超低温ナノ粉砕

液体窒素とドライアイスを用いた新規コンタミレス粉砕法の構築と医薬品開発への応用

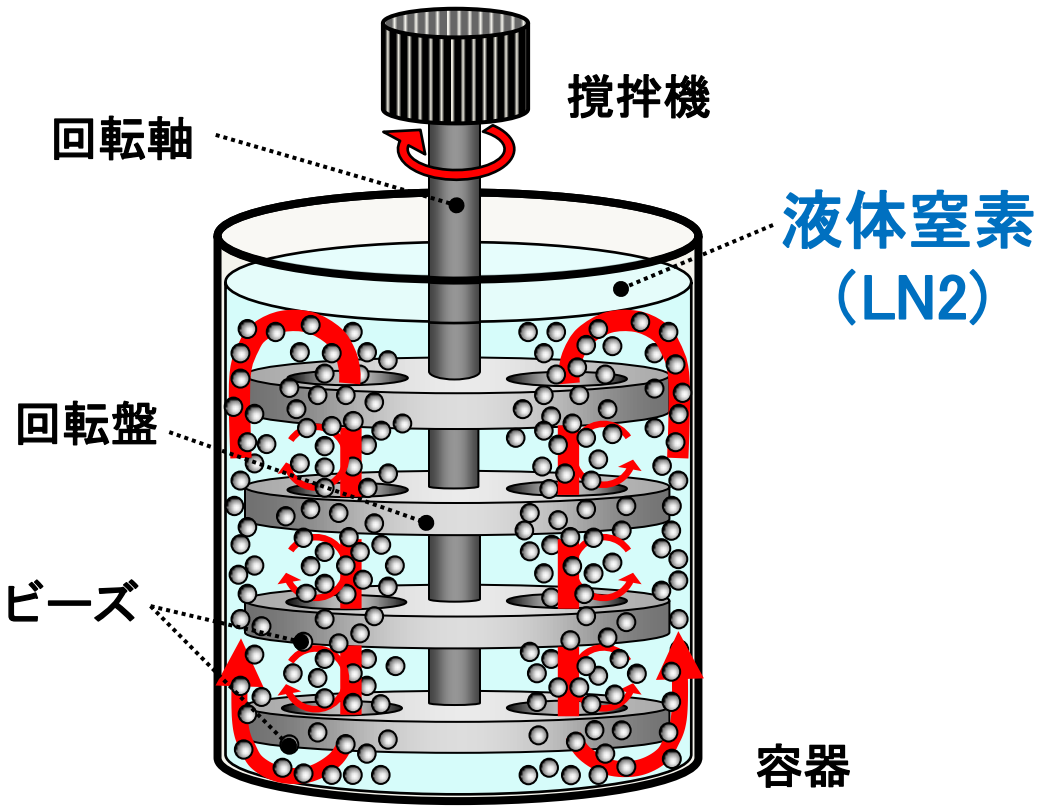
名城大学薬学部
丹羽敏幸

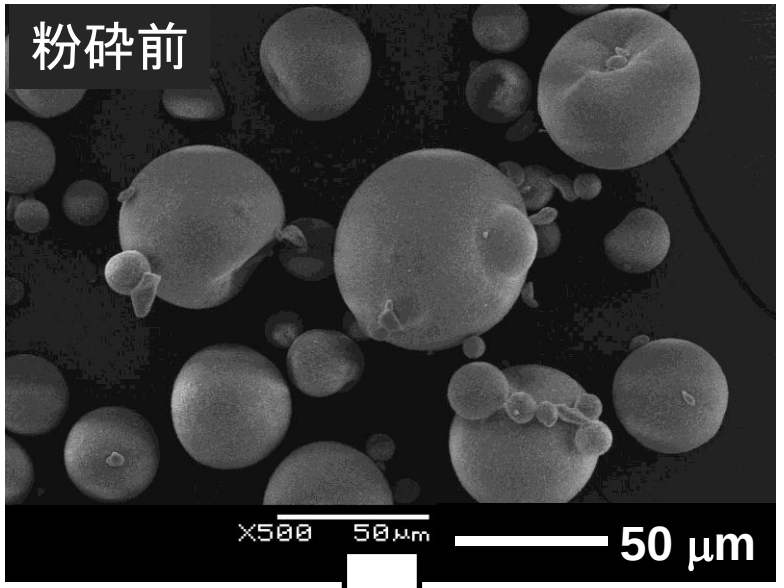
超低温ナノ粉砕技術

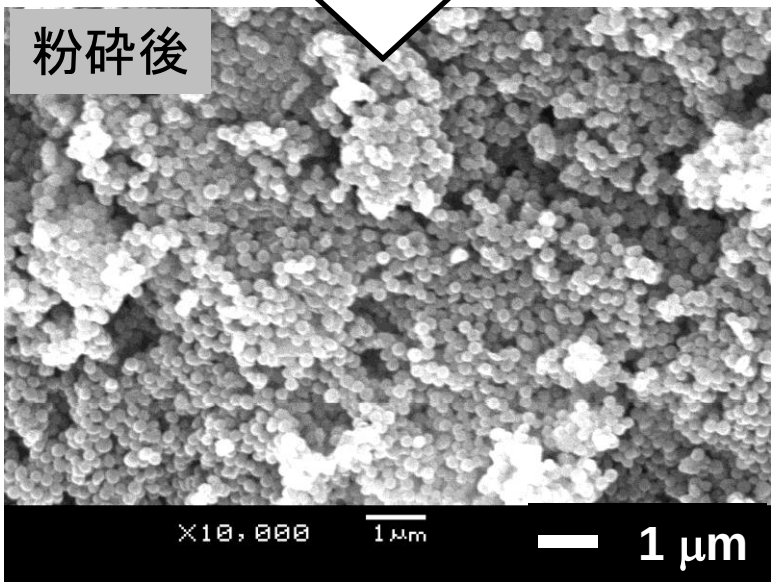
1. 技術概要と医薬品開発への利用
2. 粉砕ナノ粒子からの溶出の改善
3. 粉砕ナノ粒子のハンドリング性の改善
4. コンタミレス粉砕法への発展

超低温粉砕法
(Ultra cryo-milling)

液体窒素(LN2)中，懸濁状態でのビーズ粉砕







粉砕分野での“ハイブリッド技術”
- 粉砕工程は湿式粉砕
- 粉砕後LN2が自然蒸発し，乾燥粉末を回収

Part 1 Goal & Objectives

超低温ナノ粉砕

- 医薬品結晶を液体窒素に懸濁
  → 超低温下，媒体粉砕法にて湿式粉砕
  → サブミクロンサイズへと微粉砕（ナノ粉砕）

新規粉砕法の開発

- 本法を難溶性医薬品に適用

→ 経口投与製剤のための溶解性改善技術の確立
→ 製薬産業で適用可能な実用化技術へ発展

Materials

粉砕装置

- バッチ式ビーズ粉砕機
  - レディーミル RMB-04, アイメックス

粉砕媒体

- ジルコニアビーズ
  - YTZボール, ニッカトー
    （0.1, 0.3, 0.6, 1 mmϕ）

薬物

- 難溶性: フェニトイン
- 低融点: イブプロフェン
- 水溶性: 硫酸サルブタモール

} 汎用性の確認

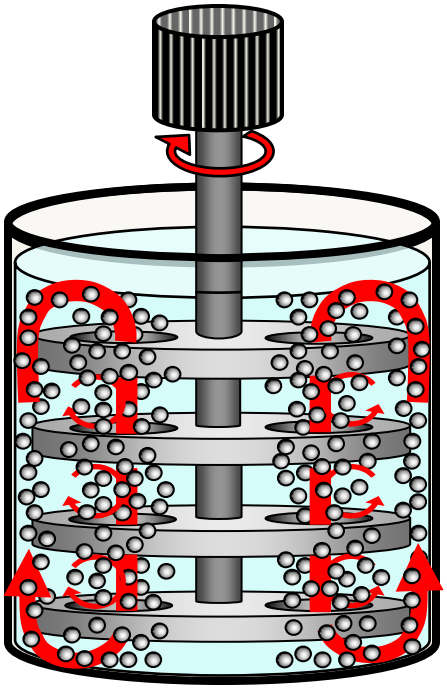
Preparation

超低温媒体粉砕法（LN2 mill）

■ 製造処方

	*かさ体積
薬物（原末: OriB）	15 g
ジルコニアビーズ	658 g (180 mL*)
液体窒素	ad. 360 mL
	400 mL容量ベッセル

撹拌粉砕 (15 min) → ビーズ篩別 → 自然乾燥



ジルコニア製の
容器, 回転軸, 回転盤

ジェットミル法（Jet mill）

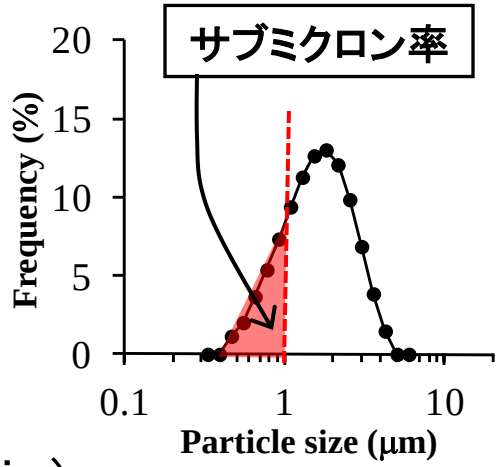
■ A-O jet mill, セイシン企業
- 仕込量: 20 g
- 空気圧: 0.7 MPa

遊星ボールミル法（Ball mill）

■ PM-100, Retsch
- 仕込量: 5 g
- 10 mmϕ, 400 rpm, 120 min

乾式
（対照）

Evaluation



Morphology

◆**SEM: 走査型電子顕微鏡**（JSM-6060, JEOL）

Particle size distribution

① **乾式法: レーザー回折散乱法**（LMS-30, Seishin）

❖圧縮空気圧: 0.4 MPa

② **湿式法: レーザー回折法**（SALD-2100, Shimadzu）

❖分散媒: 水

◆代表径: $D_{10\%}$, $D_{50\%}$, $D_{90\%}$

◆サブミクロン率：1 μm以下の粒子が占める質量割合（%）

Specific surface area

◆**アルゴンガス吸着法**（Nova-1000, Quantachrome）

Crystallinity

◆**XRPD: 粉末X線回折装置**(RAD-2VC, Rigaku)

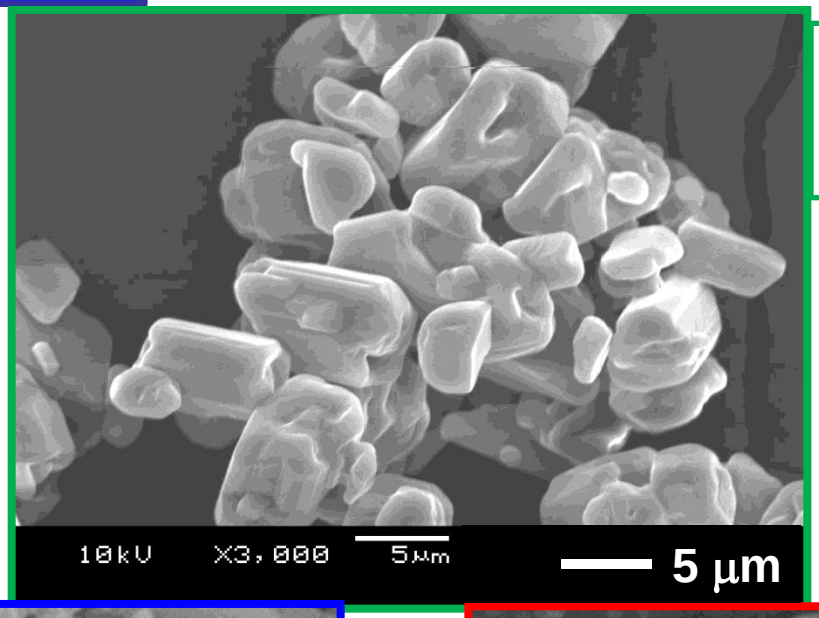
◆**Modulated-DSC: 温度変調型DSC**(Q-2000, TA Instrument)

Morphology

粉砕効果 vs ジェットミル

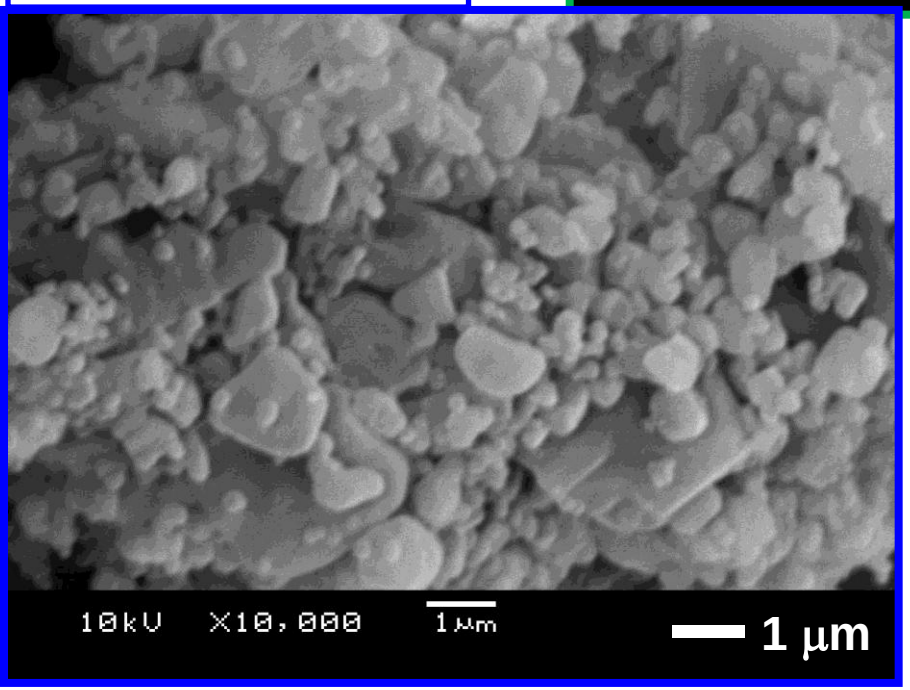
Phenytoin

難溶性薬物

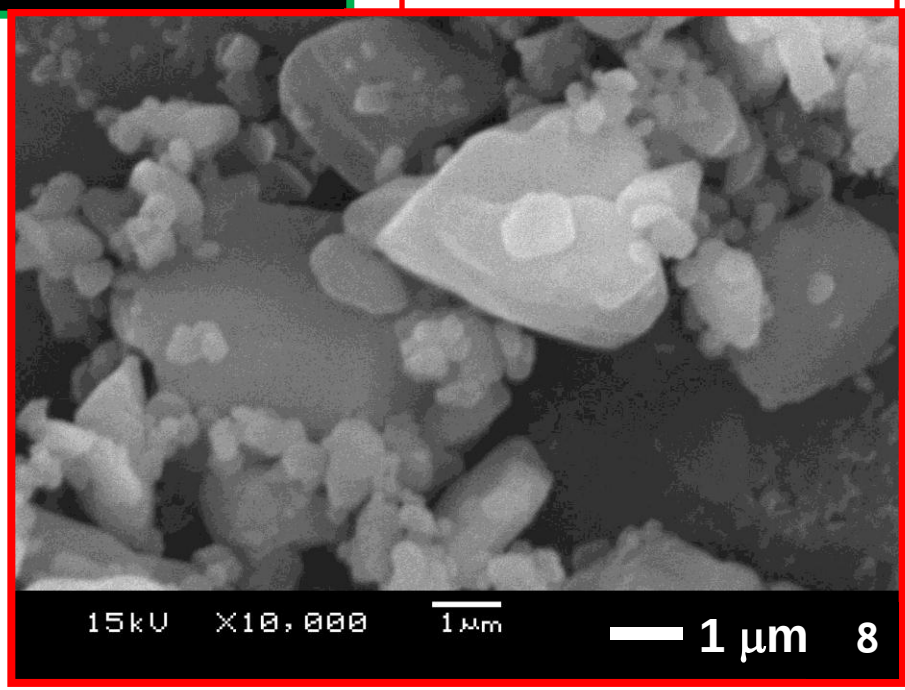


原末
(倍率; x 3,000)

