薬 剤 学, **69** (2), 94–98 (2009)

≪若手研究者紹介≫

医薬品ナノ微粒子製剤の調製と物性評価

森 部 久 仁 一* Kunikazu Moribe
千葉大学大学院薬学研究院

1. は じ め に

平成 20 年度の日本薬剤学会奨励賞受賞がきっかけとなり本稿を執筆する機会をいただいた．私より若い新進気鋭の研究者が執筆している本稿にまさか今頃になって私が書くことになるとは思ってもいなかった．以前から実年齢より若く見られたことがない（でも最近は実年齢に近い年齢を言ってくれている方が多くなったので少しうれしい）私が，「若手」としてこれまで研究を続けてきた内容について，当時を振り返りお世話になった方々を思い出しながら紹介してみたい．

2. 薬物封入リポソームの調製と物性評価

千葉大学大学院修士課程を修了後，ただちに帝京大学薬学部薬剤学教室助手として岩鶴先生，丸山先生のもとで研究を始めることとなった．帝京大学ではリポソームに関する研究に従事することになったが，大学時代とは全く異なる研究内容で最初はなかなか思ったような研究ができず，納得がいく結果が出るようになるまで 2，3 年の年月を要した．その後は，丸山先生や石田先生をはじめ，学生さんの理解と協力のもとに研究を遂行することができ，短期間に多くの成果を上げることができた．片道 15 km の道のりを毎日車で通勤していたが，夜遅く土日も含めて実験をしてさらに遊ぶ時は徹底的に遊んでいた．当時私の研究テーマは，「ポリエン系薬物のリポソームへの封入と封入状態の評価」で，各種薬物の封入と封入状態を各種スペクトル測定で評価していた[1]．測定では千葉大や東京薬科大にお世話になることもあった．リポソームへの薬物封入は，教科書的には親水性・疎水性両薬物の封入が可能ということになっているが，実際は薬物を必要量リポソームに封入しようとしても特殊な loading 法がある薬物以外はそれほど簡単ではない．特に分子量の大きい難水溶性薬物や水中で不安定な薬物の封入・保持は非常に難しい．当時は，ポリエン系薬物の封入以外にも各種薬物の封入に関する共同研究に参加させていただいた．結果としてはなかなか思ったような結果が出せず悶々とした日々を送っていたような気がする．今にして思えば，ここの部分をああしておけばという点もないではないが，当時は多くの組成を検討するのが精一杯で，そこまで気がまわらなかったのだと思う．2000 年に「ポリエンマクロライド系抗生物質封入 PEG リポソームの調製と物性評価に関する研究」で博士（薬学）の学位を取得後，慌ただしく留学したためリポソームの研究は一旦終了となった．現在もリポソームの研究は細々とではあるが行っているので，あのとき成し得なかった薬物封入に関する研究でいつかリベンジを果たしたいと考えている．

3. アパタイトの溶　挙動に関する研究

2001 年 5 月から，米国ユタ大学の W.I. Higuchi 先生のもとでアパタイトの溶出に関する研究に従事し

* 静岡県浜松市出身，浜松北高校卒．千葉大学薬学部・大学院修士課程修了後，帝京大学助手，ユタ大学博士研究員，千葉大学講師，助教授をへて H19 より准教授．薬学博士，薬剤師．信条：今しかできないことに全力を尽くす．仕事も遊びもやると決めたら納得するまでトコトンやる．趣味：おいしいお酒を飲むこと．
連絡先：〒 263–8522 千葉市稲毛区弥生町 1–33
TEL: 043–290–2938，FAX: 043–290–2939，
E-mail: moribe@p.chiba-u.ac.jp

た．留学中に同時多発テロやソルトレークシティー冬季オリンピックが開催され，あっという間に時が過ぎていった．Higuchi 研での研究生活は，それまでと全く異なるもので文化の違いも含め視野が大きく広がった気がする．アパタイトの溶出に関する研究は歴史が古く，数学的な取り扱いも多いので内容を理解するのには苦労した．F や CO_2 を含むアパタイトの各種溶液への溶出挙動を，溶液の組成を変えて評価するのであるが，用いる試験容器が 1L あるいは 2L のビーカーでそれを多数用意して定量評価する（1 週間かかります）ため，なかなかデータポイント数を増やせず結果を出すのに長い期間を要した[2]．留学時代には現地で多くの知り合いができたが，ユタ大学に日本から来て共同研究あるいは講演される先生も多く，当時は大塚先生や片岡先生，岡野先生にユタ大学でお会いし講演を拝聴した．

