体温近傍の微小温度変化で薬物放出を
on-off 制御する DDS の設計吉田 亮・岡野光夫・桜井靖久*¹⁾、金子祐三・酒井清孝*²⁾*On-off drug release in response to small temperature changes around body temperature*

"On-off" regulation of drug release in response to temperature changes as a command from the exterior of body has been achieved using temperature-responsive copolymer gels of N-isopropylacrylamide (IPAAm). In the design of the "on-off" regulating system using these thermosensitive gels, the phase transition must be maintained within temperature values which meet external temperature changes. Design of the gel structures with phase transition temperatures greater than that of poly(IPAAm) (32°C) are required for application in the human body.

In this study, both phase transition and thermosensitivity of poly(IPAAm) gels have been controlled by introduction of comonomers into the gel. Hydrophobic alkyl methacrylate, hydrophilic acrylamide and N,N'-dimethylacrylamide have been used as comonomers. Effects of these comonomers on the phase transition temperature, the thermosensitivity and the skin formation process with increasing temperature have been investigated. By controlling these gel properties, the switching temperature of drug release has been controlled to achieve "on-off" regulation in response to small temperature changes around body temperature. Actually, complete "on-off" drug release for the temperature changes between 36°C and 38°C was achieved.

Ryo Yoshida・Teruo Okano・Yasuhisa Sakurai*¹⁾,
Yuzo Kaneko・Kiyotaka Sakai*²⁾

key words : N-isopropylacrylamide,
alkyl methacrylate, acrylamide,
N,N'-dimethylacrylamide, on-off drug release

外部からの刺激に応答して薬物を放出するシステムは、薬物を特定の時間だけ作用させる投与技術(時間的制御)を実現するとともに、局所的に刺激を与えることにより、標的部位に送達されたときのみ薬物を放出するダブルターゲティングも可能にする。筆者らはこのような、外部からの指令に従って薬物放出を on-off 制御するインテリジェント型 DDS の実現を、高分子材料の機能制御の立場より検討してきた。温度応答性の N-イソプロピルアクリルアミド (IPAAm) ゲルを放出制御材料として用いることにより、外部温度変化を指令とした薬物放出の on-off 制御が実現された¹⁻⁵⁾。このシステムを生体に適用する場合、温度付加のためのエネルギーを小さくするためには、体温からの変動が小さい温度指令であることが望ましい。また、体温の上昇を感知して解熱剤を放出するような、自己制御機能を有する DDS の実現のためには、1°C以下の温度変化量を検知しなければならない。本報では、体温付近の微小な温度変化で on-off 制御を行うことを目的とし、種々の親水性・疎水性モノマーを用いてゲルの化学構造を変化させることによりゲルの相転移温度を制御し、また小さい温度変化で顕著な膨潤・収縮変化を生起するゲルの構造を追求した。このようなゲルの分子設計により、薬物放出の on-off スイッチング温度を任意に制御する手法を示し、体温付近の微小な温度変化に応答した薬物放出の on-off 制御を試みた。

方 法

(1) 温度応答性 IPAAm コポリマーゲル膜の合成

精製した N-イソプロピルアクリルアミド (IPAAm) とブチルメタクリレート (BMA)、アク

*¹⁾ Institute of Biomedical Engineering, Tokyo Women's Medical College 東京女子医科大学医工学研究施設

*²⁾ Department of Chemical Engineering, Waseda University 早稲田大学理工学部

Offprint requests to: Teruo Okano, Institute of Biomedical Engineering, Tokyo Women's Medical College, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162

図1 N-イソプロピルアクリルアミドと種々のコモノマー

リルアミド (AAm) あるいは N,N'-ジメチルアクリルアミド (DMAAm) (図1) を、種々の組成で 1,4-ジオキサンに溶かし、架橋剤として 1.0 mol % のエチレングリコールジメタクリレートを加えた。窒素置換後、過酸化オクタン酸 t-ブチルを開始剤として加え (2.75 $\mu\text{l}/\text{ml}$)、0.5 mm のスペーサーを挟んだガラス板の間に注入し、80 $^{\circ}\text{C}$ で 18 時間重合させた。合成したゲル膜はメタノールで 1 週間洗浄し、純水中で直径 15 mm の disk に打ち抜いた。

(2) 膨潤度測定

乾燥したポリマーゲル膜を 50 $^{\circ}\text{C}$ のリン酸緩衝溶液 (PBS, pH 7.4) に浸し、平衡膨潤に達したのち重量を測定した。膨潤度は乾燥重量に対する吸水量の比 ($W_{\text{H}_2\text{O}}/W_{\text{P}}$) として定義した。その後温度を下げ、同様にして各温度における平衡膨潤度を測定した。