LN2粉砕品
(倍率; x 10,000)



Jet粉砕品
(倍率; x 10,000)

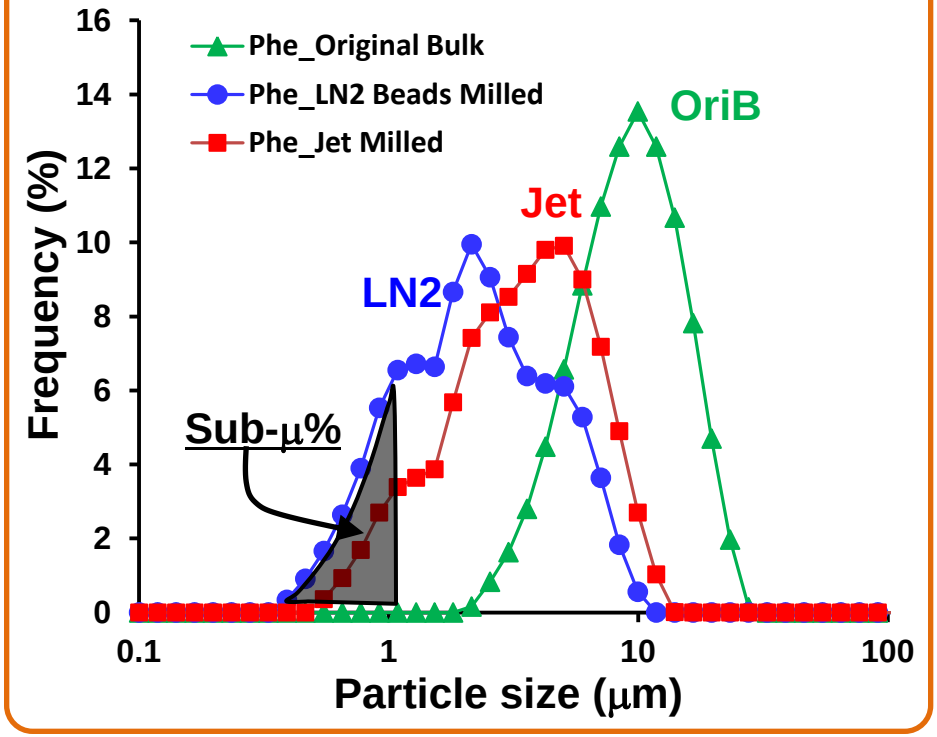


PSD

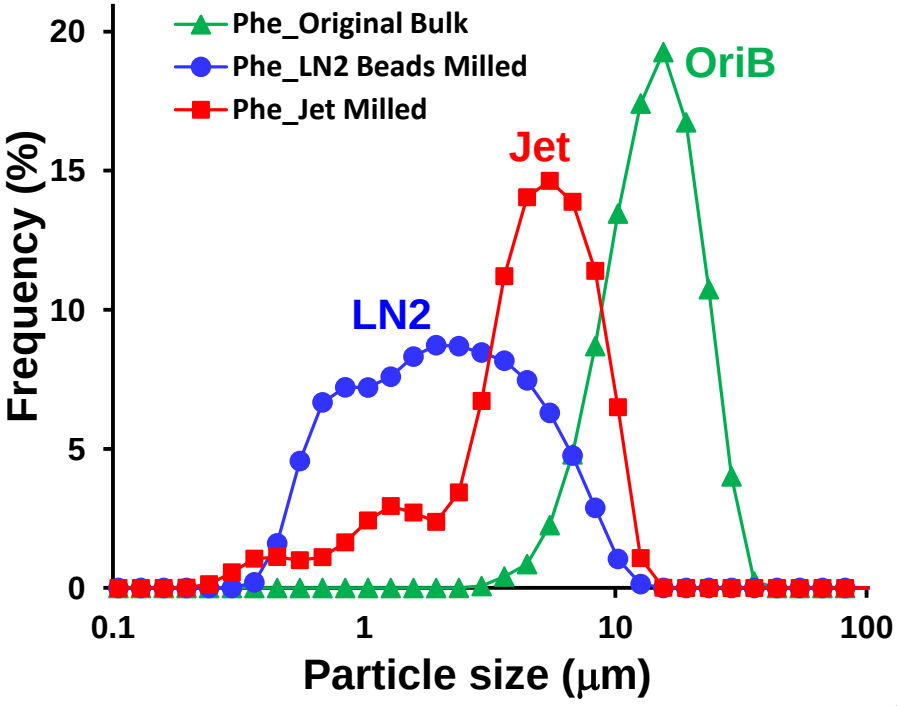
粉砕効果 vs ジェットミル

Phenytoin

Dry method



Wet method



Methods	Samples	D10% (μm)	D50% (μm)	D90% (μm)	Submicron %
Dry method	LN2 Beads Mill	0.79	2.02	5.23	25.5%
	Jet Mill	1.14	3.24	6.82	9.1%
	Original Bulk	4.26	8.51	15.3	0.0%
Wet method	LN2 Beads Mill	0.62	1.84	5.27	27.5%
	Jet Mill	1.11	4.29	7.95	9.1%
	Original Bulk	6.84	12.74	21.05	1.0%

