〔ノ ー ト〕

高圧水流法によるアルギン酸マイクロゲルの調製

村田 慶史^{*1}・鈴木 康之^{*1}・磯部 隆史^{*1}
小藤 恭子^{*1}・河島 進^{*1}

(受付 2010 年 5 月 10 日・審査終了 2010 年 6 月 15 日)

1 緒 言

日常的に摂取される褐藻類に含まれる天然多糖類の一種アルギン酸(Alg)は、食品や医薬品の添加物として汎用され、経口投与時の胃粘膜保護作用により、消化性潰瘍治療薬として用いられている。また、Alg はその高分子特性や安全性ゆえに、機能性食品成分としても注目されてきた^{1)~3)}。Alg は α -L-グルロン酸と β -D-マンヌロン酸からなる多糖類で、多価金属イオンの共存時、egg-box-junction と呼ばれるキレートの形成により瞬時にゲル化することが知られるが⁴⁾、特に、カルシウムイオン(Ca^{2+})を用いて調製されるアルギン酸カルシウムゲル(Alg-Ca)は経口摂取での安全性が高く、ゲルマトリックスの性質を Alg の種類やカルシウム濃度等により調整できるため、人工イクラなどの食品として利用されてきた。

Alg-Ca は、一般に、アルギン酸ナトリウム(Alg-Na)の 1~2%水溶液を Ca^{2+} を含む溶液中に滴下して調製されるが、Alg-Na 溶液中に薬物等を添加することにより、Alg-Ca ゲルマトリックス内への含有が可能となる^{5),6)}。Alg-Ca に含有された物質はゲル内部を拡散しながら放出されるため、薬物徐放化のための保持担体としても多くの研究がなされ、筆者らも Alg-Ca の修飾による機能性経口投与製剤への応用について報告してきた^{7)~10)}。また、Alg-Ca は水和しやすい性質を有することから、含有物質の“ぬれ”等を改善し、例えば、難水溶性薬物の溶解速度を増加させると考えられる。しかしながら、Alg が高分子であり、その水溶液の粘性が Alg-Ca の粒子径を制御する障害となるため、Alg-Ca 微粒子(アルギン酸マイクロゲル: AMG)を調製する方法として、electro-dispersion reactor¹¹⁾、micro-nozzle array¹²⁾などが考案されてきた。これらはいずれもエマルションを用いたマ

イクロゲル調製法であり、AMG 精製の過程で油相成分の除去が必要とされる。

本報では、水系条件下において煩雑な操作を必要とせずに、薬物等を含有する AMG の調製を試みた。高圧をかけることによりノズルから噴出する水流は、金属や木材などの切断や表面の研磨に用いられ¹³⁾、近年では内視鏡治療にも応用されているが¹⁴⁾、ここでは、高速で流動する塩化カルシウム水溶液を、生体内ステロイドの一種である難水溶性モデル物質ヒドロコルチゾン(HC)を含む Alg-Na 水溶液と接触させ、HC 含有 AMG を調製した。また、AMG からの HC 溶出挙動について、従来の滴下法により調製した Alg-Ca 等と比較検討した。

2 実 験

2.1 試料

Alg-Na(重合度約 450)はナカライテスクより購入、その 1.0~3.0%水溶液を調製し、振動式粘度計(CBC マテリアルズ(株)、VM-1G-M)を用いて粘度を測定した。HC は和光純薬工業(株)より購入し、また、他の試薬類は市販特級品を用いた。

2.2 滴下法による Alg-Ca の調製と粉碎

10 g の 1.5% Alg-Na 水溶液に 50 mg の HC を添加し、超音波洗浄機(ヤマト科学(株)、BRANSON8200)内にてかくはんし、十分に分散させた。注射針(テルモ(株)、0.45~0.70 mm)を装着したシリンジを用い、この溶液 2.0 g を 10 mL の 0.2 M 塩化カルシウム溶液に滴下した。瞬時に形成されるヒドロゲルビーズを室温で 1 h 静置後に取り出し、37°C で 1 日乾燥させて Alg-Ca を得た。各種 Alg-Ca の任意の 10 粒について、ノギスにより粒子径を測定した。また、Alg-Ca を粉碎する場合は、小型超高速粉碎机(大阪ケミカル(株)、Wonder Blender)にて 30 s 間処理し、その後、篩(カヤガキ、75 μm)を用いて分級した。

2.3 高圧水流による AMG の作製

研磨用耐圧ノズルを装着した高圧ポンプ(スギノマシ

^{*1} 北陸大学薬学部、薬剤学研究室(〒920-1181 金沢市金川町ホの3)

Figure 1. The structure of the nozzle used for the preparation of AMG.

