

pH 応答性薬物キャリアとしての新規キトサンゲルについての検討

日大生産工(院)
日大生産工

○原元 綾香
柏田 歩 松田 清美

1 緒言

キトサン (CHT) は、カニやエビなどの殻から取り出したキチンを、体内で働きやすいように脱アセチル化したものであり、生体適合性および生分解性などの性質を有するため、健康食品や薬物送達システム (Drug Delivery System; DDS) のような医療分野から注目され、近年多く研究が進められている。

DDS とは、薬物の過剰投与や副作用を抑制するために、必要最小限の薬物を、必要な時、必要な部位にだけ投与でき、かつ薬物の放出を制御しながら目的部位に向かい効果的に投与する手段である。

高分子ゲルがもつ薬物の貯蔵、薬物放出、放出速度の制御という特性は、DDS の基本理念を満たす。そこで、我々は大腸の pH 環境と非常に近い pH 領域で体積相転移を起こす CHT をゲル化して用いることにした。この CHT ゲルは、体内での pH 変化に応答し、膨潤-収縮することで、内包された薬物を絞り出し効果により放出できる。よって、大腸を目的部位とした DDS を構築する上で、CHT ゲルは最適な材料であるといえる。

本研究では、剛直な骨格構造であるため、膨潤性に乏しいとされている CHT ゲルの吸水性を向上させるために、ポリエチレングリコール (PEG) と半相互侵入高分子網目 (semi-interpenetrating polymer network; semi-IPN) 化した後、架橋剤である Epichlorohydrin (ECH) を用いてゲルを調製し、膨潤-収縮挙動を検討した。その後、潰瘍性大腸炎薬の 5-Aminosalicylic acid (5-ASA) をモデル薬剤として用い、大腸領域をモデルとした pH 6.5 の緩衝溶液中での pH 応答によるゲルの膨潤-収縮挙動を利用した薬物放出挙動の検討を行った。さらに、ゲルの pH 応答性を向上させるために、必須アミノ酸である L-リシン (L-Lysine) を用い、構造中のアミノ

基の数を増やすことで、新たに改質した CHT (CLL) についての経過も併せて報告する。

2 実験

2.1 CHT/PEG semi-IPN gel の調製

2 % (w/v) CHT 溶液中に 8 % (w/v) PEG 溶液を全体質量の 25 % の割合で混合し、アミノ基の保護のためにホルムアルデヒドを加えた¹⁾。溶解後、ゲル型に流し込み、室温で 1～2 時間反応させた後、ECH 32 mM を含んだ pH 6 の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液にゲルを入れ、6 時間 70℃ で架橋させた。その後、0.1 M 塩酸に浸漬し、アミノ基の脱保護を行った²⁾。

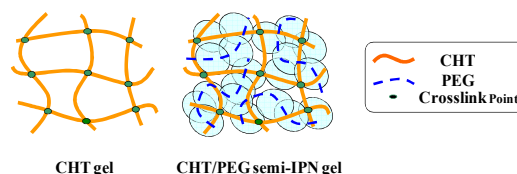


Fig. 1 Illustration of CHT gel and CHT / PEG semi-IPN gel

2.2 ゲルの膨潤度測定

調製したゲルを pH 3～7 の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液、pH 8～12 のホウ酸-水酸化ナトリウム緩衝溶液に入れ、24 時間浸漬させた後の重量を測定し、膨潤度を算出した。

2.3 薬物放出実験

調製したゲルを pH 5 の 5 mM 5-ASA 溶液に浸漬し、5-ASA を包括させた。その後、大腸領域をモデルとした pH 6.5 の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液に移し、37℃ で、一定時間ごとに 330 nm で溶液の吸光度を測定した。

2.4 CLL の合成

CLL は、CHT をエタノール中で縮合剤である *N,N*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) を用い、L-Lysine と縮合させ、合成した³⁾。得られた合成物を透析により精製後、IR、NMR によって同定した。

Investigation of novel chitosan gel as pH-responsive drug carriers

Ayaka HARAMOTO, Ayumi KASHIWADA, and Kiyomi MATSUDA

3 結果・考察

3.1 CHT/PEG semi-IPN gel の膨潤度の確認

通常の CHT gel, 分子量の異なる 2 種類の CHT/PEG semi-IPN gel の pH 変化に対する膨潤度を比較した結果を Fig. 2 に示す。

Table 1 Compositions of the semi-IPN gels

	CHT (g)	PEG (w/v) %	PEG molecular weight	ECH (mM)	Mass % of PEG in the gel
CHT	0.6	0	0	32	0
CP1	0.6	8	3,000	32	25
CP2	0.6	8	6,000	32	25

