

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3604381号
(P3604381)

(45) 発行日 平成16年12月22日(2004.12.22)

(24) 登録日 平成16年10月8日(2004.10.8)

(51) Int. Cl. ⁷	F I
A 6 1 K 49/00	A 6 1 K 49/00 C
A 6 1 K 9/50	A 6 1 K 9/50
A 6 1 K 47/36	A 6 1 K 47/36
B 0 1 J 13/12	B 0 1 J 13/02 J

請求項の数 11 (全 12 頁)

<p>(21) 出願番号 特願平5-503403 (86) (22) 出願日 平成4年8月3日(1992.8.3) (65) 公表番号 特表平6-511423 (43) 公表日 平成6年12月22日(1994.12.22) (86) 国際出願番号 PCT/GB1992/001421 (87) 国際公開番号 W01993/002712 (87) 国際公開日 平成5年2月18日(1993.2.18) 審査請求日 平成11年7月7日(1999.7.7) (31) 優先権主張番号 9116610.8 (32) 優先日 平成3年8月10日(1991.8.10) (33) 優先権主張国 英国(GB)</p>	<p>(73) 特許権者 ウェスト ファーマシューティカル サー ヴィシズ ドラッグ デリバリー アンド クリニカル リサーチ センター リミ テッド イギリス国 NG7 2TN ノッティン ガム ユニヴァーシティ ブールバード ノッティンガム サイエンス アンド テ クノロジー パーク アルバート アイン シュタイン センター (番地なし)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 志賀 正武</p> <p>(74) 代理人 弁理士 渡邊 隆</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>
---	---

(54) 【発明の名称】 微粒子の調製

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

固形マイクロカプセルまたはガス充填マイクロカプセルの調製方法であって、(I)ダブルエマルジョン方法により液体コアを含有する初期のマイクロカプセルを形成する工程；及び(II)前記液体の少なくともいくらかを除去して、前記マイクロカプセルを形成する工程を含み、

ここで、前記ガス充填マイクロカプセルに使用される壁形成材料は、

(a) ヒドロキシエチル澱粉を除く非両親媒性の水溶性澱粉材料；あるいは

(b) (i) 両親媒性材料ではない水溶性PEG-変性材料；及び/または

(ii) PEG-澱粉、PEG-澱粉誘導体、若しくはPEG-アルブミンの共役体を含む水溶性PEG-変性材料

であり、

いずれの場合でも、一度前記マイクロカプセルが形成されると、前記壁形成材料は水不溶性となることが可能である、固形またはガス充填マイクロカプセルの調製方法。

【請求項2】

固形マイクロカプセルの形成におけるマイクロカプセルの壁部は、水溶性澱粉誘導体、またはPEG-変性材料から形成され、これらは次いで水不溶性となる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

澱粉誘導体がアミロデキストリンである、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

PEG - 変性材料が、PEG - アルブミン共役体またはPEG - 澱粉またはPEG - 澱粉誘導体の共役体である、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

コアが水 - 不混和性オイルである、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

オイルが比較的揮発性であり、蒸発により、オイル充填カプセルから除去されるものである、請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】

さらに、マイクロカプセルを、液体媒体から分離し、マイクロカプセルをフリーズドライする工程を含む、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項 8】

壁形成材料が、変性、キレート化、またはグラフト化により不溶性とされる、請求項 1 から 7 のいずれか一項記載の方法によって得ることの可能な固形マイクロカプセル。

【請求項 9】

請求項 1 から 7 のいずれか一項記載の方法によって得ることの可能なガス充填マイクロカプセル。

【請求項 10】

請求項 8 または 9 に記載のマイクロカプセルと、薬剤学的に許容されるキャリアとを含む、体内投与用薬剤組成物。 20

【請求項 11】

請求項 9 記載のガス充填マイクロカプセルを含む、診断画像を形成するための組成物。

【発明の詳細な説明】

本発明は、微粒子およびその調製に関する。より詳細には、鼻腔内および腔内投与用の薬剤キャリア、および、診察補助物、特に心エコー検査法やその他の目的のためのエコー原性材料に関する。

微球体およびマイクロカプセル状の微粒子は、薬剤学文献に記載されている（たとえば、S.S.デーヴィス、L.イルム、J.G.マクヴィおよびE.トムリンソンによる、“マイクロスフェアーズ アンド ドラッグセラピー、ファーマシューティカル インミューノロジカル アンド メディカル アスペクト”、エルセヴィア、アムステルダム、1984年、参照） 30
。このようなシステムは、診察薬剤としての薬剤およびワクチン用キャリアとして、および外科手術工程（塞栓形成）において使用可能である。他の適用としては、化粧品分野に使用可能である。これらの微粒子の粒径は、100ミクロンから2、3ナノメートルの範囲で、適用に応じて種々に変えられるものである。微粒子状薬剤送達システムは、種々のルートで投与可能であり、特に、血流に、筋肉または皮下スペースに、胸膜などの隔室部に、関節に、目、呼吸システム（鼻および肺）、胃腸（口内および直腸投与を含む）に、および尿生殖器（膀胱点滴注入、腔投与）に投与可能である。

