

学位論文要旨

シクロデキストリンと共重合体を組み合わせた新規分子複合体の開発

小林 由希

分子マシンは、ミクロスケール、ナノスケールで制御された機械的動きを起こす分子、あるいは分子複合体をいう。なかでも合成分子マシンは、有機化学的に合成された分子マシンであり、熱、光、pH 変化、酸化還元などの外部刺激に応じて分子の構造や配座が変化するものをいう。このような合成分子マシンは、生体適合性や生分解性を持たせることでドラッグデリバリーシステム (DDS) の基剤への応用も検討されており、これらの技術が医薬品開発や最先端治療の助けになることが期待されている。

近年、DDS への応用が検討されている基剤のひとつに、多数の環状分子が鎖状高分子を包接して形成されるシュードポリロタキサン (pPRX) や、その末端をストッパー分子で封じたポリロタキサン (PRX) があり、この環状分子に、シクロデキストリン (CyD) を用いた pPRX および PRX についても様々な研究が報告されている。CyD は、複数の D-グルコースが α -1,4 グリコシド結合することにより環状構造を形成した分子であり、環状構造の空孔内にゲスト分子を取り込み、包接複合体を形成するという特徴を持つ。そこで本研究では、高い機能を有する DDS に利用可能な機能性材料として、CyD と 2 種類以上の単量体からなる重合体である共重合体を組み合わせた pPRX もしくは PRX 構造を持つ、新規材料の開発を目的とした。

第 1 章では、CyD とブロック共重合体からなる機能性複合粒子の調製を目的とした。ブロック共重合体とは、それぞれ同種の単量体からなる高分子鎖が 1 本の鎖の中に結合している重合体をいう。なかでも、親水性連鎖と疎水性連鎖を組み合わせた両親媒性ブロック共重合体は、水中で球状ミセルを形成することが知られている。そのため親水性を示すポリプロピレングリコール (PPG) と、疎水性を示すポリカプロラクトン (PCL) を組み合わせたブロック共重合体 (BtPPG-PCL) は、水中でミセルや粒子を形成することが予想できる。さらに、それぞれの鎖がサイズに適した CyD と相互作用するため、様々な pPRX を形成することも予想できる。そこで、形成した粒子の外側の親水性連鎖と pPRX を形成する CyD を導入することにより、pPRX 同士が安定な結晶配列を形成して凝集する複合粒子を形成すると考え、その様な粒子を調製することを本章の目的とした。さらに、複合粒子懸濁液に CyD の他のゲスト化合物を導入することで pPRX が崩壊し、一次粒子の再生が生じるか検討することにした。複合粒子の調製においては、CyD と BtPPG-PCL による、pPRX 間の相互作用により凝集する複合粒子を調製することができた。また、複合粒子懸濁液に β -CyD のゲスト化合物であるデオキシコール酸ナトリウム (NaDC) またはコール酸ナトリウム (NaC) を添加することにより、pPRX が崩壊して生じる一次粒子の再生が観察できた。これらの複合粒子は、徐放製剤化や腸溶製剤化によるバイオアベイラビリティの改善だけでなく、プロドラッグ化による吸収改善にも応用可能な、新たな材料として期待できる。

第 2 章では、ビニル基修飾 CyD とビニルモノマーを用いた、CyD 固定化ゲルの調製を目的とした。ゲルは、溶媒に不溶の三次元構造を持つ高分子およびその膨潤体であり、高分子同士の架橋には、共有結合などの化学的な結合だけでなく、水素結合や静電的相互作用などの物理的な相互作用も利用されている。一般に、このようなゲルによる薬物放出には、水溶性のハイドロゲルが広く用いられている。しかしこの薬物放出は、水で満たされている網目構造中の薬物の拡散によって起こり、分子の大きさに移

