物理刺激で薬物を放出するゲル担体を利用した患者制御型ドラッグデリバリーシステム

物質・材料研究機構・国際ナノアーキテククス研究拠点, JST-CREST

井澤浩則・川上亘作・有賀克彦

Patient-Controlled Drug Delivery System Utilizing Mechanical Stimuli-Responsive Gel Carrier

Various stimuli (thermal, light, magnetic, etc.) -responsive materials are widely used as DDS carriers. These materials are very useful for realizing innovative DDS; however, their utilization may require investment on infrastructure. In this article, a novel gel carrier that release drugs in response to mechanical force generated by patients' hands is introduced. The gel consisted of sodium/calcium alginate and cyclodextrin-crosslinker, and ondansetron was loaded as a model drug. The drug release occurred in response to compression that mimicked the force applied by patients' hands. In addition to contribution to QOL, this DDS can be a novel dosing methodology for patients in developing countries and those lacking in lifelines due to disaster.

温度や光、磁力など様々な外部刺激に応答する材料が、DDS 担体として広く利用されている。これらは DDS 概念の具現化に極めて有用である一方で、実現に際してはインフラ整備などが課題になることがある。本稿では、人の手で与える力のみで薬物放出を行うゲルを紹介する。担体ゲル素材は、アルギン酸カルシウムを、シクロデキストリンで架橋することにより合成した。これにモデル薬物として制吐剤のオンダンセトロンを取り込ませ、人の押す力を模倣した刺激を与えると、それに応じて薬物放出が起こることが確認された。本システムは QOL の向上に貢献するだけでなく、インフラ整備が不可能な発展途上国や、ライフラインが途絶えた災害時などでも利用が可能な、新しい薬物投与法として期待される。

Hironori Izawa, Kohsaku Kawakami, Katsuhiko Ariga

Keywords: Patient-Controlled Drug Delivery System, Mechanical Stimuli, Gel, Cyclodextrin, Ondansetron

はじめに

外部刺激応答性担体の利用は、DDS 概念を具現化する有力な手法のひとつである^{1,2)}。過去に多くの熱、光、磁力等への応答性担体が開発されてきたが、これらを実際に利用するためにはインフラ整備が必要となるため、利用機会はおのずと限定されてしまう。また災害や停電などにより電力供給が止まると利用は困難となり、発展途上国における利用も期待できない。従って、もっと容易に与えることができる刺激に応答する薬物担体を創製できれば、その用途や利用機会は大きく広がると期待される。近年、人の手で加えられるようなマクロな力で、分子レベルの相互作用を操作する研究が注目を集めて

いる。もっともそのような操作は、我々の日常生活のなかにも深く浸透している。例えば、ゴムが伸びるのは、外力によって構成高分子がエントロピー的に不利な状態に伸びるためである。水に濡れて縮まった髪の毛は、ドライヤーで真っ直ぐに伸ばすことができるが、これは水素結合の再構築を利用している。つまり、人の手で分子レベルの構造変化を起こすこと自体は、決して困難ではない。そのような操作を可能とする材料を人為的に設計し、薬物分子との相互作用を制御できれば、環境に制約されることはなく、患者自身が自分の意思で薬物投与できる担体を創製することができる。本稿では、マクロな物理刺激による分子間相互作用操作に関する研究をレビューしたのち、人の手で加える力で薬物が放出されるゲル担体を紹介する。

* International Center for Materials Nanoarchitectonics(WPI-MANA), National Institute for Materials Science, JST-CREST

近年、マクロな物理刺激による分子間相互作用の操作は、材料化学分野において多くの注目を集めている。マクロな刺激といっても、光や電気などの刺激の本質は光子や電子である。このような場合は、刺激の単位がナノ・分子現象と容易にカップリングできるので、ナノ・分子レベルの現象の操作は比較的容易である。その一方で、より原始的な刺激である、引っ張る、押す、切る、くっつけるなどの力学的操作は、分子スケールの単位に分けられない。従って、マクロな力学的刺激とナノ・分子操作をうまく繋ぐためには、綿密な系の設定や材料設計が必要となる。

