

令和2年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」研究報告

吸入剤における Time-of-Flight の原理に基づく簡便な空気力学的粒度測定法に関する検討

—多孔性粒子から構成される吸入剤への適用*²

秋田 智后*¹, 宮本 佳保里*¹, 山下 親正*^{1, #}

Simple Method to Measure the Aerodynamic Particle Size Distribution Based on the Time-of-Flight; Application to Inhalation Composed of Porous Particles *²

Tomomi AKITA *¹, Kahori MIYAMOTO *¹ and Chikamasa YAMASHITA *^{1, #}

Summary

There is a need to include a general test method in JP that can quickly measure inhalation characteristics for process control and quality control at the manufacturing sites of pharmaceutical companies. However, at present, it is difficult to measure a sample quickly by means of the aerodynamic particle size measurement method listed in JP. Furthermore, although it is expected that inhalations having porous particles will be put on the market, a simple method to measure aerodynamic particle size for evaluation of the inhalation characteristics has not been established. Therefore, the purpose of this study is to obtain basic information for establishing a simple method for DPI to measure aerodynamic particle size distribution, which is correlated with the results of inhalation characteristic tests of JP. A dispersion attachment was added to an aerodynamic particle sizer (APS) so that formulations could be dispersed under the same conditions as used for the multi-stage liquid impinger (MSLI). Then, we examined the correlation between MSLI and APS using lyophilizate for DPI formulations that generate porous particles on inhalation. It is difficult to accurately determine the aerodynamic particle size distribution of porous particles by APS due to the difficulty in estimating the particle density. However, there was a significant correlation ($r = 0.9962$, $p = 0.0002$) between MSLI and APS results when the particle density settings for APS measurement was calculated by using a conversion factor of 3.75, based on the result of MSLI. A large number of samples can be measured in a short time by using APS with a dispersion attachment and this conversion factor, thereby enabling more efficient optimization of dry powder inhalers.

Key words

Dry powder inhalation, Aerodynamic particle size distribution, Time-of-flight measurement, Porous particles

*1 東京理科大学薬学部DDS・製剤設計学 千葉県野田市山崎2641 (〒278-8510)

Department of Pharmaceutics and Drug Delivery, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science, 2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan

*2 本研究は一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団の令和2年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」事業により行ったものである。

責任著者 Corresponding author

1 緒言

第十七改正日本薬局方 (JP17) 第一追補において、吸入剤の特性を規定する一般試験法 (吸入剤の送達量均一性試験及び吸入剤の空気力学的粒度測定法) が設定された。空気力学的粒子径は粒子の形状や粒子密度を考慮した粒子径であり、式 (1) で定義され¹⁾、 ρ_p と ρ_0 はそれぞれ粒子密度と真密度であり、 χ は形状係数である。

$$\text{Aerodynamic diameter} = \text{Geometric diameter} \times \sqrt{\frac{\rho_p}{\rho_0 \chi}} \quad (1)$$

日本薬局方の空気力学的粒度測定法は定量的な測定方法であり、吸入剤の吸入特性やデバイスの性能を明確化できる点で重要な試験法である。しかし、この試験方法では、わずかな検体数でも多くの時間を必要とするため²⁾、多数の検体を迅速に測定することは難しいという側面がある。近年、製薬企業の製造現場においては、工程管理や品質管理のために吸入特性を迅速に測定できる、空気力学的粒度測定法の日本薬局方への取載が望まれている。また、多孔性粒子を有する吸入粉末剤 (Dry powder inhaler; DPI) の上市が予想されるものの、このような吸入剤の吸入特性を評価できる簡便な空気力学的粒度測定法が確立されていない。特に、飛行時間 (Time of flight; TOF) の原理に基づいた多孔性粒子を用い

たDPIの空気力学的粒度測定に際しては、多くの検体を短時間で測定できるが^{2, 3)}、測定結果は粒子密度の影響を大きく受けるため⁴⁻⁶⁾、デバイスから放出される粒子の正確な粒子密度を算出することが重要である。

そこで本研究では、日本薬局方の空気力学的粒度測定法と相関性のある、多孔性粒子のDPIの簡便な空気力学的粒度測定法を確立するための基礎的な情報を得ることを目的に検討を行った。本方法の確立は、生産工場での工程管理や品質管理だけでなく、多数の検体の迅速な測定を必要とするQuality by Designに基づく吸入剤の処方最適化を含む製剤開発に非常に役立つ試験法となり、実用的にも基礎的にも多大な貢献が期待できる。まず、代表的な空気力学的粒度測定装置で、JP, USP及びEPに取載されているMulti-stage liquid impinger (MSLI) の空気力学的粒度分布を反映できるような、TOF法による空気力学的粒度分布測定装置であるAerodynamic particle sizer (APS) に分散ユニットを追加し、MSLI測定と同条件下で製剤を分散できるようにした (改良型APS, Fig. 1)⁷⁾。次に、多孔性粒子のDPIとして凍結乾燥ケーキを用いた粉末吸入システムであるLyophilizate for dry powder inhalation (LDPI) システム⁸⁻¹²⁾ を使用して改良型APSとの相関関係を調べた。LDPIシステムはFig. 2に示すように、製剤が粒子ではなく凍結乾燥中に水の昇華に