EP - A - 324938からは、約1 - 10マイクロメートルの空気充填アルブミンマイクロカプセルが、血流に注入可能であり、診察に有用な画像を得る方法において、超音波に反射するということが知られている。これらのマイクロバブルは、まず、粘性アルブミン溶液を音波粉砕する工程により得られる。得られたマイクロバブルは、熱変性されて、アルブミンを水不溶性とするものである。 40

澱粉は、5から20ミクロンの範囲の大きさの天然微粒子である。この材料は、古くから、薬剤のふ形剤として使用されてきた。これは、低い免疫原性を有し、生分解性である。澱粉は、物理的および化学的に変性可能である。この変性により、澱粉の粒状性を維持することも破壊することも可能であり、また、分子レベルで変性を起こすことも可能である。澱粉およびその誘導体の特性は、詳細に以下の文献に示されている（ワルツブルグ、M.S.による“モディファイド スターチーズ、プロパティーズ アンド ユーシーズ”、CRC プレス、バカ レイトン、1986;およびゲイラード、T.による“スターチ：プロパティーズ アンド ポテンシャル”、クリティカル レポーツ オン アプライド ケミストリ 50

一、13巻、ジョン ワイリー、チャイチェスター、1987、参照）。

モスパッハ、K.およびシュローダー、U.による、"エンザイム Eng."5巻、239 - 41 (1980)は、磁性微球体の調製を開示しており、ここで、磁性材料と懸濁した酸加水分解澱粉を、界面活性剤を含有するトルエンに注ぐことにより、約10ミクロンの平均粒子径を有するビーズが形成されることを、開示している。結晶化炭水化物球体の調製は、シュローダー、U.、スタール、A.およびサルフォード、L.G.による、"ミクロスフェアーズ アンド ドラッグ セラピー、ファーマシューティカル、インミューノロジカル アンド メディカル アスペクツ"、デーヴィス、S.S.ら (エディター)、エリセヴィアー、アムステルダム、1984、p.427;およびシュローダー、U.によるPCT/SE83/00268、1983 (W084/00294)に記載されている。ここで、炭水化物水溶液は、包含されるべき物質と乳化媒体 (コーン、アブラ菜、または綿実油)と混合し、エマルジョンが形成される。このエマルジョンは次いで、ゆっくりと、非イオン性界面活性剤の低い濃度のものを含有するアセトンに添加される。炭水化物球体が次いで沈殿し、収集可能となる。

エクマン、B.M.およびリンダール、A.R.は、2つの不混和性水相を用いて、澱粉球体を製造した (EP - A - 213303)。小さい球粒子は、第2の不混和性水相の連続相において、溶解可能な材料 (たとえば、澱粉、寒天、ゼラチン、ペクチン、コラーゲン、カラゲニン、フィブリン)の分散小滴を固体化することにより、製造可能である。

ダブルエマルジョン方法による、非炭水化物で非生分解可能な材料からのマイクロカプセルの形成は、塗料に使用される有機色素マイクロカプセルの調製が開示されたGB - A - 1288583に、提案されている。しかしながら、使用されたポリマーは、ポリスチレンなどの不溶性ポリマーであり、薬剤用、生物医学用、または化粧品用、または、鼻腔用、または心エコー検査法用注入可能な組成物として、マイクロカプセルを使用することは、示唆されていない。これに対して、本発明の組成物は、少なくともこのような目的で使用される場合には、適合し、生分解可能で、免疫原性ではない。米国特許3919110は、平均粒子径が約2ミクロンの空気含有球形マイクロカプセルを開示している。マイクロカプセルの前駆体は、水中油形乳化方法を用いて調製される。ここで、水中油形乳化方法とは、水相は、水で希釈した際、固形粒子形状の水相から分離することの可能な、部分的に縮合されたホルムアルデヒド縮合生成物の分散物を含有するものである。疎水性澱粉が、好ましい乳化剤として使用された。ここで、このような粒子は、心エコー検査法用の注入可能な組成物として、または鼻腔投与用としてなどの、薬剤用、生物医学用、または化粧品用として使用可能である。

