プラズマ照射した医薬品助剤を利用する新規な ドラッグデリバリーシステムの開発

—— 第10報 スチレン-(無水)マレイン酸共重合体を外層高分子とした
二重錠剤へのプラズマ照射によるテオフィリンの放出制御 ——

近藤伸一・伊藤幸祐・笹井泰志・葛谷昌之*

A new drug delivery system using plasma-irradiated pharmaceutical aids—X controlled-release of theophylline from plasma-irradiated double-compressed tablet composed of poly(styrene-maleic anhydride) or poly(styrene-maleic acid) as a single wall material

As a part of the development of the DDS device using plasma-irradiated polymer, the utility of poly(styrene-maleic anhydride) (SMA_n) and poly(styrene-maleic acid) (SMA) was investigated. From the results of plasma degradation tests and the electron spin resonance (ESR) studies on plasma-irradiated SMA_n and SMA, it was found that they were of intramolecular bifunctionality, cross-linkable phenyl group and degradable maleic anhydride or maleic acid group as an effect of plasma irradiation. Using these plasma characteristics, controlled-release tablets were designed by argon plasma irradiation on the outer layer of double-compressed tablet prepared from theophylline as a core material and SMA_n or SMA as a single wall material. The dissolution profiles of theophylline from plasma-irradiated double-compressed tablet were sufficiently modified in comparison with one of non-plasma-irradiated tablet, depending on the set of chosen plasma operational conditions.

*Shin-ichi Kondo · Kousuke Ito · Yasushi Sasai · Masayuki Kuzuya**

key words : plasma technique, double-compressed tablet, poly(styrene-maleic anhydride), poly(styrene-maleic acid), controlled-release

筆者らは、プラズマ表面処理の分子機構解明を目指した基礎的研究成果から、これまでに種々の高分子を外層とする二重錠剤へのプラズマ照射による薬物放出制御について報告している¹⁻¹⁴⁾。その研究の一環として、今回、腸溶性コーティング基材として利用しうるスチレン-無水マレイン酸共重合体(SMA_n)、およびその加水分解体であるスチレン-マレイン酸共重合体(SMA)を外層高分子として利用した。SMA_nは、これまでに種々の薬物の安定化剤や矯味剤としての有用性について報告されている^{15,16)}。また、その加水分解体およびその一部をエステル化したものはDDS制癌剤SMANCSとしてネオカルチノスタチンの担体に用いられている^{17,18)}。

本研究では、上述のように医薬学的に利用価値の

高いSMA_nとSMAについて、それらのプラズマ反応特性を利用したDDSデバイスの開発について検討を行った。

その結果、SMA_nまたはSMAを外層とする薬物含有二重錠剤は、プラズマ照射により、ラグタイムの延長と薬物の徐放化が可能であり、それらはプラズマ照射の条件設定により制御可能であることが示唆された。

方 法

(1) 試 料

① スチレン-無水マレイン酸共重合体(SMA_n)

スチレンと無水マレイン酸のモノマー比が1:1の共重合体(M_w=350,000, ガラス移転点温度(T_g)=150°C)はSigma社(USA)から購入し、アセトン-エーテル系により再沈殿精製を行い、60°Cにて

* Pharmaceutical Physical Chemistry, Gifu Pharmaceutical University 岐阜薬科大学薬品物理化学教室

図 1 Structures of poly(styrene-maleic anhydride) and poly(styrene-maleic acid)

24 時間以上減圧乾燥したものを使用した。その構造を図 1 に示す。

② スチレン-マレイン酸共重合体(SMA)

5 g の SMAAn をアセトン 25 ml に溶解し、1 N NaOH 50 ml を加えて 1 時間還流、冷後 2 N HCl 50 mL を加え沈殿する共重合体を濾別、水洗し 60°C にて減圧乾燥を行い、スチレン-マレイン酸共重合体を調製。さらに、メタノール-エーテル系より再沈殿精製を行い、60°C にて 24 時間以上減圧乾燥したもの ($T_g=124^\circ\text{C}$) を使用した。

