

平成 31 年 4 月 27 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18859

研究課題名(和文) 固体NMRによる分子状態評価に基づいた薬物非晶質/ナノ結晶ハイブリッド製剤開発

研究課題名(英文) Development of drug amorphous/nanocrystal hybrid formulation based on the molecular-level evaluation by solid-state NMR

研究代表者

植田 圭祐 (Ueda, Keisuke)

千葉大学・大学院薬学研究院・助教

研究者番号：40755972

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：難水溶性薬物及びポリマー、界面活性剤を混合粉砕することで薬物ナノ結晶が形成されることが示された。固体NMR緩和時間測定による物性評価により各ポリマー中に分散した薬物の分散サイズ及び分子状態をnmオーダーで明らかとすることが可能であることが示された。用いる添加剤により薬物ナノ粒子形成に最適な粉砕条件が異なり、過剰な薬物非晶質化は薬物ナノ粒子形成に不利に働くことが示された。固体NMRを用いたnmオーダーの分子状態評価により薬物ナノ粒子を効率的に形成する製剤設計が可能になることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子レベルでの物性評価に基づく製剤設計により、非晶質化及びナノ結晶化の利点を最大限に引き出した製剤開発が可能となり、これまでトライ&エラーであった薬物の非晶質化及びナノ結晶化を利用した超難水溶性薬物の特殊製剤設計に新たな指針を示すことが出来る。さらには、本新規製剤開発により、従来の固体分散体制剤及びナノ結晶製剤では十分な薬効が得られない超難水溶性薬物の経口吸収製剤開発の効率化が期待される。現在も技術革新によりNMRの感度は向上しており、将来本研究が指針となり、各種固体NMR応用測定を用いた製剤中の分子レベルでの物性評価に基づく製剤設計が可能となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The co-grinding of nifedipine (NIF) with polymers, including hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and polyvinylpyrrolidone (PVP), and sodium dodecyl sulfate (SDS) was performed to prepare the NIF nanoparticle formulations. Solid-state NMR measurements revealed that the crystal size of NIF was reduced to several tens of nm with amorphization of NIF by co-grinding with HPMC and SDS for 100 min. Similarly, the size of the NIF crystal was reduced to less than 90 nm in the 40-min ground mixture of NIF/PVP/SDS. Furthermore, 100-min grinding of NIF/PVP/SDS induced amorphization of almost all the NIF crystals followed by nano-sizing. Excess amorphization of the NIF crystals failed to efficiently prepare the NIF nanoparticles. In contrast, the efficient nano-sizing of the NIF crystal in the solid state, revealed by the solid-state NMR relaxation time measurements, enabled the formation of large amounts of NIF nanoparticles in water followed by the polymer dissolution.

研究分野：物理系薬学

キーワード：混合粉砕 非晶質 ナノ結晶 固体NMR 緩和時間測定 難水溶性薬物

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在開発されている新薬候補化合物の多くは難水溶性であり、特に原薬の溶解度が数 ng/mL 以下の超難水溶性薬物は消化管吸収量が低く、経口投与製剤としての開発が困難となっている。難水溶性薬物の経口吸収性改善を目的として、これまでも薬物の非晶質化やナノ結晶化が検討されている。薬物の非晶質化により薬物結晶と比較して数倍から数十倍の薬物濃度改善が達成されるが、過飽和溶液からの再結晶化により薬物濃度が短時間で低下する。一方、薬物ナノ結晶を利用した溶解性改善では薬物の分散性や消化管滞留性は向上するものの、ナノ結晶化による薬物溶解量改善は非晶質薬物と比較して少ない。申請者らはこれまでに薬物をポリマー及び界面活性剤と共に粉砕処理を行うことにより、特定の条件下において非晶質薬物及び薬物ナノ結晶が共存した製剤の調製に成功している。この薬物非晶質/ナノ結晶ハイブリッド製剤を水に分散すると、薬物を非晶質状態でポリマー中に分散させた固体分散体と比較し、高い薬物膜透過量を達成することが認められている。このように、薬物非晶質/ナノ結晶ハイブリッド製剤を用いることにより、非晶質薬物の高い溶解性及び、薬物ナノ結晶の共存による薬物過飽和維持能の相乗効果が期待される。しかし、薬物非晶質化/ナノ結晶ハイブリッド製剤の開発には薬物非晶質化及びナノ結晶化を同時に分子レベルで制御することが求められ、製剤中の薬物の分子状態を詳細まで明らかとすることが必要となる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、非晶質及びナノ結晶状態の薬物をポリマー中に共存させた薬物非晶質/ナノ結晶ハイブリッド製剤の開発である。固体 NMR を中心とした分子状態評価により、薬物の非晶質化及びナノ結晶化を分子レベルで制御し、従来の固体分散体及びナノ結晶製剤と比較し、より高い薬物消化管吸収性を達成する新規製剤を開発する。特に、製剤中の薬物の結晶性及び分散ドメインサイズと消化管吸収改善能の関係性を複数の難水溶性薬物について明らかとし、薬物物性を考慮した最適な製剤設計指針を得る。