A.コンドウによる、"マイクロカプセル プロセッシング アンド テクノロジー" (マーセル デッカー インコーポレーション、ニューヨーク、1979)は、イン - リキッドドライ プロセス (109ページ)で、コアとして低沸点溶媒を使用した中空カプセル、およびオイルが除去されない、オイル - 含有ゼラチンカプセルを形成することを提案している。米国特許4173488、3781230および4089800は、疎水性樹脂および疎水性澱粉を使用して、水中油形エマルジョンにおいて、オイル液滴をコートし、次いでマイクロカプセルを形成することを開示している。これらの文献はいずれも、心エコー検査法用としてマイクロカプセルを使用することは、開示していない。EP - A - 0327490は、合成ポリマーを使用して、液体媒介におけるガスバブルを包囲し、次いで心エコー検査法用マイクロカプセルを形成することを開示している。これは、本発明の方法とは異なるものである。

我々はここに、水溶性澱粉誘導体またはPEG - 変性材料から中空マイクロカプセルを調製する改善された方法、および、固形マイクロカプセルの調製方法を提供する。

本発明によれば、固形マイクロカプセルまたはガス充填マイクロカプセルの調製方法であって、(I)ダブルエマルジョン方法により液体コアを含有する初期のマイクロカプセルを形成する工程；及び(II)前記液体の少なくともいくらかを除去して、前記マイクロカプセルを形成する工程を含み、ここで、前記ガス充填マイクロカプセルに使用される壁形成材料は、(a)ヒドロキシエチル澱粉を除く非両親媒性の水溶性澱粉材料；あるいは(b)(i)両親媒性材料ではない；及び/または(ii)PEG - 澱粉、PEG - 澱粉誘導体、若しくはPEG - アルブミンの共役体を含む、水溶性PEG - 変性材料のいずれかであり、いずれ

10

20

30

40

50

の場合でも、一度前記マイクロカプセルが形成されると、前記壁形成材料は水不溶性となることが可能である、固形またはガス充填マイクロカプセルの調製方法が提供される。

ここで、“PEG - 変性材料”とは、ポリエチレングリコールに共役することにより変性するいかなる材料でもよく、マイクロカプセルを形成するのに適当であり、このようなPEG - 変性材料と適当な非変性材料との混合物であり、PEG - 変性材料とした場合には、このような混合物も含有されるものである。

本発明の方法におけるコアは、好ましくは水 - 不混和性オイルであり、また好ましくはマイクロカプセルが形成された後、言い換えれば壁部の硬化中または硬化後に蒸発可能な、比較的揮発性なものである。これを、ここでは“比較的揮発性”とする。より特別には、沸点が20 - 100、好ましくは40 - 90、より好ましくは50 - 80の不活性オイル、好ましくはパーフルオロ化合物が、一般には適当である。パーフルオロヘキサン、パーフルオロヘプタン、パーフルオロメチルシクロヘキサン、シクロペンタン、ヘキサン、2 - メチルペンタン、3 - メチルペンタン、2,2 - ジメチルブタン、2,3 - ジメチルブタン、1 - クロロプロパン、2 - クロロ - 2 - メチルプロパン、クロロホルム、ジクロロメタン、1,1 - ジクロロエタンおよびプロモエタンが全て適当である。1以上のコアが、各マイクロカプセルに設けられることも可能である。

中空マイクロカプセルまたは固形マイクロカプセルの製造方法は、一般的には、簡単なコアセルベーション、複雑なコアセルベーション、MSIEP（等電点における溶解度の極小化）およびダブルエマルジョンが知られているが、好ましくは、後者である。界面重合は、タンパク様の材料用には使用不可能であるが、壁形成材料用には使用可能である。

ダブルエマルジョン法は、特に、中空ガス充填マイクロカプセルまたは固形マイクロカプセルの双方の製造のために使用される。固形マイクロカプセルの形成においては、第1エマルジョンに使用されるオイルの量は、中空マイクロカプセルの調製において使用される量よりも少なく、典型的には0.5 - 10mlである。パーフルオロヘキサンなどの少量のオイルは、固形マイクロカプセルにおける、ダイズオイルの含有、第2エマルジョンのオイル相を防止するために、必要である。第2エマルジョンに使用されるダイズオイルまたは類似の野菜オイルが、固形マイクロカプセルのコアに含有されると、水媒体における分散が、困難になり、さらに不十分になり、投与前の再構成用の乾燥形態で、マイクロカプセルを使用することが妨げられるものである。第1エマルジョンに使用される少量のオイルは、初期のマイクロカプセルが完全に固まる前に、蒸発させ、この結果として、最終生成物である固形マイクロカプセルが形成されるものである。

