

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 11 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24655113

研究課題名(和文) 添加物を用いない高分散性薬剤ナノ粒子作製法の開発と粒子の応用展開

研究課題名(英文) Development of effective nano-sizing method for dispersible additive-free poorly-water-soluble drugs and its application

研究代表者

有田 稔彦 (ARITA, TOSHIHIKO)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号：50423033

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、無添加でナノサイズ化することで、難水溶性薬剤が抱える多くの課題(溶解速度の向上、添加物の減少、粒子の凝集抑制、固体分散性の向上)の解決を目指した。食品に利用可能な炭酸ガスを溶媒として、人体に対して悪影響がある界面活性剤等を用いることなく、摩擦による静電気を利用して分散性の高い難水溶性薬剤のナノ粒子化(<100 nm)を可能にした。その結果、先にあげた課題を克服しただけでなく、薬剤の飽和溶解度が向上する(10%程度の過飽和溶解を起こす)事も見出した。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to solve most of problems of poorly-water-soluble drugs (acceleration of dissolution, reduction of additives, suppression of aggregation and improvement of solid dispersion) by additive-free nano-sizing. By using esculent carbon dioxide as the solvent and applying triboelectric charge as the dispersion force, additive-free nano-sizing (less than 100nm diameter) of poorly-water soluble drugs was achieved. As the result, above mentioned problems have been solved, in addition, supersaturated dissolution (10% excess dissolution to the saturated concentration) of the nano-sized drugs has been found.

研究分野：高分子物理化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：ナノ医薬品材料 超微粒子 有機ナノ結晶 コロイド 結晶成長 過飽和溶解 固体分散

1. 研究開始当初の背景

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、ナノ粒子化により比表面積を増加させ、溶解速度を向上させることが求められている。実際、米国では食品医薬品局 (FDA; Food and Drug Administration) の医薬品評価研究センター (CDER; Center for Drug Evaluation and Research) が、The Biopharmaceutics Classification System (BCS) を設定し、その中で、難水溶性薬剤でも、特定の条件 (見かけの溶解速度の上昇) を満たせば、in vivo 試験をパスして、in vitro 試験のみで医薬品として販売可能にするバイオウェバー (Bio Wavier) を2000年8月に設定して以来、薬剤のナノサイズ化法の研究開発がより活発になった。

従来用いられてきたナノ粒子化法 (粉碎法や貧溶媒化による再沈法等) により、100~200 nm 程度の直径を持つ薬剤微粒子の製造までは成功例が多数あるが、ナノ粒子の定義通りの100 nm以下のナノ粒子製造の報告例は極めて少なく、また、薬剤の種類を選ぶことなくナノ粒子化する技術は確立されていない。更に、医薬品や健康食品など、人体に投与する製品には、基本的に人体に影響を及ぼす溶媒や界面活性剤を使用しない製法が必須である。微量であると差し支えないとの考え方もあるが、特に食品としての利用を考える場合、微量でも添加物は官能評価 (味や香味) に影響を与えるため、利用しないに越したことはない。

我々は、有機表面修飾無機ナノ粒子の合成、精製、分散の研究を通じ、ナノ粒子の各種媒体への分散法を熟知しており、その知識を駆使、発展させることで、添加物フリーで且つ高分散性を有する薬剤ナノ粒子を大量に作製する技術開発ができると思った。

2. 研究の目的

端的に述べると、本研究では、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を目的とする。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、薬剤ナノ粒子 (ナノ粒子の定義通り直径100nmを切るもの) を作製することを目指す。

また、単にナノサイズの薬剤粒子を作製するだけでなく、結晶状態の異なる薬剤ナノ粒子を作り分けすることと、粒子サイズ、形状以外の各種物性を測定するため、ナノ粒子の中規模 (数十 mg 単位) 生産を可能にすることも研究期間内の達成を目指す。