Table 1. Conditions for preparation of AMG

AMG	Pressure (MPa)	CaCl ₂ (M)
(A)	50	0.2
(B)	150	0.2
(C)	245	0.2
(D)	150	0.4

Table 2. Viscosity of Alg-Na solution at 20°C

Concentration of Alg-Na (%)	Viscosity (mPa・s)
1.0	60
1.5	115
2.0	180
2.5	290
3.0	380

ン(株), 50~245 MPa)を用いて, 0.2 Mあるいは0.4 M塩化カルシウム溶液を噴射し, その際, ノズル側方から1.5%Alg-Naと接触させた(Figure 1). プラスチック容器で受け止めた噴出液を室温にて1日放置した. 得られた白濁溶液を遠心分離(久保田商事(株), KN-70, 3,500 rpm, 5 min)し, イオン交換水, 続いてエタノールを用いて洗浄したのち, 37°Cで1日乾燥させてAMGを得た. 本報で試みた4種のAMGの調製条件をTable 1に示す. なお, 各AMGの粒度分布は, レーザー回折型粒度分布測定装置((株)堀場製作所, LA-910)により測定した.

2.4 HC 溶出試験

Al-CaならびにAMGからのHC溶出挙動は, 日本薬局方第15改正パドル法により, 37±0.5°C, 150 rpmでおこなった. Alg-Ca(2.0 gのヒドロゲルに相当)あるいは0.1 gのAMGを, 試験液(生理食塩水)500 mLに添加し, 経時的に試料4 mLを採取して, 速やかに遠心分離(4,000 rpm, 1 min)した. 上清を分光光度計((株)島津製作所, UV-1200)にて吸光度(248 nm)を測定した後, その溶液を試験容器に戻した. また, 溶出試験24 h後に2 N水酸化ナトリウム5 mLを添加, 吸光度を測定して最終溶出量を求め, 各時間の溶出率を算出した. な

お, 溶出したHCの濃度は, あらかじめ作成した検量線により算出した.

3 実験結果および考察

3.1 滴下法によるAlg-Caの調製

Alg-Caの調製に利用される滴下法では, Alg-Na溶液の粘度とそれを滴下するシリンジの径により粒子径がコントロールされる. 本研究で使用したAlg-Na溶液の粘度をTable 2に示すが, 2%以上の濃度では, 高粘性のためにシリンジでの滴下が困難であった. 1.5%Alg-Naの場合, 先端内径2.4 mmのピペットを用いて調製したAlg-Ca(1.9±0.2 mm)に比べ, 注射針を使用することでより径の小さいゲルビーズが得られるものの, 内径0.7 mm以下の注射針を用いても顕著な微粒子化はみられず, 直径約0.9 mmが限界となった(Figure 2). ここでは, 滴下法にて得られた乾燥ゲルをミルにて粉碎し, 分級することで粒子径75 μm以下のAlg-Caを得た.

3.2 高圧水流によるAMGの調製

1.5%Alg-Naを用いて, 本法により調製したAMGの粒度分布と平均粒子径(メジアン径)をFigure 3に示す. 塩化カルシウム溶液に負荷される圧力の上昇とともに,

Figure 2. Influence of the inside diameter of the needle on the particle size of Alg-Ca.

Figure 3. The size distribution of AMG prepared with 1.5% Alg-Na.

形成される AMG の平均粒子径が徐々に小さくなる傾向がみられ、150 MPa 以上では 100 μm 以下の AMG が得られた。また、同じ圧力条件下で、塩化カルシウム濃度を 0.2 M から 0.4 M に増加した場合にも AMG の粒度分布に顕著な変動は認められなかった。この結果より、AMG の平均粒子径は、主として塩化カルシウム溶液にかけられる圧力によってコントロールしうることが示された。なお、乾燥後の AMG は、光学顕微鏡下において粗い表面構造が観察された (Figure 4)。これはノズル内で高速で流動する塩化カルシウム溶液が、粘性を有する Alg-Na 水溶液を細かく切断しながら瞬時に AMG が形成されるため、滴下法でみられる球状のヒドロゲルとなる前に、ゲルマトリックスが安定化すること起因すると思われる。それゆえ、本調製法においては、塩化カルシウム溶液との接触面からのゲル化により分散した Alg-Na 微粒子のサイズが、AMG の粒子径に反映すると推測した。

Figure 4. Microphotograph of AMG (B).

Figure 5. Dissolution profiles of HC from Alg-Ca. Symbols indicate the size of Alg-Ca: ●, 1.90 mm; ○, 1.15 mm; ▲, 1.05 mm; △, 1.00 mm; ■, 0.95 mm; □, 0.93 mm; ◇, Ground Alg-Ca (<75 μm).

3.3 Alg-Ca からの HC 溶出挙動

滴下法にて得られたいずれの Alg-Ca においても、生理食塩水中で HC が徐々に溶出したが、粒子径 1.9 mm の Alg-Ca の場合、2 h 後の HC 溶出率は 51.5% となり (Figure 5)、24 h 後には含有 HC がすべて溶出した。Alg-Ca からの HC 溶出速度は微粒子化に伴って上昇し、粒子径が 1 mm 以下の 3 種の Alg-Ca では、2 h 後には 90% 以上の HC が溶出した。さらに、粒子径 75 μm 以下に粉碎した Alg-Ca に関しては、非常に速やかに HC が溶出し、試験開始 20 min 後に、含有 HC の溶出がほぼ終了した。また、すべての Alg-Ca において、偏差の小さい HC 溶出挙動が観察された。

3.4 AMG からの HC 溶出挙動

高圧水流により調製した AMG (B) は平均粒子径 73 μm であり、約 10~400 μm の範囲での粒度分布が観察され

Figure 6. Dissolution profile of HC from AMB(B) (●). (HC powder, ○).

