

## ナノハイドロゲルを利用したペプチドの特殊放出制御型マイクロカプセルの設計

市川秀喜,\* 福森義信

**Design of Nanohydrogel-Incorporated Microcapsules for Appropriate Controlled-Release of Peptide Drugs**

Hideki ICHIKAWA\* and Yoshinobu FUKUMORI

*Division of Physical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, and Cooperative Research Center of Life Sciences, Kobe Gakuin University, 1-1-3 Minatojima, Chuo-ku, Kobe 650-8586, Japan*

(Received January 10, 2007)

Biologically active peptides for therapeutic use have relatively short half-lives in general, requiring appropriate controlled-release systems for better therapy. Controlled release of peptides is, however, not as easy as that of conventional drugs because their large molecular size is much more dramatic in hindering the diffusion and release from polymeric devices. From this perspective, we have been developing two types of microcapsular devices containing new acrylate-based nanogels with a specific solute-permeability for delayed- or thermosensitive-release of peptide drugs. The microcapsule preparation was accomplished by an air suspension coating process. A nanogel-particle of acrylic terpolymer, ethyl acrylate-methyl methacrylate-2-hydroxyethyl methacrylate, was newly synthesized by emulsion polymerization to construct delayed-release microcapsules. By spray-coating the insulin-loaded lactose particles with the acrylic terpolymers, microcapsules showing a pH-independent delayed-release profile can be obtained. Oral administration of the microcapsules with the lag time of 6 hours to beagle dogs resulted in significantly reduced blood glucose concentration, leading to colon-specific insulin delivery with pharmacological availability of 5%. Meanwhile, poly(*N*-isopropylacrylamide) (p(NIPAAm)) nanogel-particles with a reversible temperature-dependent swelling property were prepared by dispersion polymerization to fabricate microcapsular membranes with thermosensitively changeable permeability. The microcapsules constructed by coating of drug-loaded CaCO<sub>3</sub> particles with a blend mixture of the p(NIPAAm) nanogels and ethylcellulose pseudo-latex exhibited an ‘on-off’ positively thermosensitive drug-release; the release rate was remarkably enhanced at higher temperatures possibly due to the formation of voids through the shrinkage of p(NIPAAm) nanogels in the membrane. A possible application of this type of microcapsules can be found in externally temperature-activated pulsatile peptide delivery.

**Key words**—peptide drug; nanohydrogel; microcapsule; controlled release; coating; acrylic polymer

**1. はじめに**

ナノメートルスケールのディメンジョンを有する“ナノ粒子”が各種産業分野における新しいデバイスやシステムの礎となる先端材料として注目を集めている。医薬品分野とナノ粒子の係わりには長い歴史があり、既に1970年代の論文<sup>1,2)</sup>には“Nanoparticles”という用語が登場しているが、昨今のナノテクノロジーの隆盛を契機としてその応用研究は急激な進展をみせている。

医薬品分野におけるナノ粒子の利用には2つの方向性が考えられる。1つは、それ自体を薬物運搬体として利用しようとするもので、高分子ミセル、リポソーム、ソリッドリピッドナノスフェア、高分子ナノスフェアなど多様な材料と構造からなるナノ粒子へ薬物を負荷し、運搬体のサイズや物性に応じて薬物の安定性や吸収性の向上や体内動態の制御などを図ることを主な狙いとしている。最近ではこうしたナノサイズの薬物運搬体を利用する医薬品は、ナノメディスンと称されるようになってきている。もう1つの流れは、従来の医薬品製剤の機能化のための構成要素としての利用である。近年、種々の産業分野でナノ粒子のアッセムブリングによる高機能性材料や製品の開発が盛んに試みられている。同様に、医

神戸学院大学薬学部・ライフサイエンス産学連携研究センター (〒650-8586 神戸市中央区港島 1-1-3)

\*e-mail: ichikawa@pharm.kobegakuin.ac.jp

本総説は日本薬学会第126年会シンポジウムS2で発表したものを中心に記述したものである。

薬品製剤についても適当なアッセムブリング技術があれば、医薬品自体あるいは素材からなるナノ粒子の構成要素としての積極的な活用とそれらのアッセムブリングによる構造制御によって新しいタイプの放出制御製剤などを構築できる可能性を秘めている。筆者の研究グループは、機械的マイクロカプセル化法として位置付けられてきたドラフトチューブ付噴流層を用いて医薬品微粒子の湿式スプレーコーティング技術（気中懸濁被覆法）の研究開発を手掛けてきた経緯<sup>3-11)</sup>から、この技術を利用したナノ粒子のアッセムブリングに基づく新しい薬物送達用マイクロデバイスの設計を試みている。

近年、高い生理活性を有するペプチド性医薬品が登場してきているが、周知の通り、その製剤化にはそれらに特有の困難さがある。一般にペプチド医薬品は化学的安定性に乏しく、製剤化プロセスはもとより保存安定性にも格段の配慮が必要となる。また経口投与を考える場合には、消化管内での酵素分解を避け、粘膜透過性を高める工夫がなされなければならない。さらに、水に溶解易く、数千—数万に至る大きな分子量を有するため、消化管からの吸収性に乏しいのが普通であり、この高水溶性・高分子量という性質は製剤からの放出制御をも困難にする。特に、放出のモードに関しては、従来の単純拡散抑制機構に基づく徐放化技術はかならずしも有効な方法となり得ず、必要な量だけ on demand で放出するなどの特殊な放出様式が適切と考えられるケースも多い。<sup>12)</sup> 例えば、ある種の内因性ペプチドのように、体内で周期的な分泌がなされるタイプのものでは従来の単純な徐放化がかならずしも効率のよい治療に結び付かないと考えられるケースもある。したがって、生体へ高効率で送達可能な製剤とするためにはそうした問題を解消できる特殊な機能が求められる。

こうしたペプチド性医薬品の特殊放出制御による生体への送達効率の向上を目的として、筆者らは、物質透過性に優れる高分子ハイドロゲルをナノサイズの素子として用い、これを気中懸濁被覆法によりマイクロカプセル膜化した微細放出制御デバイスの開発を進めている。<sup>13-18)</sup> 本稿では、高分子ハイドロゲルの特徴と DDS 素材としての利点について簡単に触れ、筆者らが手掛けてきたナノサイズのハイドロゲルの設計例、さらにそれを構成素子として用