3. 研究の方法

(1) 難水溶性薬剤のナノ粒子化の達成

図1に示す概念図に従って、ナノ粒子製造

装置を作製し、安定的に無添加物含有かつ高分散性薬剤ナノ粒子作製に取り掛かる。出来るだけ多くの難水溶性ジェネリック薬品や、特定保健用食品 (特保) に含まれる天然物のナノ粒子化に取り組む。作製した薬剤ナノ粒子は、電子顕微鏡観察により、形状評価を行う。形状評価結果をナノ粒子作製法にフィードバックしながら、薬剤ナノ粒子作製技術を確認する。

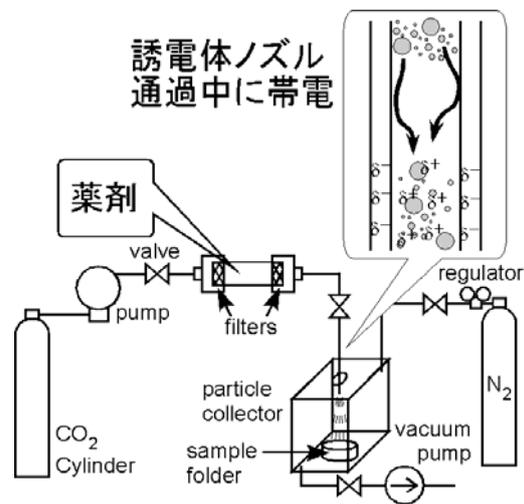


図1 誘電体ロングノズルを用いたナノ粒子化装置概念図

(2) プロセス最適化による中規模生産化と各種物性を測定 (薬効調査)

図1に示す粒子製造装置による難水溶性薬剤のナノ粒子化を早期に達成した後は、粒子サイズ、形状以外の各種物性 (結晶子径と結晶子形、溶解速度、固体分散性等) を測定するため、ナノ粒子の中規模 (数十 mg 単位) 生産を装置の大規模化と粒子の捕集効率の向上の両方の観点から検討する。

作製した薬剤ナノ粒子が、すぐれていることを物理的に評価することは、申請者を中心とした化学系の研究者にも調べることができるが、作製した薬剤ナノ粒子の薬効が実際に優れているか、生体内での代謝等を調べることは難しい。よって、薬効調査に関しては、測定に必要な薬剤ナノ粒子量が確保でき次第、外注による調査を検討する。

(3) ナノ粒子の形状および結晶形制御法の開発

結晶状態の物質と非晶状態の物質では、同一物質でも物理的性質が異なる。薬剤ナノ粒子の場合も例外でなく、結晶化度は薬品としての安定性と、溶解速度に大きな影響を及ぼす。本研究では、単にナノサイズの薬剤粒子を作製するだけでなく、結晶状態の異なる薬剤ナノ粒子を作り分けすることも目指す。

ナノ粒子を回収するチャンバー内の環境を制御 (チャンバー内の圧力、気体の種類、衝撃波や流れの操作等) し、結晶成長を操る

こと等による結晶状態の作り分けを試みる。
 ナノ粒子化した薬剤（アモルファス状）は、未処理の薬剤よりも速い水への溶解速度を示すが、結晶状態を制御できれば、これらの中間の溶解速度を示す薬剤ナノ粒子も作製可能である。腸管から薬剤が体内に最大効率で吸収されるのに最適な溶解速度が存在するはずで、いち早く結晶型制御を達成していれば、そのような需要が出てきた時に（次の節で述べる）即時対応が可能となる。そのため、有機結晶の制御という科学的興味だけでなく、実用化も見据えて重要な本研究項目はじっくりと時間をかけて行う。

4. 研究成果

(1) 難水溶性薬剤のナノ粒子化の達成

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、図1概念図に従いナノ粒子作製装置を組み上げた。粒子の凝集抑制のために、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なった。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行った。これにより、作製された naproxen 及び sesamin の走査型電子顕微鏡（SEM）像を図2に示す。いずれも平均粒径 100nm 以下の粒子が作製できた。図2に示した2種の他にも β -carotene、ibuprofen、aspirin、indometacin、salicylamide、piroxicam、omeprazol、theophylline、nifedipine の9種の薬剤についてもナノ粒子化に成功している事を、SEMにて確認した。利用している原理が単純であるため、更に幅広い薬剤への応用も期待できる。

