

Title	ポリヒドロキシアルカノエートの経皮薬物送達システムへの応用に関する研究
Author(s)	王, 志雄
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44150
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	王 志 雄
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 17766 号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科分子薬科学専攻
学位論文名	ポリヒドロキシアルカノエートの経皮薬物送達システムへの応用に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 八木 清仁 (副査) 教授 真弓 忠範 教授 松田 敏夫 教授 宮本 和久

論文内容の要旨

微生物の生合成する生分解性高分子材料として近年、注目を集めているポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) は、微生物がエネルギー源あるいは炭素源の貯蔵を目的とし菌体内に蓄積するポリエステルであり、構成モノマーの炭素数により、短鎖 PHA (scl-PHA) (ポリヒドロキシ酪酸; PHB 等) と中鎖 PHA (mcl-PHA) に分けられる。PHA は生分解性以外に、そのガラス転位点 (Tg) が低い、疎水的である、さらに、培養時に使用する基質 (炭素源) と生産に用いる菌体の種類を工夫することで、その側鎖構造を任意に変えることができる等の特徴を有する材料である。PHA は化学合成高分子に比べ生産コストが高く、バルク材料として利用することは現実的でない。そこで、生産コストが多少高くとも、PHA の付加価値の高い利用法が見出せれば、十分、利用できると考えた。

本研究は、従来から注目されている生分解性ではなく、PHA の低い Tg、高疎水性等に着眼し、PHA の生分解性バルク材料として以外の、より付加価値の高い利用法を見出すことを目的とし研究を開始した。本研究において注目した、低 Tg は接着剤、特に、薬学分野で経皮投与製剤のマトリックスに求められる性質であり、PHA が経皮薬物送達システム (TDDS) に利用できるのではないかと考え、検討を加えた。また、高機能性高分子デンドリマーと協同的に作用し、良好な TDDS マトリックスとなることも見出してきた。本論文において、上記結果の詳細を報告する。

本研究では、PHA 生産に *Pseudomonas putida* KT2442 を用いた。本菌は、PHA 関連基質であるオクタン酸を基質とし、mcl-PHA を生合成し蓄積する。生産される PHA は 3-ヒドロキシヘキサン酸 (8%) および 3-ヒドロキシオクタン酸 (92%) をモノマーとしており、菌体よりクロロホルムで抽出後、アセトンおよびメタノールを用いて脂質等の不純物を除いた後、経皮透過実験に供した。経皮透過皮膚モデルとして、アフリカニシキヘビ脱皮殻を用い、アニオン性のケトプロフェン、カチオン性のクロニジン、そして低分子量透過促進剤により経皮透過促進が起こらないとされるタムスロシンをモデル薬物として用いた。

どの薬物も調製時 PHA によく分散し、乾燥後マトリックス内部での薬物も結晶化も極わずかであった。PHA はこれら薬物の徐放性をもつことも確認できた。PHA はその Tg が低いことから予想された通り、良好な蛇脱皮殻に対する粘着性を示し、粘着剤として使用可能であることがわかった。

続いて、シリコンマトリックスをコントロールとし経皮透過実験を行った。低分子量透過促進剤ミスチン酸イソプロピル (IPM) をシリコンマトリックスに混合したものについても検討した。ケトプロフェンおよびクロニジンは

シリコンマトリックスを用いた場合、ほとんど蛇脱皮殻を透過しなかった。これに対し、PHA をマトリックスとした場合、両薬物は良好な蛇脱皮殻の透過性を持ち、その透過量は、シリコンマトリックスに透過促進剤を添加した場合と同等もしくは、それを上回るものであった。この結果は、PHA が粘着剤としてばかりでなく、透過促進機能も兼ね備えた有用な材料であることを示している。