いて調製した 2 種類のマイクロカプセル化製剤—ペプチドの大腸特異的送達用遅延放出型デバイス並びに温度応答性パルス放出型デバイス—の設計例を紹介する。

## 2. 高分子ハイドロゲルの特性とそのナノサイズ化

ハイドロゲルは、3 次元的に架橋された網目構造を有する高分子が大量の水を包含して膨潤した系である (Fig. 1)。ゲルを構成する高分子の架橋構造の違いによって、物理ゲルと化学ゲルに分類できる。<sup>19)</sup> 前者は、高分子鎖の絡み合いや分子間水素結合を介して形成される結晶性ドメインなどが架橋点となって、網目構造が形成される。このため、外界の温度や pH 変化による融解や水への溶解などによってゲルの網目構造の破壊が生じる場合がある。後者は、架橋剤などによる共有結合性の化学結合を介して高分子間に架橋が形成されるため、水には不溶であり、温度変化などに対しても網目構造は安定である。ゲルの体積は、こうした架橋構造のほか、ゲルを構成する高分子鎖の分子間相互作用（ファン・デル・ワールス力、水素結合、疎水性相互作用、静電相互作用）の影響を受ける。<sup>20)</sup> この分子間相互作用の形成はゲルを取り囲む外界の環境変化に敏感で、こうした変化が引き金となってゲルの体積が増大（膨潤）又は減少（収縮）したりする。このようにゲルが可逆的に膨潤-収縮する現象は、体積相転移と呼ばれ、1978 年に Tanaka によって発見された。<sup>21)</sup> この最初に発見された相転移現象は溶媒組成

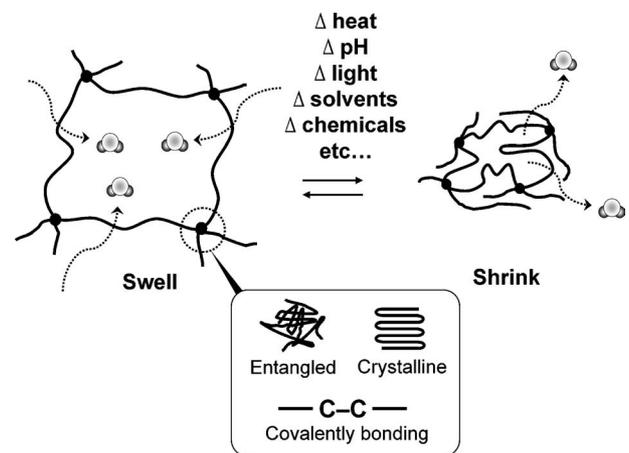


Fig. 1. A Schematic Diagram of Hydrogels Showing Stimuli-Sensitive Swelling-Shrinking Behaviors

の変化によって惹起されるものであったが、それ以来、温度、pH、光、電場など様々な因子も膨潤収縮の引き金となることが見い出されている。このような外部の環境変化に応じて体積相転移するゲルは「刺激応答性」ゲルと呼ばれる (Fig. 1)。

こうしたユニークな特性を持つハイドロゲルを薬物送達システム (DDS) 基材として利用する利点は次のようなものであろう。<sup>19,22)</sup> 通常、ハイドロゲル中の高分子成分濃度は非常に低く、数—十数%が普通であり、残りの領域は水で占められている。このような高含水性であるため、その表面は高度に水和しており、内部での物質拡散・透過性に優れている。したがって、たんぱく質や細胞などの生体構成成分との非特異的吸着が起こり難く、生体適合性に優れている。事実、この特性を活かして、コンタクトレンズや人工皮膚などを始めとする種々の医療用品に用いられてきた実績がある。また網目サイズの調節によってペプチドやたんぱく質のように数千—数万の大きな分子量の医薬品であってもゲルへの封入・充填やゲルからの放出が可能になる。さらに、ゲル中の物質透過性はゲルの含水率が高くなるほど上昇する。したがって、刺激応答性ハイドロゲルのように、膨潤度を外部刺激によって調節できるゲルでは、放出速度のみならず放出の生起・停止さえも外部刺激に応じて制御でき、これは新規な放出制御技術につながる可能性を秘めている。

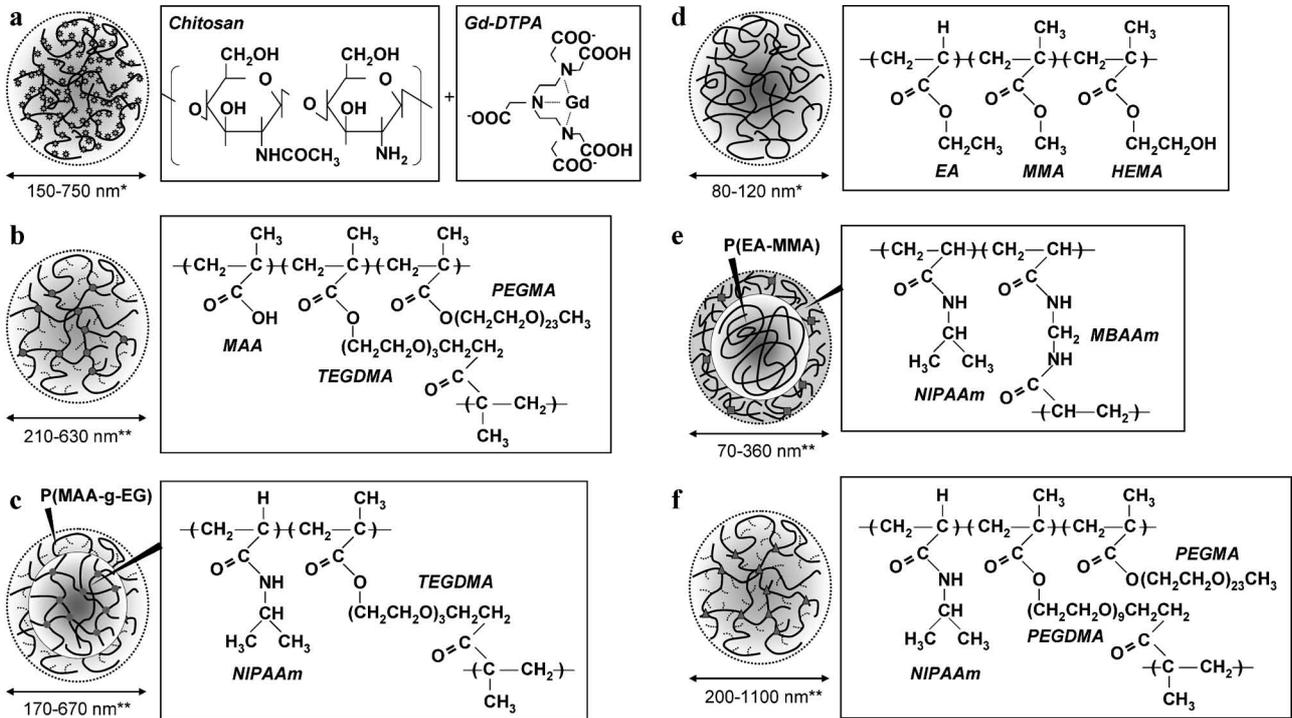
従来、バイオメディカルや DDS 分野での適用を目指したハイドロゲルには大きなディメンジョンを有するいわゆるマクロゲルが主に利用されてきた。<sup>22)</sup> これをナノサイズレベルまで微細化できれば、ゲルを薬物担体として利用する際には、その生体への侵襲性を低くしたり、生体組織への浸透性を高めたりするのに有用であろう。また、マイクロカプセルなどの微細な放出制御デバイスを構築するための機能性コンポーネントとしての応用も可能になる。こうした観点から筆者らは種々のハイドロゲルナノ粒子の設計開発を試みてきた。それらの例を Fig. 2 に示す。<sup>3-5,9,13-18,23-28)</sup> ハイドロゲルを構築する高分子には天然由来あるいは合成高分子を利用することができる。Figure 2(a) はエビやカニなど甲殻類由来のキチンの脱アセチル化物であるキトサンから構築したナノ粒子である。これは、もともとがんの中性子捕捉療法用ナノデバイスとして開発し

