

極少量医薬品の微粒子化を指向した NaCl の有効活用法

門田 和紀, 戸塚 裕一

大阪薬科大学薬学部

概要 これまで、多数の医薬品が開発されており新薬の開発がますます困難になってきている。新たな医薬品候補薬物を開発するために疎水基を導入し、分子量が大きく構造式が複雑になることで水への溶解度が低い、難水溶性薬物が増大している。特に、医薬品を経口投与した場合、胃や小腸などの消化管で溶解し、吸収されなければならない。しかし、難溶性薬物は溶解性が極めて低いため、吸収のばらつきが生じやすく、医薬品開発における進行の遅れや中止の主な原因の一つとなっている。

難水溶性薬物の溶解性を改善する方法としては、界面活性剤による可溶化、固体分散体化および微粒子化などが挙げられる。薬物の微粒子化方法には粒子生成過程で制御するビルドアップ法と粒子を粉砕して生成するブレイクダウン法が存在する。ブレイクダウン法は、機械的エネルギーを加えて粒子を作製する方法であるため、大量の処理が可能であり、幅広い分野で利用されている。しかしながら、粉砕法によって薬物を微粒子化するためには、大量の薬物原末が必要となる。特に、開発初期においては極少量の薬物しか利用できず、医薬品開発に粉砕法を利用し、微粒子化することは非常に難しいのが現状である。

そこで我々は、医薬品開発の粉砕法に安価な塩化ナトリウムを適用する塩化ナトリウムの新たな有効方法を模索した。塩化ナトリウムは安価なだけでなく、大量に摂取しなければ人体に与える影響もほとんどなく、これまでも既に矯味剤や安定化剤としても利用されている。また、塩化ナトリウムを難溶性薬物と混合しても水に対する溶解度は高いため、対象となる難溶性薬物の回収も容易であることが考えられる。

本検討では、粉砕工程における塩化ナトリウムの嵩増しあるいは粉砕助剤としての有効性を検証するために、乾式粉砕法を用いて難溶性薬物であるメフェナム酸(MFA)あるいはイブプロフェン(IBP)の粒子特性(粒子径・粒子径分布・粒子形態・結晶構造等)に及ぼす影響について検討を行った。

MFA についての実験結果から、塩化ナトリウム添加条件で粉砕を行った試料は非添加条件の試料と比べより均質な粒子径分布となり、さらに塩化ナトリウムの粒子径を変化させることで難溶性薬物の粒子径についても制御する可能性があった。また、IBP については、IBP の結晶形に影響を及ぼさず、溶出性においては著しい改善が認められた。

以上の知見より、医薬品の乾式粉砕過程における塩化ナトリウムの有用性が示唆された。今後は湿式粉砕過程における有用性、強い苦味を持つ原薬に対する苦味マスキング効果についての評価を行う予定である。

1. 背景および目的

近年、諸先進国において人口分布の高齢化が進み医療に対する関心がますます高まってきている⁽¹⁾。医療の中軸として欠かすことの出来ないものに医薬品があり、医療技術の進歩した現代においても未だに治療効果が十分でない疾病が数多くあり、それらに対応すべく新規医薬品

の開発が世界中で盛んに行われている。

しかし、高い創薬技術で生み出される新薬は構造が複雑になり疎水性であることが多く、これらは一般に難水溶性である⁽²⁾。医薬品を経口投与により体内に吸収させるためには、胃、小腸などの消化管内で溶解する必要がある、難水溶性薬物を臨床適用する上での大きな障壁となって

いる⁽³⁾。

難水溶性薬物の溶解性を改善する代表的な手法として添加剤による可溶化、スプレードライヤーやロータリーエバポレーターなどを用いた非晶質化⁽⁴⁾、高分子を用いた固体分散体化⁽⁵⁻⁷⁾、粉碎装置を用いた微粒化⁽⁸⁻¹⁰⁾などがある。しかし、いずれの手法においても開発コストの増大、用いられる添加剤の身体に与える悪影響が懸念される。

そこで我々は安価で安全性が高く、取り扱いが簡便でかつ島国である日本が多く保有する海産資源のひとつである塩化ナトリウムについて、医薬品の開発過程において有効利用することを考案した。

本研究では医薬品の乾式粉碎プロセスにおける塩化ナトリウムの粉碎助剤、嵩増し剤および凝集抑制剤としての作用に期待し、検討を実施した。

2. 実験方法

2.1 試料

難溶性のモデル薬物として、メフェナム酸(MFA) (東京化成工業株式会社)およびイブプロフェン(IBP) (東京化成工業株式会社)を使用した(Fig. 1)。また、粉碎助剤として、塩化ナトリウム(塩事業センター)を使用した。

