

令和元年6月11日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08418

研究課題名(和文) 創傷治癒を目的とした熱応答性フィルム剤の開発

研究課題名(英文) Development of Thermosensitive Film for Wound healing

研究代表者

河野 弥生 (Yayoi, Kawano)

東京理科大学・薬学部薬学科・講師

研究者番号：50711660

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：PVCは熱可塑性樹脂であるが、それ自体は比較的硬くて脆いポリマーであるため、可塑剤が加えられる。本研究では、PVCの熱可塑性に焦点を当て、PVC、および薬物を含有するPVCフィルムを調製し、薬物担体としての適用性を評価した。また、本研究ではイルソグラジンマレイン酸の創傷治癒効果を別途検証した。

DSC、FTIR、PVCからのAPIの放出挙動、TOTM含有量とモデル薬物の種類の違いおよび熱条件によって様々な物理化学的性質を示した。これらの結果から、TOTMを含むPVCフィルムは、環境熱条件に応じて薬物放出を制御することができるパッチ型製剤として適用可能であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、我々の周囲に身近に存在するポリ塩化ビニルに着目し、可塑剤としてTOTMを用い、種々のTOTM含有量を有するPVCフィルムを調製し、物性評価した後、実際に医薬品を含有させたPVCフィルムを調製し、フィルムからの薬物放出挙動について検討することで、PVCフィルムの温度応答性薬物担体への応用の可能性について検討した。

これまで、PVCフィルムを薬物担体として使用した事例はない。また、別途検証したイルソグラジンマレイン酸塩の創傷治癒効果から、PVCフィルムは創傷治癒を目的とした熱応答性フィルムへ応用可能であることを明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：PVC is a "thermoplastic resin" having thermoreversibility, and when heated, exhibits fluidity and is easy to be molded. Since PVC itself is a relatively hard and brittle polymer, plasticizers are added to obtain the desired flexibility and durability to meet the needs of the application. In this study, focusing on the thermoplasticity of PVC, PVC and a drug-containing PVC film were prepared to evaluate their applicability as drug carriers. DSC, FTIR, dissolution behavior of API from PVC, PVC film showed various physicochemical properties depending on the difference of TOTM content and type of model drug. The amount of drug, irrogaldine maleate for wound healing, released from the PVC film was different depending on the difference in thermal conditions. From these results, it was considered that the PVC film containing TOTM could be applied as a patch-type preparation capable of controlling the drug release depending on the environmental heat conditions.

研究分野：製剤工学、臨床製剤設計学

キーワード：熱応答性 薬物担体 ポリ塩化ビニル 可塑剤 薬物放出 創傷治癒 ガラス転移温度 イルソグラジンマレイン酸塩

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ポリ塩化ビニル(PVC)は、その構造中に極性の塩素を構成元素としてもつ非晶性高分子であり、56.7%もの塩素を含有するため酸素指数は約 45 と高く、燃焼による放熱量も極めて小さいことから、延焼しにくい性質を有している。また、塩素原子の配置構造のため酸化反応に対する抵抗性も有し、耐久性、耐油性、耐酸性、耐アルカリ性など化学的に安定であることから、着色性、印刷性、接着性にも優れている。更に、PVC は熱を与えると可逆的に流動性を示す熱可塑性樹脂であり、加工面にも優れている。これらの理由に加え、生産コストの利点からも工業製品、衣料品および医療用材料をはじめとする様々な分野で汎用されている。しかし、PVC を薬物担体に応用した事例は報告されていない。

2. 研究の目的

本研究では、まずトリメリット酸トリス-2-エチルヘキシル(TOTM)を可塑剤とする PVC フィルムを調製し、その物性評価を行うことで TOTM 添加量による PVC フィルムの物理化学的特性への影響について検討した。ついで、薬物含有 PVC フィルムを調製し、その物性評価に基づき TOTM およびインドメタシン (IND) の PVC フィルムの物理化学的特性への影響を検討した後、PVC の有する熱可塑性に着目し、PVC フィルムの温度応答性薬物担体への応用の可能性について検討した。

さらに、PVC フィルムを創傷治癒を目的とした製剤に応用するため、内部に含有させる医薬品としてイルソグラジンマレイン酸 (IM) に着目した。IM は創傷治癒効果を持つことが確認されているが、その有効濃度の検証および製剤化に関する報告はないことから、本研究ではまず、IM の有効濃度の検証を行なった。