たもので、独自に開発した w/o 型エマルション液滴融合法によって調製され、増感剤である水溶性ガドリニウム化合物を高含量で内蔵する。<sup>23)</sup> 後述するように、適当な有機酸に溶解させたキトサン溶液をアルカリ水溶液に添加する製法 (水系中和析出法) によって、キトサンのみからなる粒子径 300 nm 程度の非架橋型のナノ粒子の調製も可能である。<sup>24)</sup> 一方、Fig. 2(b—f) に示すナノ粒子は、種々のタイプのアクリル系モノマーを出発原料として、乳化重合法や分散重合法で合成される。<sup>3-5,9,13-18,25-28)</sup> ハイドロゲルを構成する高分子の化学構造は、構成モノマーの選択によって決まる。ナノ粒子の粒子構造は、モノマーの物理化学的性質に左右され易いが、重合法を工夫することによってある程度制御が可能である。例えば、モノマー混合物を一括仕込みの基で重合すると比較的均質な構造のナノ粒子が得られるが、仕込みを 2 段階に分割すれば、Fig. 2(c) や Fig. 2(e) のようなコアシェル構造を持たすことも可能になる。<sup>4,5,16,26)</sup>

ゲルの網目サイズの制御は、ゲルの平衡膨潤度やゲル内部の物質の拡散・透過性制御の観点から重要である。共有結合性の架橋剤を用いる場合、網目サイズは架橋剤の分子サイズやその量 (架橋度) に依存する。<sup>22)</sup> ただし、共有結合性の架橋剤の使用は、ゲルを物理ゲルとするか化学ゲルとするかも決めることになる。後述するように、例えばゲル粒子自体を被膜材料に利用する場合は、ゲル粒子同士の融着による成膜が可能な物理ゲルとして構築することが必要であり、共有結合性架橋剤は使用できなくなる。一方、刺激応答型の薬物放出制御のように可逆的に膨潤収縮を繰り返すことが要求される場合は、網目構造の可逆的变化が可能な化学ゲルが有用であろう。アクリル系架橋剤は種々のタイプが入手可能であるが、その選択と使用はゲルの用途に応じて決めることになる。

### 3. ナノハイドロゲルを用いたペプチド医薬品の特殊放出制御型マイクロカプセル

高分子ハイドロゲルをナノサイズ化して水分散液を適当なミクロンサイズの核粒子にスプレーすることによりハイドロゲルナノ粒子が粒子表面に積層又は成膜化したミクロ粒子を構築できる。一般に、放出制御素材として汎用される疎水性高分子などと異なり、高含水率ゆえに物質透過性に優れ、また外部



EA: Ethyl acrylate, Gd-DTPA: Gadopentetic acid, HEMA: 2-Hydroxyethyl methacrylate, MAA: Methacrylic acid, MBAAm: Methylene bisacrylamide, MMA: Methyl methacrylate, NIPAAm: N-isopropylacrylamide, PEGDMA: Poly(ethylene glycol) dimethacrylate, PEGMA: Methoxy-terminated poly(ethylene glycol) monomethacrylate, TEGDMA: Tetraethyleneglycol dimethacrylate.

Fig. 2. Examples of Hydrogel Nanoparticles

\*indicates the particle size ranges controlled by altering the preparation conditions and/or the grades of polymeric sources. \*\*indicates typical particle size changes in response to environmental temperature (10–60°C) and/or pH (3.0–7.0) changes.

刺激にตอบสนองして膨潤度を制御できるハイドロゲルを放出制御要素として利用することによって、ペプチド医薬品の放出を多様なモードで実現するマイクロカプセル剤の設計例を以下に述べる。

**3-1. 経口投与型大腸特異的送達用遅延放出マイクロカプセル** 慢性疾患治療における患者のQOL向上の観点から、有効性はもとより、服用性・使用性にも格段の配慮を施した製剤の設計・開発の重要性が近年再認識されるようになってきている。特に、糖尿病のインスリン療法に代表されるように、通常、皮下注射による頻回投与など苦痛を伴う方法を余儀なくされる生理活性ペプチドやたんぱく質性医薬品については、それらの経口投与を可能にするようなQOLを配慮した製剤の開発に大きな期待が寄せられている。経口的に投与された医薬品を消化管内の特定部位へ送達する技術は、薬物の吸収性改善並びに消化管内疾患に対する局所治療を目的として、古くから研究が進められてきた。<sup>29)</sup> 口腔から直腸に渡る消化器官のうち、ペプチド医薬品の

経口投与の視点からこうした消化管部位特異的送達システムの標的部として近年注目されているのは大腸である。<sup>30)</sup> 前述したように、ペプチド医薬品の消化管吸収性の乏しさは主に膜透過性の低さや消化酵素・たんぱく分解酵素による分解に帰着される。大腸は、小腸に比べてたんぱく分解酵素活性が低く、そこでは吸収促進剤による高分子量薬物の吸収促進効果が向上することが知られている。<sup>31)</sup> したがって、ペプチド医薬品を胃・小腸での胃酸あるいは消化酵素による分解から保護し、ペプチド分解酵素活性が低く、吸収促進剤の効果が現れ易い大腸へ到達してから急速に放出させる大腸特異的送達システムの開発研究が盛んに進められている。これまでに消化管内のpH変化の利用、<sup>32–34)</sup> 消化管内内圧差の利用、<sup>35)</sup> 腸内細菌により分解するポリマーの利用<sup>36–40)</sup>などのアプローチが提唱され、興味ある知見が得られつつあるが、いずれも生体の生理的特性変化が薬物放出のトリガーとなるため、生体内環境の個体内並びに個体間差に基づく放出特性の変動が