2.2 調製方法

薬物の粉碎を行うための粉碎機として、公転するミル公転体と逆方向に自転するミルポットで構成されている

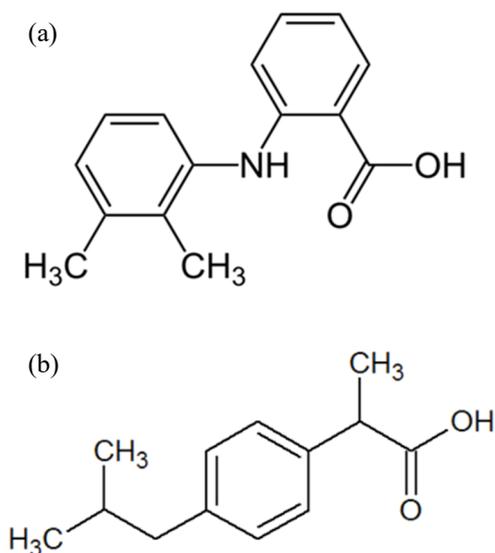


Fig. 1. Structure of (a) Mefenamic acid (MFA), (b) Ibuprofen (IBP)

FRITSCH 製遊星ボールミル(pulverisette 6)を用いた(Fig. 2)。容器には容積 12 ml のジルコニア製容器を用い、粉碎媒体にはジルコニア製のボールを用いた。始めに、MFAを用いて、遊星ボールミルの回転数を 500 rpm に固定し、回転時間、ボール径及びボール数等の最適化を行った。その際、MFA を 500 mg とし塩化ナトリウムについても 500 mg とした。その後、最適化された条件下において、添加する塩化ナトリウムの粒子径(①0~75 μm, ②75~180 μm, ③180~355 μm, ④355~500 μm, ⑤500~850 μm)を変化させ、薬物の粒子形態に及ぼす影響について検討した。

続いて、IBP についても同様に、塩化ナトリウムによる粉碎助剤あるいは凝集抑制剤としての効果を検討するために、Table 1 に示した比率で遊星ボールミルを用いて粉碎した。なお、回収率を評価するために、粉碎容器の蓋の裏、蓋と壁面の境界部を除き全量を回収した。IBP については、上記で MFA である程度最適化された粉碎条件(公転速度 500 rpm, 粉碎時間 30 分)で、ジルコニア製ボールの数については 50 個(充填率 27.3%)で粉碎を行った。



Fig. 2. Schematic representation of the ball-milling

Table 1. Components for ball-milling

Sample	IBP (mg)	NaCl (mg)
Ball-milled IBP	200	0
IBP:NaCl=3:1 (volume ratio)	150	95
IBP:NaCl=1:1 (volume ratio)	100	190

3. 評価方法

調製した各試料について、以下の方法により評価した。

(1) 粒子径分布

MFA の粒子径は 1%ポリソルベート 20 溶液 1 mL 中に MFA 含量として 10 mg を分散させ湿式レーザー回折法 (MicrotracBEL Japan, Microtrac HRA 9320) により測定した。測定前に 15 分間超音波照射した後、2 ml/min の流速で循環させ、個数基準の粒子径 (D_{10} , D_{50} , D_{90}) について測定した。また、IBP についても同様に実施した。

(2) 結晶形

粉末 X 線回折装置 (MiniFlex600, Rigaku, Japan) を用いて各試料の結晶形についての評価を行った。X 線は管電圧 40 kV, 管電流 200 mA で CuK α 線 ($\lambda=0.15406$ nm) を発生させ、4~35 deg. に現れる回折線を 0.01 deg. のステップ幅と 4 deg./min の操作速度で検出した。

(3) 粒子形態

粒子の性状および形態については走査型電子顕微鏡 (Miniscope TM3030 plus, HITACHI, Japan) を用いて観察した。

(4) 溶出性

IBP については、溶出性を評価した。各試料を IBP 含量として 10 mg を 50 mL の精製水中に分散させ 37°C の恒温水槽において毎分 100 回の速度で振とうしながら 5 分、10 分、15 分、30 分、60 分の 5 点でサンプリングを行い、高速液体クロマトグラフィ (SPD-10A, Shimadzu, Japan) により測定を行った。