3. 研究の方法

(1) PVC フィルムの調製および物性評価

可塑剤としてトリメリット酸トリス-2-エチルヘキシル(TOTM)を用いた。種々の比率 (0,10,20,30,40,50,60%)の TOTM および PVC をテトラヒドロフラン(THF)に溶解させた。得られた溶液をガラスシャーレ(直径 2.8 mm)に分注し、50 °C で 12hr 以上乾燥させ、PVC フィルムを調製した。調製したフィルムの物理化学的特性として、レオメータによる物性評価(突き刺し試験および付着試験)、示差走査熱量測定(DSC)による熱物性評価を行った。また、フーリエ変換型赤外分光法(FT-IR)にて TOTM-PVC 間の分子間相互作用の検討を行った。

(2) 薬物含有 PVC フィルムの調製および物性評価

モデル薬物としてインドメタシン(IND)およびケトプロフェン(KET)を用いた。モデル薬物の含量を一定とし、3 種類の TOTM 含有量(20,40,60%)にて薬物含有 PVC フィルムを調製した。

調製したフィルムの物理化学的特性として、レオメータによる物性評価(突き刺し試験および付着試験)、DSC による熱物性評価を行った。また、フィルムの貼付剤としての応用を想定し、フランツ型拡散セルを用いた溶出試験を行い、それぞれのモデル薬物および TOTM のフィルムからの放出について検討した。次に、プログラム温度コントローラーを用いて、フィルム上部に熱刺激を与えた際の薬物放出について検討した。更に、FT-IR を用いて分子間相互作用の検討および昇温に伴う分子状態への影響を検討した。

(3) *In vitro* における細胞実験

・WST アッセイ

ヒト表皮角化細胞株(HaCaT細胞)、ヒト皮膚線維芽細胞(NHDF)にIM含有DMEM培地(10, 1, 0.1 $\mu\text{g/mL}$)を添加し、細胞増殖効果を評価した。

・スクラッチアッセイ

HaCaT細胞を24wellプレートに播種した後、ピペットチップを用いて傷をつけ、IM含有DMEM培地(10, 1, 0.1 $\mu\text{g/mL}$)を添加した。その後、24時間後、48時間後の創傷閉鎖率を測定した。

4. 研究成果

(1) PVCフィルムの物性評価

フィルムの突き刺し試験では、TOTM含量の増加に伴い、変形に伴う初期弾性率と破断荷重値の低下が認められ、柔軟性が增大することが明らかとなった(Fig.1)。また、付着試験ではTOTM含量の増加に伴い、フィルムを人工皮革から剥離する際に要する力、エネルギーおよび剥離に伴うフィルムの伸長変形距離が増大した(Fig.2)。

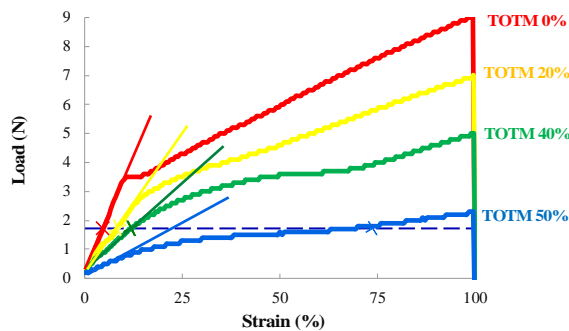


Fig. 1 Load - Strain curves of pricking strength test

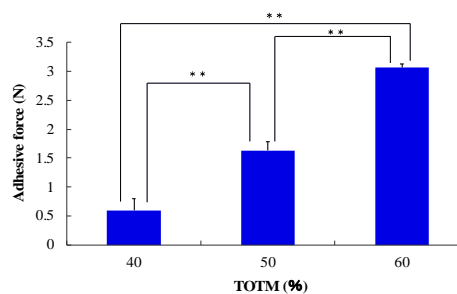


Fig. 2 Adhesive force of PVC films containing various amounts of TOTM
Each value was represented as the mean \pm S.D. (n=3).
Statistical analysis was performed with Turkey's test. (**: $p < 0.01$)

DSCの結果から、TOTM含量の増加に伴い、ガラス転移に伴う吸熱ピークは低温側へとシフトし、ガラス転移点(T_g)の低下が認められた。

FT-IRの結果から、PVC-TOTM間の相互作用にはPVCのC-Cl基およびTOTMのC=O基が関与していることが推察された。

(2) 薬物含有PVCフィルムの物性評価

突き刺し試験では、TOTM含量の増加に伴い、変形に伴う初期弾性率と破断荷重値の低下が認められ、柔軟性が增大することが考えられた。また、TOTM含有率20%および40%のフィルムは薬物を含有させることで、柔軟性が増大した。また、付着試験ではTOTM含量の増加に伴い、フィルムを人工皮革から剥離する際に要する力、エネルギーおよび剥離に伴うフィルムの伸長変形距離が増大した。これらは薬物を含有させることで、非含有のフィルムと比較して増大した。