(3) 薬物の充填および放出実験

エタノール-水混合液を溶媒としたインドメタシン溶液に乾燥したゲル膜を浸し、平衡膨潤となったのち凍結乾燥して膜内にインドメタシンが均一に充填されたモノリシックな薬物放出デバイスを作製した。このデバイスを自製のフローセルに入れ、指定温度に保たれた PBS をポンプによりフローセル内に導き、セルから流出した溶液の薬物濃度を UV 呼吸 (266 nm) により連続的に測定した (図2)。

図2 放出実験装置

結果と考察

(1) 疎水性 RMA コモノマーの効果

IPAAm のホモポリマー (poly (IPAAm)) ゲルは、水中において 32 $^{\circ}\text{C}$ 付近に相転移温度を有し、その温度を境に顕著な可逆的膨潤-収縮変化を示す^{1,6,7)}。この相転移温度および感温性 (温度変化に対する膨潤度変化) は種々のコモノマーの導入により変化する。コモノマーとして疎水性のアルキルメタクリレート (RMA) を導入した場合、相転移温度は RMA 含有率の増加とともに低温側に移行した。IPAAm と RMA の一種であるブチルメタクリレート (BMA) のコポリマーゲル (BMA 5 wt%) は 25 $^{\circ}\text{C}$ 付近に相転移温度を有する^{1,6,8)}。この温度をはさんだ 20 $^{\circ}\text{C}$ と 30 $^{\circ}\text{C}$ の段階的な外部温度変化に対し、ゲルからの薬物放出は温度変化に応答して完全な停止と放出が繰り返された (図3)。

筆者らはすでに、この薬物放出の on-off 制御発現機構に対し、ゲルの表面変化が放出を制御するメカニズムを明らかにした¹⁻⁵⁾。すなわち、温度上昇直後にゲルの表面が全体の収縮に先立ってすばやく収縮し、スキン層を形成する。このスキン層

図3 20°C-30°Cの段階的的外部温度変化に対する IPAAm-BMA コポリマーゲルからのインドメタシンの放出速度変化

図4 IPAAm-AAm コポリマーゲルの平衡膨潤度の温度依存性

は非常に密であるため、内部からの薬物拡散による放出を停止させる。この表面制御メカニズムは、材料全体の変化を必要としないためにきわめて早い応答性を有する。疎水性 RMA の導入により相転移温度が低下すると同時に感温性も減少するが、アルキル基間の疎水性相互作用によるポリマー鎖の凝集力増加により、収縮過程において密で安定なスキン層が形成されることが明らかにされた⁹⁾。

(2) 親水性 AAm コモノマーの効果

このような外部指令型 DDS を設計する際には、ゲルの特性をさらにつぎのように制御することが必要である。すなわち、① 課せられる外部温

図5 30°C-40°Cの段階的的外部温度変化に対する IPAAm-AAm-BMA コポリマーゲルからのインドメタシンの放出速度変化

度変化に応答するようにゲルの相転移温度を制御すること、② 小さい温度変化でも顕著な膨潤・収縮を生起するようにゲルの感温性を維持すること、③ 完全な off 状態をつくるため密で安定なスキン層を形成させることが必要である。特に生体への応用には、体温付近の微小な温度変化に応答して大きな膨潤・収縮を生起するゲルが必要である。

20°C~30°Cで実現された薬物放出の on-off スイッチング温度を体温付近まで上昇させるため、コモノマーとして親水性の AAm を導入し、ゲルの相転移温度の上昇を試みた。図4に IPAAm と AAm からなるコポリマーゲルの膨潤曲線を示した。AAm の含有率が増加するにつれて相転移温度は高温側に移行するが、感温性(温度変化に対する膨潤度変化)は転移点の上昇とともに小さくなり、高温で収縮構造を維持しにくくなった。AAm のみを架橋させたホモポリマーゲル(poly(AAm)ゲル)は、分子間の水素結合の解離により、温度上昇に対し膨潤度が増加する正の温度相関性を示す^{1,7)}。そこで親水性の AAm が、高温で密な収縮状態となることを妨げるように働いたと考えられた。このため温度上昇に伴う収縮過程では、薬物放出を停止するのに十分に密なスキン層を形成しにくくなる。30°Cと40°Cの段階的温度変化の下で poly(IPAAm-co-AAm-co-BMA)ゲルからの薬物放出速度を測定した結果、放出速度の差は認められたが、密なスキン層が形成されないため、40°Cにおいて放出は完全に停止しなかった(図5)。