4. 結果と考察

4. 1 MFA 酸による粉碎条件の最適化

MFA を用いて遊星ボールミルの回転数 500 rpm における回転時間の最適化を行った。Fig. 3 に粉碎前と粉碎後のメフェナム酸の SEM 写真を示す。粉碎によって、明らかにメフェナム酸が微粒子化していることが確認できる。しかしながら、微粒子化するに伴い、MFA は凝集した。

粉碎開始から 30 分にかけて粒子径 (D_{10} , D_{50} , D_{90}) が減少し、それ以降 50 分までは粒子径に顕著な変化は認められなかった。したがって、回転時間は 30 分を最適とした。続いて、ボール径およびボール数について最適化を行った。Table 2 にボール径 5 mm および 10 mm でボール数を変化させたときのメフェナム酸の個数基準の粒子径 (D_{10} , D_{50} , D_{90}) を示す。ボー

ル径 5 mm と 10 mm を比較すると、5 mm のボールを使用した時のほうが、 D_{50} および D_{90} が減少している。さらに、5 mm のボールでは 15 個以上になると粉碎効率が顕著に上昇していることが確認できる。

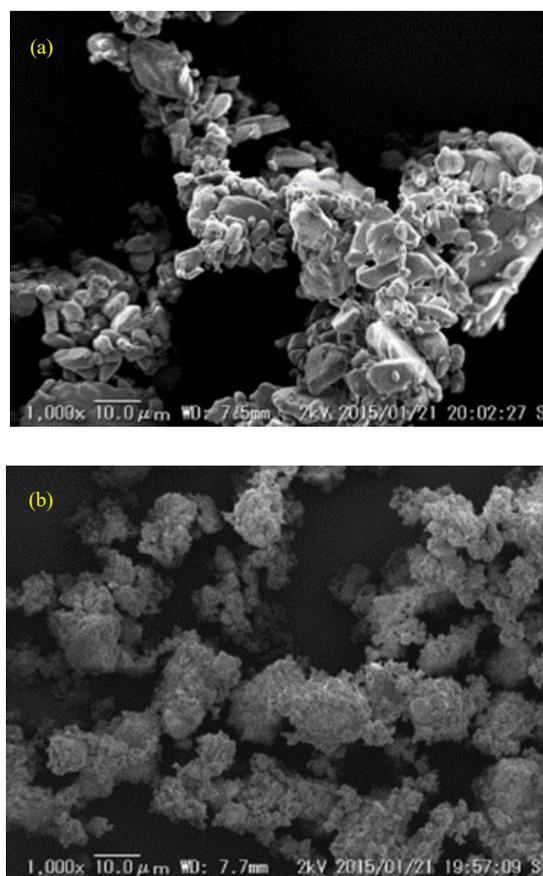


Fig. 3. SEM photographs of (a) untreated mefenamic acid, (b) ball milled mefenamic acid with NaCl

Table 2. Particle size (D_{10} , D_{50} , D_{90}) of MFA

Ball diameter (mm)	Ball number (-)	D_{10} (μ m)	D_{50} (μ m)	D_{90} (μ m)
10.0	2	1.17	20.1	85.5
	3	1.26	28.9	89.3
	4	0.97	29.9	91.5
5.0	10	13.9	43.4	102.3
	15	0.50	1.67	17.1
	20	0.62	4.76	34.8

4. 2 塩化ナトリウムの粒子径分布がMFA酸の微粒子化および結晶形に及ぼす影響

続いて、上記条件下において、各粒子径の塩化ナトリウムを添加して同様に遊星ボールミルで粉碎を行い、MFAの粒子径変化を調べた(Table 3)。塩化ナトリウムの粒子径が大きい場合、粉碎効率が悪く、MFAがほとんど粉碎されていないことがわかる。これは、塩化ナトリウムが大きいため、MFAが塩化ナトリウムの表面に付着し、粉碎としての効果が表れなかったためであると考えられる。一方、塩化ナトリウムを500 μm以下の粒子径で粉碎を行うと、顕著な際は認められなかったものの、直径75~355 μmの塩化ナトリウムがMFAの粉碎助剤として最適であることが分かった。以上より、ある程度の粒子径範囲で粉碎することによって薬物の粒子径を変化させることが期待できる。

さらに、粉碎したMFAの結晶形について粉末X線回折により評価した(Fig. 4)。Fig. 4に示すX線の回折パターンは上から塩化ナトリウムとMFAの粉碎品、塩化ナトリウムとMFAの1:1物理的混合物、MFAおよび塩化ナトリウムである。粉碎することによってMFAのX線回折ピークの強度が減弱している

