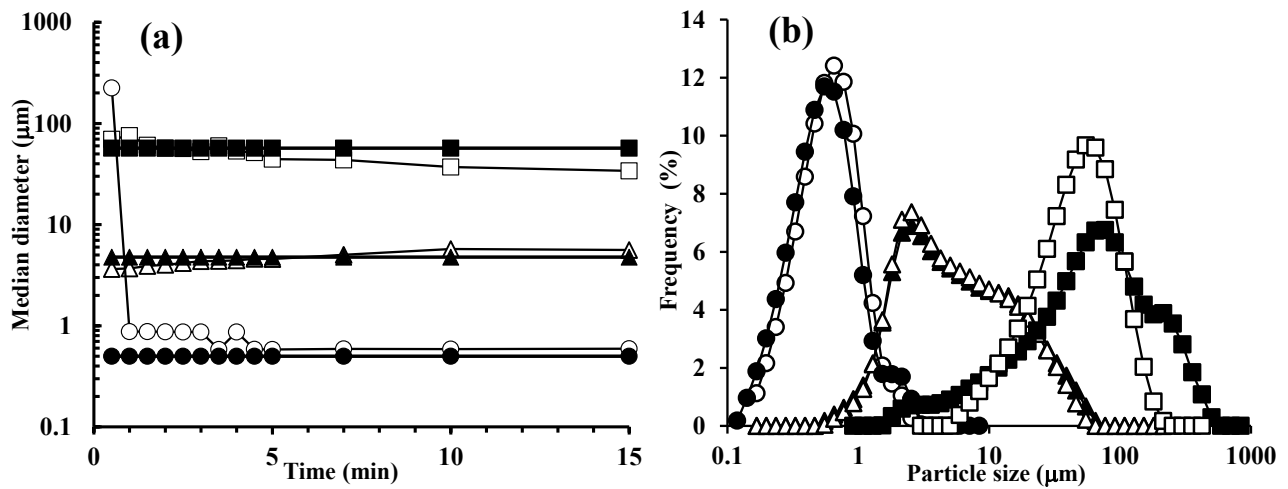


Fig. 10 (a) Self-dispersion profiles of Cyc particles dispersed from microsponges in water and (b) particle size distribution of re-dispersed Cyc particles at 5 min in the self-dispersion process.

Key: Cyc particles of (●) original nanosuspension, (▲) un-milled suspension of Cyc-S, (■) un-milled suspension of Cyc-L and Cyc particles dispersed from microsponges of (○) MS-s0.5, (△) MS-s5, (□) MS-s60.

Each point represents the measured value of $n=1$ in (a).

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$) in (b).

Table 3

Specific surface area of intact Cyc particles and microsphere embedded Cyc particles with different size.

Symbol	unit	Cyc-S	Cyc-L	MS-s0.5	MS-s5	MS-s60
Used Cyc bulk		—	—	Wet-milled Cyc-L	Cyc-S	Cyc-L
Cyc particle size D50 ^a	μm	4.77	57.00	0.58 ^b	4.58 ^b	56.54 ^b
Specific surface area ^c	m ² /g	3.24 ± 0.19	0.19 ± 0.02	11.91 ± 0.68	11.05 ± 1.31	10.78 ± 0.54

^a Cyc particles were measured under wet condition.^b Cyc particles self-dispersed from the microspheres in water were measured by laser diffraction scattering method (wet mode).^c Each point represents the mean ± S.D. (n=3).

次に、粒子サイズの異なる Cyc 粒子を包埋するマイクロスポンジからの Cyc の溶出プロファイルを Fig. 11 に示した。本研究では、後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインを参照し、試験液として水、日局溶出試験第 1 液及び日局溶出試験第 2 液を選択した。Cyc 原末（Cyc-L）とマイクロスポンジと同じ組成から成る物理的混合物（薬物原末として Cyc-L を含む）は、試験液への濡れ性が悪く試験液表面に浮上していたため、非常に遅い溶出挙動を示した。一方、マイクロスポンジからの Cyc 溶出性は、全ての試験液に対し Cyc-L 原末の溶出性と比較して著しく改善された。特に、湿式粉碎工程により微細化された Cyc 粒子を包埋したマイクロスポンジ（MS-s0.5）は、水だけでなく、胃液や腸液を模擬した緩衝液（日局溶出試験第 1 液及び日局溶出試験第 2 液）でも優れた溶出特性を示した。これは、Fig. 10 (a)に示したように Cyc 粒子の迅速かつ微細な再分散性に起因すると推察した。溶出量の改善の程度を見ると 3 種類のマイクロスポンジ間で異なり、MS-s60 が最も低く、MS-s5 が 2 番目に低く、MS-s0.5 で最も高くなり、Cyc の粒子サイズに対応した結果となった。ここで、マイクロスポンジに包埋された Cyc 粒子は、使用された Cyc 原末（Cyc-L、Cyc-S）と同じく、非晶質状態が維持されていることを粉末 X 線回折装置による結晶解析により確認しており、マイクロスポンジ間の溶出挙動の違いは、Cyc の結晶状態に由来するものではない。即ち、溶出挙動はマイクロスポンジに包埋された薬物の粒子サイズに相関し、マイクロスポンジから放出される薬物粒子が微細になるほど、難水溶性薬物の溶出性改善の度合いが高くなることを解明した。Suzuki 等は、Cyc の溶解促進はマトリックス基剤中の粒子サイズと濡れ性に寄与していると報告しており³⁸⁾、今回の結果とよく一致した。本研究で調製したマイクロスポンジ（MS-s0.5s）は、水だけでなく、Fig. 11 に示した胃液や腸液を模倣した緩衝液に対しても Cyc の高い溶解度を示しており、Liu 等は Cyc の水への溶解度が高い製剤は in vivo でも高い吸収を示すことを報告していることから³⁹⁾、本研究で設計したマイクロスポンジは、in vivo においても胃腸液に対し高い溶解性、ひいては優れた吸収性を有することが予期された。

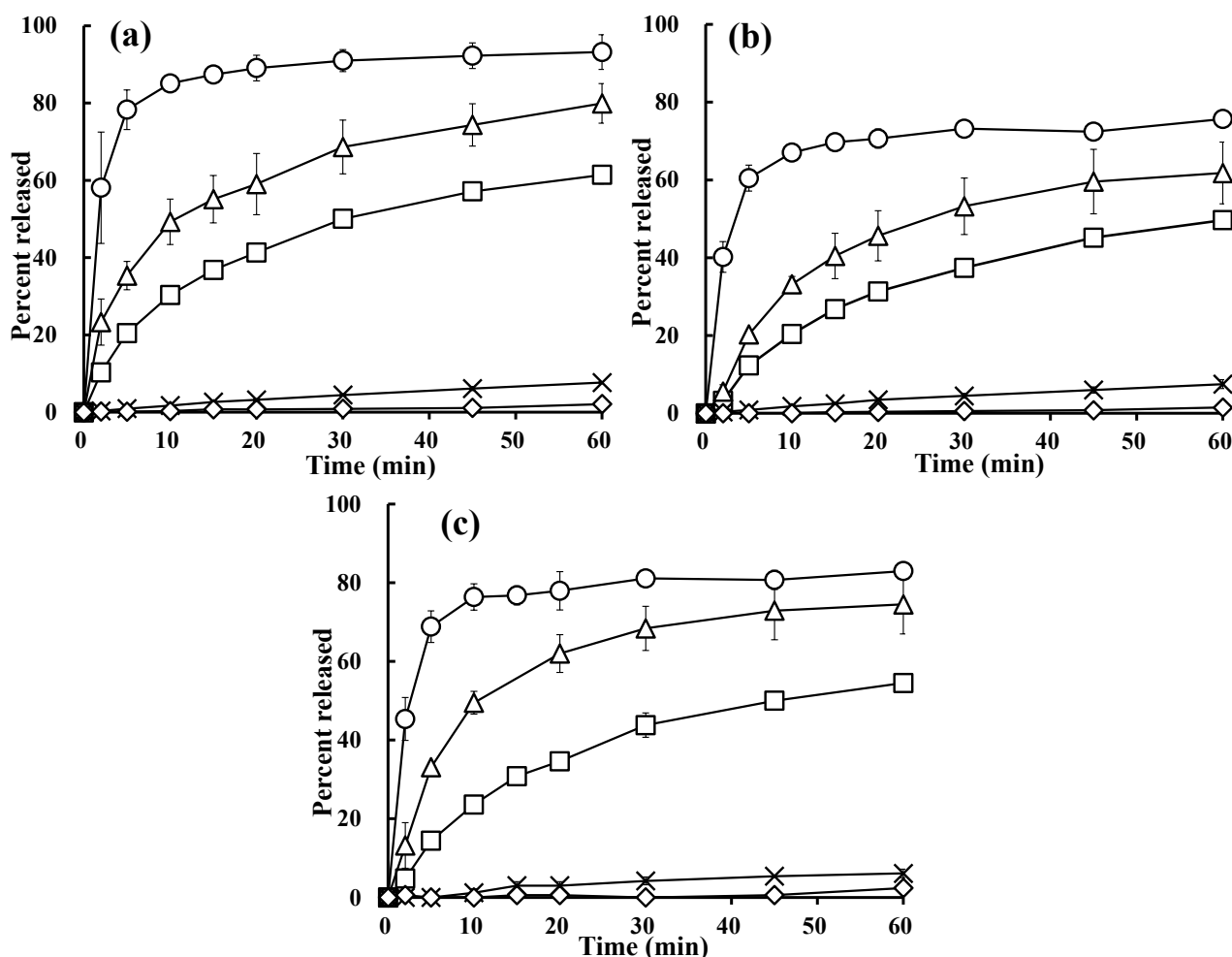


Fig. 11 Dissolution profiles of Cyc from microsponges in various dissolution media: (a) water, (b) JP17 No.1 fluid, pH 1.2, and (c) JP17 No.2 fluid, pH 6.8.

Key: Microsponges of (○) MS-s0.5, (△) MS-s5, (□) MS-s60 and (×) physical mixture, (◇) Cyc-L bulk.

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

第6節 SLS 配合量の影響

前節までに設計したマイクロスポンジ (MS10:10=MS-s0.5s) は、水を試験液とした溶出試験においては 30 分以内に 90% 以上の高い Cyc 溶出率を達成できたものの、消化管液を模擬した日局溶出試験第 1 液及び第 2 液中においては、溶出率が 80% ほどで平衡に達する結果となった。そこで本節では、いかなる試験液中においても優れた Cyc 溶出挙動を発揮するマイクロスポンジを設計するため、処方最適化を図った。

滴下工程に供するナノ懸濁液 ($D_{50}=0.50 \mu\text{m}$) に配合する SLS を増量させた 2 種類のマイクロスポンジ (MS6:1-SLS, MS4:1-SLS) を新たに製した (Table 4)。処方名 MS 以降の表記は Cyc と SLS の配合比を示している (MS6:1-SLS は Cyc:SLS=6:1)。MS20:1-SLS は前節、前々節で調製したマイクロスポンジ (MS10:10 及び MS-s0.5) と同一である (MS10:10, Table 1, MS-s0.5, Table 2)。MS6:1-SLS, MS4:1-SLS ではマイクロスポンジ中の SLS 量を MS20:1-SLS に比べ、それぞれ 3.3 倍、5 倍増量している。マイクロスポンジを水相に投入後、再分散した Cyc 粒子の粒度分布を経時的にモニタリングした。Fig. 12 (a) に示した通り、いずれのマイクロスポンジにおいても、水中に投入後 1 分以内に滴下凍結乾燥前 ((a) の点線にて表記) と同程度の粒子径を持つ Cyc サブミクロン懸濁液を再構

築した。Cyc 粒子を包含する支持体が親水性添加剤から成るスポンジ構造であることから、速やかに水が浸透し、包埋された Cyc ナノ粒子が自発的分散したものと推察した。

溶出試験の結果、MS20:1-SLS では第 1 液及び第 2 液中において 80%で平衡に達していた挙動が、SLS を増量した 2 種類の処方とも、いずれの試験液においても開始 10 分時点で 90%以上の溶出率、プラトー域で 100%近付の溶出率へと上昇し、溶出挙動の改善が認められた (Fig. 12 (b), (c), (d))。これは SLS の界面活性作用により溶出液の表面張力が低下し、疎水性薬物である Cyc 粒子の濡れ性が改善されたためと考察した。SLS の臨界ミセル濃度 (cmc) は 0.236%と報告されており⁴⁰⁾、本実験にて投入したサンプル量に基づき、溶出試験液中の SLS 濃度を計算すると最大でも $1.85 \times 10^{-4}\%$ であることから、Cyc の溶解性改善に SLS の可溶化効果は影響していないと推察した。

Table 4

Formulation of wet-milling process to produce Cyc nanosuspension and drop freeze-drying process to produce microsponges with different SLS composition.

Process	Materials	unit	Symbol ^a		
			MS20:1-SLS (MS10:10)	MS6:1-SLS	MS4:1-SLS
Wet-milling ^b	Cyc	mg	600	600	600
	HPC	mg	150	150	150
	SLS	mg	30	30	30
	Water	mL	15	15	15
Drop freeze-drying ^c	HPC	mg	420	420	420
	SLS	mg	—	70	120
	Water	mL	9	9	9
	Solid concentration ^d	w/v%	5.0	5.3	5.5

^a MS20:1-SLS, MS6:1-SLS, MS4:1-SLS indicate micro sponge (MS) with weight ratio of Cyc:SLS = 20:1, 6:1, 4:1 respectively.

^b The component/composition in wet-milling process was common in all formulations.

^c The composition of SLS was changed to set weight ratio of Cyc:SLS = 20:1, 6:1, 4:1 in suspension to be supplied to drop freeze-drying process.

^d The solid concentration in nanosuspension to be supplied to drop freeze-drying process was set to around 5 w/v% in all formulations.