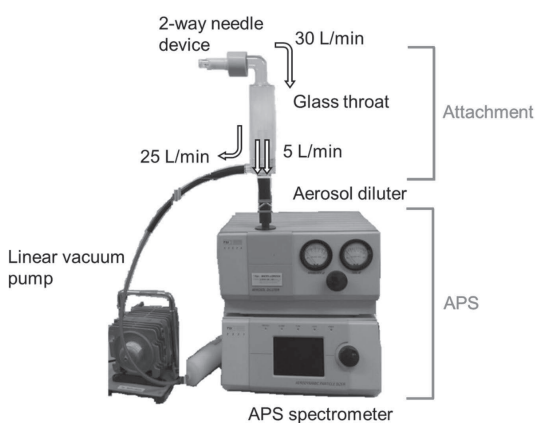


Fig. 1 分散ユニットを追加した改良型APSシステム⁷⁾

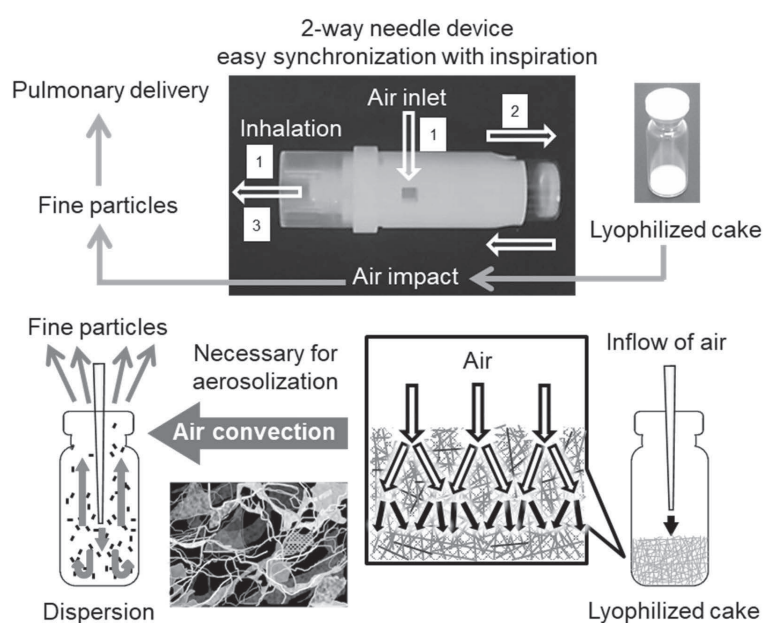


Fig. 2 LDPIシステムの微粒子化メカニズム⁷⁾

よって構築される多孔性マトリックス構造を有する凍結乾燥ケーキで構成されていることが特徴の一つである⁷⁾。患者の吸気と同調してバイアル内に導入される空気衝撃により多孔性マトリックス構造が細かく砕かれ、バイアル内で経肺に適した多孔性粒子に再構築されてLDPIデバイスを介して放出される。したがって、LDPIは吸入時に凍結乾燥ケーキから生成される多孔性粒子として、肺に薬物を効果的に送達することができるシステムである。

2 実験方法

2.1 材料

hGhrelinはアスピオファーマ(株)から入手した。タミバロテン(Am80)は乙卯研究所から供与された。ニコチンアミド(VB₃)はシグマアルドリッチジャパン合同会社から購入した。シアノコバラミン(VB₁₂)は東京化成工業(株)から購入した。L-フェニルアラニン(Phe, 特級), エタノール(99.5)(特級)は富士フィルム和光純薬工業(株)から購入した。2mLガラスバイアル(VIST処理)は大和特殊硝子(株)より、ゴム栓(F5-43)は住友ゴム(株)よりそれぞれ入手した。

2.2 凍結乾燥ケーキの作製

LDPIモデル製剤の主薬について、hGhrelinは水溶性ペプチド、VB₃及びVB₁₂は水溶性物質、Am80は脂溶性物質の例として用いた。

Phe(20mg/mL)及び水溶性主薬(hGhrelin, VB₃, VB₁₂)(2mg/mL)の原液は精製水に溶解して調製した。Phe原液と各主薬原液を混和し、次の濃度に精製水で希釈した(hGhrelin 0.2mg/vial + Phe 1.0mg/vial, VB₃ 0.2mg/vial + Phe 1.0mg/vial, VB₁₂ 0.2mg/vial + Phe 1.2mg/vial, Phe 0.4mg/vial)。それぞれの溶液500μLをガラスバイアルに分注し、真空凍結乾燥機(FreeZone Triad 7400030, LABCONCO)を用いて凍結乾燥した。Am80はエタノール(99.5%)(20mg/mL)に溶解し、Pheの希釈原液に懸濁して目標の濃度(Am80 0.2mg/vial + Phe 0.2mg/vial)にした。溶液500μLをガラスバイアルに分注し、液体窒素にて凍結後、真空凍結乾燥機による凍結乾燥を行った。凍結乾燥条件は、棚温を0.5℃/分以下で-50℃まで冷却し、3時間同温

度にて保持して凍結した。その後、棚温を0.17℃/分で-30℃まで上昇させて庫内圧1.0 Paで11時間、一次乾燥し、続いて棚温を0.17℃/分で35℃まで上昇させ、5時間かけて二次乾燥した。更に、0.34℃/分で棚温を25℃まで低下させ、1時間乾燥した。