懸念される。<sup>41)</sup> 一方、こうした生理的特性の変化によらず、あらかじめ定めた消化管内滞留時間後に内包薬物を一気に放出させるシステム<sup>42-46)</sup>も提唱されてきたが、製剤の大きさに起因する胃排出速度の変動や水分の少ない大腸での薬物放出速度の低下が指摘されている。特に後者は、高分子量を有するペプチド医薬品では顕著になることが予想される。

こうした背景から、ペプチド医薬品の経口投与を介した大腸送達システムとして、poly(ethyl acrylate/methyl methacrylate/2-hydroxyethyl methacrylate) (p(EA/MMA/HEMA)) ナノ粒子<sup>47)</sup>の積層・成膜化により形成した被膜を有する遅延放出型マイクロカプセルを設計した (Fig. 3)。<sup>13-15)</sup> 消化管内移動速度の影響を避け、さらに鋭敏な薬物放出特性を期待して、製品粒子径は可能な限り小さく (200  $\mu\text{m}$  以下)、また、大腸到達前の消化管内移動中にカプセル内に大量の水分を吸収保持させて内包薬物をあらかじめ溶解せしめて大腸での放出速度の低下を避ける工夫を施すようにしたところに従来のシステムと相違する特徴がある。

被膜材として用いる p(EA/MMA/HEMA) ナノ粒子 (Fig. 2(d)) は、乳化重合によって合成されるラテックスタイプの水分散液であり、モノマー組成を変化させることによって成膜後の熱的・力学的特性や水透過性を広範に調節することができることを明らかにしている。<sup>3,4,47)</sup> ペプチド医薬品のマイクロカプセル化を目的とする場合には、以下の要件が求められることになる。すなわち、1) ペプチド医薬品の変性を避けるため低温 (40°C 以下) にて核粒子の凝集を引き起こすことなく核粒子上への積層操作が可能なること、2) 積層したナノ粒子は低温で成膜可能なこと、3) 形成膜は高分子量の薬物の遅

延放出プロファイルを呈する透過特性を有すること。これらを踏まえて、モノマー組成の異なる一連のナノ粒子を合成し、核粒子に 90—106  $\mu\text{m}$  の乳糖、水溶性高分子モデル化合物に蛍光ラベル化デキストラン (FITC-Dex, 公称分子量 9500) を用いたモデル系で気中懸濁被覆法によるマイクロカプセル化を実施した。<sup>14)</sup> その結果、EA : MMA : HEMA のモル比を 95 : 85 : 40 としたナノ粒子が上記の要件を満足し得る性能を有することが分かり、このときのマイクロカプセルの収率は 91%、平均粒子径は 165  $\mu\text{m}$  で、ほとんど凝集がなく単核のカプセル化が可能であった。

一例として、モル比 95 : 85 : 40 の p(EA/MMA/HEMA) を用いて製したマイクロカプセルからの人工腸液 (pH 6.8) 中での FITC-Dex (公称分子量 9500) の放出を Fig. 4 に示す。意図通り、いずれも初期に放出が起こらないラグタイムとその後の急速な放出で特徴付けられる遅延放出プロファイルを示した。また、核粒子の乳糖もほぼ同じプロファイルで放出されることが確認された。さらに、大腸到達時間と目される 6 時間のラグタイムを有するマイクロカプセルについて人工胃液 (pH 1.2) 及びリン酸緩衝液 (pH 7.4) 中での放出を調べた結果、いずれの pH においてもほぼ同じ放出プロファイルを示し、pH 依存性は認められなかった。放出のラグタイムはマイクロカプセルの膜厚を変化させることによって 1 時間から最長約 10 時間の範囲で調節することが分かった。また、別の検討で、薬物固定用の結合剤を変更すると、ラグタイム後の放出速度を調節でき、特にメチルセルロースを用いると放出速度を著しく増大できる知見を得ている。<sup>48)</sup> 放出試験中のマイクロカプセルの形態を顕微鏡観察したところ、ラグタイムに相当する期間では著しく吸水して膨張を続け、急速な放出が開始する直前で被膜の局所的な膨張が起こり、その後収縮し始めて、最終的にはほぼ球形に復元することが観察された。このことから、FITC-Dex の放出機構を考察すると、それは、1) p(EA/MMA/HEMA) の半透膜的性質によって、マイクロカプセル内部への水の流入が乳糖を含む内包物質を溶解し、浸透圧の発生により被膜が膨張するため、水の流入が継続して、内包物質の放出が阻止される過程 (ラグタイム期) と、水和膨潤した p(EA-MMA-HEMA) 膜はハイドロゲル特有

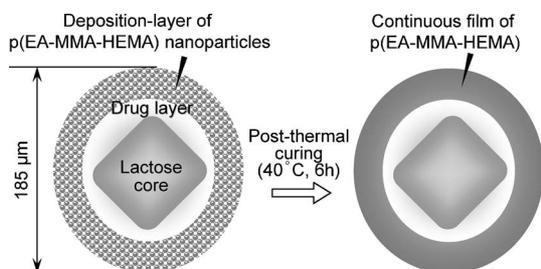


Fig. 3. A Schematic Diagram of Delayed-release Microcapsules with p(EA/MMA/HEMA) Membranes for Peroral Colon-Specific Delivery of Peptide Drugs

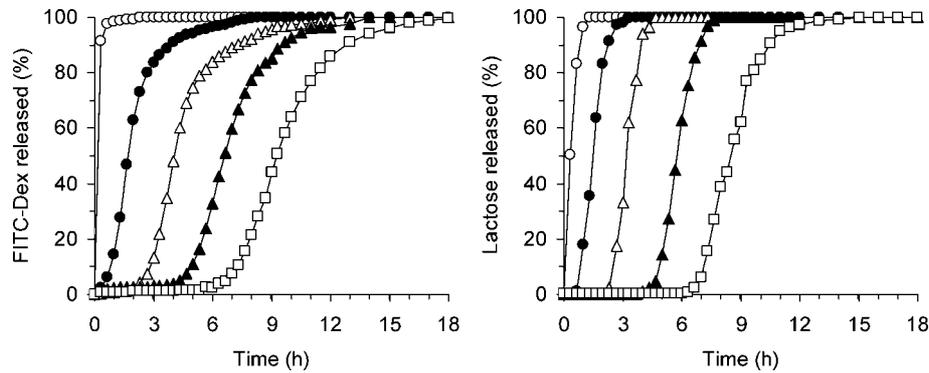


Fig. 4. Release of FITC-Dex and Lactose from p(EA/MMA/HEMA) Microcapsules in JP XIV Disintegration 2nd Fluid (pH 6.8) Feed weight percent of p(EA/MMA/HEMA), ○: 40%, ●: 80%, △: 120%, ▲: 160%, □: 200%.