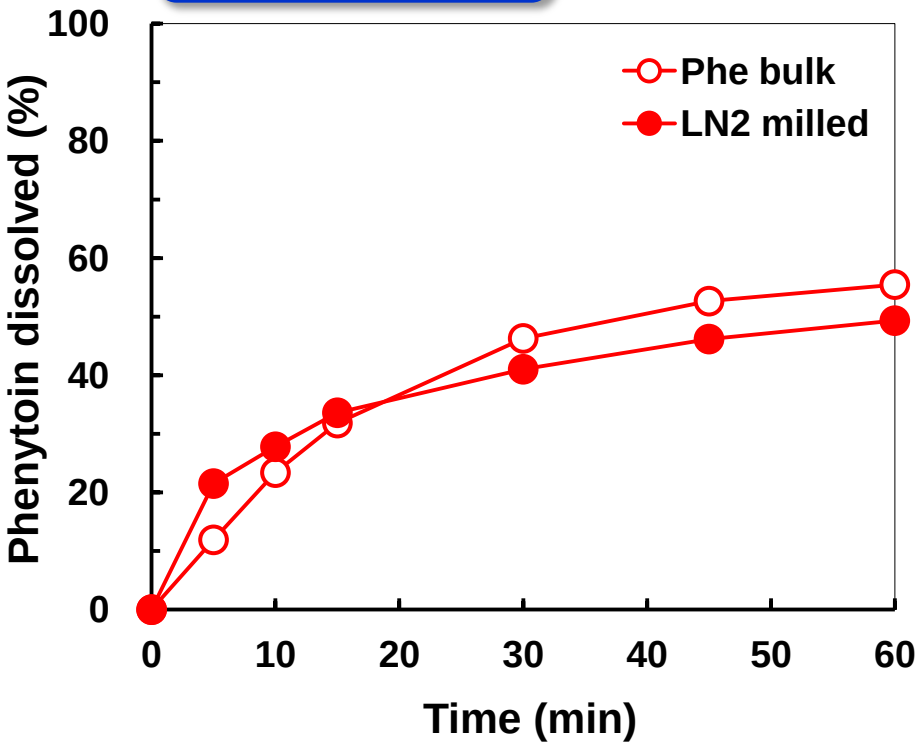
Dissolution

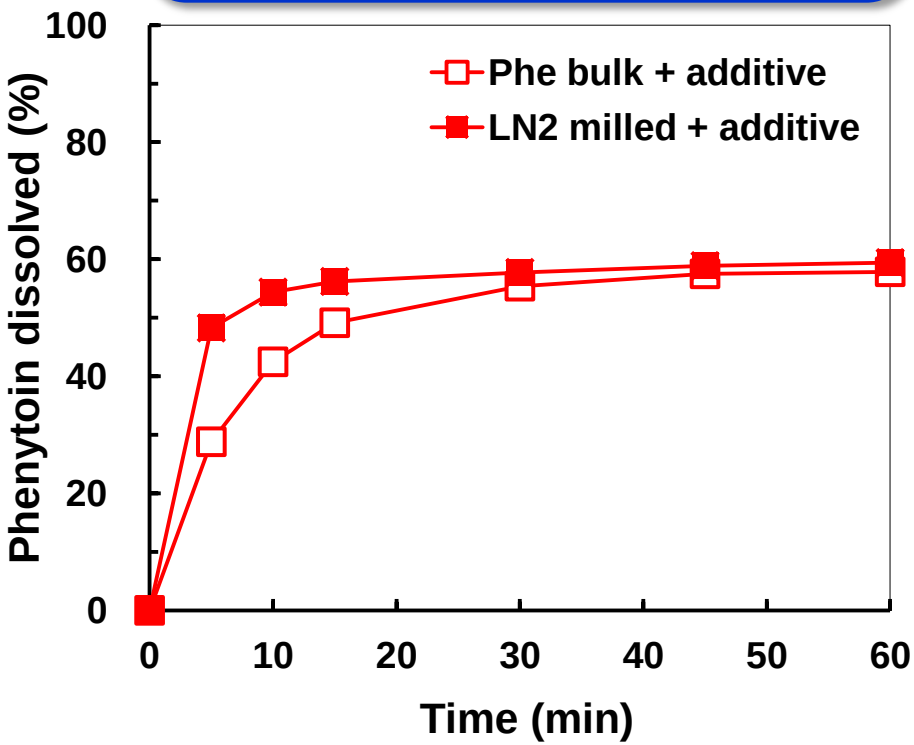
粉砕品の溶出性（Phenytoin）

添加剤とスパーテル混合

Phenytoin	67 mg	（22%）
Lactose	213 mg	（71%）
L-HPC	20 mg	（7 %）

Phenytoin単独





Paddle 75 rpm
0.1% Tween80 aq., 900 mL
67 mg Phenytoin
0.45 μm filtration

Part 2 Problem & Countermeasure

超低温粉砕

- 微粒化（サブミクロン化）の側面からは革新的技術
- 水相中に投入した際，1次粒子には分散しない
  → 薬剤的観点（溶解性）からは改善が必要

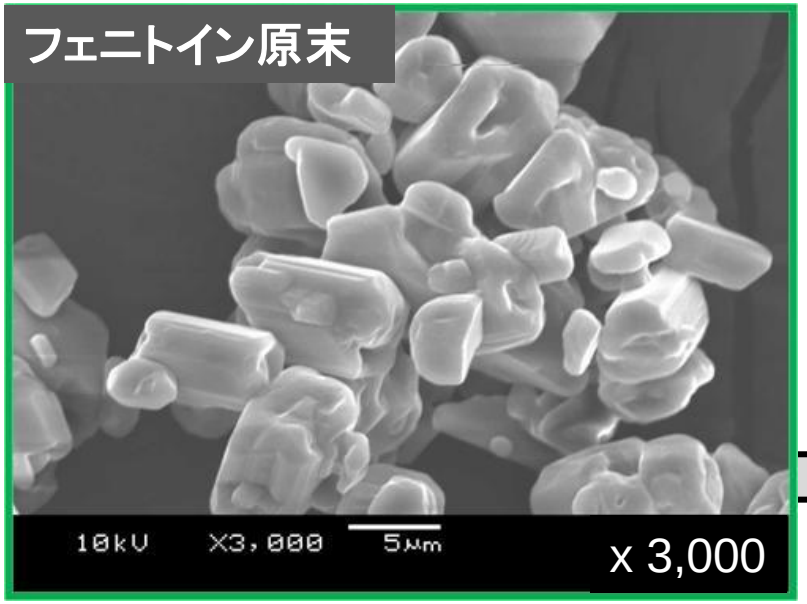
添加剤との混合粉砕

- 添加剤
  - 水溶性: ポリビニルピロリドン（PVP K-30）
  - 水分散性: CMC, HPMC-AS, Eudragit L100 他

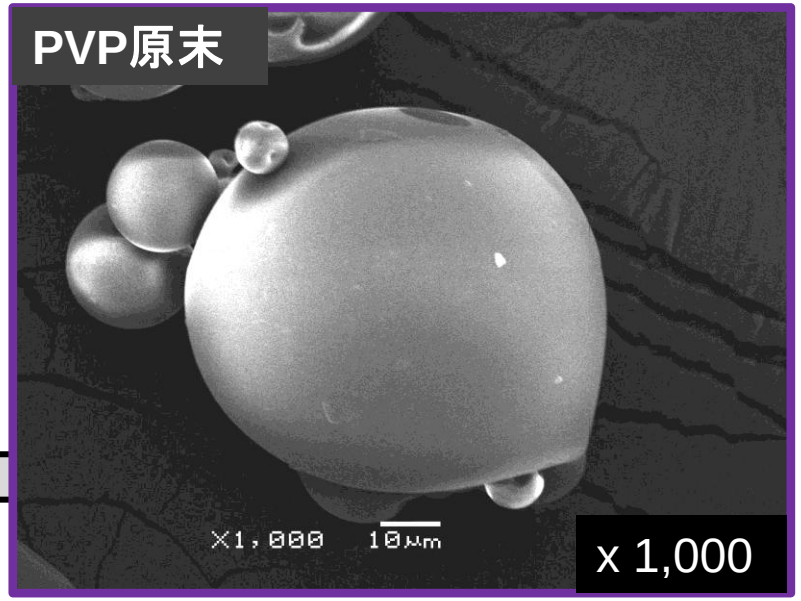
Preparation

水溶性添加剤との混合粉砕

フェニトイン原末

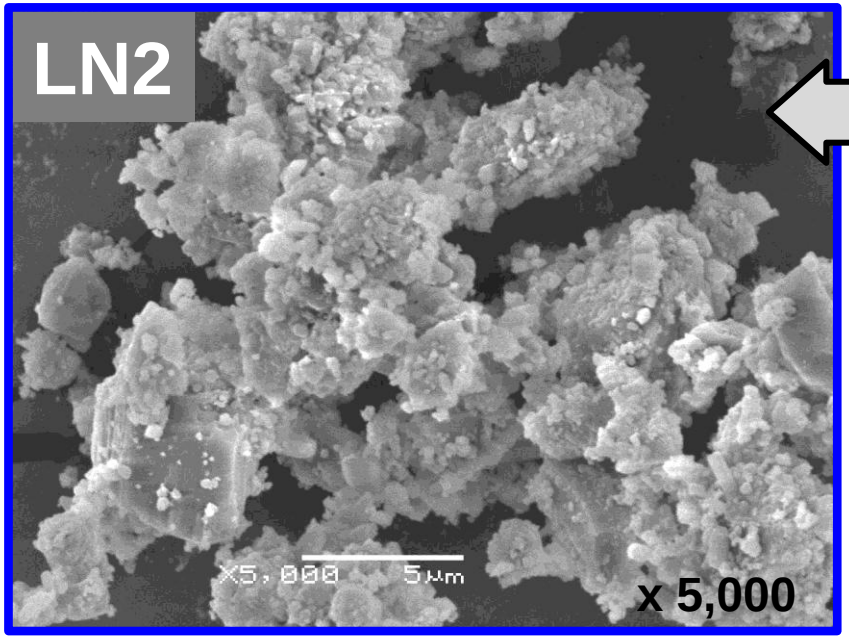


PVP原末

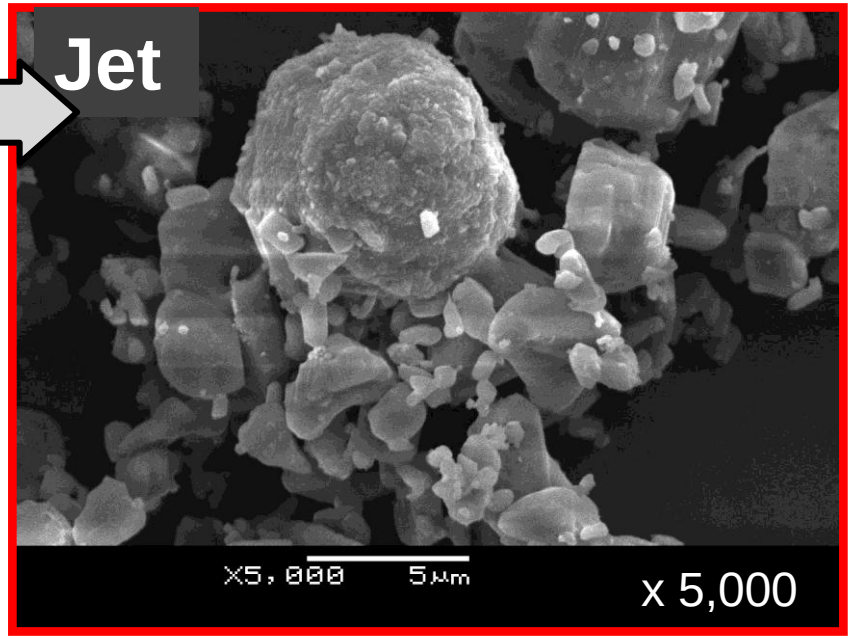


混合粉砕
1:1 w/w

LN2



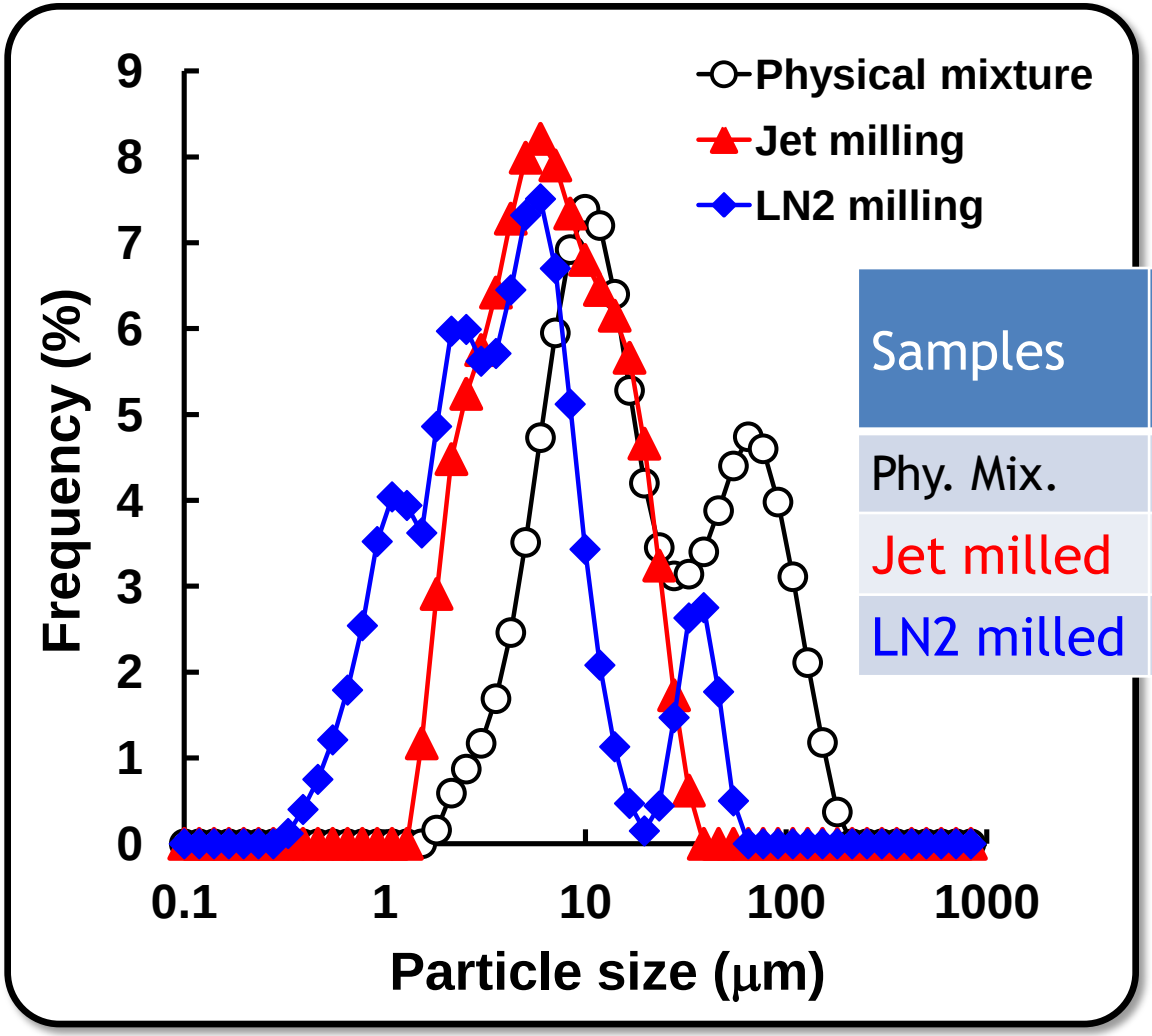
Jet



PSD

粉砕効果: LN2ミル vs ジェットミル

Phenytoin : PVP (1:1) co-milled

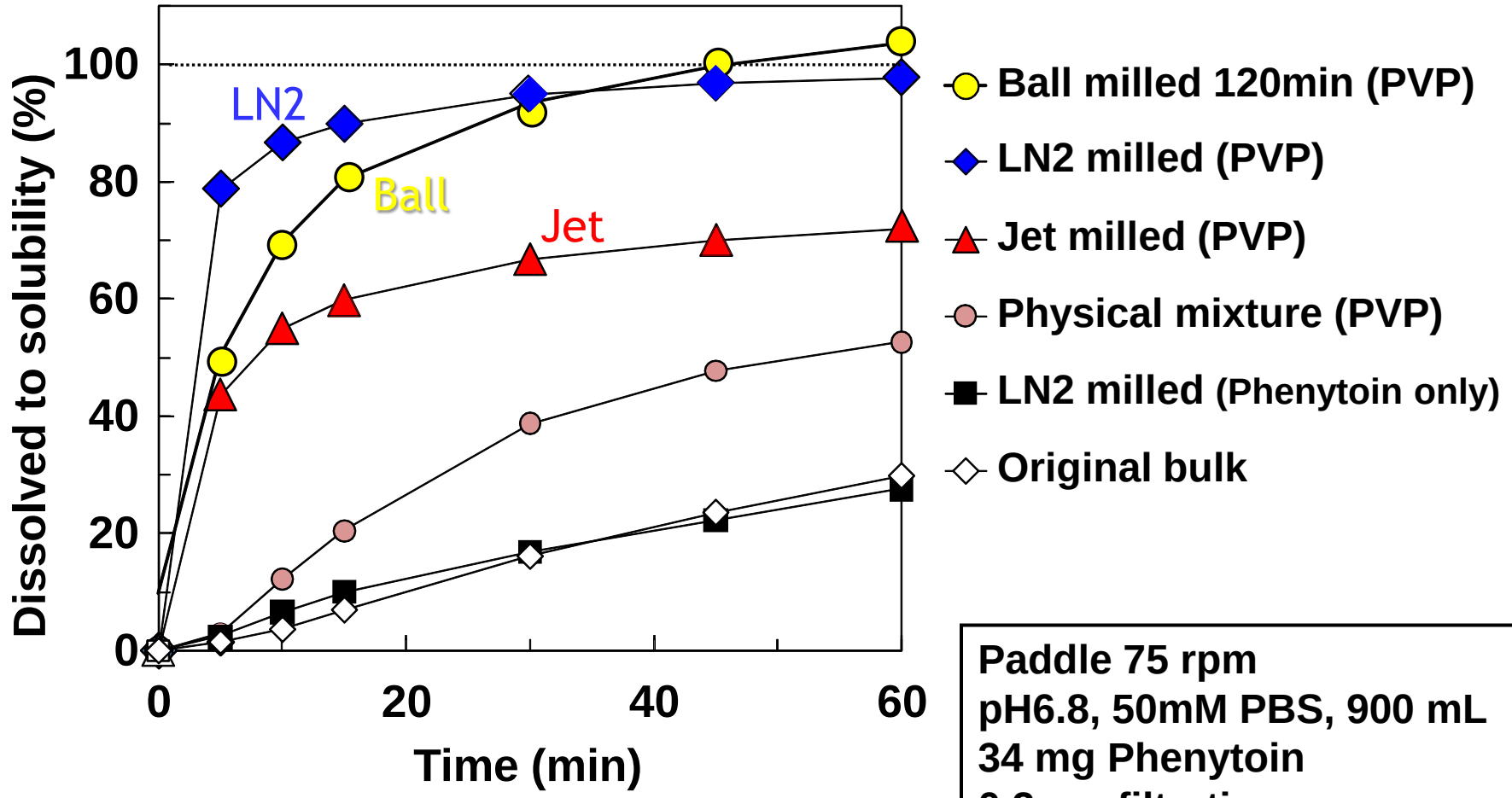


乾式測定

Samples	D10	D50	D90	Submicron%
Phy. Mix.	4.94	14.4	79.2	0.0
Jet milled	2.25	6.0	16.7	0.0
LN2 milled	0.94	3.6	14.7	14.4

Dissolution 混合粉砕品の溶出性

Phenytoin : PVP (1:1) co-milled



Paddle 75 rpm
pH6.8, 50mM PBS, 900 mL
34 mg Phenytoin
0.2 μm filtration

Crystallinity

modulated DSC

Samples	Tg (℃)	フェニトインの状態
Phe原末	–	結晶
PVP原末	164	–
Phe quenched	65	非晶質
Phe+PVP quenched	120	非晶質
Phe単独粉砕物（LN2 mill, Jet mill)	–	結晶
Phe+PVP co-ground（LN2 mill）	168	結晶
Phe+PVP co-ground（Jet mill）	166	結晶
Phe+PVP co-ground（Ball mill）	126	非晶質

LN2粉砕，ジェット粉砕：非晶質出現の兆候なし
遊星ボール粉砕：　　非晶質出現の兆候あり

強い衝撃処理を超低温中にて実施する→ 結晶性保持の観点から有利

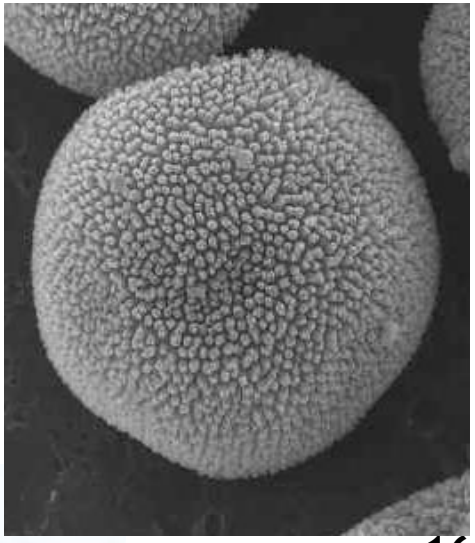
Part 3 Problem & Countermeasure

超低温粉砕品

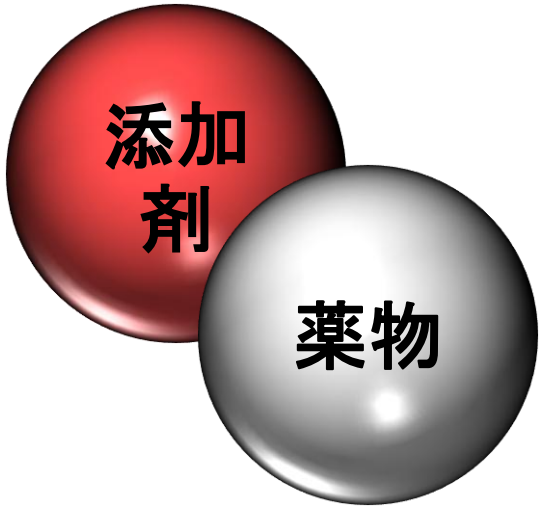
- 微細な粒子の凝集体
  → 粉体としてのハンドリング性に劣る
  → 引き続く製剤化工程に支障