ことが確認できたものの、MFAのピークが残存しており、結晶形に変化は認められなかった。つまり、塩化ナトリウムはMFAに対して不活性であるため、少量の医薬品と混合することで嵩増しすることができ、さらに粉碎効率を上げることが期待できる。

4. 3 塩化ナトリウム添加量がIBPの粒子径分布に及ぼす影響

塩化ナトリウムの添加量を変化させて、IBPを粉碎した粒子径変化をTable 4に示す。

さらに、塩化ナトリウム添加せずに粉碎したIBPおよびIBP:NaCl=1:1で粉碎した際のIBPの粒子径分布をFig. 5に示す。この結果からIbuprofenのみで粉碎を行った試料の粒子径分布はブロードとなっているのに対して、塩化ナトリウムの添加量が増加するにつれてよりシャープになっていることが分かる。これは塩化ナトリウム添加によりIBP粒子間での凝集および容器の側面、底面への付着が抑制されることによりIBP粒子および塩化ナトリウム粒子とボールが均一に衝突することで、より粒子径分布がシャープな試料を得ることができたと考えられる。

Table 3. Particle size D₁₀, D₅₀ and D₉₀ of MFA with NaCl

500rpm φ5×15 Sample	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)
MA/NaCl①(500/500)	0.74	7.05	23.90
MA/NaCl② (500/500)	0.54	3.48	20.40
MA/NaCl③ (500/500)	0.54	3.65	21.69
MA/NaCl④(500/500)	0.39	9.49	26.18
MA/NaCl⑤(500/500)	2.49	48.31	256.2

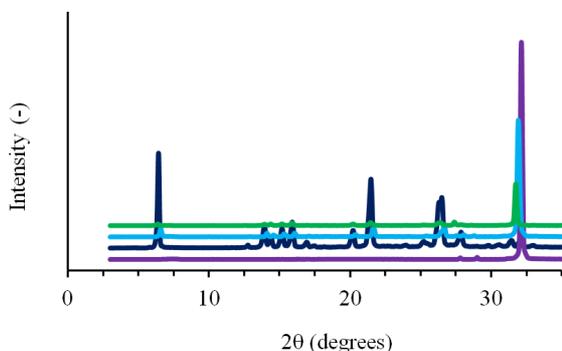


Fig. 4. Powder X-ray diffraction patterns of MFA samples

Table 4. Particle size D₁₀, D₅₀ and D₉₀ of IBP with changing NaCl amount

Samples	D ₉₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₁₀ (μm)
Ball milled IP	11.52	1.43	0.55
IP: NaCl = 3 : 1	7.71	2.38	0.52
IP: NaCl = 1 : 1	3.61	1.15	0.53
Untreated IP	79.30	39.28	19.02

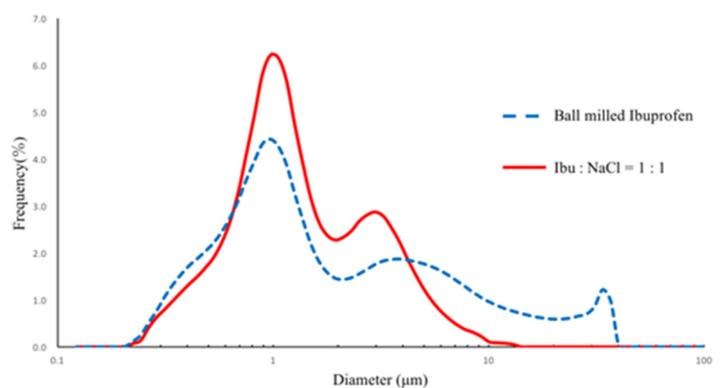


Fig. 5. Change in particle size distribution of IBP against amount of NaCl

4. 4 塩化ナトリウムが IBP の粒子形態および結晶形に及ぼす影響

Fig. 6 に塩化ナトリウムと IBP の物理的混合物および粉碎後の SEM 写真を示す。

粉碎前の塩化ナトリウムと IBP の物理的混合物は粒子が別々に存在していることが確認できる。一方粉碎によって、塩化ナトリウムと思われる粗粒子と IBP と思われる微粒子が存在していることが確認できる。さらに、粉碎品を高倍率の SEM 観察により確認すると、塩化ナトリウム粒子を IBP が被覆していることが確認できた。