2.3 レーザー回折(Laser diffraction; LD)法による幾何学的粒度分布の測定

噴霧試料測定用の粒度分布測定装置を使用した。凍結乾燥ケーキの一部を、乾式分散ユニットPD-10S(マイクロトラックベル(株))を用いて圧縮空気(0.35 MPa; 流量約4000L/min相当)により分散させた。300mmレンズを介して回折光を検出し、LDSA-3500A(マイクロトラックベル(株))を用いて0.02ミリ秒毎に2秒間、粒度分布を測定した。累積粒度分布における5μm以下の微粒子割合(Fine particle fraction; FPF)をLD FPF%_{≤5μm}、累積粒度分布50%における幾何学的粒子径をD₅₀とした。

2.4 APSによる空気力学的粒度分布の測定

一般的なAPSでは、粒子が流量5L/minでエアロゾル希釈器に導入されて希釈され、同じ流量で検出器に導入されて空気力学的粒度分布が測定される。したがってAPSではヒトの吸入力を反映したMSLIと同条件(流量30L/min, 圧力損失4kPa)で空気力学的粒度分布を測定できない。APSの測定結果からMSLIの測定結果を推定するため、MSLIによる測定と同条件でLDPI製剤から微粒子が生成するようにAPSを改良した。改良型APSではLDPI製剤が流量30L/min, 圧力損失4kPaの条件で2-way needle device(Fig. 2)により微粒子化し、流量5L/minでAPSに導入されて残りの25L/minが真空ポンプにより回収される。

APS測定での分散条件をMSLI測定と同条件にするため、APSのエアロゾル希釈器(流量5L/min; Model 3302A, TSI, Shoreview)の上部にガラススロートを設置し、リニア真空ポンプ(流量を25L/minに調整, VP0940, 日東工器(株))を追加した(Fig. 1)。凍結乾燥ケーキを上記の条件で微粒子化し、APS検出器(Model 3321, TSI, Shoreview)を用いて1秒ごとに8秒間粒度分布を測定した。質量基準の累積粒度分布における5μm以下の微粒子割合をAPS FPF%_{≤5μm}とした。

2.5 MSLIによる空気力学的粒度分布の測定

MSLIによる測定はJP17に従い、流量 30 ± 0.3 L/min, 2-way needle device (Fig. 2) を用いて圧力損失 4 kPa の条件で実施した。真空ポンプ (HCP5), 臨界気流コントローラー (TPK2000) 及び流量計 (DFM2000; 全て Copley Scientific Limited) を試験条件の維持に用いた。MSLIステージ5として直径 90 mm, 孔径 $0.65 \mu\text{m}$ の親水性ポリフッ化ビニリデンフィルター (Merck Millipore) を用いた。上記の条件下で8秒間、凍結乾燥ケーキを微粒化させた。バイアル, デバイス, インダクションポート, MSLIのステージ1~5からそれぞれ回収した溶解液中の各主薬濃度をHPLC (Prominence series, (株) 島津製作所) により測定した。

放出率に対する $5 \mu\text{m}$ 以下の微粒子割合をMSLI $\text{FPF}_{\leq 5 \mu\text{m}}$ とした。 $5 \mu\text{m}$ 以下の微粒子割合はカットオフ径(流量 30 L/minにおけるステージ2~4の各カットオフ径; 9.6, 4.4, $2.4 \mu\text{m}$) に対し各主薬成分のステージ3~5への累積分布量の割合をプロットして求めた。放出率は製剤含量に対する放出量の割合とし、放出量はインダクションポートとMSLIのステージ1~5への分布量の合計とした。また、累積割合50%となる空気力学的粒子径をMass median aerodynamic diameter (MMAD) とした。

3 実験結果

3.1 MSLIとLD測定の間関係

LDは粒度分布測定方法として汎用され、簡便で迅速に幾何学的粒子径を測定できるが、空気力学的粒子径は直接測定することができない^{13, 14)}。作製したモデル製剤 (hGhrelin製剤; hGhrelin 0.1 mg/vial 及びPhe 0.5 mg/vialを含む, VB₃製剤; VB₃ 0.1 mg/vial 及びPhe 0.5 mg/vialを含む, VB₁₂; VB₁₂ 0.1 mg/vial 及びPhe 0.6 mg/vialを含む, Am80製剤; Am80 及びPhe各0.1 mg/vialを含む, プラセボ製剤; Phe 0.2 mg/vialを含む) について、LD法による幾何学的粒度分布測定結果をMSLIによる空気力学的粒度分布測定結果と比較した。その結果、MSLI $\text{FPF}_{\leq 5 \mu\text{m}}$ とLD $\text{FPF}_{\leq 5 \mu\text{m}}$ の間関係は $r = 0.3459$, p 値は0.5684となった (Fig. 3)⁷⁾。