の比較的ソフトなコンシステンシーを有するため、浸透圧による膨張により放出制御膜である p(EA/MMA/HEMA) の膜厚が局部的に薄くなり、乳糖・内包物質双方が容易に透過できる程度の細孔が形成される時点で半透膜的性質が消失して急速に放出が起こる過程（放出期）に基づくものと推察される。なお、FITC-Dex に対するこの被膜の透過特性には分子量依存性が認められ、分子量が 2 万を超えるとラグタイムは維持されるものの、分子量の増大にしたがってラグタイム後の放出量が低下した。<sup>15)</sup> このことは、この被膜の半透膜的な透過特性の喪失が単純な膜破壊によるものではないことを意味している。幸いなことに、透過可能な臨界分子量は 2 万であったことから、分子量的観点からみれば適用対象となるペプチド医薬品の範囲は比較的広いと考えられた。

こうした初期処方検討に基づいて、実際にモデルペプチドとしてインスリンを選択し、マイクロカプセル化を実施した。<sup>49)</sup> 上記処方にて試作を行った結果、平均粒子径約 160  $\mu\text{m}$  のマイクロカプセルを 90% 以上の収率で得た。加温流動化ガスを利用する気中懸濁被覆法では、一般に熱的安定性に乏しいペプチドの分解が危惧される。そのため、製剤の調製の各工程における操作温度を 40°C 以下に設定した。これによってインスリンの分解は最小限に抑えられることが分かった。また、40°C で 6 時間加熱キュアリングを施して成膜させたマイクロカプセルは、冷蔵 (4°C) 保存により 2 年間に渡り封入インスリンの 90% 以上をインタクトな状態で維持でき、さらにインスリン放出挙動にも変化を生じないことが判明した。消化管の pH 変化を模した放出試験条件

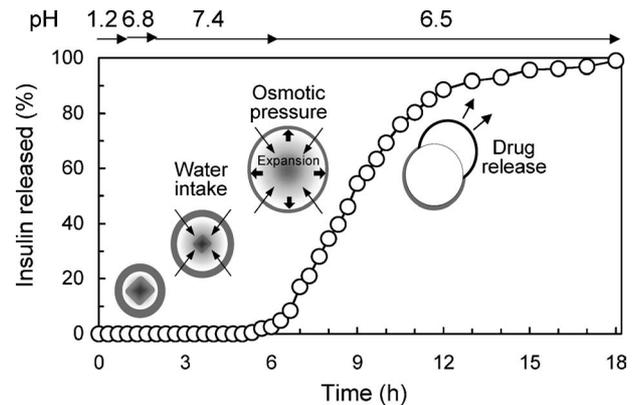


Fig. 5. Release of Insulin from p(EA/MMA/HEMA) Microcapsules in Simulated Gastrointestinal Fluids with Stepwise pH Changes

下では、意図した通り、大腸到達に要する 6 時間のラグタイムとその後の急速なインスリン放出が認められた (Fig. 5)。インスリン放出のラグタイムはマイクロカプセル膜厚により調節が可能であった。

この結果を受けて、プロテアーゼ阻害剤としてバシトラシン、吸収促進剤としてグリココール酸ナトリウムとともに封入したインスリン含有マイクロカプセルを試作した。処方の最適化によって、バシトラシン及びグリココール酸をインスリンの放出プロファイルにシンクロナイズさせて放出させることに成功し、ラグタイムが 3 時間及び 6 時間のマイクロカプセルを得ることができた。これらの製剤について、Sagara らの報告<sup>50)</sup> に従い消化管内運動及び pH を調整したビーグル犬への経口投与時におけるインスリン消化管吸収性を評価した。その結果、3 時間のラグタイムを有する MC を単独投与した場合、血糖降下はほとんど認められなかった。これに対

し、大腸への到達時間に相当すると考えられる6時間のラグタイムを有するマイクロカプセルでは投与後8時間経過の時点で最大約62%の血糖降下が認められ、この効果は約6時間持続した。なお、インスリンのみ含有するマイクロカプセルでは6時間のラグタイムを有する場合でも血糖降下がほとんどみられなかったことから、これらの結果はマイクロカプセルが大腸付近に到達したのちにインスリンが放出される場合にはバシトラシンのインスリン分解抑制作用とグリココール酸ナトリウムの消化管粘膜透過性促進作用によって吸収増大が図られる可能性を示唆した。インスリンの筋肉内注射時の血糖降下面積を基準として推定した薬理学的利用能は、インスリンのみ含有し、6時間のラグタイムを有するマイクロカプセル投与時で0.18%であったのに対し、バシトラシンとグリココール酸ナトリウムとともに封入したインスリン含有MCの投与では5.1%となり、約28倍に相当する有意に高い ( $p < 0.05$ ) 増大がみられた。絶対的な薬理学的利用能に関してはまだ改善の余地が残されているが、以上の検討結果から、遅延放出マイクロカプセル化によるペプチド医薬品の経口送達の可能性が示唆された。

**3-2. 温度応答性放出型マイクロカプセル** 疾病に伴う生体内環境変化若しくは外部からの温度やpHなどの物理的・化学的信号を感知して薬物放出のon-off型制御を行う刺激応答性放出制御製剤は、例えば膵臓からのインスリン分泌の自動フィードバック機構による血糖値調節のように、生体が必要とするときに必要量のみを高効率で生体に薬物を送達し得るシステムとして注目を集めている。<sup>22,51)</sup> 特に、感温膨潤特性を有しているpoly(*N*-isopropylacrylamide) (p(NIPAAm)) ハイドロゲルを利用した温度応答性放出制御システムは盛んに研究が進められているが、それらは円盤・平板・円柱あるいはビーズといった数センチから数ミリ程度の大きなデバイスでの実現に留まっている。<sup>17,18)</sup> 将来的には、生体侵襲性が少ないミクロンサイズの微小デバイスが囑望され、また微小であるほど鋭敏なレスポンスの獲得が可能と目される。こうした考えから、平均粒子径100 $\mu\text{m}$ 程度でp(NIPAAm) ナノ粒子が温度非応答性のエチルセルロースマトリックスに分散した被膜構造を持つ温度応答性マイクロカプセルを設計し、気中懸濁被覆法により調製した。この

マイクロカプセルは、架橋p(NIPAAm) シェルを有するコアシェル型の温度応答性ハイドロゲルナノ粒子 (Fig. 2(e)) を温度非応答性のエチルセルロースマトリックス膜に分散させた構造を有する (Fig. 6)。<sup>16)</sup> 架橋p(NIPAAm) の体積相転移温度 (約35 $^{\circ}\text{C}$ )<sup>16)</sup> 以上の高温ではp(NIPAAm) シェルが収縮して膜中に多数の空隙が形成される結果としての膜透過性の亢進を期待した。

