

令和3年度 学位論文

論文題目

〈邦文〉

超低温粉碎及び乾式せん断技術による優れた溶解性
及び粉体物性を有する機能性複合粒子の設計

〈欧文〉

Design of functional composite particles with good
dissolution properties and micromeritics through ultra
cryo-milling and mechanical powder processing
techniques

名城大学大学院 薬学研究科 薬学専攻 博士課程

氏 名

坪 井 大 樹

目次

序論.....	3
第1章 水溶性ワックス剤を使用した機能性複合粒子の設計.....	6
第1節 緒言.....	6
第2節 薬物と水溶性ワックス剤との超低温粉碎.....	6
第3節 乾式せん断処理による超低温粉碎粒子と核粒子との複合化.....	9
3-1. 核粒子の種類による影響.....	9
3-2. 核粒子と被覆粒子の配合比による影響.....	17
第4節 OM粒子からの薬物溶出性.....	20
4-1. 核粒子の種類による影響.....	20
4-2. 核粒子と被覆粒子の配合比による影響.....	21
第5節 OM粒子の粉体物性.....	23
第6節 小括.....	25
第2章 アクリル酸系ポリマー微粒子を使用した機能性複合粒子の設計.....	26
第1節 緒言.....	26
第2節 薬物とアクリル酸系ポリマーとの超低温粉碎.....	27
第3節 乾式せん断処理による超低温粉碎粒子と核粒子との複合化.....	31
第4節 OM粒子からの薬物溶出性.....	36
第5節 OM粒子からの薬物分散性.....	36
第6節 OM粒子の粉体物性.....	37
第7節 小括.....	39
第3章 総括.....	40
実験の部.....	42
1. 試料.....	42
1.1 超低温粉碎微粒子の調製.....	42
1.2 複合粒子の調製.....	42
2. 製剤の調製.....	42
2.1 超低温粉碎微粒子の調製.....	42
2.2 複合粒子の調製.....	43
3. 評価方法.....	45
3.1 粒子の形態観察.....	45
3.2 粒度分布の測定.....	45
3.3 真密度の測定.....	45
3.4 薬物含量の測定.....	45
3.5 薬物溶出及び分散挙動の評価.....	46
3.6 粉体物性の評価.....	46
引用文献.....	48
謝辞.....	55

本論文は次の論文を総括したものである。

- 1) **Daiki Tsuboi, Keita Kondo, Toshiyuki Niwa:** Preparation of fine-drugs layered spherical particles with good micromeritic and dissolution properties through ultra cryo-milling and mechanical powder processing, *Chem. Pharm. Bull.*, **69** (8), 747–759 (2021).
- 2) 坪井大樹, 池川知穂, 近藤啓太, 丹羽敏幸, 超低温粉碎及び乾式せん断技術を利用した薬物及びアクリル系ポリマー微粒子を被覆した機能性複合粒子の設計. 製剤機械技術学会誌, accepted (2021/11/4).

序論

主な経口固形製剤（錠剤、カプセル及び顆粒剤）は、日常生活における利便性の観点から最も頻用される投与形態である。服用された経口固形製剤は、消化管内において崩壊、分散及び溶解の過程を通じて、溶液状態となって消化管粘膜から吸収される。つまり薬物の溶解は、薬物吸収過程における律速段階となることがあり、特に難水溶性薬物においては薬効発現の強度や速度に強く影響を与える。近年の医薬品探索では、コンビナトリアルケミストリーやハイスループットスクリーニング装置を使用した高感度の *in vitro* アフィニティーアッセイ等の技術革新に伴い、水への溶解性が乏しい医薬品候補化合物の割合が増加する傾向が高まっている¹⁾。開発品の変遷を俯瞰すると、1995 年以前には溶解度が 10 µg/mL 以下の難水溶性薬物の占める比率は 20%以下であったのに対し、2000 年以降は 60%に増加している²⁾。世界的には、市販品の 40%、開発品の 90%は難水溶性（20 µg/mL 以下）であると言われている³⁾⁴⁾。薬物の溶解性の高／低と消化管膜透過性の高／低の組合せによって薬物をクラスⅠ～クラスⅣにクラス分けする生物薬剤学分類システム（Biopharmaceutics classification system: BCS）において、難水溶性薬物はクラスⅡ、Ⅳに該当し、透過性の高い薬物がクラスⅡ、透過性の低い薬物はクラスⅣに分類される⁵⁾。クラスⅡの薬物は溶解性が改善できれば生物学的利用能の増加につながるが、クラスⅣ薬物は難水溶解性でかつ透過性も低いので、通常は経口投与製剤としての開発は困難で他の投与ルートでの開発が行われる。したがって、経口固形製剤を開発するための重要な課題は、薬物の溶解性の改善である。その方法として最も多く実用化されているのが固体分散体⁶⁾であり、pH 調整、塩形成、結晶多形、プロドラッグ、油性溶剤／界面活性剤によるエマルジョン化等様々な製剤化技術が駆使されている。

近年注目を集めている溶解改善技術として、粉碎による微粒化化がある。Noyes-Whitney 式⁷⁾によれば、薬物の粒子サイズを小さくし表面積を増加させることで、薬物の溶解速度を向上させることが可能となる。原薬特性における制限がなく適用範囲が広いことから、医薬品の開発に適しているとされる⁸⁾。特に非臨床段階において、湿式粉碎にて得たナノ懸濁液は、動物試験における簡易製剤化法として利用価値が高く、候補化合物の脱落を防ぐ有効な手段となっている。さらに、近年急速に進化したシミュレーションソフトウェアを使った粒子径に基づく吸収予測は、微細化技術の利用を推し進めている。一般に、粉碎法は乾式粉碎と湿式粉碎に大別される。乾式粉碎では、ファンデルワールス力による粒子間凝集が発生し易いため、数 µm 程度のシングルミクロンサイズまでしか微細化することができない⁹⁾。加えて、粒子と粉碎媒体間の摩擦及びせん断力により発生する熱により、薬物の結晶特性（結晶形、結晶化度）が準安定化する可能性があり、保存安定性の面から問題となる。一方、湿式粉碎では、媒体攪拌ミル¹⁰⁾や高圧湿式ジェットミル¹¹⁾、超音速湿式ジェットミル¹²⁾等を利用し、乾式粉碎では困難であったサブミクロン～ナノメートルサイズの超微粒子（ナノ粒子と総称する）を創製できることが報告されている。1995 年 Liversidge 等は、ポリビニルピロリドンとともに湿式粉碎して得た Danazol ナノ粒子（平均径 169 nm）が、イヌでの経口吸収率を劇的に向上する（原末 5.1%に対してナノ粒子 82.3%）ことを報告し¹³⁾、ナノ粒子の有用性を世に知らしめた。その後、医薬品としてのナノ粒子製剤は、ビーズミルに基づく Elan 社の NanoCrystal 技術を利用して開発され、これまでに Rapamune（シロリムス、2000 年）、Emend（アプレピタント、2003 年）、Tricor（フェノフィブラート、2004 年）、Megace ES（メゲストロール酢酸塩、2005 年）、Invega Sustenna（パリペリドン、2009 年）が FDA に承認されている。Skyepharma 社の高圧ホモジナイザー技術を利用した Triglide（フェノフィブラート、2005 年）等を加えて、現在では合計 16 製

品が米国で上市されている¹⁴⁾⁻¹⁵⁾。しかし、湿式粉碎より得たナノ粒子を固形剤として製剤化するには、粉碎後の懸濁液を乾燥する工程が必要となるため、多くの製品への適用が広がっていないのも事実である。

上記の課題を解決する粉碎方法として、これまでに著者の所属する研究室では、薬物を液体窒素 (LN_2) に懸濁させ、硬質小球 (ビーズ) にて粉碎する超低温粉碎法を開発し、難水溶性薬物の溶解性が改善できることを報告している¹⁶⁾。超低温粉碎法は、分散媒の LN_2 中でジルコニアビーズを衝突させ、超低温下 (-196°C) における脆性破壊により効果的に粉碎する冷凍粉碎法である。また、粉碎を超低温下で行うことは、工程中で発生する熱による薬物の物理的・化学的变化を回避することが期待できる。加えて、低表面張力 (-196°C で 8.85 mN/m 、水の 8 分の 1)¹⁷⁾ かつ低粘度 (-196°C で $0.158 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ 、水の 6 分の 1)¹⁸⁾ の LN_2 は、粒子間及び粒子内の空隙や微細孔に浸透し、粉碎工程中の被破壊物の二次凝集に対する優れた物理的障壁となり、さらに乾燥時の毛管凝縮を抑制し、乾燥物の固結を生じさせない。 LN_2 は低価格で工業的に入手可能で、不活性・不燃性・無毒の液体である。また本法を製造工程の側面から見ると、粉碎後には LN_2 が常温・常圧において自然蒸発するため、乾燥工程を必要とせず乾燥粉末が得られる。すなわち、超低温粉碎法は湿式粉碎と乾式粉碎の両方の利点を兼ね備えたハイブリッド型粉碎法と言える。しかしながら、回収された微粒子は結果的には軟凝集塊を形成し、低い流動性・充てん性のために粉体として取り扱いにくく、混合や錠剤化、カプセル充てん等の固形製剤の製造工程において課題となっていた。

こうしたサブミクロンサイズの粉碎微粒子の凝集に伴う課題を解決する手法として、粒子の表面改質技術がある。粒子表面処理の方法は、界面重合法や懸濁重合法等による化学的手法と混合機や粉碎機等を利用した機械的手法に大別される。操作の簡便な後者が主流であり、特に効果の大きい乾式せん断処理を利用した機械的表面改質技術¹⁹⁾が汎用されている。機械的手法には、混合や粉碎、乾燥、造粒等の操作が必要とされ、簡単な表面処理の場合、従来の混合機や粉碎機が利用されてきた。その後、高度な表面処理が要求されるようになり、表面処理に特化した装置が開発されている。粉体に与える機械的エネルギーを比較すると、容器回転式、高速攪拌式、せん断・衝撃・摩砕式の順で大きくなる。つまり簡単な混合から高分散混合、コーティング、さらには複合化へと処理目的が高度化するにつれ、せん断力や衝撃力等の高い機械的エネルギーが出力できる装置の選定が必要となってくる。なかでも機械的せん断装置は、高速回転する攪拌翼により強力なせん断力、衝撃力及び圧縮力を多成分粒子に与え、それらを複合化する技術として知られており、装置の開発企業の違いからメカノフュージョン²⁰⁾やハイブリダイゼーション²¹⁾とも呼ばれる。特に、粒径差がある異成分粒子間での機械的処理により、小粒子が大粒子表面を被覆した複合粒子が得られることがある。大粒子が粉碎媒体 (ボール、ビーズ) の役割を果たすことで、凝集している小粒子が解砕・分級され、大粒子表面への展延、さらには固定化が進む。本技術は粒子の表面改質にも利用できることから、製薬業界では微粒子コーティング技術として、凝集性粉末の流動性、吸入粉末の飛散性及び難水溶性薬物の溶解性を改善する手法に用いられている²²⁾。また乾式処理のため、流動層コーティング装置を用いた湿式コーティング技術²³⁾⁻²⁵⁾と比較して、乾燥工程が不要のためプロセスが簡略化でき、有機溶媒を使用しないことで環境負荷が低く、残留溶媒のリスクがない等の利点を有している。本技術により調製された複合粒子は、中心核を異成分の外殻が取り囲んだコア/シェル構造を有している²⁶⁾。ホスト粒子 (母粒子) の表面上にゲスト粒子 (子粒子) が整列し、一粒子単位で配合比通りの混合が成立していることから、オーダードミクスチャー (Ordered mixture, OM、規則的混合) と呼称されることもある²⁷⁾⁻²⁹⁾。OM 構造を持つ粒子 (以下、OM 粒子と略称す

る)の生成プロセスは、1)凝集したゲスト粒子が1次粒子へと分離し、2)摩擦によって帯電した1次ゲスト粒子が強力なせん断力により、ホスト粒子表面に付着し、3)付着したゲスト粒子がホスト粒子上で再配列され最密充填・固定化するといった3つの段階から成る³⁰⁾。Pfeffer等は、これらの機序は乾式せん断処理にも当てはまると報告している³¹⁾。

本研究では、超低温粉碎法による難水溶性薬物の溶解性改善を試みた。新熊等は、フェニトイン(Phe)粒子をシングルミクロンサイズに微細化することで、溶出性が改善された結果、血中濃度が向上することを報告³²⁾している。そこでPheを難水溶性のモデル薬物として適用し、溶解改善剤とともに混合粉碎することを企図した。第1章では溶解改善剤として水溶性ワックス剤を、第2章ではアクリル酸系ポリマーを利用し、微細化による溶解性の改善を図った。いずれの混合粉碎品とも溶解改善効果は十分でなく、粉体物性が悪化してしまう問題点を生じた。そこで、溶解性及び粉体物性を同時に改善することを目指し、混合粉碎品を球形核粒子とともに乾式せん断処理¹⁹⁾し、超低温粉碎粒子を核粒子表面上に展延(脱凝集化)したコア/シェル型複合粒子(OM粒子)を創製することを試みた。第1章では、サイズの異なる3種の核粒子を適用し、OM粒子の機能性に及ぼすサイズの影響について明らかにした。併せて、段階的に薬物配合比を増加させたOM粒子を調製し、薬物含量の増大を図った。得られたOM粒子の薬物溶出性、並びに粉体物性を評価し、製剤化技法としての超低温粉碎、並びに乾式せん断技術の有用性について考察した。また第2章では、一般に湿式コーティングに用いるコーティング基剤を溶解改善剤として適用し、本技術の汎用化を図った。また、溶解改善剤を変更した際の設計粒子の製剤特性を特徴づけすることで、超低温粉碎、乾式せん断処理に亘る一連の技術の再現性を検証した。

研究の結果、一連の操作により得たOM粒子は、溶解性及び粉体物性の両特性において優れた機能を有しており、乾式法によるコーティング粒子の設計技術の確立、並びに優れた機能性医薬品粒子の創製に至った。加えて、水溶性ワックス剤や通常は湿式法にて使用するアクリル酸系ポリマーを用いた際にもOM様複合粒子を形成し、軟化・熔融が生じない溶解性改善剤においても核粒子表面へ展延(再配列)・固定化されることを明らかとし、超低温粉碎及び乾式せん断技術の汎用性が示された。本プロセスで調製したOM粒子は、球形かつ均一な粒度分布を有することから、口腔内崩壊錠用顆粒とすることで苦味マスキング用コーティング粒子の調製にも指向しており、製薬産業界において有用な技術として期待される。本研究にて得られた知見につき、以下の各章にて詳述する。

第1章 水溶性ワックス剤を使用した機能性複合粒子の設計

第1節 緒言

難水溶性薬物の溶解性を改善するため、液体窒素（LN₂）中での超低温ビーズ粉砕法を利用して薬物粒子を微細化した。しかし、超低温粉砕法にて得られた微粒子は軟凝集塊を形成し、低い流動性・充てん性のために粉体として取り扱いにくく、混合や錠剤化、カプセル充てん等の固形製剤の製造工程において課題となっていた。そこで、溶解性及び粉体物性を同時に改善することを目指し、混合粉砕品を球形核粒子とともに乾式せん断処理¹⁹⁾し、超低温粉砕粒子を核粒子表面上に展延（脱凝集化）したコア／シェル型複合粒子（OM粒子）を創製することを企図した。

新熊等は、フェニトイン（Phe）粒子をシングルミクロンサイズに微細化することで、溶出性が改善された結果、血中濃度が向上することを報告³²⁾している。そこでPheを難水溶性のモデル薬物として適用し、溶解改善剤とともに混合粉砕することを試みた。溶解改善剤には、水溶性ワックス剤のポリエチレングリコール6000（PEG）を選択した。PEGはエチレングリコールの重合体で重合度により液体、ペースト状、固体の異なる性状を示し、平均分子量8600の本剤は室温においてフレーク状の固体である。結合剤・コーティング剤をはじめとした医薬品添加物としての使用用途は多岐にわたり、使用実績が多い、毒性が低い、水への溶解性が高い等の特徴を有する。低融点（62～65℃）である点を鑑み、乾式結合剤の効果を期待して核粒子表面への薬物粒子の結着の促進、さらには水溶性による溶解時の導水促進化を図った。Phe単独あるいはPEGとともに混合粉砕し、超低温粉砕品（単独粉砕品・混合粉砕品）を得た。続いて粉砕品を球形核粒子とともに乾式せん断処理¹⁹⁾し、超低温粉砕と組み合わせることでOM粒子を創製することを試みた。核粒子には、被覆されやすい球形状で、粒径の異なるコーンスターチ（CS、平均粒子径：20 μm）、D-マンニトール球形粒（NP、粒度範囲：75～150 μm）及び結晶セルロース球形粒（CP、粒度範囲：150～300 μm）の3種を採用した。これらの球形核粒子を用いて、OM粒子として調製が可能な核粒子径の範囲や、創製したOM粒子の特性へ与える影響について検討した。粉体物性の改善は、シリカ³³⁾⁴⁰⁾やステアリン酸マグネシウム⁴¹⁾のような流動化剤・滑沢剤と混合し、粒子表面に微粒子を付着させて粉体物性を改善することがしばしば行われるが、本研究では流動性の良好な球形核粒子に被覆するという方針にて進めた。また、核粒子の対する薬物配合比を段階的に増加させ、OM粒子の薬物含量の増大を図った。

第2節 薬物と水溶性ワックス剤との超低温粉砕

Phe 単独、及び Phe と PEG の混合物を LN₂ 中にて超低温粉砕（超低温混合粉砕）した。Table 1 に処方及び操作条件を示す。なお、Phe 単独粉砕品を M-Phe、Phe と PEG の混合粉砕品を M-(Phe+PEG) と略記した。混合粉砕の場合、粉砕物のビーズ表面への付着量を低減させるため、より大きな径のビーズを使用し、使用量を半量に設定した。処理前の Phe 原末、PEG 原末、及び粉砕品の電子顕微鏡（SEM）画像を Fig. 1 に、粒度分布を Fig. 2 に示す。Phe 原末は 10～20 μm の棒状又は板状結晶、PEG 原末は短径 50 μm、長径 100 μm 程度の棒状片であった（Fig. 1 A-1、A-2）。単独粉砕品（M-Phe）の場合、一次粒子レベルではサブミクロンから 2、3 μm 程度まで微細化され、既報⁴²⁾でも示したように凝集塊を形成している様子が観察された（Fig. 1 A-3）。一方、混合粉砕品 M-(Phe+PEG) は、一次粒子レベルではサブミクロンまで微細化されているものの、数 μm の断片に微粒子が付着している様子が観察された（Fig. 1 A-4）。M-Phe と M-(Phe+PEG)の両方にサブミクロン粒子が見られることから、微粒子は Phe、断片は PEG であると推察した。また、混合粉砕品中で、両粒子は一

次粒子レベルで均一な混合状態を形成している様相が明示された。粒度分布では、M-Phe の分布曲線が Phe 原末と比較して小粒径側へシフトし、D50 が $8.77\ \mu\text{m}$ から $2.46\ \mu\text{m}$ へと低下した。一方、M-(Phe+PEG)は、Phe 原末及び PEG 原末に由来するピークが重なった分布となった。SEM 観察では、Phe は $1\ \mu\text{m}$ 以下、PEG のほとんどは数 μm 程度の大きさを呈していることから、粉碎粒子、特に PEG 粒子は激しく凝集塊を形成し、粒度分布測定時においてもその凝集塊が十分に解砕されなかったため、SEM 画像で観察された粒子サイズよりも大きな測定値になったと推察した。

Table 1 Formulation of ultra cryo-milling process

Symbol	Loading (g)		Milling media (Zirconia beads)	
	Intact Phe	Intact PEG	Size (mm)	Volume (mL)
M-Phe	15.00	—	0.6	100
M-(Phe+PEG)	7.50	7.50	1.0	50

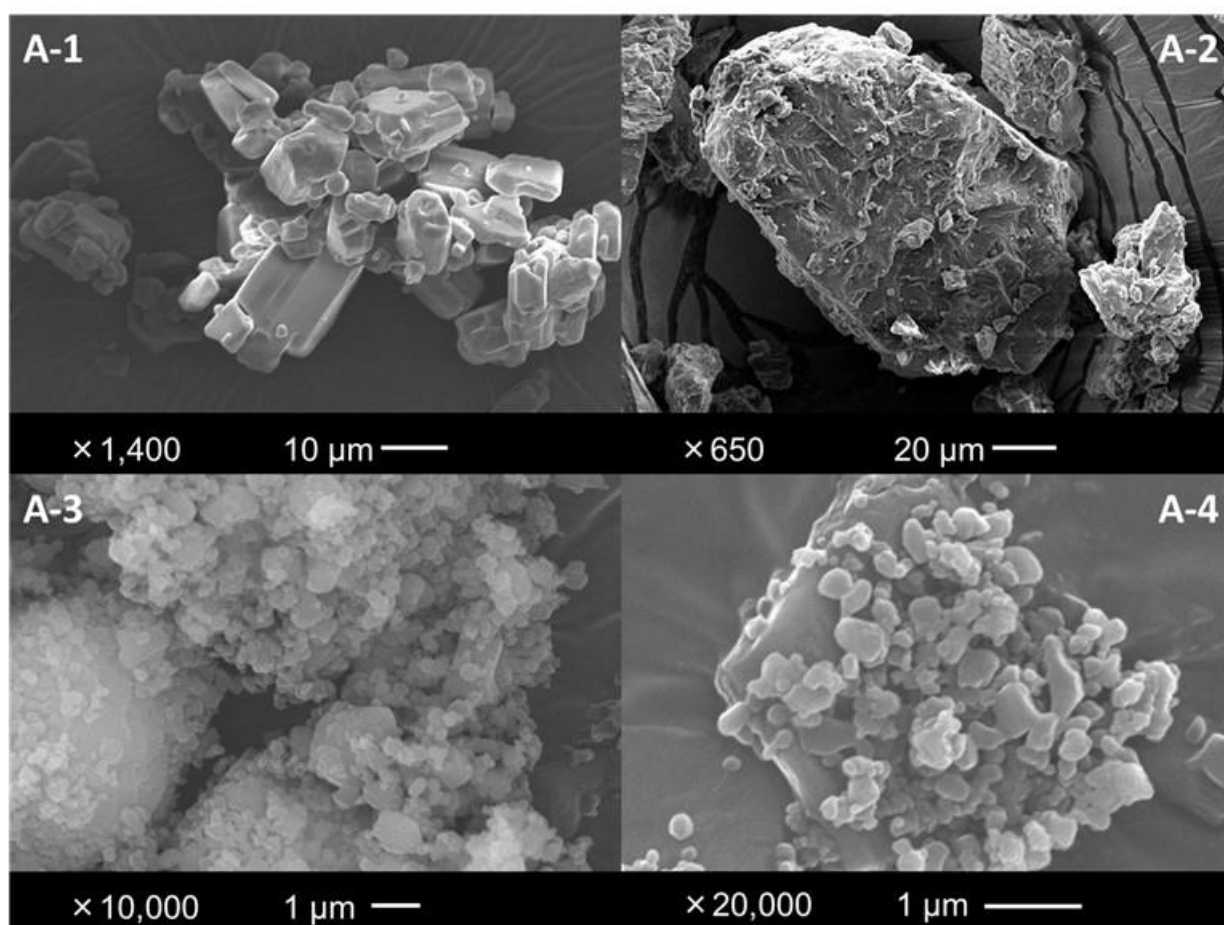


Fig. 1 Scanning electron microphotographs of intact particles and milled particles prepared by ultra cryo-milling: A-1) intact Phe, A-2) intact PEG, A-3) M-Phe, A-4) M-(Phe+PEG).