マクロな力学的刺激で生体分子の構造を制御し、それによって構造解析に役立て、機能を解析するなどの例がいくつかある。吉田らは、ATP の消費を動力源として回転する分子モータに蛍光物質を固定することによって、その動きを可視化した。興味深いのは、逆にモータを外力によって動かすことにより、物質生産という分子現象の制御に成功している点である³⁾。図 1 に示すように、分子モータに磁性ビーズを結合させ、磁石を動かすことでモータを逆回転させると、ATP の生産が確認されたのである。Voegel らは、交互吸着法を用いて張力の印加によりメソ孔が開くフィルムや、そこに含まれる酵素が張力により界面に露出するフィルムを開発し、フィルムに張力をかけると酵素反応が始まり、張力をか

図 1 マクロな外部刺激で分子モータを駆動する様子

けないと酵素反応が抑制されるという、力学的刺激による酵素反応の制御を実現した⁴⁾。

発色・発光現象のマクロな力学的刺激による制御も報告されている。相良と加藤は、側鎖に水素結合部位としてアミノ基を有する液晶性ビレンを合成し、キュービック相の液晶にせん断応力をかけるとことによってカラムナー相への転移を誘起させて、その色調を変化させた⁵⁾。医薬品分野においては、薬物を単独もしくは添加剤とともに乳鉢粉碎するだけで、非晶化や Cocrystal の形成などを誘起できることが広く知られており⁶⁾、これも機械力による分子間相互作用操作の一種である。伊藤と澤村らは、Au (I) イオンとシアノベンゼン誘導体の混合物をすり潰すと、蛍光色が青から黄色に変化することを見出した。これは混合粉碎によって結晶から非晶質への転移が起こり、分子間相互作用が促進されて蛍光が長波長シフトするためである⁷⁾。

高分子の構造の中に開環で色調変化する部位を導入して、力学的刺激による内部的な分子変化を可視化する試みもある。Moore らは、スピロピランの両末端に高分子鎖を導入したポリマーを延伸し、スピロピラン部の開環による黄色から赤へと色調変化を利用して、この素材にかかる負荷を可視化した⁸⁾。Leibler らは、可逆的な水素結合で構成されたゴムのような超分子ポリマー素材を開発し、この素材をカッターなどで切断しても、それを手で張りあわせれば水素結合によって元通りに修復することを示した⁹⁾。原田らは、シクロデキストリンの包接現象を利用して、マクロな動きで自発的に接着するゲルを開発した¹⁰⁾。

我々は、界面という環境を用いて、マクロな力学的刺激を分子構造の変化やそれに基づく機能の発現に結びつける方法論を提唱している。界面は厚さ方向には分子レベルの平滑さを持っているが、横方向には物質を目で見える大きさで動かせる自由度を持っている擬似的な二次元空間であり、マクロの次元とナノ・分子の次元を併せ持つ環境である。この環境を動的に使えば、マクロな力学刺激をナノ・分子レベルの現象に反映することができる。そのパイオニア的な例を図 2 に示した。開閉可能な分子マシンを気-水界面上に敷き詰め、この単分子膜を数

図2 マクロな力学的刺激で分子のキャッチ&リリースを行う実験風景

十センチレベルの圧縮膨張と連動させることによって、分子捕捉・放出の制御が行えることがわかった¹¹⁾。

同様な方法論をもって、分子認識やセンシングをマクロな力学的刺激で制御することもできる。生体分子などの極めて微妙な差を見わけるためには、通常、それを認識するためのレセプター分子の精緻な設計と合成が必要である。それに対し、我々はキラルな部位を持つ構造の簡単な分子を気-水界面に並べ、それを圧縮膨張することによって分子のひねりを調節し、水面下からのアミノ酸の吸着現象をコントロールした。その結果、加える圧力によって、アミノ酸のD体とL体の吸着割合が変化することを発見した¹²⁾。すなわち、不斉認識を行うためにそれに対応するレセプター分子を特別に合成するのではなく、単純な構造の同一分子をレセプターとして用いて、外的な圧力を変えるだけでアミノ酸のキラル構造を見わけることができた。さらに、分子構造の差異がメチル基の有無だけである核酸塩基のウラシ