動の放出速度は依存する。一方、ゲルの中に CyD を固定化した CyD 固定化ゲルができれば、CyD の包接能に依存した放出の抑制や、ゲスト化合物の共存による放出の促進といった、新たな放出制御機能を有するゲルとなる可能性がある。そこで、ビニル基を一つ持つ CyD と主鎖となるビニルモノマーを共重合することにより、高分子鎖上に CyD を固定化し、かつ一部の CyD が共重合体を包接する物理的架橋点となる CyD 固定化ゲルをワンポットで調製することとした。本検討では、ビニル基を一つ持つ β -CyD (V- β -CyD) とイソプレンの共重合により、ワンポットでゲルを調製した。これにより、一部の V- β -CyD が主鎖となるビニルモノマーを包接することで架橋点として機能するという、新しい架橋構造を持つゲルを得た。このゲルには、イソプレンを包接していないフリーの CyD も多数存在しており、ゲル中にゲスト化合物の包接能を有するフリーの CyD を固定化することができた。さらに、ゲルの調製に際してアクリルアミド (AAm) を共重合することで、その膨潤性やフリーの CyD 量をコントロールすることができた。このような CyD を固定したゲルは、新たな放出制御機能を有するのみならず、経口投与などにより治療効果を発揮するゲルとなることも期待できる。

第 3 章では、機能性スライドリングゲル (SRG) のワンポット調製を目的とした。SRG は架橋点が動くため、応力緩和性があり、力学的ストレスに強いなどのユニークな力学特性を示す。この SRG の材料の一つに pPRX や PRX が用いられており、それらの構造を持つスライドリングゲルとしては、PRX の環状分子同士を架橋したゲルや、一分子の環状分子からなるロタキサン構造を架橋点としたゲルが報告されているが、これらの調製には多数のステップを要し、容易ではない。そこで第 3 章では、第 2 章で開発したゲルのワンポット調製法を活用し、その架橋密度をコントロールすることで、架橋のスライドによる膨潤をコントロールすることとした。スライド機能の付与には、包接複合体の形成が可能である CyD の空孔のサイズに適したモノマーの選択と、CyD に包接されない状態でも溶解性を有し、重合が進む親水性モノマーの導入が必要となることが考えられる。また、スライド機能に加えて刺激応答性の機能を付与できれば、ダイナミックな応答が期待できる。そこで、機能性モノマーとビニル基を一つ持つ CyD を共重合することで、SRG の高機能化も試みた。イソプレンと V- β -CyD に加え、AAm を共重合することで、架橋がスライドし、力学的ストレスに強い SRG が得られた。また、機能性モノマーとして *N*-イソプロピルアクリルアミドを導入した SRG では温度応答性が、4-ビニルフェニルボロン酸を導入した SRG では糖応答性が確認できた。嵩高い刺激応答性基の存在により架橋がスライドする性質は損失してしまうことが予想されるが、様々なモノマーを組み合わせることで、スライド機能と刺激応答の両方の機能を保持できる設計が期待できる。このような SRG は、放出制御やターゲティングへの応用が可能であると期待できる。またこれらの SRG はワンポットで調製が可能であることから、これまでの課題であった多数のステップを要する点を改善でき、時間やコストを削減できるといったメリットも挙げられる。

本研究では、CyD と共重合体を組み合わせることで、上記の新規材料の開発を可能にした。第 2 章で調製した CyD 固定化ゲルと、第 3 章で調製した刺激応答性 SRG を組み合わせることで、経皮吸収型製剤や埋め込み型製剤への応用も期待できる。また微粒子化した CyD 固定化ゲルを、第 1 章で調製した複合粒子内に取り込ませることで、新たな経口投与製剤や静注用製剤となることも期待できる。さらに、それらにも刺激応答性などの機能を付与することも可能であると考えられる。本研究では、このように CyD と共重合体を組み合わせた分子複合体を活用することで、高度な機能を有する DDS 基剤への発展に繋がることを示した。

Thesis Abstract

Development of novel molecular complexes composed of cyclodextrin and copolymer

Yuki Kobayashi

Molecular machines refer to molecules or molecular complexes that cause controlled mechanical movement at the micro- and nano-scales. Synthetic molecular machines are organic chemically synthesized molecular machines that change their molecular structure and conformation according to external stimuli such as heat, light, pH, oxidation, and reduction. The application of such synthetic molecular machines as the bases of drug delivery systems (DDSs) that facilitate biocompatibility and biodegradability has also been studied. This technology is helping to develop medicines and is expected to become a cutting-edge treatment.