カラム法放出試験にて試験温度を30 $^{\circ}\text{C}$ /20分間、50 $^{\circ}\text{C}$ /4分間のサイクルで周期的に変化させて薬物放出挙動の温度応答性を評価した結果を Fig. 7 に示す。30と50 $^{\circ}\text{C}$  で一定時間毎に周期的に変化させると、高温時 (50 $^{\circ}\text{C}$ ) のみ内包モデル薬物 (水溶性, Mw 363) をパルス放出する on-off 型のレスポンスを示すことが分かる。また、ハイドロゲルナノ粒子の粒子構造をコアシェル型からモノリシック型に変

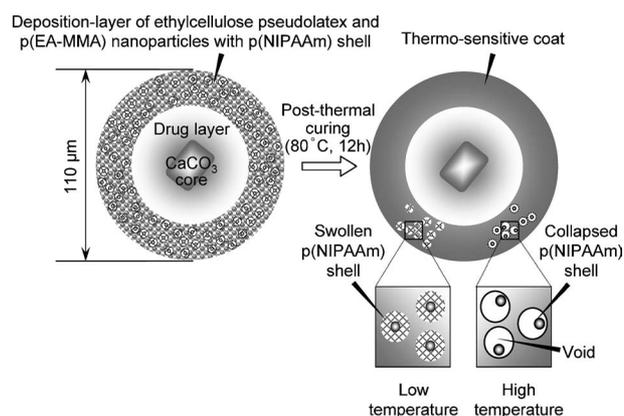


Fig. 6. A Schematic Diagram of Thermosensitive Drug Release Microcapsules

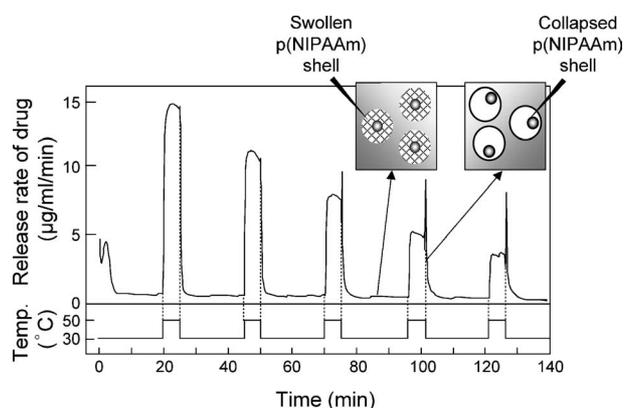


Fig. 7. Release Rate of Water-soluble Drug from Thermosensitive Microcapsules in Response to Stepwise Temperature Changes between 30 and 50 $^{\circ}\text{C}$  in 0.9% Saline Solution

更すればより高分子量 ( $M_w$  1355) の水溶性薬物に対しても同様のパルス放出が可能であった。特筆すべきは、放出のオン・オフ応答開始から定常状態に達する時間をわずか 1 分程度で達成できたことである。従来のマクロゲルを利用した放出制御での応答完了は、通常、時間オーダーであり、ゲルのナノサイズ化とこれをコンポーネントとするデバイスの微粒粒子化は鋭敏な温度応答性の獲得に卓越した効果をもたらすことが分った。このような温度応答性のオン・オフ型放出は、例えば、生体外部からの人為的な温度制御によりある種の内因性ホルモンのように分泌器官から一定周期毎にパルス様の分泌がなされるような機構に類似した様式で薬物送達するシステムへの応用が期待される。<sup>52)</sup> こうした応用には体温付近の微小な温度変化幅での制御やゲルの生分解化が求められ、現在、ポリカプロラクトンマクロマーを架橋剤とする生分解型 p(NIPAAm) ナノゲルの合成やモノマーの導入による数°C の微小温度変化幅での体積相転移制御を試みている。<sup>53)</sup>

#### 4. 将来的な課題

気中懸濁被覆法をペプチド医薬品のマイクロカプセル製剤化のための実用化技術として確立するには製剤素材に係わるソフト面、製造装置・投与技術などのハード面ともにいまだ多くの技術的課題を残している。物理化学的にデリケートな物性を持つペプチド医薬品の気中懸濁被覆法によるマイクロカプセル化では、ペプチド医薬品の湿式スプレーの際の高温流動化ガスへの暴露やスプレー送液時に高い剪断力を受けることによる分解が危惧される。3-1 項のマイクロカプセルでは低温で成膜可能なナノ粒子を用いて低温 (40°C 以下) での被覆操作によりインスリンの変性分解は幸いにも回避可能であったが、こうしたペプチドの流動層ハンドリング技術はまだ確立されたものにはなっておらず、製剤技術上の課題である。こうしたペプチドの分解を防止する保護担体として、先述したように 32°C を境にして低温側で膨潤、高温側で収縮するユニークな温度応答性を有する p(NIPAAm) の架橋体に poly(ethylene glycol) のグラフト鎖を導入した構造からなるハイドロゲルナノ粒子 (p(NIPAAm-co-PEGMA)) (Fig. 2(f)) を水系分散重合法により新たに合成し、これにペプチド医薬品を包含させてスプレーコーティングすることによってペプチドの安定化を図るこ

とを試みている。<sup>27,28)</sup> モデルペプチドにはインスリンを用い、低温 (4°C) で膨潤状態にある p(NIPAAm-co-PEGMA) ナノ粒子へ平衡分配法によりインスリンを 24 時間分配させたのち、系を 40°C にしてナノ粒子を収縮させてインスリンを封入した。インスリン含量は 2.1% に達し、このときの封入効率は 65% であった。インスリン封入 p(NIPAAm-co-PEGMA) ナノ粒子水分散液の高温 (60°C) 暴露試験を実施したところ、比較に用いたインスリンの PBS 溶液では試験開始 5 時間でインスリンは完全に分解したが、ナノ粒子に封入されたインスリンは試験開始 8 時間経過後でも最大 90% がインタクトな状態に維持され、熱的安定性を劇的に高めることが分った。なお、インスリン PBS 溶液及びインスリン封入ナノ粒子に剪断応力を与えた場合、いずれの場合でもインスリンの分解は認められなかった。このようにハイドロゲルナノ粒子へペプチドを内包して耐熱性・耐剪断力を付与した状態でペプチドの安定化を図りつつ噴霧被覆操作に供した例はこれまでなく、今後実際プロセスにおいてその有用性を実証したい。