適当に非両親媒性の溶解可能な澱粉誘導体は、中空マイクロカプセル用の壁形成材料として使用可能であり、これは、水には可溶であるが、一旦マイクロカプセルが形成されると、水に不溶となることが可能なものである。アミロデキストリン、アミロペクチン、およびカルボキシメチル澱粉が特に好ましい。ヒトに対する使用の場合は、アミロデキストリンが好ましい。これは、常法にしたがって、ポテトまたはコーンの澱粉を希塩酸で処理することにより、調製可能である。

PEG - 澱粉共役体を製造するための、ポリエチレングリコールで変性された澱粉（またはその誘導体）は、マイクロカプセルが生体内で長い循環時間を有するようにすることのできるPEG基をその表面に有する、中空マイクロカプセルまたは固形マイクロカプセルを製造するのに使用可能である（イルラム アンド デイヴィス、J.Pharm.Sci.72、1983、1086 - 1089;イルラム アンド デイヴィス、FEBS Lett.、167、1984、79 - 82参照）。

PEG - 澱粉（または澱粉誘導体）は、それ自身で、または変性していない澱粉誘導体またはアルブミンと組み合わせて使用可能である。ポリエチレングリコールの炭水化物へのグラフティングは、コレッテらによる、Polym.Med.、III、エルセヴィア、アムステルダム、1988、p61 - 72に開示されている。

種々の文献および特許に記載（たとえば、ハリスによる、Macromol.Chem.Phys.C25、1985、325 - 373;イナダ等による、J.Bioact.Compat.Polym.、5、1990、343 - 364;ピッツによる、Adv Drug Del.Rev.、6、1991、153 - 166;フェルトゲスおよびアブコフスキーによるJ.Cont.Rel.、11.1990.139 - 148;ヌッチらによる、Adv Drug Del.Rev.、6、1991、123

10

20

30

40

50

- 151) されている、ポリエチレングリコール共役変性アルブミンはまた、本発明により調製された中空マイクロカプセルおよび固形マイクロカプセルの製造に使用可能である。アルブミン-PEGは、それ自身で、または変性されていないアルブミンまたは澱粉誘導体と組み合わせて使用可能である。このようなマイクロカプセルは、その表面にPEG基を有しており、その結果として、イルラムにより開示された(イルラム アンド デイヴィス、J.Pharm.Sci.72、1983、1086 - 1089;イルラム アンド デイヴィス、FEBS Lett.、167、1984、79 - 82参照)ように良好な循環時間を示すものである。

本発明に使用されるPEGは好ましくは、200 - 10000の分子量、より好ましくは1000 - 6000の分子量を有する。

PEGをアルブミンまたは澱粉などの材料に共役させる工程、またはPEG化は、従来技術、たとえば米国特許4179337に詳細に記載されている。PEGは従来の方法により、共役のために活性化することが可能であり、たとえば、PEGのN - ヒドロキシコハク酸誘導体が調製されて、使用されてもよい。

アルブミンまたは澱粉(またはその誘導体)の共役量は、1%と90%の間であり、好ましくは、5%と50%の間である。

適当な壁形成材料は、固形マイクロカプセル用としては、少なくとも使用状態において、(i) 水に分散可能な(好ましくは溶解可能な)ものであり、(ii) 一旦マイクロカプセルが形成されると水に不溶となることが可能であり、(iii) 物理学的に無毒性で非免疫原性である。患者に投与する場合には、生分解可能な材料が好ましい。血清アルブミンなどのタンパク状の材料が好ましい。ここで使用する"タンパク状"とは、タンパク質、天然または合成ポリペプチド、および、タンパク質およびポリペプチドのフラグメントを意味する。他の材料としては、ゼラチン、澱粉およびデキストリンが挙げられる。溶解可能な澱粉誘導体が好ましく、アミロデキストリン、アミロペクチン、カルボキシメチル澱粉およびヒドロキシエチル澱粉が特に好ましい。アルブミンなどの材料の特性は、オモトシヨらにより開示(1986 J.Pharm.Pharmacol.38、865 - 870)されているように、界面複合などの、非イオン性界面活性剤の存在により、変性可能である。これらの材料は、マイクロカプセルが形成された後、不溶性とするために、化学的にまた熱的に変性されるものである。

これらの材料は、化学交差結合させたり、変性(たとえば熱により)させたり、キレートさせたりまたはグラフトさせることにより、水に不溶性とすることが可能である。

本発明の中空マイクロカプセルは、ガスまたは蒸気が充填されており、これは空気であっても他の真ガスであってもよいが、しばしば、揮発油からの蒸気と空気の混合物である。本明細書においては、"空気充填"および"ガス充填"とは何れも、空気、他のガス、蒸気、またはそれらの混合物をカバーするために使用される言葉である。マイクロカプセルの空気の中身は、0.5ml - 100mlの範囲で、第1エマルジョンにおけるオイル相の相容量を変えることにより、変換可能である。さらに、第1エマルジョンにおけるオイル相の相容量は、形成されたマイクロカプセルの比率を増すために、減らすことも可能である。