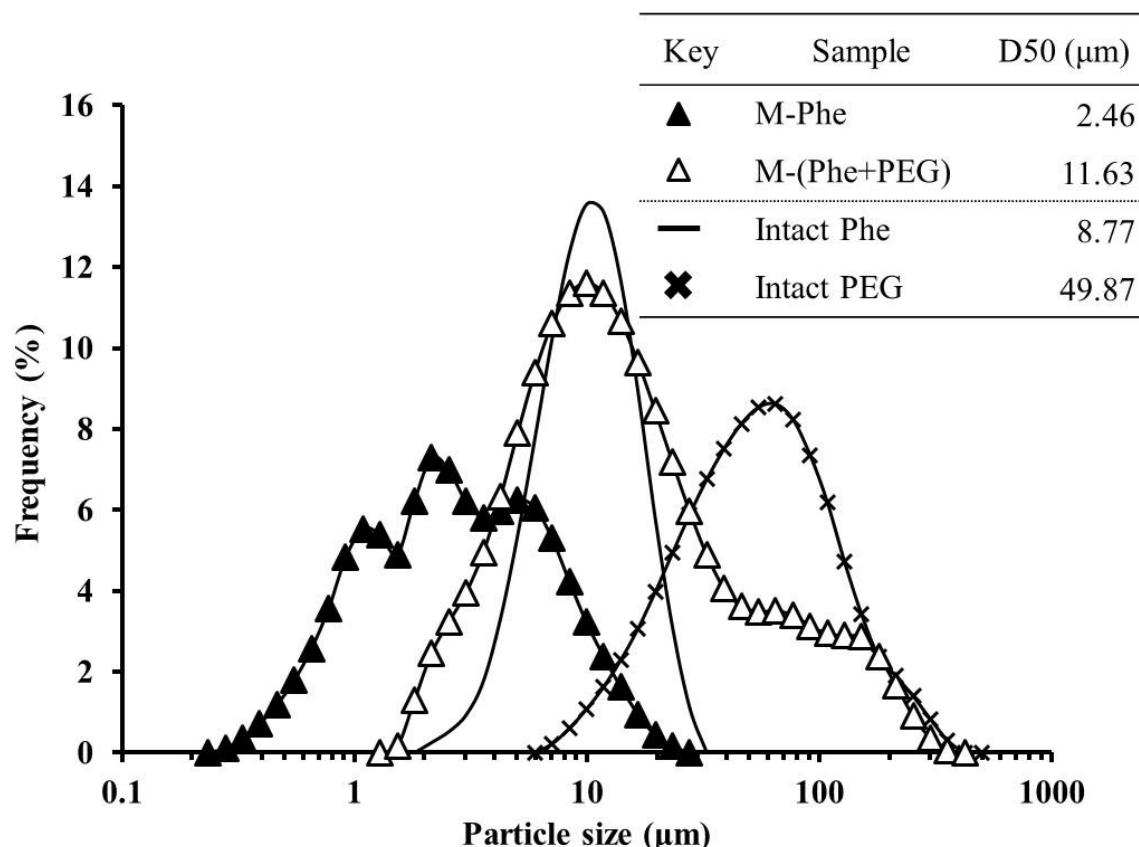


Fig. 2 Particle size distribution and D50 diameter of ultra cryo-milled particles and intact particles.

Key: (▲) M-Phe, (△) M-(Phe+PEG), (—) intact Phe, and (×) intact PEG.

両粉碎粒子の溶出挙動を Phe 原末と併せて Fig. 3 に示す。Phe 原末及び Phe 単独粉碎品 (M-Phe) では 180 分時点で 40%に満たない溶出率であった。Phe は pKa 8.3 の弱酸性薬物であるが、水への溶解性が著しく乏しいため、pH の異なる溶出試験液間での差は認められなかった。さらに、微粉碎した難水溶性薬物の溶解が改善されない現象は、Yuminoki 等のフェニトイン、Zimper 等のシンバスタチンを用いた粉碎研究でも報告されており⁴³⁾⁴⁴⁾、疎水性の Phe が水相中で強固な二次凝集塊を形成し、試験液中での分散が不十分であったと推測した。一方、混合粉碎品 (M-(Phe+PEG)) においては、両試験液とも溶出性の大幅な改善を示した。粉末 X 線回折より、粉碎前後で Phe の結晶性 (結晶形、結晶化度) が変化していないことが確認された。また、M-Phe と M-(Phe+PEG) の Phe の一次粒子サイズは同程度であったことから、溶解改善の要因は、水溶性の PEG が粉末全体の濡れを改善し、Phe 粒子間への水の浸透を促進したためと推察した。ただし、180 分後でも溶出率は 100%近くに達しておらず、改善効果は満足できるほどではなかった。

以上のように、LN₂を分散媒として用いた超低温粉碎により、サブミクロンサイズの薬物粒子を得ることができた。しかしながら、粉碎粒子は強固な凝集塊を形成することが確認され、溶解性の改善に寄与することはなかった。水溶性添加剤 (PEG) との混合粉碎により、ある程度の改善効果は得られたものの、期待するほどの結果には至らなかった。加えて、単独粉碎品・混合粉碎品ともに強く粒子間凝集を引き起こし、取り扱い性に劣る粉体であった。経口固形製剤に至るまでの混合・造粒・打錠といった後工程での定量供給や自動運転に支障をきたすことが予想された。したがって、超低温粉碎粒子が獲得したサブミクロンサイズという形態特性を薬剤機能 (溶解性能、ハンドリング性能) に橋渡しするための更なる加工技術が必要であることが認識された。

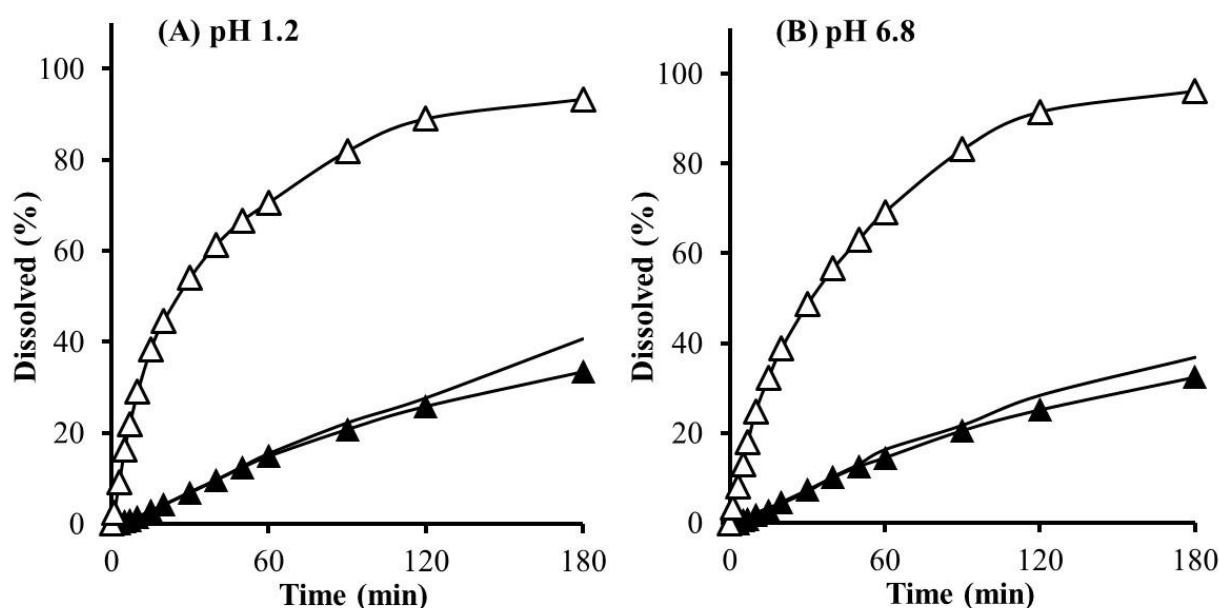


Fig. 3 Dissolution profiles of intact Phe and ultra cryo-milled particles: (A) JP17 1st fluid for dissolution test (pH 1.2), (B) JP17 2nd fluid for dissolution test (pH 6.8).

Key: (—) intact Phe, (▲) M-Phe, (△) M-(Phe+PEG).

第3節 乾式せん断処理による超低温粉碎粒子と核粒子との複合化

超低温粉碎品で生じた凝集塊の溶解性を改善し、さらに粉体物性の良好な粒子へと加工することを企図した。そこで、粉碎粒子をある程度の大きさを持つ球形な添加剤粒子（核粒子）とともに乾式せん断処理し、薬物粒子を核粒子の表面へ展延・固定化することを試みた。

乾式せん断処理には、機械的せん断装置（NOB-mini、ホソカワミクロン）を使用した。本装置は水平方向の円筒容器と駆動軸により構成されている。駆動軸には送り方向と戻し方向の特殊形状の攪拌翼が交互に複数配列されている。試料は攪拌翼の回転により、容器壁との間で強い衝撃、圧縮、せん断作用を繰り返し受ける。円筒容器には水冷ジャケットで覆われており、品温の上昇を抑え、弱熱性物質においても品質の劣化を回避した処理が可能である。本研究で用いた 20 mL 対応の小型機（NOB-mini）から、300 L の生産機までスケールの異なる 5 機種がラインアップされ、製造量に応じた機種の選定が可能である。

3-1. 核粒子の種類による影響

溶解性と粉体物性を同時に改善するため、種々の粒径や溶解性を有する核粒子を乾式せん断処理に適用し、最大の効果を得るための核粒子の適性を探索した。著者の所属する研究室ではこれまでに、乾式せん断処理にてコーンスターチ（CS）を核粒子に用いた複合粒子の設計について検討してきた¹⁹⁾。そこで CS に加え、医薬品添加剤として汎用されるマンニトール球形造粒物（NP）と結晶セルロース球形造粒物（CP）を採用した。平均粒子径はそれぞれ、約 20 μm （CS）、約 100 μm （NP）、約 270 μm （CP）であり、NP は水溶性、CS と CP は水に不溶である。また、粉碎粒子として、前節にて得た超低温粉碎品（M-Phe 並びに M-(Phe+PEG)）の両方を検討した。Table 2 の処方に示すように、核粒子と粉碎粒子の質量比を M-Phe では 9:1、M-(Phe+PEG) では 9:2 に設定した（核粒子：Phe

はともに 9:1)。各処方は、核粒子の略号 (CS、NP、CP) に、核粒子 : Phe : PEG の質量比を組み合わせ、M-Phe を用いた場合にはそれぞれ CS9:1:0、NP9:1:0、CP9:1:0、M-(Phe+PEG)を用いた場合にはそれぞれ CS9:1:1、NP9:1:1、CP9:1:1 と略記した。乾式せん断処理装置への粉体の充てん量は操作上の重要な因子であり、CS を核粒子とした場合、既報¹⁹⁾にて確立した最適かさ体積である 30 mL にて運用した。一方、NP や CP を核粒子とした場合、30 mL を投入すると過度な負荷がかかり (消費電力が許容値を超過)、運転が中断した。基本設定である容器内壁と攪拌翼のクリアランス幅 (1 mm) が、大粒径の NP や CP の場合には狭く、過剰量であると推察した。そこで、投入量を 20 mL へと減量して処理を実施したところ、運転上の不具合は解消された。投入する核粒子の大きさと投入量をバランス良く設定することが、乾式せん断処理を遂行する上での重要因子であると判断した。せん断処理時間については、従来での運転にならい 10 分に統一した。

Table 2 Formulation for the dry composite mixing process with various core particles when using a mechanical powder processor

Series (Core)	Symbol (Core:Phe:PEG ^a)	Loading (g)			Bulk volume (mL)
		Core	M-Phe	M-(Phe+PEG)	
CS	CS9:1:0	11.70	1.30	—	30
	CS9:1:1	11.70	—	2.60	30
NP	NP9:1:0	11.25	1.25	—	20
	NP9:1:1	9.45	—	2.10	20
CP	CP9:1:0	13.16	1.46	—	20
	CP9:1:1	11.29	—	2.51	20

^a Core:Phe:PEG = core particles (CS or NP or CP): phenytoin: polyethylene glycol 6000.

Processing time: 10 min, rotor speed: 3000 rpm, clearance between vessel wall and rotor: 1 mm.

乾式せん断処理後の製品回収率は全てのケースで 93%以上と高く、操作は良好であった (詳細は 15 ページに後述する)。乾式せん断処理にて得られた複合粒子の粒度分布を Fig. 4 に示す。核粒子である CS、NP、CP 原末はそれぞれ、20 μm 、100 μm 、270 μm 付近にモード径を持つ単一かつ均一なピークの粒度分布曲線を呈している。また総じて言えば、乾式せん断処理品についても、PEG の有無に関わらずそれぞれの核粒子と重なり合う粒度分布となり、3 つの分布曲線 (核粒子原末、9:1:0 品、9:1:1 品) が概ね核粒子ごとに重複した。いずれの場合も、主となるピーク以外の小粒径ピークは認められないことから、超低温粉碎粒子が造粒されたこと、核粒子の破碎が生じていないことが推論された。また大粒径ピークも認められないことから、核粒子間の二次造粒が生じていないことも確認された。こうした粒度分布の結果は、Phe や PEG の粉碎粒子が核粒子に取り込まれ、核粒子表面を層状に被覆した、つまり、OM 構造の複合粒子 (OM 粒子と称す) が形成されたことを示唆している。

このことを検証するため、SEM による形態観察を行った。CS、NP、CP 系列の各粒子の写真を Fig. 5、Fig. 6、Fig. 7 に示す。CS 原末は 20 μm 程の表面が滑らかな塊状の粒子、転動造粒品である NP 原末と CP 原末は粒度分布に示した大きさの球形造粒体であった (Fig. 5、Fig. 6、Fig. 7 上段)。

次に、それらを粉碎粒子とともに乾式せん断処理した 9:1:0 系 (PEG 未配合) 並びに 9:1:1 系 (PEG 配合) は、核粒子の種類がいずれの場合も破碎や凝集は見られず、それぞれの核粒子原末と同等の粒子形態 (サイズ、形状) を呈していることが確認された (Fig. 5、Fig. 6、Fig. 7 中段と下段の低倍率写真、左)。しかし、中倍率 (中) 及び高倍率 (右) の SEM 画像では、表面状態が明らかに異なっていることが明示された。PEG を配合しない 9:1:0 系複合粒子 (中段) の表面は、サブミクロンからシングルミクロンサイズの微小粒子が積層したモザイク構造を呈していた。小粒子のサイズが、超低温粉碎された薬物粒子 (M-Phe、Fig. 1 A-3) と同程度であることから、M-Phe 粒子が核粒子の表面に展延・固定化されたことを示している。粒度分布と SEM 観察の結果より、CS/NP/CP を母粒子、超低温粉碎微粒子 (M-Phe) を子粒子とするオーダードミクスチャー様式の複合粒子 (OM 粒子) が生成したと結論した。造粒された顆粒状核粒子 (NP 及び CP) による OM 様複合粒子の調製はこれまでに前例がなく、流動層装置による湿式コーティングの代用として製薬産業での利用価値が高いものと推察した (詳細は 16 ページに後述する)。

一方、PEG を配合した 9:1:1 系複合粒子 (下段) ではモザイク構造とは異なり、CS 系では Phe 小粒子が部分的に熔融した様相 (Fig. 5 下段)、NP/CP 系では M-Phe 粒子ほとんど見られず、滑らかな表面構造 (Fig. 6、Fig. 7 下段) を呈していた。この特徴的な表面状態は、低融点 (62~65℃) でワックス様の PEG に由来していると考えた。つまり、乾式せん断処理中に攪拌翼と容器内壁間で生じる強力なせん断応力により局所的かつ瞬間的に発生した熱が PEG の軟化・熔融を引き起こし、核粒子表面で展延した PEG 中に粉碎 Phe 粒子が埋没したことで、平滑構造になったと推察した。なお、容器外周槽に 50℃の温水を還流させたところ、ほぼ全ての粉体が巨大な凝集塊を形成、もしくは容器内壁・攪拌翼に付着し、複合粒子は得られなかった。20℃の冷却水を還流させ、装置内温度を 30℃未満に維持して PEG を瞬間的かつ局所的に熔融させることで、核粒子間の熔融造粒を回避した。このように OM 粒子 (単核構造の粒子) の調製には、処理中の製品温度も重要な要因であることが判明した。

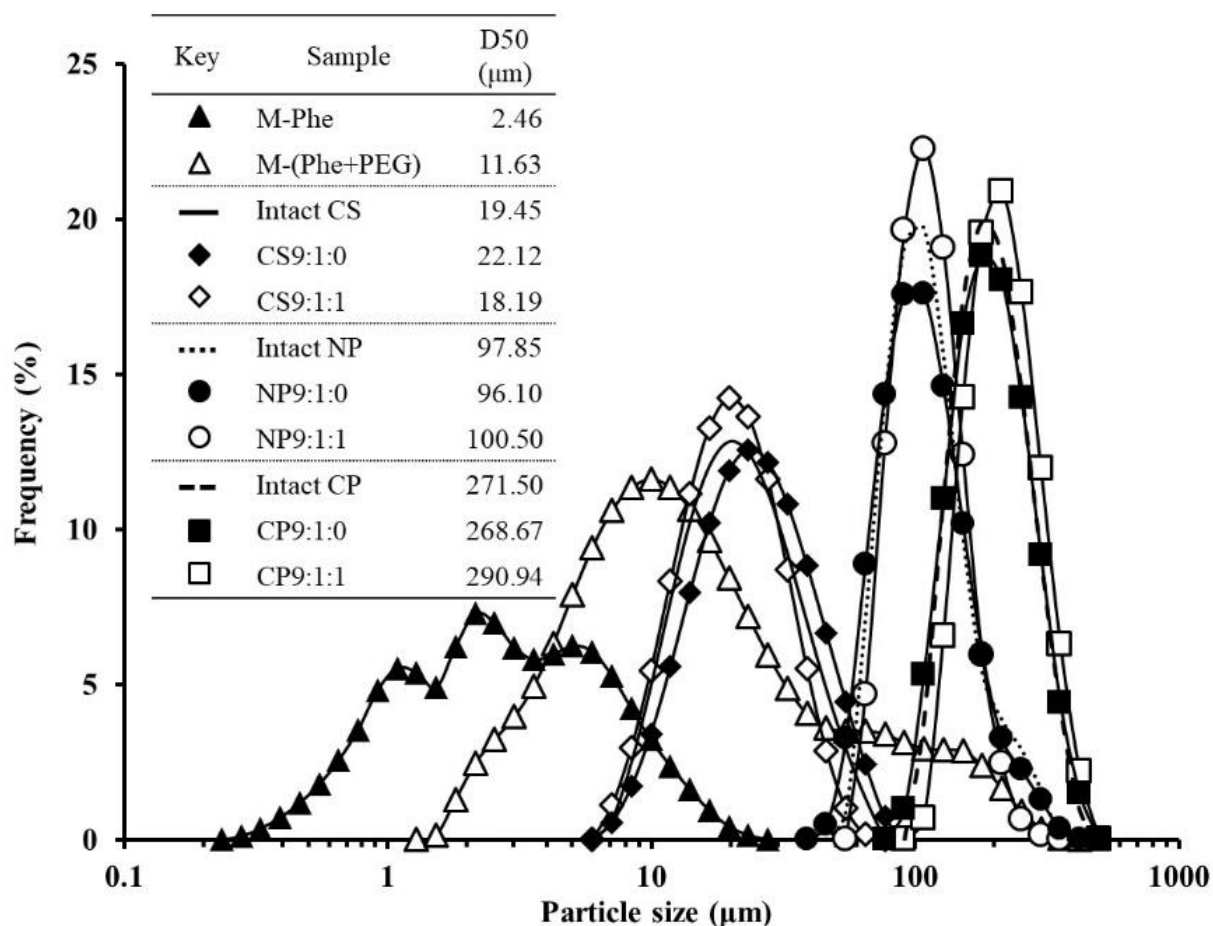


Fig. 4 Particle size distribution and D50 diameter of intact particles of cores (CS, NP, and CP), cryo-milled particles (M-Phe and M-(Phe+PEG)), and OM particles prepared through mechanical powder processing. Data were obtained using a laser diffraction scattering method (dry conditions).

Key: (▲) M-Phe, (△) M-(Phe+PEG), and (—) intact CS, (····) intact NP, (--) intact CP, and (◆) CS9:1:0, (◇) CS9:1:1, (●) NP9:1:0, (○) NP9:1:1, and (■) CP9:1:0, (□) CP9:1:1.

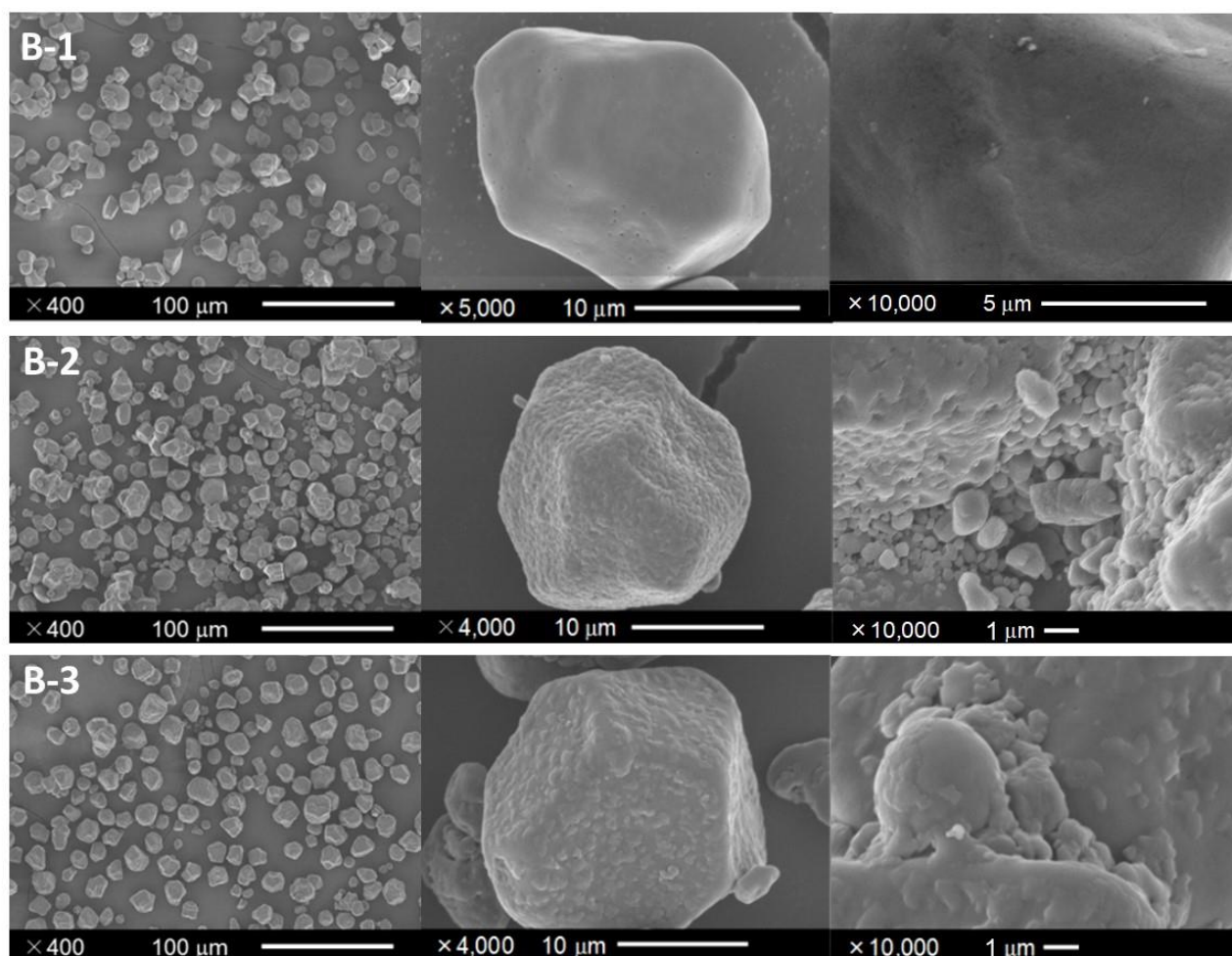


Fig. 5 Scanning electron microphotographs of OM particles (CS series): B-1) intact CS, B-2) CS9:1:0, B-3) CS9:1:1.