3. 研究の方法

(1) 試料

難水溶性薬物として Nifedipine(NIF)、添加剤として hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)、polyvinylpyrrolidone (PVP)及び sodium dodecyl sulfate (SDS)を用いた。Figure 1 には各化合物の構造を示す。

(2) 三成分混合物の調製

NIF、ポリマー及び SDS を質量比 1:2:1 で混合し、物理的混合物(physical mixture: PM)を調製した。ポリマーには HPMC 及び PVP を用いた。PM を振動型ロッドミル(CMT TI-200, CMT Co., Ltd., Fukushima, Japan)を用い 50 Hz で 15 分、40 分、100 分粉砕し、混合粉砕物(ground mixture: GM)を調製した。各粉砕時間を GM の後の括弧内に表記する。

(3) 固体 NMR 測定

ECX-400 NMR system (9.4 T, JEOL Resonance Inc., Tokyo, Japan)及び 4-mm CP/MAS probe を用い固体 NMR 測定を行った。 ^{13}C 固体 NMR スペクトルは CP/MAS 法により 15 kHz 回転下において取得した。測定条件を以下に示す。relaxation delays, 4–60 s; CP contact time, 1 ms; ^1H 90° pulse, 2.95 μs . Hexamethylbenzene のメチルピークを 17.35 ppm としてケミカルシフト値の基準化を行った。

固体 NMR 緩和時間は 5 kHz MAS 回転下において inversion-recovery 法及び spin-lock 法により ^1H -laboratory frame spin-lattice 緩和時間(T_1)及び rotating frame spin-lattice 緩和時間($T_{1\rho}$)をそれぞれ測定した。多成分系の緩和時間測定には CP 法を組み合わせた ^{13}C 検出型のシークエンスを用いた(CP contact time = 1ms)。

(4) GM 懸濁液の粒子分画評価

PM 及び GM 20 mg を精製水 5mL 中に分散させ、25°Cにおいて 50 rpm で回転混和を行い、PM 及び GM 懸濁液を調製した。30 分混和後の各 GM 分散液の外観について評価を行った。また、UPA-UT 151 (Nikkiso Co., Ltd., Tokyo, Japan)を用いて動的光散乱法により GM 懸濁液の粒子径分布測定を行った。加えて、各懸濁液を 1,000、5,000 及び 100,000×g で 30 分間遠心分離し、上清中の NIF 濃度を HPLC を用いて定量した。

(5) HPLC

各試料をアセトニトリルで希釈後、Shodex® ODS column (5 μm , 150 mm × 4.6 mm)を用いて NIF の分離を行った。移動相はアセトニトリル:酢酸アンモニウム緩衝液(pH 6.8)=1:1 を用いた。UV 検出器を用いて 235 nm の吸光度から NIF 濃度を定量した。

4. 研究成果

(1) GM の物性評価

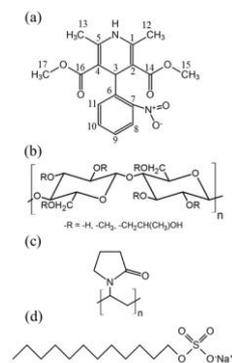


Figure 1. Chemical structures of (a) nifedipine (NIF), (b) hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), (c) polyvinylpyrrolidone (PVP), and (d) sodium dodecyl sulfate (SDS). Carbon numbering of NIF represents peak assignment in NMR spectra.

