

氏名	ゆみのき か よ う 弓 樹 佳 曜
学位の種類	博士 (薬学)
学位記番号	薬博乙 第31号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者
学位授与の年月日	平成28年9月30日
学位論文題目	難水溶性化合物の新規ナノ粒子化技術の開発と 経口剤としての有用性に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 山下 伸 二 (副査) 教授 佐久間 信 至 (副査) 教授 橋本 直 文 (副査) 講師 片岡 誠

## 論文内容の要旨

近年、新薬候補化合物の多くが難水溶性を示し、難水溶性化合物の溶解性改善は医薬品開発において、非常に重要な課題である。著者は4章にわたり、溶解性および経口吸収性改善を目的とした難水溶性化合物の新規ナノ粒子化技術の開発およびナノ粒子化の有用性について検討した。

### 第1章 自転公転ミキサーを用いた難水溶性化合物のナノ粒子化技術の開発

難水溶性化合物のナノ粒子化技術は、これまで Elan 社の Nanocrystal<sup>®</sup>技術や SkyPharma 社の Insoluble Drug Delivery (IDD) 技術などが確立されている。しかしながら、これらのナノ粒子化技術の最終到達粒子径は約 400 nm 程度である。ナノ粒子の場合、数百 nm と数十 nm の粒子には大きな物理化学的な差があり、従来のナノ粒子化技術には依然として改善の余地がある。そこで、自転公転ミキサーを用いた難水溶性化合物の新規ナノ粒子化技術の開発を行った。当初の自転公転ミキサーでは自転：公転回転数比 (自転：公転比)が低く、化合物をナノ粒子化できなかった。自転公転ミキサーの粉碎理論を展開したところ、自転：公転比が 1.2 : 1.0 になるとき、最も高い衝突エネルギーが得られることが分かった。そこで、動力機能の限界を考慮した自転：公転比が 1 : 1 の自転公転ナノ粉碎機 (NP-100) を開発した。また、化合物のナノ粒子化に重要となる粉碎パラメータ (粉碎媒体である Zirconia beads の直径や添加量、公転回転数、粉碎時間、分散剤である Methylcellulose 水溶液の濃度や添加量)を最適化し、phenytoin 100 mg を粉碎したところ、D50、D90 値がそれぞれ 129 nm、272 nm を示す結晶性を維持した phenytoin ナノ粒子を調製できた。また、従来のナノ粒子化技術

では、ナノサイズ領域までの粉碎に長時間を要するのに対し、NP-100 は数百 mg の化合物を数分でより微細なナノ粒子にできるという利点を有している。また、NP-100 は粉碎条件、公転回転数、粉碎環境温度を制御することにより、fenofibrate や coenzyme Q<sub>10</sub> など低融点化合物も結晶性を維持したナノ粒子にできることが分かった。さらに、蠟状物質である beeswax は、液体窒素を用いてその硬度を高めることでナノ粒子化できた。液体窒素を用いた低温粉碎は、低分子化合物に限らず、ペプチド、タンパク質などにも適用できると考えられ、将来、biomaterial のナノ粒子化に寄与できるものと考えられる。

## 第 2 章 難水溶性化合物の経口吸収性改善に及ぼすナノ粒子の凝集の影響

化合物をナノ粒子化することにより、ナノ粒子は高い表面自由エネルギーを有するため、凝集する傾向にあり、ナノ粒子の凝集を防ぐため、湿式粉碎する際に分散剤である Polyvinyl alcohol (PVA) や Hydroxypropyl cellulose-SSL (HPC) などの水溶性高分子 (polymer) が添加されている。しかしながら、化合物ナノ粒子の分散性は polymer により大きく異なる。また、分散剤として一般的に使用されている PVA、HPC、Polyvinylpyrrolidone K30 (PVP) などの polymer では分散できない化合物が存在し、多くの化合物に適用できる polymer の開発が求められている。PVA-acrylic acid-methyl methacrylate copolymer (Povacoat<sup>®</sup>、大同化成工業株式会社) は医薬品のコーティング剤、結合剤、また固体分散体の基剤として使用されている polymer の一種である。Povacoat<sup>®</sup> は分子内に PVA、acrylic acid、methyl methacrylate とそれぞれ単体で分散剤として報告されている分子が含まれているため、化合物ナノ粒子に対する強い分散効果が期待できるが、これまで Povacoat<sup>®</sup> をナノ粒子の分散剤として使用した報告例はない。そこで、難水溶性を示す griseofulvin (GF) などの数種のモデル化合物を用い、Povacoat<sup>®</sup> が化合物ナノ粒子の分散剤として適用できる可能性について検討した。さらに、分散性の異なる化合物ナノ粒子を用い、溶解性や経口吸収性に及ぼすナノ粒子の凝集の影響について検討した。分散剤として使用されている HPC、PVA、PVP を用いて、GF を湿式粉碎したところ、いずれの場合においても D90 値は 10 μm 以上であり、分散性に優れた GF ナノ粒子を調製できなかった。一方、Povacoat<sup>®</sup> を分散剤として用いた場合、D90 値 220 nm を示す分散性に優れた GF ナノ粒子が得られた。Povacoat<sup>®</sup> の GF ナノ粒子に対する分散効果について考察したところ、Povacoat<sup>®</sup> 分子中の PVA 部分が GF ナノ粒子表面に吸着し、acrylic acid 部分が多くの水分子を引き付けることで、厚い水和層を形成し、GF ナノ粒子の凝集を立体障害していると推察された。さらに、分散性の異なる GF ナノ粒子懸濁液および GF ナノ粒子粉末を用い、GF の溶解性や経口吸収性を評価したところ、ナノ粒子の凝集が溶解性や経口吸収性を低下させることが明らかとなった。