DSCの結果から、TOTM含量の増大に伴い、ガラス転移に伴う吸熱ピークは低温側へとシフトし、ガラス転移点(T_g)の低下も認められた。また、TOTM含有率20%のフィルムでは薬物を含有させることで T_g の低下が認められたが、TOTM含有率40%および60%のフィルムにおいては熱的挙動に変化は認められなかった(Fig.3)。

フィルムからの薬物の放出は、 T_g 以上すなわちフィルムの状態がゴム状態へと転移した温度以上で認められ、加熱に伴うフィルム内部の構造変化が影響すると考えられた。また、TOTM含量と試験液温度の上昇に伴い、薬物放出量は増大した。この薬物放出量は、モデル薬物の違いにより差異

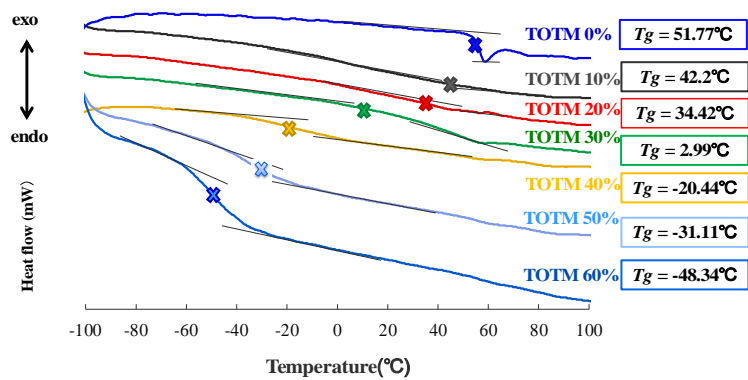


Fig. 3 DSC curves of PVC films containing various amounts of TOTM

が認められ、モデル薬物の試験液への溶解性やフィルム内での拡散性の違いが影響していることが考えられた。また、いずれのモデル薬物を含有させた場合においても、外部からの熱刺激によって薬物放出量は増大した。これは熱刺激によってフィルム内に存在する薬物の拡散が促進されたためと考えられる。一方、いずれの系においても TOTM の溶出は認められなかった。

FT-IR の結果から、PVC フィルム内では PVC-TOTM 間の相互作用に加え、PVC-IND 間および TOTM-IND 間もしくは PVC-KET 間および TOTM-KET 間の相互作用が生じていることが推察された。また、昇温による温度変化は IND、KET および TOTM の分子状態に影響を与えていることが示唆された。

(3) イルソグラジンマレイン酸の創傷治癒効果の検証

WST アッセイ

HaCaT 細胞、NHDF、いずれの細胞においても、IM の濃度の増加に伴い、細胞の生存・増殖率は上昇した。

スクラッチアッセイ

24 時間後、48 時間後の創傷閉鎖率を観察したところ、24 時間後は IM 添加による優れた創傷治療効果は認められなかったが、48 時間後は IM により創傷の閉鎖が促進される傾向が認められた。

細胞実験における IM による創傷治療効果は、IM の持つ細胞内 cAMP 上昇作用や、細胞間コミュニケーションの活性化に起因すると考えられる。

本研究を通して、調製した PVC フィルムは周囲の温度変化に応じて薬物放出を制御できる熱応答性薬物担体へ応用可能であることが示された。また、IM の濃度の違いによる創傷治癒効果の違いから、実際に PVC フィルムへの IM 導入量が設定でき、創傷治癒を目的とした熱応答性フィルムへ応用可能であることを示す重要な知見が得られた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件) 執筆中

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 瀬谷翼、河野弥生、花輪剛久：ポリ塩化ビニルの温度応答性薬物担体への応用、日本薬剤学会第 32 年会 (2017 年 5 月 埼玉)

2. 瀬谷翼、河野弥生、花輪剛久：ポリ塩化ビニルの薬物担体としての応用の検討、
第 62 回日本薬学会関東支部大会（2018 年 9 月 東京）

〔図書〕(計 1 件)

河野 弥生他、丸善、理工系の基礎 薬学、2018、(312 総頁数)299-301

花輪 剛久他、丸善、理工系の基礎 薬学、2018、(312 総頁数)1-9 および 226-249

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: ハイドロゲルの評価方法

発明者: 花輪剛久、河野弥生、儘田大

権利者: 東京理科大学

種類: 用法特許

番号: 2018-098312

出願年: 2018 年

国内外の別: 国内

〔その他〕

<http://www.rs.tus.ac.jp/hanawa-lab/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 花輪 剛久

ローマ字氏名: Takehisa Hanawa

所属研究機関名: 東京理科大学

部局名: 薬学部

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 00302571

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。