Figure 2には各試料の固体¹³C CP/MAS NMR スペクトルにおける低磁場側領域に観察される NIF ピークを拡大した図を示す。NIF 結晶に由来する NIF ピークのケミカルシフトは GM 試料においても同一のケミカルシフト位置に認められた一方、新たにブロードなピークが認められた。このブロードなピークは非晶質の NIF に由来するピークであり、特に NIF/PVP/SDS GM (100 min)において強く認められた。この結果より NIF 及び各ポリマーを混合粉碎することにより NIF の非晶質化が進行することが示された。一部の NIF 結晶が粉碎により非晶質化した一方で、NIF/HPMC/SDS GM 中では NIF 結晶が残存していることが示された。NIF/PVP/SDS GM (15 min)及び(40 min)では NIF 結晶ピークが明確に確認された一方で、NIF/PVP/SDS GM (100 min)においては NIF 結晶に由来するピークがほとんど認められず、大部分の NIF が非晶質化していることが示された。NMR スペクトルで認められた NIF 非晶質由来のピークの面積値から NIF/HPMC/SDS GM (100 min)及び NIF/PVP/SDS GM (40 min)中の非晶質 NIF 量を定量した結果、全体の NIF に対して非晶質化した NIF 量はそれぞれ約 42%及び 37%となった。これらの結果から、NIF/PVP/SDS の系において NIF/HPMC/SDS の系と比較して、より効率的に粉碎時の NIF 非晶質化が進行していることが示唆された。

Figure 3には各試料の固体¹³C CP/MAS NMR スペクトルの全体図を示す。混合粉碎により NIF/HPMC/SDS GM 及び NIF/PVP/SDS GM において、10-40 及び 70 ppm 付近に観察される SDS ピークのブロード化及びケミカルシフトの変化が認められた。SDS の結晶構造の部分的な構造変化により SDS の¹³C 周辺の電子環境が変化したことが示唆された。一方、未処理の試料及び GM 間において HPMC のピークにはほとんど変化が認められず、NIF 及び SDS との混合粉碎による HPMC の分子状態変化は小さいと考えられた。

一方、NIF/PVP/SDS GM においては、NIF 及び SDS との混合粉碎に伴い PVP のカルボニルに由来するピークの低磁場側へのシフトが認められた(Figure 4)。過去の報告において NIF 及び PVP の固体分散体中で、NIF が PVP のカルボニル基と相互作用を形成することが報告されている。これらの結果から NIF を PVP と混合粉碎することで NIF の非晶質化が進行し、NIF 及び PVP 間で分子間相互作用が形成されることが示唆された。一方、NIF/HPMC/SDS GM 及び NIF/PVP/SDS GM 間の比較において、混合粉碎に用いたポリマーに依存した NIF ピーク形状の違いが認められた一方、SDS に関してはポリマーの種類に依存したピーク形状の変化は認められなかった。これらの結果から、HPMC と比較して PVP はより効率的及び選択的に NIF の非晶質化に寄与することが示唆された。NIF 及び PVP 間においては強い分子間相互作用の形成が認められてことから、これら分子間相互作用により効果的に NIF 非晶質状態が安定化され、粉碎過程においてより効率的な NIF の非晶質化に結びついたと考察した。

Table 1には各 GM 及び単独試料における NIF、HPMC、PVP 及び SDS の¹H-T₁及び¹H-T_{1ρ}の値を示す。NMR 緩和時間は分子の運動性を反映し、化学構造や構造剛性の違いによってもその値は変化する。HPMC 及び PVP は NIF と比較して¹H-T₁が小さい。これは HPMC や PVP が有する構造の柔軟性に起因した高い運動性を反映しているためと考えられる。一方、結晶状態にある NIF は比較的構造が剛直であるため運動性が低く、大きな¹H-T₁を示す。GM における NIF の¹H-T₁を比較すると HPMC との混合により NIF の¹H-T₁の値が顕著に減少していることが認められる。NIF/HPMC/SDS GM (15 min)及び NIF/HPMC/SDS GM (40 min)において、大部分の NIF が結晶状態を維持していた一方で、NIF の¹H-T₁の値は混合粉碎により減少していることが示された。これらの結果から、ポリマー及び界面活性剤との粉碎により NIF 結晶の構造の柔軟性が向上し、NIF 分子運動性が上昇したと考察した。固体試料においては、spin-spin 緩和時間(T₂)が spin-lattice 緩和時間と比較して短いため、隣接する核間で“flip-flop”によるエネルギーの消失を介さないスピンエネルギーの伝播、いわゆる spin 拡散が起こることが知られてい