③ テオフィリン

市販品を 60°C にて 24 時間以上減圧乾燥し、200 メッシュ篩過したものを使用した。

(2) 錠剤の調製法

① プラズマ分解性試験用直打錠剤

200 メッシュ篩過した粉末試料 100 mg を 5 分間減圧し、減圧状態にて 200 kg/cm² の打錠圧により 30 秒間圧縮打錠を行い直径 13 mm の錠剤とした。

② 溶出試験用テオフィリン含有二重錠剤

芯錠剤としてテオフィリン 50 mg、外層高分子として 200 メッシュ篩過した粉末試料 100 mg を量りとり、前報の記載⁷⁾ に準じて直径 13 mm のテオフィリン含有二重錠剤を得た。

(3) 錠剤へのプラズマ照射

① プラズマ照射装置およびプラズマ照射法

プラズマ照射装置は前報⁷⁾ と同様のものを用い、以下の手順に従いプラズマ照射を行った。反応容器内のガラス製三脚に錠剤を置き、アルゴンガスまたは酸素ガスを流速 50 ml/min、圧力 0.5 torr となるように流し、13.56 MHz の高周波電源装置を用いた誘導結合方式により、反応容器内に所定時間プラズマを発生させた⁷⁾。

② プラズマ分解性試験

所定時間プラズマ照射した直打錠剤は、上皿電子天秤(メトラー・トレド(株) AB 104 型)を用いて経時的に重量損失が測定された。

(4) 粉末試料へのプラズマ照射法と電子スピン共鳴(electron spin resonance: ESR)測定法

先端部が細管(直径 2 mm)となったアンプルに、100~140 メッシュの粉末試料 30 mg をアルゴンガス 0.5 torr とともに封入した。つぎに、13.56 MHz の高周波電源装置を用いた誘導結合方式により、アンプル中にプラズマを発生させた。所定時間プラズマ照射した粉末試料は、アンプルを反転することにより細管部位に移され、室温にて ESR スペクトルを測定した¹²⁾。なお、ESR の測定条件としてマイクロ波出力は飽和現象が起こらない範囲でかつ最大出力を満たす 0.04 mW を選択した。

(5) 溶出試験

二重錠剤からのテオフィリン溶出試験は、日本薬局方第 14 改正記載の回転バスケット法(溶出試験器: TR-5 S 3(富山産業(株))、試験液: 37±0.5°C の第二液(pH 6.8)、バスケット回転速度: 100 rpm)により実施した。

テオフィリンの溶出量は、所定時間に試験器から溶出液 1 ml を正確に採り、水で希釈して正確に 10 ml とした液を紫外吸光度法により波長 270 nm にて定量した。

(6) 走査型電子顕微鏡(scanning electron microscope: SEM)による表面観察

プラズマ照射前後の錠剤表面は SEM(JEOL, JMS T-330 A)により、試料面に対し 25°の角度から観察した。なお、設定条件は、加速電圧 15 kV、倍率は 2,000 倍および 7,500 倍とした。

図 2 Effect of plasma irradiation on polymer degradation
Plasma conditions: 30 W, 0.5 torr, O₂ or Ar 50 ml/min

結果と考察

(1) SMAn と SMA のプラズマ照射による分解特性

SMAn と SMA のプラズマ照射による分解性は、照射時間によるそれぞれの直打錠剤の重量損失試験により評価した。各高分子の直打錠剤へ酸素またはアルゴンプラズマ照射したときの重量損失度を、比較のため SMAn と SMA の構成モノマーであるスチレンの重合体ポリスチレン (PST) のものとともに図 2 に示した。

図 2 において注目すべき点は、SMAn と SMA の両者において、酸素プラズマの場合は照射時間に対し錠剤重量が直線的に減少しているのに対し、アルゴンプラズマの場合は照射時間の延長に伴い、重量損失速度は低下し、錠剤重量が定常化する傾向にある点である。PST は典型的なプラズマ架橋性高分子であり、SMAn と SMA についてもスチレン部位を介した高度な架橋層が形成していると考えられる。

したがって、酸化分解の寄与が大きい酸素プラズ

図 3 Progressive changes in observed ESR spectra of plasma-induced surface radicals

図 4 Effect of plasma duration on dissolution properties of theophylline from plasma-irradiated double-compressed tablets using SMAn as outer layer