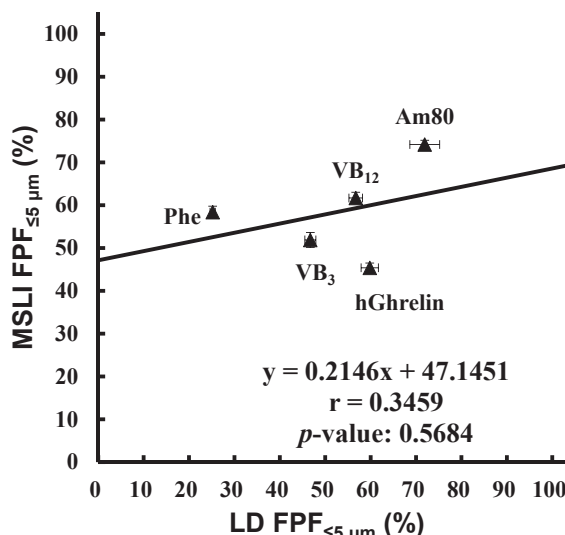


Fig. 3 MSLI $\text{FPF}_{\leq 5 \mu\text{m}}$ とLD $\text{FPF}_{\leq 5 \mu\text{m}}$ の間関係⁷⁾

3.2 MSLIと改良型APS測定の間関係

APS測定の際には粒子密度を考慮する必要がある。LDPIシステムは吸入システムとして以下3段階を経て機能する (Fig. 4)⁷⁾。凍結乾燥前の調製溶液である第1段階では、溶媒が体積や形状を変えずに完全に除去される理想的な凍結乾燥ケーキが形成されると仮定すると、凍結乾燥ケーキの密度は理論的に、調製溶液中の溶質質量をバイアル充填した調製溶液の体積で割った値と等しく、質量体積濃度に近似される。そこで調製溶液中の溶質質量 (g) を充填液量 (mL) で割った値を調製溶液の密度とすると (Fig. 4 Step 1)⁷⁾、実際には調製溶液の状態から体積や形状を変えずに凍結乾燥ケーキが形成されることはなく、特に本研究で用いたモデル製剤のように調製溶液の濃度が低い場合、凍結乾燥ケーキはわずかに収縮する^{15, 16)}。

水が昇華しそれに続き凍結乾燥ケーキが形成される第2段階では、水の昇華により凍結乾燥ケーキは収縮して充填液量よりも体積が減少し、多孔性のマトリックス構造が形成される。しかし、体積の減少やマトリックス構造の空隙形成間隔は一定ではないため、凍結乾燥ケーキの密度 (Fig. 4 Step 2)⁷⁾ は凍結乾燥前の調製溶液の密度 (Fig. 4 Step 1)⁷⁾ よりも高くなるが、正確な推定は困難である。吸入時の空気衝撃により凍結乾燥ケーキが崩壊し微粒子が生成する第3段階では、ケーキ崩壊時に多孔性が一過性に増大するが、ケーキの断片が多孔性粒子に再構成されるため密度はさらに変化する。よって、粒子と

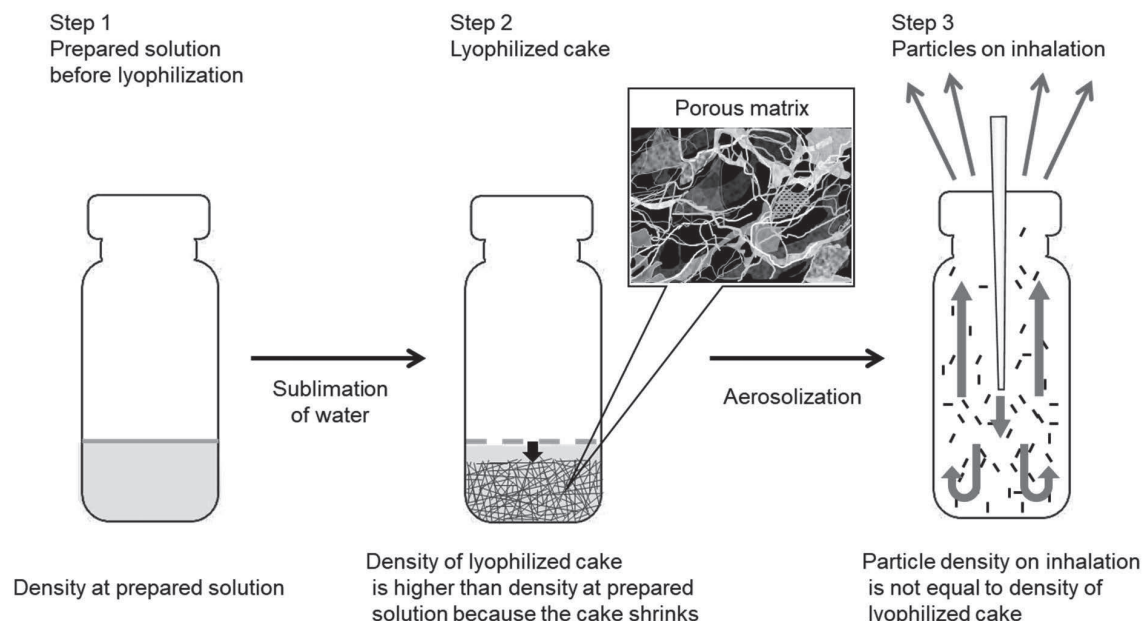


Fig. 4 LDPIシステムの各段階（凍結乾燥前の調製溶液、凍結乾燥ケーキ、吸入時）における密度変化を模した図⁷⁾

して調製される他の多孔性DPI製剤と異なり、凍結乾燥ケーキとして調製されるLDPI製剤は吸入時の粒子密度を測定できない。LDPIシステムでは多孔性マトリックス構造を有する凍結乾燥ケーキが空気衝撃により崩壊し、多孔性粒子として再構成されデバイスから放出され、その過程は密度変化を伴うからである。つまり、吸入時の粒子密度 (Fig. 4 Step 3)⁷⁾ は、凍結乾燥ケーキの密度 (Fig. 4 Step 2)⁷⁾ と等しくない。