Recently, one of the bases under consideration for application to DDS is pseudopolyrotaxane (pPRX) formed by enclosing a chain polymer with many cyclic molecules, polyrotaxane (PRX) in which the end is sealed with a stopper molecule. Various studies on pPRX and PRX using cyclodextrin (CyD) as this cyclic molecule have been reported. CyD has a cyclic structure and is composed of several D-glucoses bound by an α -1,4-glycosidic bond; it is able to incorporate a guest molecule into the pores of its cyclic structure to form inclusion complexes. The aim of this research is to develop a new, functional material having a pPRX or PRX structure by combining CyD and a copolymer, which may be used in DDSs.

Chapter 1 outlines the preparation of functional composite particles consisting of CyD and a block copolymer. The term block copolymer denotes two or more polymer chains, each composed of monomers of the same type, bonded to each other. Among them, amphiphilic block copolymers combining a hydrophilic chain and a hydrophobic chain are known to form spherical micelles in water. Hence, it can be expected that a block copolymer combining hydrophilic polypropylene glycol and hydrophobic polycaprolactone (BtPPG-PCL) forms micelles in water. Furthermore, since each chain interacts with CyD suitable for size, it can be expected to form various pPRXs. Therefore, by introducing CyD to form pPRXs with the hydrophilic chains that are on the outside of the formed micelles, pPRXs may mutually form a stable crystal sequence and give rise to composite particles that will aggregate. In addition, we decided to introduce another guest molecule of CyD into the composite particle suspension so that pPRX collapses and primary particle regeneration occurs. Composite pPRX particles aggregated by the interaction between CyD and BtPPG-PCL could be prepared. Moreover, by adding bile acid, which is a guest molecule of CyD, to the composite particle suspension, the regeneration of primary particles caused by the disintegration of pPRX can be observed. These composite particles are expected to lead to new materials that can improve controlled release by formulation and enteric formulation as well as increase absorption by prodrug formation.

In Chapter 2, the aim was to prepare CyD-immobilized gel using vinyl-modified CyD and a vinyl monomer. A gel is a polymer that has a three-dimensional structure, is insoluble in any solvent, and absorbs solvents to achieve its characteristic swellability. Crosslinking between polymers includes not only chemical bonding, such as covalent bonding, but also hydrogen bonding and electrostatic interactions, which are physical interactions. Generally, water-soluble hydrogels are widely used for drug release applications. However, this drug release is caused by the diffusion of the drug in the network filled with water and depends on the molecular size. If a CyD-immobilized gel (i.e. a gel in which CyD is immobilized) can be obtained, this can lead to new release

controlling functions, such as suppression of release depending on inclusion ability of CyD and promotion of release by the coexistence of a guest compound. Therefore, by copolymerizing vinyl-modified CyD and vinyl monomers serving as the main chain, CyD is immobilized on the polymer chain; a physical crosslinking point where some CyD encapsulates the copolymer to prepare the CyD-immobilized gel by one-pot synthesis is achieved. In this study, it was possible to prepare a gel in one-pot by the copolymerization of vinyl-modified β -CyD (V- β -CyD) and isoprene. As a result, it was possible to obtain a gel having a new crosslinked structure in which a part of V- β -CyD functions as a crosslinking point by the inclusion of a vinyl monomer as the main chain. The prepared gel has many CyD moieties that are not occupied by isoprene, and free CyD has the ability to immobilize the guest compound in the gel. Furthermore, by copolymerizing with acrylamide (AAm) during gel preparation, it was possible to control the swellability of the gel and the amount of free CyD. Such a CyD-immobilized gel does not only have a new release controlling function, but can also be expected to exert a therapeutic effect by oral administration.