Plasma conditions: 30 W, 0.5 torr, Ar 50 ml/min

マ処理と比較して、アルゴンプラズマを用いた場合、照射時間の延長に伴い架橋層が錠剤表面を覆い、分解反応の進行が困難になるため重量損失速度が低下したと考えられる。

また、SMAn と SMA の結果を比較したとき、明らかに SMA のほうがプラズマ照射による分解性が高い。これは、SMA はプラズマ照射により、マレイン酸部位のカルボキシル基における脱炭酸反応に伴う分解が進行するためと考えられる。

(2) アルゴンプラズマ照射粉末試料の ESR スペクトル

つぎに、プラズマ反応特性の本質を解明するため

図 5 SEM images of the double-compressed tablets using SMAn as outer layer before and after plasma irradiation

に、SMAn と SMA の粉末試料へアルゴンプラズマ照射を行い、室温で観測される ESR スペクトルについて解析を行った。プラズマ照射時間による各試料の ESR スペクトルの経時変化を PST のものとともに図 3 に示した。

筆者らは、すでにプラズマ照射 PST に生成するラジカルの解析について報告しており、PST はプラズマ照射直後に架橋反応に寄与するシクロヘキサジエニル型ラジカルが最大値を示し、そのあとは照射の継続に伴い、引き続き進行するラジカルカップリング反応などにより架橋層が形成され、ダングリングボンドサイト (DBS) が増加する¹⁹⁾。そのため、観測される ESR スペクトルはプラズマ照射時間の延長に伴い DBS に相当する一重線のスペクトルが増加する。このような傾向は、構造中に芳香環を含む高分子、たとえばポリカーボネート (PC) やポリエチレンテレフタレート (PET) についても認められる²⁰⁾。

SMAn と SMA の ESR スペクトル外形は図 3 に

示すように PST のものと類似の特徴を有しており、見掛け上三重線のスペクトルを示した。また、照射時間の延長によるスペクトル外形の経時変化も一重線の強度が増加する変化を示した。したがって、PST と同様、シクロヘキサジエニル型ラジカルの生成とそれに伴う架橋反応の進行が強く示唆された。

この結果と重量損失試験の結果から、SMAn と SMA はプラズマ照射によりスチレン部位に由来する架橋反応と主に無水マレイン酸またはマレイン酸部位に由来する分解反応が同時に進行する分解・架橋両性高分子であることが確認された。

(3) 二重錠剤へのプラズマ照射による薬物放出制御

以上の結果から、SMAn と SMA へのプラズマ照射では、高度な表面改質が期待できる。そこで、モデル薬物としてテオフィリンを用い、SMAn と SMA を外層とする二重錠剤からの薬物放出を評価した。

アルゴンプラズマ照射した SMAn を外層とする

二重錠剤からの薬物放出挙動を図4に示した。ここで、図中に矢印で与えた値はプラズマ照射時間であり、括弧内はプラズマ照射による錠剤重量の減少量である。図4に示したようにSMAを外層とした場合、プラズマ未照射のブランク錠剤でさえ、薬物放出まで約10時間のラグタイムが認められた。このラグタイムは、SMA自身がpH 6.8の緩衝液において溶解性が低く、SMA層の溶解に要したものである。また、プラズマ照射したものについてはラグタイムの延長と薬物放出の徐放化が認められた。この結果を考察するために、錠剤表面のモルフォロジーをSEMにより観察し、その結果を図5に示した。

図5から、錠剤表面ではプラズマ照射により、わずかではあるが明らかに表面モルフォロジーの変化が認められた。これはプラズマ照射により、錠剤表面に存在するSMA粒子の表面や密接する粒子間での架橋反応進行に由来するものであり、その結果、ラグタイムが延長したと考えられる。また、プラズマ照射錠剤では、ブランク錠剤に存在する打錠時に形成された粒子間の隙間に由来する表面の溝や細孔は減少し、ナノスケールの新たな微細孔の形成が認められた。これらの微細孔は、5分間照射より10分間照射の錠剤表面において多数認められることから、主にプラズマ照射による分解反応に由来するものと考えられる。