そこで、LDPI製剤吸入時の粒子密度を求めるために、MSLI測定から求めたMMADとLD測定から求めたD₅₀を用いて粒子密度を算出した。吸入時の粒子密度は式(1)で算出する必要があるが、凍結乾燥ケーキは吸入時に瞬時にエアロゾル化されるため、LDPIで生成された粒子の形状係数(χ)を決定

することはできない。そこで、LDPI製剤の粒子密度を式(2)^{7,17)}により算出した。式(2)で算出した各モデル製剤の粒子密度をTable 1⁷⁾に示す。

$$MMAD = D_{50} \times \sqrt{\text{Particle Density}} \quad (2)$$

式(2)で算出した粒子密度を用いて測定したAPS FPF%_{≤5μm}をMSLI FPF%_{≤5μm}と比較した結果、FPF%_{≤5μm}は強い正の相関を示した(r = 0.8901)が有意な相関関係は示さなかった(p = 0.1098) (Fig. 5)⁷⁾。

そこで、Phe 0.2mg/vialを含むLDPI製剤のAPS及びMSLI測定を行い、APS FPF%_{≤5μm}とMSLI FPF%_{≤5μm}が等しくなる粒子密度を求めた。0.0005~0.01 g/cm³の範囲でAPSの粒子密度設定値を変化させてAPS FPF%_{≤5μm}をそれぞれ算出し、

Table 1 Particle Density Calculated from MMAD and D₅₀⁷⁾

Drug or Compound	MMAD (μm)	D ₅₀ (μm)	Particle Density (g/cm ³)
hGhrelin	4.85	4.01	1.4628
VB ₃	4.19	5.95	0.4959
VB ₁₂	3.93	4.14	0.9011
Am80	2.98	3.55	0.7047

MMAD, mass median aerodynamic diameter.

Table 2 Particle Density Calculated by Conversion Factor (3.75)⁷⁾

Drug or Compound	Density at Prepared Solution	Particle Density on Inhalation (g/cm ³)
hGhrelin	0.00120	0.00450
VB ₃	0.00120	0.00450
VB ₁₂	0.00140	0.00525
Am80	0.00040	0.00150
Placebo (Phe 0.2 mg/vial)	0.00040	0.00150

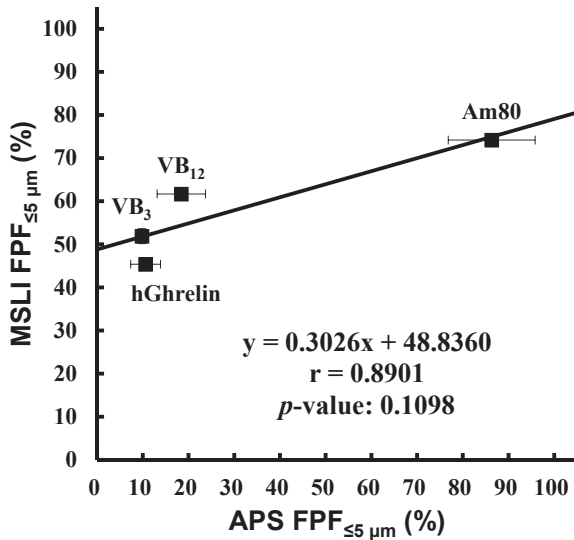


Fig. 5 MMADとD₅₀から算出した粒子密度を用いたAPS FPF%_{≤5μm}とMSLI FPF%_{≤5μm}との相関関係⁷⁾

粒子密度に対してAPS FPF%_{≤5μm}をプロットした (Fig. 6)⁷⁾. APS FPF %_{≤5μm}がMSLI FPF %_{≤5μm} (58.4%) と等しくなる粒子密度を回帰直線から算出した結果, 0.0015 g/cm³となった.

続いて, 調製溶液の密度からAPS測定に用いる粒子密度設定値の算出を試みた. プラセボ製剤 (Phe 0.2 mg/vial) の粒子密度0.0015 g/cm³は, 調製溶液における密度0.0004に3.75を乗じた値である. したがって, 換算係数として3.75を設定し, 吸入時の粒子密度を式 (3) で算出した粒子密度とした. 式 (3) によって計算された各モデル製剤の吸入時の粒子密度をTable 2⁷⁾ に示す.

$$\text{Particle density on inhalation} = \text{The density at prepared solution} \times \text{Conversion factor (3.75)} \quad (3)$$