さらに、粉末 X 線回折法により測定した各試料の回折ピークを Fig. 7 に示す。粉碎することによって、IBP の X 線強度は

低下したものの、回折パターンに変化が認められなかったことから塩化ナトリウムを添加して、薬物を粉碎しても Ibuprofen の結晶形に影響を及ぼさない、イナータな性質であることが確認された。

続いて、各試料における溶出挙動を Fig. 8 に示す。

塩化ナトリウムを添加して IBP を粉碎すると、塩化ナトリウム非添加時の試料と比べ、溶出性が著しく向上した。先ほどの SEM 観察においても、IBP は塩化ナトリウムに被覆していることが示唆された。以上のことから考えると、IBP の微粒化に加え、塩化ナトリウム状に微粒子の IBP が存在していることで、溶液分散時において、薬物同士の凝集を抑制し、分散を促進しているためと考えられる。

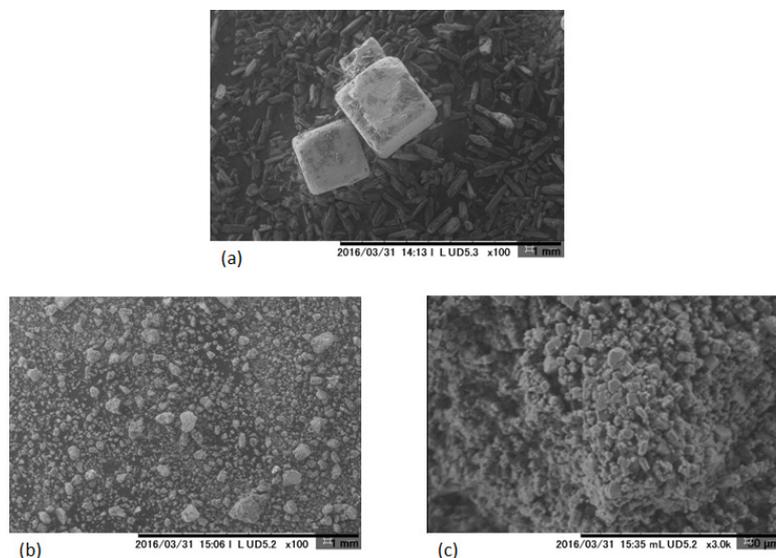


Fig. 6. SEM photographs of (a) Physical mixture of NaCl and IBP, (b) ball milled IBP acid with NaCl ($\times 100$), and (c) ball milled IBP acid with NaCl ($\times 3000$)

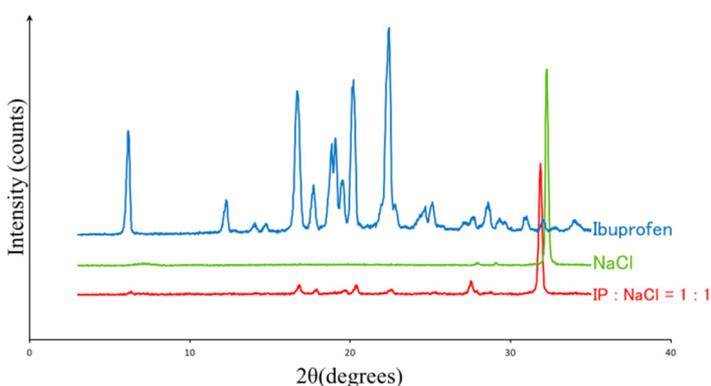


Fig. 7. Powder X-ray diffraction patterns of ground IBP with NaCl

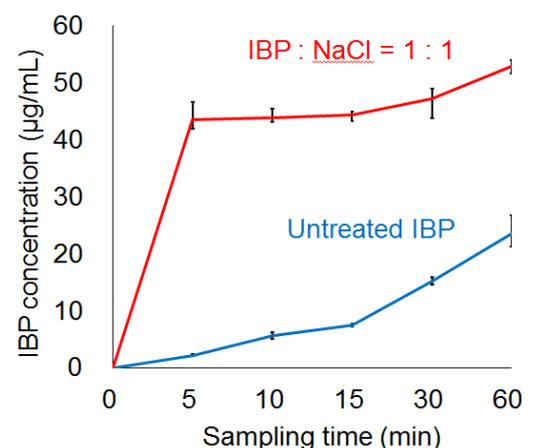


Fig. 8. Dissolution profile of IBP samples

5. 結 言

以上の知見より、塩化ナトリウムを添加して医薬品を微量で粉砕することが可能であった。その際に、塩化ナトリウムは多くの薬物に対してイナートであることから、嵩増し剤として利用でき、さらに凝集性の高い医薬品については凝集抑制効果があることも確認できた。