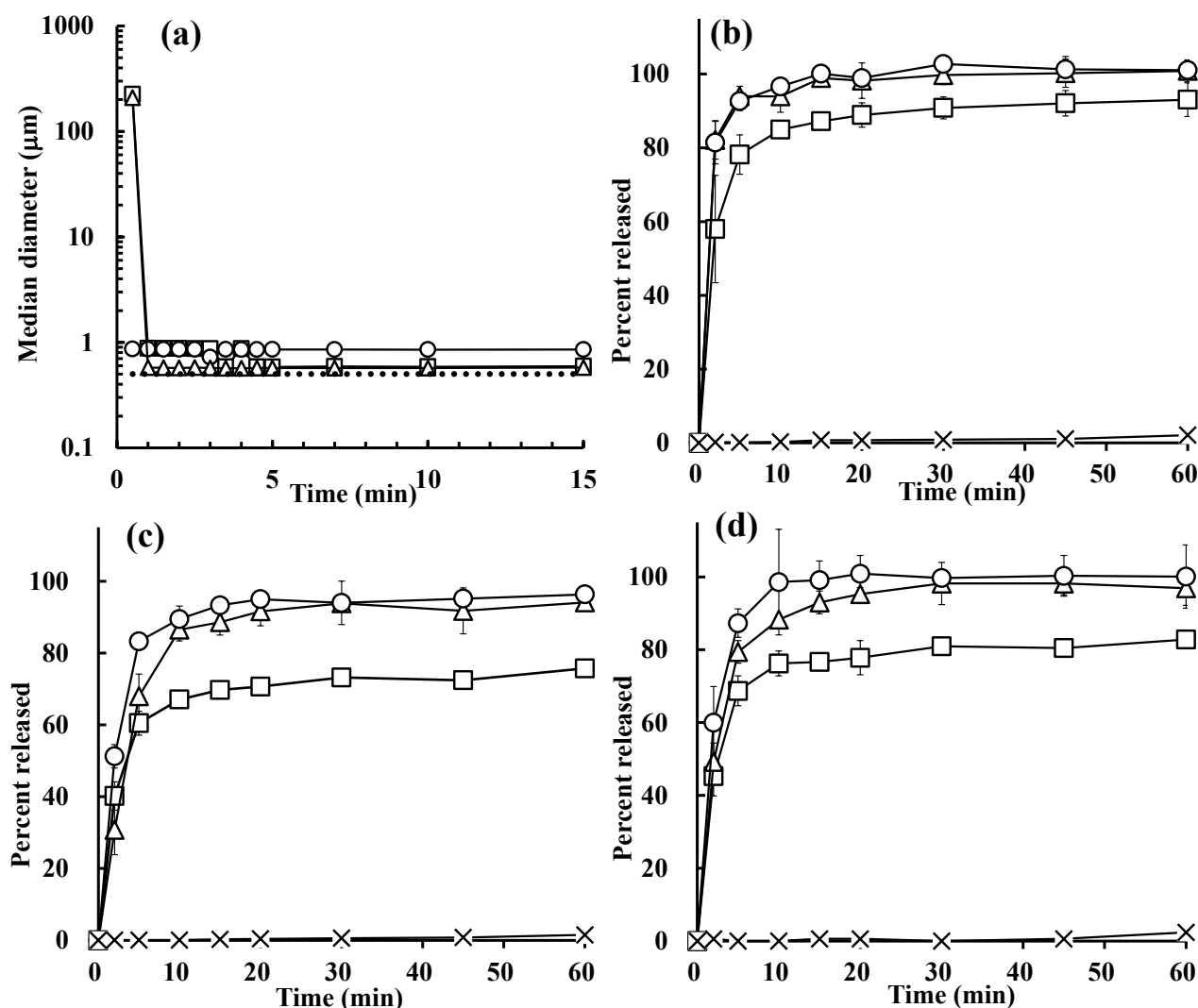


Fig. 12 Effect of SLS concentration in dropping suspension on (a) self-dispersion profiles of microsp sponge in water and dissolution profiles of Cyc from microsp sponge in (b) water, (c) JP17 1st fluid, pH 1.2, and (d) JP17 2nd fluid, pH 6.8.

Key: Microsponges of ($\square$) MS20:1-SLS ($\circ$) MS6:1-SLS, ($\triangle$) MS4:1-SLS, ($\times$) Cyc bulk.

Dotted line in (a) indicates D50 size of original wet-milled nanosuspension.

Each point represents the measured value of $n=1$ in (a).

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$) in (b), (c) and (d).

一般的に界面活性剤は経口投与においてその安全性が問題となることがあり、SLS についても日本国内における経口投与での 1 日最大使用量は 300 mg と多くない。今回のマイクロスポンジ (MS20:1-SLS, MS6:1-SLS, MS4:1-SLS) では、Cyc に対しそれぞれ 1/20, 1/6, 1/4 量の SLS を含んでいる。Cyc 製剤の製品情報より国内で最も多く投与される用量は、肝移植における拒絶反応の抑制に対して 1 日 16 mg/kg である。体重 60 kg の患者への Cyc の 1 日投与量 (960 mg) から換算すると、最も配合量の多いマイクロスポンジ (MS4:1-SLS) を服用する場合、SLS の 1 日投与量は 240 mg となり、日本での使用前例の上限値 (300 mg) に近くなる。そこで、安全性の観点から SLS 配合量が少ない処方 (MS6:1-SLS) をマイクロスポンジの最適処方とした (SLS の 1 日投与量は最大で 160 mg)。

第7節 マイクロスポンジからの薬物放出メカニズム

湿式粉碎と滴下凍結乾燥の両工程によって調製したマイクロスポンジの溶解改善のメカニズムを Fig. 13 に模式図化した。マイクロスポンジは、滴下凍結乾燥工程により、液体窒素中に滴下された液滴が瞬時に凍結するため液滴の形状を保持したまま真球状の氷結粒となる。この氷結粒内に点在する微細な氷晶が乾燥除去されることにより、微細空隙を獲得したスポンジ様の顆粒を形成する。また、マイクロスポンジ内には湿式粉碎したサブミクロンサイズの Cyc 粒子が均一に分散している。マイクロスポンジが水相に投入されると、その特徴的な多孔質構造が顆粒内部への水の導水を促進し、顆粒を構成する支持体である水溶性マトリクス基剤（HPC, SLS）が溶解する。続いて、包埋された Cyc 粒子が水相に迅速に分散し、自発的に懸濁液を形成する。この懸濁液中の Cyc の粒子サイズは、湿式粉碎工程により得られた粉碎 Cyc 粒子と同等である。速やかに水相に分散したナノ懸濁液は、その膨大な表面積ゆえ、迅速な初期溶出と高い溶出率を示す（Fig.13 の上図）。一方、粉碎されていない粗大な Cyc 粒子が包埋されたマイクロスポンジの場合、水中で形成された粒子サイズの粗い Cyc から成る懸濁液は、再分散した Cyc の溶解を促進できるものの、その溶解速度は分散する Cyc 粒子のサイズと比表面積に依存し、粉碎された Cyc 粒子を包埋したマイクロスポンジほど速くないと考察した（Fig. 13 の下図）。

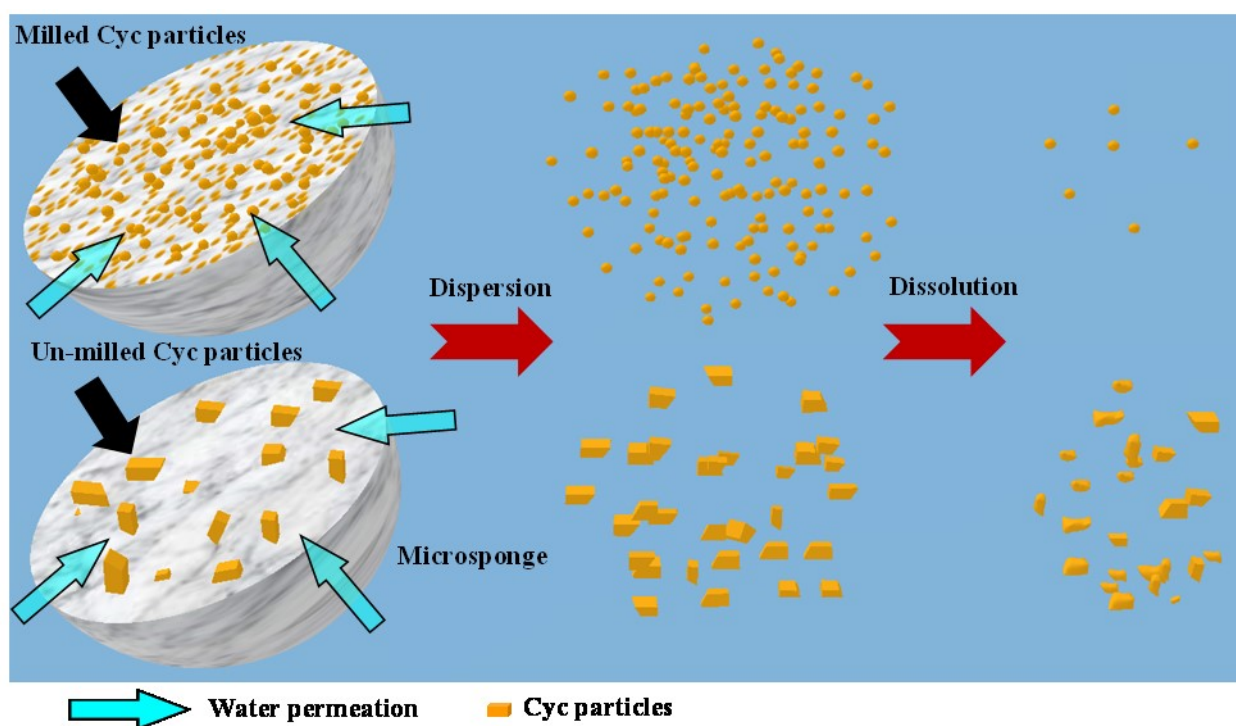


Fig. 13 Schematic diagram of redispersing process of microsphere in dissolution medium.

第8節 小括

Cyc、HPCとSLSの組成比と包埋されたCyc粒子のサイズが異なるマイクロスポンジを調製し、それらの形態観察及び薬剤学的特性を評価した結果、以下の知見を得た。

- 1) Cycの湿式粉碎工程における粉碎促進剤としては、HPCの方がPVPよりも優れており、最適な組成比はCyc:HPC:SLS = 20:5:1であった。

- 2) 湿式粉碎と滴下凍結乾燥（DFD）工程により得られた顆粒は、多孔質な球状の顆粒であることをSEM観察より確認した。顆粒内部の無数の細孔は凍結乾燥時の氷晶の昇華により生じた空洞と推察され、そのスポンジ様の形態的特徴から、この球形顆粒をマイクロスポンジと名付けた。
- 3) マイクロスポンジを水相に投入した際、包埋する微細なCyc粒子が直ちに再分散し、湿式粉碎で得られた元の懸濁液を構築する自発的分散性を有することが分かった。これは、多孔質構造により空隙への水の浸透を促進し、続いて水溶性基剤のHPC及びSLSから構成されるマトリックスが溶解した後、包埋されたCyc粒子が放出されたものと考察した。
- 4) DFD工程に供する滴下溶液の固形分濃度はマイクロスポンジの製造性に、処方成分中のHPC比率は包埋されたCyc粒子の再分散性に、SLSの配合比率は試験液に対する薬物の溶出率に著しい影響を与えることが示唆された。
- 5) マイクロスポンジのサイズは、DFD工程に供する滴下懸濁液中のCycの一次粒子サイズには影響を受けることなく、滴下ノズルの口径により一義的に決定されることが示された。
- 6) マイクロスポンジが水相で構築する懸濁液中のCycの粒子サイズは、DFD工程に供した滴下懸濁液中のCycの粒子サイズに一致しており、この粒子サイズが初期溶出速度と溶出率に相関が見られたため、マイクロスポンジに包埋されたCyc一次粒子のサイズが溶出性の改善度合いに大きく寄与していることを明らかにした。

以上、湿式粉碎法と滴下凍結乾燥（DFD）法を組み合わせた調製法により、水相中での自発的分散性に優れ、優れたCycの溶出性を示す多孔性球形顆粒（マイクロスポンジ）の設計に至った。

第2章 Cyc 顆粒の設計

第1節 緒言

Cyc製剤では、対応する適応症や患者の体重により用量（投与量）が調節されるため、1回投与量は1～16 mg/kgと広範囲にわたる¹⁾。日本国内で市販されている製剤として軟カプセル剤、内用液剤、細粒剤があり、そのうち用量調整が可能な製剤は後者の二製剤である。それぞれの製剤のCyc含量は内用液剤が10%、細粒剤は17%と各剤形1濃度の製品が市販されている⁴⁾。前章にて最適処方としたMS6:1-SLSは、Cycを47%含有する高含量顆粒剤であり、市販製品に比べCyc含量が高く、用量調整が可能かつ市場に無い新たな剤形と位置付けられる。本章では多様な用法用量に柔軟に対応するため、Cyc含量が47%よりも低い複数の含量を有する顆粒剤の設計を企図した。

第2節 含量の異なる Cyc 顆粒剤の調製

湿式粉碎及び滴下凍結乾燥時の処方MS6:1-SLS（MS6:1-SLS, Table 4）を基本とし、Cyc含有率を調整するため口腔内崩壊錠用賦形剤として汎用されているMNTを滴下溶液に新たに添加した。なお、MNTを選択した理由は水溶性であることから、滴下溶液のノズル閉塞のリスクを回避でき、再分散試験においてCycのみの粒子径を簡便に評価できるためである。顆粒剤中のCyc含有率が6.67%、10%、20%及び30%となるようMNT配合量を調整し（GR-C6.67%, GR-C10%, GR-C20%, GR-C30%, Table 5）、Cyc含量の異なるマイクロスポンジを製した。Cyc:HPC:SLS = 60:57:10に統一し、MNTの配合比を変更している。前章までは調製した球形粒子をマイクロスポンジと称してきたが、市販製剤としての適用を考慮し、本章以降は調製物を顆粒（Granule）と表記する。Table 5の処方名GRはGranuleに由来し、C以降の表記はCycの含有率を示している（GR-C20%はCycを20 w/w%含有する）。なお、GR-C47%は前章にて設定した最適処方（MS6:1-SLS）である。

第3節 Cyc 顆粒の物理化学的特性評価

調製した顆粒のSEM観察、及び粒度測定の結果をFig. 14、Fig. 15に示す。得られた顆粒の表面を観察すると、MNTを配合していない顆粒（GR-C47%）では、前述したように凍結乾燥時に水分が揮発することで形成される多孔質な顆粒であったが（e-2, Fig. 14）、MNTの配合量が増えるほど表面の微細な亀裂模様が減少していく様子が観察された（e-2 → a-2, Fig. 14）。Table 5の処方に示した通り、MNTの添加量に応じて滴下液の水量を調整して固形分濃度を5%付近に統一しているため、粒子密度は異ならないと推測した。表面状態に相違が生じたのは、MNTの結晶化が液滴表面で生じた結果、HPCからなるネットワーク構造を緻密に穴埋めする壁土効果をもたらしたためと推察した。また、いずれの顆粒もD50値が300～400 μmとDFD工程に使用したノズル径（120 μm）の3倍程度のサイズを有する球形粒子が形成され、粒度の揃った球形を呈しており、MNTを配合した場合も調製される顆粒サイズはノズル口径の約2～3倍となる一般則に合致していた。このことからDFD工程は粉碎懸濁液の粉体化に留まらず、滴下溶液に賦形剤を添加することで任意に粒子サイズの調整を可能とする顆粒剤の調製法としても有用と考えられた。

Table 5

Formulation of wet milling process and drop freeze-drying process to produce granules with various Cyc contents.

