

(第10回) 2014年度・研究助成報告

研究題名	難水溶性薬剤の無添加ナノサイズ化法の開発と、薬剤ナノ粒子の過飽和溶解機構の研究
研究期間	2014年4月1日～2015(2016)年3月31日
研究機関・所属 研究者名	東北大学・多元物質科学研究所 有田稔彦

1. 2014(2015)年度研究成果の概要

本研究では、従来まで薬剤の微粒子化において問題となってきた項目を一度にできる限り多く解決し、薬剤ナノ粒子の応用展開を加速することを目的として、人体に害のない二酸化炭素を溶媒として用い、二酸化炭素と薬剤以外に何の添加剤をも用いることなく、薬剤微粒子（できれば、ナノ粒子）を作製することを目指している。その一連の研究の中で、本助成により、今まで二酸化炭素を用いた方法では難しかった、結晶性の薬剤微粒子を得る方法を開発し、また、ナノサイズにまで微細化された薬剤の水への溶解挙動が微細化前の粒子とは異なる（過飽和溶解現象）事を見出した。今後は微粒化法をより大スケールで実施することで、微粒化薬剤を安定して作製できるようにし、試料を潤沢に確保することで、過飽和溶解現象の解明の研究も加速すべく、研究を続けてゆく。

2. 助成期間内での研究成果の概要

1. はじめに

薬剤、天然物には難水溶性の化合物が意外にも多く、医薬品に至っては全体の40%が難水溶性である。水溶性は体内への取り込み速度に影響するため、ナノサイズ化による比表面積の増大や非晶質化による溶解速度や見かけの溶解度を向上させることが求められており、盛んに研究されている。特に、アメリカFDA¹が、BCS²を施行してからは、BCS Waiver³の適用範囲になる、見かけの溶解速度を上昇させた薬品＝ナノサイズ化薬品を得る、ナノサイズ化技術が一層重要となり、研究開発の重要性がより増している。難水溶性医薬品のナノ粒子化は、超臨界法や粉碎法などによって検討されているが、医薬品を界面活性剤等の添加物で被覆することや、（助）溶剤の使用が服用者の健康に有害なことがある。そこで我々は、有害な添加物や溶剤を使用することなく難水溶性医薬品のナノサイズ化を行うことを目的に研究を行った。生体に無毒かつ、低温ながら高溶解力を持つ液体二酸化炭素を用い、薬剤の液体二酸化炭素溶液の急速拡散法を行った。その際、ノズル通過時に摩擦電気を発生させやすくし、静電反発力を利用して再凝集の抑制を試みた。

ナノサイズ化医薬品の評価は、粒子径・結晶子径・溶解度を測定することで行った。得られた医薬品粒子の粒子径および形状を電子顕微鏡で観察した結果、いずれも平均粒径 100nm 以下の球形粒子であった（図 1 参照）。粉末 X 線回折により、粒子の多くが非晶質化されていることが示唆された。この非晶質化されたナノサイズ化医薬品は、原末と比較して溶解速度が飛躍的に向上し、ほぼ瞬間的に飽和溶解度以上の濃度まで溶解している（約 10% 程度の過飽和溶解をする）ことが、超遠心法を用いた紫外可視吸収スペクトルより明らかとなった。ナノ粒子の状態で水中に分散している固体分散分の医薬品を含めると、例えば、ナプロキセンの場合飽和溶解度の 2 倍を超える濃度で分散できることもわかった。本手法により、ナプロキセン・テオフィリン・オメプラゾール・ニフェジピン・セサミン等の医薬品および栄養補助食品の非晶質ナノサイズ化に成功しており、幅広い医薬品への応用も期待できる。以上、難溶性医薬品の液体二酸化炭素溶液を、摩擦電荷を付加しつつ急速拡散させることで、非晶質かつナノサイズ化された医薬品粒子を添加剤無しで得ることができた。これにより、医薬品の生物学的利用能を大幅に上昇させようと考えている。

2. 研究の目標

本研究で目指したところを端的に述べると、これまで薬剤の微粒子化において問題となってきた項目を一度にできる限り多く解決し、薬剤ナノ粒子の応用展開を加速することである。ここでは、具体的に行った研究のうち良好に進捗した 2 項目について報告する。具体的には、人体に害のない二酸化炭素を溶媒として用い、二酸化炭素と薬剤以外に何の添加剤をも用いることなく、薬剤微粒子（できれば、ナノ粒子）を作製する技術開発と、単に薬剤を微粒化するのではなく、高結晶状態の薬剤微粒子を作製する技術開発とについてである。