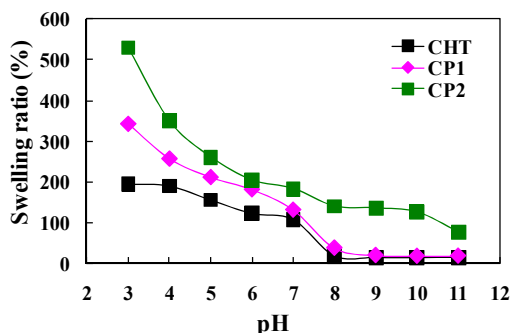


Fig. 2 Changes in the swelling ratio of CHT gel in 0.1 M $\text{CH}_3\text{COOH-CH}_3\text{COONa}$ buffer solutions (pH 3-7) and 0.1 M $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-NaOH}$ buffer solutions (pH 8-12)

すべてのゲルが CHT の pK_a が 6.5 付近であることから, pH 6.5 よりも低い pH 範囲でプロトン化が起こり, 静電的な反発により酸性側で膨潤することがわかる。

中でも, 通常の CHT gel と比べ CP1, CP2 は, 柔軟な構造の水溶性高分子である PEG を CHT 構造中に侵入させることで, 多くの水分子をゲル内に保持することが可能となるため, 膨潤度が向上した。さらに, この 2 種類のゲルを比較すると, CP2 の方が膨潤度が高い。これは, 分子量が高い PEG を用いることで, ゲルの三次元網目内に絡まりやすく, その周囲により多くの水分子を保持できたことによるものと推測できる。よって, 高分子量の PEG で semi-IPN 化させることで CHT ゲルの吸水性が改善できることが判明した。

3.2 薬物放出実験

Fig. 3 には, 分子量 6000 の PEG を導入し, 吸水性が増した CP2 と通常の CHT gel の大腸領域と同じ pH 6.5 緩衝溶液中での 5-ASA 放出濃度の変化を示す。

Fig. 3 より, CP2 の方が, 通常の CHT ゲルより 5-ASA 放出濃度が高く, 緩やかに上昇するという結果が得られた。これは, 高分子量の PEG で semi-IPN 化することで, CP2 はゲル内がより親水性となり, pH 5 では高い膨潤状態

であるため, ゲル内部に溶媒である水を含む多くの物質を取り込むことが可能となる。よって, ゲルの奥内部にまで薬物が浸透できるため, 表面付近に包括されていた薬物が放出した後も, 内部に包括されていた薬物が網目内を拡散し, 外部へと徐々に薬物を放出するまで, 長時間にわたる薬物放出が継続されたと推測できる。

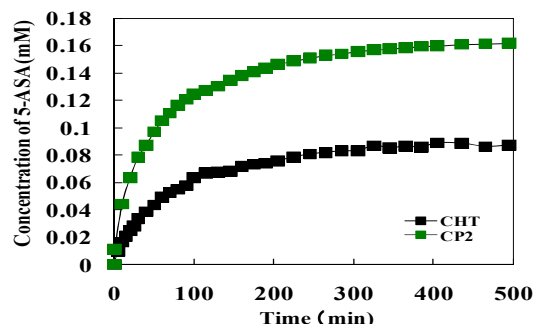


Fig. 3 Concentration of 5-ASA from CHT and CP2 in 0.1 M $\text{CH}_3\text{COOH-CH}_3\text{COONa}$ buffer solution (pH 6.5)

3.3 CLL の確認

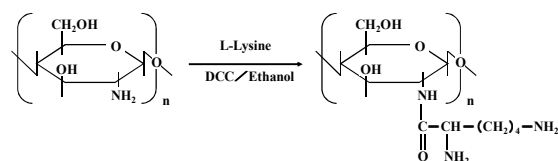


Fig. 4 Schematic illustration of the preparation mechanism of CLL

合成したCLLをIR, NMRを測定した結果, 目的物であることを確認した。今後, CLLゲルを調製し, pH応答性, 薬物放出挙動等を検討していく予定である。

4 結言

水溶性高分子の PEG を semi-IPN 化させることで, ゲルの吸水性を改善することができる。また, それを薬物放出担体として用いた場合, 大腸の pH に応答して長時間の薬物放出を継続できることを確認した。さらに, CHT を改質した CLL を用いることで, 良好な pH 応答性ゲルとなるということが期待できる。

5 参考文献

- 1) J. R. Khurma, A. V. Nand, *Polym. Bull.* **59** (2008) 805-812.
- 2) Q. Caiqin, X. Ling, S. Xiaowen, C. Jiawei, *React. Funct. Polym.* **50** (2002) 165-171.
- 3) Y. Xiao, X. Zhou, *React. Funct. Polym.* **68** (2008) 1281-1289.