形成された中空マイクロカプセルおよび固形マイクロカプセルは、直径、0.1から500マイクロメートルである。鼻腔内および腔内投与用としては、1から100マイクロメートルの直径が好ましい。心エコー検査法に使用される中空マイクロカプセルとしては、1.0から10マイクロメートルの直径が好ましく、2.0から8マイクロメートルの直径が特に好ましい。このような粒径は、適当に工程のパラメータを選択することにより、および/または、ふるいにかけるなどの分離により、得られたマイクロカプセルから所望の粒径にすることにより得られる。粒径は範囲をもって得られるが、本発明における数字は、重量に関して約90%のものがその数字内のものである。粒径の範囲は、顕微鏡を用いるか、または、公知の粒径測定装置、たとえばコールターカウンターおよびレーザーディフラクトメータにより測定可能である。

複数の中空部を有するマイクロカプセルを得ることが可能であり、複数の中空部を有するマイクロカプセルの場合には蜂の巣に似ており、1つの中空部の場合には、貝に似ている。

10

20

30

40

50

最終生成物は、典型的には、洗浄、殺菌および使用可能な懸濁液の形状でえられるものである。少なくともある場合には、マイクロカプセルは、潰されることなく、フリーズドライされて、後の使用のために、自由に流動する粉体として保存することが可能である。中空マイクロカプセルおよび固形マイクロカプセルの双方を含有する混合システムは、必要に応じて浮遊または遠心分離を使用して、分離することも可能である。

空気充填マイクロカプセルは、心エコー検査法および他の超音波画像法に、従来の公知の方法により、（懸濁液よりもむしろ粉状に調製された場合）薬剤を鼻腔、肺送達システムで、使用可能であり、また、化粧品の場合には、乳白剤としてまたは反射増加剤として使用可能である。

空気充填マイクロカプセルおよびそれらの使用、特に、診察工程におけるエコー原性材料は、本発明の範囲内である。 10

固形マイクロカプセルは、鼻腔内、口内、肺および膈への薬剤送達システムとして、使用可能である。これらは特に、鼻腔への薬剤送達システムとして使用され、以下のような薬剤の送達に使用されるものである：

ポリペプチド類またはそれらの誘導體（好ましくは1000から300,000の分子量）

インスリン（ヘキサメリック/ダイメリック/モノメリック形態）

グルカゴン

ソマトスタチン

成長ホルモン

カルシトニン類およびその合成変性体 20

エンケファリン類

インターフェロン類（特に一般的なかぜの治療用 - 2 インターフェロン）

LHRHおよびその類似体（ナファレリン、プセレリン、ゴセレリン）

GHRH（成長ホルモン遊離ホルモン）

セクレチン

CCK（コレシテキニン）

ブラジキン拮抗剤

GRF（成長遊離ファクター）

THF

TRH（チロトロピン遊離ホルモン） 30

ACTH類似体

CSFs（コロニー刺激ファクター）

EPO（エリスロポエチン）

IGF（インスリン類似成長ホルモン）

CGRP（カルシトニン遺伝子関連ペプチド）

心房ナトリウム排泄増加性ペプチド

ヴァソプレッシンおよびその類似体（DDAVP、リブセッシン）

他の薬剤としては、以下のものが挙げられる：

抗生物質類

メトクロプラミド 40

片頭痛治療剤（ジヒドロエルゴタミン、エルゴメトリン、エルゴタミン、ピゾチジン）

ワクチン（特にAIDSワクチン）

ファクターVIII

低分子量ヘパリン類

テトラサイクリン塩酸塩、ロイコマイシン、ペニシリン、ペニシリン誘導體およびエリスロマイシンなどの抗生物質および抗微生物剤、サルファチアゾールおよびニトロフラゾールなどの化学治療薬；ベンゾカインなどの局部麻酔薬；フェニルプリン塩酸塩、テトラヒドロゾリン塩酸塩、ナファゾリン硝酸塩、オキシメタゾリン塩酸塩、およびトラマゾリン塩酸塩などの血管収縮剤；ジギタリスおよびジゴキシンなどの強心剤；ニトログリセリンおよびババベリン塩酸塩などの血管拡張剤；クロロヘキシジン塩酸塩、ヘキシルレソルシ 50

ノール、塩化デクアリニウム、エタクリジンなどの防腐薬；塩化リゾジウム、デキストラナーゼなどの酵素；ビタミンD₃および活性ビタミンD₃などの骨代謝制御剤；性ホルモン；低血圧症剤；鎮静剤；および抗腫瘍剤。