Process	Materials	unit	Symbol ^a				
			GR-C6.67% (GR-S5%)	GR-C10%	GR-C20%	GR-C30%	GR-C47% (MS6:1-SLS)
Wet-milling ^b	Cyc	mg	600	600	600	600	600
	HPC	mg	150	150	150	150	150
	SLS	mg	30	30	30	30	30
	Water	mL	15	15	15	15	15
Drop freeze-drying	HPC	mg	420	420	420	420	420
	SLS	mg	70	70	70	70	70
	MNT	mg	7730 ^c	4730 ^c	1730 ^c	730 ^c	0 ^c
	Water	mL	165 ^d	105	45	25	9
Cyc content in granules		w/w%	6.67	10.00	20.00	30.00	47.24
Solid concentration in suspension		w/v%	5	5	5	5	5.3

^a GR-C6.67%, GR-C10%, GR-C20%, GR-C30%, GR-C47% indicate granule (GR) containing 6.67%, 10%, 20%, 30%, 47% of Cyc (C), respectively.

^b The component/composition was in wet-milling process common in all formulations.

^c The amount of MNT in suspension to be supplied to drop freeze-drying process was changed to produce the granules with various Cyc contents.

^d The supplemental volume of water was changed to set the various solid concentrations in suspension to be supplied to drop freeze-drying process.

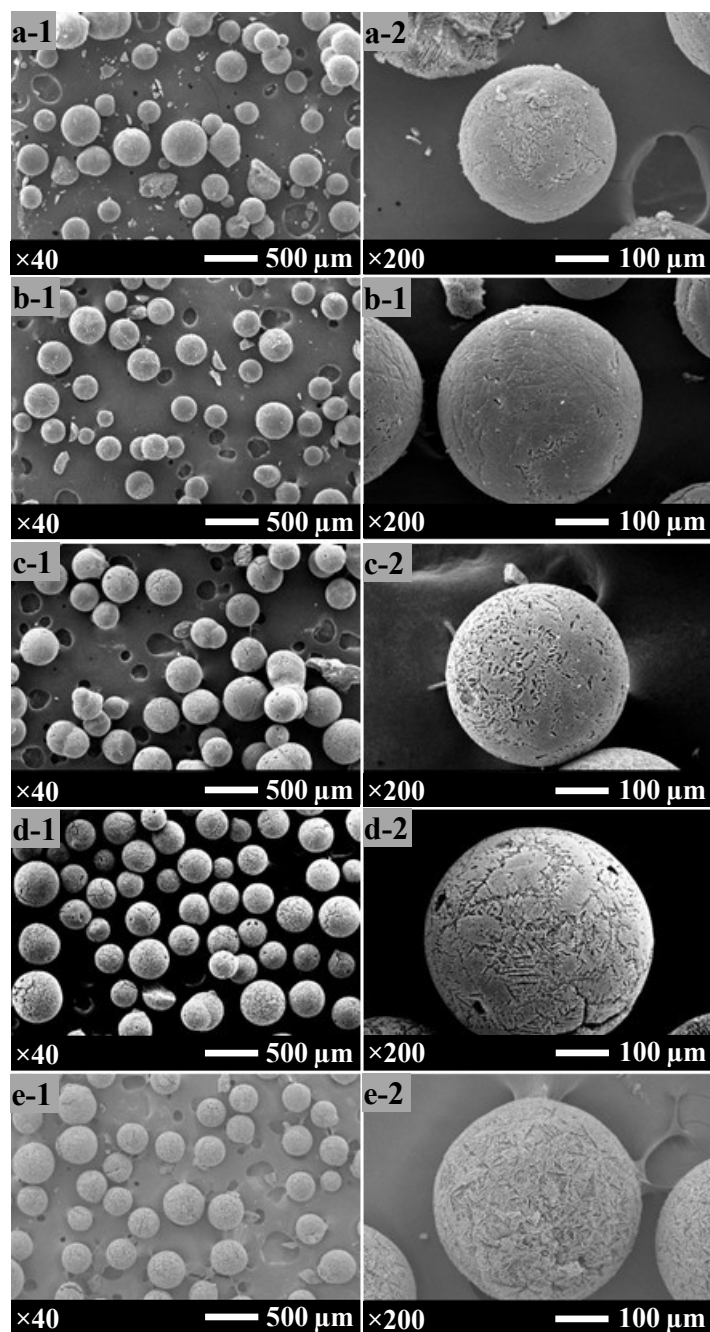


Fig. 14 Scanning electron microphotographs of granules prepared from dropping suspension with various Cyc concentrations.

Key: (a) GR-C6.67% (GR-S5%), (b) GR-C10%, (c) GR-C20%, (d) GR-C30%, (e) GR-C47% (MS6:1-SLS). Appearance under 1) low and 2) high magnification.

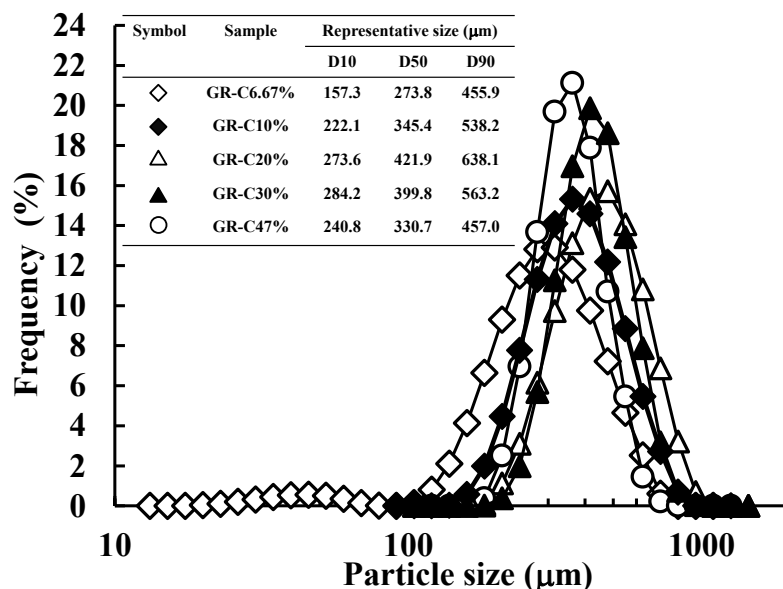


Fig. 15 Effect of Cyc content in dropping suspension on particle size distribution of granules measured by laser diffraction scattering method.

Key: (◇) GR-C6.67% (GR-S5%), (◆) GR-C10%, (△) GR-C20%, (▲) GR-C30%, (○) GR-C47% (MS6:1-SLS).

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$).

第4節 Cyc 顆粒の薬剤学的評価

調製した Cyc 含量の異なる顆粒からの Cyc 粒子の再分散性を評価した (Fig. 16 (a), 挿入図は 10 分以降のメジアン径を標準軸に拡大プロットしたものである)。いずれの顆粒も投入後 5 分以内にサブミクロン懸濁液を再構築し、水相中での優れた自発的再分散性を呈した。第 1 章で設計されたマイクロスポンジの内部には粉碎された Cyc 粒子が HPC のネットワークに均一に分散されていることを明らかにしており、本章では MNT を滴下溶液に添加し同一製法により顆粒剤を調製していることから、顆粒内部にも粉碎 Cyc ナノ粒子が均一に分散しているものと推察される。このことから水相へ投入後、直ちに顆粒を構成する水溶性基剤が溶解し、HPC/MNT マトリックスに包埋されている Cyc ナノ粒子が凝集することなく一次粒子の状態で水相中に分散したものと考察した。6.67～47% の Cyc 含量の異なる顆粒からの Cyc 溶出性を評価した結果を Fig. 16 (b) に示す。いずれの顆粒も 10 分時点で 95% 以上の溶出性を示し、初期溶出速度に優れ、平衡値の高い Cyc 溶出性を有することが確認された。こうした良好な溶出挙動は、Fig. 16 (a) に示した水相中における優れた自発的再分散性に基づくものである。追加配合した MNT は水溶性が高く、基本処方 of マイクロスポンジ (GR-C47% = MS6:1-SLS, Table 5) の優れた自発的分散性と高い溶出性を阻害することなく、MNT 配合後においてもそれが維持されたものと推察した。本研究により、湿式粉碎法と滴下凍結乾燥法を組み合わせることにより、幅広い含量 (6.67～47%) の Cyc の溶解性改善型顆粒剤が調製可能であることが示された。

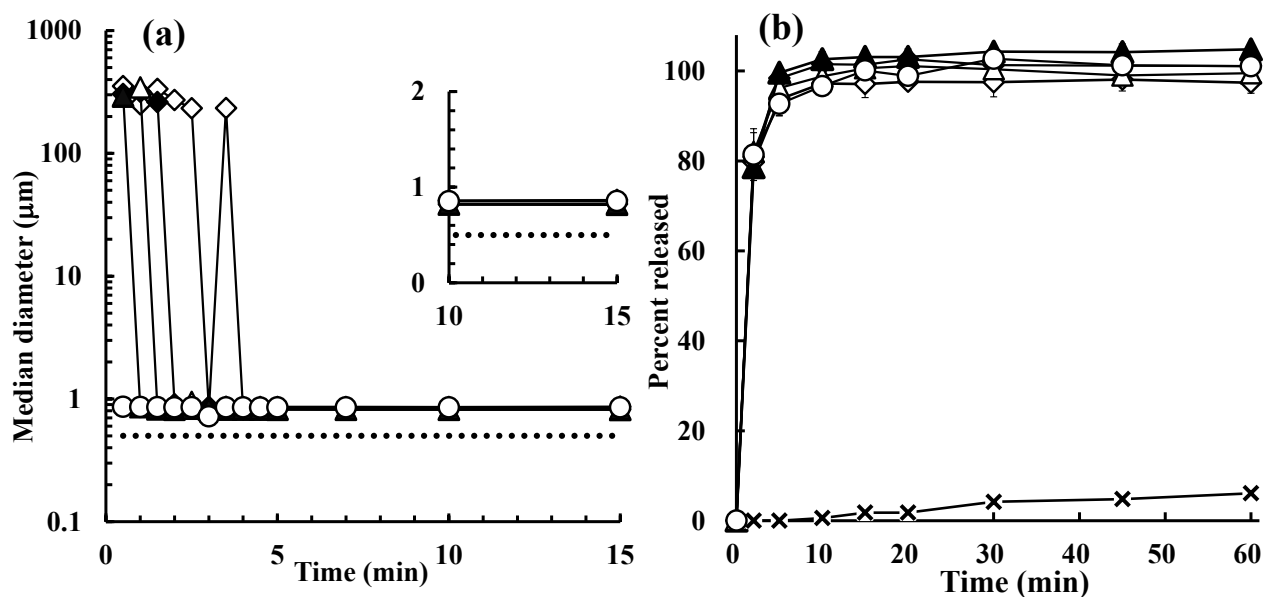


Fig. 16 Effect of Cyc content on (a) self-dispersion profiles of granules and (b) dissolution profiles of Cyc from granules prepared with various Cyc contents in water. Insert graphs in (a) represents the median diameter in normal enlarged vertical axis.

Key: ($\diamond$) GR-C6.67%, ($\blacklozenge$) GR-C10%, ($\triangle$) GR-C20%, ($\blacktriangle$) GR-C30%, ($\circ$) GR-C47% (MS6:1-SLS), ($\times$) Cyc-S bulk.

Dotted line in (a) indicates D50 size of original wet-milled nanosuspension.

Each point represents the measured value of $n=1$ in (a).

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$) in (b).

第5節 小括

Cycの含量調節剤としてMNTを配合することにより、幅広い薬物含有率（6.67～47%）から成る顆粒を得ることが出来た。得られた顆粒の形状観察、再分散試験及び溶出挙動から以下の知見を得た。

- 1) 湿式粉碎法により得たCycナノ懸濁液に口腔内崩壊錠用賦形剤として汎用されている水溶性のMNTを添加しDFD工程に供することで、滴下時にノズル閉塞を起こすことなく、任意のCyc含有率を有する顆粒剤を調製することができた。
- 2) MNTの配合量が増えるほど顆粒表面の微細な亀裂模様が減少する傾向が観察された。これは、MNTの結晶化が液滴表面で生じた結果、HPCからなるネットワーク構造を緻密に穴埋めする壁土効果をもたらしたためと推察した。
- 3) Cyc含有率の異なる顆粒（GR-C6.67%, GR-C10%, GR-C20%, GR-C30%）の全てが、水相へ投入後5分以内に元のナノ懸濁液を再構築し、水相中での優れた自発的再分散性を呈した。これはマイクロスポンジ同様、顆粒を構成する水溶性基剤が溶解し、HPC/MNTマトリックスに包埋されているCycナノ粒子が凝集することなく一次粒子の状態で水相中に分散したものと推察した。
- 4) Cyc含量の異なる顆粒（GR-C6.67%, GR-C10%, GR-C20%, GR-C30%）の溶出挙動は、10分時点で95%以上の極めて高い溶出率を示し、Cycの溶解性が著しく改善された。

以上、DFD工程に供する滴下懸濁液に水溶性賦形剤MNTを配合することで、優れたCyc溶出性を有する幅広い含有率（6.67～47%）から成るCyc顆粒剤の設計に至った。

第3章 Cyc錠の設計

第1節 緒言

Cycの主要剤形として、日本では3用量（10 mg, 25 mg及び50 mg）の軟カプセル剤が市販されている。前述したように、Cyc製剤は対応する適応症や患者の体重により投与量が調節されている¹⁾。そのため、本研究では10 mg, 25 mg, 50 mgの中で細やかな投与量調整に対応が可能な10 mg含量を研究の端緒として選択し、Cyc錠を設計することとした。

錠剤形状と大きさは、高齢者、学生を対象とした錠剤の嗜好性に関するOshima等の報告⁴²⁾がある。それによれば、双方ともに飲みやすく握みやすい錠剤の大きさは、円形錠の場合には直径7～8 mmである。そこで本研究では、錠剤径8 mmの円形錠とし、試打検討を踏まえて適度な厚みとなるよう錠剤質量を150 mgに設定した。Cyc10 mgを含有し質量150 mgの錠剤とするため、第1章にて最適化したマイクロスポンジ（MS6:1-SLS）に賦形剤としてMNTを混合し、成錠化を試みた。しかしマイクロスポンジのかさ密度がMNT原末と比べてかなり小さく、両者の混合均一性や錠剤毎の含量均一性に課題が生じた。また、混合末のかさ体積が大きくなり、1錠分の混合末が打錠臼へ入りきらないという問題点も露呈した。ここで、マイクロスポンジを他の賦形剤とともに造粒し、重質化することにより打錠臼への充填性を改善することも考えられたが、その特徴的な多孔質構造を破壊し、優れた溶解性が損なわれることが危惧された。そこで、マイクロスポンジの設計段階で賦形剤を予め配合しておく方が得策であるとの結論に至り、第2章で設計したMNT配合Cyc顆粒の直打による錠剤の調製を試みた。即ち、湿式粉碎法とDFD法にて得られた顆粒をそのまま打錠用顆粒として用い、他の添加剤（結合剤、崩壊剤）との混合工程を経由しない簡便かつ効率的な錠剤の調製法とすることを発案した。