乾式複合化処理

- 子粒子: 粉砕薬物粒子
- 母粒子: 10倍以上大きな添加剤粒子
  → オーダードミクスチャー(OM)を形成
  → 粉砕微粒子を展延して凝集解除

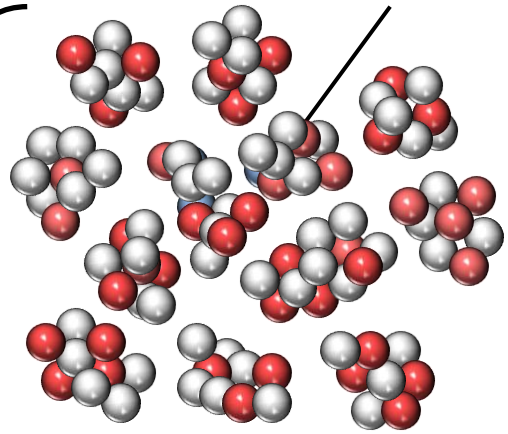


Concept of Ordered Mixture



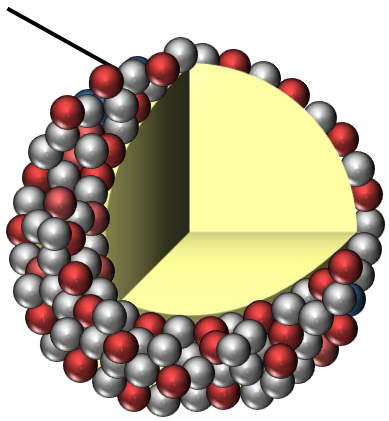
超低温粉砕

子粒子



乾式複合化

オーダードミクスチャー

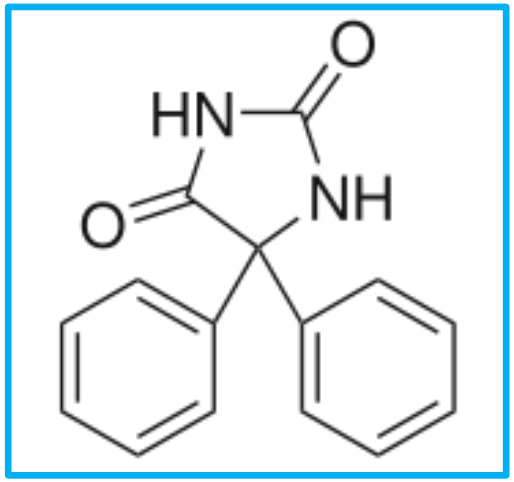


Materials

難水溶性モデル薬物

Phenytoin (Phe)

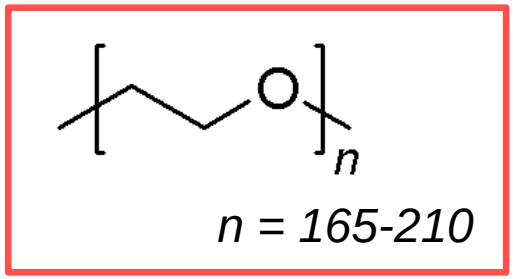
- 抗てんかん薬
- 融点：296℃
- 溶解度：30 mg/L（水，25℃）
- オーダードミクスチャー形成における子粒子



混合粉砕添加剤

Polyethylene glycol 6000 (PEG)

- 水溶性高分子
- 凝固点：56-61℃
- 白色粉末状
- Pheと共に粉砕し，親水化



母粒子

Celphere (CP-102, Asahi Kasei Chemicals) 平均粒子径 150 μm

Nonpareil (NP-108, Freund) 平均粒子径 100 μm

Corn starch (CS, Nihon Cornstarch) 平均粒子径　20 μm

Formulation

Ultra cryo-milling

Formulation

Milled 1:1	
Phe	7.5 g
PEG	7.5 g
ジルコニアビーズ(1.0 mmϕ)	50 mL
液体窒素	揮発分を添加補充
	400 mLジルコニア容器

Milled 1:0	
Phe	15.0 g
PEG	–
ジルコニアビーズ(0.6 mmϕ)	100 mL
液体窒素	揮発分を添加補充
	400 mLジルコニア容器

Condition

前処理条件

300 rpm, 5 min

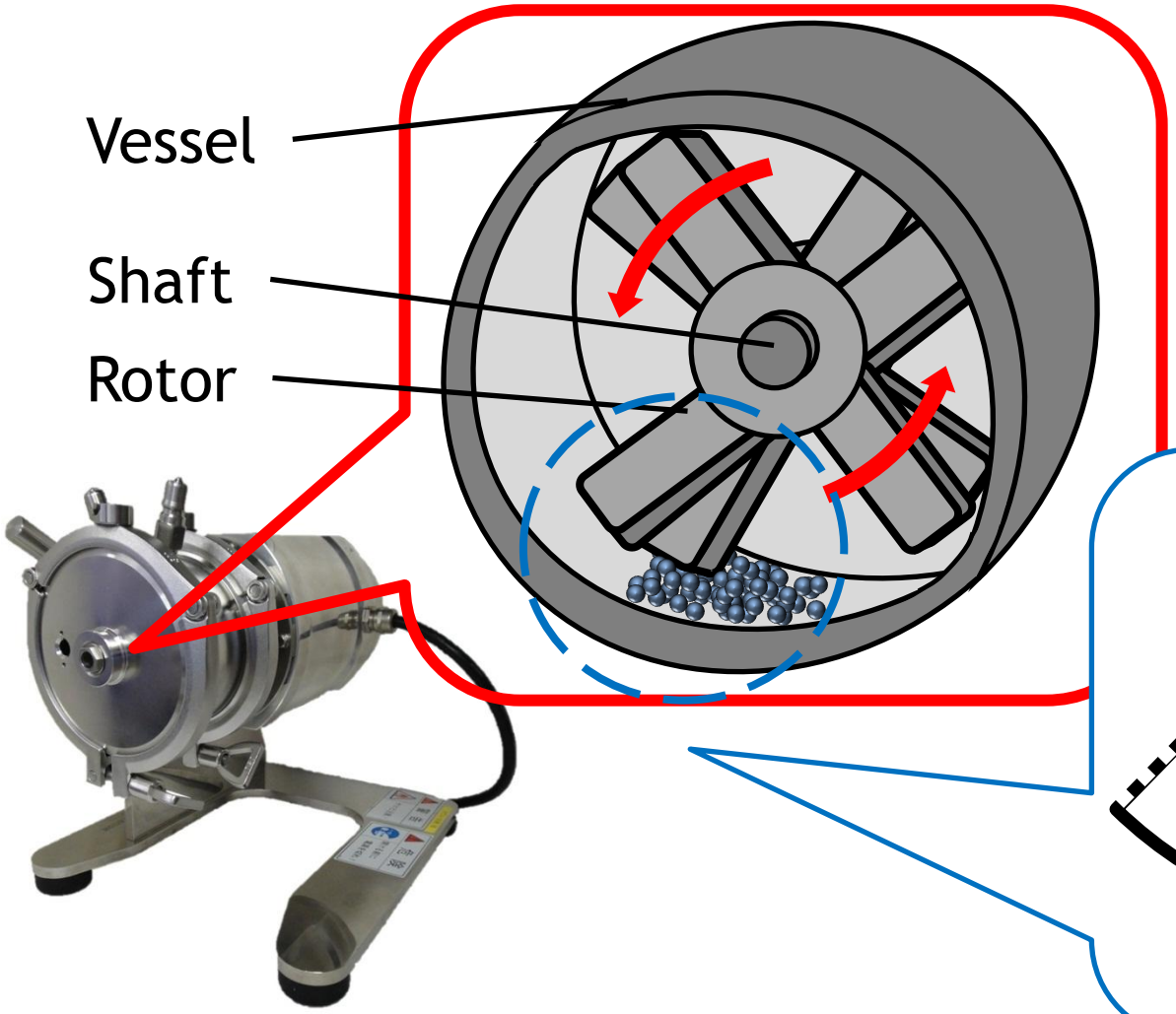
粉砕条件

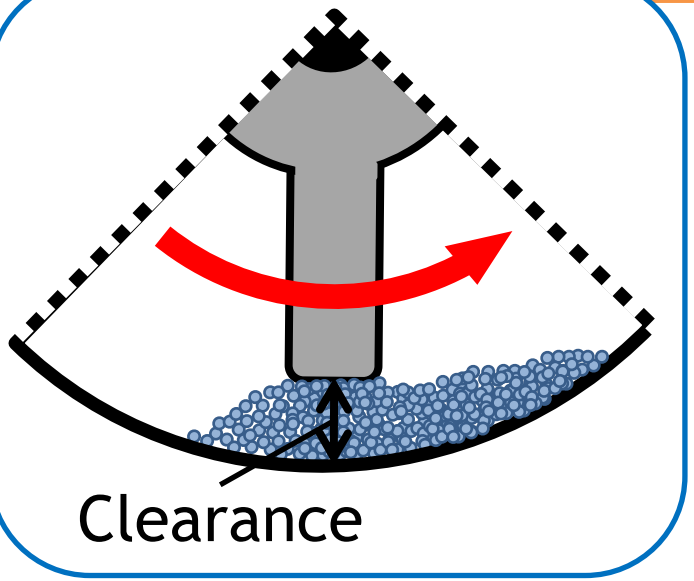
1600 rpm, 15 min

Preparation Dry composite mixing

ノビルタ　NOB-MINI　(ホソカワミクロン)

容器向き		横向き運転
クリアランス		1 mm
回転数	CS	3000 rpm
	NP, CP	2000 rpm
処理時間		10 min
冷却水還流		20℃
装置内温度		20.5-23.3℃
エアーパージ流量		3.2 L/min





Formulation Dry composite mixing

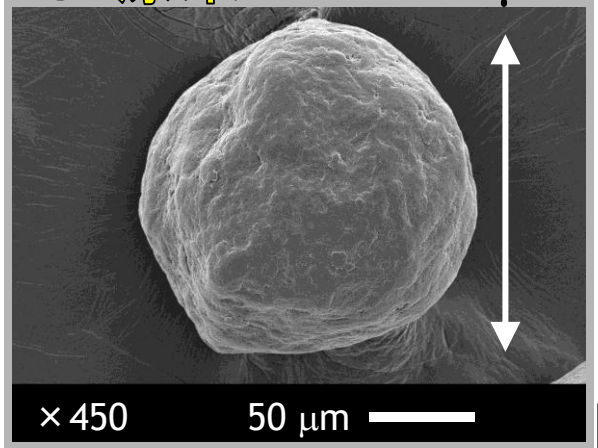
母粒子: Phe = 9:1 に固定

Sample	CS	NP	CP	Milled		比率 （母粒子：Phe：PEG）	投入量 （かさ体積）
				Phe	PEG		
CS 9:1:1	11.7 g	-	-	1.3 g	1.3 g	9 : 1 : 1	30 mL
CS 9:1:0	11.7 g	-	-	1.3 g	-	9 : 1 : 0	30 mL
NP 9:1:1	-	9.4 g	-	1.05 g	1.05 g	9 : 1 : 1	20 mL
NP 9:1:0	-	11.25 g	-	1.25 g	-	9 : 1 : 0	20 mL
CP 9:1:1	-	-	11.29 g	1.255 g	1.255 g	9 : 1 : 1	20 mL
CP 9:1:0	-	-	13.16 g	1.46 g	-	9 : 1 : 0	20 mL

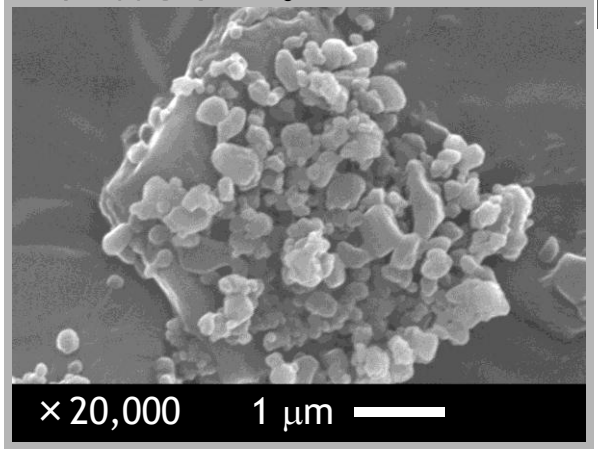
Morphology

Celphere (mean diameter 150 μm)