一方、3-2 項で示した温度応答性放出制御デバイスのように、例えば皮下投与型のデポ用注射懸濁剤への適用を想定する場合、デバイスを構成するための高分子性被膜剤は生体内分解性であることが必須である。市販のコーティング剤はすべて経口適用に限定されており、現在までにそのような生分解タイプの高分子性被膜剤は開発されていない。こうした背景から、生分解性被膜剤としてキトサンやポリ( $\epsilon$ -カプロラクトン) (PCL) からなる非架橋型ナノ粒子の開発を試みている。<sup>24,54)</sup> キトサンは有機酸には溶解するが中性以上の pH では不溶化する性質を利用した水系中和析出法により架橋剤を全く使用せずに平均粒子径 300 nm 前後の非架橋型キトサンナノ粒子を得ることができた。<sup>24)</sup> このキトサンナノ粒子の水分散液のスプレーコーティングによって製した牛血清アルブミン (BSA) 含有キトサン膜マイクロカプセルは、凝集傾向が低く (製品粒子径は 100  $\mu\text{m}$  以下)、長期間に渡る BSA の徐放化 (6.5 日後の BSA 放出率が約 25%) を示すことが分った。また、BSA の放出速度は、キトサンナノ粒子へ水溶性のアスパラギン酸を 10% 添加して被膜形成させることによって促進させることも可能であった。

これと並行して、できる限り薄膜で徐放化を達成するため、疎水性で生体内半減期が比較的長い PCL ナノ粒子のエマルジョン溶媒蒸発法による調製についても検討を進めている。<sup>54)</sup> 乳化剤にプルロニック-F68, 分散剤にポリビニルアルコールを用いた系で、200—350 nm の PCL ナノ粒子が得られ、その粒子径は用いる PCL の分子量及び乳化剤・分散剤の添加量を変化させることで調節可能であること、また、50°C の静的条件下で膜形成性が認められ、キャスト膜は比較的柔軟で耐水性を有していることを見出している。

ハード面では、注射可能な剤形とするには無菌製造の可能な設備が必要となるが、幸い、最近になって流動層をベースとした無菌粉末注射剤の製造の試みが報じられ、<sup>55)</sup> 今後の進展が期待される。埋め込み剤への適用に際しては、非侵襲的な投与技術の導入も患者の QOL 向上の観点から重要となるが、数十  $\mu\text{m}$  の粒子を高圧で皮膚に打ち込み皮下に浸透させる高圧ジェット型無針注射器 (Needle-free Powder Jet Injector) の技術が実用化されようとしている。ここで用いられる粒子も注射剤規格を満たす必要があり、流動層微粒コーティング技術の注射剤への適用が試みられている。<sup>56)</sup>

## 5. おわりに

高分子ナノ粒子のマイクロデバイス構成要素としての活用とそれらの高度な構造制御技術の基でのアッセンブリングは、高い機能性を持つマイクロデバイスの構築のための魅力的な方法の 1 つである。こうしたデバイス構築のためのナノ粒子アッセンブリング技術として用いた気中懸濁被覆法自体は従来から汎用されている流動層コーティング技術の延長線上にあり、技術転用は比較的容易である。

本稿では、こうしたナノからマイクロへのアッセンブリングというコンセプトに基づき、高分子ナノハイドロゲルを構成要素として利用するペプチド医薬品の特殊放出制御のためのマイクロカプセル化の研究例を紹介した。他の素材にはみられないハイドロゲル特有の性質は、物理化学的、生物薬剤学的、薬理的性質の特異性から一般にその製剤化に特有の困難さがつきまとうペプチド性医薬品に対する機能性送達システムの構築には大変魅力的である。特に、一般に容易ではないそのような高分子量の医薬品の放出制御を可能にする技術は、次世代の機能性

DDS 開発の要素技術と目されることから製剤工学的にも重要視されている。しかし、これを実際にマイクロカプセル化製剤へとつなげるためには、安全性を含めた素材特性制御、調製法、構造解析などに係わる数多くの要素技術のより一層の進展が不可欠である。そのいくつかはペプチド医薬品製剤全般に共通の課題にも見受けられるが、幸い、アクリル系モノマーは種類が豊富であるため、その組み合わせは無数にあり、構成モノマーの適切な選択によって多様な特性の整合性を取りながら最適化を図ることは可能であろう。こうしたアプローチに基づいて各課題を着実に乗り越えてゆく作業の積み重ねが高分子ナノハイドロゲルベースの DDS の登場につながることを期待している。

**謝辞** 本稿で紹介した研究は、神戸学院大学薬学部物性薬学部門製剤学研究室で行われたものであり、実験にご協力賜りました関係者の方々に厚くお礼申し上げます。また、p(NIPAAm-co-PEGMA) に関する成果はテキサス大学 Nicholas A. Peppas 教授との共同研究によるものであり、特に深謝申し上げます。本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費 (基盤研究 C16590038)、文部科学省私立大学学術研究高度化推進事業 (平成 18 年度学術フロンティア推進事業) 並びにホソカワ粉体工学振興財団 (H17 年度研究助成特別枠) の助成を受けて実施したものであり、ここに記して謝意を表します。

## REFERENCES

- 1) Marty J. J., Oppenheim R. C., Speiser P., *Pharm. Acta Helv.*, **53**, 17–23 (1978).
- 2) Kreuter J., *Pharm. Acta Helv.*, **53**, 33–39 (1978).
- 3) Ichikawa H., Jono K., Tokumitsu H., Fukuda T., Fukumori Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1132–1136 (1993).
- 4) Ichikawa H., Tokumitsu H., Jono K., Fukuda T., Osako Y., Fukumori Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 1308–1314 (1994).
- 5) Ichikawa H., Kaneko S., Fukumori Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 383–391 (1996).
- 6) Ichikawa H., Fukumori Y., Adeyeye C. M., *Int. J. Pharm.*, **156**, 39–48 (1997).
- 7) Ichikawa H., Fukumori Y., *Int. J. Pharm.*, **180**, 195–210 (1999).

