

称号及び氏名 博士（工学）藤井 博之

学位授与の日付 令和 2 年 3 月 31 日

論文名 「湿式ビーズミルを用いたナノクリスタル製剤の開発と
その粉碎メカニズムの数値解析」

論文審査委員 主査 綿野 哲
副査 武藤 明德
副査 齊藤 丈靖

論文要旨

医薬品分野では、創製される新規候補化合物(Active Pharmaceutical Ingredients: API)の約 90%は Biopharmaceutical classification system (BCS)で定義される難水溶性化合物に分類される。これは、API が標的分子に対する高い親和性を有しながらも、分子構造が複雑化したため、分子量および脂溶性が増加したことが要因である。一般的に、薬物の吸収性は、溶解性、膜透過性および代謝性の積により表されることから、難水溶性化合物の多くは、溶解性に起因して血中への吸収性が乏しくなる。そのため、前臨床段階における有効性と安全性が証明できずに、API の約 70%は開発中止に至ると報告されている。したがって、難水溶性化合物の開発成功確率を高めるために、溶解性を改善する製剤技術の開発が重要である。その中でも、API をサブミクロン粒子以下まで微細化するナノクリスタルが注目を集めている。ナノクリスタルは、固体分散体に代表されるアモルファス製剤とは異なり、粉碎前と同一の結晶形であることが特徴である。

ナノクリスタルの吸収改善メカニズムは、Nernst-Brunner/Noyes-Whitney の式に従い、API の溶解速度を著しく向上させた上で、溶解度を上昇させることができるため、と考えられている。一方で、ナノクリスタルは API の微細化に伴い表面積が増大するため、原薬表面と水溶液の固液界面が不安定になりやすい。ナノクリスタルは固液界面を安定化させるために、表面積を小さくしようとして凝集することが知られている。そのため、ナノクリスタルの吸収改善効果を損

なわなないように、分散安定性に優れたナノクリスタル製剤の設計が期待されている。一般的に、粒子表面に電荷を与えて、静電反発力を利用する方法、高分子を粒子表面に修飾させて立体障害斥力効果を利用する方法が知られている。しかしながら、API の物理化学的特性あるいは粉体特性の相関関係を調べ、さらにナノクリスタルと安定化剤がどのように相互作用してナノクリスタルの分散安定化に寄与しているかについては、十分に理解はされていない。そのため、ナノクリスタル製剤の設計は、技術者の経験や勘に大きく依存している。

ナノクリスタルを得る手法として、粉碎限界が最も小さい 100~200 nm のナノクリスタルを製造でき、また工業的にも優れたビーズミル湿式粉碎法に着目した。ナノクリスタル製剤を開発する上で、粉碎プロセスを理解することは、最適な粉碎条件の設定やスケールアップ則を確立するために重要である。しかしながら湿式粉碎においては、粉碎媒体であるビーズの運動、サスペンションの流体運動、粉碎機内で作用するエネルギーを実験的に明らかにすることは難しい。粉碎プロセスにおけるエネルギー利用効率は 1% にも満たないと言われており、その多くは熱エネルギーに変換されている。したがって、粉碎機内で消費されるエネルギーのうち、API を粉碎するエネルギーがどのように発生されて、API の粉碎に寄与する応力として働いているかを定量的に把握することは非常に困難である。そこで、近年ではコンピュータ技術の発展に伴い数値シミュレーション技術を活用して、粉碎機内における粉碎プロセスの現象理解を深めるための研究が盛んになってきた。したがって、数値シミュレーション技術を活用し、湿式ビーズミル機を用いたナノクリスタル調製における重要因子を解明することを試みた。