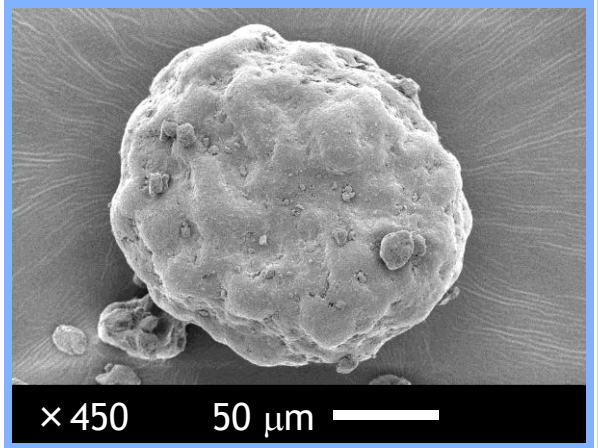
CP原末 150 μm

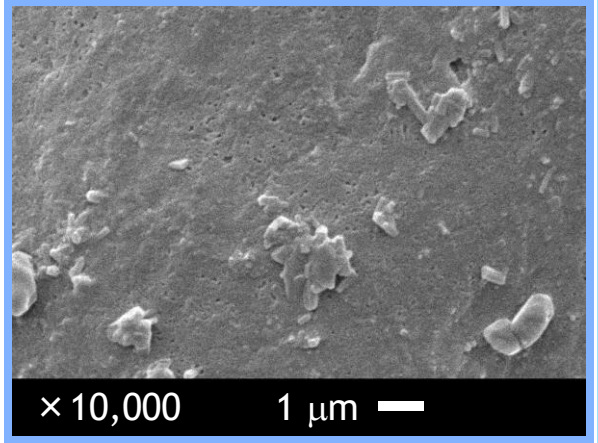


Milled 1:1

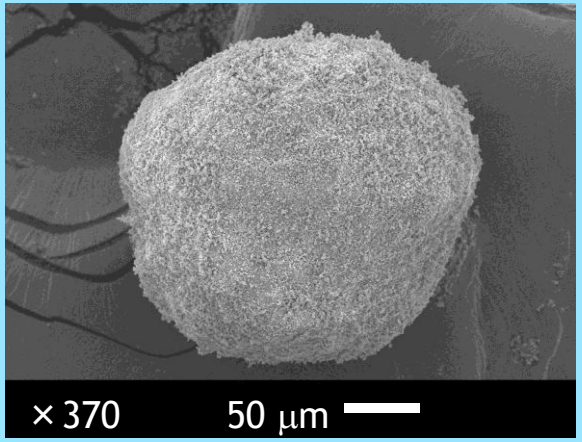


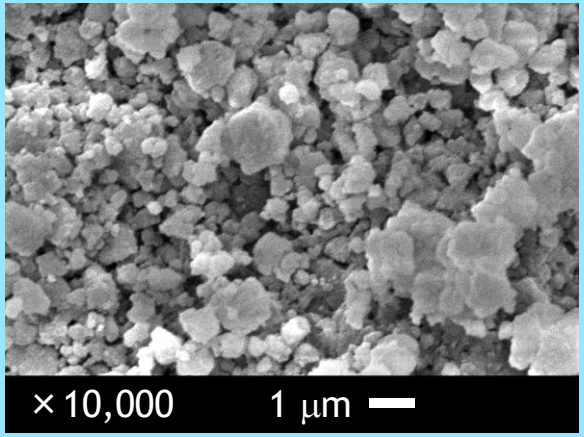
CP 9:1:1





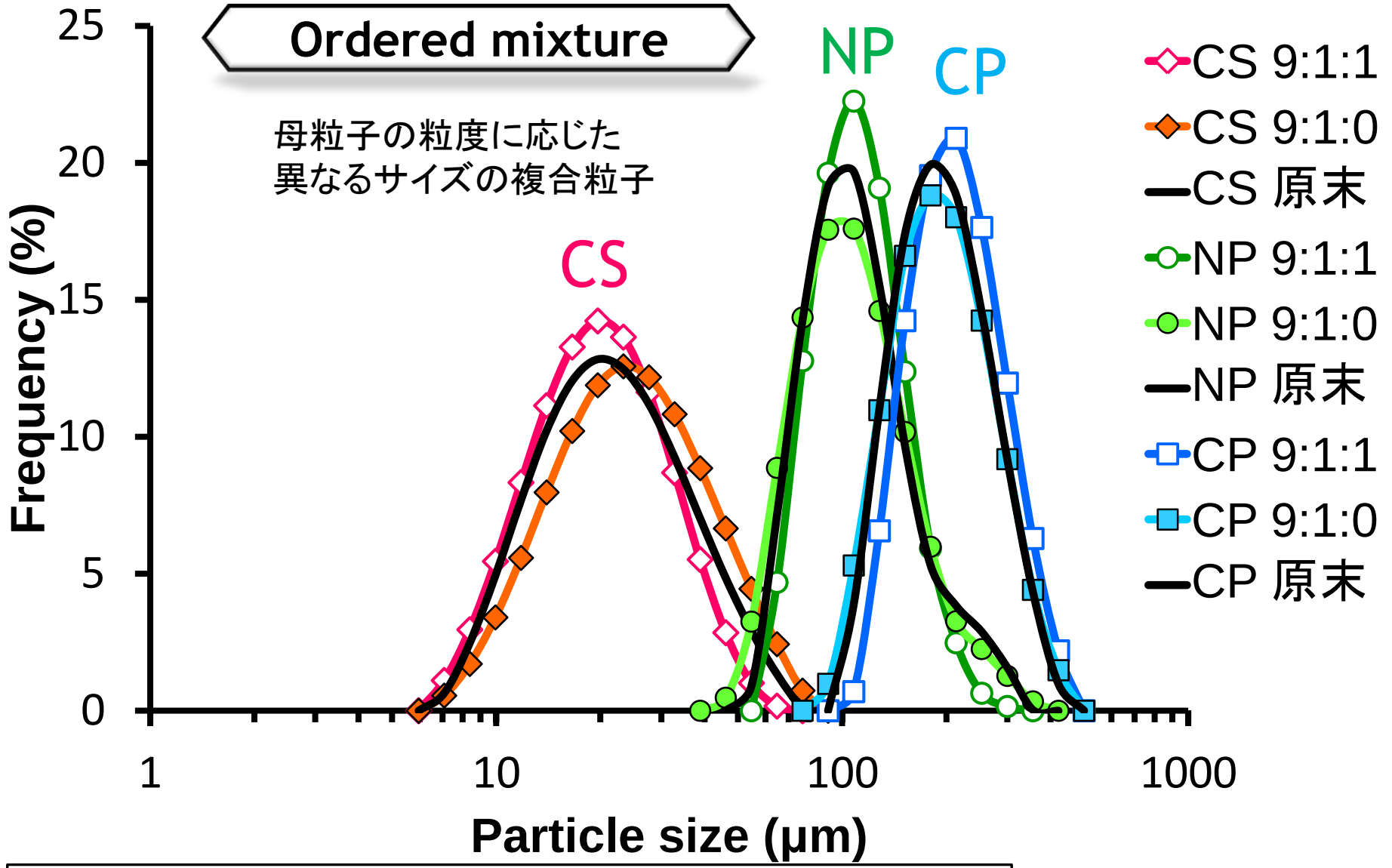
CP 9:1:0





Particle size distribution

CS / NP / CP



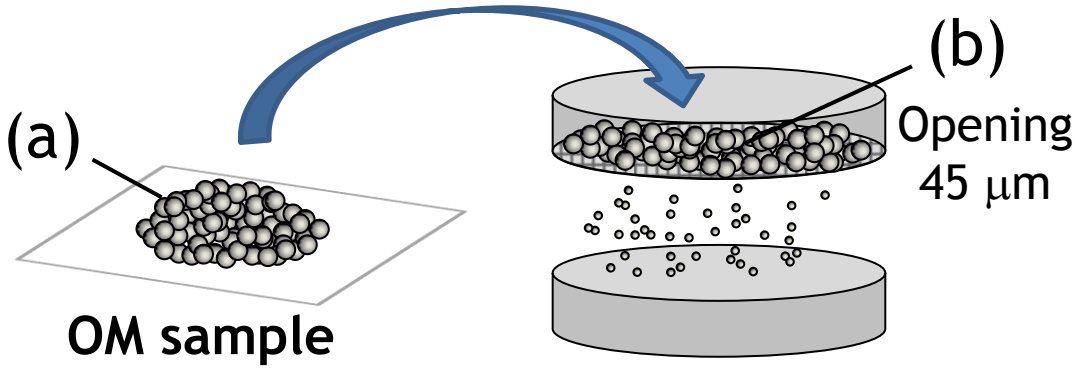
XRPD: 粉砕＋複合化処理後，結晶性に変化なし

Coating %

複合品への薬物の被覆率

複合化処理品を エアー・ジェット法（SPIN AIR SIEVE, Seishin Enterprise）により ふるい分け，複合化されなかった粉砕品を取り除き，定量

Sieve size	Vacuum pressure	Air flow type	Time
45 μm	1.5 kPa	Cyclon	60 sec



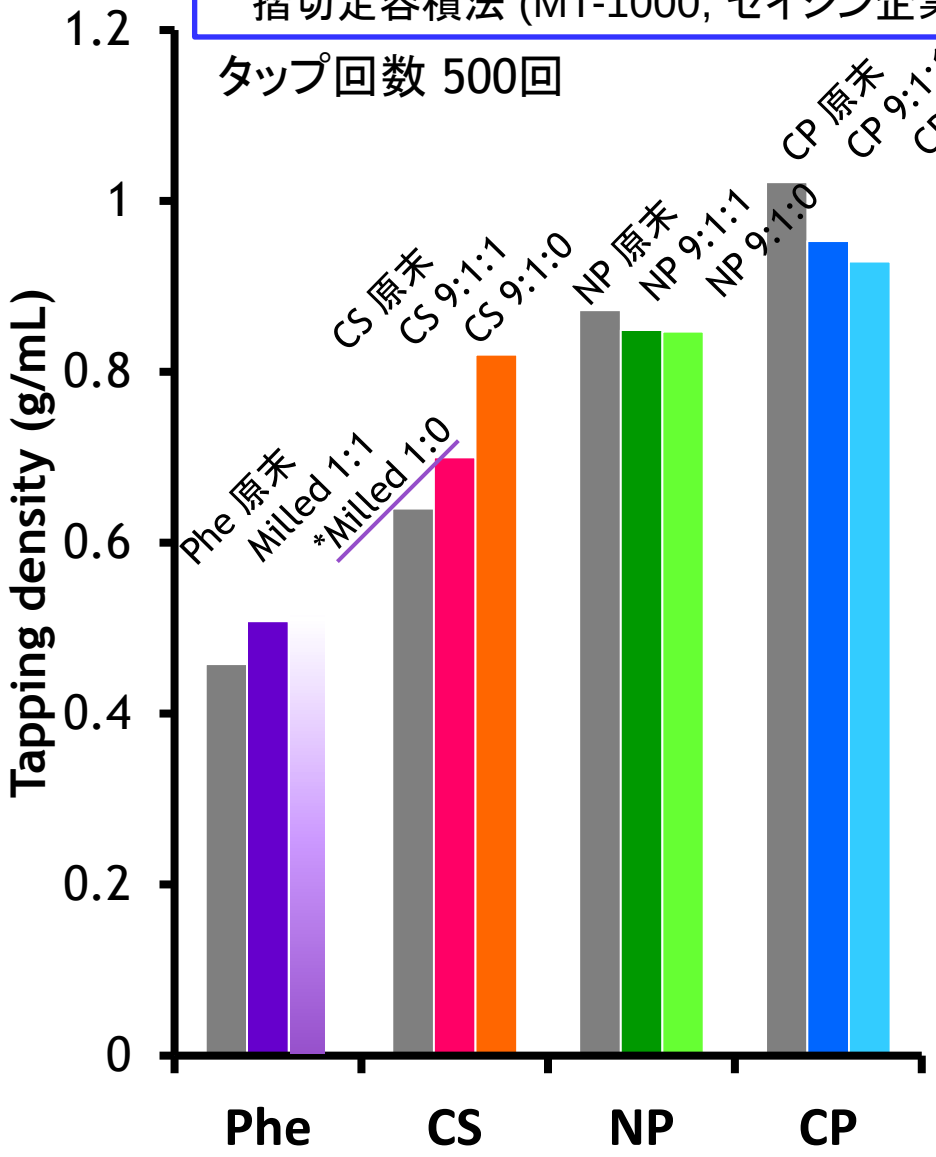
Sample	コーティング率*
CP 9:1:1	93.74%
CP 9:1:0	85.94%
NP 9:1:1	85.00%
NP 9:1:0	78.11%
CS 9:1:1	
CS 9:1:0	

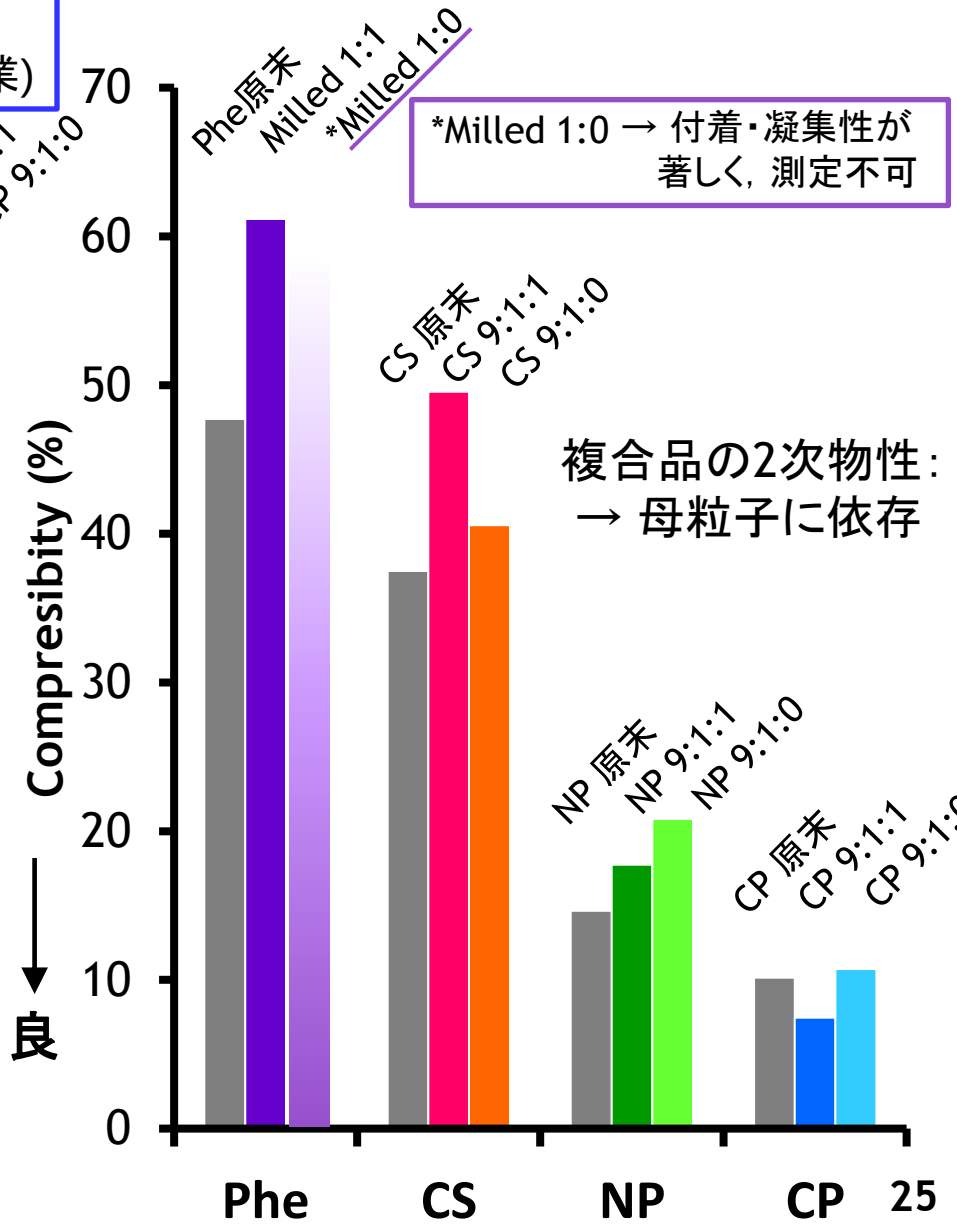
$$\text{コーティング率} = \frac{\text{ふるいに残ったSample中の薬物含量} \quad \cdots(b)}{\text{ふるい分け前のSample中の薬物含量} \quad \cdots(a)}$$