第2節 打錠用顆粒の調製と粒子特性

第2章にて検討したGR-C6.67%顆粒（GR-C6.67, Table 5）では150 mgあたりのCyc含量が10 mgとなり、目標とする錠剤処方に合致したことから、本顆粒（GR-C6.67%）を10 mg含有Cyc錠の打錠用顆粒として選定した。しかしながら、MNTを配合した本顆粒においても依然としてかさ高く、打錠臼へ1錠分の打錠用顆粒を充填するのが困難であった。そこで、打錠用顆粒としての適性を付与するため、顆粒の重質化を試みた。滴下液滴中の固形分濃度を上げることで粒子密度が高い重質な顆粒が得られるものと考え、GR-C6.67%処方成分・組成は固定し、希釈水量を減ずることで滴下溶液中の固形分濃度を5%から20%まで順次増加させ、打錠用顆粒を調製した（GR-S5%, GR-S10%, GR-S15%, GR-S20%, Table 6）。なお、滴下溶液の調製時にすべての処方でMNTが完全に溶解していることを確認している。処方名のGRは前章と同様にGranuleに由来し、S以降の表記は滴下溶液中の固形分濃度（Solid concentration）を示している（S20%は滴下溶液の固形分濃度20%）。

得られた顆粒はいずれの処方でも、第2章で調製された固形分濃度5%の顆粒（GR-C6.67% = GR-S5%, Fig. 14-a）と同じくMNTによる緻密な表面状態を有した球形状を呈していた（Fig. 17）。これとは別に、滴下溶液を滴下装置の代わりに駒込ピペットの先端から液体窒素中に落下させ、Fig. 18の拡大写真に示すような直径約4 mmの巨大顆粒を調製し、真球とみなして画像解析より算出した20個分の総体積と総質量から粒子密度を算出し、各種顆粒の密度に関する物性値をTable 7に一覧化した。得られた顆粒の粒子密度は滴下溶液の固形分濃度とほぼ一致し（例えば5 w/v%の場合、0.047 g/cm³）、滴下時の固形分濃度がそのまま乾燥後の粒子密度となることが検証された。これらの結果

は、DFD法では顆粒の粒子サイズのみならず、粒子密度についても任意に調整が可能であることを示している。固形分濃度の変更により、調製した顆粒による粉体層の密度（かさ密度、タップ密度）は増大し、GR-S15%とGR-S20%顆粒では臼への充填の問題が解決した。またCarrは流動性の尺度として、タッピング充填前後のかさ密度の減少度合い（圧縮度）が20%未満の場合にハンドリング性が良好であると提唱している⁴³⁾。測定に用いたサンプル量が0.5 g未満と少量であったことが影響し、GR-S15%、GR-S20%では標準偏差が大きく、GR-S15%では圧縮度が20%を僅かに超えたものの、その他の顆粒は20%未満となった。つまり、滴下溶液が高濃度になるに従い圧縮度が小さくなる傾向が認められ、粒子密度の重質化による流動性の改善が示された。一方、顆粒の比表面積値は、Cyc原末（ $3.24 \text{ m}^2/\text{g}$ ）と比較し約3～5倍に顕著に増大し、その多孔質構造はMNTを配合しても維持された。顆粒間で比較すると、液滴中の固形分濃度が高くなるに従い、顆粒内部の細孔体積が減少して比表面積は低下するものの、GR-S20%でも $10.96 \text{ m}^2/\text{g}$ と大きな値を持つことが示された。

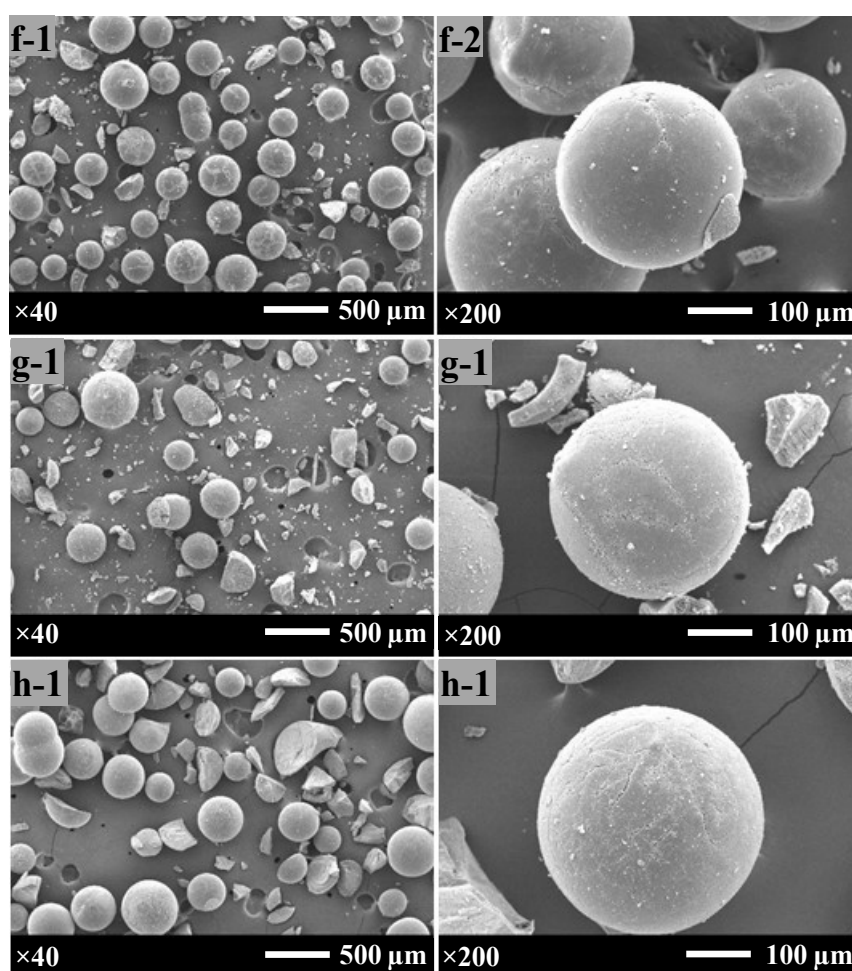


Fig. 17 Scanning electron microphotographs of granules prepared from dropping suspension with various solid concentration.

Key: (f) GR-S10%, (g) GR-S15%, (h) GR-S20%.

Appearance under 1) low and 2) high magnification.

Pictures of big granules for particle density measurement.

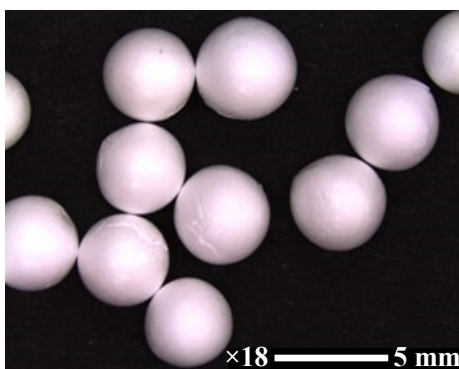


Fig. 18 Pictures of big granules for particle density measurement.

Table 6

Formulation of wet milling process and drop freeze-drying process to produce granules with various solid concentration in suspension.

Process	Materials	unit	Symbol ^a			
			GR-S5% (GR-C6.67%)	GR-S10%	GR-S15%	GR-S20%
Wet-milling ^b	Cyc	mg	600	600	600	600
	HPC	mg	150	150	150	150
	SLS	mg	30	30	30	30
	Water	mL	15	15	15	15
Drop freeze-drying	HPC	mg	420	420	420	420
	SLS	mg	70	70	70	70
	MNT	mg	7730 ^c	7730	7730	7730
	Water	mL	165 ^d	75 ^d	45 ^d	30 ^d
Cyc content in granules		w/w%	6.67	6.67	6.67	6.67
Solid concentration in suspension		w/v%	5	10	15	20

^a GR-S5%, GR-S10%, GR-S15%, GR-S20% indicate granule (GR) prepared from nanosuspension with 5%, 10%, 15%, 20% of solid concentration (S).

^b The component/composition was in wet-milling process common in all formulations.

^c The amount of MNT in suspension to be supplied to drop freeze-drying process was changed to produce the granules with various Cyc contents.

^d The supplemental volume of water was changed to set the various solid concentrations in suspension to be supplied to drop freeze-drying process.

Table 7

Particle, bulk and tapping density and specific surface area of granules prepared from dropping suspension with various solid concentrations.

Symbol	unit	GR-S5%	GR-S10%	GR-S15%	GR-S20%
Particle density	g/cm ³	0.047	0.112	0.168	0.197
Bulk density ^a	g/cm ³	0.045 ± 0.001	0.058 ± 0.000	0.070 ± 0.003	0.102 ± 0.002
Tapping density ^a	g/cm ³	0.054 ± 0.001	0.069 ± 0.001	0.089 ± 0.000	0.112 ± 0.008
Compression ratio ^a	%	16.93 ± 0.95	15.47 ± 0.81	20.87 ± 2.91	8.33 ± 5.10
Specific surface area	m ² /g	16.74	13.40	11.91	10.96

^a Each value represents the mean ± S.D. (n=3).

第3節 打錠用顆粒の錠剤化

前節で調製した同一組成で粒子密度の異なる打錠用顆粒 (GR-S5%, GR-S10%, GR-S15%, GR-S20%, Table 6) 150 mg を量り取り、直径 8 mm の打錠用臼に手充填し、万能圧縮引張試験機にて錠剤を製した。HPLC を用いた定量により錠剤中の Cyc 含量は、1 錠当たり 9.5~10.6 mg と目標値 10 mg に対し±6.0%以内の偏差となっていることを確認した。錠剤の処方名をそれぞれ TB-S5%、TB-S10%、TB-S15%、TB-S20%とした (TB は Tablet に由来し、S 以降の表記は打錠用顆粒と同様)。粒子密度の異なる顆粒を用い、3 水準の圧力 (25 MPa, 50 MPa, 75 MPa) にて圧縮成形した際に得られた錠剤の厚み、硬度の打錠圧に対する関係を Fig. 19 に示した。いずれの打錠用顆粒も打錠圧が高くなるに従い錠厚は薄くなり、錠剤硬度が高くなる傾向が認められた。本研究では打錠用顆粒に新たに結合剤を追加混合することなく直打したが、50 MPa 以上の打錠圧では 70 N 以上となり、Okuda 等が報告した実用上で求められる硬度閾値の 50 N 以上に適合し⁴⁴⁾、良好な圧縮成形を有していた。そこで以降の検討では打錠圧を 50 MPa に固定した。打錠時に結合剤の追加を必要とせず、良好な錠剤硬度が得られたのは、湿式粉碎工程では粉碎促進剤として、その後の固形化工程では賦形剤として配合した HPC が結合剤として機能したためと考える。また、特異のスポンジ構造が塑性変形を助長し、優れた圧縮成形性に寄与したことも一因であると推察した。打錠用顆粒間で錠剤の硬度を比較した時、塑性変形し易い低粒子密度の顆粒ほど錠剤硬度が増大すると予測したが、実際には相関性が認められなかった (15%>10%>5%>20%の順に錠剤硬度が高い)。原因として、粒子密度が低い打錠用顆粒 (GR-S5%, GR-S10%) では打錠用臼への充填時に、1 度に全量を充填することが出来ず、GR-S5%では 3 回、GR-S10%では 2 回に分けて手作業での充填と打錠臼内で軽く圧縮する操作を繰り返したため、これらの錠剤では内部に強度偏析が生じ、硬度が見かけ上低くなったものと考えた。

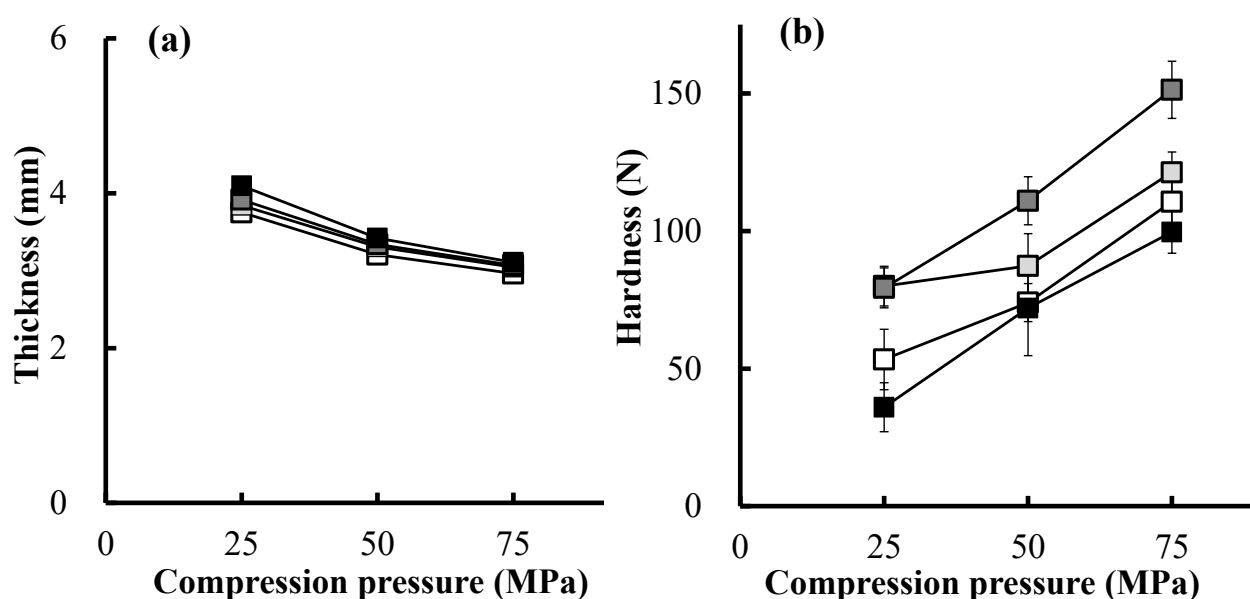


Fig. 19 Effect of particle density of granules on (a) thickness and (b) hardness of tablets compressed at various compression pressures.

Key: (□) TB-S5%, (◻) TB-S10%, (◼) TB-S15%, (■) TB-S20%.

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$) in (b).