今後は湿式粉砕過程における有用性、強い苦味を持つ原薬に対する苦味マスキング効果についての評価を行う予定である。

引用文献

- 1) Daniela Fialova, Franciska Desplenter, Aging of the Population : Clinical Pharmacy Services, and Interdisciplinary Cooperation in the Optimization of Pharmacotherapy in Older Patients, Springer International Publishing Switzerland 2016
- 2) Satoru Watano, Mika Matsuo, Hideya Nakamura, Tsuyoshi Miyazaki : Improvement dissolution rate of poorly water-soluble drug by wet grinding with bio-compatible phospholipid polymer, Chemical Engineering Science 125 (2015) 25-31
- 3) Lissinda H. du Plessis, Katya Govender, Paolo Denti, Lubbe Wiesner : In vivo efficacy and bioavailability of lumefantrine: Evaluating the application of Pheroid technology, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 97 (2015) 68-77
- 4) Matthias Manne Knopp, Julia Hoang Nguyen, Christian Becker, Nadine Monika Francke, Erling B. Jørgensen, Per Holm, René Holm, Huiling Mu, Thomas Rades, Peter Langguth : Influence of polymer molecular weight on in vitro dissolution behavior and in vivo performance of celecoxib:PVP amorphous solid dispersions, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 101 (2016) 145-151
- 5) Andrew V. Ewing, Graham S. Clarke, Sergei G. Kazarian : Stability of indomethacin with relevance to the release from amorphous solid dispersions studied with ATR-FTIR spectroscopic imaging, European Journal of Pharmaceutical Sciences 60 (2014) 64-71
- 6) Justine Thiry, Guy Broze, Aude Pestieau, Andrew S. Tatton, France Baumans, Christian Damblon, Fabrice Krier, Brigitte Evard : Investigation of a suitable in vitro dissolution test for itraconazole-based solid dispersions, European Journal of Pharmaceutical Sciences 85 (2016) 94-105
- 7) K. Włodarski, W. Sawicki, A. Kozyra, L. Tajber : Physical stability of solid dispersions with respect to thermodynamic solubility of tadalafil in PVP-VA, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 96 (2015) 237-246
- 8) Mohammad Azad, Afolawemi Afolabi, Anagha Bhakay, Jonathan Leonardi, Rajesh Davé, Ecevit Bilgili : Enhanced physical stabilization of fenofibrate nanosuspensions via wet co-milling with a superdisintegrant and an adsorbing polymer, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 94 (2015) 372-385
- 9) Jinu Isaac, Swastika Ganguly, Animesh Ghosh : Co-milling of telmisartan with poly (vinyl alcohol) – An alkalizer free green approach to ensure its bioavailability, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 101 (2016) 43-52
- 10) Mohammad H. Shariare, Nicholas Blagden, Marcel de Matas, Frank J. J. Leusen, Peter York : Influence of Solvent on the Morphology and Subsequent Comminution of Ibuprofen Crystals by Air Jet Milling, Journal of Pharmaceutical Sciences 101 (2012) 1108-1119

Efficient Utilization Method of NaCl Aimed at Microparticulation of Minimal Amount of Poorly-Soluble Drug

Kazunori Kadota, Yuuichi Tozuka

Osaka University of Pharmaceutical Sciences

Summary

We studied the microparticulation of minimal amount of poorly-soluble drugs with NaCl. The development of drug is necessary for time and cost at initial development stage for drug. We considered efficient utilization of NaCl as a grinding aid. Mefenamic acid and ibuprofen were used for a model substance.

Mefenamic acid was ground with NaCl by planetary ball mill. By adding NaCl as a grinding aid, we could succeed in microparticulating drug at a little amount of mefenamic acid. Additionally, the addition of NaCl did not affect the crystal form of mefenamic acid, indicating NaCl acted as efficient grinding aid for inert property.

Ibuprofen was ground with NaCl as above. Dissolution of ibuprofen was evaluated. Ground ibuprofen with NaCl was rapidly dissolved compared to sole ground ibuprofen, indicating NaCl acted as inhibiting aggregation of drug.

Up to these findings, NaCl would be acted as a grinding aid and inhibiting aggregation of drug during grinding.