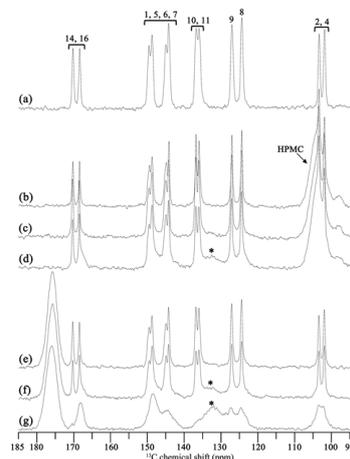


Figure 2. ¹³C CP/MAS NMR spectra of (a) intact NIF, (b and c) GM (15 min), (d and e) GM (40 min), and (d and e) GM (100 min) of (b-d) NIF/HPMC/SDS and (e-g) NIF/PVP/SDS systems. The characteristic peaks of amorphous NIF are denoted by asterisks.

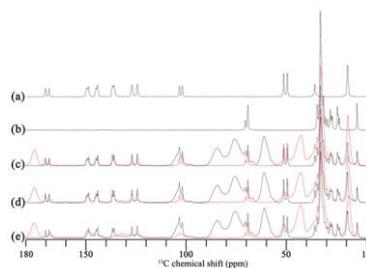


Figure 3. ¹³C CP/MAS NMR spectra of (a) intact NIF, (b) intact SDS, (c) GM (15 min), (d) GM (40 min), and (e) GM (100 min) of (black) NIF/HPMC/SDS and (red) NIF/PVP/SDS systems. The spectra of GM were normalized to the SDS peak at around 15 ppm.

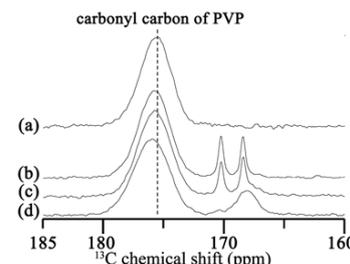


Figure 4. ¹³C CP/MAS NMR spectra of (a) intact PVP, (b) GM (15 min), (c) GM (40 min), and (d) GM (100 min) of NIF/PVP/SDS system. Dotted line represents chemical shift of carbonyl carbon of intact PVP.

Table 1. Proton laboratory frame spin-lattice relaxation time (¹H-T₁) and ¹H-rotating frame spin-lattice relaxation time (¹H-T_{1ρ}) of NIF, HPMC, PVP, and SDS in each intact and GM at 20°C and spinning rate of 5 kHz. ¹H-T₁ and ¹H-T_{1ρ} are presented as averaged values (± 10%).

	¹ H-T ₁ (s)				¹ H-T _{1ρ} (ms)			
	NIF	HPMC	PVP	SDS	NIF	HPMC	PVP	SDS
intact NIF	25.7 ^a	-	-	-	519.6 ^a	-	-	-
intact SDS	-	-	-	1.3	-	-	-	104.9
intact HPMC	-	1.5	-	-	-	8.8	-	-
intact PVP	-	-	2.4	-	-	-	10.3	-
NIF/HPMC/SDS system	GM (15 min)	3.3 ^a	1.5	-	1.6	160.3 ^a	7.8	49.3
	GM (40 min)	2.2 ^a	1.5	-	1.7	118.9 ^a	8.2	42.5
	GM (100 min)	1.8 ^a	-	-	1.7	75.8 ^a	8.1	38.5
		1.7 ^a	1.7	-	1.7	9.4 ^a	-	-
NIF/PVP/SDS system	GM (15 min)	2.8 ^a	-	2.2	1.8	117.0 ^a	-	10.0
	GM (40 min)	2.3 ^a	-	2.2	1.9	64.8 ^a	-	10.6
		2.2 ^a	-	2.2	1.8	10.9 ^a	-	37.2
	GM (100 min)	2.2 ^a	-	2.3	2.4	11.6 ^a	-	11.3

