

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

顕微分光技術を利用した造粒メカニズム解明に関する研究

博士後期課程 薬剤学教室 3011002 加納健雄

【背景・目的】

錠剤やカプセル剤などの固形医薬品の製造における造粒工程は製造適性の改善や溶出性や含量均一性など最終製剤の品質向上を目的として利用されており、最も重要な工程の1つと考えられている。高速攪拌造粒法は、汎用されている造粒法の1つであり、顆粒形成の複雑なメカニズムを理解するために数多くの研究が行われている。従来検討では、顆粒の物性(粒子径やかさ密度)などのマクロな評価を実施している例が多いが、よりミクロな評価を行うことで造粒のメカニズム解明に重要な知見が得られると考えられる。顕微分光技術はすでに固体分散体や錠剤の表面中の微小領域における主薬や添加剤の分散状態の評価等で利用されており、製剤中の微小領域の評価には顕微分光技術が有用であることが報告されている。

そこで、本研究では造粒メカニズムのさらなる解明を目的として、主薬に物性の異なるメフェナム酸とフラボキサート塩酸塩を用いて高速攪拌造粒法にて製造した2種類の顆粒の顆粒中における処方成分の分散状態を顕微分光技術によって評価した。そして、造粒の進行に伴い変化する処方成分の分散状態の変化及び、処方成分の表面物性から、高速攪拌造粒法の造粒メカニズムについて考察を行った。

【実験方法】

1. 顆粒の処方

主薬にメフェナム酸,フラボキサート塩酸塩、製剤添加剤に乳糖,コーンスターチ,結晶セルロース、結合剤にHPC(hydroxypropylcellulose)を用いた。

2. 造粒条件

造粒は高速攪拌造粒装置(VG-25, パウレック)を用いて行い、回転速度 180 rpm で予混合を 2 min 実施し、造粒時間が 10 s から 15 min の間でサンプリングを実施した。

3. マッピング測定用サンプルの調製方法

マッピング測定を行うには、顆粒の断面を作る必要があるため、顆粒を包埋剤に包埋し切断して薄片とすることで顆粒の断面サンプルを調製した。

4. 顕微 Raman マッピング条件

XY マッピング範囲は約 200 μm ×200 μm とし、測定間隔は 5 μm の条件で測定を行った。

5. 分散イメージの作成法及び評価方法

顕微マッピングデータの解析にはソフトウェア ISys を使用した。PLS2 解析を行い、測定領域 (5 μm ×5 μm) である各 pixel のスペクトルの成分の同定を行い、各処方成分の濃度の指標となる PLS スコアを算出することで分散イメージを作成した。その結果、メフェナム酸,フラボキサート塩酸塩及び、乳糖,コーンスターチ,結晶セルロースの解析が妥当であることが確認された。

6. 分散イメージの評価方法(主薬のクラスターサイズ, 分散状態の評価)

分散イメージからは主薬の PLS スコア(濃度)の高い pixel を選択することで主薬のクラスターサイズの算出を行い主薬の凝集挙動を評価した。また、造粒の進行に伴い変化する各処方性同士の分布の重なりなどを評価した。

7. 各処方成分の表面自由エネルギーの測定

各処方成分の表面自由エネルギーを測定し、造粒メカニズムとの関連性を評価した。

【結果】

1. 造粒時間と顆粒の平均粒子径

Fig.1には造粒時間に伴う、両顆粒の平均粒子径の変化を示した。両顆粒とも造粒開始直後は結合剤の分散が不十分であるために粗大な粒子が多く、平均粒子径は約 1000 μm と大きかった。結合剤の分散とクロススクリュウによる粗粒の破碎によって、粒子径は減少し造粒時間 5 min 時点では平均粒子径が約 500 μm となった。さらに造粒が進むことで粒子の成長が確認され、造粒時間 10 min では平均粒子径は約 700 μm となり、それ以降では粒子の成長はおさまった。両主薬の顆粒ともほぼ同様の挙動を示したが、フラボキサート塩酸塩ではメフェナム酸より早期に粒子成長が始まっていた。これは、フラボキサート塩酸塩はメフェナム酸と比較して親水性が高いために、水溶液として添加した結合剤の分散が速やかに生じたためであると考えた。また、造粒終了時点での顆粒の平均粒子径が両主薬でほぼ同程度であったことは、両顆粒が主薬を除く 90 %以上の構成成分が同じ組成であるためであると考えた。