Micromeritics

2. Packability（タップ密度）（圧縮度）

密度（ゆるめかさ密度，タップ密度）
摺切定容積法 (MT-1000, セイシン企業)
タップ回数 500回

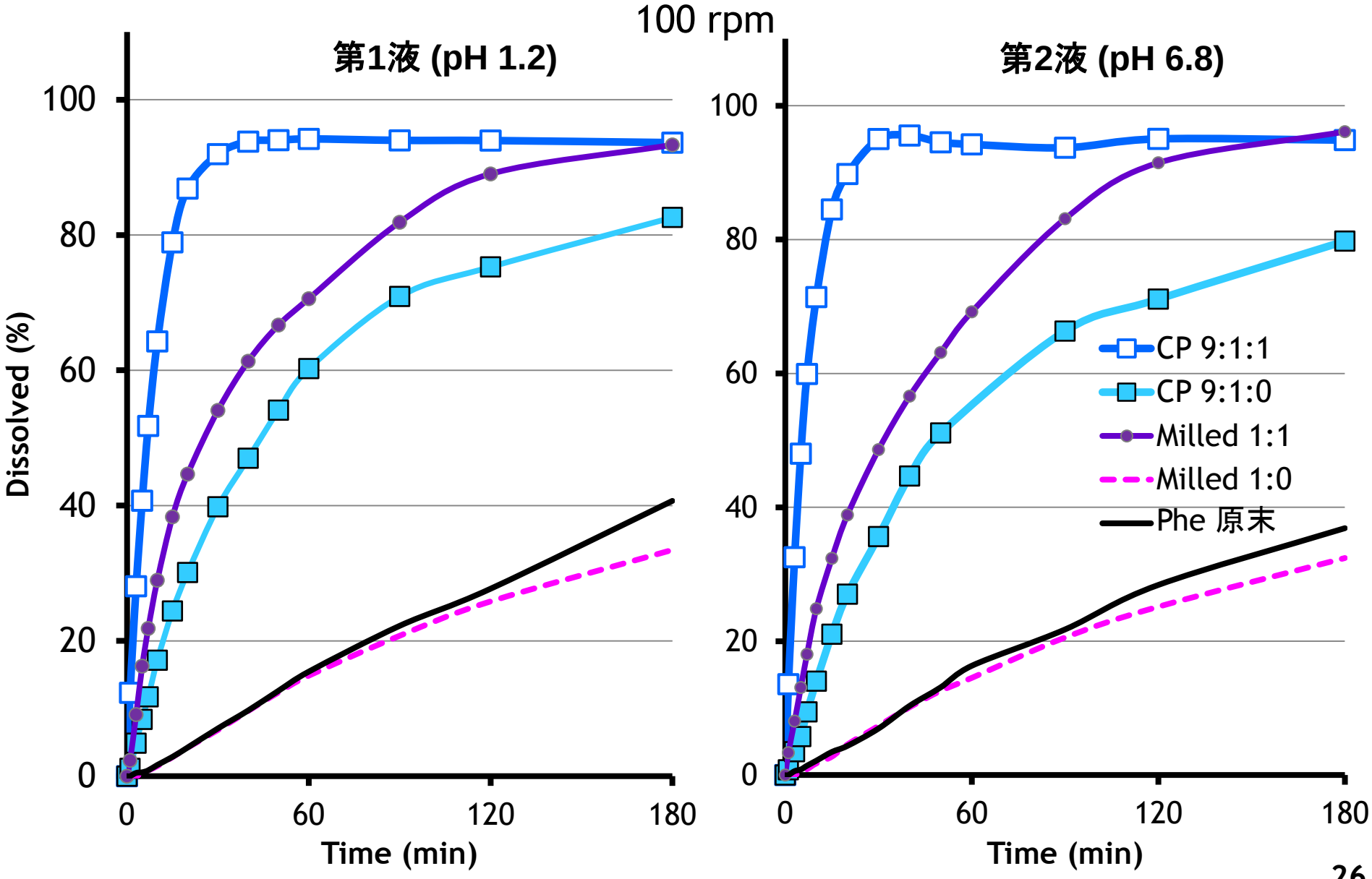




*Milled 1:0 → 付着・凝集性が著しく，測定不可

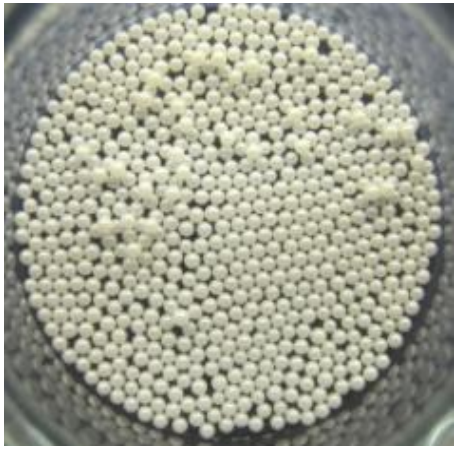
複合品の2次物性：
→ 母粒子に依存

Dissolution Celphere



Part 4 Risk & Countermeasure

ビーズ粉砕の問題点

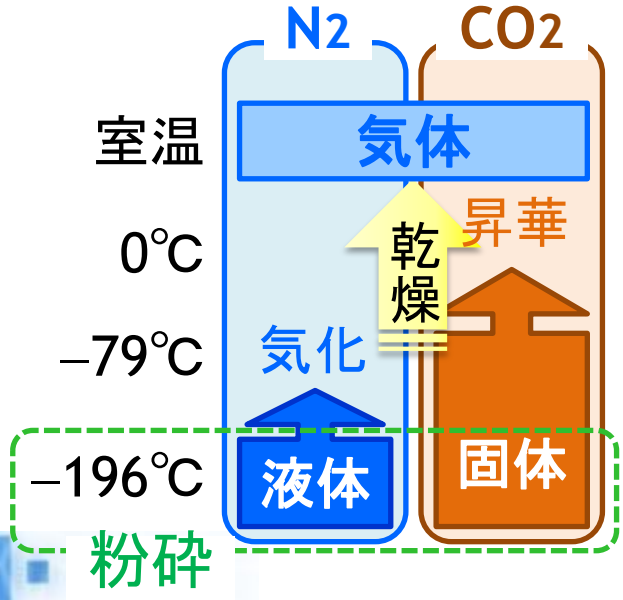


- ビーズの摩耗による異物の混入
  → 安全性の観点からの危惧
  → 製品の品質管理に多大な労力

異物を発生しない粉砕系の開発

- 粒状ドライアイス
  - 昇華温度: –79 °C

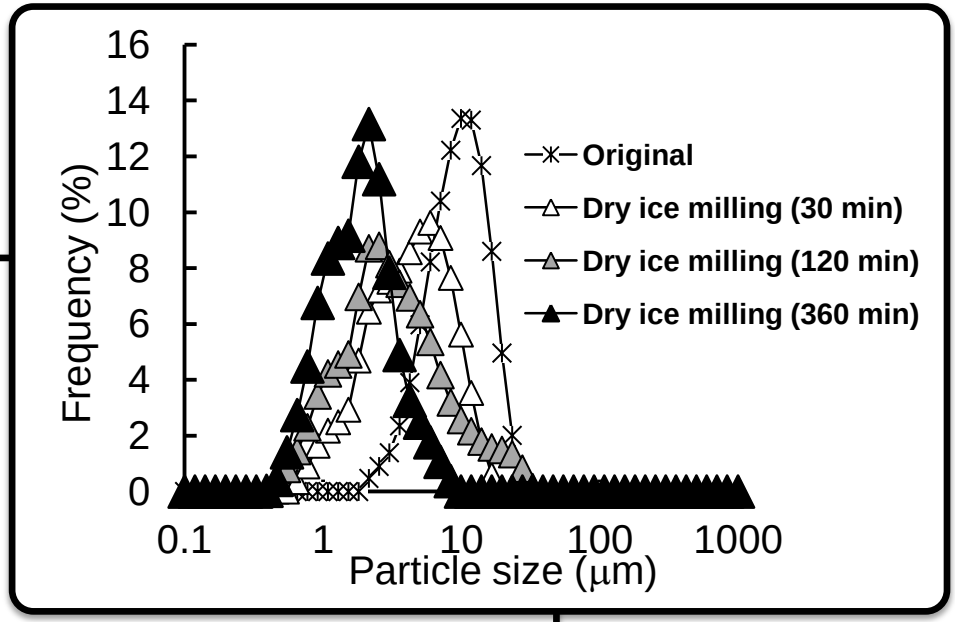
  → LN2中で固体（粉砕媒体）
  → 粉砕後は自然昇華，残留しない



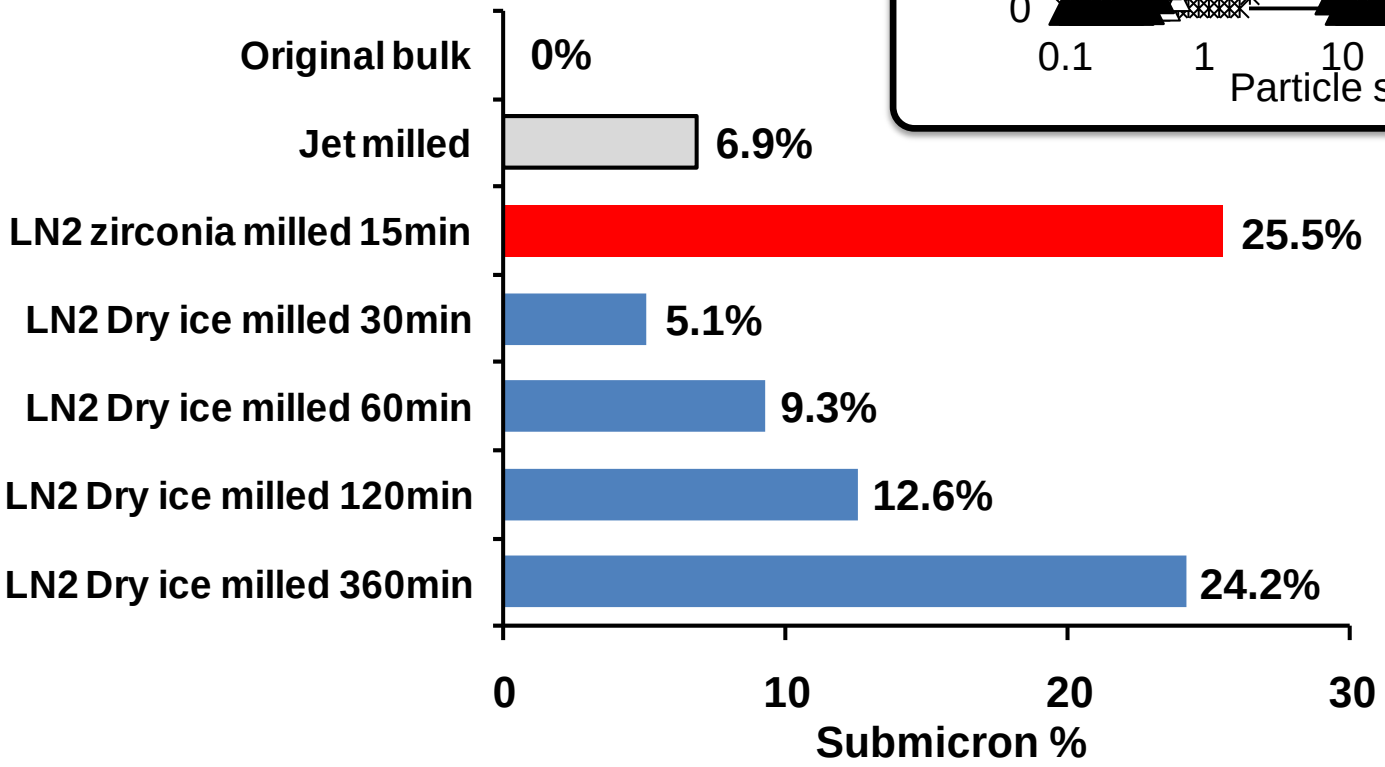
Micronization

粉砕品のサブミクロン率

Phenytoin



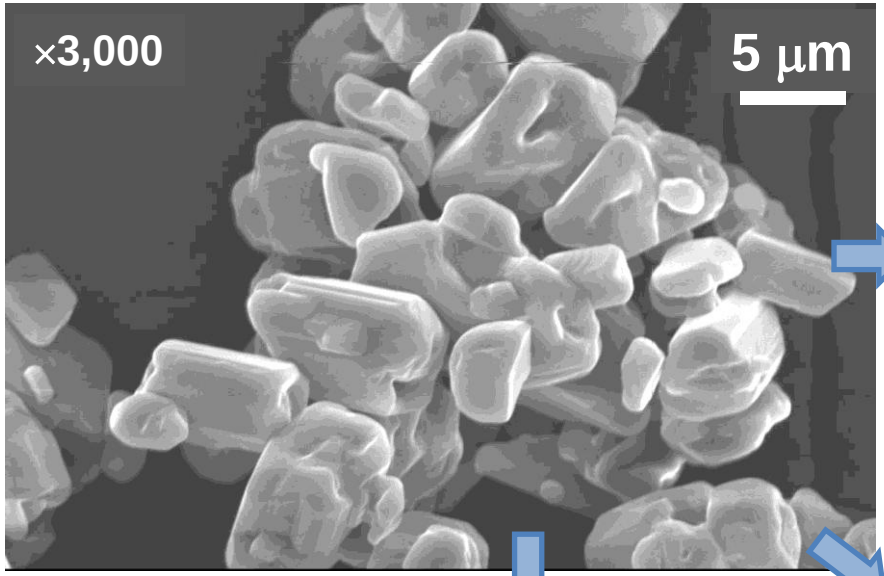
レーザー回折散乱式粒度分布装置
0.4 MPaにて気中分散



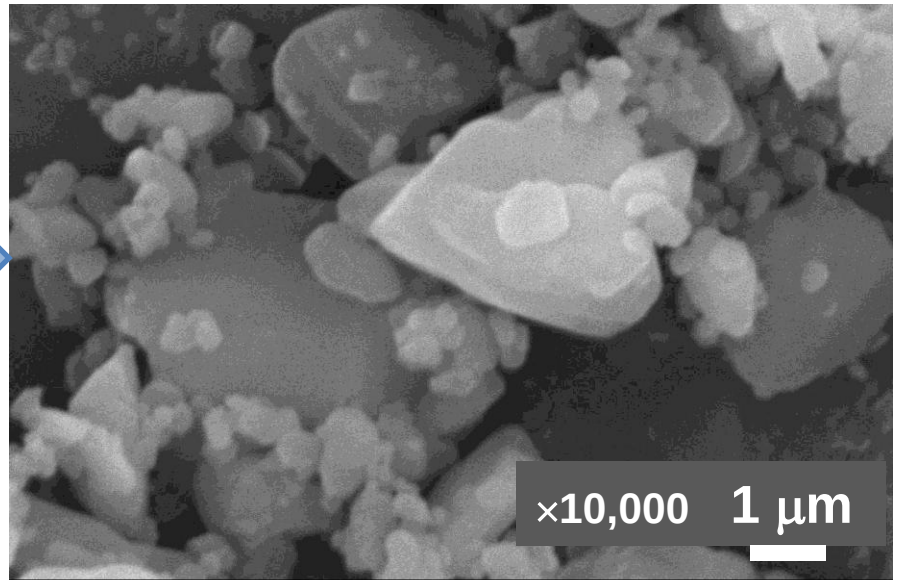