^a ¹H-T₁ and ¹H-T_{1ρ} value of crystalline NIF

^b ¹H-T₁ and ¹H-T_{1ρ} value of amorphous NIF

る。スピン拡散はプロトン同士の双極子相互作用を介して起こるが、HPMCのような比較的速く緩和する物質は効果的なスピン緩和シンクとして働くことが知られている。NIFをHPMCを混合粉碎することにより、NIF及びHPMC間で双極子双極子相互作用が形成され、スピン拡散によりGM中におけるNIFの $^1\text{H-T}_1$ 値が減少したと推察された。また、粉碎時間の延長によりNIF結晶の $^1\text{H-T}_1$ が更に減少することが認められた。異なる成分が十分に混和した固体試料において、効果的なスピン拡散により異なる成分のプロトンの spin-lattice 緩和時間がスピン拡散の効果により近い値をとることが報告されている。また、緩和時間に与えるスピン拡散の影響は、スピン拡散が起こりうる異なる成分間の混和性に依存する。HPMCとの混合粉碎によるNIF結晶サイズ減少により、NIF結晶とHPMCの混和性が向上し、最終的にはNIF/HPMC/SDS GM (100 min)においてNIF結晶及びHPMCの $^1\text{H-T}_1$ が同一の値を示した。過去の報告においても、ポリマーブレンドや固体分散体において異なる二成分の緩和時間が混合により一致することが報告されている。このような緩和時間の一致は異なる成分間の混和性の指標となり、異なる成分の緩和時間が同一の値となったとき、スピン拡散が起こる有効ドメインサイズは以下の式1で定義される。

$$L = (6Dt)^{1/2} \quad (1)$$

Lは時間tの間にスピン拡散が起こる距離を、Dはスピン拡散係数を示す。スピン拡散の有効範囲の計算において、tは $^1\text{H-T}_1$ 及び $^1\text{H-T}_{1\rho}$ の値が用いられる。ガラス転移温度以下において一般的なポリマーのDの値は $6 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$ 程度の値であることが知られており、上記の式よりNIF/HPMC/SDS GM (100 min)において結晶及び非晶質NIFは80 nm以下のドメインサイズでHPMCと混和していることが示される。NIF結晶が粉碎によりナノサイズ化し、HPMC中に分散することで、NIF結晶及びHPMCの混和性が向上したと考察した。NIF/HPMC/SDS GM (100 min)のNIF結晶の $^1\text{H-T}_1$ がHPMCと一致した一方で、NIF結晶の $^1\text{H-T}_{1\rho}$ の値はHPMCの値と比較して顕著に大きい値を示した。HPMCの $^1\text{H-T}_{1\rho}$ 及び式1からNIF結晶はNIF/HPMC/SDS GM (100 min)においてHPMCと5 nm以内のドメインサイズでは混和していないことが示された。これらの結果からNIF/HPMC/SDS GM (100 min)において、大部分のNIF結晶は数十nmのサイズでHPMC中に分散していることが示唆された。一方、NIF/HPMC/SDS GM (100 min)において非晶質NIFの $^1\text{H-T}_{1\rho}$ の値はHPMCと同等の値となり、非晶質NIF及びHPMCが5 nm以下のドメインサイズで混和していることが示された。これらの結果より、HPMCとの混合粉碎によりNIFは一部HPMCと固体分散体と形成し、一部はナノサイズ化した結晶としてHPMC中に分散していることが固体NMR緩和時間測定の結果から示された。

NIF/HPMC/SDSの系と同様にPVP及びSDSとの粉碎によっても、NIF結晶の $^1\text{H-T}_1$ 値が減少することが認められた。またNIF/PVP/SDS GM (40 min)において、NIF結晶及びNIF非晶質の $^1\text{H-T}_1$ の値がPVPと同等の値となることが認められた。式1よりNIF/PVP/SDS GM (40 min)においてNIF及びPVPが90 nm以下のドメインサイズで混和していることが示唆された。加えて、NIF結晶の $^1\text{H-T}_{1\rho}$ はNIF/PVP/SDS GM (40 min)において、NIF/HPMC/SDS GM (100 min)と同様の値となることが認められた。これらの結果から、PVPと40分間粉碎を行った試料及びHPMCと100分間粉碎を行った試料においてNIF結晶の各ポリマーによる spin-lattice 緩和時間の平均化効果が同一であることが示された。NIF/PVP/SDS GM (40 min)及びNIF/HPMC/SDS GM (100 min)中ではNIF結晶は数十nmのサイズでそれぞれのポリマーに分散していることが示唆された。加えて、NIF/PVP/SDS GM (40 min)において非晶質NIFの $^1\text{H-T}_{1\rho}$ の値がPVPと同様の値である約11 msを示し、非晶質NIF及びPVPが約6 nm以下のドメインサイズで混和していることが示唆された。これらの結果から、NIF/PVP/SDS GM (40 min)中においてナノサイズのNIF結晶及び非晶質NIFがPVP中に分散していることが示された。NIF/PVP/SDS GM (100 min)においては更なる粉碎により大部分のNIFが非晶質化したことが示され、PVPはHPMCと比較してより効率的にNIF結晶サイズを減少させ、NIFを非晶質化することが示唆された。