第4節 Cyc錠の薬剤学的特性

薬剤学的特性として、錠剤の水相中での崩壊挙動を評価した。打錠圧 50 MPa にて圧縮成形した錠剤の崩壊時間は、日局に準拠した試験法においていずれも約 10 分であった (TB-S5%: 542 ± 164 s, TB-S10%: 635 ± 24 s, TB-S15%: 577 ± 26 s, TB-S20%: 633 ± 19 s, $n=3$)。なお、本錠剤の崩壊挙動は接水した基剤が溶解する浸食型であることを崩壊試験中の目視観察にて確認した。崩壊剤を配合せずとも水相投入後 10 分程度で完全に消失した。打錠圧 50 MPa で調製した錠剤 (TB-S5%, TB-S10%, TB-S15%, TB-S20%) の破断面を SEM にて観察したところ、いずれの錠剤においても打錠用顆粒の形状は失われ、微細な空隙を残した微結晶の集積構造が観察された (Fig. 20)。第 1 章にて、滴下凍結乾燥法で調製したマイクロスポンジの内部は、粉碎された Cyc 粒子が支持層内に均一に分散したマトリックス構造を有していることを明らかにした。滴下溶液に MNT を配合し、水量調節による固形分濃度の変更を行った以外は共通の処方より顆粒を調製していることから (Table 6)、打錠用顆粒においても同一の構造を成し、更にそれを直打して得た錠剤においても Cyc 粒子が MNT 結晶間に点在したマトリックス構造を形成していると推察した。これら積層構造の主成分が親水性の MNT と HPC であり、微小空隙を伝わって錠剤内部へ急速に水が浸透し、接水する錠剤表面のみならず、内部からの基剤の浸食も引き起こされ、短時間で錠剤が消失したものと考察した。

次に、調製した各粒子密度を有する打錠用顆粒、及びそれらより製した錠剤からの Cyc 粒子の再分散性と Cyc 溶出性を評価した (Fig. 21 (a), (b)が顆粒, (c), (d)が錠剤)。なお(a), (c)の挿入図は、平衡時の粒子径を明確に表示するため、10 分以降のメジアン径を標準軸にプロットした拡大図である。打錠用顆粒では、粒子密度に依らずいずれも水相投入後 5 分以内には、凍結乾燥前の粒子径 ((a)の点線にて表記) と同程度の粒子径を持つサブミクロン懸濁液を再構築し、15 分時点で 90%以上の溶出率となる優れた Cyc 溶出性能を示した。一方、これらの顆粒を圧縮成形し製した錠剤からの分

散挙動を検出するため、レーザー回折・散乱装置に付属する測定セルの分散液量に応じたミニ錠剤を新たに調製し、測定装置内でリアルタイムの（測定液を採取することなく）粒度分布を測定した。錠剤形状が普通錠と相似形となるようミニ錠剤の直径を 2.8 mm に設定した。このミニ錠剤を精製水に投入した後の分散挙動を Fig. 21 (c) に示した。水相に投入後、分散粒子の大きさが数百 μm から数 μm 域に小さくなる推移は錠剤の崩壊・消失過程を表しており、プラトー域に到達する分散時間は Fig. 21 (a) に併記した顆粒と比べ、5～7 分程度延長した。また錠剤が完全に崩壊した 10 分以降でも、分散した粒子はシングルミクロン域に留まり、1 μm 未満のサブミクロンサイズに到達しない錠剤が認められた。これは打錠により Cyc の 1 次粒子同士が強く圧着し、サブミクロンサイズの 1 次粒子への再分散性機能を発揮できなかったためと推察した。

錠剤からの溶出挙動 (Fig. 21 (d)) は、打錠用顆粒 (Fig. 21(b)) に比べて初期溶出がやや緩慢で、30 分時点で到達した平衡溶出率は 80%ほどとやや低い結果となった。錠剤の場合、顆粒に比べ崩壊に時間を要するため初期溶出がその分遅延し、またミニ錠剤の再分散性試験の結果 (Fig. 21 (c)) から推察されるように、圧縮工程による薬物粒子の圧着により Cyc 分散粒子が若干肥大化したため、平衡溶出率が低下したものと考察した。溶出試験の際に浸食により錠剤が完全に崩壊するまでの時間は、ミニ錠剤の分散挙動で示された時間や崩壊試験で計測された崩壊時間よりも長く、20 分程度要することが観察された。これはミニ錠剤の分散試験では攪拌子を用いており、崩壊試験では上下に試験器を動かすことにより錠剤へ水流の負荷が加わり、溶出試験の緩やかなパドル攪拌 (50 rpm) に比べ、水による浸食を促しているものと考えられた。また通常錠はミニ錠剤と比べ錠厚が厚く (3.4 mm vs 1.2 mm)、溶出に関わる導水距離が長い (肉厚な) 通常錠では溶出時間が遅延する一因となったことも考えられた。即ち、浸食時間が異なることから錠剤からの Cyc 粒子の再分散性も低下しているものと推察した。加えて、この水流の負荷は溶出試験中において再分散した Cyc 粒子サイズにも影響し、攪拌子を用いて分散したサイズよりも大きな粒子で分散しているものと考えられ、この点も顆粒と錠剤の平衡溶出率に差が生じた要因であると考察した。更に、Fig. 16 に示した GR-C6.67% ($\diamond$) と Fig. 21 に示した GR-S5% ($\circ$) は同一製剤であるが、Fig. 16 に比べ Fig. 21 では平衡溶出率が低下し (98.1%→93.3%)、Fig. 21 の溶出試験では 60 分以降も溶出率 100%には到達しなかった。Fig. 21 に示した打錠用顆粒及び錠剤の溶出試験は Cyc 10 mg 相当の試料を投入しており、前章までに実施したマイクロスポンジ及び顆粒の溶出試験の投入量の 2 倍量である。これは Cyc の溶解度から勘案すると、Fig. 21 では過飽和量 (900 mL 中 6.57 mg、実験の部 3.11 参照) を大きく越えており、この点も平衡溶出率が低下した一因であると推察した。いずれにしても、錠剤においても Cyc の溶出挙動は、原末と比較して劇的に改善した。本研究で設計された凍結乾燥工程を経由したマンニトール処方錠剤は、薬物と MNT を含む添加剤の懸濁液を凍結乾燥により固形製剤化し、口腔内崩壊錠 (OD 錠) を製する Zydis 技術とも共通しており^{45,46)}、OD 錠の開発にも発展できる可能性を秘めている。

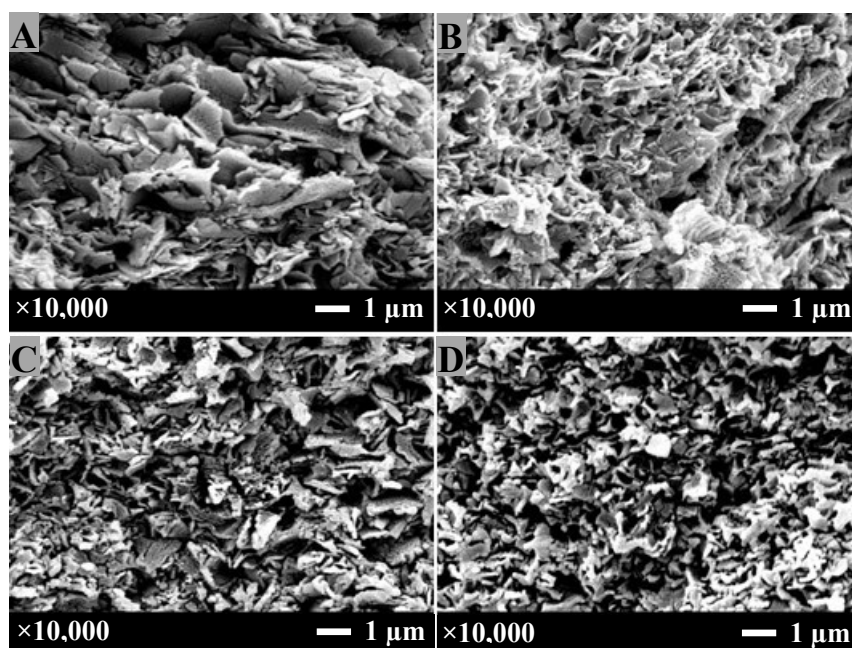


Fig. 20 Scanning electron microphotographs of cross-section of tablet prepared by compression (50 MPa) of granules with various particle densities.

Key: (A) TB-S5%, (B) TB-S10%, (C) TB-S15%, (D) TB-S20%.

Cross-section under high magnification.

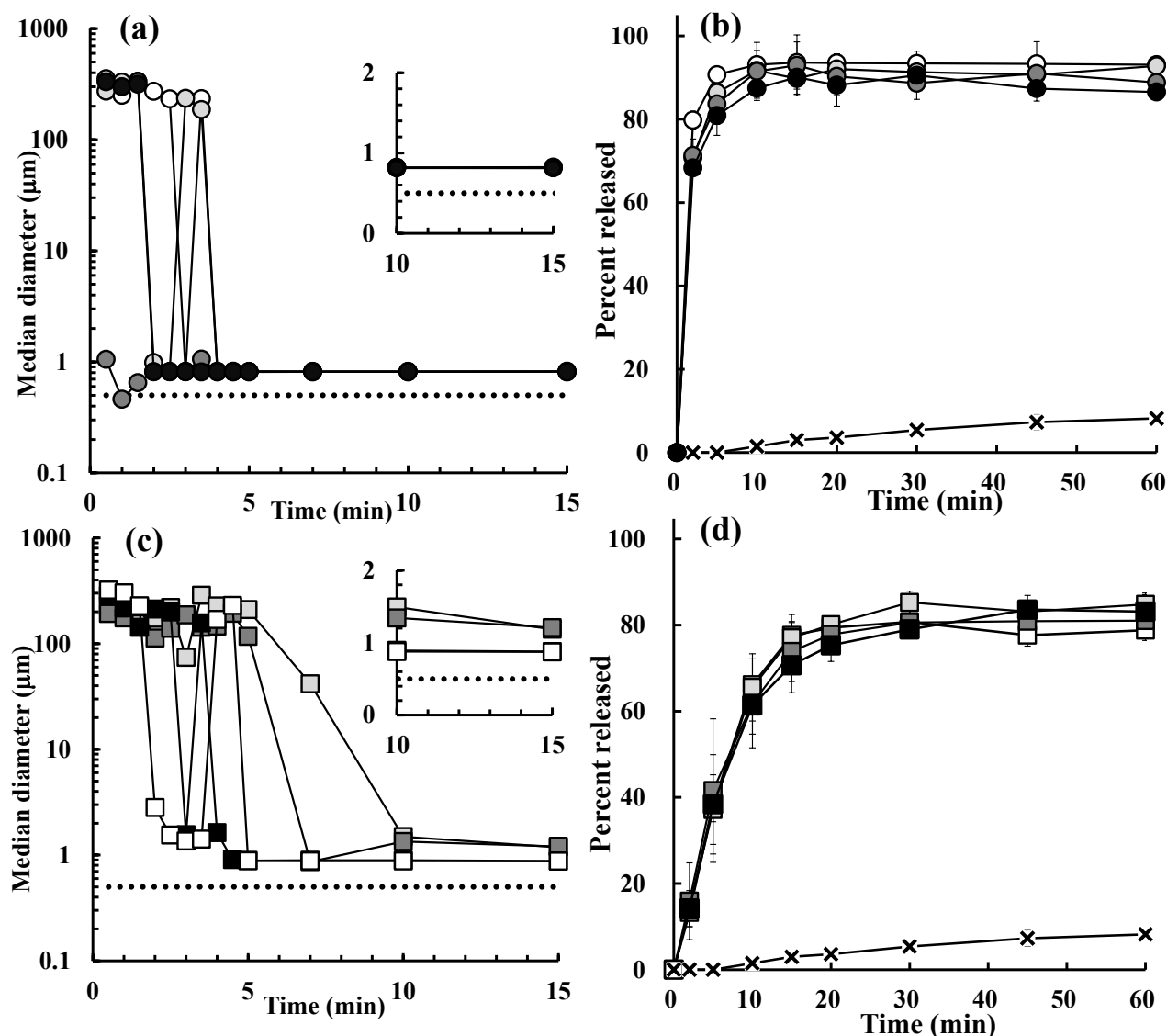


Fig. 21 Effect of particle density on (a, c) self-dispersion profiles and (b, d) dissolution profiles of Cyc in water from (a, b) granules and (c, d) tablets prepared from suspension with various solid concentrations.

Insert graphs in (a) and (c) represents the median diameter in normal enlarged vertical axis.

Key: (○) GR-S5%, (◐) GR-S10%, (◑) GR-S15%, (●) GR-S20%, (□) TB-S5%, (◐) TB-S10%, (◑) TB-S15%, (■) TB-S20%, (×) Cyc bulk.

Dotted line in (a, c) indicates D50 size of original wet-milled nanosuspension.

Each point represents the measured value of $n=1$ in (a) and (c).

Each point represents the mean $\pm$ S.D. ($n=3$) in (b) and (d).