ルとチミンの識別を行った¹³⁾。我々は、アームドシクロノナンという分子を“だいたいよい構造のレセプター分子”として用い、この分子の構造を最適な認識構造にするため、水面上に単分子膜として並べ、膜の横方向から圧力を徐々にかけていき、その分子の形を連続的に徐々に歪ませた。最適条件で、この膜が64倍の精度でウラシルを選択的に識別できることがわかった。

このように、マクロな力学的刺激によって動的に最適構造を探し出すという要素を加えれば、レセプター分子の潜在能力を引き出すことができる。つまり、高度に設計されたレセプター分子を合成しなくとも、比較的簡単な構造の分子を我々の手で歪ませることによって、性能の良いレセプター構造を得ることができるのである。構造は無限に変えられる。可能性は無限にある。この方法論は、分子認識という限られた現象に特化されることなく、多くの材料物性の繊細なチューニングにも応用されるものと期待される。

DDS キャリアへの利用
～機械力によるホスト-ゲスト相互作用制御

シクロデキストリン(CyD)は、様々な薬物と複合体を形成することが知られており、各薬物との結合定数(安定化定数)は、環の大きさに敏感に依存することが多い。さらにその立体構造は、加圧下において僅かながら構造を変え得ることを、予備的な第一原理計算より見出した。従って CyD は、人の手によって加えられる機械力によって薬物を放出するホストとして機能すると期待される。人の力を効率的に CyD に伝えるべく、我々はアルギン酸を β -CyD で架橋したゲル基材 (CCAL) を設計した¹⁴⁾。

ホスト-ゲスト相互作用の制御概念を図 3 に示す。外力によって、主鎖のアルギン酸にはそれぞれ異なる方向へのストレスが発生するため、それらを架橋する CyD にも一時的に僅かな歪みが与えられると考えられる。結果として、ホスト-ゲスト相互作用に摂動が加わり、包接状態が影響を受けるという仕組みである。

本 DDS は、患者自身の意思で容易に薬物投与ができることを想定している。従って、アレルギー性疾患や疼痛のように、患者自身が症状に応じて薬物投与を行うことが理想的な疾患に適している。薬物の物理化学的性質としては、CyD のゲストとして包接されやすい化合物であることは当然であるが、

図 3 患者自身が与える機械力で制御する DDS の概念. β -CyD を架橋点とする高分子材料 CCAL の場合は、加圧によって架橋部位にストレスが伝わり、内包薬物が放出される。 β -CyD を 1 点でグラフトしたのみの CGAL (比較対照材料) においては、外部ストレスは β -CyD に伝えられない。

さらに環の大きさに対して選択制の高さが求められる。また、経口投与が困難でありながら、一定期間の連投が必要な薬物に対して効果的であるため、ここでは制吐剤（セロトニン（5-HT₃）拮抗薬）であるオンダンセトロン（ODN）をモデル化合物として検討を行った。

図4は、 α -CyDおよび β -CyDに対するODNの溶解度相図である。いずれに対してもODNの溶解度は直線的に上昇しており、1:1コンプレックスを形成することがわかった。結合定数はそれぞれに対して 18.6 M^{-1} 、 339.0 M^{-1} であり、1桁以上の開きが見られた。¹H-NMR測定においては、 β -CyDの存在下でカルバゾール骨格の水素原子(表1, a, e, f, g)について大きなピークシフトが起こることが確認された(表1)。従って、ODNはカルバゾール骨格を β -CyDの空洞内に挿入し、安定化していると推察された(図4挿入図)。この結果は、構造最適化計算においても支持された。

β -CyDの3つのグルコースユニットの6位にアミノ基を有する β -CyD架橋剤を合成し、カルボキシル基との脱水縮合反応で、 β -CyDを架橋点として有するアルギン酸基材(CCAL)を合成した。比較対照として、 β -CyDを1点でグラフトしただけの基材(CGAL)も合成した(図3)。グラフトゲルの場合は、外力を与えても β -CyD部位に伝播しないと考えられる。アルギン酸の対イオンとしては、ナトリウム塩とカルシウム塩について検討した。 β -CyD架橋ゲルを様々な導入率で合成したところ、アルギン酸と β -CyDの重量比にして1.2程度までは導入が可能で、それ以上になるとゲルを形成でき