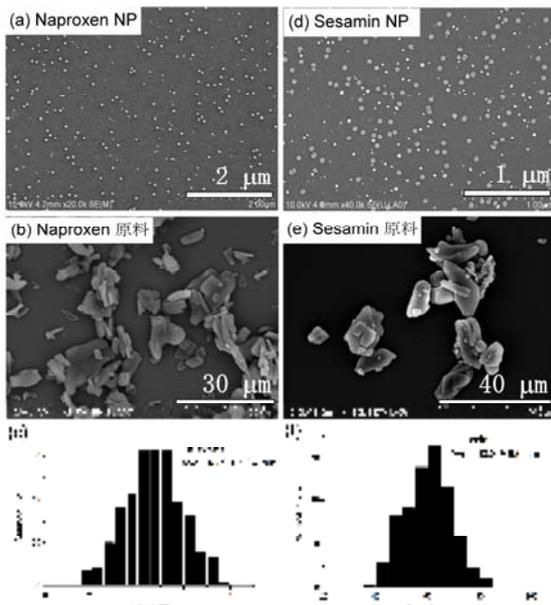


図2 薬剤ナノ粒子のSEM像

(2) プロセス最適化による中規模生産化と各種物性を測定（薬効調査）

難水溶性医薬品のナノサイズ化達成後は、粒子サイズ、形状以外の各種物性（結晶子径と結晶子形、溶解速度、固体分散性等）を測定するため、ナノ粒子の中規模（数十 mg 単位）生産を検討した。まず、装置の効率化（及び大規模化）を測るため、図1のような液化炭酸ガスをフローさせるシステムではなく、圧媒に水を用い、薬剤の液化炭酸ガス溶液をピストン状の圧力容器内に充填し、濃度効果を起こすことなく効率的に噴射するシステムを作製した。そして、ノズルから出てくる粒子を効率的に捕集するため、比表面積の大きい脱脂綿やガラスウールと言った材料を吸着材として用い、ナノサイズの粒子の捕集効率の向上を図った。その結果、各種物性（結晶子径と結晶子形、溶解速度、固体分散性等）を測定するのに必要な量（数 mg～十数 mg）のナノ化薬剤を得ることに成功した。

得られた医薬品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3参照）。

こうして得られたナノサイズ化薬剤は図4中の写真に示すように、良好な固体分散を

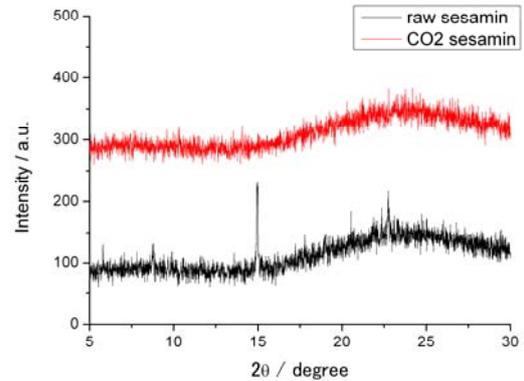


図3 sesamin 原料とナノ粒子の X 線回折解析

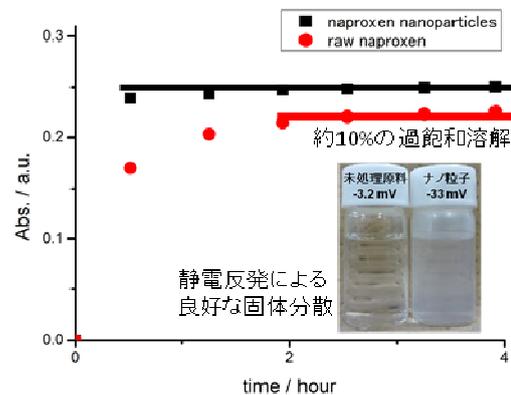


図4 naproxen原料とナノ粒子の溶解度データ、分散状態写真とゼータ電位測定結果

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 4 参照）。ナノ粒子の状態水中に分散する固体分散分の薬剤を含めると、例えばセサミンの場合、飽和溶解度の数倍の濃度で分散できることもわかった。本研究による過飽和溶解現象の測定例は、薬剤学の領域で予見されていた過飽和溶解現象を実験的に検証した初めての例となった事も申し添える。