ヒドロコチゾン、プレドニゾン、フルチカゾン、プレドニソロン、トリアミチノロン、トリアミチノロン アセトニド、デキサメタゾン、ベータメタゾン、ベクロメタゾン、およびベクロメタゾン ジプロピオネートなどのステロイド系抗炎症剤；アセタミノフェン、アスピリン、アミノピリン、フェニルブタゾン、メフェンアミン酸、イブプロフェン、ジクロフェナン酸ナトリウム塩、インドメタシン、コルチシン、プロベノシドなどの非ステロイド系抗炎症剤；チモトリスピン、プロメライン セラチオペプチダーゼなどの酵素系抗炎症剤；ジフェニルヒドラミン塩酸塩、クロロフェニルアミン マレイン酸塩、クレマスチンなどの抗ヒスタミン剤；クロモグリック酸ナトリウム、燐酸コデイン、イソプロテレオール塩酸塩などの抗アレルギー剤。

鼻腔送達用には、マイクロカプセルが、リソホスファチドなどの増強剤とともに使用可能である。リソホスファチド類は、ホスファチド類の加水分解により製造可能である。このような材料は、界面活性があり、ミセル構造を有する。リソレシチンおよび他のリソホスファチド類は、薬剤送達用吸収増強剤として使用可能であり、これにより、活性薬剤の生物学的利用能が増加する。リソホスファチジコリンは、膜透過性を変化させ、たとえば、インスリン、ヒト成長ホルモンおよび他の生化学技術とDNA組み替え法の生成物を含む、タンパク質とペプチドの取り込みを良好にするものである。投与後、リソホスファチドは、ムコサの内皮の内層細胞により、通常の細胞成分であるそのままのホスファチドに、変換される（デュ ヴィリー等（11）参照。リソレシチン事態がまた非常に少ない量で細胞膜に存在する（12）。）。この迅速で効果的なリソホスファチドの完全なホスファチド構造への変換は、刺激性および毒性の点から、逆反応および副作用により少なくすることにつながる。生物学的利用能を増加させるより好ましい材料は、卵またはダイズレシチンから製造されるリソホスファチジルコリンである。他の異なったアシル基および類似の膜変性特性を有するホスファチド酸およびホスファチジルエタノールアミン類から製造されたリソ化合物が使用可能である。アシル カルニチン類（たとえばパルミトイル-DL カニチン-クロリド）も替わりに使用可能である。

適当な他の薬剤としては、キレート剤（EGTA、EDTA、アルギン酸塩）、界面活性剤（特に非-イオン材料）、アシル グリセロール類、脂肪酸およびその塩、チロキサポールおよびシグマのカタログ、1988年、316-321ページに記載の生物学的洗浄剤が挙げられる。膜流動性および透過性を変性する薬剤も適当であり、たとえば、エナミン類（たとえばエチルラセトアセテートのフェニルアラニン エナミン）、マロネート類（たとえば、ジエチレンオキシメチレン マロネート）、サリシレート類、胆汁塩およびその類似体およびフシデート類などが挙げられる。適当な濃度は、10%までである。

添加された薬剤学的な添加剤を用いて、生物学的接着マイクロカプセル内にまたは生物学的接着マイクロカプセル上に結合された薬剤の送達に関する同様のコンセプトが、活性薬剤、および、粘液溶解剤、ペプチターゼ阻害剤または無関係性ポリペプチド物質を、単独でまたは組み合わせて含むシステムに適用されてもよい。適当な粘液溶解剤は、N-アセチルシステインおよびその誘導体などの化合物を含むチオールでもよい。ペプチド阻害剤としては、アクチノニン、アマスタチン、アンチペイン、ベスタチン、クロロアセチル-HOLeu-Ala-Gly-NH₂、ジプロチンAおよびB、エベラクトンAおよびB、E-64、ロイペプチン、ペプスタチンA、フィスホラミオン、H-Thr-(tBu)-Phe-Pro-OHが挙げられる。アプロチニン、カリクレイン、Inh.1、チモステーション、ベンズアミジン、チモトリプシン Inh.11、トリプシン Inh.111-0が挙げられる。適当な濃度は、0.01から5%である。

この方法で使用された場合、マイクロカプセルは、好ましくは10と100ミクロンの粒径である。

マイクロカプセルは、鼻腔注入器を用いることなどの、常法により、鼻腔ルートを経由して投与可能である。これらの実施例はすでに、鼻腔投与用の市販された粉末システムとし

10

20

30

40

50

て、使用されている（たとえば、フィソンス ロムダル システム）。他の装置の詳細は、薬剤学的文献（たとえば、ベル、A.による、イントラナサル デリヴァリー ディヴァイシーズ、イン ドラッグ デリヴァリー デヴァイシーズ ファンダメンタルズ アン ド アプリケーションズ、タイトル P.、デッカー、ニューヨーク、1988参照）に開示されている。