式 (3) で算出した吸入時の粒子密度を用いて得ら

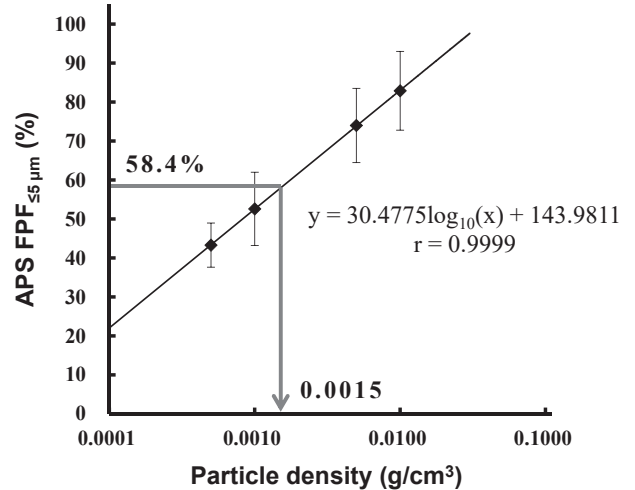


Fig. 6 プラセボ製剤 (Phe 0.2 mg/vial) 吸入時の粒子密度⁷⁾

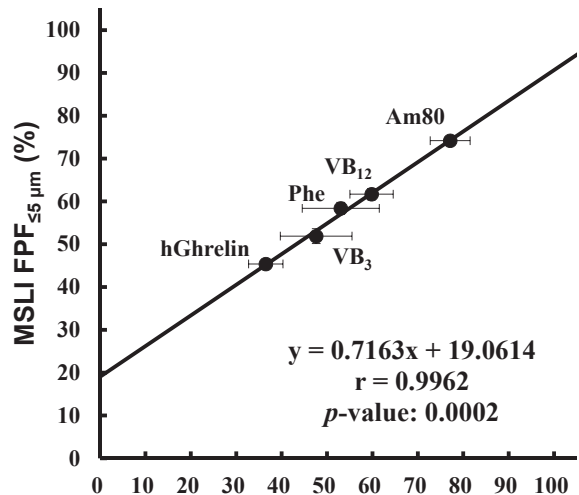


Fig. 7 換算係数で算出された吸入密度を用いたAPS FPF%_{≤5μm}とMSLI FPF%_{≤5μm}との相関関係⁷⁾

れたAPS FPF %_{≤5μm}とMSLI FPF %_{≤5μm}を比較した結果, r = 0.9962, p = 0.0002の有意な相関関係があることを示した (Fig. 7)⁷⁾.

4 考察

4.1 MSLIとLD測定の間関係

LDは幾何学的粒度分布の測定方法であり幾何学的粒子径は粒子密度に依存しない。一方で、MSLIは空気力学的粒度分布を測定する方法であり、LDとMSLIでは測定される粒子径も分散条件も異なる。LD法では凍結乾燥ケーキの一部を圧縮空気(0.35MPa, 約4,000L/minでの流量に相当)で分散させる。MSLI測定では、LDPI製剤の凍結乾燥ケーキ全体を、ヒトの吸入力を反映した条件(圧力損失4kPa, 流量30L/min)で分散させる。分散条件の違いにより、LD法で測定される粒子は、吸入時の粒子とは大きさや形状が異なると考えられた。以上のことから、LD法は広く使用されている手法であるが、MSLI測定の結果と比較して相関がないことを確認した。実際に、LD測定とMSLI測定の間有意な相関関係は認められなかった(Fig. 3)⁷⁾。

4.2 MSLIと改良型APS測定の間関係

TOF原理に基づいた従来のAPSによる空気力学的粒度分布測定は分散条件と測定原理がMSLIとは異なるが、本研究で使用した分散ユニットを追加した改良型APSにおける分散条件はMSLIと同じである。改良型APSでは、バイアル内のLDPI製剤の凍結乾燥ケーキ全体をMSLIと同様に測定に使用する。しかし、APSに凍結乾燥ケーキ全体から生成された粒子を直接導入した場合、粒子濃度が高くTOF原理によるAPSでの粒度分布は測定できない。そこで改良型APSでは、粒子は次の二つの工程で希釈した粒子を、APS測定用の標準流量(5L/min)でAPSに導入した。最初の工程では、ヒトの吸入力を反映したMSLIと同じ条件(圧力損失4kPa, 流量30L/min)で粒子が生成され、MSLIのインダクションポートに相当するガラススロートに導入される。30L/minの流量のうち、標準的なAPS測定の必要流量は5L/minであり、残り25L/minとその流量中の粒子は真空ポンプにより無作為に回収することで粒子濃度は減少する。二つ目の工程では、流量5L/minで粒子がエアロゾル希釈器に導入され、TOF測定に適した濃度に均一に希釈される。希釈された粒子は流量5L/minでAPSに導入されて粒度分布が測定される。以上より、MSLI