3. 研究の方法と成果

3.1 難水溶性薬剤の無添加微細化法の開発

添加物や溶剤を使用することなく難水溶性有機物のナノサイズ化を行うため、ノズルに摩擦電気を発生しやすい樹脂やガラス等の誘電体材料を用いた。これにより、ノズル通過時に摩擦電気による静電反発力発生しやすくし、粒子の凝集を抑制した。また、薬剤にダメージを与えない低温と高溶解力とを併せ持つ液体二酸化炭素（室温、10~20MPa）を用い、薬剤の液体二酸化炭素溶液の急速拡散法を採用した。これにより、作製された sesamin 及び naproxen の走査型電子顕微鏡 (SEM) 像を図 1 に示す。いずれも平均粒径 100nm 以下の粒子が作製できた。得られた薬剤粒子の結晶子形を粉体 X 線回折により測定した結果、薬剤の種類によって変化するものの、数十 nm の微細結晶やアモルファス（非晶質）状態の粒子を得ている事がわかった（図 2 参照）。

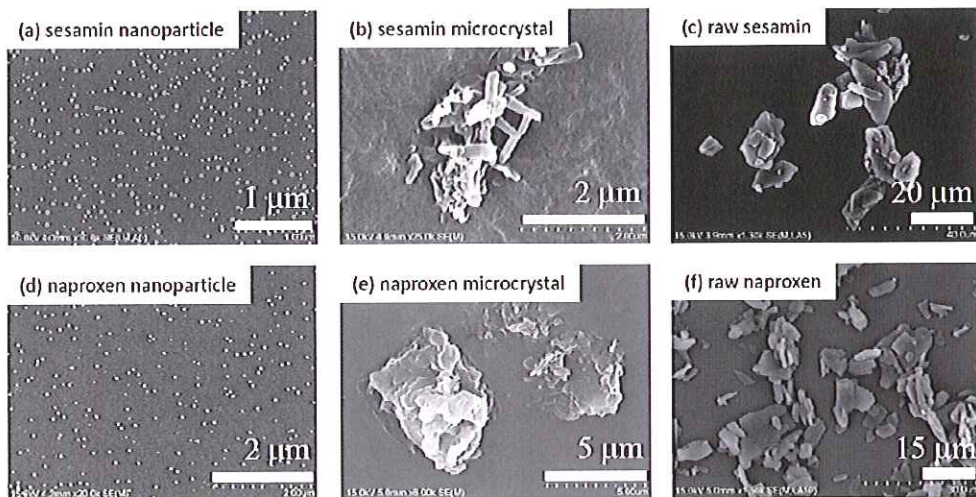


図1 本研究で作製された薬剤微粒子のSEM像

同一物質でも長期的安定性を重視する場合には、非晶質よりも結晶質である方が良い。そのため、結晶化度の高いナノ化薬剤を得る技術開発も行った。高硬度のセラミックボールを用いた粉碎式微粒回収装置を簡易的に作製し、結晶化度の高い薬剤微粒子が得られるかどうか確認したところ、図1に示すように、明らかにこれまでの球形（アモルファス）ナノ粒子とは違い、形のある sesamin および naproxen の微粒子を得ることが出来た。得られた微粒子の結晶子形を粉体X線回折により測定した結果、図2(b)に示すように、 $2\theta = 15$ 度近傍の大きなピークに関して、粉碎処理前後で半値幅に大差はなく、結晶子は破壊されずに、粒界から破壊され、微粒子化されている事が示唆された。（粉碎前の結晶子径が 210nm に対し、粉碎後も 170 nm にとどまった。）。

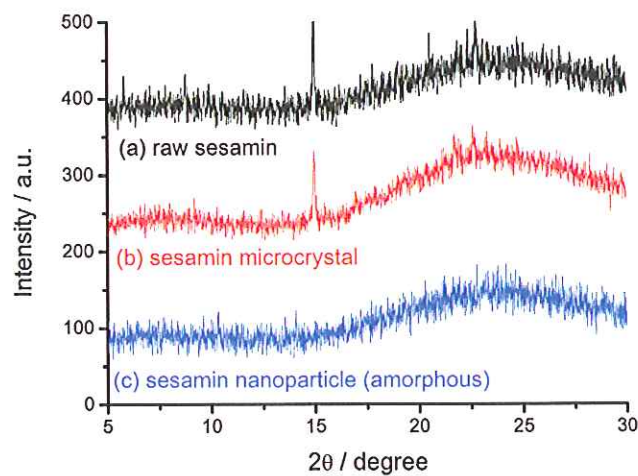


図2 sesamin 粒子のXRD回折パターン

以上のように、難水溶性薬剤の無添加微細化法として、非晶質でナノサイズの粒子を作る技術と、結晶質で数ミクロンサイズの微粒子を作る技術との2つの方法を開発した。

3.2 表面処理を施していない難水溶性薬剤微粒子の過飽和溶解現象

こうして得られたナノサイズ化薬剤は図3中の写真に示すように、良好な固体分散を示した（未処理の naproxen はすべて沈殿している）。粒子表面電位をゼータ電位により評価したところ、確かに摩擦電気による静電気が付与されているためか、ナノ粒子化 naproxen は、未処理のものがほぼ 0mV であるのに対し、-33mV という大きな値を示した。