Chapter 3 describes the one-pot preparation of functional slide-ring gel (SRG). Since SRG moves the crosslinking point, it exhibits stress relaxation and unique mechanical properties such as strength against mechanical stress. pPRX and PRX are used as materials for an SRG having a structure identical to pPRX and PRX. A gel obtained by crosslinking cyclic molecules of PRX, and a gel in which a cyclic molecule is formed at a crosslinking point were reported. However, preparation thereof requires many steps. Therefore, the regulation of swelling by controlling the crosslinking density was investigated by utilizing the one-pot gel preparation method developed in Chapter 2. To impart the slide function, it is necessary to select a monomer suitable for the size of the pore of CyD that is capable of forming an inclusion complex, and a hydrophilic monomer that dissolves without inclusion in CyD and causes polymerization to proceed. Moreover, if it is possible to impart the function of stimulus responsiveness in addition to the sliding function, a dynamic response can be expected. Therefore, attempts were made to improve the function of SRG by copolymerizing a functional monomer and V- β -CyD. SRG resistant to mechanical stress was obtained by copolymerizing AAm in addition to isoprene and V- β -CyD. Furthermore, SRG with *N*-isopropylacrylamide introduced as a functional monomer showed temperature responsiveness; for SRG with 4-vinylphenylboronic acid, sugar responsiveness was confirmed. It is expected that the property of sliding crosslinking due to the presence of a bulky stimulus responsive group will be lost, but combining various monomers is expected to enable both functions of sliding and stimulus response to remain. Such an SRG promises to be capable of release control and targeting. In addition, since these SRGs can be prepared by one-pot synthesis, there are merits such as time and cost reductions.

This study developed novel molecular complexes composed of CyD and a copolymer. It may potentially be applied to percutaneously absorptive preparations and implantable preparations by combining the CyD-immobilized gel prepared in Chapter 2 and the stimuli-responsive SRG prepared in Chapter 3. Moreover, these complexes are promising for a new oral dosage form or intravenous formulation by incorporating the micronized CyD-immobilized gel into the composite particles prepared in Chapter 1. Furthermore, it is considered that functions such as stimulus responsiveness can also be imparted to them. Thus, it is clear that the utilization of molecular complexes composed of CyD and a copolymer leads to the development of a DDS base with advanced functions.

論文審査の結果の要旨

合成分子マシンは、熱、光、pH 変化、酸化還元などの外部刺激に応じて分子の構造や配座が変化する有機化学的に合成された分子マシンである。このような合成分子マシンは、生体適合性や生分解性をを持たせることでドラッグデリバリーシステム (DDS) の基剤への応用も検討され、これらの技術が医薬品開発や最先端治療の一助になることが期待されている。近年、DDS への応用が検討されている基剤のひとつに、多数の環状分子が鎖状高分子を包接して形成されるシュードポリロタキサン (pPRX) や、その末端をストッパー分子で封じたポリロタキサン (PRX) があり、この環状分子に、シクロデキストリン (CyD) を組み込んだ pPRX および PRX について、多くの研究が報告されている。CyD は、複数の D-グルコースが α -1,4 グリコシド結合することにより環状構造を形成した分子であり、環状構造の空孔内にゲスト分子を取り込み、包接複合体を形成するという特徴を持つ。小林 由希氏は、高い機能を有する DDS に利用可能な機能性材料として、CyD と共重合体を組み合わせた pPRX もしくは PRX 構造を持つ、新規材料の開発を目的として、研究を行った。本研究は、3 章にわたり異なる分子複合体の調製と機能性を評価した。

第 1 章では、CyD とブロック共重合体からなる機能性複合粒子の調製を目的とした。両親媒性ブロック共重合体の材料として親水性を示すポリプロピレングリコール (PPG) と、疎水性を示すポリカプロラクトン (PCL) を組み合わせたブロック共重合体 (BtPPG-PCL) は、水中でミセルやナノ粒子を形成し、さらに、それぞれの鎖がサイズに適した CyD と相互作用して、様々な pPRX を形成することと予想される。そこで、形成した粒子の外側の親水性連鎖と pPRX を形成する CyD を導入することにより、pPRX 同士が安定な結晶配列を形成して凝集する複合粒子を形成すると考え、その様な粒子の調製を試みた。種々の分析法を用いて評価した結果、CyD と BtPPG-PCL による、pPRX 間の相互作用により凝集する複合粒子を調製することができた。また、複合粒子懸濁液に β -CyD のゲスト化合物であるデオキシコール酸ナトリウム (NaDC) またはコール酸ナトリウム (NaC) を添加することにより、pPRX が崩壊して生じる一次粒子の再生が観察できた。これらの複合粒子は、徐放性製剤化や腸溶性製剤化だけでなく、プロドラッグ化による吸収改善にも応用可能な、新たな材料として期待できる。