と改良型APSでは同じ粒子が測定されると考えられ、そこで、粒子密度に焦点を当て、MSLIと改良型APSの間関係を検討した。

APSによる測定では粒子密度の設定値が測定結果に与える影響に注意を払う必要がある。粒子密度の値はAPS測定を行うために必要であり、その設定がAPS測定の結果に大きな影響を与えるためである(Fig. 6)⁷⁾。しかし、多孔性粒子の細孔には開孔と閉孔(貫通している孔、貫通していない孔)があり、細孔の大きさ、形状、向き、及び細孔が占める体積は凝集によって変化するため、一次粒子の凝集体として挙動する多孔性粒子の粒子密度を正確に推定することは困難である^{18, 19)}。凍結乾燥ケーキの断片が多孔性粒子として挙動するLDPI製剤では、正確な粒子密度を取得することはさらに困難となる。LDPIシステムでは、凍結乾燥ケーキの多孔質なマトリックス構造を構成する構造体が吸入時の空気衝撃によって断片に崩壊され、次にこれらの断片が肺投与に適した多孔性粒子に再構築される^{8, 9, 20)}。LDPIシステムでは多孔性粒子が吸入直後に生成するため、その空隙率を正確に測定することはできない。それゆえ、LDPI製剤の正確な粒子密度を得ることは困難だが、MSLI測定結果に基づいて算出した変換係数を用いることで吸入時の粒子密度を求めることが可能となる。変換係数はAPS FPF%_{≤5μm}の値がMSLI FPF%_{≤5μm}の値と等しくなる粒子密度の設定値から算出された値であり、MSLIと同条件で生成した粒子を測定する改良型APSの粒子密度をMSLI FPF%_{≤5μm}の値と等しくなるように設定することにより、吸入時の粒子密度を決定できることを意味する。実際に、変換係数を導入して式(3)から算出された吸入時の粒子密度を用いて測定したAPS FPF%_{≤5μm}は、MSLI FPF%_{≤5μm}と有意な相関関係にあり(Fig. 7)⁷⁾、MSLIの測定結果が、式(3)で算出した粒子密度を用いたAPS測定結果から推定できることが示された。

本研究で算出された変換係数3.75は、物理的特性が異なる5化合物の、含量の異なる製剤に適用でき、変換係数が化合物の種類と含量に依存しないことを示している。一方で、製剤は同じサイズのバイアルを使用し、同量の調製溶液を充填することで作製された。LDPIシステムは空気衝撃により製剤が微粒子化されるため、バイアル内の空気の対流が微

粒子化には不可欠である。したがって、バイアルサイズや充填量の変化により空気が対流するバイアル内の空間が変化すると、変換係数も異なる値になると考えられる。つまり、本研究の製剤と同じサイズのバイアルを使用して同じ容量を充填して製剤を調製する場合、化合物の種類や含量に関係なく変換係数3.75を使用することでMSLIの結果を推定できるAPSの測定結果を得ることができる。また、変換係数から算出されるLDPI製剤の吸入時の粒子密度は、調製溶液の濃度に依存する(式(3))。LDPIは3段階で吸入システムとして機能し(Fig. 4)⁷⁾、その間に体積と密度が複数回変化する。LDPIシステムの密度変化は複雑だが、式(3)から、第1段階である調製溶液から第3段階である吸入時の粒子への密度変化率は一定(3.75倍)であると考えられる。

また、LDPI以外の多孔性粒子を含有するDPIの空気力学的粒度分布は、以下の理由により本研究のLDPIと同様に測定できると考えられる。まず、分散ユニットを追加した改良型APSは、MSLI測定と同条件で製剤を分散させることができ、これはヒトの吸入力を反映している。次に、多孔性粒子の密度を直接測定することは困難であるが、変換係数を用いることで多孔性粒子の密度を推定することができる。変換係数は、APSから得られた値がMSLIから得られた値と等しくなるように密度を算出することで決定される。したがって、分散ユニットと変換係数を備えた改良型APSを使用する本方法は、多孔性粒子の空気力学的粒度分布を簡便かつ迅速に測定するのに役立つと期待される。

TOF原理に基づくAPS測定では、主薬と添加剤の粒子を区別して測定できないことも考慮すべき点である²¹⁾。凍結乾燥ケーキから主薬と添加剤がサイズの異なる粒子に微粒子化されると、粒子密度を補正してもAPSの測定結果はMSLIの測定結果と一致しない。実際には、物性の異なる5化合物を使用したところ、変換係数で算出した吸入時の粒子密度を用いたAPS FPF %_{≤5 μm}と、MSLI FPF %_{≤5 μm}との間に強い有意な相関が認められた(Fig. 7)⁷⁾。これは、主薬と添加剤が、空気衝撃によって凍結乾燥ケーキから生成される同じ粒子に含まれており、APSで測定された粒子はLDPI製剤中の主薬の粒子であるとみなされる。

5 結論

MSLIの測定結果と、分散ユニットを追加した改良型APSの測定結果及び変換係数の間には有意な相関関係が認められた。改良型APSでは、MSLI測定と同条件で製剤が微粒子化されるが、生成された粒子の空気力学的粒度分布はMSLIよりも短時間で測定できる。変換係数により、LDPIの吸入時に発生する多孔性粒子の密度を算出することが可能になった。このように、変換係数で算出した粒子密度を用いて改良型APSを使用することで、多くのサンプルの空気力学的粒度分布を短時間で測定し、得られた結果からMSLIの結果を推定できることが示された。