4. 薬物ナノ微粒子の調製と物性評価

Higuchi 先生のもとで約 1 年半研究生活を過ごした後，小口先生の後任として 2002 年 9 月に千葉大学に赴任した．山本先生，戸塚先生との 3 名体制でスタートしたが，千葉大学でそれまで行われてきた研究を把握し，その研究内容を深めていくまでにはやはり 1, 2 年を要した気がする．製剤工学研究室の主な研究テーマは，固体分散体や複合体，ナノ微粒子の調製と物性評価が中心である．具体的には，粉砕や超臨界流体を用いた薬物ナノ微粒子の調製と物性評価，溶出性改善を目的とした固体分散体の調製と物性評価，固体 NMR 測定による薬物や添加剤分子状態の評価，PEG カチオニックリポソームの物性評価，などが挙げられる．ここでは，薬物ナノ微粒子の調製と物性評価に関する話題を中心に最近の研究内容を紹介する．

医薬品と添加剤との乾式混合粉砕による医薬品ナノ微粒子調製法の確立及び微粒子形成メカニズムの解明を目的とし，医薬品・水溶性高分子・界面活性剤の 3 成分系でナノ微粒子調製を試みた．医薬品単独粉砕では粉砕効率が悪いが，添加剤と共に 2 成分や 3 成分で粉砕を行うことにより粉砕効率が飛躍的に向上し，水に分散後安定なナノ微粒子懸濁液の生成が可能となる[3]．水溶性高分子としてはポリビニルピロリドン（PVP），界面活性剤としてはラウリル硫酸ナトリウム（SDS）を用い，薬物，PVP K17, SDS を重量比 1：3：1 で混合粉砕し水に分散した際の粒子径を測定したところ，17 種類の難水溶性医薬品のうち 15 種類の医薬品でナノ微粒子生成が確認された．医薬品と PVP，あるいは医薬品と SDS の 2 成分粉砕だけでナノ微粒子が形成する医薬品もいくつか存在するが，3 成分で混合粉砕したほうが得られる粒子の粒子径も小さく，水に分散後の安定性も高い．PVP および SDS との混合粉砕によりナノ微粒子形成が認められなかった医薬品についても，他の水溶性高分子を用いることでナノ微粒子化が可能となった[4]．

医薬品として probucol を用いた場合，PVP K17, SDS と混合粉砕した後水に分散すると，平均粒子径が約 90 nm　ナノ微粒子が形成する．得られる probucol の粒子径は用いる PVP の分子量に依存するため，probucol，PVP，SDS □□□□ 1：3：1 で混合粉砕し，水に分散した際の粒子径を測定したところ，得られた微粒子の粒子径は，PVP の分子量の低下とともに減少した（Fig. 1）．PVP K12，PVP K17，PVP K30 を用いた系では，ナノ微粒子生成が観察されたが，PVP K90 を用いた系では微粒子化が完全に進行しなかった．PVP 分子量の違いにより粒子径が異なる原因として，固体状態における医薬品と添加剤あるいは添加剤間の分子間相互作用が影響している可能性が考えられる．そこで，混合粉砕物中の 3 成分の分子状態を検討するため固体 NMR 測定を行った（Fig. 2）[5]．Probucol/PVP K17/SDS の物理的混合物（PM）および混合粉砕物（GM）の固体 NMR スペクトルを比較した場合，GM においては，155 ppm 付近に認められる probuco のヒドロキシル基に隣接するカーボン由来のピークの低磁場側シフト，及び 143 ppm 付近に probucol のベンゼン環の炭素に由来すると考えられる新しいピークが認められた．また，SDS の硫酸基に隣接する炭素に由来するピークが，混合粉砕により高磁場側にシフトするのが観察された．固体 NMR 測定の結果をもとに粉砕中に生じたと考えられる 3 成分間の相互作用を考察すると，probucol-PVP 間においては probucol のヒドロキシル基と PVP のカルボニル基が相互作用しその結果 probucol のベンゼン環の環境に変化が起きたものと推測された．PVP-SDS 間においては PVP の窒素原子と SDS の硫酸基の相互作用が起きているものと考えられた．一方，probucol-

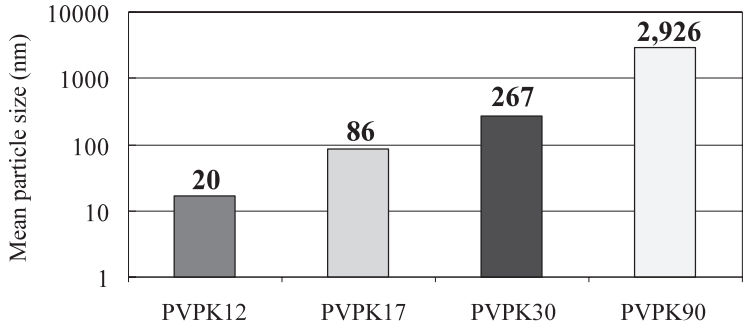

Fig. 1. Effect of PVP molecular weight on mean particle size of probucol/PVP/SDS 1 : 3 : 1 GM dispersed in water.