### 第3章 難水溶性化合物のナノ粒子化による経口吸収性改善効果の要因解析

難水溶性化合物の場合、消化管内における溶解過程が化合物の吸収の律速となり、dissolution rate-limited absorption (溶解速度律速) および solubility limited absorption (溶解度律速) の2つの律速過程が知られている。化合物の吸収が溶解速度律速となる場合、マイクロ粒子粉末 (微粉末) やナノ粒子粉末などの化合物の微細化により、経口吸収性が改善できる。化合物の吸収が溶解度律速となる場合、化合物の溶解度の向上が認められない微粉末では、吸収改善効果は小さく、吸収量は頭打ちとなる。一方、Ostwald-Freundlich 式によると、粒子径が 100 nm 以下のナノ粒子粉末では溶解度の向上が期待でき、吸収量の頭打ちを改善できる可能性がある。しかしながら、粒子の細かさから、遠心分離やフィルターで完全にナノ粒子を除去できず、ナノ粒子化された化合物の溶解度を正確に評価することは困難であり、ナノ粒子化による化合物の溶解度向上効果には疑問が残されている。そこで、モデル化合物に griseofulvin (GF) を用い、半透膜に対する GF の膜透過速度を利用し、ナノ粒子化した GF の溶解度について検討した。また、GF の吸収の律速過程が溶解度となる条件下において、微粉末とナノ粒子粉末の吸収改善効果を比較し、ナノ粒子化による経口吸収性改善効果の可能性について検証した。GF 原末 (D90 値: 24  $\mu\text{m}$ ) を NP-100 で湿式粉碎後、凍結乾燥により、GF 微粉末 (D90 値: 5.5  $\mu\text{m}$ ) と GF ナノ粒子粉末 (D90 値: 207 nm) を調製した。GF 膜透過速度に及ぼす粒子径の影響を検討したところ、ナノ粒子粉末から溶出した GF の膜透過速度は微粉末に比べ、1.45 倍高い値を示し、この結果から、GF の粒子径を 100 nm~200 nm まで微細化することで、GF の溶解度が 1.45 倍向上することが示唆された。また、ラットを用いた GF の経口吸収性を評価したところ、ナノ粒子粉末は GF の吸収が溶解度律速となる 20 mg/kg の投与量においても、微粉末より 1.6 倍高い吸収性を示し、GF 膜透過速度の結果と相関するものであった。よって、難水溶性化合物のナノ粒子化は、化合物の溶解度を向上でき、吸収が溶解速度律速となる化合物のみならず、溶解度律速となる化合物の経口吸収性改善も可能であると考えられる。

### 第4章 自転公転ミキサーを用いた難水溶性化合物のナノ粒子化のスケールアップに関する検討

第1章から第3章では、NP-100 を用いた難水溶性化合物のナノ粒子化技術を確認し、ナノ粒子化の有用性を示した。しかしながら、NP-100 はラボスケールの機器であり、前臨床や臨床および製造段階でナノ粒子化した化合物を安定供給するためには、粉碎処理量のスケールアップが必要となる。そこで、粉碎過程における容器内の beads の運動機構、また、乾式粉碎における衝突エネルギー式を理論展開し、湿式粉碎の衝突エネルギー式を導いたところ、公転の半径

と回転数から算出される公転の相対遠心加速度（公転  $G$ ）および粉碎時の化合物濃度（懸濁液濃度）がスケールアップファクターとなることを見出した。また、公転  $G$  と粉碎時の懸濁液濃度を制御することにより、数百 mg から数 kg までの phenytoin をほぼ同じ粒度分布を示し、結晶性を維持したナノ粒子にでき、自転公転ミキサーを用いたナノ粒子化技術のスケールアップに成功した。従来のナノ粒子化技術と異なり、mg スケールから kg スケールまで同じ機構で粉碎することが可能であり、少量の化合物量で製造スケールの条件を検討できる。そのため、自転公転ミキサーを用いた難水溶性化合物のナノ粒子化技術は探索研究段階から製造段階まで幅広く適用でき、難水溶性化合物の製剤開発に有用であると考えられる。

以上、本研究の成果は、難水溶性化合物の経口吸収性改善に大きく寄与できるとともに、点眼、経皮、経肺、静脈内投与製剤など様々な投与経路に応用できると考えられる。さらに、自転公転ミキサーを用いたナノ粒子化技術は、医薬品開発のみならず、化粧品、健康食品などの開発に幅広く適用できると考えている。