Appearance with low, middle and high magnification in the left, center, and right panels, respectively.

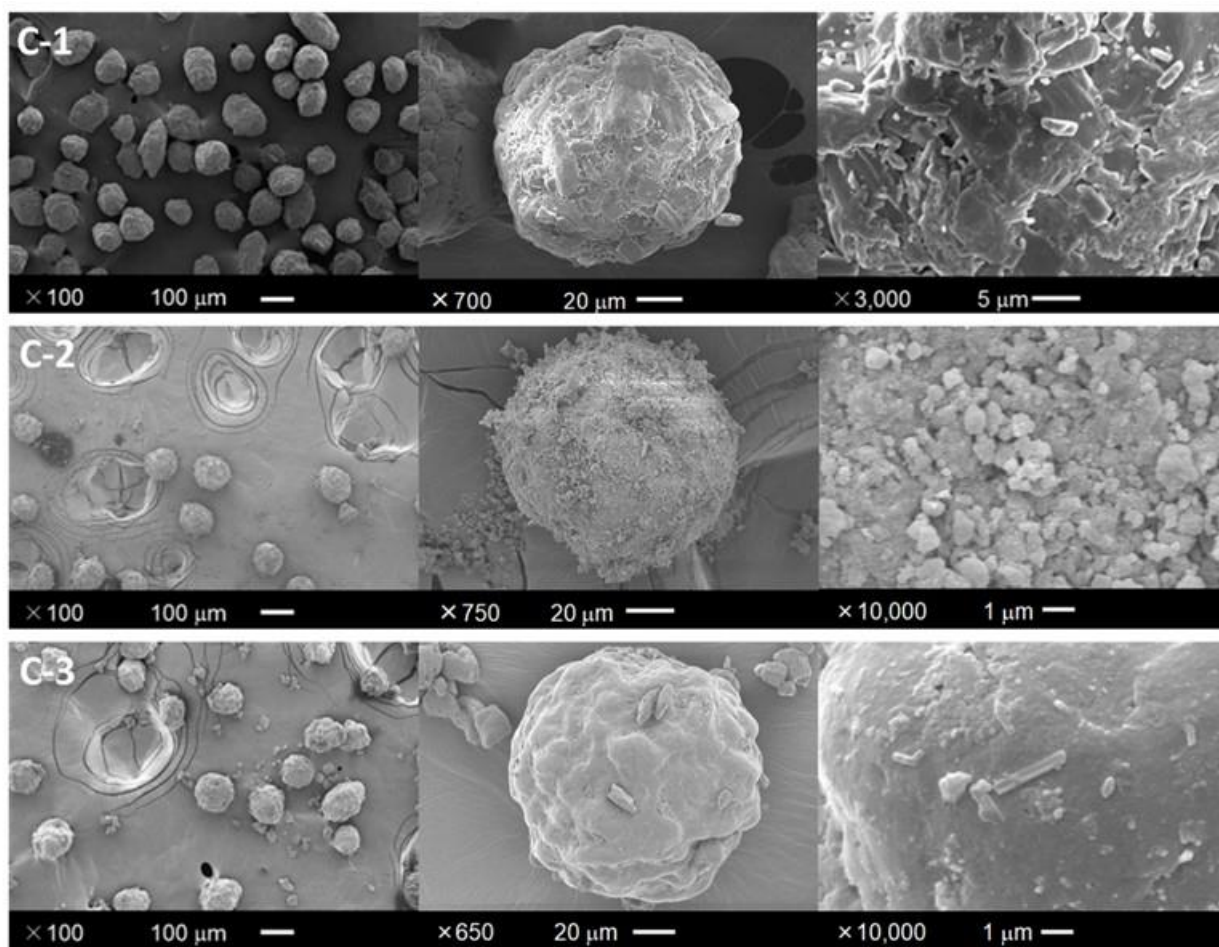


Fig. 6 Scanning electron microphotographs of OM particles (NP series): C-1) intact NP, C-2) NP9:1:0, C-3) NP9:1:1.

Appearance with low, middle, and high magnification in the left, center, and right panels, respectively.

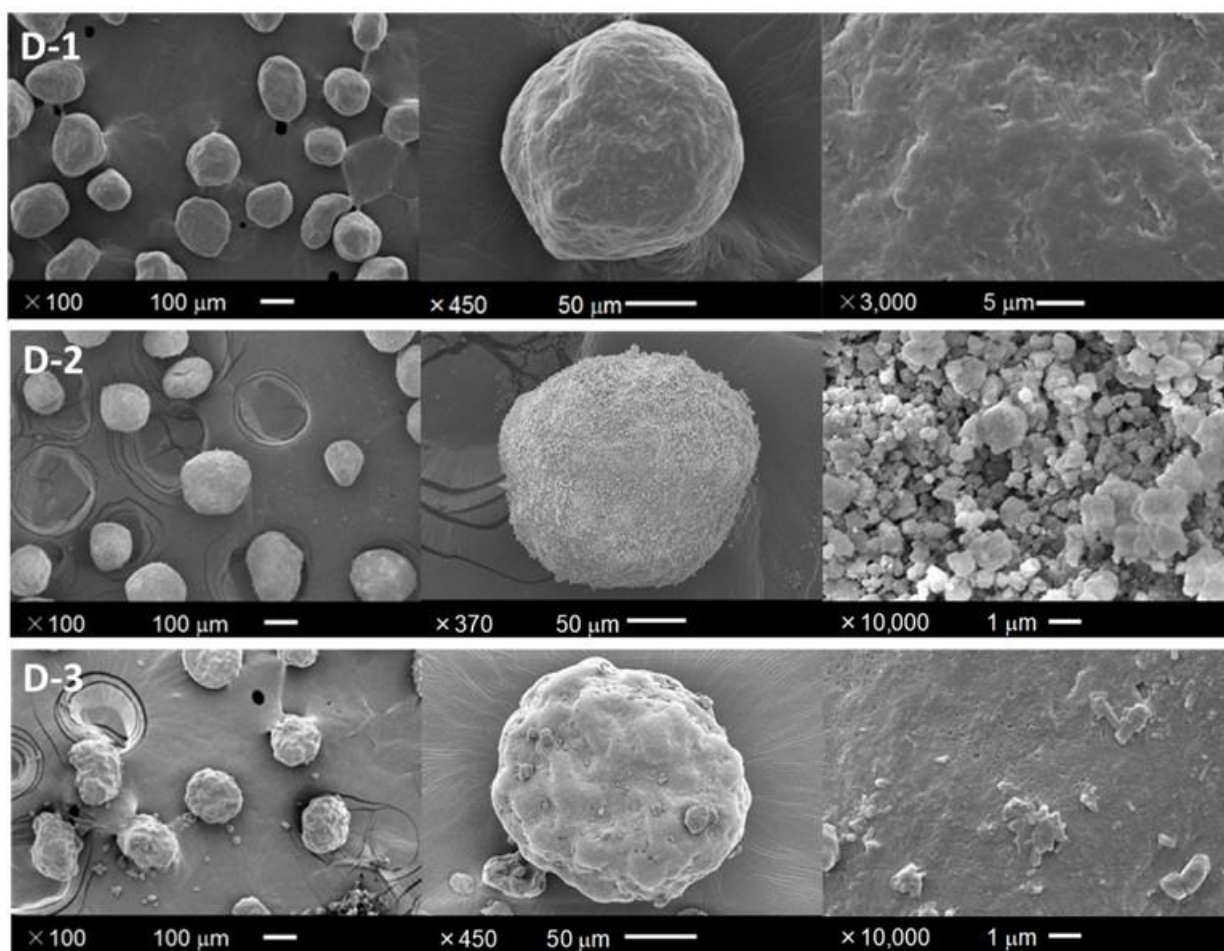


Fig. 7 Scanning electron microphotographs of OM particles (CP series): D-1) intact CP, D-2) CP9:1:0, D-3) CP9:1:1.

Appearance with low, middle, and high magnification in the left, center, and right panels, respectively.

乾式せん断処理による製品回収率は良好で、装置へ投入した粉末に対して 93 wt%以上であった (Table 3)。回収されたサンプルを目開き $45\ \mu\text{m}$ のふるいに置き、核粒子に固定化されていない遊離薬物粒子を除去後、Phe 含量を HPLC によって測定した。CS を核粒子とした OM 粒子では篩過による遊離薬物の分離ができなかったため、この解析はできなかった。PEG を含まない 9:1:0 系 OM 粒子 (CS9:1:0、NP9:1:0、CP9:1:0) では、核粒子が大きくなるにつれ、仕込み量から算出した理論 Phe 含量に対する実測 Phe 含量 (Phe 回収率) が低下する傾向 (98.00、81.50、75.20%) が認められた。これは、核粒子の粒子径の増大に伴い比表面積が減少し、粉碎粒子が付着できる総面積が減少したためと考察した。一方、PEG を含む 9:1:1 系 OM 粒子 (CS9:1:1、NP9:1:1、CP9:1:1) では、3 種の OM 粒子で Phe 回収率がほぼ同等 (82.40、83.17、85.48%) であった。これらの結果は、部分的に熔融した PEG が乾式結合剤として作用したことに起因すると推察した。ただし核粒子が小径の CS の場合、部分的に熔融した PEG が CS 粒子間で凝集や合一を引き起こし、粉末試料全体が容器壁に付着することで Phe の回収率の低下につながったものと考えられた (98.00%⇒82.40%)。一方、NP と CP の場合、熔融 PEG が結合剤として M-Phe の核粒子への付着・固定化を促進したため、PEG 未配合の場合と比べて、Phe 回収率は増大した (NP; 81.50⇒83.17%、CP; 75.20⇒85.48%)。その結果、篩過分離前後の薬物含量から算出した Phe と核粒子の固定化強度の指標を示す保持率も増大した (NP; 78.16⇒84.92%、CP; 85.90⇒93.69%)。

以上の結果は、新たに核粒子として用いた D-マンニトール又は結晶セルロース造粒顆粒 (NP、CP) が、機械的せん断操作後でも破断されなかったことを支持している。著者の所属する研究室ではこれまでに、未粉碎 Phe 粒子を用いて CS 粒子とともに乾式せん断処理することで、Phe 粒子が効果的に粉碎されると同時に CS 粒子表面へ層状に付着・固定化されることを報告してきた¹⁹⁾。ナノインデンテーションを用いた一粒子圧壊試験により、Phe はガラス様の脆性体、CS はゴムまり様の弾性体であることを明らかにした。CS は弾性特性を有するため、乾式せん断処理中で核粒子として振る舞うほかに、脆い Phe 粒子を粉碎する媒体としての役割を果たしていることを明らかにした (Fig. 8)。つまり、CS に挟まれた Phe のみが選択的に粉碎され、CS 表面に積層被覆した結果、OM 構造をもつ複合粒子が形成されることから、以前の事例での OM 粒子の生成機序はブレイクダウン型に分類される。言い換えれば、本工程中では、CS は薬物粒子を担持する核粒子としての機能に加え、粉碎補助媒体 (いわゆる、粉碎ビーズ) としての機能を発揮すると推察した¹⁹⁾。

一方、造粒物の NP や CP では十分な機械的強度を有しておらず、粉碎補助媒体としての機能をもち合わせていない。したがって、乾式せん断処理前に Phe 粒子を粉碎しておく必要があった。逆に言えば、本研究では超低温粉碎工程を乾式せん断処理と組み合わせたことで、結果的に NP や CP を核粒子とした OM 粒子の調製が可能となった。つまり、NP や CP を核粒子とした場合、核粒子表面に予め微細化された粒子が堆積することで OM 粒子が形成されることから、生成機序の観点ではビルドアップ型に位置づけられる。製薬産業では、NP や CP 等の添加剤球形顆粒は、徐放や苦味マスキング等の放出制御用コーティング粒の核粒子として市販製品に汎用されている⁴⁵⁾⁻⁵²⁾。通常、流動層装置を用いた湿式スプレーコーティングにて核粒子に薬物粒子を被覆しているが、コーティング時間が数時間から十数時間と長く、製造上の課題を有している。本研究の結果は、添加剤球形顆粒への薬物被覆が、乾式せん断操作にて代用できることを意味しており、操作時間が 10 分程度で完了する点、従来の湿式コーティングと比較し、生産性の観点で有利である。今後、製薬業界での実用化が期待される。

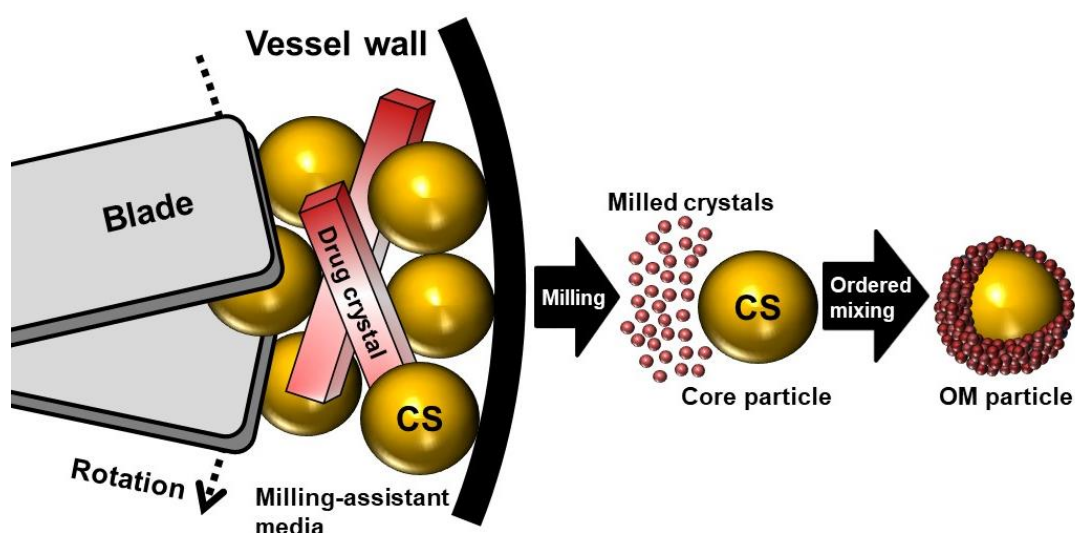


Fig. 8 Schematic diagram of dry milling and ordered mixing processes using CS beads under high shear force during mechanical powder processing operation.

Table 3 Recovery and phenytoin content in mechanical processed composite particles

Symbol	Total recovery ^a	Phe content (mg/100 mg)			Phe recovery ^e	Retention ratio ^f
		Theoretical ^b	Measured ^c	Measured in the residue on sieve ^d		
CS9:1:0	93.12%	10.00	9.80	—	98.00%	—
CS9:1:1	95.61%	9.09	7.49	—	82.40%	—
NP9:1:0	95.54%	10.00	8.15	6.37	81.50%	78.16%
NP9:1:1	96.38%	9.09	7.56	6.42	83.17%	84.92%
CP9:1:0	95.36%	10.00	7.52	6.46	75.20%	85.90%
CP9:1:1	97.25%	9.09	7.77	7.28	85.48%	93.69%

^a Total recovery = (recovery weight/loading weight)×100.^b Theoretical: Drug content was calculated from the loading weight of each material.^c Measured: Drug content in the processed particles was determined using HPLC.^d Measured in the residue on sieve: Drug content in the processed particles remaining on the sieve (45-μm opening) was determined using HPLC.^e Phe recovery = (measured Phe content/theoretical Phe content)×100.^f Retention ratio = (measured Phe content in the residue on sieve/measured Phe content)×100, indicating the percentage of Phe remaining adhered to the core particles after sieving.

3-2. 核粒子と被覆粒子の配合比による影響

薬物と核粒子の配合比の影響を調べるため、核粒子を NP、被覆粒子を M-(Phe+PEG)に固定し、複合粒子を調製した (Table 4)。NP と M-(Phe+PEG)の質量比を 9:2、6:2、3:2 と変化させた (Phe 理論含量はそれぞれ 9.09、12.50、20.00%)。全かさ体積 20 mL の NP と M-(Phe+PEG)を乾式せん断処理し、複合粒子を得た。先の命名指針に従い、NP9:1:1、NP6:1:1、NP3:1:1 と略記した。

Table 4 Formulation for the dry composite mixing process with various contents (core: milled product) when using a mechanical powder processor (only the NP series)

Series (Core)	Symbol (Core:Phe:PEG ^a)	Loading (g)			Bulk volume (mL)
		Core	M-Phe	M-(Phe+PEG)	
NP	NP9:1:1	8.10	—	1.80	20
	NP6:1:1	6.60	—	2.20	20
	NP3:1:1	4.20	—	2.80	20

^a Core:Phe:PEG = NP:phenytoin:polyethylene glycol 6000.

Processing time: 10 min, rotor speed: 3000 rpm, clearance between vessel wall and rotor: 1 mm.

前述した NP9:1:1 の SEM 画像 (Fig. 6 C-3) とは異なり、PEG を配合した処方であるにもかかわらず遊離の微細粒子が散見され、粉碎粒子の配合比が高いほど、その量は増加した (Fig. 9 C-4、C-5)。今回の条件のせん断処理では NP 顆粒は破碎しなかったことから、遊離粒子は核粒子表面に固定化できなかった M-(Phe+PEG)の凝集粒子と推論した。また高倍率の SEM 画像からは、熔融 PEG で被覆された平滑な NP9:1:1 粒子表面に付着粒子が現れ、NP6:1:1 では小突起が認められた (Fig. 9 C-4)。さらに Phe 含量の高い NP3:1:1 では、付着粒子が飽和になり突起状に伸長した構造を呈した (Fig. 9

C-5)。つまり、粉碎粒子を NP 核粒子表面に固定化するには、12.5%を超える薬物含量では過剰であると示唆された。

薬物の被覆効率を評価するため、NP に基づく 3 種の OM 粒子の Phe 含量を測定した (Table 5)。NP9:1:1、NP6:1:1、NP3:1:1 の Phe 含量はそれぞれ 7.56、10.49、17.69 mg/100 mg であり、M-(Phe+PEG) の投入量の増加に伴い Phe 含量も増加し、Phe 回収率 (83.17%、83.92%、88.45%) も高い値を維持した。しかし、篩過後にも核粒子上に留まる Phe 割合 (Phe 保持率) は、仕込み量が増すほど減少した (84.92%、80.84%、69.76%)。SEM 画像 (Fig. 9) から確認されたように、核粒子表面に固定化されなかった遊離薬物粒子や核粒子上で小突起となった層が脱離したためと推察した。

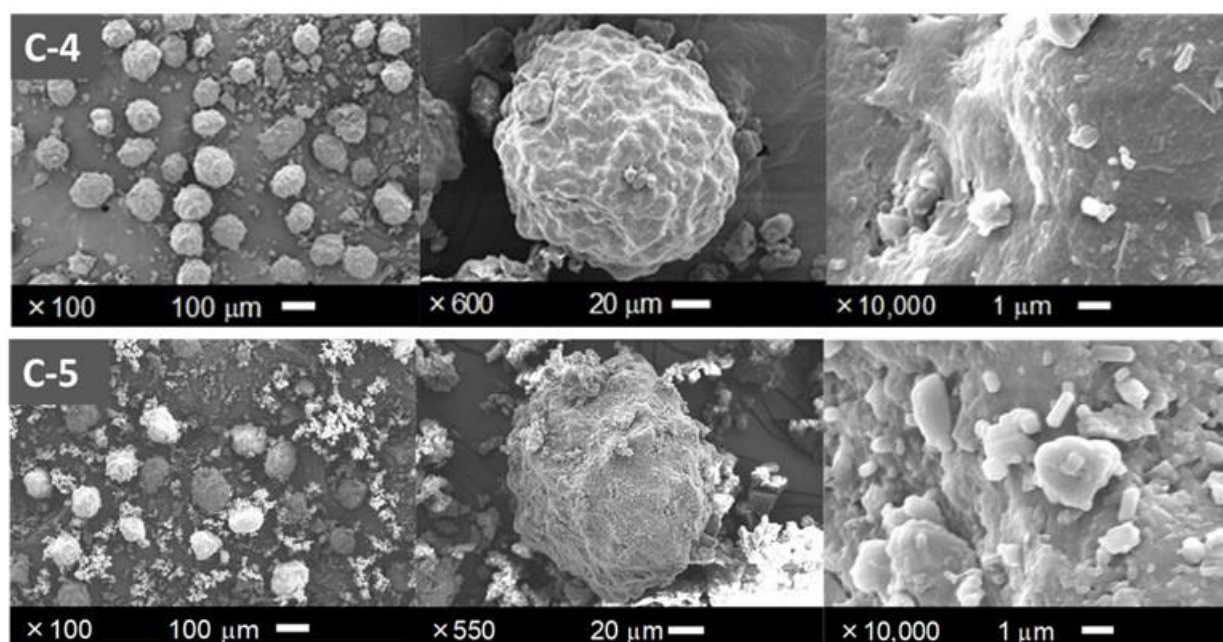


Fig. 9 Scanning electron microphotographs of OM particles (NP series): C-4) NP6:1:1, C-5) NP3:1:1. Appearance with low, middle, and high magnification in the left, center, and right panels, respectively.

Phe 粒子の被覆構造を定量的に考察するため、核粒子表面に単粒子層コーティングした薬物量を算出する Yang 等⁵³⁾の理論式 (1) (2) に基づいて、コーティング層数を算出した。この理論式は、全ての核粒子 (NP) 及び被覆粒子 (M-(Phe+PEG)) が同一径の真球であり、処理中に変形や割断することなく、核粒子の表面が最密充填した被覆粒子にて完全に覆われることを前提としている。レーザー回折・散乱法で測定した NP 及び超低温粉碎微粒子 (Phe) の D50 は 97.85 μm 並びに 2.46 μm (Fig. 2) であるが、SEM 観察により M-(Phe+PEG) は凝集塊を形成していた (Fig. 1) ことから、超低温粉碎微粒子 (Phe) の粒子径を SEM 画像より視認されるサイズの代表として 1.00 μm と設定した。また、ヘリウム置換ピクノメーターにより測定した NP 及び Phe の真密度は、1.11 g/cm^3 及び 1.40 g/cm^3 であった。これらの仮定に基づくと、核粒子表面に単粒子層コーティングされた薬物量 (Phe content for monolayer coating) は、下記の通りとなる。

$$\text{Phe content for monolayer coating (wt\%)} = \frac{(\text{Nd}^3\rho_d)}{(\text{D}^3\rho_D)+(\text{Nd}^3\rho_d)} \times 100 \quad \cdots (1)$$

$$N = \frac{4(\text{D}+d)^2}{d^2} \quad \cdots (2)$$

N : ホスト粒子1個あたりに単一粒子層コーティングしたゲスト粒子の数

ホスト (NP) 粒子径 (D) : 97.85 μm

ゲスト (Phe) 粒子径 (d) : 1.00 μm

ホスト (NP) 真密度 (ρ_D) : 1.11 g/cm^3

ゲスト (Phe) 真密度 (ρ_d) : 1.40 g/cm^3

式(1)(2)から、核粒子 NP の表面に単一粒子層状に堆積する Phe 量は 5.00 wt% (5.00 mg/100 mg) と算出された。つまり、OM 粒子の Phe 含量が 5.00 mg/100 mg の場合は、この粒子の複合化様式は単粒子層構造、10.00 mg/100 mg の場合は、二粒子層構造を呈していると想定した。ふるい分け操作後に残った OM 粒子表面上の Phe 含量 (Measured Phe content in the residual on sieve) 及び単一粒子層コーティング時の薬物理論量 (Phe content for monolayer coating = 5.00 mg/100 mg) を用いて式(3)より各処方 of Phe コーティング層数を算出すると、NP9:1:1 は 1.28 層、NP6:1:1 は 1.70 層、NP3:1:1 は 2.47 層となった (Table 5)。実際には、理論上の設定とは異なり、核粒子や被覆粒子は真球ではなく、全ての粒子が同一の大きさでないことから、正確な層数は反映していないが、被覆状態を想定する上での参考として用いた。投入時の薬物量を増量することで、核粒子に被覆される薬物量が増し、NP3:1:1 では薬物粒子の被覆状態は二層を超えることが示唆された。

$$\text{コーティング層数} = \frac{\text{Measured Phe content in the residual on sieve (mg/100 mg)}}{\text{Phe content for monolayer coating (=5.00 mg/100 mg)}} \quad \cdots (3)$$

Table 5 Recovery and phenytoin content in mechanical processed composite particles (NP series)

Symbol	Total recovery ^a	Phe content (mg/100 mg)			Phe recovery ^e	Retention ratio ^f	Number of coating layers ^g
		Theoretical ^b	Measured ^c	Measured in the residue on sieve ^d			
NP9:1:1	96.38%	9.09	7.56	6.42	83.17%	84.92%	1.28
NP6:1:1	96.06%	12.50	10.49	8.48	83.92%	80.84%	1.70
NP3:1:1	93.62%	20.00	17.69	12.34	88.45%	69.76%	2.47

^a Total recovery = (recovery weight/loading weight)×100.