図4においてプラズマ照射時間の延長により薬物が徐放化されているのは、高度な架橋層内に存在する微細孔から薬物が溶け出しているとすれば説明できる。

また、SMAについてもSMAと同様に二重錠剤からの薬物溶出試験とSEMによる錠剤表面の観察を行った。その結果を図6、7に示した。なお、図2にあるようにSMAは20分間のプラズマ照射でも重量損失が顕著であるため、溶出試験とSEMによる観察は20分間プラズマ照射のものまで行った。

SMAについては、図6に示すようにブランク錠剤からは約2.5時間のラグタイムのあと、速やかにテオフィリンを放出した。プラズマ照射による溶出挙動は、5分間ではほとんど変化が認められないが、10分および20分間照射では明らかに、ラグタイム

図6 Effect of plasma duration on dissolution properties of theophylline from plasma-irradiated double-compressed tablets using SMA as outer layer

Plasma conditions : 30 W, 0.5 torr, Ar 50 ml/min

の延長と薬物溶出の徐放化が認められた。

つぎに、プラズマ照射錠剤をSEMにより観察したところ、図7に示すように、SMAとは異なり2,000倍のSEM写真でもプラズマ照射による明らかな錠剤表面の修飾が確認できた。ブランク錠剤の表面では、打錠された粉末粒子の輪郭を確認することができるが、5分間のプラズマ照射では錠剤表面に分解反応によるナノスケールの微細孔の形成と架橋層の形成、そして、実効出力30Wのプラズマ照射では錠剤表面がSMAの T_g (124°C)付近に達しているため熱効果も加わり、粒子間の境界が不明確になっているのが認められた。さらに、10分、20分間のプラズマ照射では錠剤表面のモルフォロジーがブランク錠剤のものにくらべて大きく変化し、粗い複雑な構造に変化していた。

これらの変化は、図2に示した重量損失試験の結果から説明できる。すなわち、SMAについては20分間のプラズマ照射まで分解速度が速く、架橋反応にくらべ分解反応が優勢に進行していると考えられるが、それ以上のプラズマ照射では明らかに分解速度は減少している。したがって、錠剤表面のモルフォロジーも短時間のプラズマ照射において変化が大きく、照射時間が長くなれば変化も定常化してくると考えられる。

図 7 SEM images of the double-compressed tablets using SMA as outer layer before and after plasma irradiation

以上の結果から、SMA についても SMan と同様、プラズマ照射条件の選択によりラグタイムと薬物放出速度の制御が可能であることが示された。

結 論

SMan と SMA はプラズマ分解・架橋両性高分子であることが強く示唆された。これらのプラズマ反応特性を利用し、SMan と SMA を外層高分子とするプラズマ照射二重錠剤からの薬物放出を評価したところ、いずれもプラズマ照射によりラグタイムと薬物放出速度を制御できる可能性が示唆された。この結果は、錠剤表面の観察からプラズマ照射による分解、架橋そして熱効果の複合反応によることが明

らかとなった。

本研究から得られた知見より、SMan と SMA はともに酸不溶性の高分子であることから、プラズマ照射により腸管への薬物送達および腸管における薬物放出制御用基材としての有用性を見いだすことができ、今後、さらなる研究の発展が期待できる。