本研究では、難水溶性化合物の開発成功確率を飛躍的に向上させるために、溶解性改善技術の一つであるナノクリスタル技術に着目した。医薬品開発初期段階においては、入手できる原薬量には限りがある。そのため、幅広い原薬に対応できるユニバーサル処方を見出すことにより、処方検討を行うことなくナノクリスタル製剤のパフォーマンスを一早く前臨床試験に投入できることを目指した。さらに、API の物理化学的性質から、ナノクリスタルの適用可否を判断できるクライテリアを提案することが有用であると考えた。本クライテリアを用いてペーパーフィジビリティを行うことで、貴重である API の使用量、検討に要するコスト、労力及び期間を大幅に削減できると考えた。また、ナノクリスタルサスペンションを調製するためには、湿式ビーズミル粉碎工程の正しい理解が必要である。そこで、原薬の粉碎メカニズムを明らかにするため、ビーズミル粉碎機内で生じる運動量や物理量を、数値シミュレーションを活用して解析した。具体的には、湿式粉碎場を忠実に再現するため、粒子離散要素法 (DEM: Discrete Element Method) と数値流体力学 (CFD: Computational Fluid Dynamics) をカップリングさせた DEM-CFD 法による解析を試みた。最後に、ナノクリスタル技術を用いた製品開発に応用するために、ナノクリスタルサスペンションの錠剤化検討を行った。特に、腸溶錠におけるバイオアベイラビリティを改善させるための製剤技術として、ナノクリスタルの有用性を検証した。

本論文は上述の研究成果をまとめたものであり、全 5 章で構成されている。

第 1 章では、本研究の背景および本研究に関する既往の研究をまとめ、本論文の目的と構成について述べた。

第 2 章では、ナノクリスタル製剤のユニバーサル処方提案を、ナノクリスタル技術の適用範囲を明確にするため、難水溶性化合物の物理化学的性質のクライテリアを調査した。ナノクリスタルサスペンションの調製法は、湿式ビーズミル法を用いた。ユニバーサル処方提案のためのモデル化合物には、 pK_a の異なる 3 つの難水溶性化合物、ニフェジピン、フェノフィブラートおよびインドメタシンを用いた。Z-average 500 nm 以下および多分散性指数(PDI) 0.3 以下を満足する場合を **Acceptable Critical Quality Attribute (CQA)** と定義して、ナノクリスタルの安定化剤として最適な分散剤と湿潤剤を選定した。また、ナノクリスタル製剤の消化管内におけるロバスト性を評価するため、日局溶出試験第 1 液(JP1)および日局溶出試験第 2 液(JP2) に対する凝集性を調査した結果、HPC-SSL が最適な分散剤であり、DOSS が最適な湿潤剤であることを見出した。したがって、ユニバーサル処方は、20% (w/v) API, 4% (w/v) HPC-SSL および 0.2% (w/v) DOSS に決定した。また、ナノクリスタルサスペンションを設計する上で、原薬の物理化学的性質に関するクライテリアは、溶解度(pH 1.2/ pH 6.8)が 35 $\mu\text{g/mL}$ 以下、分子量が 500 以下、 $\text{Log}D_{7.4}$ と $\text{CLog}P$ の比が 1 ± 0.2 および水素結合受容体数が 5 個以下であることを明らかにした。

第 3 章では、湿式ビーズミルの粉砕メカニズムを明らかにするために、DEM-CFD カップリングモデルを用いて、数値計算を行った。粉砕における重要因子である、自転公転回転速度、粉砕媒体の粘度および粉砕ボール径が粉砕ボールの運動挙動および粉砕機内の衝突エネルギーに及ぼす影響を解析した。また、湿式ビーズミル粉砕機の粉砕メカニズムを解析するために、DEM-CFD カップリングシミュレーションで算出した衝突エネルギー量と粉砕確率を組み合わせた新規な粉砕モデルを提案した。さらに、数値計算と同一条件で粉砕実験を行い、粉砕モデル式の妥当性を検証したところ、実験結果は新たに提案した粉砕モデルによる推算結果と良好な相関性を示した。一方で、従来の粉砕モデルとは明確な相関は認められなかった。したがって、本章により提案した新規な粉砕モデルにより、湿式ビーズミルの操作条件から粉砕品の粒度分布を予測することを可能にした。