^b Theoretical: Drug content was calculated from the loading weight of each material.

^c Measured: Drug content in the processed particles was determined using HPLC.

^d Measured in the residue on sieve: Drug content in the processed particles remaining on the sieve (45- μm opening) was determined using HPLC.

^e Phe recovery = (measured Phe content/theoretical Phe content)×100.

^f Retention ratio = (measured Phe content in the residue on sieve/measured Phe content)×100, indicating the percentage of Phe remaining adhered to the core particles after sieving.

^g Number of coating layers = measured Phe content in the residual on sieve/arithmetic Phe content for a monolayer coating (5.00 mg/100 mg of NP).

第4節 OM粒子からの薬物溶出性

4-1. 核粒子の種類による影響

溶解改善効果を確認するため CS、NP、CP 系列の各 OM 粒子の溶出試験を行った。粉碎品及び Phe 原末と併せ、各 OM 粒子からの薬物溶出挙動を Fig. 10 に示す。第2節に記載した通り、超低温粉碎品（▲；M-Phe、△；M-(Phe+PEG)）では期待するほどの溶解改善には至らなかったものの、OM 粒子ではそれぞれの粉碎品と比べ溶出性が向上した。黒塗りのマークで示す 9:1:0 系（PEG 未配合）では、溶解改善剤を配合していないにもかかわらず、単独粉碎品（▲）に対し溶出速度が大幅に増大した。これは乾式せん断処理により粉碎粒子（M-Phe）が核粒子表面に引き伸ばされることで、微細な Phe 粒子間の凝集を解いたことに起因すると推察した。つまり、サブミクロン粒子を薄層状へと展延した形態変化が、それが持つ潜在的な薬剤機能性（溶解特性）の発現を引き出した。ただし、溶出改善効果は PEG との混合粉碎品（M-(Phe+PEG)、△）と同程度に留まった。一方、白抜きのマークで示す 9:1:1 系（PEG 配合）では、更なる初期溶出の向上が認められた。水溶性の PEG が Phe と共に核粒子表面に薄層を形成して OM 粒子の濡れ性を改善することで、水中において Phe 粒子の核表面からの自発的な脱離を促進したと推察した。なお、前節の SEM 画像では、OM 粒子表面は単独粉碎品（M-Phe、Fig. 1 A-3）と同程度のサブミクロンからシングルミクロンサイズの微小粒子が積層していることが確認されていることから、ゲスト粒子として用いた M-Phe 及び M-(Phe+PEG)の粒度分布測定結果（D50）の差に起因するものではない。つまり、9:1:0 系（PEG 未配合）と 9:1:1 系（PEG 配合）の溶出挙動の違いは、PEG 添加を反映した結果と推察した。

次に核粒子の種類に着目すると、NP を核とする OM 粒子の溶出が最速であった（○）。これは被覆された薬物層に亀裂が入り導水経路が生じると、3 種の核粒子のうち唯一水溶性である NP 自身が溶解し、薬物粒子の脱離と水中への分散が促進したと推察した。この結果は、核粒子の特性によっても OM 粒子の溶出改善を実現できることを示している。著者の所属する研究室では、崩壊剤として汎用されるデンプングリコール酸ナトリウムを核粒子に用い、膨潤性機能を付与した OM 粒子の開発をしている⁵⁴⁾。

以上のように、OM 粒子の溶解改善は、超低温粉碎による Phe 粒子の表面積の増大と、PEG の導水効果に起因すると推察した。すなわち、形態的要因（微細粒子の展延）と機能的要因（濡れ性）の相加効果によってもたらされたと言える。さらに、添加剤のみならず核粒子の性質を付与できることから、更なる機能の相加効果が期待される。

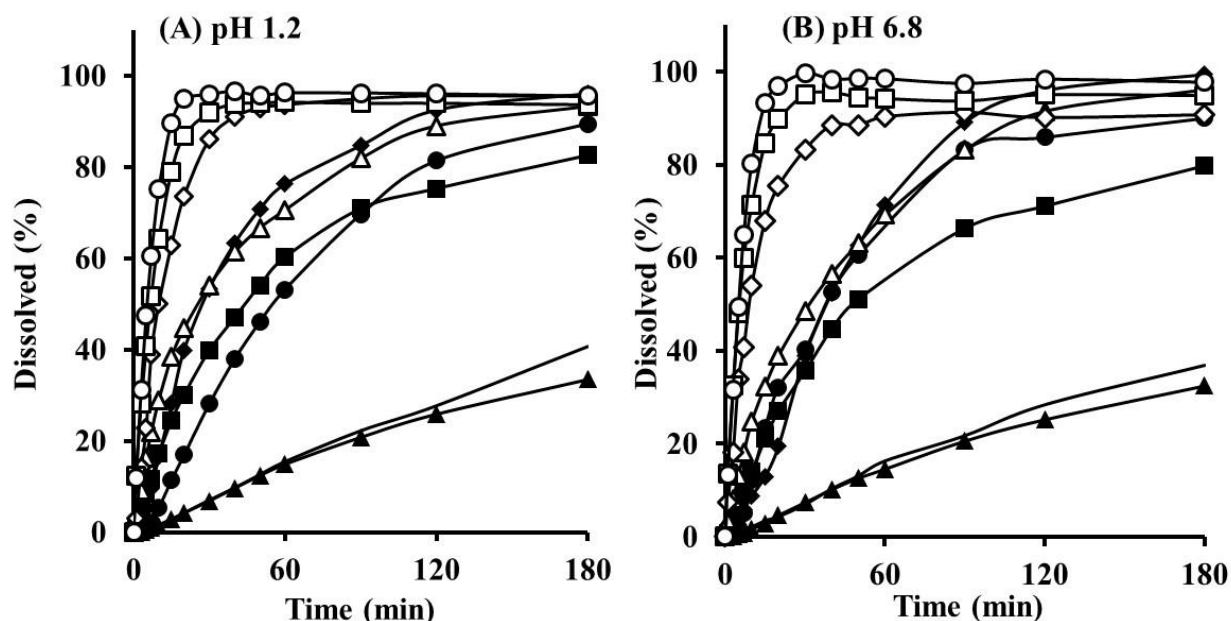


Fig. 10 Dissolution profiles of intact Phe, cryo-milled particles, and various OM particles: (A) JP17 1st fluid for dissolution test (pH 1.2), (B) JP17 2nd fluid for dissolution test (pH 6.8).

Key: (-) intact Phe, (▲) M-Phe, (△) M-(Phe+PEG), and (◆) CS9:1:0, (◇) CS9:1:1, (●) NP9:1:0, (○) NP9:1:1, (■) CP9:1:0, (□) CP9:1:1.

4-2. 核粒子と被覆粒子の配合比による影響

次に、NP を核とする薬物配合比の異なる 3 種の OM 粒子 (NP9:1:1、NP6:1:1、NP3:1:1) の溶出性を評価した。NP9:1:1 で認められた顕著な溶解改善効果は、Phe 含量が増加するにつれて減弱し、特に NP3:1:1 では減弱傾向が顕著であった (Fig. 11)。これは核粒子に展延・固定化した Phe 量が増加しコーティング層数が肥厚化 (Table 5) したことで、薬物層内への水の浸入が遅延したためと推察した。溶出の遅延は既報¹⁹⁾で報告された CS を核粒子とした OM 粒子ほど深刻ではなく、水溶性の NP 核粒子自身が溶解することや水溶性高分子である PEG が Phe と等量に配合された M-(Phe+PEG) をゲスト粒子としたことで、複合化前の混合粉砕品 M-(Phe+PEG) が獲得した溶解改善効果を維持したと考察した。すなわち、OM 粒子の溶出挙動に影響を及ぼす因子として、各粒子の性質のみならず薬物配合量も重要であることが示された。

また粉末 X 線回折より、乾式せん断処理前後で Phe の結晶性 (結晶形、結晶化度) が変化していないことが確認された。したがって OM 粒子の溶解性改善は、超低温粉砕法と同様に非晶質や多形等の結晶特性に起因せず、保存時において結晶転移を来す恐れのないことが示唆された。超低温粉砕と乾式せん断処理の連続処理は、溶媒による溶解や熱による熔融がない処理法であり、難水溶性や熱不安定性薬物への適用が可能であり、適用範囲が広いことが利点である。

以上のように、OM 粒子の溶解性改善は薬物の分子的又は結晶的改変に基づくものではなく、核粒子表面に粉砕粒子を展延・固定化した形態改変により発揮されたものである。これら一連の処理は、包接化合物のような複合体を形成させる化学的な溶解性改善手法や固体分散体・自己乳化のような結晶的な溶解性改善手法とは異なる機序で難水溶性薬物の溶解特性を改善する代替手法となると結論した。

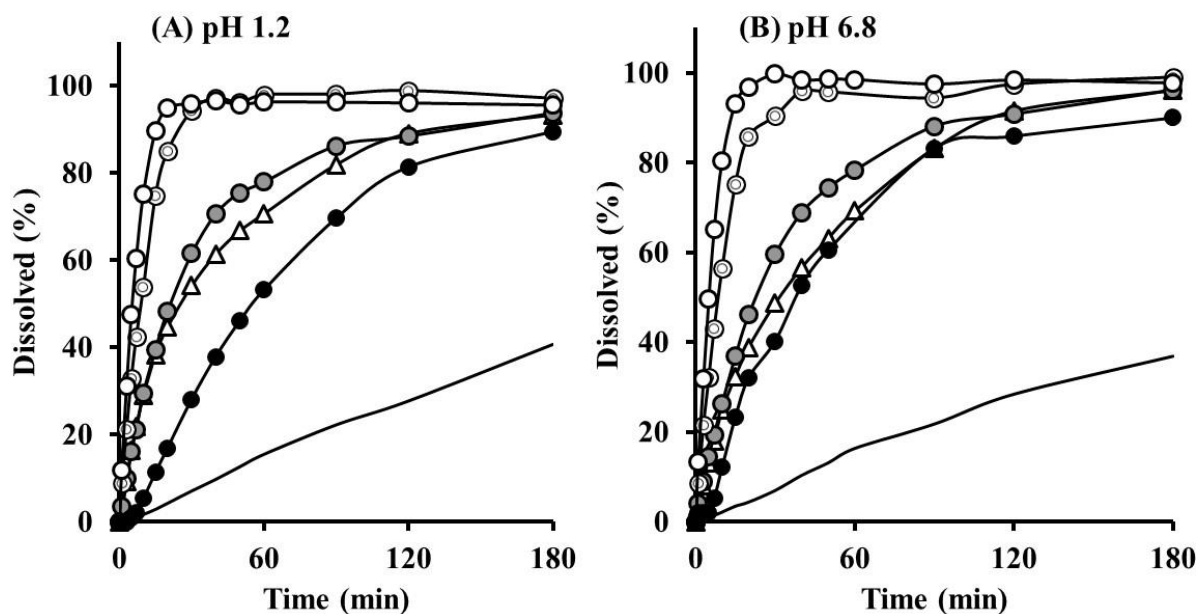


Fig. 11 Dissolution profiles of intact Phe, cryo-milled particles, and NP-based OM particles: (A) JP17 1st fluid for dissolution test (pH 1.2), (B) JP17 2nd fluid for dissolution test (pH 6.8).

Key: (—) Intact Phe, (△) M-(Phe+PEG), and (●) NP9:1:0, (○) NP9:1:1, (⊙) NP6:1:1, (●) NP3:1:1.

第5節 OM 粒子の粉体物性

乾式せん断処理にて製した OM 粒子の安息角 (AOR : Angle of repose) を Fig. 12 に示す。安息角は、粒子の付着力の強さと粒子間の接触点での摩擦によって決定される。したがって、流動性の悪い粉末の場合、粒子間の付着力が大きくなることで、粉体を円錐状に積み上げた際の傾斜が急になり、安息角が大きくなる。一般的には 45° 以下であれば取り扱い上、問題のない値とされ、攪拌・振とう操作が不要な 40° 以下が好ましい値とされる⁵⁵⁾。Fig. 12 の右側に Carr によって提案された流動性の尺度を示す⁵⁵⁾。凡例はそれぞれ原末 (灰色)、PEG を含まない粒子 (黒色)、PEG を含む粒子 (白色) を示す。Phe 原末と粉碎粒子 (M-Phe、M-(Phe+PEG)) は安息角が 60° 超と大きく、流動性が劣悪な粉末であることを示している。特に M-Phe は付着力が強いため漏斗から流下せず、測定が困難であった。一方、OM 粒子の安息角は全て減少しており、減少の程度は核粒子の粒子径に依存していた。NP 及び CP を核粒子とした OM 粒子は、Carr の指標がそれぞれ「passable~fair」及び「fair~excellent」であり、流動性が顕著に改善された。しかし、粒子径が $30\text{ }\mu\text{m}$ を超えない限り流動性を改善が難しいという Jallo 等の報告⁴⁰⁾の通り、CS を核粒子とした OM 粒子は「very poor~poor」であり、粒子径が約 $20\text{ }\mu\text{m}$ の CS では乾式せん断処理で OM 粒子化しても流動性は大きく改善されなかった。また、9:1:0 系 (PEG 未配合) と 9:1:1 系 (PEG 配合) で安息角に大きな差はなかった。上記の結果から、流動性の改善は OM 粒子の表面構造ではなく、核粒子表面に粉碎粒子が固定化したことによるサイズの増大に起因していることを示している。これらの流動性改善は、従来のシリカ³³⁾⁻⁴⁰⁾やステアリン酸マグネシウム⁴¹⁾による表面被覆とは異なる機序の粉体物性の改善法である。

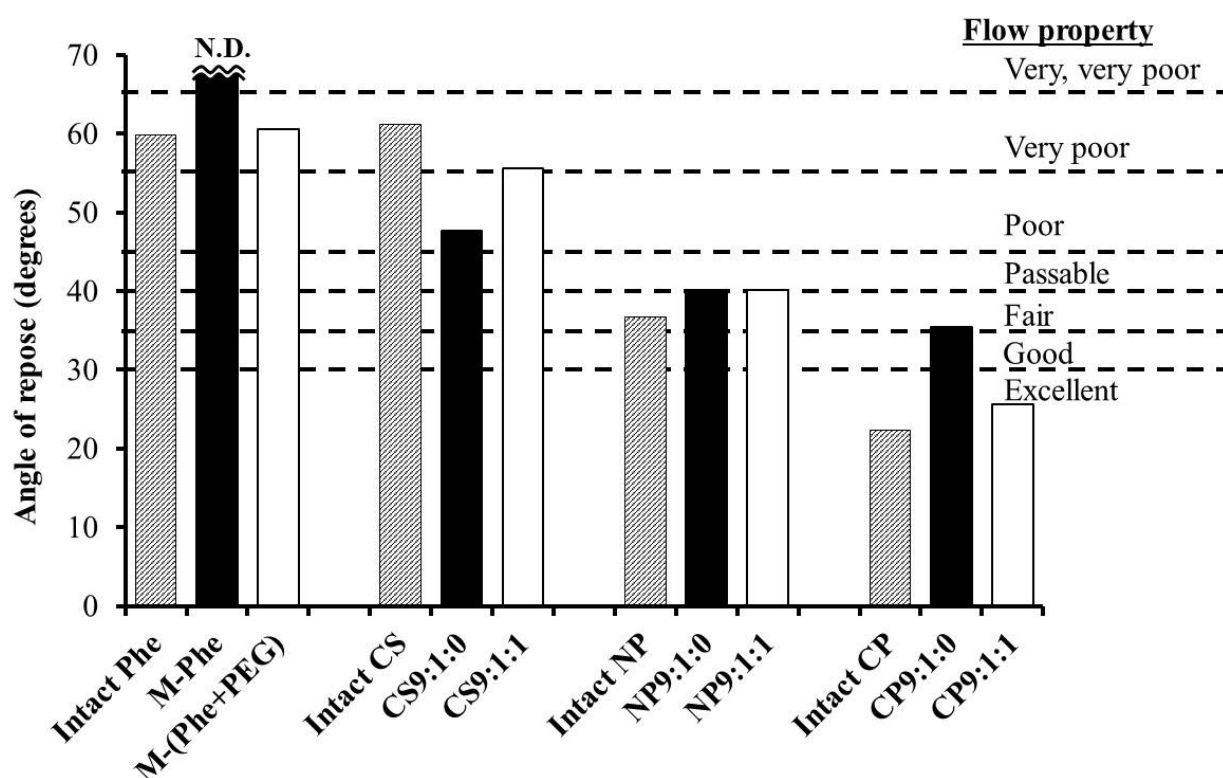


Fig. 12 Angle of repose of intact Phe, cryo-milled particles and various OM particles as flowability index. (N.D.: M-Phe could not be measured because of its strong adhesion and cohesion properties.)

粉碎粒子及び複合粒子を円筒容器に自然充てん及びタップ充てんした際のかさ体積より、かさ密度(最疎かさ密度)及びタップ密度(最密かさ密度)を測定した。M-(Phe+PEG)のかさ密度は 0.18 g/mL であり、打錠時の臼充てんやカプセル充てんするには低すぎる結果であった。かさ体積が大きいと、1 製剤分の充てん量が臼空間やカプセルに充てんしきれないことが予期される。また、打錠時にキャッピングやラミネーション等の打錠障害の要因となる可能性も考えられたため、粉碎粒子はかさ密度の改善が必要である。ただし、かさ密度は造粒方法や配合目的により一定の目標値を設定することが難しいことから、タップ前後のかさ密度値の低下率を圧縮度 (CI : Compressibility Index) として算出し、充てん性の指標とした。充てん性の悪い粉末の場合、最疎かさ密度と最密かさ密度に大きな乖離が生じ、圧縮度として高値を示す。一般に、粉体材料を扱う上では 15%以下が良好な値とされる⁵⁵⁾。粉体層のかさ密度及び圧縮度を Fig. 13 に示す。右側に Carr によって提案された充てん性の尺度を示す⁵⁵⁾。左から原末、9:1:0 系 (PEG 未配合)、9:1:1 系 (PEG 配合) のグループごとに配置した。粒子径の増大に応じてかさ密度が増大し、充てん性が改善される傾向が認められた。圧縮度が 60%を超える付着力の高い粉碎粒子 (M-Phe、M-(Phe+PEG)) は、乾式せん断処理後に圧縮度が減少し、充てん性が顕著に改善された。特に、NP 及び CP を核粒子とした OM 粒子では、充てん性の指標が「passable~excellent」へと改善された。一方、CS を核粒子とした OM 粒子では「very very poor」に留まった。重力よりも静電気力が支配因子となる臨界粒子径 (約 100 μm) 以下の粒子径では、粒子間のファンデルワールス力が粒子の質量を超え、粒子間凝集を引き起こし、改善に至らなかったと推察した。また、9:1:0 系 (PEG 未配合) と 9:1:1 系 (PEG 配合) を比較したところ圧縮度に有意な差は認められなかった。つまり、臨界粒子径より大きな核粒子を有する OM 粒子の形成により、粉碎粒子の粉体物性が改善されたことを示す。以上から、OM 理論に基づいた複合粒子は、溶出性の改善効果を維持しながら、良好な粉体物性 (流動性及び充てん性) の側面を併せ持つ利点を有することを示した。

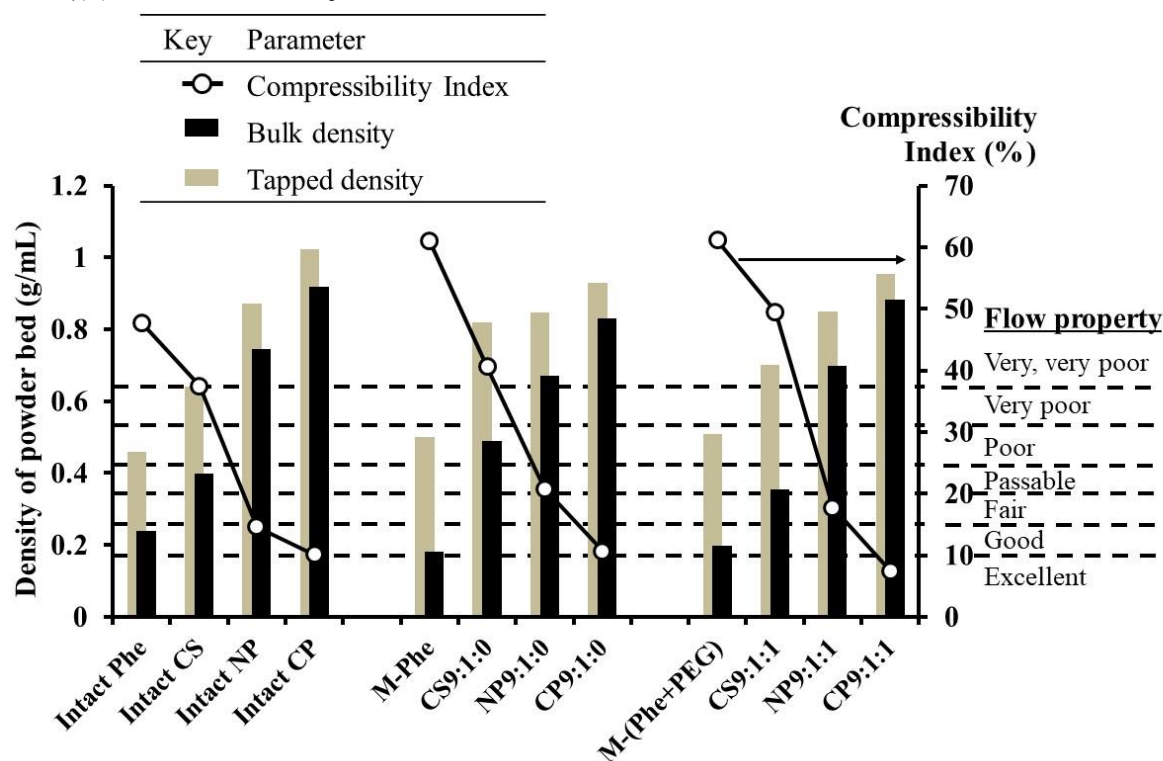


Fig. 13 Density of powder bed and compressibility index of intact Phe, cryo-milled particles, and various OM particles representing packability index.