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、室温においては、ナノサイズ化による過飽和現象が 1 週間近くにわたり安定に保持されることが明らかになった（図 5）。また、水に対する溶解度がより小さいセサミンの方が、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。また、この過飽和溶解現象は、溶液を室温から 5°C 程度まで一度冷却し、再析出を促すことによってもなかなか解消されないが、十分な時間（少なくとも 1 週間以上）経過後に冷却操作を行うと解消されるやすいこともわかった。このように、過飽和溶解現象は、医薬品の生物学的利用能を大幅に上昇させるだけでなく、オストワルド熟成等のモデル実験系としても有用でないと考えている。

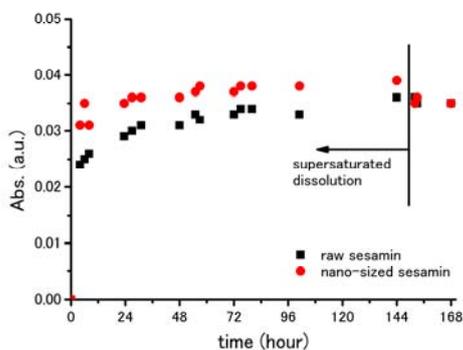


図 5 部分微粒子化 sesamin の過飽和溶解の安定性評価。粒子サイズにも依存するが、20°C で過飽和溶解が 6 日以上継続した。

(3) ナノ粒子の形状および結晶形制御法の開発

これまで開発してきた方法は、どちらかというと非晶状態のナノ粒子を作製するのに向いている方法であることがわかってきた。先にも述べたように、同一物質でも長期的安定性を重視する場合には、結晶質である方がよい。そのため、結晶化度の高いナノ化薬剤を得る技術開発を行った。

それとあわせて、更なるナノ粒子生産効率

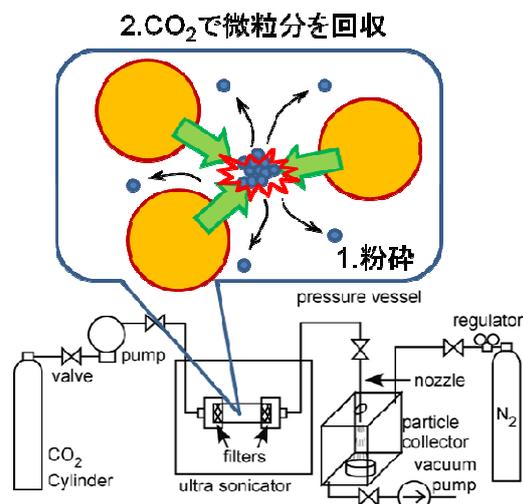


図 6 セラミックボールによる粉砕型薬剤ナノ粒子作製装置

を高めるための技術開発も行った。図 6 に示す高硬度のセラミックボールを用いた粉砕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 7 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 の微粒子を得ることが出来た。この研究成果は、これまで難しかった結晶化度の高い薬剤微粒子を高効率で得ることのできる方法であるため、特許出願を行った。