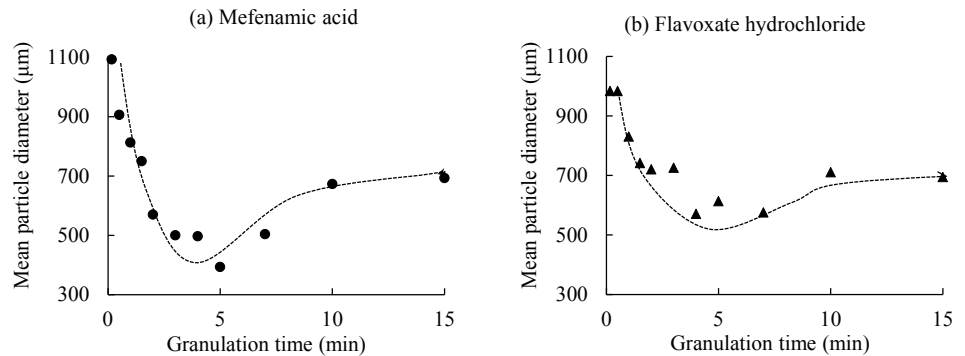


Fig. 1. Mean particle size of granules.
(a) Mefenamic acid; (b) Flavoxate hydrochloride.

2. 造粒の進行に伴う主薬の凝集挙動の評価

造粒の進行に伴う顆粒中の主薬の凝集挙動の評価を行うために、Fig.2.には横軸に造粒時間、縦軸には各顆粒中に存在する最大の大きさの主薬のクラスターサイズの平均値をとったグラフを示した。造粒開始直後のクラスターサイズはいずれの顆粒でも 20 μm 程度で同程度の大きさであった。造粒の進行にともない、クラスターサイズは増大し、造粒時間 5 min 時点のクラスターサイズはメフェナム酸顆粒では 49 μm 、フラボキサート塩酸塩では 36 μm となった。そして、さらに造粒が進むとクラスターサイズは減少し、造粒時間 15 min ではクラスターサイズは 23 μm 程度となった。このことは、いずれの主薬においても造粒の進行に伴い顆粒中で主薬は凝集していき、さらに造粒が進むことで主薬が顆粒中に分散することを示唆している。両主薬間でクラスターサイズの変化の違いが確認された。メフェナム酸の方がより大きなクラスターとなり、フラボキサート塩酸塩よりもクラスターサイズの減少が遅くなっていた(図中の矢印部分)。これらのことは、フラボキサート塩酸塩と比較して、メフェナム酸の凝集性が高いことを示していると考えられた。

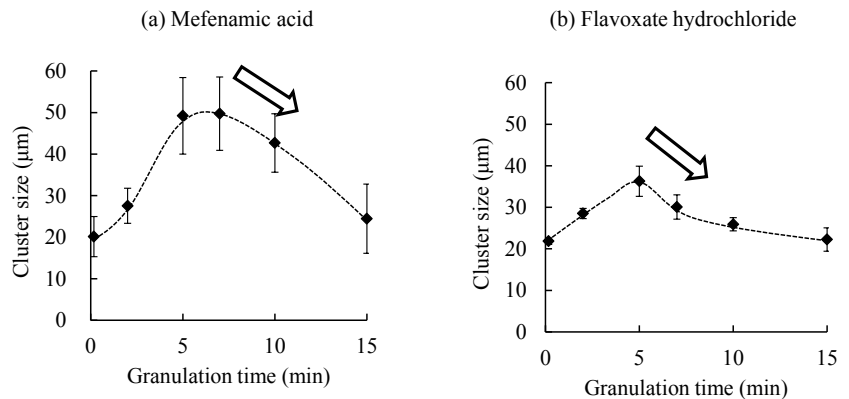


Fig. 2. Relationship between the average largest cluster size of the API in a granule and granulation time.
(a) Mefenamic acid granules; (b) Flavoxate hydrochloride granules.