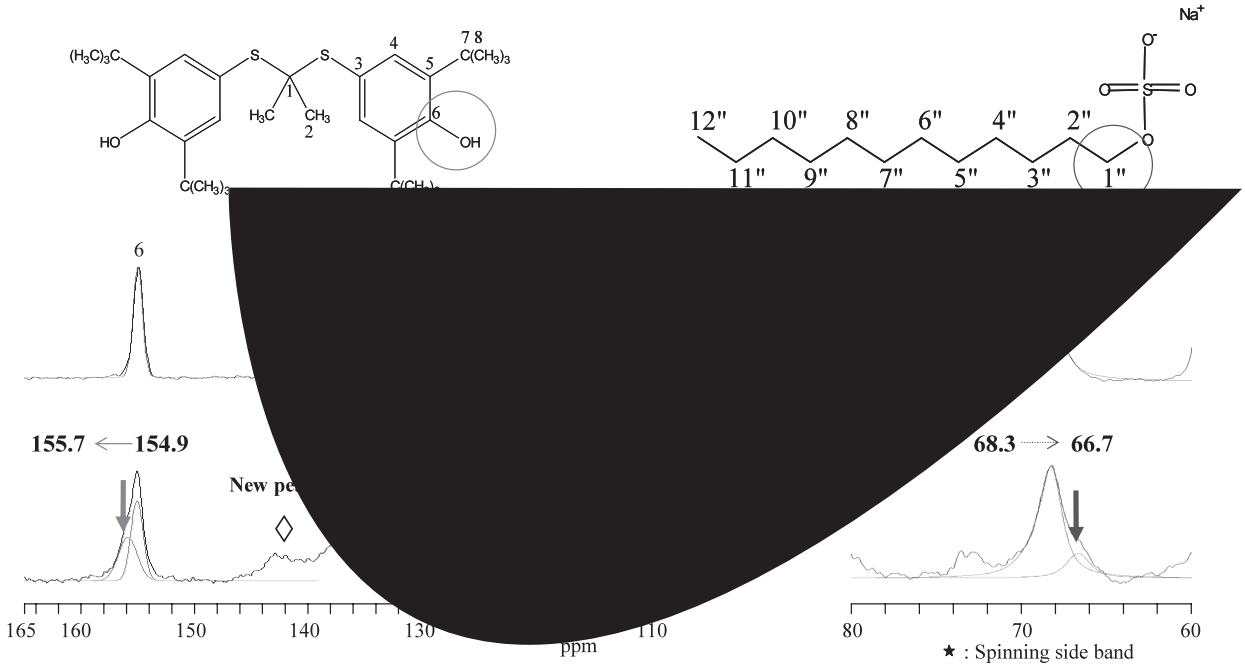

Fig. 2. Solid-state ^{13}C NMR spectra of ternary PM & GM.

SDS 間については相互作用が認められなかったことから，これら二つの相互作用が粉砕による薬物の微粒子形成に大きく関わっているものと考えられた．さらに，probucol-PVP 間，PVP-SDS 間の相互作用は PVP の分子量の低下とともに増大することから，これら 3 成分間の相互作用が，得られるナノ微粒子の粒子径に影響しているものと推察された．

Probucol/PVP K17/SDS 及び probucol/PVP K12/SDS GM 中の probucol 微粒子を観察するために高分解能走査電子顕微鏡（ SEM）測定を行ったところ，PVP K17 を用いた試料では約 30-50 nm，PVP K12 を用いた試料では約 20 nm のナノ微粒子が凝集して存在しているのが確認された(Fig. 3)[6]．GM 中の他の probucol 分子も，PVP と SDS により形成されるマトリックス中に一次粒子のナノ微結晶として分散しているものと推察された．