(2)GM懸濁液の物性評価

Figure 5には水分散30分後の各GM懸濁液の外観を示す。すべての溶液においてNIFに由来する黄色い着色が認められた一方、各懸濁液の濁度に違いが認められた。NIF/HPMC/SDS GM (100 min)、NIF/PVP/SDS GM (40 min)及びNIF/PVP/SDS GM (100 min)懸濁液は他のGM懸濁液と比較して、わずかに青白い分散液が得られた。各懸濁液について動的光散乱法による粒子径分布測定を行った結果をFigure 6に示す。各ポリマー及びSDSとNIF結晶を混合することによりNIFナノ粒子の形成が認められた。しかし、幅広いサイズ分布を有するナノ粒子懸濁液の動的光散乱による評価においては、比較的小さな粒子が過小評価されてしまう。そのため各GM懸濁液中におけるNIFナノ粒子分画をより定量的に評価する目的で遠心分離を利用したナノ粒子の分画定量を行った。

Figure 7には各種懸濁液を異なる遠心力で遠心分離後、上清に残ったNIF濃度を定量した結果を示す。PM懸濁液においては上清中のNIF濃度が遠心力に依存せずほぼ同等の値を示した。この結果より大部分のNIFがPM懸濁液においてマイクロメートルオーダーの粒子として分散していることが示された。一方、GM懸濁液については遠心処理後のNIF濃度が遠心力に依存し

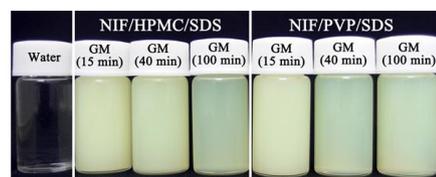


Figure 5. Appearance of GM dispersions in water after rotation mixing at 25°C.

て大きく変化した。NIF/HPMC/SDS GM (100 min)及びNIF/PVP/SDS GM (40 min)懸濁液について1,000及び5,000×gで遠心処理後、上清について粒度分布測定を行った結果をFigure 8に示す。1,000及び5,000×gで遠心処理後の粒度分布測定から得られた平均粒子径はそれぞれ150 nm及び80 nmを示した。これらの結果から1,000×gでの遠心処理後のGM懸濁液は溶解したNIF及び百数十nm以下のナノ粒子を含んでおり、5,000×gで遠心処理後のGM懸濁液は溶解したNIF及び数十nm以下のナノ粒子を含んでいることが示唆された。

NIF/HPMC/SDSの系において1,000及び5,000×gでの遠心処理後のNIF濃度が粉碎時間の塩量に伴い増加していることから、粉碎により水分散時のNIFのナノ結晶形成量が増加することが認められた。特にNIF/HPMC/SDS GM (100 min)懸濁液においては1,000及び5,000×gで遠心処理後のNIF濃度が顕著に増加し、それぞれ835及び297 µg/mLとなった。HPMC及びSDSと共にNIF結晶を混合粉碎することにより、水分散時のNIFナノ結晶形成量が顕著に増加することが示された。

また、NIF/PVP/SDSの系においても、GM懸濁液において1,000及び5,000×g遠心処理後の薬物濃度が顕著に増加していることが認められました。PVPを用いた系ではHPMCの系とは異なり15分のみでの粉碎でも1,000及び5,000×g遠心

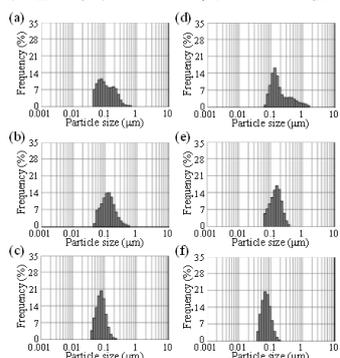


Figure 8. Particle size distribution of (a-c) NIF/HPMC/SDS GM (100 min) dispersions and (d-f) NIF/PVP/SDS GM (40 min) dispersions after rotation mixing at 25° C. Centrifugation was conducted at (b, e) 1,000 and (c, f) 5,000×g for 30 min before particle size distribution measurements.