Morphology

粉砕前後の粒子状態

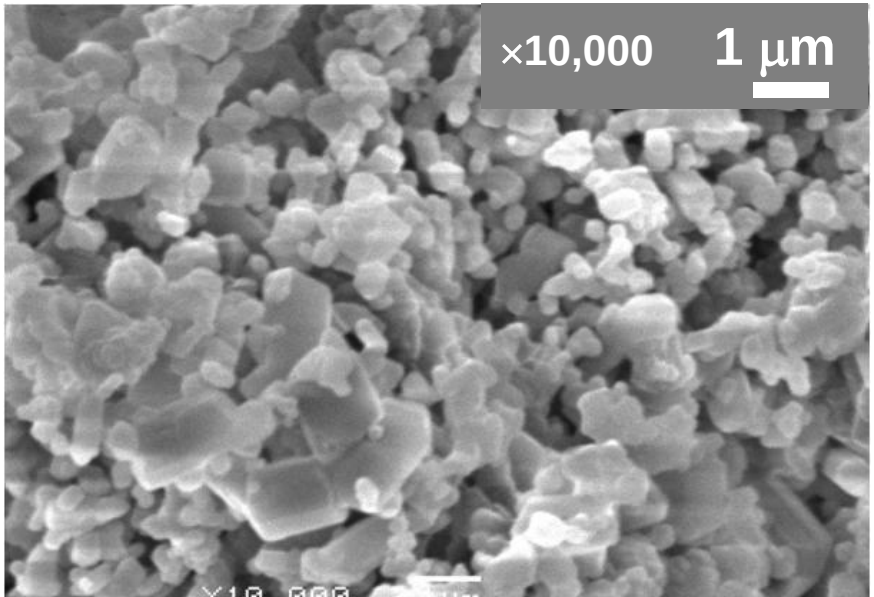
フェニトイン原末



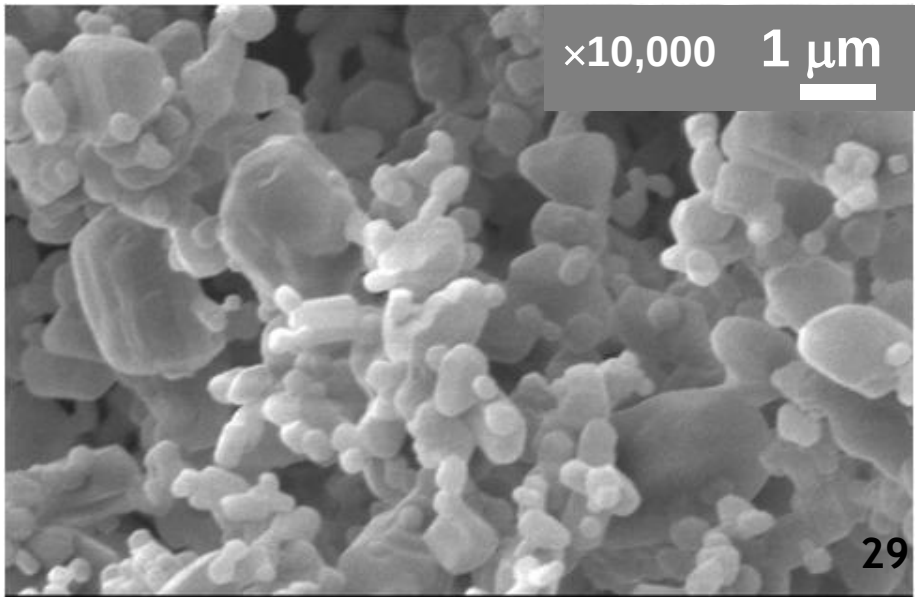
ジェットミル粉砕



ジルコニア粉砕（15分）

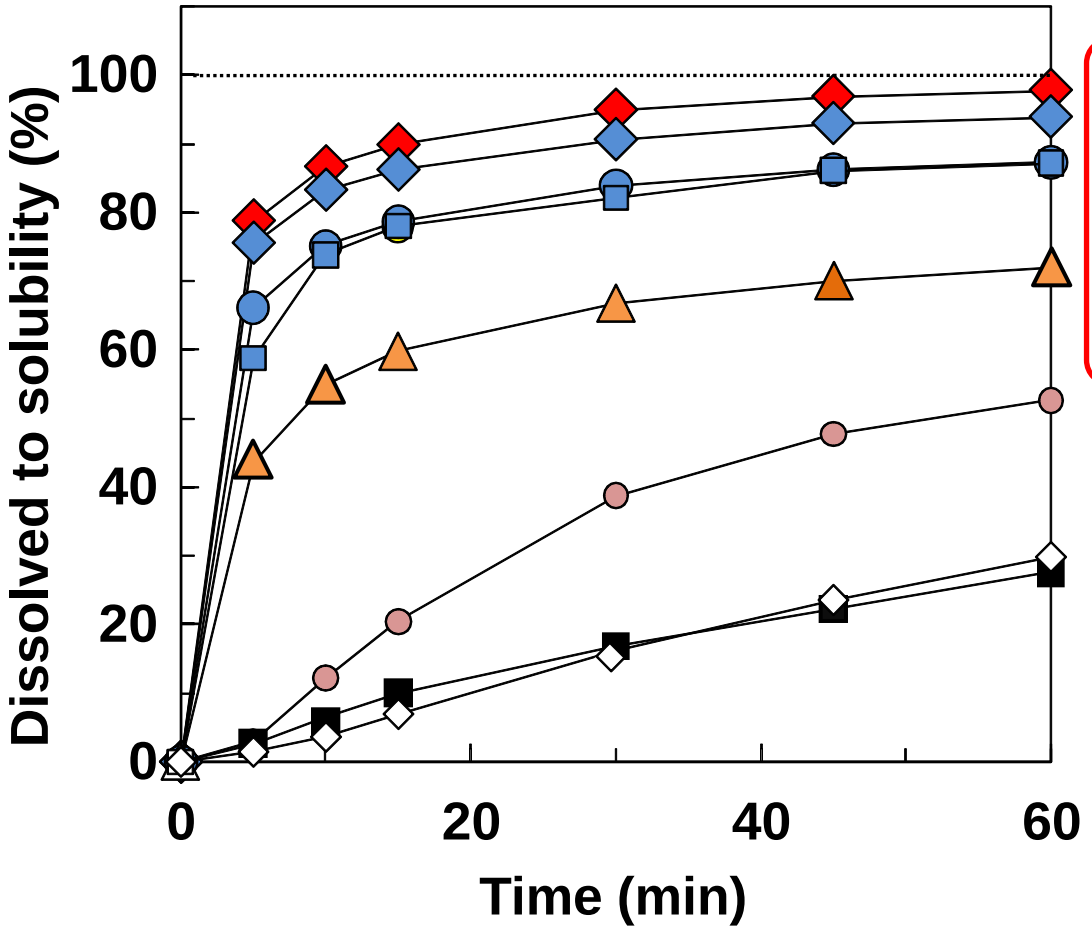


ドライアイス粉砕（360分）



Dissolution 粉砕品の溶出性（Phenytoin）

Phe:PVP（1:1）混合粉砕



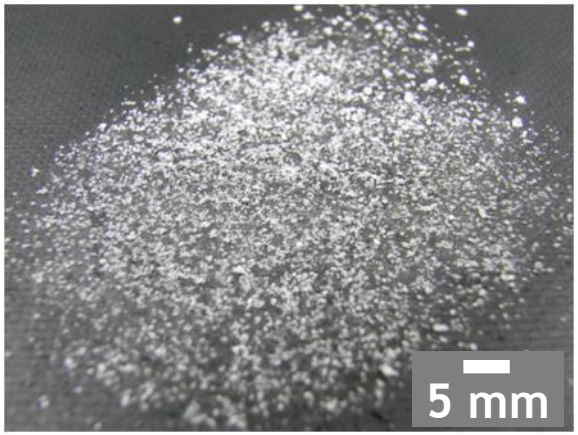
LN2 milled

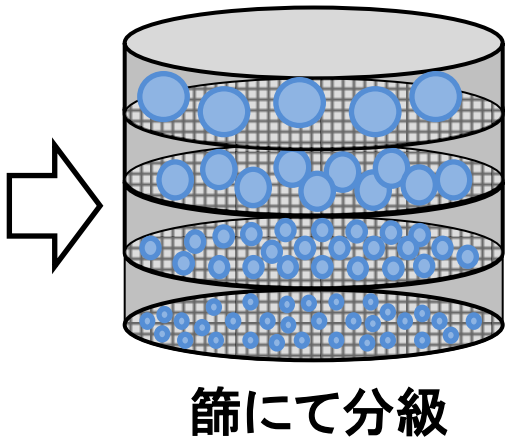
- Zirconia milled 15 min (PVP)
- Dry ice milled 360min (PVP)
- Dry ice milled 120min (PVP)
- Dry ice milled 30min (PVP)
- Jet milled (PVP)
- Physical mixture (PVP)
- Zirconia milled (Phenytoin only)
- Original bulk

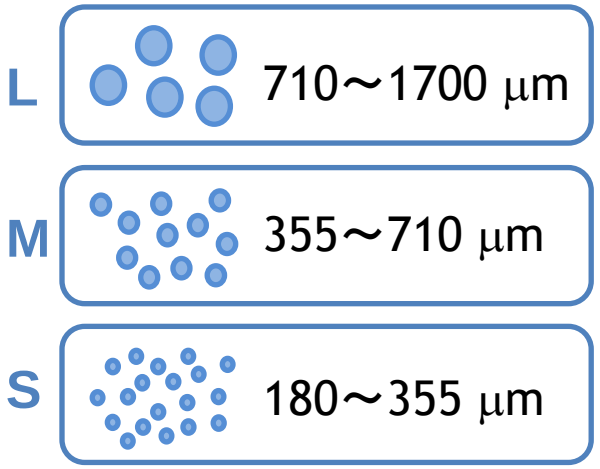
Paddle 75 rpm
pH6.8, 50mM PBS, 900 mL
34 mg Phenytoin
0.2 μm filtration