Probucol/PVP K17/SDS 及び probucol/PVP K12/SDS GM 懸濁液を原子間力顕微鏡（AFM）観察した際の位相像を Fig. 4 に示した[7]．位相像で認められる黒い中心部分と白い表面部分は物性の異なる部分からなる粒子であることを示しており，主として粒子の硬さの違いを反映している．液中 AFM 測定により，得られた微粒子は probucol ナノ結晶が PVP-SDS 複合体で被覆された core-shell 構造を形成している可能性が考えられた．また，PVP-SDS 複合体によりナノ結晶表面に形成される層は PVP K17 を用いた試料の方が顕著に厚かった．Probucol/PVP K17/SDS 及び probucol/PVP K12/SDS GM 懸濁液の保存安定性は，明らかに PVP K17 を用いた場合の方が高いものの，ほぼ同じサイズのナノ微粒子で比較した場合，probucol の消化管からの吸収性は PVP K12 を用いた場合の方が明ら

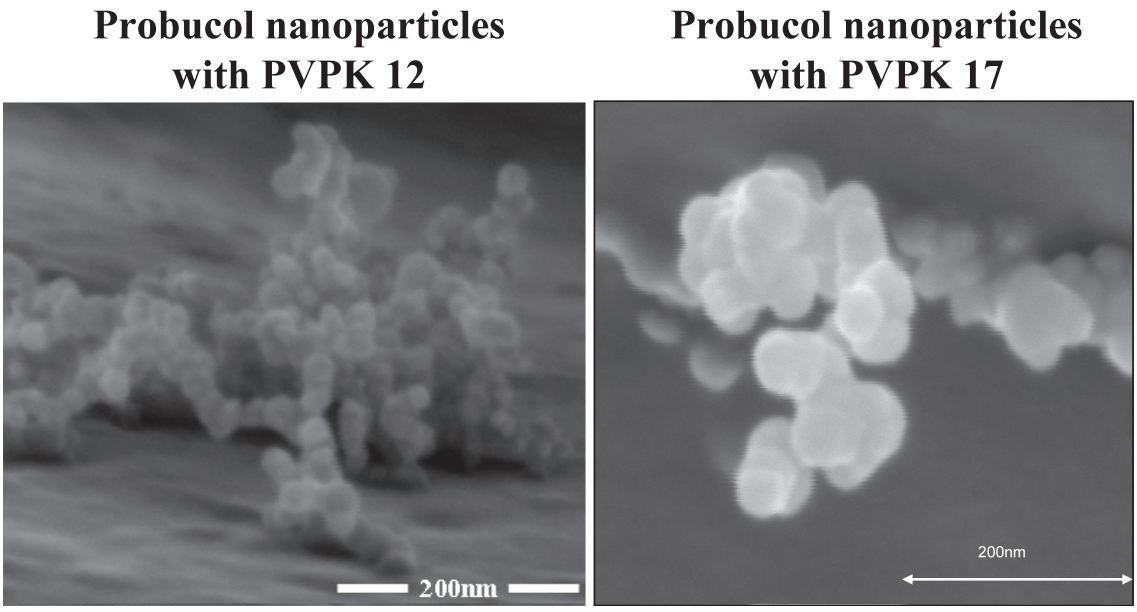

Fig. 3. SEM micrographs of probucol nanoparticles in ternary GM with PVP K 12 and PVP K 17.