第5節 Cyc錠中のMNT結晶性

Cycは分子量が1202と大きく環状の分子構造を有しており、結晶を形成し難いと言われている。また、顆粒剤と錠剤を賦形したMNTには安定結晶形である β 型に加え、準安定形の α 型、 δ 型の合計3種類の結晶形が存在することが知られており⁴⁷⁾、Yoshinari等は湿潤条件においてMNTの結晶転移が起きること、そして、各結晶形はそれぞれ特異的な粒子構造を持ち、塑性変形性が異なるため圧縮特性に違いが生じることを報告している⁴⁸⁾。そこで、本研究にて調製した製剤の物理的安定性を確認するため、調製工程中及び調製した錠剤の保存期間中での結晶状態の変化について粉末X線回折法にて精査した。検出した試料の粉末X線回折像をFig. 22に示す(Aは全回折角範囲、B、Cは低回折角範囲のみを拡大)。(A)は原料のMNTとCyc、並びに調製したマイクロスポンジ(MS6:1-SLS)、打錠用顆粒(GR-S20%)及び錠剤(TB-S20%)の回折チャートである。またMNTの結晶形を同定するため、 α 、 β 及び δ 型MNT純品の回折チャートを(B)に示した。原料に用いたMNT(a)は β 型に特異的回折ピーク(14.6° , ▼)を持ち、 β 型であることが確認された。Cyc原料(b)の回折像はハローパターンを示し、非晶質であることを確認した。MNTを配合していないマイクロスポンジ(MS6:1-SLS, c)も同様にハローパターンを示し、凍結乾燥後もCycは非晶質状態を維持していることを確認した。一方、処方にMNTを配合した打錠用顆粒(GR-S20%, d)及びこれを圧縮成形した錠剤(TB-S20%, e)には δ 型MNTに特徴的な回折ピーク(9.7° , *)が認められ、凍結乾燥にて再結晶化した際にMNTが β 型から δ 型に結晶転移したことが明らかとなった。冷却下で結晶化した際の δ 型への結晶転移はYoshinari等も報告しており⁴⁸⁾。これに符合する結果となった。また圧縮成形工程中には、結晶形が転移しないことも分かった。

次に、準安定形MNT結晶(δ 型)を含有する製剤の保存安定性を予見するため、加速試験条件($40^\circ\text{C}/75\%\text{RH}$)下で保存した錠剤(TB-S20%)の結晶形の測定を行った(C)。その結果、開始時の δ 型MNTに特異的回折ピークは28日間後も不変であり、短期間ではあるが加速条件下で δ 型の結晶形を維持し、結晶安定性に優れた錠剤であることが示された。この結果に呼応して、保存後のCyc分散挙動、溶出挙動には開始時の挙動から変動はなかった。顆粒剤については加速試験条件下での保存安定性を評価できていないが、室温下28日後までMNTの結晶形は開始時の δ 型から不変であった。更に長期間の保存安定性を評価する必要はあるものの、本研究にて開発された顆粒剤・錠剤は、市販流通後においてMNTの結晶転移による物性や薬剤特性の変化が生じ難い保存安定性に優れた錠剤であると推測した。

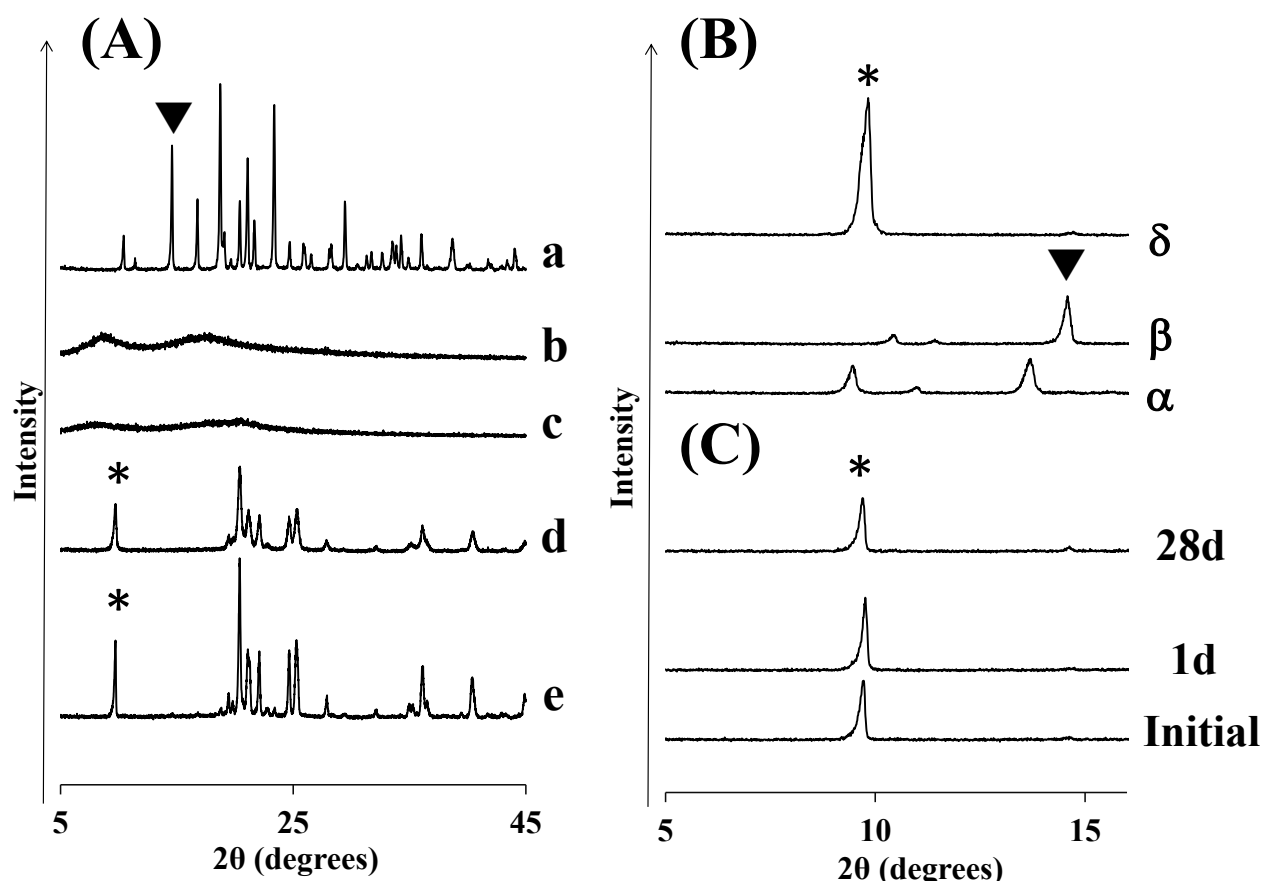


Fig. 22 X-ray powder diffraction patterns of (A) raw materials, microsphere, granule and tablet, (B) MNT polymorphs and (C) TB-S20% under accelerated test condition (40°C/75%RH).

Key: (a) MNT (β -form), (b) Cyc bulk, (c) MS6:1-SLS, (d) GR-S20%, (e) TB-S20%.

▼: specific peak in β -form of MNT. *: specific peak in δ -form of MNT.

第6節 顆粒剤及び錠剤からの薬物溶出メカニズム

第2章で製した顆粒剤、及び本章で製した錠剤からの溶出機構を Fig. 23 に模式化した。顆粒剤を水相に投入すると、第1章で設計したマイクロスポンジと同様に多孔性顆粒内への急速な導水に伴いマトリックス基剤が溶解し、微細 Cyc 粒子が水相中に速やかに分散してサブミクロン懸濁液を形成する。水相中に分散したサブミクロンサイズの Cyc 粒子は膨大な表面積を有しているため、急速な初期溶出と高い平衡溶出率を達成した (Fig. 23 上図)。一方、Cyc 錠の場合、錠剤自身が浸食・崩壊するのに時間を要するため顆粒剤に比べ初期溶出速度が低下するものの、浸食による崩壊後は速やかに錠剤を構成する水溶性基剤 (HPC, MNT) が溶解し、水相中に Cyc 微粒子を分散する。ただし、圧縮過程に一次粒子間で圧着された凝集 Cyc 粒子となって分散することにより、平衡溶出率が顆粒剤と比べて低くなると推察した (Fig. 23 下図)。この錠剤で認められた課題に対する改善策として、添加剤の配合が考えられる。例えば、Cyc 顆粒から成る錠剤内にクロスカルメロースナトリウムに代表されるスーパー崩壊剤⁴⁹⁾を配合し、錠剤自身に速やかな崩壊性を付与することで初期溶出速度を向上する、あるいは平衡溶出量の低下に対しては、結晶セルロースに代表される圧縮成形剤⁵⁰⁾を打錠末に添加し、低打錠圧にて成形し、Cyc 粒子間の圧着を抑制するなどの対処策が思案される。本研究では、Cyc 粒子の速度論的分散挙動を検出する都合上、崩壊剤に多く見られる水に不溶な添加剤をあえて配合しなかった側面があることを補足する。

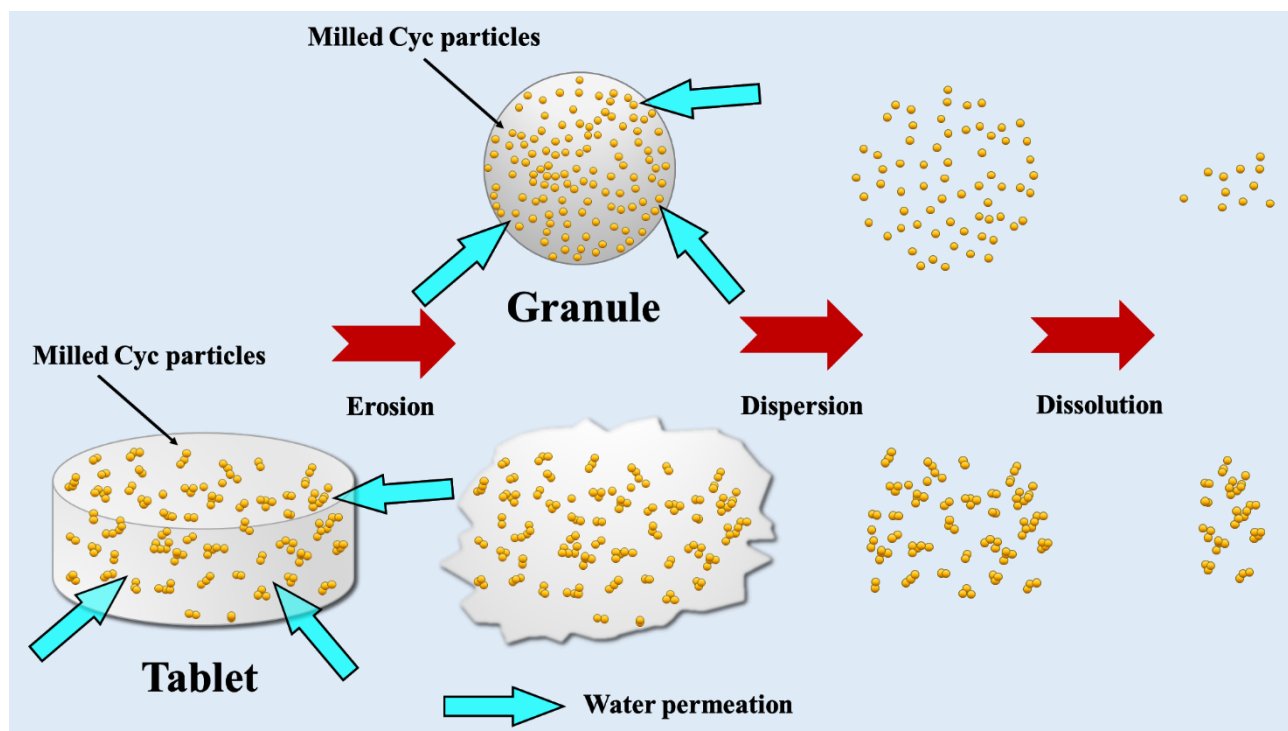


Fig. 23 Schematic diagram of redispersing process of granule and tablet in dissolution medium.

第7節 小括

Cyc顆粒を直打することにより、Cyc錠を調製した。得られたCyc錠の薬剤学的評価及びMNTの結晶安定性評価より次の知見を得た。

- 1) 滴下液滴中の処方成分・分量を固定して希釈水量を調整することで、粒子密度の異なる打錠用顆粒（GR-S5%, GR-S10%, GR-S15%, GR-S20%）を得た。本顆粒を直打することで、質量150 mg、直径8 mmのCyc10 mg含有錠を製し、追加の添加剤との混合及び造粒工程が不要なCyc錠の製造法として確立した。
- 2) 本研究で調製した全ての打錠用顆粒を打錠圧50 MPaで圧縮成形することにより、いずれも錠剤硬度70 N以上と実用上十分な硬度を有する錠剤が調製された。これは湿式粉碎工程で粉碎促進剤として配合したHPCが結合剤として機能したことに加え、特異のスポンジ構造が塑性変形を助長し、優れた圧縮成形性に寄与したためと推察した。
- 3) Cyc錠（TB-S5%, TB-S10%, TB-S15%, TB-S20%）が崩壊剤を配合していないにもかかわらず、短時間で崩壊したのは、錠剤を構成する積層構造の主成分が親水性のMNTとHPCであることから、水相投入後、接水する錠剤表面のみならず、微小空隙を伝わって錠剤内部へ急速に導水し、内部からの基剤の浸食が誘発され、錠剤の崩壊が促進されたものと考察した。
- 4) 錠剤からの溶出挙動は、打錠用顆粒に比べて初期溶出がやや緩慢で、30分時点で到達した平衡溶出率は80%ほどとやや低い結果であった。これは錠剤の崩壊に時間を要すること、及び圧縮により粉碎薬物粒子の圧着が生じ、Cyc分散粒子が肥大化したためであると考察した。
- 5) MNTの結晶形は、凍結乾燥工程にて再結晶化する際にβ型からδ型に転移することが明らかとなった。また、加速試験条件（40°C/75%RH）下での結晶性安定性評価において、錠剤中のMNTの結晶形は保存開始から28日間後も不変であったことから、本研究で設計されたCyc錠は比較的結

晶安定性が高い製剤であることが示唆された。

以上、DFD工程に供する滴下懸濁液の水量調節により密度調整した顆粒を製することで、造粒、混合工程を不要とした直打法による溶解性改善型Cyc錠の設計に至った。

第4章 総括

本研究では、モデル薬物として超難水溶性のシクロスポリン (Cyc) を用い、湿式粉碎法と滴下凍結乾燥 (Drop freeze-drying: DFD) 法を組み合わせた製剤化技術にて 200~500 μm の溶解性改善型 Cyc マイクロスポンジ (多孔質球形顆粒) を設計した。また、DFD 工程に供する滴下溶液にマンニトールを配合することで、幅広い含有率から成る Cyc 顆粒を調製し、更に、本顆粒を直打して錠剤化し、溶解性改善型 Cyc 顆粒及び Cyc 錠を得るに至った。

著者の所属する研究室では、これまでに湿式ビーズ粉碎にて得た薬物ナノ懸濁液を液体窒素中に噴霧し、得られた氷粒を凍結乾燥して粉末化する噴霧凍結乾燥 (Spray freeze-drying: SFD) 法を用い、水相へ投入した際に薬物ナノ懸濁液を再構築し、溶解速度が大幅に改善した機能性粒子を設計する製剤化技術について検討してきた。本 SFD 法により得られる粒子の大きさは 5~20 μm と微粉であったため、噴霧に代えノズルを通して滴下することで、顆粒サイズの大きさの乾燥粒子を調製する DFD 法の開発に至った。そこで本研究では、製剤化技術として汎用されている湿式粉碎技術と DFD 法を組み合わせることで、優れた溶解性と良好な粉体ハンドリング性を有する Cyc 顆粒、更には Cyc 錠の開発を目指した。