第6節 小括

難水溶性薬物である Phe の溶解性改善を目的として、Phe 単独又は PEG と共に LN₂ 中で超低温粉碎した。超低温粉碎された粒子はシングルミクロン～サブミクロンまで微細化された。超低温粉碎粒子の溶解性と粉体物性を同時に改善するため、乾式せん断処理により粉碎粒子を核粒子表面に固定化した複合粒子とした。以下、本章で得られた知見を記載する。

- 1) 複合粒子は、外観像及び粒度分布から核粒子を粉碎粒子で被覆したオーダードミクスチャー構造を有する球形粒子であった。
- 2) 乾式せん断処理により、粉碎粒子 (M-Phe、M-(Phe+PEG)) は核粒子表面に展延・固定化された。ただし、9:1:1 系 (PEG 配合) OM 粒子の場合、PEG が部分的に熔融したことで 9:1:0 系 (PEG 未配合) とは異なる滑らかな表面状態を示した。
- 3) 20、100、270 μm 程の直径を持つ球形又は顆粒状の CS、NP、CP 粒子はいずれも核粒子としての適性があり、乾式せん断処理により OM 粒子が形成された。核粒子の大きさにより薬物の保持率は異なることが示された。
- 4) NP を核粒子とし、核粒子と被覆粒子の配合比を変化させたところ、薬物量が 12.5%を超える薬物含量では過剰であると示唆された。また、薬物量の増加に伴い、最大 2 粒子層ほどのコーティング層数となることが示された。
- 5) OM 粒子からの溶出挙動は、特異な OM 構造 (核粒子表面上に微粒子が被覆) に強く依存しており、核粒子表面に展延・固定化された微細な薬物粒子は水中で即座に分散し、迅速な薬物放出を促進した。さらに混合粉碎された PEG は疎水性の微粒子薬物層の濡れ性を高め、水中での急速な分散・溶解を促進した。
- 6) 超低温粉碎粒子を OM 粒子へと二次加工することにより、粉体物性を劇的に改善するに至った。OM 粒子の流動性及び充てん性は、二次構造 (核粒子を基とした大きな複合粒子) と強く関係していた。

以上から、超低温粉碎と乾式せん断処理の連続処理により、超低温粉碎粒子 (一次構造) が核粒子を被覆した複合粒子 (二次構造) を調製することに至った。複合粒子の一次構造及び二次構造を設計することにより、難水溶性薬物の溶解性と粉体物性を同時に改善できることが示唆された。

第2章 アクリル酸系ポリマー微粒子を使用した機能性複合粒子の設計

第1節 緒言

第1章では、溶解改善剤として水溶性の PEG を使用し、超低温粉碎と乾式せん断処理により難水溶性薬物の溶解性及び粉体物性の改善に至った。低融点 (62~65°C) でワックス様の PEG は、乾式せん断処理中に一部が熔融することで、粉碎薬物粒子の核粒子への接着性を高める役割を果たしていた。加えて、OM 粒子表面に薄層状に展延することで、薬物粒子への導水性を向上させ溶解性改善効果をもたらした。

本章では PEG に代え、アクリル酸系ポリマー (Eudragit L-100 (EUD)、エボニックジャパン) を溶解改善剤として採用した。本ポリマーは pH 6 以上で溶解する腸溶性コーティング基剤である^{45), 56)}。一般的には、アルコール等の溶媒へ溶解させ、流動層装置等を用いてスプレーコーティングが施される⁵⁶⁾。本ポリマー粒子は、乳化重合法により得た水性ラテックス液を噴霧乾燥して製造されるため、200~250 nm の単分散一次粒子が球形状に集合した形態学的特徴を有している (Fig. 14)。本研究では、通常用途の溶液状態としてではなく、単分散ナノサイズ球という一次粒子の形態を利用するため乾燥粉末のまま本法に適用することを企図した。すなわち、超低温粉碎にて薬物と混合粉碎することにより、噴霧乾燥造粒物 (二次顆粒) を構成する一次粒子へと解砕させ、次工程の乾式せん断処理にて核粒子表面に単粒子ごとに固定化することを発案した。すなわち、昆虫の複眼様のナノ粒子被覆 OM 粒子を構築することを試みた。第1章の熔融に基づく被覆化とは大きく異なる OM 構造を持つ粒子が、これまでにはない新たな薬剤機能 (溶出改善効果及び粉体物性) を生み出すことを期待した。

本章では乾式せん断処理には核粒子を NP に限定し、EUD 混合粉碎品 (M-(Phe+EUD)) とともに機械的せん断装置にてせん断処理した。得られた OM 粒子について、薬物粒子の自発的分散性、溶解性、並びに OM 粒子の粉体物性を評価し、超低温粉碎及び乾式せん断技術の有用性について考察した。

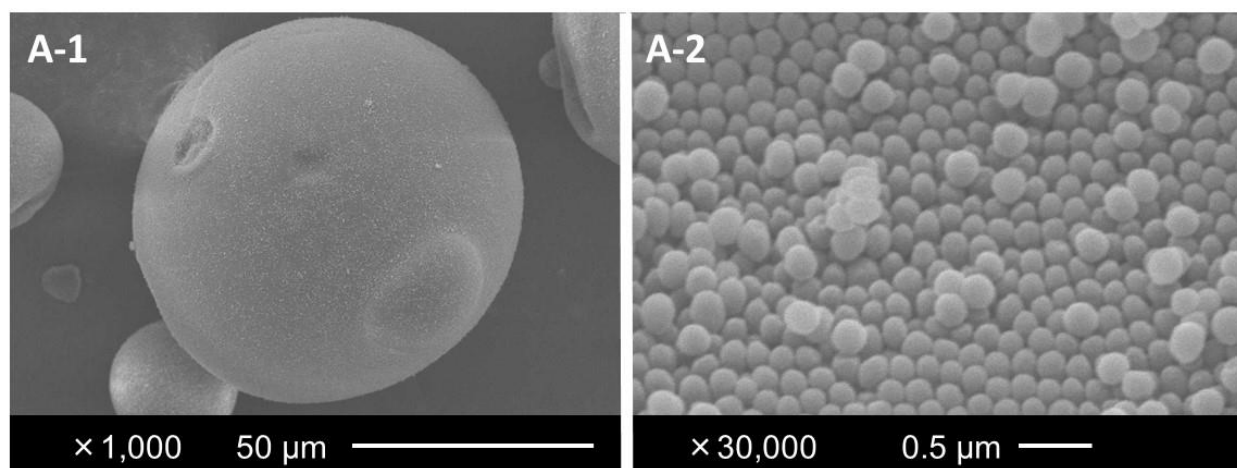


Fig. 14 Scanning electron microphotographs of intact EUD: A-1) low magnification, A-2) high magnification.

第2節 薬物とアクリル酸系ポリマーとの超低温粉碎

Phe 単独、及び Phe と EUD の混合物を LN_2 中にて超低温粉碎（超低温混合粉碎）した。Table 6 に処方及び操作条件を示す。なお、Phe 単独粉碎品を M-Phe、Phe と EUD の混合粉碎品（1:1 w/w）を M-(Phe+EUD)と略記した。混合粉碎の場合、粉碎物のビーズ表面への付着量を低減させるため、ビーズの使用量を半量に設定した。

Table 6 Formulation for ultra cryo-milling process

Symbol	Loading (g)		Milling media (Zirconia beads)	
	Intact Phe	Intact EUD	Size (mm)	Volume (mL)
M-Phe	15.00	—	0.6	100
M-(Phe+EUD)	7.50	7.50	0.6	50

Phe 原末と EUD 原末、及び粉碎品の粒度分布を Fig. 15 に、SEM 画像を Fig. 16 に示す。単独粉碎品（M-Phe）の場合、D50 が第 1 章同様に微細化され、Phe 原末と比較して小粒径側へシフトした分布となった。また SEM 画像からは、10～20 μm で棒状又は板状結晶の Phe 原末（Fig. 16 B-1, B-2）と比較して、一次粒子レベルではサブミクロンから 2、3 μm 程度まで微細化され、第 1 章でも示したように凝集塊を形成している様子が観察された（Fig. 16 C-1, C-2）。

一方、EUD と混合粉碎した M-(Phe+EUD)の粒度分布は EUD 原末に対して小粒径側へシフトし、D50 が 25.39 μm から 5.25 μm へと低下した。低倍率の SEM 画像からは元の Phe 及び球状の EUD は認められず、微粒子の凝集塊が観察された（Fig. 16 D-1）。高倍率写真では、サブミクロンから 2、3 μm 程度に微細化された Phe 同士が凝集し、その周りに EUD の一次粒子と考えられる 200 nm 程度の球形小粒子が付着した二次粒子を形成していることが観察された（Fig. 16 D-2）。これらの結果より M-(Phe+EUD)は、Phe 結晶が粉碎、EUD 二次球形粒子が一次粒子へと解砕され、互いに付着し凝集塊を形成していると判断した。観察上、粉碎された Phe 粒子は M-Phe、M-(Phe+EUD)ともに 1 μm 程度の大きさを呈している。粒度分布測定で撮影像よりも大きな測定値となったのは、Phe 凝集塊が測定時の圧縮空気では十分に脱凝集されなかったためと推察した。また混合粉碎品は大粒子の周囲を小粒子が取り囲む構造を呈していた。第 1 章では PEG 断片（大）に微細 Phe（小）が付着した二次粒子を形成していたが、当該ケースでは解砕された EUD 一次粒子が Phe 粉碎粒子よりも小さいため、Phe 粒子（大）に EUD 一次粒子（小）が付着していると推察した。そのため、粒度分布で測定された二次粒子のサイズとしては、M-(Phe+PEG)（D50=11.63 μm ）よりも小粒径（D50=5.25 μm ）の分布を示したと推察した。

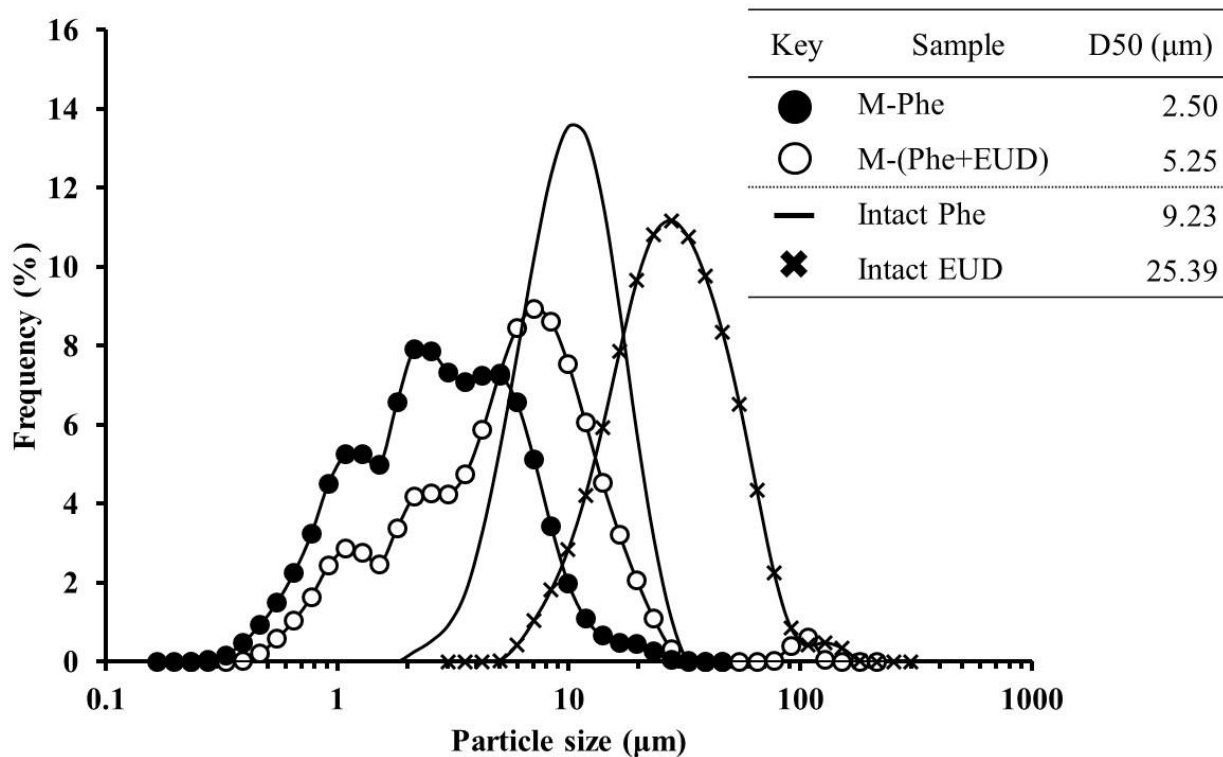


Fig. 15 Particle size distribution and D50 diameter of ultra cryo-milled particles and intact particles.

Key: (●) M-Phe, (○) M-(Phe+EUD), (—) intact Phe and (×) intact EUD.

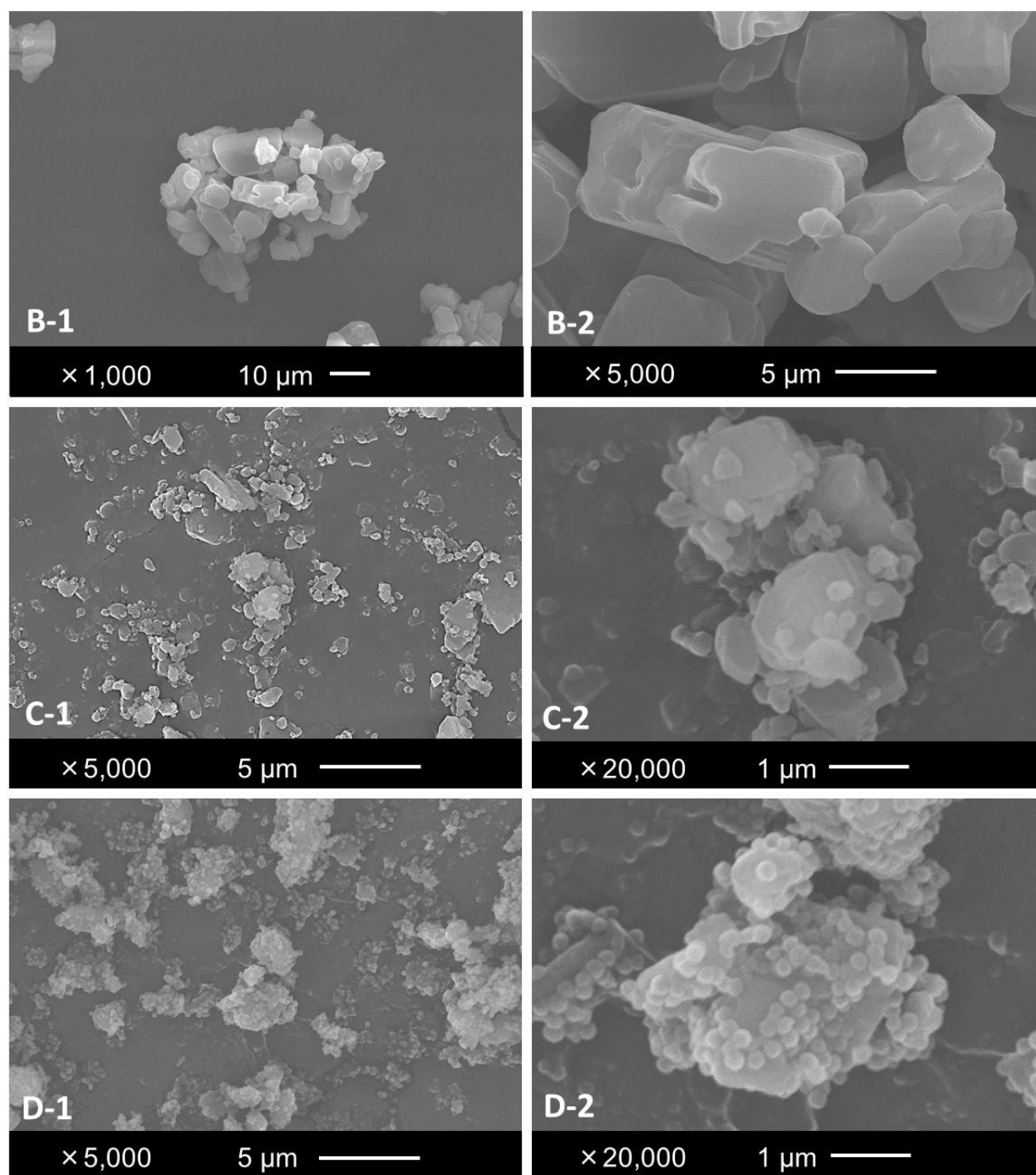


Fig. 16 Scanning electron microphotographs of intact particle and milled particles prepared by ultra cryo-milling: B) intact Phe, C) M-Phe, D) M-(Phe+EUD).

Appearance with 1) low magnification, 2) high magnification.

両粉碎粒子の溶出挙動をPhe原末と併せてFig. 17に示す。PheとEUDの混合粉碎品(M-(Phe+EUD))は、大幅な溶出性の改善を示した。粉末X線回折より、粉碎前後でPheの結晶性(結晶形、結晶化度)が変化していないことが確認された。また、M-PheとM-(Phe+EUD)のPheの一次粒子サイズは同程度であったことから、溶解改善の要因は、EUDが溶解する第2液(pH 6.8)においては、EUDが凝集塊全体の濡れ性を改善したことに加えて、Phe粒子間への水の浸透を促進したことで、顕著な溶出性改善効果を発揮したものと推察した。また、EUDが溶解しない第1液(pH 1.2)において

も、ある程度の溶出の改善が認められた。これは、微小な EUD 一次粒子が粉碎された Phe 粒子間に存在することで、疎水性 Phe 粒子間の凝集がある程度回避されて溶出に関わる有効表面積の拡大に寄与し、溶出速度の向上に起因したものと推察した。第 1 章で用いた PEG との混合粉碎品 (M-(Phe+PEG)) は両試験液で同様な溶出挙動を示したが、pH 6 以上で溶解性を示す EUD を採用したことで、EUD ナノ粒子が Phe 粒子間に存在するだけでもある程度の溶解性改善効果を示し、添加剤が溶解することで薬物の溶解性も顕著に向上した。つまり、溶解改善剤としての効果は添加剤自身の溶解のみならず、薬物間に存在しその凝集を回避させた物理的要因により発揮されていることが示唆された。また混合粉碎品の粒子形状に着目すると、M-(Phe+PEG)は PEG 断片 (大) に微細 Phe (小) が付着し、M-(Phe+EUD)は Phe 粒子 (大) に EUD 一次粒子 (小) が付着した二次粒子を形成しており、二次粒子の粒子サイズに起因した溶解改善を示した (Fig. 3 (B) < Fig. 17 (B)) と推察した。すなわち、EUD ナノ粒子が微細であるため、その二次粒子が一次粒子サイズに近くなり、溶解改善効果を発揮した。一方、EUD が溶解しない第 1 液では溶解改善効果は減弱した (Fig. 3 (A) > Fig. 17 (A))。

次に、M-(Phe+EUD)の粉体物性の結果を Table 7 に示す。微細粒子 EUD の表面被覆による粉体物性の改善⁴⁰⁾が期待されたものの、安息角や圧縮度が Phe 原末よりも増大し、粉体物性は逆に悪化した。SEM 画像 (Fig. 16 D-1, D-2) に見られるように、Phe 粒子自身もサブミクロン〜シングルミクロンに微細化されたため、表面改質効果が得られなかったと推察した。そこで、M-(Phe+EUD)を乾式せん断処理により核粒子表面へ被覆することで、粉体物性を改善することとした。

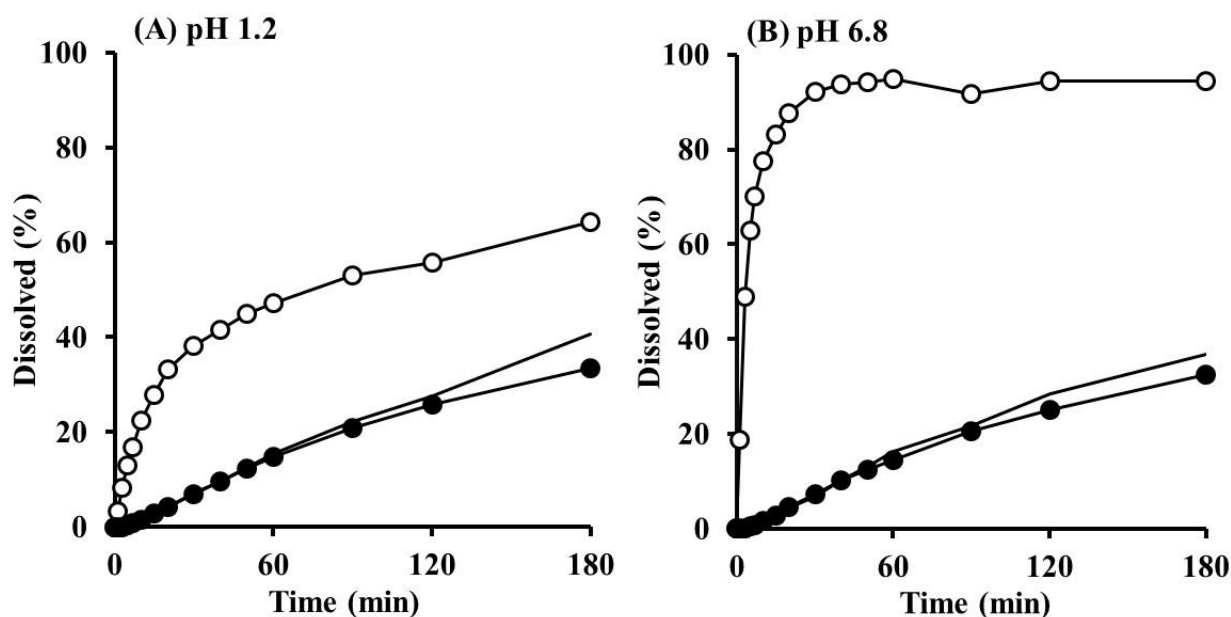


Fig. 17 Dissolution profiles of intact Phe and ultra cryo-milled particles in (A) JP17 1st fluid for dissolution test (pH 1.2), (B) JP17 2nd fluid for dissolution test (pH 6.8).

Key: (—) intact Phe, (●) M-Phe, (○) M-(Phe+EUD).

Table 7 Micromeritics of intact Phe and M-(Phe+EUD) (average $\pm$ S.D, n=3)

Sample	Angle of repose ($^{\circ}$)	Bulk density (loosest) (g/mL)	Tap density (closest) (g/mL)	Compressibility index ^a (%)
Intact Phe	59.9 $\pm$ 2.36	0.24 $\pm$ 0.04	0.46 $\pm$ 0.03	47.7
M-(Phe+EUD)	>70 $^{\circ}$	0.18 $\pm$ 0.00	0.51 $\pm$ 0.00	66.2

^a Compressibility index = (tap density – bulk density)/ tap density $\times$ 100.

第3節 乾式せん断処理による超低温粉碎粒子と核粒子との複合化

核粒子を NP、被覆粒子を M-(Phe+EUD)に固定し、複合粒子を調製した。処方及び操作条件を Table 8 に示す。NP と M-(Phe+EUD)の質量比を 9:2、6:2、3:2 と変化させた (Phe 理論含量はそれぞれ 9.09、12.50、20.00%)。全かさ体積 20 mL の NP と M-(Phe+EUD)を乾式せん断処理し、複合粒子を得た。各処方は前章と同様に、核粒子の NP 及び NP:Phe:EUD の質量比を組み合わせで略号化した。溶解改善剤が EUD であることを認識できるように頭文字「e」を付し、それぞれ eNP9:1:1、eNP6:1:1、eNP3:1:1 と略記した。なお、せん断処理時間は 10 分に統一した。

Table 8 Formulation for dry composite mixing process using a mechanical powder processor

Symbol (NP:Phe:EUD)	Loading (g)		Bulk volume (mL)
	Core	M-(Phe+EUD)	
eNP9:1:1	7.57	1.68	20
eNP6:1:1	6.07	2.02	20
eNP3:1:1	3.81	2.54	20

Processing time: 10 min, rotor speed: 3000 rpm, clearance between vessel wall and rotor: 1 mm.