Probu

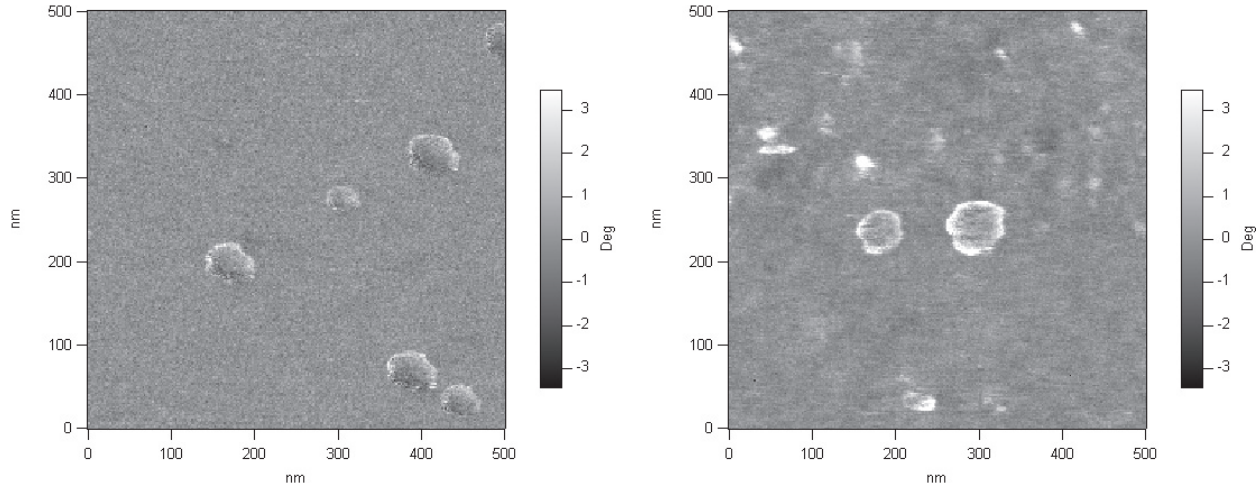

Fig. 4. Comparison of AFM phase images of colloidal probucol nanoparticles with PVPK12 and those with PVPK17.

かに高くなる．このようなPVPの分子量の違いがナノ微粒子の構造ひいては消化管からの薬物の吸収に影響することから[8]，各種スペクトル測定や顕微鏡観察による製剤中の医薬品分子状態の解明が，製□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□法の確立において重要な知見になると考えられる．

5. お わ り に

千葉大学に赴任してからは大学での研究・教育活動に加えて，日本薬剤学会や日本薬学会，粉体工学会の製剤と粒子設計部会等でいろいろな活動に参加させていただいている．永井先生や杉山先生，橋田先生など薬剤学会で大変お世話になってきた先生方以外にも学会活動等でこれまでいろいろな方々にお世話になった．ここで感謝申し上げるとともに今後もさらに多くの方々と協力して学会活動の発展に寄与していきたい．研究面でも以前と比較して他大学や企業，病院関係の方々との共同研究の数が飛躍的に増えてきた．研究室以外の方々と協力しながら進めていく共同研究はとてもいい刺激になるので，学生さんには何事も経験だと思って積極的に参加してもらいたい．最後になるが今回薬剤学会奨励賞を戴

ことができたのは，　　は　と　生方のご指導ご鞭撻に加えて，研究室の学生さんや同窓生の皆さんが頑張って研究してくれた努力の賜物だと思っている．私は学生さんに対して厳しく接することが多いが，この場を借りてお礼申し上げたい．

引 用 文 献

1) K. Moribe, E. Tanaka, K. Maruyama, M. Iwatsuru, Enhanced encapsulation of amphotericin B into liposomes by complex formation with □□□□□□□□□□ glycol derivatives, *Pharm. Res.*, **15**, 1737–1742 (1998).
2) K. Papangkorn, G. Yan, D.D. Heslop, K. Moribe, A.A. Baig, M. Otsuka, W.I. Higuchi, Influence of crystallite microstrain on surface complexes governing the metastable equilibrium solubility behavior of carbonated apatites, *J. Colloid Int. Sci.*, **320**, 96–109 (2008).
3) A. Pongpeerapat, K. Itoh, Y. Tozuka, K. Moribe, T. Oguchi, K. Yamamoto, Formation and stability of nanoparticles obtained from drug/PVP/SDS ternary ground mixture, *J. Drug. Sci. Tech.*, **14**, 441–447 (2004).
4) K. Moribe, A. Pongpeerapat, Y. Tozuka, K. Yamamoto, Drug nanoparticle formation from Drug/HPMC/SDS ternary ground mixtures, *Pharmazie*, **61**, 97–101 (2006).
5) A. Pongpeerapat, K. Higashi, Y. Tozuka, K. Moribe, K. Yamamoto, Molecular interaction among probucol/PVP/SDS multicomponent system investigated by solid-state NMR, *Pharm. Res.*, **23**, 2566–2574 (2006).
6) A. Pongpeerapat, C. Wanawongthai, Tozuka, K. Moribe, K. Yamamoto, Formation mechanism of colloidal nanoparticles obtained from probucol/PVP/SDS ternary ground mixture, *Int. J. Pharm.*, **352**, 309–316 (2008).
7) K. Moribe, C. Wanawongthai, J. Shudo, K. Higashi, K. Yamamoto, Morphology and surface states of colloidal probucol nanoparticles evaluated by atomic force microscopy, *Chem. Pharm. Bull.*, **56**, 878–880 (2008).
8) J. Shudo, A. Pongpeerapat, C. Wanawongthai, K. Moribe, K. Yamamoto, *In vivo* assessment of oral administration of probucol nanoparticles in rats, *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 321–325 (2008).