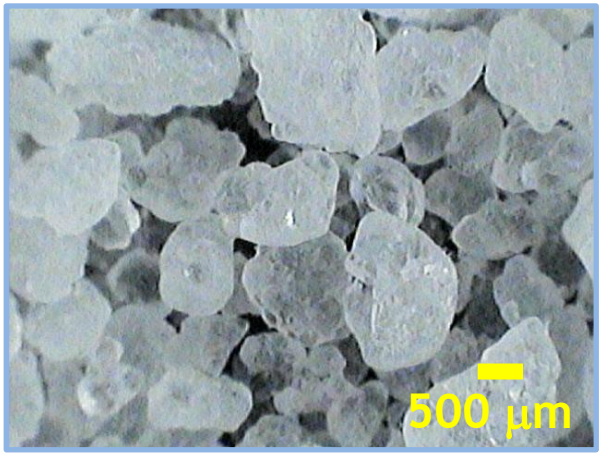
Beads factor

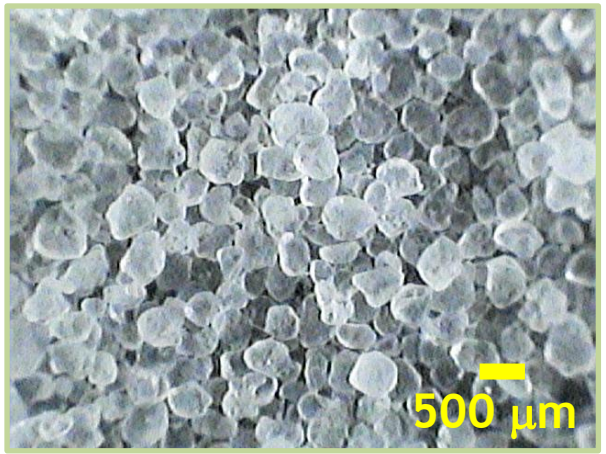
ドライアイスビーズによる粉砕過程

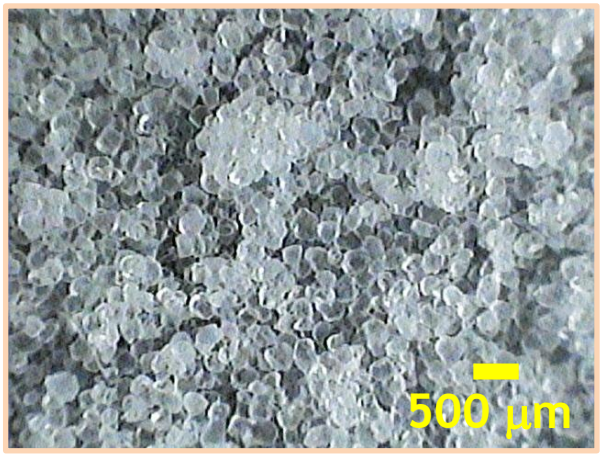








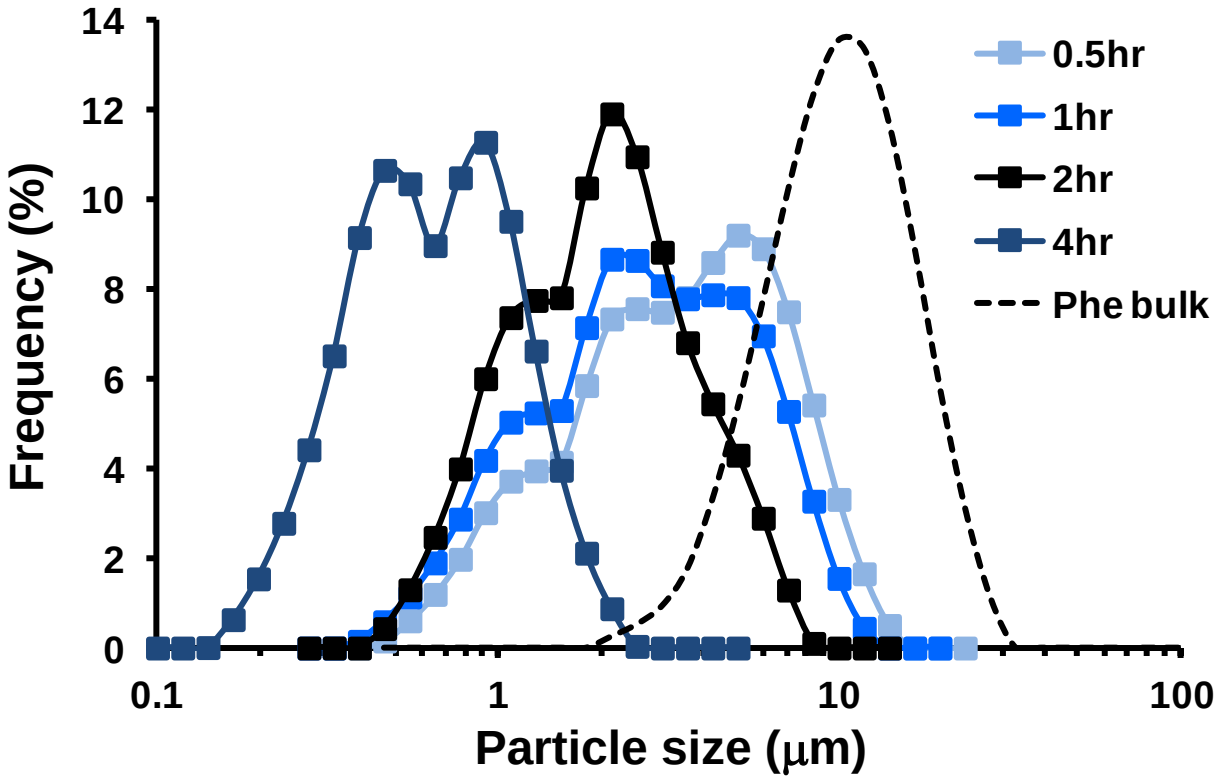


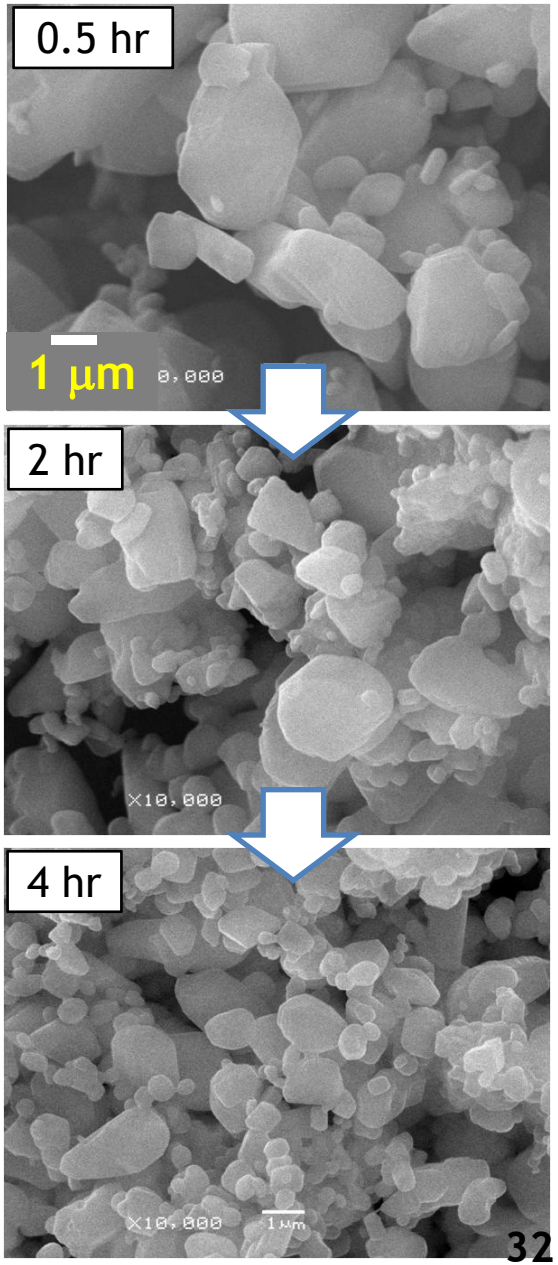


Beads size	Large	Middle	Small
D10 (μm)	812	404	265
D50 (μm)	1141	469	297
D90 (μm)	1570	542	332

Beads factor

粉砕結果(1): 粉砕時間による影響

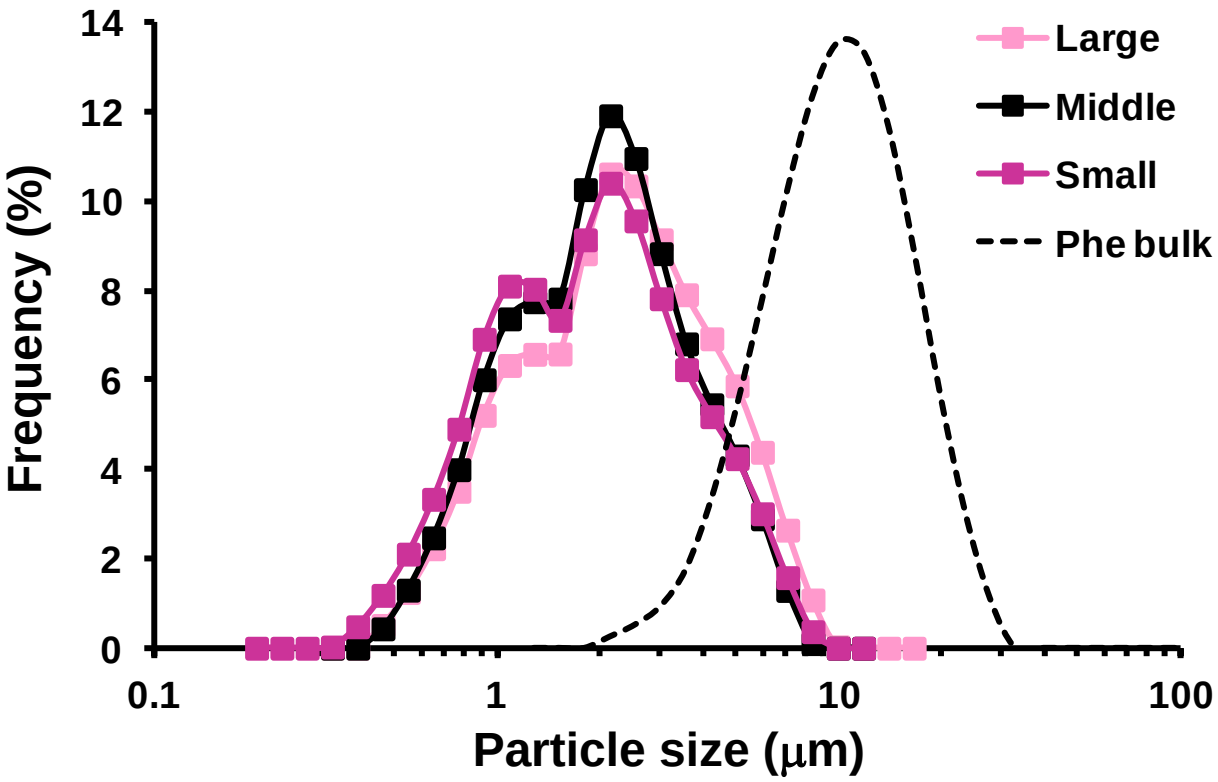


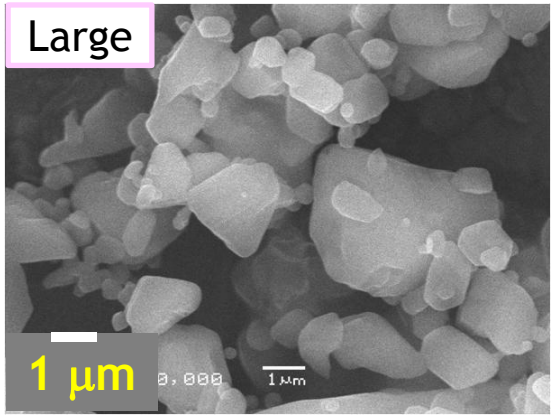


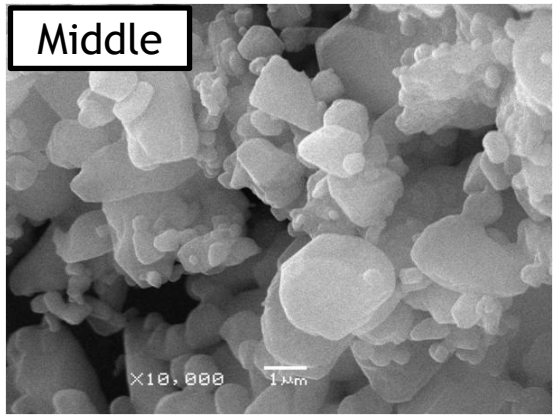
Mill time	D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)	Submicron%
Phe bulk	4.80	9.23	16.48	0
0.5 hr	1.05	3.22	7.25	10.68
1 hr	0.89	2.50	6.06	15.88
2 hr	0.82	1.88	4.04	21.58
4 hr	0.66	1.39	2.77	35.73

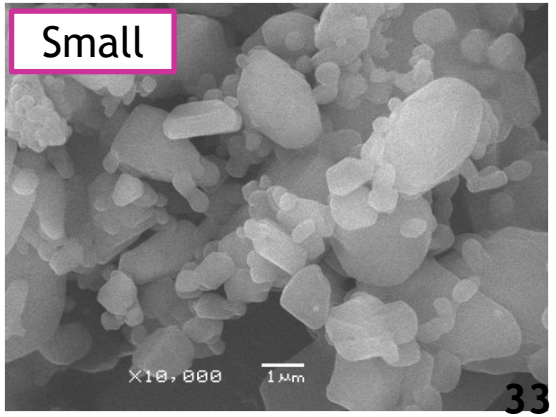
Beads factor

粉砕結果(2): ビーズ径による影響







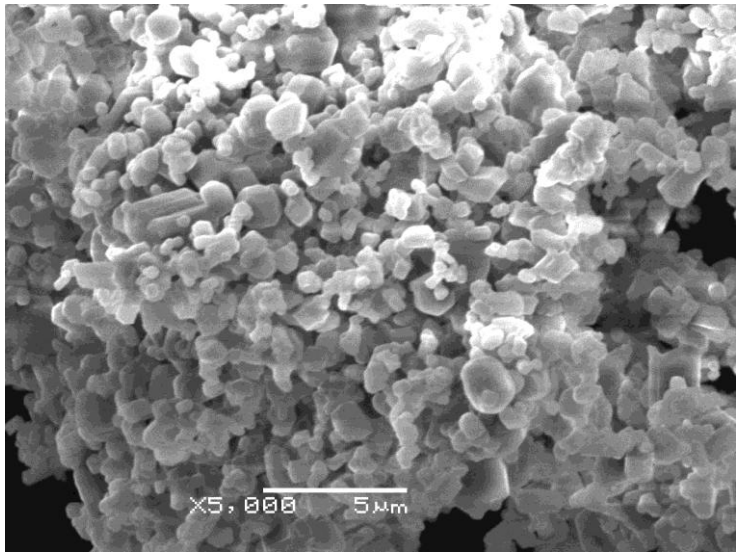


Beads size	D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)	Submicron%
Phe bulk	4.80	9.23	16.48	0
Large	0.84	2.09	4.74	19.04
Middle	0.82	1.88	4.04	21.58
Small	0.73	1.76	4.13	27.06

Contamination 混入ジルコニウム（Zr）量

ジルコニウム（Zr）の高感度ICP-MS測定
（誘導結合プラズマ-質量分析）

フェニトイン単独粉砕品



結果
残留Zr（ジルコニウム）量

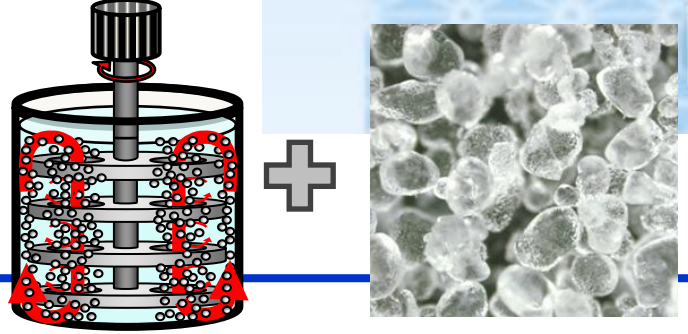
ZrO_2粉砕	CO_2粉砕
0.32 ppm	< LOD*

*LOD: limit of detection

【前処理】
- 試料0.1 gに硫酸を添加
- 80℃加熱硝酸を滴下し分解＆溶解
- 超純水で希釈し一定重量とした

【測定】
- 検出限界　0.02 ppm
- MS測定　（MW 91.22）

Conclusion



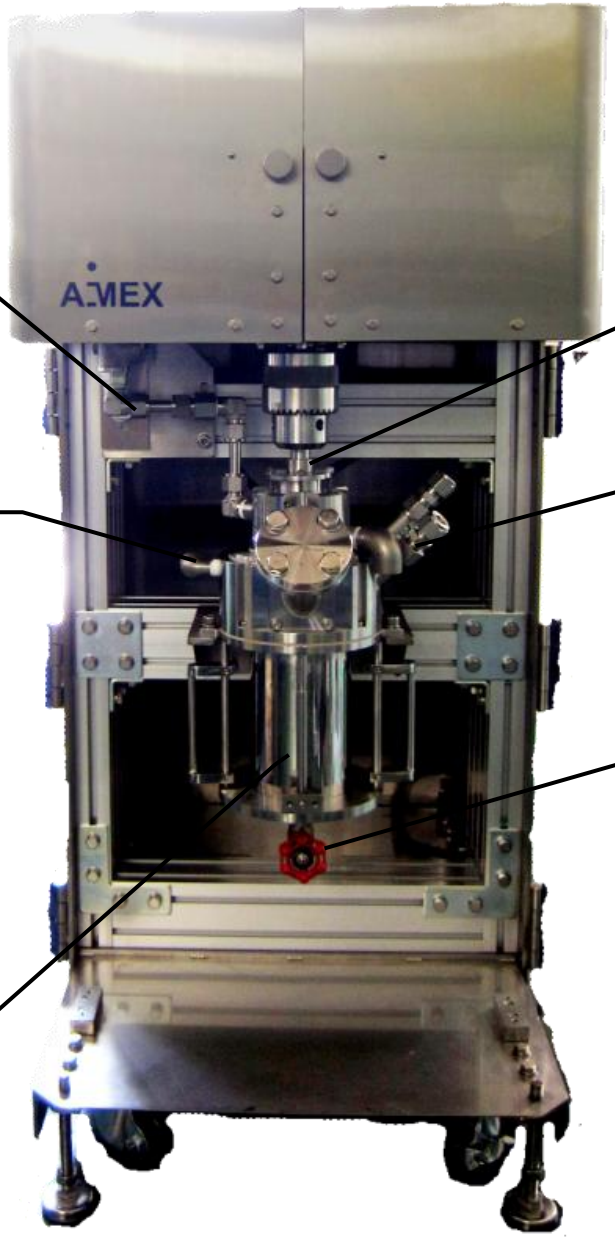
ドライアイスビーズの採用

- 超低温粉砕時に粉砕媒体として機能
- ビーズの摩耗による異物混入のリスクを回避
- ビーズ洗浄・分別工程が不要（工程の簡略化）
- ビーズへの付着がなく，製品回収率の向上

新規な微細化技術として製薬産業における実用化が期待

超低温装置: 特徴と機能 LNM-08

AIMEX



- ✓ 圧力調整弁搭載で過大圧力防止
- ✓ 窒素ガスの排気機構で窒息防止
- ✓ 試料10～100ｇの少量粉砕
- ✓ 取外し可能シャフトだから簡単洗浄
- ✓ 液体窒素を自動充填
- ✓ バルブ操作にて試料を簡単回収

アイメックス㈱ブースにて出展中