得られた複合粒子の粒度分布を Fig. 18 に示す。乾式せん断処理品は薬物配合比の大小に関わらず、いずれも粉碎品 (M-(Phe+EUD)) に由来するシングルミクロン領域にはピークを持たず、NP 原末の分布曲線と重なる単一分布となり、第 1 章と同様に OM 粒子の形成を示唆する結果となった。SEM 画像による形態観察 (低倍率) では、いずれの処理品においても核粒子同士は凝集せず、100 μ m 程度の単核構造粒子が観察された (Fig. 19 左)。高倍率写真からは、NP 原末の表面はマンニトール結晶が積層された構造を呈しているが (Fig. 19 E-2)、処理品 (Fig. 19 F、G、H) においては、1 μ m 程度に微細化された Phe 粒子及び 200 nm 程度の EUD の一次粒子がモザイク状に積層している様子が観察された。また薬物量の増加、すなわち投入した M-(Phe+EUD)の比率が大きいほど、EUD 小球が密集化した (Fig. 19 F-2<G-2<H-2)。こうした観察像は、粉碎品 (M-(Phe+EUD)) が核粒子の表面に展延・固定化されたことを示している。粒度分布と SEM 観察の結果より、NP を核粒子、M-(Phe+EUD)を被覆粒子とする OM 様複合粒子が形成されていることが示された。また、第 1 章ではワックス様固形物である PEG (融点 62 $\sim$ 65 $^{\circ}$ C) を処方に組み入れたことで核粒子への熔融付着・固定化の促進に繋がった。しかし、本章で用いた EUD (ガラス転移温度: 約 195 $^{\circ}$ C)⁵⁷⁾は、せん断処理後でも熔融していないことが SEM 画像から明示された。すなわち、軟化・熔融が生じないポリマー粒子においても核粒子表面への展延 (再配列) ・固定化が成立することを示唆している。なお、データの掲載はしていないが、EUD 原末を超低温粉碎することなく、直接乾式せん断処理した場合では、EUD が一次粒子へ解砕されず、核粒子表面へ固定化されることはなかった。

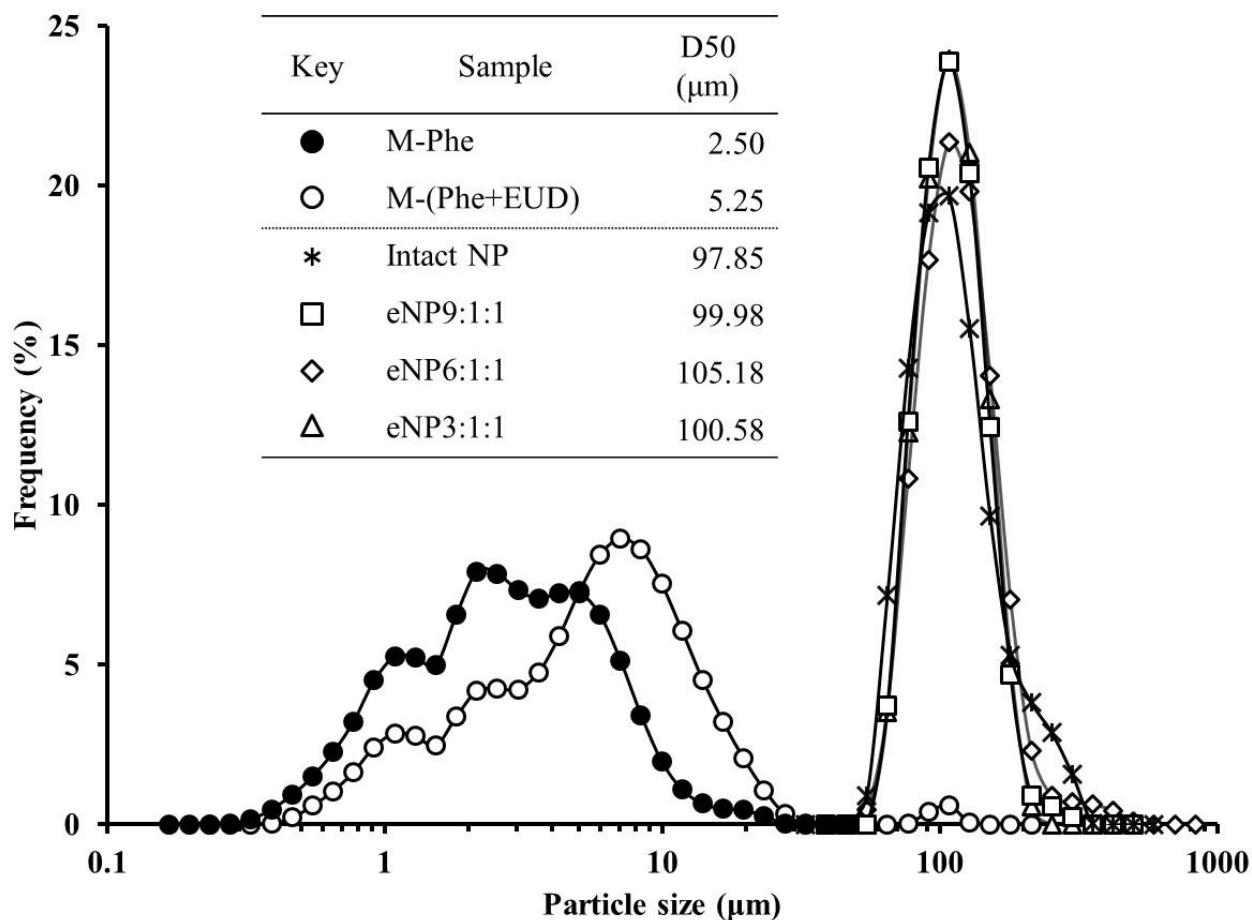


Fig. 18 Particle size distribution and D50 diameter of intact particles of core (NP), cryo-milled particles (M-Phe and M-(Phe+EUD)), and OM particles prepared through mechanical powder processing. Data were obtained using a laser diffraction scattering method (dry conditions).

Key: (●) M-Phe, (○) M-(Phe+EUD), (*) intact NP, (□) eNP9:1:1, (◇) eNP6:1:1, (△) eNP3:1:1.

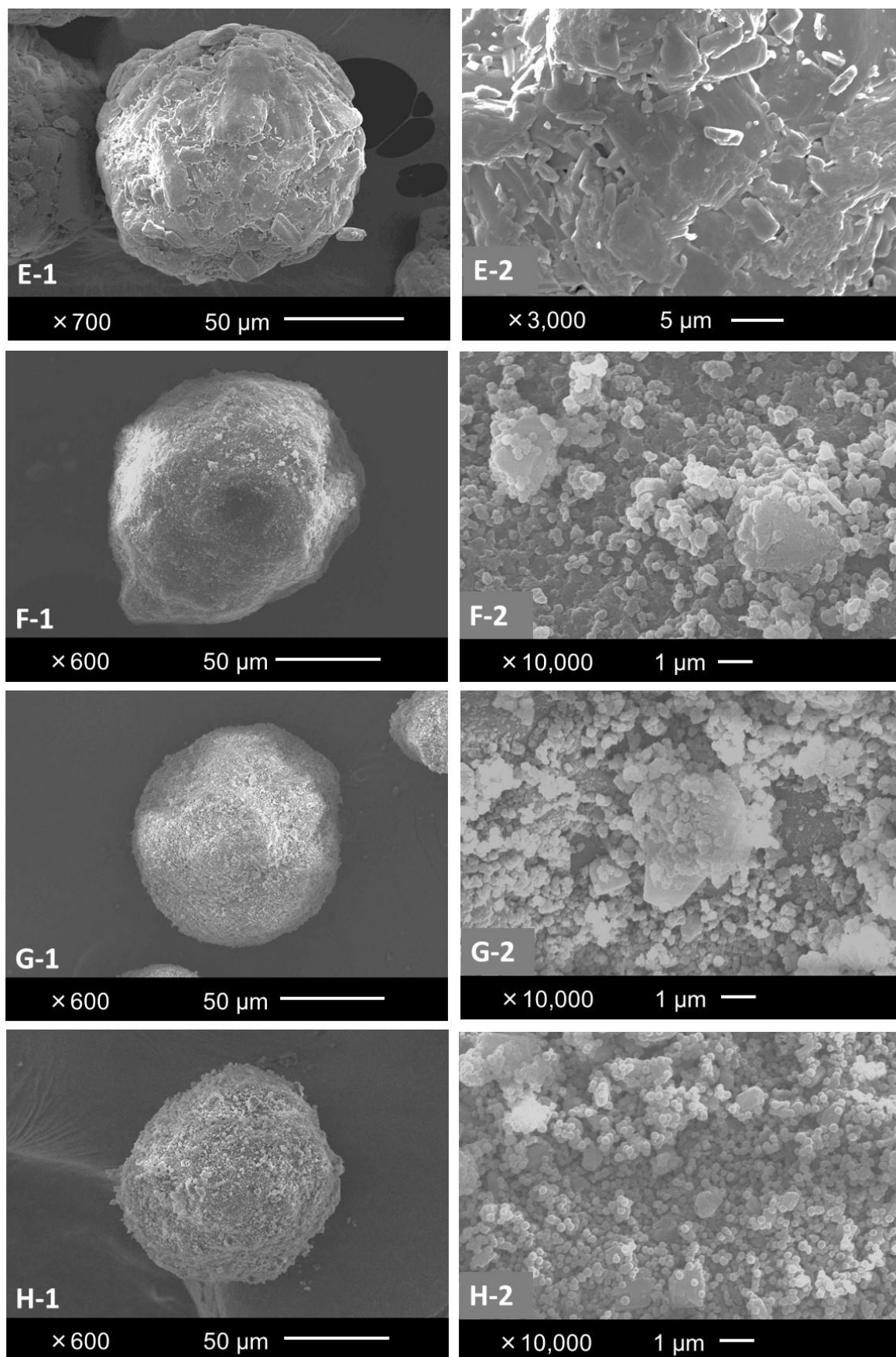


Fig. 19 Scanning electron microphotographs of E) intact NP and OM particles with F) eNP9:1:1, G) eNP6:1:1, H) eNP3:1:1.

Appearance with 1) low magnification, 2) high magnification.

乾式せん断処理による製品回収率は、eNP9:1:1 及び eNP6:1:1 では投入したサンプルのうち、それぞれ 82.23%及び 85.54%と良好であったが、コーティング粒子の仕込み量が 40 w/w %を超過する eNP3:1:1 では 38.96%と激減した (Table 9)。これは M-(Phe+EUD)量が増すと容器内壁や攪拌翼への付着が顕著に生じたためである。Phe 回収率についても eNP9:1:1 及び eNP6:1:1 では 90%以上となり、複合化処理を経ても理論値に近い薬物量が核粒子へ固定化されていた。一方、eNP3:1:1 では Phe 回収率は 50%程度に留まるものの製品回収率 (38.96%) よりも大きく、装置内への付着による損失分は EUD の割合が多いと推察された。次に、薬物と核粒子の固定化強度の指標を示す Phe 保持率は、薬物の配合比が高くなるに伴い減少 (eNP9:1:1=89.35% $\Rightarrow$ eNP6:1:1=88.13% $\Rightarrow$ eNP3:1:1=78.33%) し、第 1 章と同様の傾向を示した。つまり、核粒子に被覆される薬物量が多くなるにつれて多層化が進み、保持できる薬物量が限界に達したと推察した。そこで第 1 章と同様に、Yang 等の理論式⁵³⁾に基づき、コーティング層数を算出した。ホスト (NP) 粒子とゲスト (Phe) 粒子の粒子径並びに真密度を第 1 章と同値と設定すると、核粒子表面に単一粒子層コーティングされる薬物理論量 (Phe content for monolayer coating) は、第 1 章で説明した通り 5.00 mg/100 mg となる。この値を用いて各処方 of Phe コーティング層数を算出すると、eNP9:1:1 は 1.49 層、eNP6:1:1 は 2.14 層、eNP3:1:1 は 1.55 層となった (Table 9)。eNP9:1:1 と eNP6:1:1 を比較すると、投入時の薬物量を増量することで核粒子に被覆される薬物量が増し、eNP6:1:1 では薬物粒子の被覆状態は二層を超えた。さらに投入時の薬物量を増量した eNP3:1:1 では 1.55 層となり、eNP6:1:1 よりも逆に低下した。第 1 章で用いた PEG と比べ EUD では熔融による接着力がないため、核粒子へ固定化される薬物限度量が低くなり、余剰の被覆粒子間の凝集、さらには装置への付着が発生しやすくなると推察した。これらの結果は、粒度分布 (Fig. 18) においても同様の傾向を示している。NP 原末の粒子径に対して、OM 粒子は被覆された層数に依存して粒子径が増大しており、層数が最も多い eNP6:1:1 の粒子径 (D50) は 105.18 μm と最大であり、次いで eNP3:1:1 が 100.58 μm 、eNP9:1:1 が 99.98 μm となった。また、EUD についても Phe と同様に、ゲスト (EUD) 粒子径 (d) : 0.20 μm 、ゲスト (EUD) 密度 (ρ_d) : 0.842 g/cm³ (0.831~0.852 g/cm³)⁵⁸⁾として第 1 章の式 (1) (2) (3) より EUD 粒子層数を算出した。なお、EUD の被覆量は定量が困難なため、仕込み比が Phe : EUD = 1:1 であることから Phe の測定値を代用した。その結果、eNP9:1:1 では 12.07 層、eNP6:1:1 では 17.27 層、eNP3:1:1 では 12.56 層となった。実際には、Fig. 19 の写真に示されるように Phe 及び EUD が混合した状態で核粒子表面へ被覆していることを考慮すると、eNP9:1:1 においては Phe 1.49 層の粒子間隙に 12.07 層分の EUD 粒子が共積層していると推察した。

第 1 章では、溶解改善剤として配合した低融点 PEG が、せん断応力下での瞬間的な熱により熔融し、被覆粒子の核粒子への付着を誘導したと考察した。一方、本章で用いた EUD はガラス転移温度が約 195°Cであり、熔融による付着力を持ち併せていない。つまり、ワックス様添加剤を用いずに OM 粒子を製した既報¹⁹⁾と同様にメカノフュージョン理論に基づいたせん断応力を駆動力とし、粒子間付着力により粒子の接着に至ったと推察した。近藤等は、粒子間付着力をせん断セルを用いたせん断試験にて求めた粉体動摩擦角にて評価している⁵⁹⁾。一般的な水系ラテックス剤による湿式コーティングに視点を転ずると、サブミクロンサイズのポリマー粒子が水の可塑効果により核粒子に展着し、加熱により融着・成膜化する。乾式工程においてもこうしたサブミクロンポリマー粒子による被覆が進行するのは興味深い。また、100 μm 程の粒子の表面をサブミクロン粒子で被覆した表面構造も非常に独特である。ただし、湿式法では噴霧時間の延長によりコーティング量を増大できるが、本乾式処理では積層可能な被覆粒子の量に限度があることも示された。

Table 9 Recovery and phenytoin content in mechanical processed composite particles

Symbol	Total recovery ^a	Phe content (mg/100 mg)			Phe recovery ^e	Retention ratio ^f	Number of coating layers (Phe) ^g	Number of coating layers (EUD) ^h
		Theoretical ^b	Measured ^c	Measured in the residual on sieve ^d				
eNP9:1:1	82.23%	9.09	8.36	7.47	91.97%	89.35%	1.49	12.07
eNP6:1:1	85.54%	12.50	12.13	10.69	97.04%	88.13%	2.14	17.27
eNP3:1:1	38.96%	20.00	9.92	7.77	49.60%	78.33%	1.55	12.56

^a Total recovery = (recovery weight/loading weight)×100.

^b Theoretical: Drug content was calculated from the loading weight of each material.

^c Measured: Drug content in the processed particles was determined using HPLC.

^d Measured in the residual on sieve: Drug content in the processed particles remaining on the sieve (45-μm opening) was determined using HPLC.

^e Phe recovery = (measured Phe content/theoretical Phe content)×100.

^f Retention ratio = (measured Phe content in the residual on sieve/measured Phe content)×100, indicating the percentage of Phe remaining adhered to the core particles after sieving.

^g Number of coating layers (Phe) = measured Phe content in the residual on sieve/arithmetic Phe content for monolayer coating (5.00 mg/100 mg of NP).

^h Number of coating layers (EUD) = measured Phe content in the residual on sieve/arithmetic EUD content for monolayer coating (0.62 mg/100 mg of NP).

第4節 OM 粒子からの薬物溶出性

各 OM 粒子からの薬物溶出挙動を超低温粉碎品及び Phe 原末と併せて Fig. 20 に示す。本章第2節で示した通り、M-(Phe+EUD)では、EUD が溶解しない第1液においてもある程度の溶出の改善があった。さらに OM 粒子へと加工され、粉碎品の凝集塊が解砕され核粒子表面に展延したことで、さらなる溶出の改善が認められた。EUD が溶解する第2液においては、凝集塊の解砕・展延に加え、EUD が即座に溶解して水の浸透を促進するため、極めて急速な初期溶出挙動を与えるに至った。次に、Phe 含量の異なる OM 粒子の処方間を比較した場合、第1液においては、eNP9:1:1 より薬物含量の高い eNP6:1:1 の方が若干溶出が遅くなった。この原因として、コーティング層の肥厚化により水の浸透に時間を要し、溶出の抑制が発生したと推察した。一方、NP3:1:1 では本章第3節で示したように、被覆層の脆弱化が生じたため、eNP9:1:1 よりも溶出が速やかになったと推察した。つまり溶出の改善は、分子的又は結晶的改変によるものではなく、超低温粉碎によって形成した超微細粒子が核粒子表面上で再配列することにより、濡れに関わる有効表面積を損なうことなく二次加工された形態学的粒子設計、すなわち、ナノクリスタルによる医薬品粒子のマイクロアーキテクチャ（微細建築）に起因している点、これまでにないアプローチである。

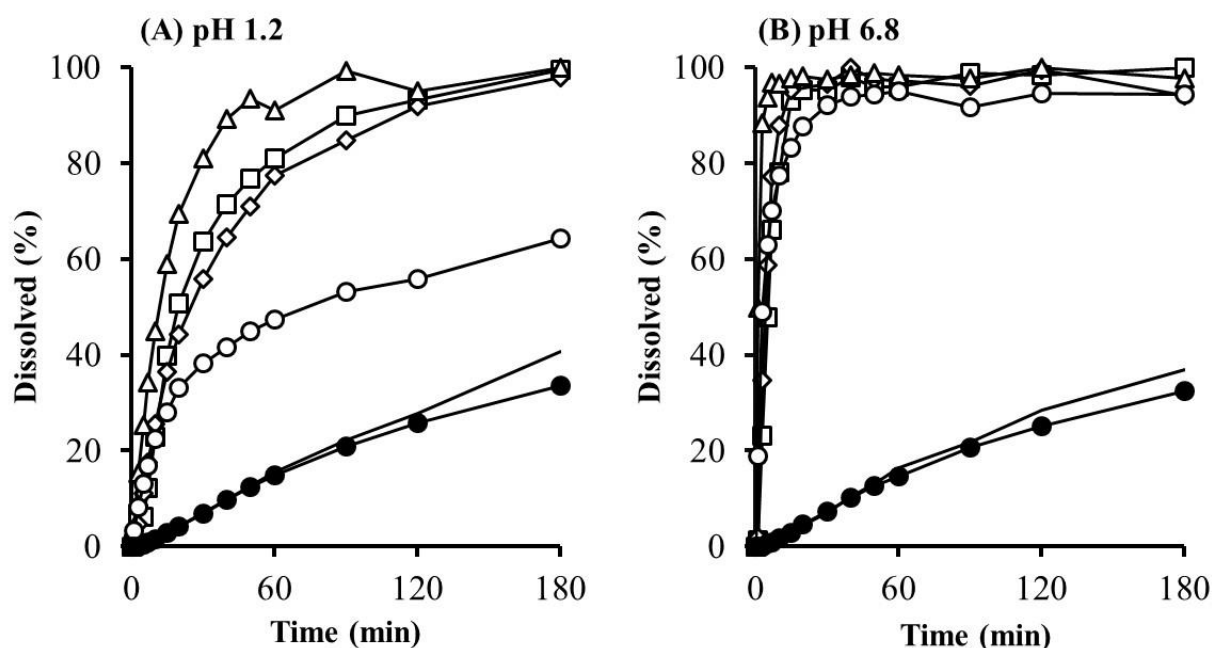


Fig. 20 Dissolution profiles of intact Phe, cryo-milled particles, and various OM particles in (A) JP17 1st fluid for dissolution test (pH 1.2), (B) JP17 2nd fluid for dissolution test (pH 6.8).

Key: (—) intact Phe, (●) M-Phe, (○) M-(Phe+EUD), (□) eNP9:1:1, (◇) eNP6:1:1, (△) eNP3:1:1.