3. 各処方成分の分散状態の評価

造粒の進行にともない変化する主薬の凝集挙動について、主薬がどのような添加剤と凝集していくのかを評価を行った。Fig.3.は主薬のクラスターが最も大きく、顆粒中で凝集していることが示唆された造粒時間が 5 min の顆粒の分散イメージを示した。図中では白色の部分はその成分の PLS スコア(濃度)が高いことを示している。メフェナム酸顆粒の分散イメージにおいて、丸で示した部分ではメフェナム酸、コーンスターチ、結晶セルロースは相対濃度が高く、この 3 成分の分布が重なっており一緒に凝集していることが確認された。同じ部分に乳糖はほとんど存在しておらず、他の 3 成分とは分離して存在していた。一方、フラボキサート塩酸塩顆粒では、丸で示した部分にフラボキサート塩酸塩と乳糖の相対濃度が高く、コーンスターチと結晶セルロースの濃度は低かった。このように、造粒時間 5min では主薬と製剤添加剤の分布の重なりが確認された。また、主薬によって分布が重なる製剤添加剤に違いがあることが確認された。このような分布の傾向は造粒時間 10 s 時点の顆粒では確認することができなかった。

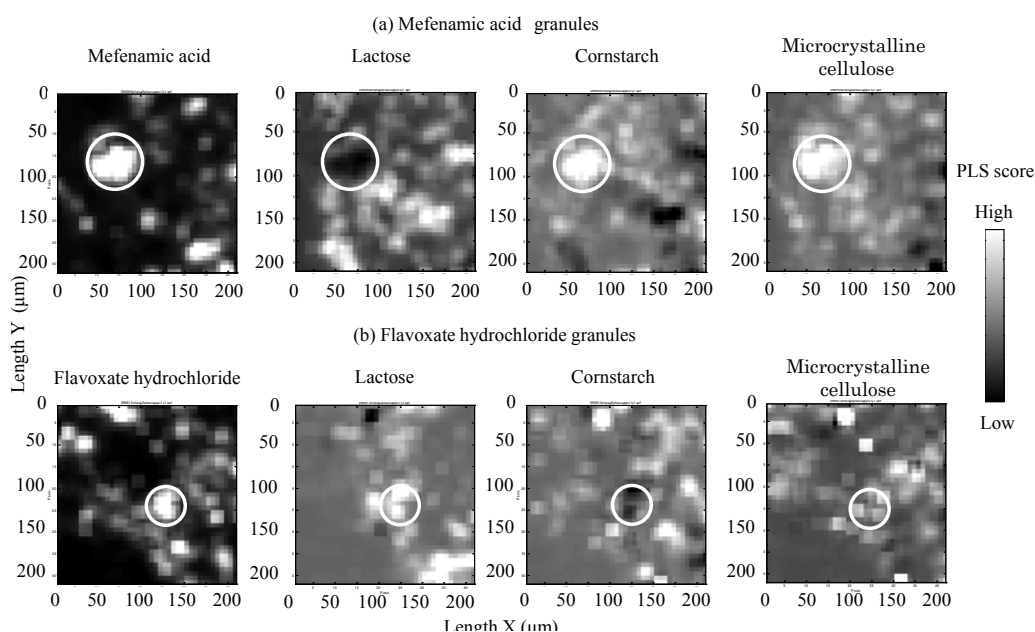


Fig. 3. Distribution maps of each component in the granulation (5 min). (a) Mefenamic acid granules; (b) Flavoxate hydrochloride granules. White indicates pixels of high score and black indicates pixels of low score.