一方、タムスロシンについては、シリコンマトリックスに分散せず、相分離してしまったため、経皮透過実験を行うことができなかった。これに対し、タムスロシンは PHA に良好に分散し、経皮透過実験を行うことができた。タムスロシンは透過促進剤によりほとんど透過促進されないことが知られているが、PHA マトリックスを使用した場合は、透過量が平均 $15.7 \mu\text{g}/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ であった。タムスロシンの臨床において必要な投与量は1日当り $200 \mu\text{g}$ であり、面積 10 cm^2 の経皮薬物投与パッチを使うとすると、単位面積当たりの透過量は $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ である。ここで得たタムスロシンの透過量は目標値に近いものであった。以上より、PHA が TDDS 用マトリックスとして利用できることが、明らかとなった。しかし、タムスロシン TDDS の構築を見てもわかるように PHA の機能を更に向上させて、より有用な PHA 利用 TDDS を作り上げる必要がある。この目的達成の一つの方法として PHA に良好に分散し、皮膚刺激の少ない、あるいは全くないような透過促進剤を混合使用することが考えられる。低分子量の透過促進剤はそれ自体が皮膚内部に入りこむために皮膚刺激等を引き起こす。分子量が大きくなれば、この問題が解消されることが知られており、PHA に適した高分子透過促進剤のスクリーニングを行った。

本研究では、樹木状多分岐高分子デンドリマーを利用することにした。デンドリマーは、その内部が疎水性で末端に親水基を持ち、従来より報告のある高分子経皮透過促進剤と類似の構造をもつ物質である。本研究では、末端がアミノ基で世代数3のデンドリマー (dendrimer-N) と末端がカルボキシル基で世代数が 2.5 のデンドリマー (dendrimer-C) を用いた。これらデンドリマーは、PHA に良好に分散した。

そこでまず、デンドリマー自身が経皮吸収促進作用を持つかどうかをチェックする実験を行った。低分子透過促進剤の効果が得られない薬物であるタムスロシンをモデル薬物として用いた。dendrimer-N も dendrimer-C も共にタムスロシンの透過を促進しなかったが、デンドリマーによる前処理を行った実験では、dendrimer-C による前処理により有意に透過促進が達成された。デンドリマーによる前処理を行わない場合、24 時間のタムスロシンの透過量は $1.2 \mu\text{g}/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ であったが、dendrimer-C で前処理したものはその透過量が 24 時間で $9.8 \mu\text{g}/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ となり、目標値の 50%まで達成された。この結果より、デンドリマーが高分子透過促進剤となりうることを示すことができた。

上記の結果を基に、デンドリマー含有 PHA マトリックスを用いた、経皮透過実験を行うこととした。dendrimer-N を用いた場合、有意に経皮透過量を増加させた。モデル薬物として、先と同じくタムスロシンを用いた。24 時間の累積透過量は $24 \mu\text{g}/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ となり、目標の $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ を超える成績を得ることができた。

以上、まとめると、まず PHA が透過促進効果をもつマトリックスとして利用できることを発見し、PHA が TDDS に適した材料であることを明らかにした。また、デンドリマーが高分子経皮透過促進剤として働くことも明らかとし、更に、デンドリマー添加 PHA が臨床上有効な TDDS 構築に適していることを示すことができた。さらに、微生物による PHA 生産において、炭素源を工夫することでより機能の高い PHA を生み出すことができ、また一方で、デンドリマーも末端基の修飾で高機能化が可能である。これらの検討を進めることで、新規の高機能 TDDS 材料の開発と、その臨床応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

本論文は生分解性プラスチックの原料として注目を浴びているポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) を経皮薬物送達システム (TDDS) の基材として利用することを目的として行われた。PHA は微生物がエネルギー源、炭素源として菌体内に蓄えるポリエステルである。申請者はまず代表的な PHA 生産菌である *Pseudomonas putida* KT2442 株を用い、生産条件を検討したところ炭素源としてはオクタン酸を用いると菌体乾燥重量の 40%以上 PHA を蓄積することを見いだした。菌体から抽出、精製した PHA に薬物を分散し徐放性を検討したところ良好な結果が得られ、TDDS 用マトリックスとして適用しうることが示された。蛇脱皮殻を用いた経皮透過実験により PHA が経皮透過促進作用

を併せ持つマトリックスであることが明らかとなった。さらに PHA による TDDS を高機能化するため、高分子経皮透過促進剤として樹木状多分岐高分子である dendrimer の併用を試みた。その結果、TDDS における dendrimer の有効性が示され、PHA、dendrimer を用いた新規経皮薬物送達システムの創製に成功した。上記の研究は非常に斬新なアイデアをもとに遂行され、モデルとした薬物の臨床投与量を TDDS により達成しうることを示した点で学位論文に相応しい内容であると判断する。