処理後のNIF濃度がそれぞれ398及び108 µg/mLまで増加しました。さらに、NIF/PVP/SDS GM (40 min)懸濁液を5,000×gで遠心処理後のNIF濃度は252.7 µg/mLを示し、数十nmのNIFナノ結晶がPVPとの粉碎により効果的に形成されていることが示された。しかし、NIF/PVP/SDS GM (100 min)においては5,000×gで遠心処理後のNIF濃度が63.5 µg/mLへと減少し、更なる粉碎により、NIFナノ粒子の形成量が減少することが示された。NIF/PVP/SDSの系におけるNIFナノ粒子の形成には、100分の粉碎時間と比較して40分の粉碎時間がより最適な条件であることが示された。これらの結果から、NIFナノ粒子を効果的に形成する粉碎条件は用いるポリマー種によって大きく変化することが示唆された。

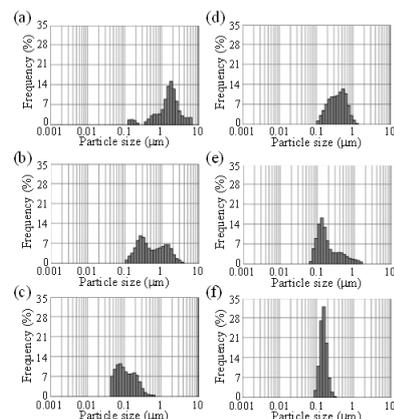


Figure 6. Particle size distribution of (a) GM (15 min), (b) GM (40 min), and (c) GM (100 min) dispersions of NIF/HPMC/SDS system, (d) GM (15 min), (e) GM (40 min), and (f) GM (100 min) dispersions of NIF/PVP/SDS system in water after rotation mixing at 25° C.

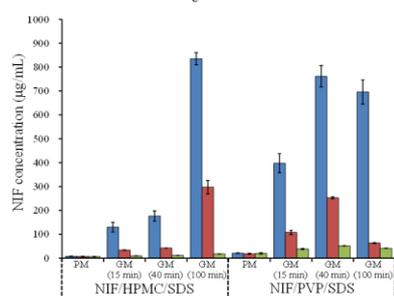


Figure 7. NIF concentration in PM and GM dispersions centrifuged at (blue) 1,000, (red) 5,000, and (green) 100,000×g followed by rotation mixing at 25° C. (n = 3, mean ± SD). The dose concentration of NIF was 1,000 µg/mL.

(3) 固体分子状態が水分散時の薬物ナノ粒子形成能に及ぼす影響の考察

本研究結果より、NIF結晶をポリマー及びSDSと混合粉碎することにより、NIFナノ結晶が形成されることが示された。Figure 9には水分散時のナノ粒子形成挙動について固体状態との関係の模式的を示す。本研究より、数十nmのNIFナノ結晶を効率的に形成するには用いる添加剤に依存した最適な粉碎時間の設定が必要であることが示された。水分散時のNIFナノ粒子形成には固体状態におけるNIF結晶の微細化及び、一度水溶液中に過飽和溶解したNIFの結晶化が寄与していると考えられる。以前の報告において、ポリマー中において完全に非晶質化した薬物は水分散時、一度完全に溶解し過飽和溶液を形成することが報告されている。加えて、非晶質薬物が完全に溶解した過飽和溶液からはマイクロメートルオーダーサイズの薬物結晶が析出することが認められており、薬物ナノ結晶がほとんど形成されないことが認められている。各GMについて¹³C CP/MAS NMR測定を行った結果NIF/PVP/SDSの系においては100分粉碎物において大部分のNIF結晶が非晶質化したことが示された。NIF/PVP/SDSの長時間の粉碎は過剰なNIF非晶質に結びつき、水分散時のNIFナノ粒子形成に不利に働くことが認められた。これらの結果から、NIFの非晶質化もGM懸濁液におけるNIFナノ粒子の形成に不利に働くことが示された。

固体NMR緩和時間測定により各ポリマー中に分散したNIF結晶のサイズを推定することが可能であることが示され、NIF/HPMC/SDS GM (100 min)及びNIF/PVP/SDS GM (40 min)においてNIF結晶はHPMC及びPVP中に80-90 nm以下のドメインサイズで均一に分散していることが認められた。これらGM試料の水分散試験より、過剰なNIF非晶質化を伴わないNIFのナノサ

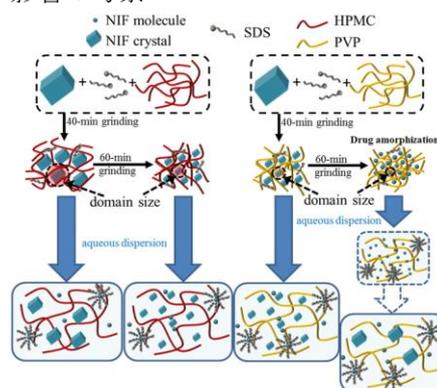


Figure 9. Schematic illustration of effect of grinding process on aqueous dispersion properties of NIF.