本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金「基盤研究(C) (09672191, 11672147)」の研究助成によって実施されたものであり、ここに厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 葛谷昌之・野口章公・伊藤英樹・石川正直：プラズマ照射医薬品添加物を利用するDDSの新展開. 日本DDS学会誌 6: 119-125, 1991.
- 2) 葛谷昌之・伊藤英樹・野田菜穂子・山川一郎・渡辺純男：プラズマ照射を利用するポリ乳酸二重錠剤からのテオフィリンの溶出制御. 日本DDS学会誌 6: 437-441, 1991.
- 3) 葛谷昌之・松野陽子：プラズマ照射による薬物の放出制御. 日本DDS学会誌 8: 149-159, 1993.
- 4) Yamakawa I, Watanabe S, Matsuno Y, Kuzuya M: Control Release of Insulin from Plasma-Irradiated Sandwich Device Using Poly-DL-lactic Acid. Biol Pharm Bull 16: 182-187, 1993.
- 5) Ishikawa M, Matsuno Y, Noguchi A, Kuzuya M: A New Drug Delivery System(DDS)Development Using Plasma-Irradiated Pharmaceutical Aids. IV. Controlled Release of Theophylline from Plasma-Irradiated Double-Compressed Tablet Composed of Polycarbonate as a Single Wall Material. Chem Pharm Bull 41: 1626-1631, 1993.
- 6) 葛谷昌之：プラズマ化学によるドラッグ工学の新展開. FAR-UAW 30: 511-515, 1994.
- 7) Ishikawa M, Noguchi T, Niwa J, Kuzuya M: A New Drug Delivery System Using Plasma-Irradiated Pharmaceutical Aids. V. Controlled Release of Theophylline from Plasma-Irradiated Double-Compressed Tablet Composed of a Wall Material Containing Polybenzylmeth-acrylate. Chem Pharm Bull 43: 2215-2220, 1995.
- 8) Kuzuya M, Ishikawa M, Noguchi T, Niwa J, Kondo S: A New Drug Delivery System Using Plasma-Irradiated Pharmaceutical Aids. VI. Controlled Release of Theophylline from Plasma-Irradiated Double-Compressed Tablet Composed of Water-Soluble Polymers as a Wall Material. Chem Pharm Bull 44: 192-195, 1996.
- 9) 葛谷昌之：プラズマ化学の基礎と医薬品工学への応用研究. 薬学雑誌 116: 266-285, 1996.
- 10) 葛谷昌之：プラズマ照射による薬物放出コントロール. 日病薬誌 33: 84-85, 1997.
- 11) 葛谷昌之：プラズマ照射による薬物放出制御. 総合臨牀 47: 3011-3012, 1998.
- 12) 葛谷昌之・近藤伸一：プラズマの新しい医薬品工学への応用. 応用物理 69(4): 401-405, 2000.
- 13) Kuzuya M, Ito K, Kondo S, Makita Y: A New Drug Delivery System Using Plasma-Irradiated Pharmaceutical Aids. VIII. Time Controlled-Release of Theophylline from Plasma-Irradiated Double-Compressed Tablet Composed of Eudragit as a Single Wall Material. Chem Pharm Bull 49(12): 1586-1592, 2001.
- 14) Ito K, Kondo S, Kuzuya M: A New Drug Delivery System Using Plasma-Irradiated Pharmaceutical Aids. IX. Controlled-Release of Theophylline from Double-Compressed Tablet Composed of Cellulose Derivatives as Wall Material. Chem Pharm Bull 49(12): 1615-1620, 2001.
- 15) 島 和弘・溝尻顕爾・森田節子・山本隆一：合成高分子化合物と医薬品との相互作用に関する研究(第1報) スチレン無水マレイン酸共重合体とチアミン誘導体との相互作用. 薬学雑誌 89: 1587-1593, 1969.
- 16) 島 和弘・溝尻顕爾・森田節子・山本隆一：合成高分子化合物と医薬品との相互作用に関する研究(第3報) スチレン無水マレイン酸共重合体と各種医薬品との相互作用. 薬学雑誌 90: 774-777, 1970.
- 17) Maeda H, Ueda M, Morinaga T, Matsumoto T: Conjugation of poly(styrene-comaleic acid)Derivatives to the Antitumor Protein Neocarzinostatin: Pronounced Improvements in Pharmacological properties. J Med Chem 28: 455-461, 1985.
- 18) Matsumura Y, Maeda H: A new Concept for Macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumortropic Accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. Cancer Res 46: 6387-6392, 1986.
- 19) Kuzuya M, Noguchi A, Ito H, Kondo S, Noda N: Electron Spin Resonance Studies of Plasma-Induced Polystyrene Radicals. J Polym Sci Part A Polym Chem Ed 29: 1-7, 1991.
- 20) Kuzuya M, Ito H, Sugito M, Kondo S: Nature of Auto-Oxidations on Plasma-Induced Surface Radicals of Aromatic Ring-Containing Polymers as Studied by Electron Spin Resonance. J Photopolym Sci Technol 11: 329-332, 1998.