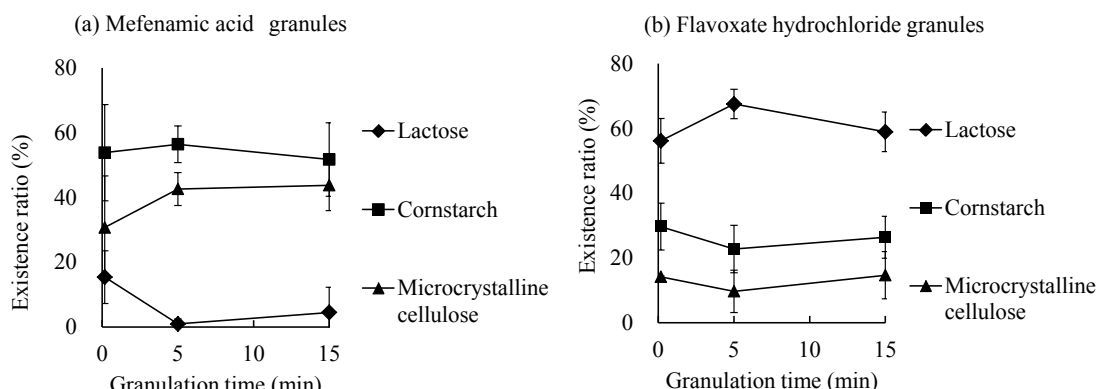


Fig. 4. The percentages of each component present in the areas of high API concentration based on scores of each additive. (a) Mefenamic acid granules; (b) Flavoxate hydrochloride granules.

分散イメージから得られた分散の特徴について、さらに詳細な評価を行うために、主薬の濃度が高い pixel 中に存在する各添加剤の比率を PLS スコアの値から算出した示したグラフを示した(Fig.4.)。メフェナム酸顆粒では、分散イメージで確認されたように主薬の濃度が高い pixel 中にはコーンスターチと

結晶セルロースが乳糖よりも高い割合で存在していることが確認された。また、造粒後期(15 min)の添加剤の比率が造粒中期(5 min)と近いことから、造粒後期のクラスターは造粒中期のクラスター由来であると考えられた。一方、フラボキサート塩酸塩においては、5 min の分散イメージ同様、乳糖の割合がわずかに増加しており、他の添加剤よりも高い割合で存在することが確認された。

4. 分散状態の重なりと処方成分の親和性

造粒時間 5 min での主薬の違いによる分散状態の違いを表面自由エネルギーの観点から検討した。Fig.5 には処方成分の表面自由エネルギーを測定し、横軸に γ_p 、縦軸に γ_d を取りプロットした図を示した。この図の中で点間の距離の近いものは親和性が高く、遠いものは親和性が低いことを表している。左側の丸(点線)で囲った部分では、造粒時間 5min で分布が重なっていたメフェナム酸、コーンスターチ、結晶セルロースの 3 成分の点の距離が近く、親和性が高いことが推測された。また、右側の丸(実線)で囲った部分においても、分布の重なっていたフラボキサート塩酸塩と乳糖の親和性は高いことが推測された。このことから、造粒時間 5min に確認された処方成分同士の重なりは表面物性の親和性に基づいていることが示唆された。