- 8) Ichikawa H., Fujioka K., Adeyeye C. M., Fukumori Y., *Int. J. Pharm.*, **216**, 67–76 (2001).
- 9) Ichikawa H., Fukumori Y., “Powder Technology Handbook,” 3rd ed., eds. by Masuda H., Higashitani K., Yoshida H., Taylor & Francis, Florida, 2006, pp. 435–447.
- 10) Jono K., Ichikawa H., Miyamoto M., Fukumori Y., *Powder Technol.*, **113**, 269–277 (2000).
- 11) Fukumori Y., Ichikawa H., *J. Soc. Powder Tech., Jpn.*, **42**, 573–581 (2005).
- 12) Heller J., *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **10**, 253–305 (1993).
- 13) Ichikawa H., Arimoto M., Fukumori Y., *Powder Tech.*, **130**, 189–192 (2003).
- 14) Arimoto M., Ichikawa H., Fukumori Y., *Powder Tech.*, **141**, 177–186 (2004).
- 15) Arimoto M., Fukumori Y., Fujiki J., Ichikawa H., *J. Drug Deliv. Sci. Tech.*, **16**, 173–181 (2006).
- 16) Ichikawa H., Fukumori Y., *J. Control. Release*, **63**, 107–119 (2000).
- 17) Ichikawa H., Fukumori Y., *S.T.P. Pharm. Sci.*, **7**, 529–545 (1997).
- 18) Ichikawa H., Fukumori Y., “The MML Series, Vol. 8, Smart Nanoparticles in Nanomedicine,” eds. by Arshady R., Kono K., Kentus Books, UK, 2006, pp. 127–158.
- 19) Osada Y., “Gel Handbook,” eds. by Osada Y., Kajiwara K., NTS, Tokyo, 1997.
- 20) Annaka M., Tanaka T., *Nature*, **355**, 430–432 (1992).
- 21) Tanaka T., *Phys. Rev. Lett.*, **40**, 820–823 (1978).
- 22) Peppas N. A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 27–46 (2000).
- 23) Tokumitsu H., Ichikawa H., Fukumori Y., *Pharm. Res.*, **16**, 1830–1835 (1999).
- 24) Masui S., Ichikawa H., Fukumori Y., Proceedings of 8th International Symposium on Agglomeration, March 2005, Bangkok, pp. 321–325.
- 25) Ichikawa H., Peppas N. A., “New Trends in Polymers for Oral and Parental Administration from Design to Receptors,” ed. by De Sante, Paris, 2001, pp. 261–264.
- 26) Ichikawa H., Yamasaki Y., Fukumori Y., “New Trends in Polymers for Oral and Parental Administration from Design to Receptors,” ed. by De Sante, Paris, 2001, pp. 257–260.
- 27) Leobandung W., Ichikawa H., Fukumori Y., Peppas N. A., *J. Control. Release*, **80**, 357 (2002).
- 28) Leobandung W., Ichikawa H., Fukumori Y., Peppas N. A., *J. Appl. Polym. Sci.*, **87**, 1678 (2003).
- 29) Ritschel W. A., *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **13**, 313–336 (1991).
- 30) Saffran M., “Oral Colon-Specific Drug Delivery,” ed. by Friend D. R., CRC Press, Inc., Florida, 1992, pp. 115–142.
- 31) Yamamoto A., Taniguchi T., Rikyuu K., Tsuji T., Fujita T., Murakami M., Muranishi S., *Pharm. Res.*, **11**, 1296–1500 (1994).
- 32) Ashford M., Fell J. T., Attwood D., Woodhead P. J., *Int. J. Pharm.*, **91**, 241–245 (1993).
- 33) Peeters R., Kinget R., *Int. J. Pharm.*, **94**, 125–134 (1993).
- 34) Krogars K., Heinamaki J., Vesalahti J., Marvola M., Antikainen O., Yliruusi J., *Int. J. Pharm.*, **199**, 187–194 (2000).
- 35) Hu Z., Kimura G., Mawatari S., Shimokawa T., Yoshikawa Y., Takada K., *J. Control. Release*, **56**, 293–302 (1998).
- 36) Saffran M., Kumar G. S., Savariar C., Burnham J. C., Williams F., Neckers D. C., *Science*, **233**, 1081–1084 (1989).
- 37) Milojevic S., Newton J. M., Cummings J. H., Gibson G. R., Bothman R. L., Ring S. G., Allwood M. C., Stockham M., *S.T.P. Pharm. Sci.*, **5**, 47–53 (1995).
- 38) Kakoulides E. P., Smart J. D., Tsibouklis J., *J. Control. Release*, **52**, 291–300 (1998).
- 39) Gliko-Kabir I., Yagen B., Baluom M., Rubinstein A., *J. Control. Release*, **63**, 129–134 (2000).
- 40) Tozaki H., Nishioka J., Konmoike J., Okada N., Fujita T., Muranishi S., Kim S.-I., Tera-shima H., Yamamoto A., *J. Pharm. Sci.*, **90**, 89–97 (2001).
- 41) Haeberlin B., Friend D. R., “Oral Colon-Specific Drug Delivery,” ed. by Friend D. R., CRC Press, Inc., Florida, 1992, pp. 1–43.
- 42) Narisawa S., Nagata M., Hirakawa Y.,

- Kobayashi M., Yoshino H., *J. Pharm. Sci.*, **85**, 184–188 (1996).
- 43) Takaya T., Hu Z., Mawatari S., Shimokawa T., Kiura G., Yoshikawa Y., Shibata N., Takada K., *J. Pharm. Pharmacol.*, **47**, 474–478 (1995).
- 44) Gazzaniga A., Busetti C., Moro L., Sangalli M. E., Giordano F., *S.T.P. Pharm. Sci.*, **5**, 83–88 (1995).
- 45) Wilding I. R., *S.T.P. Pharm. Sci.*, **5**, 13–18 (1995).
- 46) Murata S., Ueda S., Shimojo F., Tokunaga Y., Hata T., Ohnishi N., *Int. J. Pharm.*, **161**, 161–168 (1998).
- 47) Fukumori Y., Yamaoka Y., Ichikawa H., Fukuda T., Takeuchi Y., Osako Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 3070–3078 (1988).
- 48) Ichikawa H., Fukumori Y., Arimoto M., Proceedings of papers, 38th Summer Symposium of the Society of Powder Technology, Japan, Kanagawa, August 2002, pp. 88–91.
- 49) Ichikawa H., Arimoto M., Fukumori Y., Abstracts of papers, 2nd Pharmaceutical Sciences World Congress, Kyoto, May 2004, p. 320.
- 50) Sagara K., Nagamatsu Y., Yamada L., Kawata M., Mizuta H., Ogawa K., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 3303–3306 (1992).
- 51) Bae Y. H., Kwon I. C., “Biorelated Polymers and Gels,” Chap. 4, ed. by Okano T., Academic Press, San Diego, 1998, pp. 93–134.
- 52) Brabant G., Prank K., Schoff C., *Trends Endocrinol. Metab.*, **3**, 183–190 (1992).
- 53) Ichikawa H., Tanikawa Y., Fukumori Y., Proceedings of The 11th SCEJ Symposium on Fluidization & Particle Processing, ed. by The Society of Chemical Engineers, Japan, Toyama, December 2005, pp. 206–212.
- 54) Ichikawa H., Takenaka H., Fukumori Y., Proceedings of Autumn Annual Meeting of the Society of Powder Technology, Japan, Osaka, October 2003, pp. 65–66.
- 55) Yamamoto M., Inoue S., Muguruma Y., Takeshima K., Yamaguchi H., Tai H., Tsujimoto H., Yokoyama T., Proceedings of Spring Annual Meeting of the Society of Powder Technology, Japan, Kyoto, May 2004, pp. 53–54.
- 56) Maa Y. F., Ameri M., Rigney R., Payne L. G., Chen D., *Pharm. Res.*, **21**, 515–523 (2004).