はじめに、マイクロスポンジの調製条件及び処方の最適化を試みた。粉碎促進剤として HPC 及び SLS を溶解させた水溶液に Cyc 原末を分散させ、振動型湿式ビーズ粉碎装置を用いた湿式粉碎により得られた Cyc ナノ懸濁液を調製し、これをカプセル化装置のノズルを通し、液体窒素に滴下することで顆粒状粒子を得た。生成した粒子は、無数の細孔を有するスポンジ状の内部構造を持つ多孔質な球形粒子であった。これは液体窒素で凍結させた粒子を乾燥した際、凍結粒子中の微細な氷晶が昇華した後の空洞が細孔となりスポンジ構造を構築したものと考察した。滴下溶液中の固形分濃度はマイクロスポンジの製造性に影響を与え、DFD 工程に供する滴下溶液の固形分濃度は 5~10 w/v% が適していることを見出した。本法で調製されたマイクロスポンジは、水相中において包埋するサブミクロンサイズの Cyc 粒子が直ちに再分散し、湿式粉碎で得られた元のナノ懸濁液を構築する自発的分散性を有していることが示された。また、マイクロスポンジの処方成分中の HPC 比率は、包埋された Cyc 粒子の水相中での再分散性に大きな影響を与えることが示唆された。更に、異なる粒子サイズの Cyc 粒子を包埋したマイクロスポンジの薬剤学的特性を評価した結果、マイクロスポンジからの薬物溶出性は、水相中での分散薬物粒子の粒子径に依存することを明らかにした。しかしながら、Cyc と (HPC+SLS) の質量比を 10:10 とした処方 (MS10:10) では、精製水中での溶出性は優れていたものの、消化管液を模擬した日局溶出試験第 1 液及び第 2 液中では、溶出率が 80% ほどで平衡に達する結果となった。そこで、界面活性作用がもたらす表面張力の低下による薬物の濡れ性の改善を期待し、処方成分中の SLS 量を増量することで (Cyc:SLS = 6:1)、あらゆる試験液においても平衡溶出率が 100% 付近となるマイクロスポンジ処方 (MS6:1-SLS) を見出した。

続いて、適応症や患者の体重により投与量が調節される幅広い Cyc 製剤の臨床用法に対応すべく、様々な含有率の Cyc 顆粒剤の設計を試みた。DFD 工程に供する滴下ナノ懸濁液に口腔内崩壊錠用賦形剤として汎用されるマンニトール (MNT) を添加し、Cyc 含量を調整した。得られた顆粒は MNT の結晶化がもたらす壁土効果により、マイクロスポンジ表面にある微細な亀裂がほとんど消失した球形顆粒であった。MNT を配合した顆粒においても優れた自発的再分散性を維持し、速やかな初期溶出速度と、10 分時点で 95% 以上の極めて高い Cyc 溶出性を有しており、幅広い含有率 (6.67~47%) の溶解性改善型 Cyc 顆粒剤の調製を達成した。次に、滴下凍結液に MNT を添加して密度調

整した打錠用顆粒を製し、本顆粒の直打による製錠を試みた。打錠に適した顆粒とするため、顆粒を重質化させ打錠臼への充填性、流動性を改善した。密度の異なる顆粒を直打した結果、いずれの場合でも実用上十分な硬度 (≥ 50 N) を有し、直径 8 mm、重量 150 mg の Cyc 錠 (10 mg) を得た。得られた Cyc 錠からの溶出挙動は、圧縮前の打錠用顆粒に比べて初期溶出がやや緩慢で、30 分時点で到達した平衡溶出率は 80%ほどとやや低い結果となったものの、原末と比較し、Cyc の溶出性を劇的に改善した Cyc 錠を得るに至った。

以上、湿式粉碎法に DFD 法を組み合わせた技術にて、溶解性改善型 Cyc 顆粒剤及び錠剤を開発した。DFD 工程では設備投資を含めたスケールアップ適性など実生産化に向けた検討が必要となるが、得られた顆粒を単味で直打することで錠剤の製造が可能なことから、生産効率の高い有用な製法であると考ええる。本研究で開発した顆粒剤及び錠剤は、Cyc の低溶解性に起因してシンク条件下で溶出試験ができないため、今後、市販製剤（液剤、軟カプセル、細粒剤）との生物学的同等性試験が必要となるものの、市場にはない汎用剤形（顆粒剤、錠剤）の開発への足掛かりになるものと期待される。加えて、本法はシクロスポリン以外の難水溶性薬物に対しても適用可能と考えられ、難経口吸収性の問題により製品化が困難となっている薬物へ向けた溶解性改善のための新たなプラットフォーム技術となることが期待される。

実験の部

1. 試料

難水溶性薬物としてシクロスポリン (Cyc, 純度 : 99.5%, Teva Czech Industries s.r.o.) を用いた。本研究で使用したCycはレーザー回折・散乱法によるメジアン径 (D50) が4.77 μm の粉碎品 (Cyc-S)、及び57.00 μm の未粉碎品 (Cyc-L) であり、いずれも粉末X線回折法により非晶質であることを確認した。顆粒剤及び錠剤の賦形剤として安定結晶形の β 型マンニトール (MNT) (マンニットP, 三菱商事ライフサイエンス) を採用した。また、湿式粉碎工程における粉碎促進剤として水溶性高分子のヒドロキシプロピルセルロース (HPC) (HPC-SL, 日本曹達) とポリビニルピロリドン (PVP) (Kollidon 30, BASF)、分散安定化剤として界面活性剤のラウリル硫酸ナトリウム (SLS) (富士フィルム和光純薬)、錠剤製造の打錠工程の際に使用する滑沢剤としてステアリン酸マグネシウム (Mg-St) (富士フィルム和光純薬) を用いた。顆粒剤及び錠剤中のMNTの結晶性を確認する目的で、結晶形帰属の標準品として δ 型MNT (パーテック デルタM, メルク) を用いた。また、 α 型MNTをLee等に報告されている方法に従い調製した⁵¹⁾。精製水と99.5%エタノールを体積比3:7で混合した溶媒100 mLに β 型MNT 15 gを添加し、加熱して溶解させた。その後、室温で静置し、成り行きにて放冷して得た析出物をろ過及び乾燥し、 α 型MNTを得た。

2. 製剤の調製方法

2.1 湿式粉碎法による Cyc ナノ懸濁液の調製

50 mL 容量のプラスチック製コニカルチューブに粉碎媒体として直径 0.3 mm のジルコニアビーズ (YTZ-03, ニッカトール) 60 g 及び Cyc を仕込み、HPC と SLS を水に溶解した混合水溶液 15 mL を加えた (Table 1, 2, 4, 5, 6) 一部の処方では、粉碎促進剤として HPC の代わりに PVP を用いた。湿式粉碎装置 (マルチビーズショッカー, 安井器械) を用い、粉碎温度を 0°C に設定し、2700 rpm の速度で 12 分間攪拌して得られた粉碎溶液を目開き 150 μm のふるいに通してビーズを除去し、Cyc ナノ懸濁液を調製した。

2.2 滴下凍結乾燥 (DFD) 法によるマイクロスポンジ及び Cyc 顆粒の調製

湿式粉碎工程にて得た Cyc ナノ懸濁液に、HPC 及び SLS を加え、希釈用の精製水を追加添加し、攪拌混合して HPC 及び SLS が完全に溶解した滴下溶液を調製した (Table 1, 2, 4)。第 2、3 章における Cyc 顆粒 (打錠用顆粒を含む) の場合、HPC に加え MNT もマトリックス基剤として用いた (Table 5, 6)。この滴下溶液をカプセル化装置 (B-390, 日本ビュッヒ) の液滴形成機能を用い、マグネティックスターラーによる攪拌下、液体窒素中に振動滴下した。適度な大きさの液滴を得るため、1 mL/min の速度で送液し、振動周波数 2200 Hz、電極電圧 650 V の条件下で口径 120 μm のノズルを通して振動滴下した。液体窒素中で凍結した氷結粒子を凍結乾燥機 (FD-550, 東京理化工機) に移して乾燥し、マイクロスポンジまたは Cyc 顆粒を得た。凍結乾燥は全ての調製において、-30°C で 24 時間凍結乾燥し、その後 8 Pa 以下で 30°C まで徐々に昇温させ水分除去した。

2.3 Cyc 錠の調製 (第 3 章)

直径 8.0 mm の円形平型杵臼に DFD 法にて調製した打錠用顆粒 150 mg (Cyc として 10.0 mg を含有) を手作業により充填し、万能圧縮引張試験機 (オートグラフ AG-X, 島津製作所) を用い圧縮速度 10 mm/min, 25~75 MPa の各種打錠圧にて圧縮成形して錠剤を得た。なお、杵臼表面に予め 1 w/v% ステアリン酸マグネシウムのエタノール懸濁液を塗布・乾燥して滑沢処理した。一方、錠剤からの Cyc 粒子の分散性を評価するための試料として、直径 2.8 mm の円形平型杵臼に顆粒 10.0 mg (Cyc として 0.67 mg を含有) のミニ錠剤を作製した (圧縮速度: 0.1 mm/min, 打錠圧: 50 MPa)。得られた錠剤は、シリカゲルを入れたデシケーター内で 24 時間以上乾燥させ、錠剤物性の試験に供した。

3. 評価方法

3.1 走査電子顕微鏡による表面及び断面の観察

導電性粘着両面テープを貼り付けたサンプル台に調製した製剤をのせ、プラチナ蒸着 (JFC-1600, 日本電子) した後、4~10 kV の加速電圧下で走査型電子顕微鏡 (SEM, Scanning electron micrograph) (JSM-6060, 日本電子) により表面を観察した。また、マイクロスポンジについてはカッターナイフを用い切断した断片を、錠剤についてはロードセル式硬度計にて破断した半錠を切断面が天面を向くように設置し、断面を観察した。

3.2 粒度分布の測定

調製したマイクロスポンジ、顆粒を圧縮空気 (0.4 MPa) にて乾式分散し、レーザー回折・散乱式粒度分布測定装置 (LMS-30, セイシン企業) により粒度分布を測定した。質量基準の累積粒度分布曲線における 10, 50, 90% 累積径 (D10, D50, D90) を代表値とした。

3.3 粒子密度の測定 (第 3 章)

DFD 法にて Cyc 顆粒を調製する際の滴下溶液を、滴下装置に代えて駒込ピペットを用いて大きな液滴状となるよう液体窒素中に滴下し、続いて凍結乾燥することで直径 4 mm 程度の巨大顆粒を調製した。得られた巨大顆粒 20 個をデジタルマイクロスコープ (SE-40Z, セルミック) で撮影し、その映像を画像解析 (LUZEX AP, ニレコ) して Heywood 径 (d_i) を測定し、顆粒を真球と仮定して (1) 式より顆粒 20 個それぞれの体積 (V_i) を算出した。画像解析に供した 20 個の巨大顆粒の総質量 (W) を秤量し、(2) 式にて粒子密度 (ρ) を算出した。

$$V_i = \pi d_i^3 / 6 \quad (1)$$

$$\rho = W / \sum_{i=1}^{20} V_i \quad (2)$$

3.4 流動性及び充填性の測定 (第 3 章)

調製した顆粒を目開き 1000 μm のふるいを通過させながらロートの孔から質量 (M_0 , g) ・容積 5 cm^3 のメスシリンダーに摺り切りいっぱいになるまで充填させた。粉体充填時の全質量 (M_1 , g) を測定し、式 (3) よりかさ密度 (最疎かさ密度, ρ_{bulk} , g/cm^3) を算出した。厚さ 40 mm のスペーサを用い、顆粒が充填されたメスシリンダーをマルチテスター (MT-1001k, セイシン企業) により 1000 回 (2 回/秒) タッピングさせ、減少後の試料の体積 (V_1 , cm^3) をメスシリンダーで読み取り、式

(4) よりタップ密度（最密かさ密度， ρ_{tap} , g/cm³）を算出した。また式（5）よりかさ体積の減少率を表す圧縮度を算出した。

$$\rho_{\text{bulk}} (\text{g/cm}^3) = (M_1 - M_0) / 5 \quad (3)$$

$$\rho_{\text{tap}} (\text{g/cm}^3) = (M_1 - M_0) / V_1 \quad (4)$$

$$\text{Compression ratio (\%)} = (\rho_{\text{tap}} - \rho_{\text{bulk}}) / \rho_{\text{tap}} \times 100 \quad (5)$$

3.5 比表面積の測定

専用のサンプルセルに試料を適量充填し、室温下で 6 時間減圧乾燥した。続いて、液体窒素による冷却下、アルゴンガス吸着装置（Nova-1000, Quantachrome）を用い、0.1～0.3 までの 5 つの異なる相対圧力でアルゴンガスを吸着させて得られた吸着等温線を BET 式に当てはめ、比表面積を求めた。

3.6 厚み及び硬度の測定（第 3 章）

錠剤の厚みはデジタルリニアゲージ（DG-933, 小野測器）にて計測した。また、錠剤をロードセル式硬度計（PC-30, 岡田精工）により 1.0 mm/sec の速度で直径方向に破断した時の硬度を測定した。

3.7 崩壊時間の測定（第 3 章）

第 17 改正日本薬局方崩壊試験法に準拠した崩壊試験装置（NTR-200, 富山産業）にて試験器を 30 回/分の頻度で上下させて錠剤が完全に崩壊する時間を測定した。試験液として水を用いた。

3.8 粉末 X 線回折装置による結晶性の測定（XRPD）

使用した原料（Cyc 及び各結晶形の MNT）、及び調製した製剤中の結晶状態を粉末 X 線回折装置（SmartLab, リガク）により評価した。照射 X 線の条件は Cu K α 線、Ni フィルター、電圧 40 kV、電流 30 mA、走査範囲は 5~45°/ 2 θ 、走査速度は 5°/min、ステップは 0.02°とした。錠剤は粉碎することなく試料台の中心部に配置し、あらかじめ計測しておいた錠剤の厚み分だけ照射面を調整して測定した。

3.9 製剤からの薬物粒子の分散性評価

レーザー回折・散乱式粒度分布測定装置（LMS-30, セイシン企業）に付属の専用セル（容量 15 mL）内に分散液として温度 25°C 付近の水 10 mL を注入し、室温環境下にてマイクロスポンジと顆粒の場合は 2 mg またはミニ錠剤 1 錠を直接投入し、スターラー攪拌下、15 分間連続して回折強度を測定し、水に投入後の再分散 Cyc 粒子の粒度分布をリアルタイムに測定した。測定時間に対しその時の D50 値をプロットし、顆粒または錠剤からの Cyc 粒子の速度論的粒度分布推移（自発的分散挙動）を評価した。なお同一検体につき測定を 3 回繰り返す、平均的な測定結果（n=1）をグラフ化した。

3.10 製剤中の薬物含有量の定量

マイクロスポンジ及び Cyc 顆粒の場合は Cyc 5 mg 相当の試料を精密に量り取り、メスフラスコに投入し下記の HPLC 用移動相を加えて溶解し、正確に 100 mL とした。この液 1 mL を正確に量り採り、移動相で正確に 10 mL に希釈した。精密に秤量した Cyc 10 mg 相当の打錠用顆粒、あるいは錠剤 1 錠をメスフラスコに投入し、移動相を加えて溶解して 100 mL とした。この液 1 mL を正確に量り、移動相で正確に 20 mL とした。これらの溶液を孔径 0.2 μm の親水性セルロースアセテートタイプのメンブランフィルター (Dismic-13CP, Advantec) にてろ過したろ液を高速液体クロマトグラフィー (LC-10, 島津製作所) により製剤中の Cyc 含量を定量した。測定条件は以下の通り：カラム; ODS 系逆相カラム (Inertsil ODS-3, 5.0 μm , 4.6 $\times$ 150 mm, GL サイエンス)、カラム温度; 70°C、注入量; 100 μL 、測定波長; 210 nm、流速; 1.0 mL/min、移動相; アセトニトリル : 5 mM 酢酸アンモニウム緩衝液 = 75 : 25。分析時間を 10 分とし、Cyc の保持時間は 5 分付近であった。