文献

- 1) De Boer, A.H.; Gjaltema, D.; Hagedoorn, P.; Frijlink, H.W. Characterization of inhalation aerosols: A critical evaluation of cascade impactor analysis and laser diffraction technique. *Int. J. Pharm.* 2002, **249**, p. 219–231. doi:10.1016/S0378-5173(02)00526-4.
- 2) Shekunov, B.Y.; Chattopadhyay, P.; Tong, H.H.Y.; Chow, A.H.L. Particle size analysis in pharmaceuticals: Principles, methods and applications. *Pharm. Res.* 2007, **24**, p. 203–227. doi:10.1007/s11095-006-9146-7.
- 3) Heitbrink, W.A.; Baron, P.A.; Willeke, K. Coincidence in time-of-flight aerosol spectrometers: Phantom particle creation. *Aerosol Sci. Technol.* 1991, **14**, p. 112–126. doi:10.1080/02786829108959476.
- 4) Mitchell, J.P.; Nagel, M.W. Particle size analysis of aerosols from medicinal inhalers. *KONA Powder Part. J.* 2004, **22**, p. 32–65. doi:10.14356/kona.2004010.
- 5) Wang, H.-C.; John, W. Particle density correction for the aerodynamic particle sizer. *Aerosol Sci. Technol.* 1987, **6**, p. 191–198. doi:10.1080/02786828708959132.
- 6) Ananth, G.; Wilson, J.C. Theoretical analysis of the performance of the TSI aerodynamic particle sizer the effect of density on response. *Aerosol Sci. Technol.* 1988, **9**, p. 189–199. doi:10.1080/02786828808959207.
- 7) Miyamoto, K.; Taga, H.; Akita, T.; Yamashita, C. Simple Method to Measure the Aerodynamic Size Distribution of Porous Particles Generated on Llyophilizate for Dry Powder Inhalation. *Pharmaceutics*. 2020, **12**, 976. Doi:10.3390/pharmaceutics12100976.
- 8) Yamashita, C.; Ibaragi, S.; Fukunaga, Y.; Akagi, A. Composition, Vessel, Dry Powder Inhalation System, and Related Methods for Transpulmonary

- Administration. Patent US-7448379, 11 November 2008.
- 9) Yamashita, C. Development of Otsuka dry powder inhalation system using technology of freeze-drying. *Drug Deliv. Syst.* 2009, **24**, p. 468–476. doi:10.2745/dds.24.468.
 - 10) Yamashita, C. Low flow rate-dependent dry powder inhalation system using freeze-dried cake. *J. Pharm. Sci. Technol. Jpn.* 2012, **72**, p. 111–116. doi:10.14843/jpstj.72.111.
 - 11) Claus, S.; Schoenbrodt, T.; Weiler, C.; Friess, W. Novel dry powder inhalation system based on dispersion of lyophilisates. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2011, **43**, p. 32–40. doi:10.1016/j.ejps.2011.03.005.
 - 12) Claus, S.; Weiler, C.; Schiewe, J.; Friess, W. Optimization of the fine particle fraction of a lyophilized lysozyme formulation for dry powder inhalation. *Pharm. Res.* 2013, **30**, p. 1698–1713. doi:10.1007/s11095-013-1015-6.
 - 13) Dunber, C.A.; Hickey, A.J.; Holzner, P. Dispersion and characterization of pharmaceutical dry powder aerosols. *KONA Powder Part. J.* 1998, **16**, p. 7–45. doi:10.14356/kona.1998007.
 - 14) Pilcer, G.; Vanderbist, F.; Amighi, K. Correlations between cascade impactor analysis and laser diffraction techniques for the determination of the particle size of aerosolised powder formulations. *Int. J. Pharm.* 2008, **358**, p. 75–81. doi:10.1016/j.ijpharm.2008.02.014.
 - 15) Patel, S.M.; Nail, S.L.; Pikal, M.J.; Geidobler, R.; Winter, G.; Hawe, A.; Davagnino, J.; Rambhatla Gupta, S. Lyophilized drug product cake appearance: What is acceptable? *J. Pharm. Sci.* 2017, **106**, p. 1706–1721. doi:10.1016/j.xphs.2017.03.014.
 - 16) Ullrich, S.; Seyferth, S.; Lee, G. Measurement of shrinkage and cracking in lyophilized amorphous cakes. Part I: Final-product assessment. *J. Pharm. Sci.* 2015, **104**, p. 155–164. doi:10.1002/jps.24284.
 - 17) Tsapis, N.; Bennett, D.; Jackson, B.; Weitz, D.A.; Edwards, D.A. Trojan particles: Large porous carriers of nanoparticles for drug delivery. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002, **99**, p. 12001–12005. doi:10.1073/pnas.182233999.
 - 18) Lawrence, M.; Jiang, Y. Porosity, pore size distribution, micro-structure. In *Bio-Aggregates Based Building Materials: State-of-the-Art Report of the RILEM Technical Committee 236-BBM*; Amziane, S., Collet, F., eds., RILEM State-of-the-Art Reports; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2017, p. 39–71. ISBN 978-94-024-1031-0.
 - 19) Markl, D.; Strobel, A.; Schlossnikl, R.; Bötter, J.; Bawuah, P.; Ridgway, C.; Rantanen, J.; Rades, T.; Gane, P.; Peiponen, K.-E.; Zeitler, J. A. Characterisation of pore structures of pharmaceutical tablets: A review. *Int. J. Pharm.* 2018, **538**, p. 188–214. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.01.017.
 - 20) Yamashita, C. The present state and future of dry powder inhalation system. *Drug Deliv. Syst.* 2006, **21**, p. 417–425. doi:10.2745/dds.21.417.
 - 21) Mitchell, J.P.; Nagel, M. Time-of-flight aerosol analyzers: Their use and limitations for the measurement of medical aerosols. *J. Aerosol Med.* 1999, **12**, p. 217–240. doi:10.1089/jam.1999.12.217.