今後、結晶化度の仔細な評価や得られた微結晶の溶解度等々について研究を継続して行う。

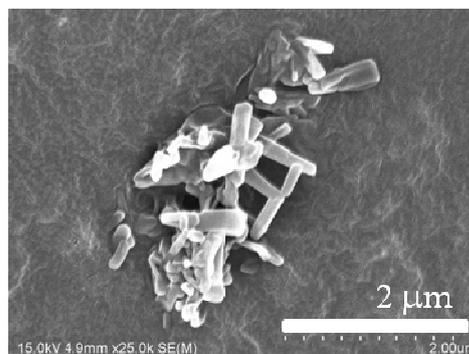


図 7 Sesamin ナノ粒子の SEM 像

カーボンテープにキャスト後、Pt コーティング済。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Toshihiko Arita, Noriyoshi Manabe, Koichi Nakahara, Instant and supersaturated dissolution of naproxen and sesamin (poorly water-soluble drugs and supplements) nanoparticles prepared by continuous expansion of liquid carbon dioxide solution through long dielectric nozzle, *J. Nanopart. Res.*, 査読有, 14 巻, 2012 年, artNo. 1251
DOI: 10.1007/s11051-012-1251-4

[学会発表] (計 6 件)

① 有田稔彦、岸上美季、中原光一、無添加ナノ化難水溶性薬剤を用いた過飽和溶解とオストワルド熟成に関する研究、日本化学会第 94 春季年会、

2014 年 3 月 27 日、名古屋大学

② Toshihiko Arita, Preparation of additive-free organic nanoparticles: a tool for studying the mechanism of supersaturated dissolution and Ostwald ripening, 2014 Energy Materials and Nanotechnology (EMN) Spring Meeting, 招待講演、

2014 年 2 月 27 日、Las Vegas, USA.

③ Toshihiko Arita, Mizue Kishigami, Noriyoshi Manabe, Koichi Nakahara, Accelerated and supersaturated dissolution of nano-sized poorly-water-soluble (BCS Class 2) drugs, 5th Asian Arden Conference,

2013 年 8 月 5 日、愛知学院大学

④ 岸上美季、有田稔彦、真鍋法義、中原光一、難水溶性薬剤の薬効向上へ向けた無添加ナノ粒子化による過飽和溶解と固体分散、第 2 回 JACI/GSC シンポジウム、

2013 年 6 月 7 日、メルパルク大阪

⑤ 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ナノ粒子化による飛躍的溶解速度向上と過飽和溶解、日本化学会第 93 春季年会、

2013 年 3 月 23 日、立命館大学びわこ草津キャンパス

⑥ 有田稔彦、真鍋法義、中原光一、液体二酸化炭素と静電反発力を利用した難溶性化合物の非晶質ナノサイズ化、日本薬剤学会第 27 年会、

2012 年 5 月 26 日、神戸国際会議場

[図書] (計 2 件)

① T. Adschiri, S. Takami, T. Arita, D. Hojo, K. Minami, N. Aoki, T. Togashi, Academic Press: Elsevier Inc., "Supercritical Hydrothermal Synthesis." In: Handbook of Advanced Ceramics: Materials,

Applications, Processing, and Properties., 2013, pp949-978.

② 阿尻雅文, 新井智宏, 石川佳澄, 上野真孝, 上田正孝, 岡田拓也, 大島英紀, 中川孝行, 福島敬二, 前田重之, 宮田建治, 森下丈弘, 山縣利貴, 高見誠一, 青木宣明, 有田稔彦, 他、高圧学会、高圧力の科学と技術 特集: 高圧力技術によるナノマテリアル創製研究の最前線 「超臨界水熱プロセスによるナノ粒子の合成とハイブリッド化—粒子表面改質による相反機能材料開発—」 2012, 89-96 ページ

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: 微粒子作成装置

発明者: 有田稔彦、中原光一

権利者: 東北大学、サントリー (株)

種類: 特許

番号: PCT/JP2012/080801

出願年月日: 2012 年 11 月 21 日

国内外の別: 海外

名称: 高結晶性微粒子の製造方法

発明者: 有田稔彦、中原光一、岸上美季

権利者: 東北大学、サントリー (株)

種類: 特許

番号: 特願 2014-212399

出願年月日: 2014 年 10 月 17 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有田 稔彦 (ARITA, TOSHIHIKO)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号: 50423033

(2) 研究分担者

藪 浩 (YABU, HIROSHI)

東北大学・多元物質科学研究所・准教授

研究者番号: 40396255

(3) 連携研究者

()

研究者番号：