特別には、マイクロカプセルは、我々の系統中の出願PCT/GB88/00396に開示されているような送達システムにおいて使用可能である。マイクロカプセルはまた、増強剤を使用することなく、特に我々の系統中の出願PCT/GB88/00836に開示されているような送達システムにおいても使用可能である。増強剤を使用することなく、マイクロカプセルを使用することは、特に、6000の最大分子量を有する送達システム用ペプチド薬剤の生物学的利用能を得るのに適当である。マイクロカプセルは上記したように鼻腔ルートによる送達が可能である。

10

本発明の実施例を、以下、図面と共に説明を加える。

図1は、攪拌パドルの斜め上から見た図であり；

図2は、図1の攪拌パドルの底部平面図である。

実施例1

中空の空気充填マイクロカプセルが以下の方法によってアミロデキストリンから調製された。

第1エマルジョン形成

10%ゲルが、10gのアミロデキストリン（溶解可能なポテト澱粉）（シグマ ケミカル カンパニー）を100mlの冷却された蒸留水に分散させることにより調製された。この分散液を次いで透明になるまで加熱した。これは、約90 °Cでおこった。このゲルを、磁性攪拌機で攪拌しながら冷却した。30mlのパーフルオロヘキサン（95%アルドリッチ ケミカル カンパニー、ギリンガム、ドルセット）が、前記冷却されたゲルに添加され、7000rpmで4分間均一化された。

20

第2エマルジョン形成

15mlの第1エマルジョンを、500mlのダイズ油（J.セインスパーリー plc）に添加し、6000rpmで3分間均一化した。

マイクロカプセルの調製

第2エマルジョンが、油浴（80 °C）に移され、6 - ブレードのパドル攪拌機（図1）を用いて、1500rpmで攪拌しながら、加熱が続けられた。エマルジョンは、2 °C/分の早さで最大バルクエマルジョンの温度が100 °Cになるまで、迅速に加熱され、その後、冷却された。マイクロカプセルは次いで、1500rpmで攪拌されつづけながら、200mlのアセトンを加えることにより、脱水された。

30

マイクロカプセルの採取

マイクロカプセル/アセトン分散物が、4000rpmで10分間、遠心分離された。得られたペレットが収集され、アセトン（アナラー、フィソンス、ローボー）に再懸濁された。アセトン懸濁液は次いで、1マイクロメートルのガラスマイクロファオバーフィルターで濾過され、得られたマイクロカプセルは、フィルターサークル上に、乾燥層として収集された。このマイクロカプセル層は、空気乾燥し、室温でデシケーターに保存した。マイクロカプセルは必要に応じてフリーズドライされてもよい。

40

得られた粒子は、顕微鏡によれば、5 - 20マイクロメートルの粒径であった。

実施例2（参考例）

水中油形タイプのエマルジョンの形成に基づいた方法が用いられた。水相はアミノデキストリン - ゲルからなり、非水性またはオイル相は揮発性油の1つである。10%アミロデキストリン - ゲルは、ポテトアミロデキストリンまたはアミロデキストリン（リントナー法により調製された）を水中に分散し、懸濁液を、ゲルが透明になるまで、80 °Cに加熱した。揮発性油が、エマルジョンの形成に使用可能である。これには、ジクロロメタン（沸点、39 - 40 °C）、パーフルオロヘキサン（沸点、58 - 60 °C）、パーフルオロメチルシクロヘキサン（沸点、76 °C）、パーフルオロジメチルシクロヘキサン（沸点、101 - 102 °C）が挙

50

げられる。オイル相容量は、エマルジョンの5 - 20% (v/v) の範囲である。界面活性剤、スパン80が、安定剤として、エマルジョンに添加された。容量の残りは、アミノデキストリンゲルからなる。このエマルジョンは、室温で、2 - 5分間、5000 - 8000rpmで、シルヴァーソン ベンチ トップ ホモジナイザーを用いて、均一化された。このエマルジョンは、攪拌 (1500rpm) しながら最高温度、120 °C まで加熱することにより、固体化した。イソプロパノール、エタノールまたはアセトンなどの脱水剤または20% w/v硫酸ナトリウム (全容量の30 - 50%) が、遠心分離されて濾過されたマイクロカプセルに添加された。このマイクロカプセルは、室温でデシケータに保存され、粒径は、顕微鏡およびレーザーディフラクトメトリーにより決められた。