また、得られたナノ粒子化薬剤の溶解特性を超速心法を用いた紫外可視吸収スペクトルより（遠心分離操作をかけることで、溶液内の気泡と固体分散性を除去し、溶解した分子の濃度を評価した。）調べたところ、原末と比較して溶解速度が飛躍的に向上し、ほぼ瞬間的に飽和溶解度以上の溶解を示す（約 10% 程度の過飽和溶解をする）ことが、明らかとなった（図3参照）。長時間にわたり過飽和溶解の安定性をモニターすることで、過飽和溶解の速度論的理解と、オストワルド熟成の関係について実験・考察を行った。その結果、粒子サイズにも依存するが、20°C で過飽和溶解が 6 日以上継続した（図4）。また、水に対する溶解度がより小さい sesamin の方が、過飽和溶解をより長時間にわたり保持する傾向が強いこともわかった。

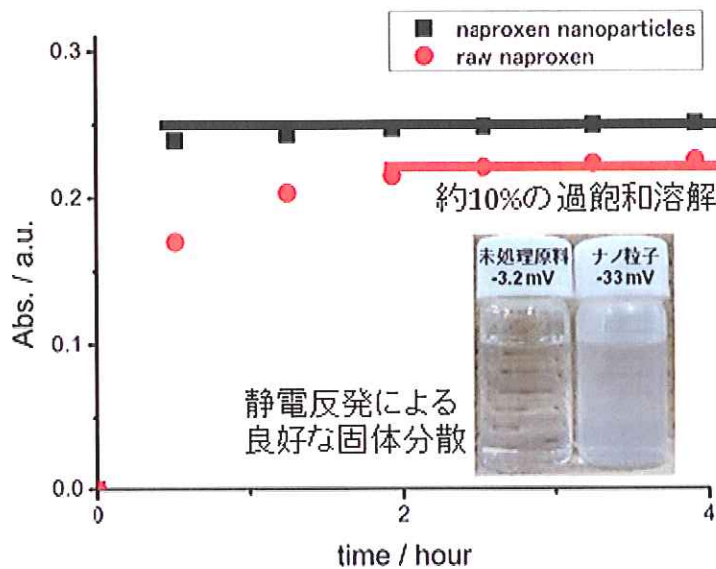


図3 naproxen 原料とナノ粒子の溶解度の経時変化、並びに分散状態写真

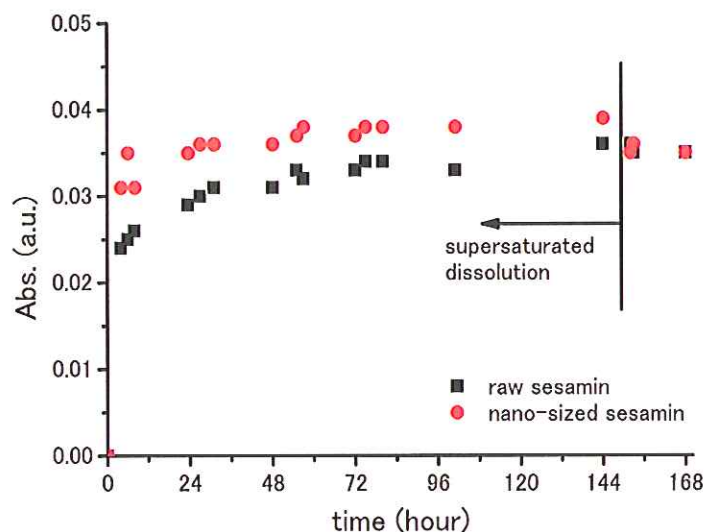


図4 微粒化 sesamin の過飽和溶解の安定性評価

4. まとめと今後の展望

人体に害のない二酸化炭素を溶媒として用い、二酸化炭素と薬剤以外に何の添加剤をも用いることなく、結晶性と非晶性の薬剤微粒子をそれぞれ作製する技術開発を行った。得られた表面処理を施していない微粒子の溶解挙動を観察することで、微粒化によって比表面積が大きくなった水溶性薬剤が過飽和溶解現象を示すことを見出した。

今後、結晶化度や粒径の制御技術の改良並びに普及に不可欠な量産化技術の開発、そして過飽和溶解現象等について研究を継続する。

参考文献、脚注：

1. アメリカ食品医薬品局、FDA; Food and Drug Administration、日本の厚労省にあたる
2. The Biopharmaceutics Classification System
3. in vivo 実験(生体)をパスし、in vitro 実験(試験管内)で製品化できる制度
4. T. Arita et al., J. Nanopart. Res. 14, ArtNo.1251 (2012)

3. 研究発表

【学会発表】

有田稔彦、真鍋法義、岸上美季、中原光一、難水溶性薬剤の無添加微細化法の開発と、微粒化による過飽和溶解の研究、粉体工学会 2016 年度春期研究発表会、2016 年 5 月、京都リサーチパーク