第 4 章では、コントロールリリース製剤である腸溶錠を開発するにあたり、バイオアベイラビリティ低下による製剤開発に関する諸問題を解決するために、ナノクリスタル技術を応用した。まず、第 2 章で見出したユニバーサル処方を用いてビーズミル粉砕工程のスケールアップを行い、ナノクリスタルサスペンションを得た。次に、ナノクリスタルサスペンションに凝集防止剤を添加し、分散安定性に優れたナノクリスタル粉末を設計した。さらに、ナノクリスタル粉末を用いて、ナノクリスタル即放錠およびナノクリスタル腸溶錠を開発した。なお、対照製剤として、ジェットミル原薬を用いた即放錠および腸溶錠を使用した。開発したナノクリスタル製剤の品質評価のため、粒子径、再分散性および溶出プロファイルを測定した。さらに、動物試験はイヌを用い、50 mg 製剤を経口投与して、薬物動態を評価した。その結果、溶出プロファイルは、対照製剤であるジェットミル腸溶錠と類似であった。しかしながら、動物試験結果では、ジェットミル腸溶錠とナノクリスタル腸溶錠の最高血中濃度到達時間 T_{\max} は同一であったにもかかわらず、最高血中濃度 C_{\max} は約 3.2 倍、血中濃度曲線下面積 AUC_{0-12h} は約 3.1 倍向上した。さらに、

ナノクリスタル腸溶錠は、ジェットミル即放錠と比較して、 C_{\max} は約 0.9 倍、 AUC_{0-12h} は約 1.2 倍となり、同等の吸収であった。したがって、ナノクリスタルは腸溶錠の開発を行う上でのブレイクスルーアプローチとなることを示唆した。また、本章で得られた成果に基づき、産業上におけるナノクリスタルの利用価値を明らかにした。

第 5 章では、本研究で得られた知見を総括した。

審査結果の要旨

本論文は、湿式ビーズミルを用いて難水溶性薬物を粉砕することで得られるナノクリスタル製剤の開発と粉砕メカニズムの解析および難水溶性薬物の溶出性改善技術の確立を目的としており、以下の成果を得ている。

(1) 難水溶性薬物として pKa の異なる 3 種類の難水溶性薬物であるニフェジピン、フェノフィブラートおよびインドメタシンを用い、それぞれを湿式ビーズミル処理することでナノクリスタル製剤を調製した。ナノクリスタル製剤の消化管内におけるロバスト性を評価するため、日局溶出試験液に対する凝集性を調査し、最適な分散剤および湿潤剤を決定した。さらに、原薬の物理化学的性質に関するクライテリアを提案した。

(2) 湿式ビーズミル粉砕の重要因子である自転公転回転速度、粉砕媒体の粘度および粉砕ボール径が粉砕ボールの運動挙動および粉砕機内の衝突エネルギーに及ぼす影響を明らかにするため、離散要素法 (Discrete Element Method : DEM) および計算動力学 (Computational Fluid Dynamics : CFD) を連成する数値計算モデルを提案した。さらに、数値計算により得られた衝突エネルギー量と粉砕確率を組み合わせた新規な粉砕モデルを提案した。数値計算と同一条件で粉砕実験を行ったところ、実験結果は粉砕モデルによる推算結果と良好な相関性を示し、粉砕のメカニズムを明らかにした。

(3) ナノクリスタル製剤の手法を応用し、コントロールリリース製剤である腸溶錠の開発を行った。その結果、ナノクリスタル製剤は、従来のジェットミルを用いて調製したものと比較して、最高血中濃度到達時間 T_{max} は同一であるにも関わらず、最高血中濃度 (C_{max}) は約 3.2 倍、血中濃度曲線下面積 (AUC) は約 3.1 倍向上することが判明し、難水溶性薬物のバイオアベイラビリティ (生物学的利用能) の大幅な向上が可能であることを示唆した。

本研究で得られた諸成果は、難水溶性薬物の溶出性改善に対して実用的な知見を与えるとともに、申請者が今後自立して研究活動を行う上で必要とされる能力と学識が備わっていることを証している。