図4 ODNの α -CyD、 β -CyDに対する溶解度相図 (pH6.5リン酸緩衝液、37℃)

挿入図はODNが β -CyDに包接されている状態の模式図。

なくなったため、導入比は1.2に設定した。いずれの場合でも、滴定より求められた未反応カルボキシル基含量は、アルギン酸のカルボキシル基と β -CyDリンカーのエチレンジアミン基の比から期待される量と一致しており、反応がほぼ完全に進行したことも確認された。CCALおよびCGAL上の β -CyDとODNとの相互作用は、フリーの β -CyDとほぼ同等であり、高分子化によって結合定数が影響を受けないこと、また、アルギン酸主鎖とODNとの相互作用が相対的に無視できる程度であることがわかった。

表1 ¹H-NMR測定におけるODNの化学シフト値(δ)

	化学シフト (ppm)		$\Delta\delta$ (ppm)
	ODNのみ	β -CyD存在下	
a	7.854	7.981	0.127
e	3.524	3.643	0.119
f	2.836	2.911	0.075
g	2.181	2.236	0.055
h	7.382	7.405	0.023
j	2.493	2.512	0.019
k	4.218	4.230	0.012

2.0mM ODN, 10mM β -CyD, pH6.5 phosphate buffer

図5 CCAL と CGAL ゲルに対する ODN の吸着等温線 (pH6.5 リン酸緩衝液、37℃)

○は加圧がない状態、□は50%の厚みにまで圧縮された状態を示す。いずれもアルギン酸の対イオンにはカルシウムを用いた。CGAL の場合は吸着等温線に変化は起こらないが、CCAL については ODN の取り込み量が顕著に減少する。

CCAL および CGAL に対する、ODN の吸着等温線を図5に示す。加圧により50%の厚みにまで圧縮したときの吸着等温線も同時に示すが、CCAL については ODN の結合が顕著に低下することがわかった。CGAL については、圧縮は全く結果に影響を及ぼさなかったため、各高分子の構造の違いによって加圧下の結合定数に違いが生じることが明らかとなった。結合定数としては、CCAL については加圧下で半分に低下し、さらに40%では3分の1となった。CGAL の場合は、加圧下においても有意な結合定数の低下は認められなかった。なお、加圧時の UV スペクトルはレッドシフトしており、ODN の存在環境が親水化していることが示唆された。

図6は37℃緩衝液中における ODN の放出試験の結果である。ODN を含有させた CCAL もしくは CGAL を、人の手で押す力を模倣して定期的に加圧したところ、CCAL については加圧に応じて薬物を放出することが確認された。CGAL においては継続的に薬物放出が進行しているのみであり、機械刺激に対する応答性は認められなかった。また、対イオンを Ca とすることによってゲルは強固となり、3日間にわたって薬物放出を制御できることがわかった。

なお、いかなる分光学的手段を用いても、加圧下

図6 各ゲル担体からの ODN 放出挙動 (pH6.5 リン酸緩衝液、37℃)
矢印で示す時間においてゲルを50%の厚みにまで圧縮し、それを5分間保持した。24時間以降の圧縮においては、5分の間隔を挟んで上記圧縮を5回繰り返した。○、□：CCAL。◆、▲：CGAL。(a)ナトリウム塩、ODN 初期搭載量 1.9 μmol/g。(b)カルシウム塩、ODN 初期搭載量 4.6 μmol/g。

において β -CyDの構造が変形することを、直接確認することはできなかった。しかし興味深いことに、 β -CyDにODNを取り込ませた状態から、 β -CyDの架橋点を固定して第一原理計算を行うと、ODNが徐々に放出される様子が観察された。これは β -CyDの環状構造が外力によって歪みを受けることよりも、その一部の運動性が制約を受けることの方が、ホスト-ゲスト複合体の不安定化に寄与している可能性を示唆している。