第5節 OM 粒子からの薬物分散性

OM 粒子からの薬物粒子の離脱及び水相への分散挙動を評価した。粒子径測定装置に付属する測定セル内に満たした溶出試験第2液中に試料を投入し、分散した粒子の粒度分布をレーザー回折・散乱法により経時的に測定し、時間に対して D50 値を片対数プロットした (Fig. 21)。試料中、Phe 以外の成分は試験液に溶解し、検出された対象は Phe 粒子のみとなり、Phe 粒子の分散挙動を表している。Phe 原末は、分散液へ投入した直後に 300 μm 以上の凝集塊を形成し、30 分間で変化することはなかった。Phe 単独粉碎品 (M-Phe) は、数分間の凝集状態を経て 5 分後に 10~20 μm とな

った。また、混合粉碎品 (M-(Phe+EUD)) は投入と同時に $10\ \mu\text{m}$ 程度の粒子径を示したが、これは本章第 2 節 (Fig. 16) で示した $1\ \mu\text{m}$ 程度に粉碎された Phe 粒子の二次凝集体であると考えられ、Phe の分散が一次粒子まで到達していないことを示している。一方、各 OM 粒子は、投入後速やかに $1\ \mu\text{m}$ 付近まで Phe が分散していることが確認された。すなわち、OM 粒子の表面から微細な Phe が一次粒子として分散し、優れた溶出特性を発現する一因となったものと推察した。このように混合粉碎品を乾式せん断処理して NP 表面に展延することで、Phe 粒子が脱凝集されるとともに液中での分散性が向上し、Phe の溶出速度の増大に波及したことが明らかとなった (Fig. 20)。なお、eNP6:1:1 ($\diamond$) では、コーティング層の肥厚化により水の浸透に時間を要し、核粒子が溶解するまでのタイムラグが 1 分程度認められ、その間 OM 粒子としての粒子径 (約 $100\ \mu\text{m}$) が検出されたと推察した。つまり、Fig. 20-A で認められた急速溶出の後退を支持する結果であり、薬物粒子の分散性が OM 粒子の溶解改善効果を左右する要因であることを裏付けた。

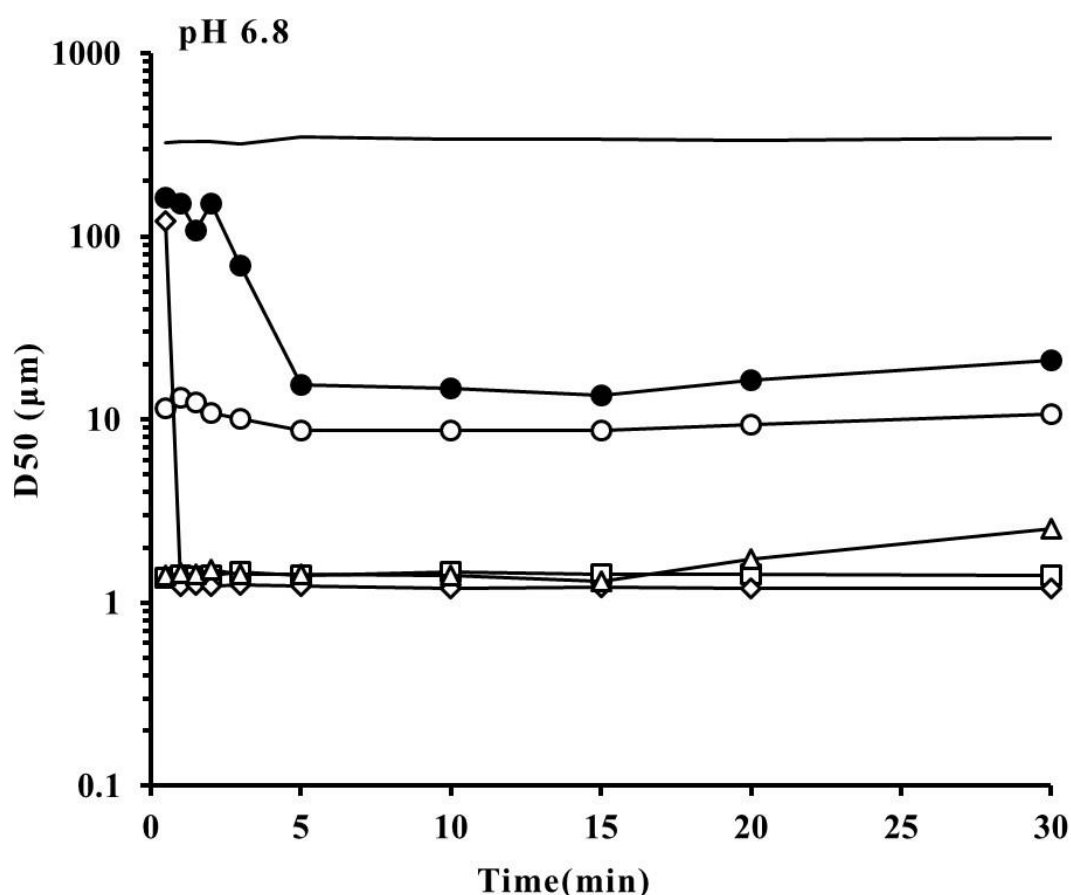


Fig. 21 Self-dispersion profiles of intact Phe, milled particles, and various OM particles in JP17 2nd fluid for dissolution test (pH 6.8).

Key: (—) intact Phe, (●) M-Phe, (○) M-(Phe+EUD), (□) eNP9:1:1, (◇) eNP6:1:1, (△) eNP3:1:1.

第 6 節 OM 粒子の粉体物性

第 1 章と同様に、粉碎粒子の OM 様複合粒子化による粉体物性の改善について評価した。乾式せん断処理にて製した OM 粒子の安息角 (AOR)、粉体層のかさ密度、さらにかさ密度の減少率より得た圧縮度 (CI) を Fig. 22 に示す。Fig. 22 の左軸に安息角と圧縮度、右軸にかさ密度値、さらに流動性と充てん性の指標である AOR scale 及び CI scale⁵⁵⁾を左軸に追記した。両 Scale は I が最も優れ

た領域であり、VIIに向かうほど悪くなる。M-(Phe+EUD)は、Phe 原末と比較して安息角、圧縮度ともに高値(70 付近)を示し、粉砕することで流動性の劣悪な粉体となった。粒子径(D50)が約 100 μm ほどの OM 粒子とすることで安息角は 40°付近まで低下し、NP の持つ良好な粉体物性を反映する結果となった。また、各 OM 粒子(eNP9:1:1、eNP6:1:1、eNP3:1:1)間の安息角には相違がなく、M-(Phe+EUD) (被覆粒子)の配合割合には依存せず、核粒子の高い流動性を反映した(●)。タップ前後のかさ密度値から算出した圧縮度についても安息角と同様の傾向が認められ、安息角よりも顕著に改善した(○)。乾式せん断処理により、充てん性の悪い M-(Phe+EUD)が NP 表面に固定化され造粒されたことで、M-(Phe+EUD)の付着性を抑制したことが充てん性の改善に寄与したと考えられた。

OM 粒子をミクロ構造で捉えると、表面は粉砕された薬物微粒子から構成されているものの、ハンドリング時にはマクロな OM 粒子として振る舞うことが示された。第 1 章では、異なるサイズの核粒子から得た OM 粒子は、核粒子の大きさに依存した粉体物性を示すことが分かっている。さらに、M-(Phe+EUD)及び NP を eNP9:1:1 と同じ割合で物理混合した PM9:1:1 では、OM 粒子と比較して改善効果が不十分であり、乾式せん断処理により二次加工することが、大幅な粉体物性の改善の要因であると示された。以上より、粉砕された微粒子の粉体物性は、複合粒子を形成することで劇的に改善することが明らかとなった。こうして、乾式せん断処理によって複合粒子とすることで、速やかな溶解性と良好な粉体物性(流動性及び充てん性)を併せ持つ機能性粒子の設計に至った。

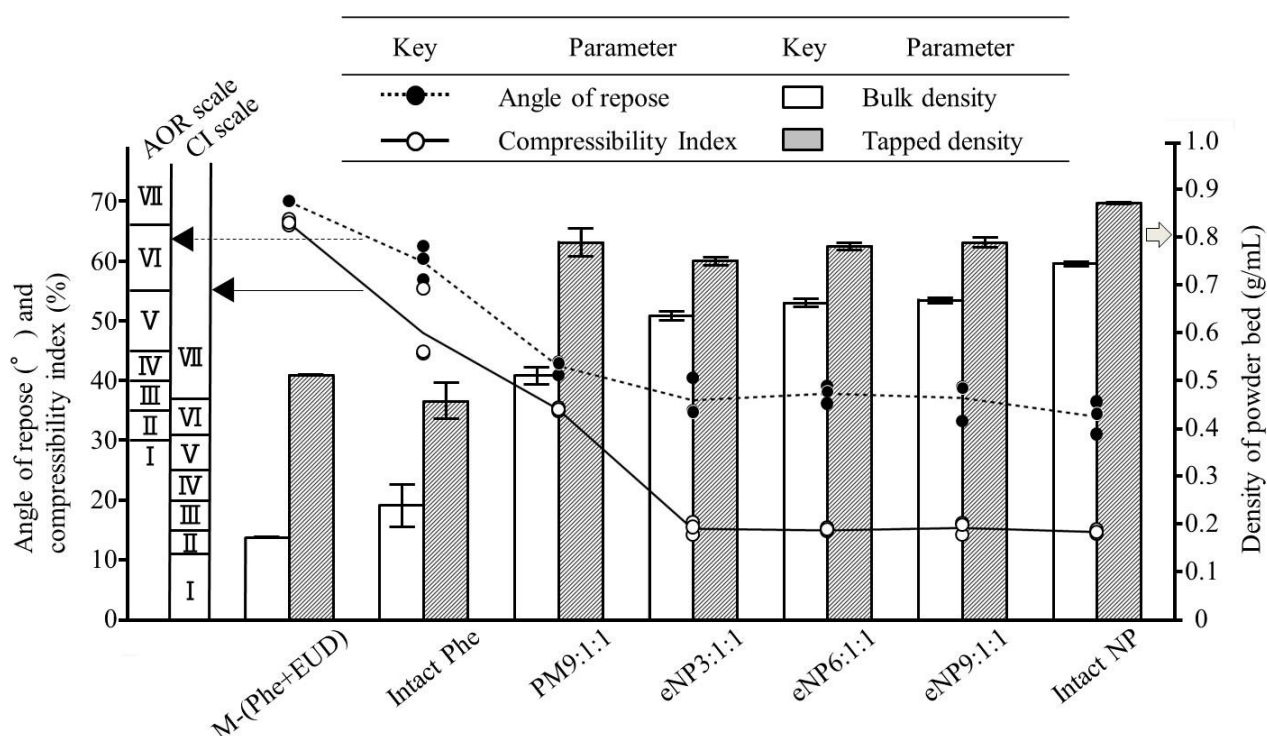


Fig. 22 Angle of repose as flowability index and density of powder bed and compressibility index representing packability index of intact Phe, cryo-milled particles, and various OM particles.

Key: (●) angle of repose, (○) compressibility index, (□) bulk density, (■) tapped density.

AOR and CI scale: (I) excellent, (II) good, (III) fair, (IV) passable, (V) poor, (VI) very poor, (VII) very very poor.

第7節 小括

難水溶性薬物である Phe の溶解性改善を目的として、LN₂ 中で EUD と共に超低温粉碎した。粉碎された粒子は微細な Phe を EUD ナノ粒子が取り囲んだ二次粒子となったが、ハンドリング性の改善には至らなかった。乾式せん断処理により複合粒子とし、超低温粉碎粒子の粉体物性を改善するための粒子設計を試みた。以下、本章で得られた知見を記載する。

- 1) 乾式せん断処理により、NP を核粒子、M-(Phe+EUD)を被覆粒子とした OM 様複合粒子が形成され、薬物と高分子ポリマーの凝集粒子がナノ～サブミクロンサイズ一次粒子への解砕と軟化・熔融が生じない物質においても核粒子表面への展延（再配列）・固定化が成立することが示された。
- 2) 薬物と核粒子の配合量を変化させたところ、コーティング粒子の仕込み量が 40 w/w %を超過する eNP3:1:1 から OM 粒子としての製品回収率が大きく低下した。薬物量の増加に伴いコーティング層数も増大することが示唆された一方で、EUD を用いた OM 粒子では積層可能な被覆粒子の量に限度があることも示された。
- 3) 水溶性添加剤である PEG を用いなくとも OM 粒子の溶出挙動は顕著に改善され、その効果は粉碎粒子の核粒子表面への展延・固定化（形態学的効果）、並びに粉碎粒子の濡れ（機能的効果）の両方に起因することが示唆された。
- 4) 分散試験の結果より、OM 粒子からの溶出の改善は、EUD ナノ粒子の溶解にともなう液中での薬物粒子の急速な分散挙動に起因していることが明らかとなった。
- 5) OM 粒子は、溶解改善剤の有無・種類に関係なく、核粒子の良好な粉体物性を反映し、粉体としてのハンドリング性の改善が認められた。乾式せん断処理により粉体物性の悪い薬物粒子が核粒子表面に固定化され造粒されたことで、薬物粒子の付着性を抑制し粉体物性の改善に寄与したと考えられた。

以上から、粉碎された微粒子の溶解性及び粉体物性の両特性は、複合粒子を形成することで劇的に改善することが明らかとなった。第1章と異なる溶解改善剤 EUD を適用した OM 粒子は、表面が熔融せず EUD ナノ粒子が薬物とともに展延（再配列）された昆虫の複眼様のナノ粒子被覆 OM 粒子を呈した。本 OM 粒子は、適用した溶解改善剤（PEG、EUD）により溶解改善効果が異なったが、いずれも顕著な改善を示した。こうして、乾式せん断処理によって複合粒子とすることで、速やかな溶解性と良好な粉体物性（流動性及び充てん性）を併せ持つ機能性粒子の設計に至った。

第3章 総括

本研究では難水溶性医薬品の溶解改善及び粉体物性の向上を図った複合粒子の設計を行った。超低温粉碎法にて得られた微粒子は軟凝集塊を形成し、低い流動性・充てん性のために粉体として取り扱いにくく、混合や錠剤化、カプセル充てん等の固形製剤の製造工程において課題となっていた。そこで、乾式せん断処理による二次加工を施し、粉碎粒子を核粒子表面上に展延（脱凝集化）したコア／シェル型複合粒子とすることで、溶出性及び粉体物性の両特性を同時に改善することを企図した。すなわち一連の粉体処理を通じて、優れた溶解性・粉体物性を付与した医薬品粒子の設計を試みた。

第1章では、医薬品添加物として使用実績が多く、低融点の固体であり、水への溶解性が高いポリエチレングリコール 6000 (PEG) を溶解改善剤として適用した。乾式せん断処理にて得られた複合粒子は、核粒子を粉碎粒子で被覆したオーダードミクスチャー構造を有する球形粒子 (OM 粒子) であった。OM 粒子は急速な薬物溶出挙動を示した。混合粉碎された PEG が、疎水性の薬物粒子層の濡れ性を高め、薬物層への導水を促進したことに起因していると推察した。また、核粒子表面上に薬物微粒子が薄層状に整列した特異な一次構造により、薬物粒子が水中で即座に単粒子分散することも一要因であると考察した。流動及び充てん挙動から測定した粉体物性は、核粒子を基とした複合粒子（二次粒子）の粒子径と強く関係し、超低温粉碎粒子を OM 粒子へと二次加工することにより、粉体物性を劇的に改善するに至った。

第2章では、一般に湿式コーティングに用いるメタクリル酸コポリマー (Eudragit L-100 (EUD)) を乾燥粉末のまま溶解改善剤として適用し、単分散ナノサイズ球という一次粒子の形態を利用した溶解改善を図った。超低温粉碎にて EUD は一次粒子へと解砕され、乾式せん断処理にて核粒子表面に単粒子ごとに固定化された OM 様複合粒子を形成した。粉碎された薬物微粒子の溶解性及び粉体物性の両特性は、複合粒子を形成することで劇的に改善されることが明らかとなった。こうして、溶解改善剤を腸溶性や胃溶性等の機能性高分子に変更した場合においても、得られる複合粒子が優れた製剤特性を持ち合わせていることを明らかにし、超低温粉碎及び乾式せん断処理に亘る一連の技術は製薬産業においても汎用性が高いことを示した。

本研究を通して、難水溶性薬物の溶解性及び粉体物性の両特性を同時に改善する粒子設計技術を提示した。一連の技術にて得た複合粒子は、添加剤核粒子を薬物と溶解改善剤の混合粒子にて被覆した OM 構造を有していることを示した。本複合粒子をマイクロ構造で捉えると、Phe 微粒子が凝集塊を形成することなく薄層状に展延（再配列）し、その間に PEG や EUD が微粒子レベルで配列した構造を呈していた。この形態学的特徴から、水中に投入すると即座に薬物が一次粒子レベルへ分散することで、顕著な溶解改善効果を示した。一方、核粒子を中心とするマクロ構造として捉えると、核粒子の粒子径を反映した良好な粉体物性を呈し、経口製剤の打錠工程やカプセル充てん工程に直接適用できる高機能性粉体であることが示された。加えて、通常は湿式法にて適用するコーティング基剤を用い、流動層装置による通例の噴霧コーティングとは異なる乾式せん断法によるコーティング粒子の設計法の確立に至った。本プロセスで調製した OM 粒子は、球形かつ均一な粒度分布を有することから、口腔内崩壊錠用顆粒とすることで苦味マスキング用コーティング粒子の調製にも指向している。本技術は溶媒による溶解や熱による熔融を必要としないため、難水溶性薬物や熱不安定性薬物にも対応でき、適用範囲が広いことが利点である。包接化合物のような複合体を形成させる化学的な溶解性改善手法や、固体分散体・自己乳化のような結晶的な溶解性改善手法とは

異なる機序で難水溶性薬物の溶解特性を改善する代替手法となる。さらに、乾式せん断処理による添加剤顆粒表面への薬物積層、さらにはポリマーコーティングはこれまでに前例がなく、操作時間が 10 分程度で完了する点、従来の流動層装置による湿式コーティングと比較し、生産性の観点で有利である。今後、湿式コーティングの代用として製薬業界での実用化が期待される。

実用化には、 LN_2 の購入やその運転設備にかかるコスト等、費用対効果観点から詳細な検討が必要となる。また、超低温粉碎工程のジルコニアビーズの摩耗による製品への異物混入についても具体的な対策が必要不可欠であろう。以前、所属の研究室で構築したドライアイスビーズをジルコニアビーズの代替とするコンタミレス粉碎法⁶⁰⁾⁻⁶¹⁾も課題解決の選択肢の一つである。また、ポリマー超微粒子を成膜化する手法を構築することで、更なる技術の発展に寄与していきたい。

実験の部

1. 試料

1.1 超低温粉碎微粒子の調製

難水溶性モデル薬物としてフェニトイン (Phe) (富士フィルム和光純薬) を用いた。溶解改善剤として、第1章では、水溶性のポリエチレングリコール6000 (PEG) (三洋化成工業) を、第2章では腸溶性コーティング剤のメタクリル酸コポリマー (Eudragit L-100 (EUD)、エボニックジャパン) を用いた。また、超低温粉碎工程では、分散媒として液体窒素 (LN₂、NS-100、岩谷産業ガス) を、粉碎媒体としてジルコニアボール (YTZ-1 (直径1 mm)、YTZ-0.6 (直径0.6 mm)、ニッカトー) を使用した。

1.2 複合粒子の調製

複合粒子を調製する際の被覆用核粒子として、第1章では、コーンスターチ (CS) (コーンスターチホワイト、日局適合品、平均粒子径: 20 μm 、日本コーンスターチ)、D-マンニトール球形粒 (NP) (ノンパレル-108、日局適合品、グレード100、粒度範囲: 75~150 μm 、フロイント産業) 及び結晶セルロース球形粒 (CP) (セルフィアCP-203、薬添規適合品、粒度範囲: 150~300 μm 、旭化成) の3種類を使用した。一方、第2章では被覆用核粒子として、D-マンニトール球形粒 (NP) (グレードは同上) のみを使用した。

2. 製剤の調製

2.1 超低温粉碎微粒子の調製

バッチ式レディーミル (RMB-04、アイメックス) を使用し、LN₂ を分散媒、ジルコニアビーズを粉碎媒体とする超低温粉碎法により、薬物を単独粉碎、あるいは溶解改善剤とともに混合粉碎した。本装置は、円柱型の容器内と吊り下げ式の回転軸及び駆動部モーターにより構成される。回転軸には円盤状の穴あきディスクが4枚装着され、運転時に高速回転することで分散媒を上下還流させ、ビーズの衝突により対象物を粉碎する。第1章では Table 1 (7ページと重複)、第2章では Table 6 (27ページと重複) に示す成分及び分量を400 mL 容量のジルコニア製容器に投入した。混合粉碎の場合には、大粒径ビーズ (1.0 mm 径) の使用や使用量の半減等、ビーズ表面への粉碎物の付着を極力回避するための対策をした。LN₂ を200 mL 入れ、300 rpm にて5分間攪拌し、試料をLN₂ 中に分散させるとともに冷却した。次に、攪拌速度を1600 rpm に上げ、15分間攪拌して粉碎を実施した。常温常圧下ではLN₂ が絶えず蒸発するため、これを補うよう断続的に揮発分を補充し、1バッチあたり約10 L のLN₂ を使用した。粉碎後、目開き212 μm のふるいを用いて懸濁液からビーズを除去した。室温下で放置してLN₂ を自然蒸発させ、乾燥粉末を得た。Phe 単独粉碎品を M-Phe、溶解改善剤との混合粉碎品を M-(Phe+PEG)あるいは M-(Phe+EUD)と略記する。各サンプル粉末はガラスバイアルに入れ、分析試験の実施又は複合粒子の調製に用いるまでデシケーターにて室温で保管した。

Table 1 Formulation of ultra cryo-milling process

Symbol	Loading (g)		Milling media (Zirconia beads)	
	Intact Phe	Intact PEG	Size (mm)	Bulk volume (mL)
M-Phe	15.00	—	0.6	100
M-(Phe+PEG)	7.50	7.50	1.0	50

Table 6 Formulation for ultra cryo-milling process

Symbol	Loading (g)		Milling media (Zirconia beads)	
	Intact Phe	Intact EUD	Size (mm)	Bulk volume (mL)
M-Phe	15.00	—	0.6	100
M-(Phe+EUD)	7.50	7.50	0.6	50

2.2 複合粒子の調製

複合粒子の調製は、機械的せん断装置（NOB-mini、ホソカワミクロン）による乾式せん断処理にて行った。本装置は、円柱型の容器内に 8 枚の攪拌翼を有するローター及び駆動部モーターにより構成される。運転中、容器を垂直方向に設置することで、粉体試料が自重により強制的に容器内壁と攪拌翼の隙間へ集合し、攪拌翼の回転による強いせん断応力が加えられることにより凝集した微細粒子の解砕、及び核粒子表面への固定化（複合化と称す）が促進されるように工夫されている。本研究では、容器内壁と攪拌翼の隙間を 1 mm に設定した。装置の模式図を Fig. 23 に示す。

第 1 章では、Table 10（10 ページ Table 2 と 17 ページ Table 4 を統合）に示す処方に従って、上記の超低温粉碎品を核粒子とともにせん断処理した。各核粒子（CS、NP、CP）に対して M-Phe では質量比 9:1、M-(Phe+PEG)では質量比 9:2 に設定し、全かさ体積が 30 mL（CS の場合）あるいは 20 mL（NP、CP の場合）となるよう試料を秤量し、装置に投入した。NP についてのみ、NP:M-(Phe+PEG)の質量比を 9:2、6:2、3:2 と変化させた。容器外周槽に 20℃の冷却水を還流させて温度を調節した。運転開始から 1.5 分をかけて回転数 3000 rpm まで徐々に回転数を上げ、回転数 3000 rpm で 10 分間処理した。運転終了後、攪拌容器を上下反転して処理末を回収皿に回収した。処理品を核粒子の種類並びに各成分の配合比より、略号を命名した。例えば、「CS9:1:0」は核粒子としてコーンスターチ（CS）を用い、CS:Phe:PEG=9:1:0 w/w の配合比にて処理したことを意味する。ちなみに、XX9:1:0 は PEG を含まない複合粒子、XX9:1:1 は PEG 含有複合粒子である。各サンプル粉末はガラスバイアルに入れ、分析試験を実施するまでデシケーターにて室温で保管した。

一方、第 2 章では、Table 8（31 ページと重複）に示す処方に従って、核粒子を NP に限定し、EUD 混合粉砕品（M-(Phe+EUD)）とともに機械的せん断装置にてせん断処理した。NP と M-(Phe+EUD)の質量比を 9:2、6:2、3:2 に設定し、全かさ体積 20 mL 分を仕込んだ。処理品を先と同様に略号化した。溶解改善剤が EUD であることを認識できるよう頭文字「e」を付して命名した（例 eNP9:1:1）。

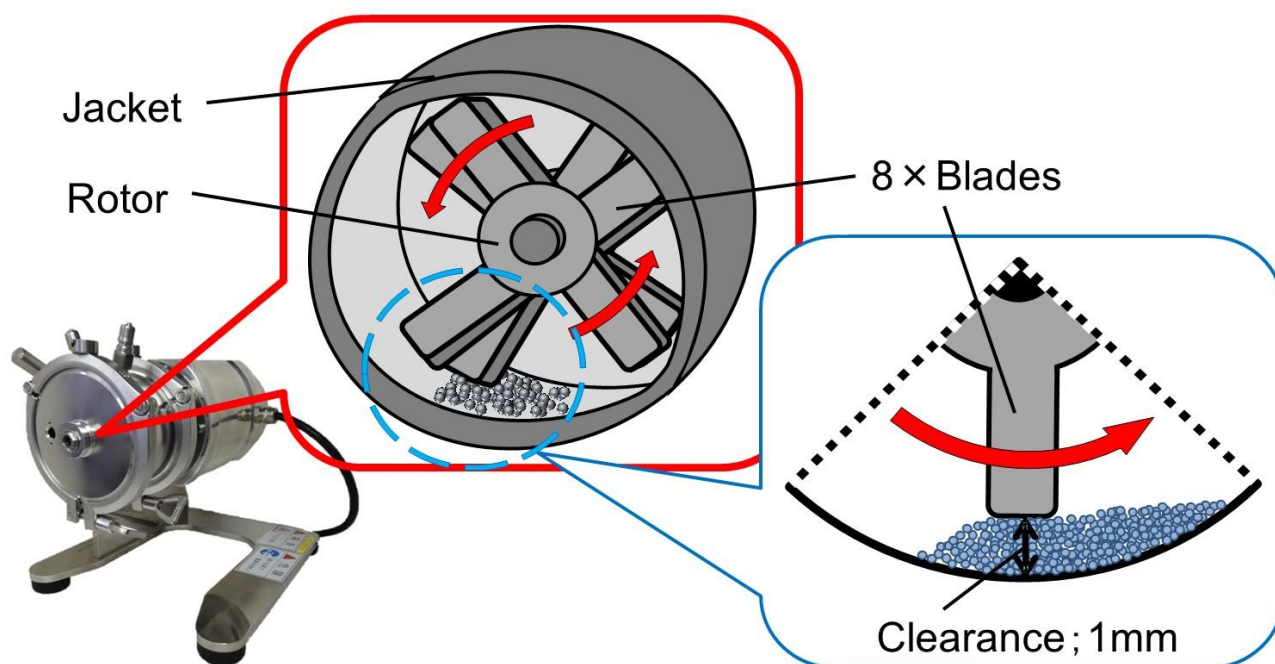


Fig. 23 Schematic diagram of NOB-mini. NOB-mini is a mechanical powder processor based on a mechanofusion system.