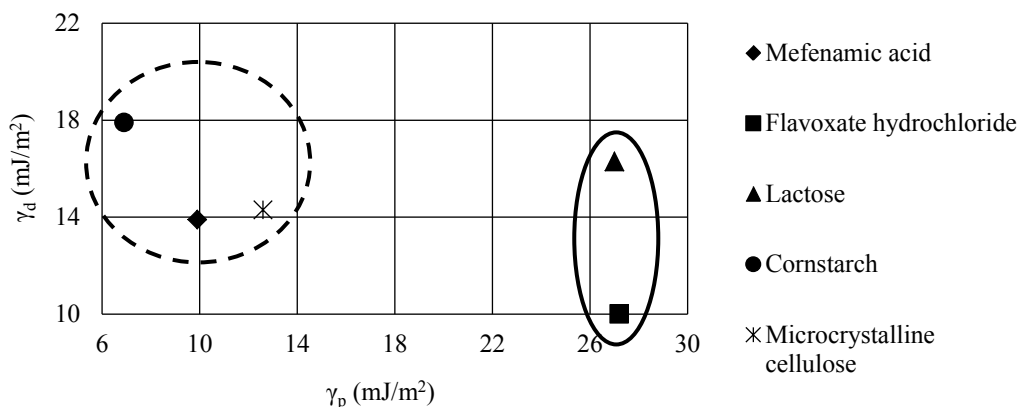


Fig. 5. Surface free energy of each ingredient. γ_p : Polar part of the surface free energy, γ_d : Dispersive part. The shorter the distance between two points, the higher the affinity between the two components.

【結論】

造粒開始から造粒時間 5min までの粗大粒子が崩壊し粒子径が減少していく過程で顆粒中では親和性の高い成分同士が凝集した。造粒後期の粒子径が大きくなる過程では、クラスターサイズが減少していくことが確認された。クラスターサイズの減少はメフェナム酸の方がフラボキサート塩酸塩よりも遅いが、最終的には両主薬のクラスターサイズは同程度まで小さくなった。このように、造粒後期では両主薬で顆粒の粒度の変化は同様であったが、顆粒中のクラスターサイズの変化には差があった。また、メフェナム酸では 15min 時点でも主薬のクラスターは 5min 時と同様の組成であり、フラボキサート塩酸塩では均一に分散していることが示唆された。

このように、顕微分光技術を利用することで、顆粒中の処方成分の分散状態及び各主薬のクラスターサイズを評価することが可能となり、主薬の違いによる凝集挙動の違いや、処方成分同士の分布の重なりの変化について評価することなどができた。また、高速攪拌造粒においては表面物性に基づく親和性が高い成分同士は混ざりやすく造粒の進行とともに凝集し、逆に親和性が低い成分同士は混ざりにくく、顆粒中で分離して存在することが確認された。このように、顕微分光技術と表面物性の評価から高速攪拌造粒における粒子凝集挙動という造粒メカニズムに関する重要な知見を得ることができた。

論文題目：顕微分光法を利用した造粒メカニズム解明に関する研究

論文提出者：加納健雄

固形製剤の製造工程のうち造粒工程は製品の品質に影響する最も重要な工程の一つであり、製品の目的に合わせて様々な方法で造粒が行われる。高速攪拌造粒は汎用される造粒法の一つであり、製造条件により著しく物性の異なる顆粒が得られることが知られている。また、近年はICH 国際調和(International Conference on Harmonization)に基づき、製造工程で製品の品質を保証することがますます求められており、工程中で起こる現象を科学的に解明することが望まれている。

本研究では、高速攪拌造粒中に起こる主薬と様々な添加剤が顆粒に造粒されていく過程を製品としての顆粒の粒子径、かさ密度といったマクロな評価とともに、1つの顆粒の中で主薬と添加剤がどのように混ざり、クラスターを形成し、またクラスターの中での分散状態がどう変化して最終的な顆粒に形成されていくかを放射光施設 Spring8 の顕微中赤外スペクトル並びに顕微 Raman スペクトルを用いて解析した。さらに主薬や添加剤粒子の表面物性をもとに造粒メカニズムについて考察した。

本論文は主に2部から成る。以下それぞれの内容について述べる。

1 顕微分光法による高速攪拌流動装置を用いた造粒に伴う顆粒中の分散状態の解析

モデル薬物として難溶性のメフェナム酸あるいは、それよりかなり水溶性のフラボキサート塩酸塩を用い、添加剤にコーンスターチ、乳糖、結晶セルロース、結合剤としてヒドロキシプロピルセルロースを用いた処方を設定し、高速攪拌造粒にて顆粒の製造を行った。造粒工程中顆粒のサンプリングを10秒後から15分まで適宜行い、乾燥後、粒子径と粒子密度という粒子レベルのマクロな測定を行うとともに、1つの粒子中の主薬と添加剤のミクロな分散状態を中赤外スペクトルと顕微 Raman スペクトル測定を行った。粒子中の主薬と添加剤の分散状態のイメージングは粒子の薄片サンプルを作成し各標準スペクトルデータを基にケモメトリック解析法を用いて行った。