3.11 薬物放出性の評価

マイクロスポンジ、顆粒及び錠剤からの Cyc の溶出挙動を第 17 改正日本薬局方溶出試験パドル法に準拠した溶出試験装置 (NTR-3000, 富山産業) を用いて測定した。マイクロスポンジ及び Cyc 顆粒の場合は Cyc 5.0 mg 相当の試料を用い、打錠用顆粒及び錠剤の場合は Cyc 10.0 mg 相当の試料を用いた。試験液には日局溶出試験第 1 液 (pH 1.2)、第 2 液 (pH 6.8) 及び水を 900 mL 用いた。試験液温 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、パドル回転数 50 rpm の条件にて行った。所定時間 (2, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 分) ごとに試料溶液を 5 mL 採取し、孔径 0.2 μm の親水性セルロースアセテートタイプのメンブランフィルター (Dismic-13CP, Advantec) にてろ過した最初のろ液 3 mL を廃棄し、次の 1 mL のろ液をメタノールにて適宜希釈し、前項の Cyc 定量に示した条件を用い、高速液体クロマトグラフィー (LC-10; 島津製作所) により測定した。採取され減少した液量と同量の試験液を補填し、試験液量を保持した。Cyc の液温 37°C における各試験液 (水, pH 1.2, pH 6.8) への溶解度はそれぞれ 7.3, 7.6, 6.2 $\mu\text{g/mL}$ と報告されており⁵²⁾、900 mL に溶解される Cyc の最大溶解量はそれぞれ 6.57, 6.84, 5.58 mg と計算された。

引用文献

1. **L. Dehesa, A. Abuchar, A. Nuno-Gonzalez, M. Vitiello, FA. Kerdel** : The use of cyclosporine in dermatology
J. Drugs Dermatol., **11** (8), 979-987 (2012)
2. **D. I. Min, Neoral** : A microemulsion cyclosporine
J. Transpl Coord., **6** (1), 5-8 (1996)
3. **W. A. Ritschel** : Microemulsion technology in the reformulation of cyclosporine: the reason behind the pharmacokinetic properties of Neoral
Cin. Transplant., **10** (4), 364-373 (1996)
4. **A. Husek** : High-performance liquid chromatographic analysis of cyclosporine A and its oral solutions
J. Chromatogr., **759** (8), 217-224 (1997)
5. **P. R. Beauchesne, N.S.C. Chung, K.M. Wasan** : Cyclosporine A: A review of current oral and intravenous delivery systems
Drug Dev. Ind. Pharm., **33** (3), 211-220 (2007)
6. **S. T. Buckley, K. J. Frank, G. Fricker, M. Brandl** : Biopharmaceutical classification of poorly soluble drugs with respect to “enabling formulations”
Eur. J. Pharm. Sci., **50**, 8-16 (2013)
7. **J. Vonderscher, A. Meinzer** : The neoral formula of cyclosporine
Transplantaion Pro., **26**, 2925-2927 (1994)
8. **J. M. Tam, J.T. McConville, R.O. Williams. III, K.P. Johnston** : Amorphous cyclosporin nanodispersions for enhanced pulmonary deposition and dissolution
J. Pharm. Sci., **97** (11), 4915-4933 (2008)
9. **S. Onoue, H. Suzuk, Y. Kojo, S. Matsunaga, H. Sato, T. Mizumoto, K. Yuminoki, N. Hashimoto, S. Yamada** : Self-micellizing solid dispersion of cyclosporine A with improved dissolution and oral bioavailability
Eur. J. Pharm. Sci., **62**, 16-22 (2014)

10. **H. Suzuki, K. Ueno, T. Mizumoto, Y. Seto, H. Sato, S. Onoue** : Self-micellizing solid dispersion of cyclosporine A for pulmonary delivery: Physicochemical, pharmacokinetic and safety assessments
Eur. J. Pharm. Sci., **96**, 107-114 (2017)
11. **H. Sato, Y. Kawabata, K. Yuminoki, N. Hashimoto, Y. Yamauchi, K. Ogawa, T. Mizumoto, S. Yamada, S. Onoue** : Comparative studies on physicochemical stability of cyclosporine A-loaded amorphous solid dispersions
Int. J. Pharm., **426**, 302-306 (2012)
12. **H. Suzuki, T. Moritani, T. Morinaga, Y. Seto, H. Sato, S. Onoue** : Amorphous solid dispersion of cyclosporine A prepared with fine droplet drying process: Physicochemical and pharmacokinetic characterization
Int. J. Pharm., **519**, 213-219 (2017)
13. **T. Niwa, H. Shimabara, K. Danjo** : Novel spray freeze-drying technique using four-fluid nozzle development of organic solvent system to expand Its application to poorly water soluble drug
Chem. Pharm. Bull., **58** (2), 195-200 (2010)
14. **T. Niwa, D. Mizutani, K. Danjo** : Spray freeze-dried microparticles of a poorly water-soluble drug for respiratory delivery
Chem. Pharm. Bull., **60** (7), 870-876 (2012)
15. **O.I. Corrigan, E.M. Holohan, K. Sabra** : Amorphous form of thiazide diuretics prepared by spray-drying
Int. J. Pharm., **18** (5), 195-200 (1984)
16. **A.A. Elkordy, E.A. Essa** : Dissolution of ibuprofen from spray dried and spray chilled particles
Pak. J. Pharm. Sci., **23** (3), 284-290 (2010)
17. **H. Takeuchi, T. Handa, Y. Kawashima** : Enhancement of the dissolution rate of a poorly water-soluble drug (tolbutamide) by a spray-drying solvent deposition method and disintegrants
J. Pharm. Pharmacol., **39** (10), 769-773 (1987)
18. **L. Jia, Y. Yan, Z. Meihui, X. Hui, M. Junyuan, W. Shaoning** : Improved oral bioavailability of probucol by dry media-milling
Materials Sci. Eng., **78**, 780-786 (2017)
(名城大学大学院)

19. **S. Zellnitz, L. Zellnitz, M.T. Müller, C. Meindl, H. Schröttner, E. Fröhlich** : Impact of drug particle shape on permeability and cellular uptake in the lung
Eur. J. Pharm. Sci., **139**, 105065 (2019)
20. **A. Afolawemi, O. Akinlabi, E. Bilgili** : 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)
21. **S. Plakkot, M. de Matas, P. York, M. Saunders, B. Sulaiman** : Comminution of ibuprofen to produce nano-particles for rapid dissolution
Int. J. Pharm., **415**, 307-314 (2011)
22. **Y. Tanaka, M. Inkyo, R. Yumoto, J. Nagai, M. Takano, S. Nagata** : Nanoparticulation of poorly water-soluble drugs using a wet-mill process and physicochemical properties of the nanopowders
Chem. Pharm. Bull., **57** (10), 1050-1057 (2009)
23. **T. Lu, Y. Sun, D. Ding, Q. Zhang, R. Fan, Z. He, J. Wang** : Study on enhanced of azilsartan-loaded solid dispersion, prepared by combining wet milling and spray-drying technologies
AAPS. Pharm. Sci. Tech., **18** (2), 473-480 (2017)
24. **A. Bhakay, M. Azad, E. Bilgili, R. Dave** : Redispesible fast dissolving nanocomposite microparticles of poorly water-soluble drugs
Int. J. Pharm., **461**, 367-379 (2014)
25. **T. Niwa, H. Shimabara, M. Kondo, K. Danjo** : Design of porous microparticles with single-micron size by novel spray freeze-drying technique using four-fluid nozzle
Int. J. Pharm., **382**, 88-97 (2009)
26. **T. Niwa, K. Danjo** : Design of self-dispersible dry nanosuspension through wet milling and spray freeze-drying for poorly water-soluble drug
Eur. J. Pharm. Sci., **50**, 272-281 (2013)
27. **A. Nakashima, T. Izumi, K. Ohya, K. Kondo, T. Niwa** : Design of highly dispersible PLGA microparticles in aqueous fluid for the development of long-acting release injectables
Chem. Pharm. Bull., **65** (2), 157-165 (2017)

28. **H. Sunada, M. Hasegawa, T. Makino, H. Sakamoto, T. Tanino, H. Kokubo, T. Kawaguchi** : Study of standard tablet formulation based on fluidized-bed granulation
Drug Dev. Ind. Pharm., **24** (3), 225-233 (1998)
29. **Julia Z. H. Gao, A. Jain, R. Motheram, D. B. Gray, M. A. Hussain** : Fluid bed granulation of a poorly water soluble, low density, micronized drug: comparison with high shear granulation
Int. J. Pharm., **237**, 1-14 (2002)
30. **S. Gupta, P. Thool, S. Meruva, J. Li, J. Patel, A. Agrawal, S. Karki, W. Browen** : Development of low dose micro-tablet by high shear wet granulation process
Int. J. Pharm., **587**, 119571-119582 (2020)
31. **M. G. Herting, P. Kleinebudde** : Roll compaction/dry granulation: Effect of raw material particle size on granule and tablet properties
Int. J. Pharm., **338**, 110-118 (2007)
32. **T. Niwa, S. Miura, K. Danjo** : Universal wet-milling technique to prepare oral nanosuspension focused on discovery and preclinical animal studies – Development of particle design method
Int. J. Pharm., **405**, 218-227 (2011)
33. **A. Pongpeerapat, C. Wanawongthai, Y. Tozuka, K. Moribe, K. Yamamoto** : Formulation mechanism of colloidal nanoparticles obtained from probucol/PVP/SDS ternary ground mixture
Int. J. Pharm., **352**, 309-316 (2008)
34. **G.M. Aniruddha, S.J. Leena, L.C. Atul, P.A. Sima, R.M. Prabha** : Formulation and evaluation of microsphere drug delivery system using indomethacin
Int. Res. J. Pharm., **2** (10), 64-69 (2011)
35. **S. N. A. Alhammid** : Enhancement of the solubility and the dissolution rate of candesartan cilexetil using microsphere technology
Asian J. Pharm. Clin. Res., **11** (9), 385-390 (2018)
36. **M. Orlu, E. Cevher, A. Araman** : Design and evaluation of colon specific drug delivery system containing flurbiprofen microsphere
Int. J. Pharm., **318**, 103-117 (2006)
(名城大学大学院)

37. **S. Onoue, H. Sato, K. Ogawa, Y. Kawabata, T. Mizumoto, K. Yuminoki, N. Hashimoto, S. Yamada** : Improved dissolution and pharmacokinetic behavior of cyclosporine A using high-energy amorphous solid dispersion approach
Int. J. Pharm., **399**, 94-101 (2010)
38. **H. Suzuki, S. Hamao, Y. Seto, H. Sato, J. Wong, R.K. Prud'homme, H.K. Chan, S. Onoue** : New nano-matrix oral formulation of nanoprecipitated cyclosporine A prepared with multi-inlet vortex mixer
Int. J. Pharm., **516**, 116-119 (2017)
39. **C. Liu, J. Wu, B. Shi, Y. Zhang, T. Gao, Y. Pei** : Enhancing the bioavailability of cyclosporine a using solid dispersion containing polyoxyethylene (40) stearate
Drug Dev. Ind. Pharm., **32** (1), 115-123 (2006)
40. **M. Vogt, K. Kunath, J. B. Dressman** : Dissolution improvement of four poorly water soluble drugs by cogrinding with commonly used excipients
Eur. J. Pharm. Biopharm., **68**, 330-337 (2008)
41. **G.C.Yee** : Dosage form of cyclosporine
Pharmacotherapy, **11**, 149S-152S (1991)
42. **T. Oshima, S. Hori, C. Maida, E. Miyamoto** : Effect of size and shape of tablets and capsules on ease of grasping and swallowing (1) : comparison between elderly and students
Jpn. J. Pharm. Health Care Sci., **32** (8), 842-848 (2006)
43. **Carr, R.L** : Evaluating flow properties of solids
Chem. Eng., **72**, 163-168 (1965)
44. **Y. Okuda, Y. Okamoto, Y. Irisawa, K. Okimoto, T. Osawa, S. Yamashita** : Formulation design for orally disintegrating tablets containing enteric-coated particles
Chem. Pharma. Bull., **62** (5), 407-414 (2014)
45. **H. Seager** : Drug-delivery products and the zydys fast-dissolving dosage form
J. Pharm. Pharmacol., **50**, 375-382 (1998)
46. **B. P. Badgujar, A. S. Mundada** : The technologies used for developing orally disintegrating tablets: A review

47. **M. Mehta, S. P. Bhardwaj, R. Suryanarayanan** : Controlling the physical form of mannitol in freeze-dried systems

Eur. J. Pharm. Biopharma., **85**, 207-213 (2013)

48. **T. Yoshinari, R. T. Forbes, P. York, Y. Kawashima** : The improved compaction properties of mannitol after a moisture – induced polymorphic transition

Int. J. Pharm., **258**, 121-131 (2003)

49. **N. Zhao, L. L. Augsburger** : The influence of granulation on super disintegrant performance

Pharm. Dev. Technol., **11** (1), 47-53 (2006)

50. **G. Thoorens, F. Krier, B. Leclercq, B. Carlin, B. Evrard** : Microcrystalline cellulose, a direct compression binder in a quality by design environment – A review

Int. J. Pharm., **473**, 64-72 (2014)

51. **Y. Y. Lee, J. X. Wu, M. Yang, P. M. Young, F. van den Berg, J. Rantanen** : Particle size dependence of polymorphism in spray-dried mannitol

Eur. J. Pharm. Sci., **44**, 41-48 (2011)

52. **H. Ismailos, C. Reppas, J.B. Dressman, P. Macheras** : Unusual solubility behaviour of cyclosporine A in aqueous media

J. Pharm. Pharmacol., **43**, 287-289 (1991)

謝辞

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導、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、灘井雅行教授ならびに奥田知将准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の意を表します。

本研究に際し、終始御懇篤なる御指導・御鞭撻を賜りました名城大学大学薬学部製剤学研究室 近藤啓太助教に深甚なる感謝の意を表します。

本研究に際し、実験を補助していただいた中島千尋氏、木田雄大氏、中田有紀氏、船越映美氏に深く感謝致します。

本研究の機会を与えてくださり、御配慮を賜りましたマルホ株式会社代表取締役会長 高木幸一様、代表取締役社長 杉田淳様、山崎廣志様（前執行役員 CMC 担当）、安村満様（前 CMC コンサルタント）、北川輝幸様（前 CMC 研究部長）、堀沢栄次郎様（前製品研究グループ長）に深く感謝致します。

最後に、本研究を支えてくれた家族に心から感謝致します。