ホスト-ゲスト相互作用はDDS技術において重要な相互作用の1つであるが、担体分子を適切に設計することによって、それが人の手で与えられるようなマクロな機械力で制御できることが示された。この発見は製剤設計の新しい方法論の提案であり、DDS戦略の幅を大きく広げるものと期待される。

文献

- 1) Schmaljohann D. Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2006;58:1655-1670.
- 2) Ganta S, Devalapally H, Shahiwala A, Amiji M. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. *J Control Release* 2008;126:187-204.
- 3) Itoh H, Takahashi A, Adachi K, Noji H, Yasuda R, Yoshida M, Kinoshita Jr. K. Mechanically driven ATP synthesis by F-1-ATPase. *Nature* 2004;427:465-468.
- 4) Mertz D, Vogt C, Hemmerlé J, Mutterer J, Ball V, Voegel J-C, Schaaf P, Lavalle P. Mechanotransductive surfaces for reversible biocatalysis activation. *Nat Mater.* 2009;8:731-735.
- 5) Sagara Y, Kato T. Stimuli-responsive luminescent liquid crystals: Change of photoluminescent colors triggered by a shear-induced phase transition. *Angew Chem Int Ed.* 2008;47:5175-5178.
- 6) Kawakami K. Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64:480-495.
- 7) Ito H, Saito T, Oshima N, Kitamura N, Ishizaka S, Hinatsu Y, Wakeshima M, Kato M, Tsuge K, Sawamura M. Reversible mechanochromic luminescence of [(C₆F₅Au)₂ (mu-1,4-diisocyanobenzene)], *J Am Chem Soc.* 2008;130:10044-10045.
- 8) Davis DA, Hamilton A, Yang J, Cremer LD, Van Gough D,

おわりに

以上、マクロな物理刺激による分子間相互作用操作に関するレビューと、その発想をDDS研究に応用した例について紹介した。本研究はまだ基礎段階であるものの、患者のQOLを大きく改善するDDS技術として発展が期待される。本技術では薬物が常に体内に準備されており、いつでも患者自身の意思で薬物投与が可能のため、心理的安心感による病状発症の抑制にも繋がるかもしれない。今後、高齢化社会が進むにつれ、患者にやさしい製剤開発への要求は高まる一方である。最先端機器を利用した切れ味鋭いDDSに大きな期待が寄せられる一方で、QOLの向上に対するDDSの役割も今後ますます大きくなると思われる。

- Potisek SL, Ong MT, Braun PV, Martinez TJ, White SR, Moore JS, Sottos NR. Force-induced activation of covalent bonds in mechanoresponsive polymeric materials. *Nature.* 2009;459:68-72.
- 9) Cordier P, Tournilhac F, Soulié-Ziakovic C, Leibler L. Self-healing and thermoreversible rubber from supramolecular assembly. *Nature.* 2008;451:977-980.
- 10) Harada A, Kobayashi R, Takashima Y, Hashidzume A, Yamaguchi H. Macroscopic self-assembly through molecular recognition. *Nat Chem.* 2011;3:34-37.
- 11) Ariga K, Ito H, Hill JP, Tsukube H. Molecular recognition: from solution science to nano/materials technology. *Chem Soc Rev.* 2012;41:5800-5835.
- 12) Michinobu T, Shinoda S, Nakanishi T, Hill JP, Fujii K, Player TN., Tsukube H, Ariga K. Mechanical control of enantioselectivity of amino acid recognition by cholesterol-armed cyclen monolayer at the air-water interface. *J Am Chem Soc.* 2006;128:14478-14479.
- 13) Mori T, Okamoto K, Endo H, Hill JP, Shinoda S, Matsukura M, Tsukube H, Suzuki Y, Kanekiyo Y, Ariga K. Mechanical tuning of molecular recognition to discriminate the single-methyl-group difference between thymine and uracil. *J Am Chem Soc.* 2010;132:12868-12870.
- 14) Izawa H, Kawakami K, Sumita M, Tateyama Y, Hill JP, Ariga K. β -Cyclodextrin-crosslinked alginate gel for patient-controlled drug delivery systems: regulation of host-guest interactions with mechanical stimuli. *J Mater Chem B*, in press.