第 2 章では、ビニル基修飾 CyD とビニルモノマーを用いた、CyD 固定化ゲルの調製を試みた。ゲルの中に CyD を固定化した CyD 固定化ゲルができれば、CyD の包接能に依存した放出の抑制や、ゲスト化合物の共存による放出の促進といった、新たな放出制御機能を有するゲルとなる可能性がある。そこで、ビニル基を一つ持つ CyD と主鎖となるビニルモノマーを共重合することにより、高分子鎖上に CyD を固定化し、かつ一部の CyD が共重合体を包接する物理的架橋点となる CyD 固定化ゲルを調製した。CyD 固定化ゲルは、ビニル基を一つ持つ β -CyD (V- β -CyD) とイソプレンの共重合により、ワンポットで調製した。検討の結果、一部の V- β -CyD が主鎖となるビニルモノマーを包接することで架橋点として機能するという、新しい架橋構造を持つゲルを得た。このゲルには、イソプレンを包接していないフリーの CyD も多数存在しており、ゲル中にゲスト化合物の包接能を有するフリーの CyD を固定化することができた。さらに、ゲルの調製に際してアクリルアミド (AAm) を共重合することで、その膨潤性やフリーの CyD 量をコントロールすることができた。このような CyD 固定化ゲルは、新たな放出制御機能を有するのみならず、機能性経口製剤として治療効果の改善が可能な DDS として期待

される。

第 3 章では、第 2 章で開発した調製法を応用し機能性スライドリングゲル (SRG) のワンポット調製を試みた。SRG は架橋点が動くため、応力緩和性があり、力学的ストレスに強いなどのユニークな力学特性を示すが、調製には多数のステップを要し、容易ではなかった。そこでワンポット調製法により、架橋密度をコントロールすることで、架橋のスライドによる膨潤をコントロールした。スライド機能の付与には、包接複合体の形成が可能である CyD の空孔のサイズに適したモノマーの選択と、CyD に包接されない状態でも溶解性を有し、重合が進む親水性モノマーを導入した。さらに、スライド機能に加えて刺激応答性の機能を付与できれば、ダイナミックな応答が期待できるため、機能性モノマーとビニル基を一つ持つ CyD を共重合することで、SRG の高機能化も試みた。イソプレンと V-β-CyD に加え、AAm を共重合することで、架橋がスライドし、力学的ストレスに強い SRG が得られた。また、機能性モノマーとして *N*-イソプロピルアクリルアミドを導入した SRG では温度応答性が、4-ビニルフェニルボロン酸を導入した SRG では糖応答性が確認できた。嵩高い刺激応答性基の存在により架橋がスライドする性質は損失してしまうことが予想されるが、様々なモノマーを組み合わせることで、スライド機能と刺激応答の両方の機能を保持できる設計が期待できる。このような SRG は、放出制御やターゲティングへの応用が可能である。またこれらの SRG はワンポットで調製が可能であることから、これまでの課題であった多数のステップを要する点を改善でき、時間やコストを削減できるといったメリットも挙げられる。

以上、本研究では、CyD と共重合体を組み合わせることで、上記の新規材料の開発に成功した。このように、本研究は新規性が高く、経皮吸収型製剤や埋め込み型製剤への応用ができるものと判断される。加えて、これらの分子マシンは、また微粒子化した CyD 固定化ゲルを、複合粒子内に取り込ませることで、新たな経口投与製剤や静注用製剤となることも期待できる。さらに、それらに刺激応答性などの高次機能を付与することができれば、高度な機能を有する DDS 基剤への発展に繋がると推察される。よって、本論文は、本研究科課程による博士（薬学）論文に十分値するものと判定した。