図6 IPAAm-DMAAm コポリマーゲルの平衡膨潤度の温度依存性

図8 36°C-38°Cの段階的・外部温度変化に対する IPAAm-DMAAm-BMA コポリマーゲルからのインドメタシンの放出速度変化

図7 30°C-40°Cの段階的・外部温度変化に対する IPAAm-DMAAm コポリマーゲルからのインドメタシンの放出速度変化

(3) DMAAm および APy コモノマーの効果

膨潤度変化が正の温度相関性を示す poly(AAm)ゲルに対し、そのアミノ基の二つの水素を置換した poly(DMAAm)ゲルではわずかに負の相関性、また、アクリロイルピロリジン(APy)のゲルは顕著な負の相関性を示す¹⁷⁾。これら DMAAm や APy をコモノマーとして IPAAm に導入した結果、高い感温性を保ったまま相転移温度が高温側へ移行した(図6)。DMAAm や APy は側鎖にアルキル基を有するため、AAm で生じるような、ポリマーの凝集を妨げる水和が高温領域で生じない。特に大きなアルキル基を有する APy の場合、アルキル基間の疎水性相互作用がポリマー鎖の凝集を増加させる。このように、高温側で収縮構造が阻害されないために大きな感

温性が保たれると考えられた。

30°Cと40°Cの段階的・温度変化の下で poly(IPAAm-co-DMAAm)ゲルからの薬物放出速度を測定した結果、AAm をコモノマーとしたゲルとは異なり、40°Cにおいて完全な off 状態が保たれた(図7)。これは収縮構造が阻害されないため、薬物放出を止めるのに十分に密で安定な表面スキン層が形成されたためである。このように DMAAm や APy を用いることにより、on-off スイッチング温度の上昇が可能となった。さらにこれらのモノマーを使うことにより、体温付近の小さい温度変化での on-off 制御が期待される。DMAAm を用いて種々のモノマー組成のゲルを作成し、37°Cを挟んだ微小な温度変化での on-off 制御の可能性を追求した結果、36°Cと38°Cの温度変化で完全な on-off 制御が実現された(図8)。

結 論

温度応答性 IPAAm ゲルに種々の親水性・疎水性コモノマーを導入し、その化学構造を変化させることにより、ゲルの相転移温度および感温性(スキン層形成能)を制御する手法を示した。これにより薬物放出の on-off のスイッチング温度が制御され、体温付近の微小な温度変化(36°C-38°C)にตอบสนองした on-off 制御システムが実現された。

文 献

- 1) Okano, T., Bae, Y. H., Jacobs, H., Kim, S. W.: Thermally on-off switching polymers for drug permeation and release. J. Controlled Release

- 11 : 255, 1990.
- 2) Okano, T., Yui, N., Yokoyama, M., Yoshida, R. : Japanese Technology Reviews Section E : Biotechnology, Vol.4, No.1, Advances in Polymeric Systems for Drug Delivery, Gordon and Breach Science Publishers, 1994.
- 3) Yoshida, R., Sakai, K., Okano, T., Sakurai, Y., Bae, Y. H., Kim, S. W. : Surface-modulated skin layers of thermal responsive hydrogels as on-off switches : I. Drug release. J. Biomater. Sci. Polym. Edn. 3 : 155, 1991.
- 4) Yoshida, R., Sakai, K., Okano, T., Sakurai, Y. : Surface-modulated skin layers of thermal responsive hydrogels as on-off switches : II. Drug permeation. J. Biomater. Sci. Polym. Edn. 3 : 243, 1992.
- 5) Yoshida, R., Sakai, K., Okano, T., Sakurai, Y. : Modern hydrogel delivery systems. Advanced Drug Delivery Reviews 11 : 85, 1993.
- 6) Bae, Y. H., Okano, T., Kim, S. W. : "On-off" thermocontrol of solute transport. I. Temperature dependence of swelling of N-isopropylacrylamide networks modified with hydrophobic components in water. Pharm. Res. 8 : 531, 1991.
- 7) Bae, Y. H., Okano, T., Kim, S. W. : Temperature dependence of swelling of crosslinked poly (N,N'-alkyl substituted acrylamides) in water. J. Polym. Sci. Polym. Phys. 28 : 923, 1990.
- 8) Yoshida, R., Okuyama, Y., Sakai, K., Okano, T., Sakurai, Y. : Sigmoidal swelling profiles for temperature-responsive poly(N-isopropylacrylamide-co-butyl methacrylate) hydrogels. J. Membrane Sci. 89 : 267, 1994.
- 9) Yoshida, R., Sakai, K., Okano, T., Sakurai, Y. : Modulating the phase transition temperature and thermosensitivity in N-isopropylacrylamide copolymer gels. J. Biomater. Sci. Polym. Edn. 6 : 585, 1994.