粒子径は、初期の $1000\mu\text{m}$ 程度から、約5分の造粒で粒子径が極小の約 $500\mu\text{m}$ となり、その後粒子径を増し、15分後には約 $600\sim 700\mu\text{m}$ となった。これはまず粒子の破壊が起こり、その後、顆粒の成長と破壊が繰り返され、15分ではほぼ一定になったことを示している。その粒子の中をイメージングすると、いずれの主薬のクラスターサイズは、初めは約 $20\mu\text{m}$ であるが、主薬が凝集し、5分後には最大の $40\sim 50\mu\text{m}$ となり、その後、徐々に減少し、15分後には約 $20\mu\text{m}$ となった。その間、5分後にはメフェナム酸は、コーンスターチ、結晶セルロースの近くに存在し、フラボキサート塩酸塩は乳糖の近くに存在することが分かった。また15分後には、いずれも顆粒中で主薬と添加剤がほぼ均一な状態で存在することが分かった。

このように主薬の性質により造粒初期には顆粒中で主薬と添加剤の存在状態が異なることを明らかにすることができた。

2 高速攪拌造粒法による顆粒形成メカニズムの検討

主薬以外の添加剤の処方と同じにして造粒した場合、マクロな顆粒の粒子径の経時的な変化は、ほぼ同じであった。一方、一つの顆粒内のミクロな分散状態は、メフェナム酸とフラボキサート塩酸塩では最終的には同様であるが、途中の過程で異なるクラスター状態を示すことが分かった。そこで各成分の表面自由エネルギーを極性成分の表面自由エネルギー、分散成分の表面自由エネルギーに分け、表面自由エネルギーの性質の違いから考察を行った。その結果、メフェナム酸はかなり疎水的性質が大きく、フラボキサート塩酸塩は親水的性質が大きかった。また、コーンスターチ、結晶セルロースは疎水的性質が強く、乳糖は親水性の性質が強かった。このことは、造粒初期の顆粒の成長ではより似た性質の粒子同士が集まり凝集体を形成するが、同時に生じている破碎現象のために凝集と破碎が繰り返されるために15分の造粒では、顆粒内はほぼ均一状態に分散することが分かった。

以上述べたように、加納氏は、固形製剤の品質に大きく影響する造粒工程を顆粒製造法の一つである高速攪拌造粒工程中で起きる現象を顆粒の粒子成長というマクロな現象とともに1つの粒子中の主薬と添加剤の分散状態が時間の経過とともにどう変化するか、ミクロな状態での挙動を検討した。すなわち、粒子中での主薬と添加剤の分散状態をSPRing8の中赤外スペクトルならびにRamanスペクトルを用いてケモメトリックス解析を駆使して微視的分散状態をイメージング解析した。その結果、主薬と添加剤の表面自由エネルギーの中の分散成分の表面自由エネルギー、あるいは極性成分の表面自由エネルギーの大きさの違いで、最終的には均一になるが、初期における顆粒中の主薬と添加剤の存在状態の違いがあることを明らかにした。このことは造粒条件によって品質の異なる顆粒が製造される可能性があり、まさに造粒工程で製品の品質を科学的に保証するという現在の品質保証のあり方に貢献するものである。今まで、このようなミクロな状態まで踏み込んで顆粒の造粒過程を解析した研究はなく、新たな品質保証への応用につながるものと確信する。

本テーマに関係する学術論文を既に公表しており、博士（薬学）に値すると判断する。

2014年2月26日

寺田勝英