イゾ化は水分散時の NIF ナノ粒子形成に有利に働くことが示された。また、HPMC と比較して PVP はより効果的に NIF 結晶を微細化することが示された。HPMC を用いた NIF 結晶の数十 nm までの微細化には PVP と比較してより長い粉碎時間が必要であることが認められた。これらの結果より、固体 NMR 技術を用いた粉碎過程における薬物分散状態の分子状態評価は薬物ナノ粒子を効果的に調製する最適な製剤設計条件の決定に寄与することが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 3 件)

- ① K. Ueda, K. Higashi, K. Moribe, Mechanistic elucidation of formation of drug-rich amorphous nanodroplets by dissolution of the solid dispersion formulation, *Int. J. Pharm.* 査読有, 561 (2019) 82-92.
DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.02.034.
- ② K. Ueda, T. Iwai, Y. Sunazuka, Z. Chen, N. Kato, K. Higashi, K. Moribe, Effect of molecular weight of hypromellose on mucin diffusion and oral absorption behavior of fenofibrate nanocrystal, *Int. J. Pharm.* 査読有, 564 (2019) 39-47.
DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.04.033.
- ③ K. Ueda, K. Higashi, K. Moribe, Application of solid-state NMR relaxometry for characterization and formulation optimization of grinding-induced drug nanoparticle, *Mol. Pharm.* 査読有, 13 (2016) 852-862.
DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00781.

〔学会発表〕 (計 8 件)

- ① 植田 圭祐：難水溶性薬物の経口吸収改善を目的とした薬物濃縮相形成型固体分散体制剤の設計, 日本薬剤学会経口吸収フォーカスグループ 第 8 回合宿討論会, 小樽 (2018)
- ② 植田 圭祐, 山添 千里, 東 颯二郎, 川上 亘作, 森部 久仁一: Hypromellose/Eudragit® S 100 含有 3 成分固体分散体を用いた nifedipine 溶出改善及びそのメカニズム解明, 第 33 年会日本薬剤学会, 静岡 (2018)
- ③ 植田 圭祐：難溶解性薬物の吸収改善の現状と分子レベルでの考察, 創剤研究コンソーシアム 2016 年度第 1 回研究会, 東京 (2016)
- ④ Ueda, K., Higashi, K., Moribe, K.: Characterization and formulation optimization of grinding-induced drug nanoparticle using solid-state NMR relaxometry, 2016 AAPS Annual Meeting and Exposition, Denver, Colorado, USA (2016)
- ⑤ 植田 圭祐, 東 颯二郎, 森部 久仁一：固体 NMR による混合粉碎過程における薬物ナノ結晶及び非晶質形成評価, 第 33 回製剤と粒子設計シンポジウム, 長野 (2016)
- ⑥ Ueda, K.: Drug supersaturation to improve oral absorption of poorly water-soluble drugs, The 1st Workshop for Japan-Korea Young Scientists on Pharmaceuticals, Kyoto, Japan (2016)
- ⑦ 植田 圭祐, 東 颯二郎, 森部 久仁一：固体 NMR による混合粉碎物中の薬物ナノ結晶サイズ評価, 日本薬剤学会第 31 年会, 岐阜 (2016)
- ⑧ Ueda, K., Higashi, K., Moribe, K.: Mechanistic study of drug crystallization inhibition by HPMC-AS using solution-state NMR measurements, 51st AAPS Arden Conference: Contemporary Perspectives on Developing Amorphous Pharmaceuticals, Baltimore, MD, USA (2016)

〔図書〕 (計 2 件)

- ① 植田 圭祐他、シーエムシー出版、難水溶性薬物の経口製剤化技術最前線(固体分散体の過飽和溶解)、2016、250
- ② 植田 圭祐他、じほう、日本薬剤学会 前臨床開発フォーカスグループ・経口吸収フォーカスグループ、最新の薬剤学知見と世界の開発状況をふまえた前臨床・臨床薬品開発の展望と戦略、2018、208

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.p.chiba-u.jp/lab/seizai/index.html>

6. 研究組織

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：森部 久仁一、東 颯二郎

ローマ字氏名：Kunikazu Moribe, Kenjirou Higashi

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。