たものの、粉碎・分級した Alg-Ca 同様に、非常に速やかで偏差の小さい HC 溶出挙動を示した (Figure 6)。なお、モデル物質 HC の原末を篩にかけ、75 μm 以下の微粉末として溶出 (溶解) 試験をおこなった場合、試験液の表面に浮遊し、凝集やパドルへの付着が生じたため、非常にばらついた溶解挙動がみられた。これらの結果は、Alg-Ca ゲルマトリックス内に含有させることにより、HC 固体表面の溶出液に対する“ぬれ”が改善されたことによると考えられる。

以上、Alg-Ca のマイクロゲル化による比表面積の増加は、それに含有される物質の溶出速度上昇をもたらしたが、高圧水流を利用して調製した AMG においても、急速で再現性のある HC 溶出が認められた。AMG は水系において簡便に調製され、その経口摂取時の安全性が高く、また、含有物質の溶解速度向上に寄与するため、例えば、難水溶性薬物などの消化管吸収率向上を目的とする製剤としての可能性が示唆された。

[Notes]

Preparation of Alginate Micro-Gel by High Pressure Water Method

Yoshifumi MURATA^{*1}, Yasuyuki SUZUKI^{*1}, Takashi ISOBE^{*1}, Kyoko KOFUJI^{*1}, and Susumu KAWASHIMA^{*1}

^{*1}Faculty of Pharmaceutical Science, Hokuriku University (Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa 920-1181, Japan)

Alginate micro-gel (AMG) containing a model compound, hydrocortisone (HC), was prepared by high pressure water method. The release profile of HC from AMG was then investigated. The mean particle size of AMG was less than 100 μm : the size was controllable by the pressure of water. HC incorporated in AMG was immediately dissolved in physiological saline; the dissolution profile was reproducible. These results suggest that AMG is potentially useful to improve the solubility of water-insoluble compounds.

KEY WORDS Alginate Micro-Gel / High Pressure Water / Hydrocortisone / Dissolution Profile /

(Received May 10, 2010; Accepted June 15, 2010)

©2010, The Society of Polymer Science, Japan

[Kobunshi Ronbunshu, 67, 549–552 (2010)]

謝 辞 本研究を遂行するにあたり、高圧水流を用いた AMG 調製、ならびにその粒子径測定のための装置の貸与と指導をいただきましたスギノマシン (株) プラント機器事業部 (滑川市) の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) J. R. Paxman, J. C. Richardson, P. W. Dettmar, and B. M. Corfe, *Nutr. Res. (N. Y., NY, U. S.)*, **28**, 501 (2008).
- 2) J. R. Paxman, J. C. Richardson, P. W. Dettmar, and B. M. Corfe, *Appetite*, **51**, 713 (2008).
- 3) N. Yuno-Ohta, M. Yamada, M. Inomata, H. Konagai, and T. Kataoka, *J. Food Sci.*, **74**, E285 (2009).
- 4) L. Li, Y. Fang, R. Vreeker, I. Appelqvist, and E. Mendes, *Biomacromolecules*, **8**, 464 (2007).
- 5) W. K. Ding, and N. P. Shah, *J. Food Sci.*, **74**, M100 (2009).
- 6) B. Mandal, K. S. Alexander, and A. T. Riga, *Pharmazie*, **65**, 106 (2010).
- 7) R. C. Schellekens, F. Stellaard, D. Mitrovic, F. E. Stuurman, J. G. Kosterink, and H. W. Frijlink, *J. Controlled Release*, **132**, 91 (2008).
- 8) Y. Murata, Y. Kodama, D. Hirai, K. Kofuji, and S. Kawashima, *Molecules*, **14**, 755 (2009).
- 9) K. Kofuji, T. Isobe, and Y. Murata, *Food Chem.*, **115**, 483 (2009).
- 10) S. Hua, H. Ma, X. Li, H. Yang, and A. Wang, *Int. J. Biol. Macromol.*, **46**, 517 (2010).
- 11) Y. Zhao, M. T. Carvajal, Y. Y. Won, and M. T. Harris, *Langmuir*, **23**, 12489 (2007).
- 12) S. Sugiura, T. Oda, Y. Izumida, Y. Aoyagi, M. Satake, A. Ochiai, N. Ohkohchi, and M. Nakajima, *Biomaterials*, **26**, 3327 (2005).
- 13) J. Foldyna, L. Sitek, B. Svehla, and S. Svehla, *Ultrason. Sonochem.*, **11**, 131 (2004).
- 14) M. Kroh, R. Hall, S. Udomsawaengsup, A. Smith, L. Yerian, and B. Chand, *Surg. Endosc.*, **22**, 2498 (2008).