Table 10 Formulation for the dry composite mixing process with various core particles using a mechanical powder processor

Series (Core)	Symbol (Core:Phe:PEG ^a)	Loading (g)			Bulk volume (mL)
		Core	M-Phe	M-(Phe+PEG)	
CS	CS9:1:0	11.70	1.30	—	30
	CS9:1:1	11.70	—	2.60	30
NP	NP9:1:0	11.25	1.25	—	20
	NP9:1:1	9.45	—	2.10	20
	NP9:1:1	8.10	—	1.80	20
	NP6:1:1	6.60	—	2.20	20
	NP3:1:1	4.20	—	2.80	20
	NP3:1:1	4.20	—	2.80	20
CP	CP9:1:0	13.16	1.46	—	20
	CP9:1:1	11.29	—	2.51	20

^a Core:Phe:PEG = core particles (CS or NP or CP): phenytoin: polyethylene glycol 6000.

Processing time: 10 min, rotor speed: 3000 rpm, clearance between vessel wall and rotor: 1 mm.

Table 8 Formulation for dry composite mixing process using a mechanical powder processor

Symbol (NP:Phe:EUD)	Loading (g)		Bulk volume (mL)
	Core (NP)	M-(Phe+EUD)	
eNP9:1:1	7.57	1.68	20
eNP6:1:1	6.07	2.02	20
eNP3:1:1	3.81	2.54	20

Processing time: 10 min, rotor speed: 3000 rpm, clearance between vessel wall and rotor: 1 mm

3. 評価方法

3.1 粒子の形態観察

絶縁性粘着両面テープを貼り付けたサンプル台にサンプル粒子を散布した後、スパッタリング装置（JFC-1600、日本電子）を使用して、サンプル粒子を白金蒸着した。続いて、走査型電子顕微鏡（SEM）（JSM-6060、日本電子）を用いて、サンプル粒子の表面形態を観察した。

3.2 粒度分布の測定

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）にて粒度分布を測定した。圧縮空気（0.4 MPa）を供給したノズル内にて試料を乾式分散させた。3回測定した平均値にて粒度分布曲線を描いた。体積基準の累積粒度分布曲線における50%累積径（D50）を代表径とした。

3.3 真密度の測定

Phe 及び NP の真密度をピクノメーター（ウルトラピクノメーター1000、カンタクロームジャパン）を使用したヘリウムガス置換法により測定した。

3.4 薬物含量の測定

約 20 mg の試料粉末を正確に秤量し、200 mL の 50%メタノール水溶液に溶解し、孔径 0.20 μm のメンブレンフィルター（Dismic-13HP、親水 PTFE、ADVANTEC）でろ過した。ろ液を必要に応じてメタノールで希釈した後、Phe の濃度を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（LC solution、島津製作所）により測定した。HPLC の使用機器及び測定条件を Table 11 に示す。

Table 11 Measurement condition of HPLC assay for phenytoin

Apparatus	Condition
Pump	LC-10AD (Shimadzu)
Absorbance detector	SPD-10A (Shimadzu)
System controller	LC solution (Shimadzu)
Column	Inertsil ODS-3, 5 μm , 4.6 $\times$ 150 mm (GL Sciences)
Oven temperature	40°C
Wavelength	258 nm (D ₂ lamp)
Mobile phase	Acetonitrile:10 mM Na ₂ HPO ₄ solution, 11:9 v/v
Flow rate	0.8 mL/min

機械的せん断装置への投入量に対するサンプルの回収量を製品回収率 (%) とした。また、仕込み量から算出した理論 Phe 含量 (Theoretical Phe content, mg/100 mg) に対する実測の Phe 含量 (Measured Phe content, mg/100 mg) を Phe 回収率 (Phe recovery, %) として式 (4) にて定義した。

$$\text{Phe recovery (\%)} = \frac{\text{Measured Phe content}}{\text{Theoretical Phe content}} \times 100 \quad \cdots (4)$$

また、NP 及び CP 球形粒表面に固定化された薬物量を評価するために、目開き 45 μm のふるいを用い、サイクロン式気流条件下、真空吸引でのエアージェット法 (Spin Air Sieve SAM-75、セイシン企業) にて核粒子に固定されていない遊離薬物粒子を除去した。篩過分離前の薬物含量 (Measured Phe content, mg/100 mg) 及び篩過分離後の薬物含量 (Measured Phe content in the residual on sieve, mg/100 mg) を定量し、式 (5) により保持率 (Retention ratio, %) を算出した。

$$\text{Retention ratio (\%)} = \frac{\text{Measured Phe content in the residual on sieve}}{\text{Measured Phe content}} \times 100 \quad \cdots (5)$$

さらに、コーティング状態をより深く考察するために、NP を核粒子とした複合粒子に限り、薬物のコーティング層数 (Number of coating layers) を算出した。Phe 及び NP 粒子が真球であり変形や割断が起こらないとの仮説に基づくと、Phe 粒子が NP 核粒子上に単一粒子層で最密充填被覆した場合、複合粒子 100 mg あたり Phe 5.00 mg (理論値) が固定されると算出される。この割合から式 (3) (19 ページと重複) によりコーティング層数 (Number of coating layers) を算出した。

$$\text{Number of coating layers} = \frac{\text{Measured Phe content in the residual on sieve}}{\text{Phe content for monolayer coating}} \quad \cdots (3)$$

3.5 薬物溶出及び分散挙動の評価

第 17 改正日本薬局方 (JP17) に準じ、溶出試験装置 (NTR-3000、富山産業) を用いてパドル法により、超低温粉碎粒子及び複合粒子からの薬物放出挙動を評価した。薬物含量の定量値から Phe 10 mg に相当するサンプル粒子を秤り取り 37 $\pm$ 0.5 $^{\circ}\text{C}$ に加温した 900 mL の試験液に入れ、パドル回転数 50 rpm の条件で試験を実施した。試験液には、消化管での溶解挙動を模擬するため、日本薬局方 第 1 液 (pH 1.2) 及び第 2 液 (pH 6.8) を使用した。所定時間 (1、3、5、7、10、15、20、30、40、50、60、90、120、180 分) ごとに溶出液 1 mL を採取した後、総体積を一定にするため直ちに試験液 1 mL を補充した。ガラスフィルターを通して採取した溶出液を孔径 0.20 μm のメンブレンフィルター (Dismic-13HP、親水 PTFE、ADVANTEC) でろ過し、ろ液中の薬物濃度を HPLC により測定した。なお、測定条件は Table 11 に記載した通りである。測定結果は、同一試料にて試験を 3 検体繰り返し、平均値にて表示した。

また、薬物粒子の分散挙動として第 2 液を分散媒に用い、超低温粉碎粒子及び複合粒子から放出された Phe 粒子の粒度分布をレーザー回折・散乱式粒度分布装置 (LMS-30、セイシン企業) にて測定した。分散媒 10 mL に対して薬物 2 mg に相当するサンプルを測定セル内に投入し、付属のスターラーにて攪拌下、0.5、1、1.5、2、3、5、10、15、20、30 分後の値を測定した。測定結果は、同一試料にて試験を 3 検体繰り返し、中間的な測定結果にて粒子の分散挙動の時間的推移を示した。なお、体積基準の累積粒度分布曲線における 50%累積径 (D50) を代表径とした。

3.6 粉体物性の評価

粉体物性のうち、流動性の指標値として安息角を採用した。第 17 改正日本薬局方 参考情報の

安息角測定法を参考に安息角を測定した。多機能型粉体物性測定器（マルチテスターMT-1000、セイシン企業）を用い、8 cm 径の円板上へ試料粉体を自然落下させ、堆積体の頂点から約 3 cm の距離を保つよう漏斗を上下移動させながら粉体層を円錐状に積み上げた。カセットメータ（Travelling microscope、島津製作所）にて堆積体の高さを測定し、式（6）から安息角（ α ）を算出した。なお、繰り返し 3 回測定した平均値にて結果を表示した。

$$\tan(\alpha) = \frac{\text{堆積体の高さ}}{\text{堆積体の直径} \times 0.5} \quad \cdots (6)$$

また、充てん性の指標値として粉体層のかさ密度（最疎、最密）を採用した。第 17 改正日本薬局方のかさ密度及びタップ密度測定法（第 1 法）を参考に測定した。安息角測定法と同様にして 10 mL 容量の円筒形計量容器（22.5 mmφ）へ粉体を自然落下させ、摺り切った粉体質量から初期かさ密度（最疎かさ密度）を、500 回タップ後のかさ体積からタップかさ密度（最密かさ密度）を測定した。それぞれのかさ密度値を用いて式（7）から圧縮度（Compressibility index）を算出した。なお、繰り返し 3 回測定した平均値にて結果を表示した。

$$\text{Compressibility index} = \frac{\text{タップかさ密度} - \text{初期かさ密度}}{\text{タップかさ密度}} \times 100 \quad \cdots (7)$$

なお、第 2 章では M-(Phe+EUD)及び NP を eNP9:1:1 と同じ割合で物理混合した PM9:1:1 を別途調製し比較対照とした。

引用文献

- 1) **J. H. Fagerberg, C. A. S. Bergstrom** : Intestinal solubility and absorption of poorly water soluble compounds: predictions, challenges and solutions
Ther. Deliv., **6**, 935–959 (2015)
- 2) 三宅康夫 : 『日本製剤技術史の上梓』 及び医薬品製造の展望と課題
製剤機械技術研究会誌, **14** (4), 22–34 (2005)
- 3) **T. Loftsson, M. E. Brewster** : Pharmaceutical applications of cyclodextrins : basic science and product development
J. Pharm. Pharmacol., **62**, 1607–1621 (2010)
- 4) **C. M. Keck, R. H. Muller** : Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation
Eur. J. Pharm. Biopharm., **62** 3–16 (2006)
- 5) **G. L. Amidon, H. Lennernäs, V. P. Shah, J. R. Crison** : A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability
Pharm. Res., **12**, 413–420 (1995)
- 6) **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)
- 7) **A. A. Noyes, W. R. Whitney** : The rate of solution of solid substances in their own solutions
J. Am. Chem. Soc., **19**, 930–934 (1897)
- 8) **J. Leleux, R. O. Williams** : Recent advancements in mechanical reduction methods: particulate systems
Drug Deve. Ind. Pharm., **40**, 289–300 (2014)
- 9) **G. Jimbo**: Recent formulation technologies and their application 3
pp.168–172, *Iyaku Journal Inc.*, Tokyo (1986)
- 10) 院去貢、田原隆志 : 超微小ビーズ対応ミルにおけるナノ分散について
粉体工学会 2006 年度秋季研究発表会 講演論文集, pp.135, (2006)

- 11) 堀田祐司、渡利公司：湿式ジェットミルプロセス—安定分散スラリー調製技術と評価—
セラミックス, **42**, pp.93, (2007)
- 12) 牧野晃久、周善寺清隆、加藤隆司、森光孝典、吉村勉、田河内浩：液滴衝突法によるナノ粒子の解砕
粉体工学会 2008 年度秋季研究発表会 講演論文集, pp.61, (2008)
- 13) **G. G. Liversidge, K. C. Cundy** : Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs
Int. J. Pharmaceutics, **125**, 91–97 (1995)
- 14) **T. Gülsün, R. N. Gürsoy, L. Öner** : Nanocrystal technology for oral delivery of poorly water-soluble drugs
FABAD J. Pharm. Sci., **34**, 55–65 (2009)
- 15) **P. Kesharwani, K. Singh** : Advances in nanocrystals as drug delivery systems
Nanoparticle therapeutics, pp.413–454, *Academic Press, United States* (2021)
- 16) **T. Niwa, Y. Nakanishi, K. Danjo** : One-step preparation of pharmaceutical nanocrystals using ultra cryo-milling technique in liquid nitrogen
Eur. J. Pharm. Sci., **41**, 78–85 (2010)
- 17) **E. S. Brovik** : The vapor pressure of nitrogen at low temperature
Sov. Phys., **5**, 506–507 (1960)
- 18) **A. A. Vasserman** : Thermophysical properties of air and air components
pp.253–254, *Izdatel'avto Nauska, Moscou* (1966)
- 19) **T. Niwa, M. Yoshida, N. Hayashi, K. Kondo** : One step preparation of spherical drug particles by contamination-free dry milling technique with corn starch
Int. J. Pharm., **528**, 624–636 (2017)
- 20) 丹野浩一、内藤牧男：複合粒子の製造方法、及びその方法により得られた複合粒子
公開特許公報，特開平 5-317679, (1993)
- 21) 長尾 正光、高橋 正明：固体粒子の表面改質方法
公開特許公報，特開平 5-168895, (1993)

- 22) **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)
- 23) **X. Hu, Y. Li, E. Zhang, X. Wang, M. Xing, Q. Wang, J. Lei, H. Huang** : Preparation and evaluation of orally disintegrating tablets containing taste-masked microcapsules of berberine hydrochloride
AAPS PharmSciTech., **14**, 29–37 (2013)
- 24) **Y. D. Priya, Y. A. Chowdary, T. E. G. K. Murthy, B. Seshagiri** : Design and evaluation of atomoxetine HCL pellets by MUPS Technology
Int. J. Pharm. Pharm. Sci., **6**, 110–115 (2014)
- 25) **U. Stange, C. Führling, H. Gieseler** : Taste masking of naproxen sodium granules by fluid-bed coating
Pharm. Dev. Technol., **19**, 137–147 (2014)
- 26) 小石真純、江藤桂、日暮久乃 : 造る+使うマイクロカプセル
工業調査会, pp.23, (2005)
- 27) **J. A. Hersey** : Ordered mixing: A new concept in powder mixing practice
Powder Technol., **11**, 41–44 (1975)
- 28) **N. H. Shah, W. Phuapradit, M. Bachynsky, M. H. Infeld, K. Iqbal, A. W. Malick** : High energy ordered mixture for improving the dissolution rate of sparingly soluble compounds
Drug Dev. Ind. Pharm., **20**, 873–888 (1994)
- 29) **C. Nyström, M. Westerberg** : The use of ordered mixtures for improving the dissolution rate of low solubility compounds
J. Pharm. Pharmacol., **38**, 161–165 (1986)
- 30) **P. Bannister, N. Harnby** : A colorimetric technique for assessing the mixture quality of fine particle mixtures
Powder Technol., **36**, 275–279 (1983)
- 31) **R. Pfeffer, R. N. Dave, D. Wei, M. Ramlakhan** : Synthesis of engineered particulates with tailored properties using dry particle coating
Powder Technol., **117**, 40–67 (2001)

- 32) **D. Shinkuma, H. Hashimoto, Y. Yamakawa, Y. Morita, N. Mizuno** : Bioavailability of phenytoin
Yakuzaigaku, **39**, 121–128 (1979)
- 33) **U. Sindel, A. Schweiger, I. Zimmermann** : Determination of the optimum mixing time for a mixture of lactose and colloidal silicon dioxide
J. Pharm.Sci., **87**, 524–526 (1998)
- 34) **K. M. Ohta, M. Fuji, M. Chikazawa** : Effect of geometric structure of flow promoting agents on the flow properties of pharmaceutical powder mixture
Pharm. Res., **20**, 804–809 (2003)
- 35) 太田琴恵、豊島健三 : 製剤における流動化剤の機能発現機構—表面構造および濡れ特性の影響—
表面科学, **24**, 608–613 (2003)
- 36) **S. Jonat, S. Hasenzahl, M. Drechsler, P. Albers, K. G. Wagner, P. C. Schmidt** : Investigation of compacted hydrophilic and hydrophobic colloidal silicondioxides as glidants for pharmaceutical excipients
Powder Technol., **141**, 31–43 (2004)
- 37) **I. Zimmermann, M. Eber, K. Meyer** : Nanomaterials as flow regulators in dry powders
Z. Phys. Chem., **218**, 51–102 (2004)
- 38) **K. Meyer, I. Zimmermann** : Effect of glidants in binary powder mixtures
Powder Technol., **139**, 40–54 (2004)
- 39) **Y. Chen, L. Jallo, M. A. S. Quintanilla, R. Dave** : Characterization of particle and bulk level cohesion reduction of surfacemodified fine aluminum powders
Colloids Surf. A: Physicochem Eng. Asp., **361**, 66–80 (2010)
- 40) **L. J. Jallo, C. Ghoroi, L. Gurumurthy, U. Patel, R. N. Dave** : Improvement of flow and bulk density of pharmaceutical powders using surface modification
Int. J. Pharm., **423**, 213–225 (2012)

- 41) **Q. Zhou, L. Qu, T. Gengenbach, J. A. Denman, I. Larson, P. J. Stewart, D. A. V. Morton:**
Investigation of the extent of surface coating via mechanofusion with varying additive levels and the influences on bulk powder flow properties
Int. J. Pharm., **413**, 36–43 (2011)
- 42) **S. Sugimoto, T. Niwa, Y. Nakanishi, K. Danjo :** Novel ultra-cryo milling and co-grinding technique in liquid nitrogen to produce dissolution-Enhanced nanoparticles for poorly water-soluble drugs
Chem. Pharm. Bull., **60** (3), 325–333 (2012)
- 43) **K. Yuminoki, F. Seko, S. Horii, H. Takeuchi, K. Teramoto, Y. Nakada, N. Hashimoto :** Preparation and evaluation of high dispersion stable nanocrystal formulation of poorly water-soluble compounds by using povacoat
J. Pharm. Sci., **103** (11), 3772–3781 (2014)
- 44) **U. Zimper, J. Aaltonen, K. Krauel-Goellner, K. C. Gordon, C. J. Strachan, T. Rades:** The influence of milling on the dissolution performance of simvastatin
Pharmaceutics, **2**, 419–431 (2010)
- 45) **A. Maeda, T. Shinoda, N. Ito, K. Baba, N. Oku, T. Mizumoto :** Evaluating tamsulosin hydrochloride-released microparticles prepared using single-step matrix coating
Int. J. Pharm., **408**, 84–90 (2011)
- 46) **T. Shimizu, Y. Nakano, S. Morimoto, T. Tabata, N. Hamaguchi, Y. Igari :** Formulation study for lansoprazole fast-disintegrating tablet. I. Effect of compression on dissolution behavior
Chem. Pharm. Bull., **51** (8), 942–947 (2003)
- 47) **T. Shimizu, N. Kameoka, H. Iki, T. Tabata, N. Hamaguchi, Y. Igari :** Formulation study for lansoprazole fast-disintegrating tablet. II. Effect of triethyl citrate on the quality of the products
Chem. Pharm. Bull., **51** (9), 1029–1035 (2003).
- 48) **T. Shimizu, M. Sugaya, Y. Nakano, D. Izutsu, Y. Mizukami, K. Okochi, T. Tabata, N. Hamaguchi, Y. Igari :** Formulation study for lansoprazole fast-disintegrating tablet. III. Design of rapidly disintegrating tablets
Chem. Pharm. Bull., **51** (10), 1121–1127 (2003).

- 49) **T. Yoshida, H. Tasaki, A. Maeda, M. Katsuma, K. Sako, T. Uchida** : Optimization of salting-out taste-masking system for micro-beads containing drugs with high solubility
Chem. Pharm. Bull., **56** (11), 1579–1584 (2008)
- 50) **T. Yoshida, H. Tasaki, A. Maeda, M. Katsuma, K. Sako, T. Uchida** : Mechanism of controlled drug release from a salting-out taste-masking system
J. Control Rel., **131**, 47–53 (2008)
- 51) **T. Yoshida, H. Tasaki, A. Maeda, M. Katsuma, K. Sako, T. Uchida** : Salting-out taste-masking system generates lag time with subsequent immediate release
Int. J. Pharm., **365**, 81–88 (2009)
- 52) **H. Tasaki, T. Yoshida, A. Maeda, M. Katsuma, K. Sako** : Effects of physicochemical properties of salting-out layer components on drug release
Int. J. Pharm., **376**, 13–21 (2009)
- 53) **J. Yang, A. Sliva, A. Banerjee, R. N. Dave, R. Pfeffer** : Dry particle coating for improving the flowability of cohesive powders
Powder Technol., **158**, 21–33 (2005)
- 54) **I. Saeki, K. Kondo, R. Nagase, M. Yoshida, T. Niwa** : Design of swellable ordered-mixed spherical drug particles (Swell-OM-spheres) using a dry powder milling and coating technique to improve dissolution behavior
J. Drug Del. Sci. Tech., **54**, 10128 (2019).
- 55) **R. L. Carr** : Evaluating flow properties of solids
Chem. Eng., **72**, 163–168 (1965)
- 56) **K. Nollenberger, J. Albers** : Poly (meth) acrylate-based coatings
Int. J. Pharm., **457**, 461–469 (2013)
- 57) **T. Parikh, S. S. Gupta, A. Meena, A. T. M. Serajuddin** : Investigation of thermal and viscoelastic properties of polymers relevant to hot melt extrusion - III: Polymethacrylates and polymethacrylic acid based polymers
J. Excipients Food Chem., **5** (1), 56–64 (2014)

- 58) **S. Thakral, N. K. Thakral, D. K. Majumdar** : Eudragit®: a technology evaluation
Expert Opin. Drug Deliv., **10** (1), 131–149 (2013)
- 59) **K. Kondo, K. Kido, T. Niwa** : Spheronization mechanism of pharmaceutical material crystals
processed by extremely high shearing force using a mechanical powder processor
Eur. J. Pharm. Biopharm., **107**, 7–15 (2016).
- 60) **S. Sugimoto, T. Niwa, Y. Nakanishi, K. Danjo** : 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)
- 61) **Y. Uemoto, S. Toda, A. Adachi, K. Kondo, T. 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)

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 灘井 雅行 教授、岡本 浩一 教授、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池川 知穂 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科研製薬株式会社研開企画部 加藤 保富 部長、CMC センター 小倉 浩暢 センター長、製剤部 大島 孝雄 部長、同 山本 記裕 チームリーダー、同 大場 拓馬 博士、CMC・QA 部 菌田 良一 博士に深く感謝致します。

また、研究遂行中および論文執筆中に公私にわたり様々な場面で御世話になった科研製薬株式会社 CMC センター製剤部の方々に感謝致します。

最後に、論文執筆中に様々な場面で支えとなり協力してくれた家族に、本書面を借りて深くお礼を申し上げます。