アルブミン (ヒト血清、ウシ血清または卵アルブミン) またはその付加物、たとえば、HS A - PEG (ポリエチレングリコール)、HSA - PAA (ポリアミドアミド) - PEGなどもまた、アミノデキストリンゲルに添加可能である。アルブミンまたはその付加物の10% w/v水溶液が調製され、これが、アミノデキストリンゲルに添加されて、ゲル容量の5 - 10% が調製された。この調製は次いで、上記のように続けられた。

実施例3から6は、ダブルエマルジョン方法を用いた、中空または空気充填のアミノデキストリンマイクロカプセルの製造を開示する。

第1エマルジョンは、水中油形タイプのエマルジョンであり、ここで、オイル相は、パーフルオロヘキサン (沸点、58 - 60 °C) などの揮発性オイルであり、水性または連続相は、アルブミンと組み合わせたアミノデキストリンゲルであり、またはアルブミン付加物、HS A - PEG (ポリエチレングリコール)、HSA - PAA (ポリアミドアミド) - PEG、ブルロニック F - 68もまた、添加可能である。ジクロロメタン (沸点39 - 40 °C)、パーフルオロメチルシクロヘキサン (沸点、76 °C)、パーフルオロジメチルジクロヘキサン (沸点、101 - 102 °C) もまた使用可能である。

実施例3

1 - 3% アルブミン、10ml が、冷却された10% アミノデキストリンゲル、60ml に添加された。20 - 40ml の揮発性油 (パーフルオロヘキサン) が、アミノデキストリン混合物に添加され、6000 - 8000rpm で、3分間、均一化された。15ml のエマルジョンが、泡止め剤、ポリ (メチルフェニルシロキサン)、5ml を含有する500ml のダイズ油B.P. に添加された。第2エマルジョンが6000 - 8000rpm で3分間、均一化され、1500rpm で、最高温度、120 °C まで攪拌しながら、油浴で加熱することにより体化した。この混合物が冷却され、200ml のアセトンを、アミノデキストリンマイクロカプセルを脱水するために、添加した。このマイクロカプセルは、遠心分離および濾過により、採取された。

実施例4

1 - 3% HSA - PAA - PEG、10ml が、60ml の冷却された10% アミノデキストリンゲルに添加された。20 - 40ml の揮発性油 (パーフルオロヘキサン、沸点58 - 60 °C) が、アミノデキストリン混合物に添加され、6000 - 8000rpm で3分間、均一化された。15ml のエマルジョンが、泡止め剤、ポリ (メチルフェニルシロキサン)、5ml を含有する500ml のダイズ油B.P. に添加された。第2エマルジョンが6000 - 8000rpm で3分間、均一化され、1500rpm で、120 °C の最高温度まで攪拌しながら、油浴で加熱することにより固体化した。この混合物が冷却され、200ml のアセトンを、アミノデキストリンマイクロカプセルを脱水するために、添加した。このマイクロカプセルは、遠心分離および濾過により、採取された。

実施例5

1 - 3% HSA - PEG、10ml が、60ml の冷却された10% アミノデキストリンゲルに添加された。20 - 30ml の揮発性油 (パーフルオロヘキサン) が、アミノデキストリン混合物に添加され、6000 - 8000rpm で3分間、均一化された。15ml のエマルジョンが、泡止め剤、ポリ (メチルフェニルシロキサン)、5ml を含有する500ml のダイズ油B.P. に添加された。第2エマルジョンが6000 - 8000rpm で3分間、均一化され、1500rpm で、120 °C の最高温度まで攪拌しながら、油浴で加熱することにより固体化した。この混合物が冷却され、200ml のアセトンを、アミノデキストリンマイクロカプセルを脱水するために、添加した。このマイクロカプセルは、遠心分離および濾過により、採取された。

10

20

30

40

50

実施例 6

1 - 3 % ブルロニック F - 68、10ml が、60ml の冷却された 10% アミロデキストリンゲルに添加された。20 - 40ml の揮発性油（パーフルオロデカリン）が、アミロデキストリン混合物に添加され、6000 - 8000rpm で 3 分間、均一化された。15ml のエマルジョンが、抱止め剤、ポリ（メチルフェニルシクロヘキサン）、5ml を含有する 500ml のダイズ油 B.P. に添加された。第 2 エマルジョンが 6000 - 8000rpm で 3 分間、均一化され、1500rpm で、120 の最高温度までで攪拌しながら、油浴で加熱することにより固体化した。この混合物が冷却され、200ml のアセトンを、アミロデキストリン マイクロカプセル を脱水するために、添加した。この マイクロカプセル は、遠心分離および濾過により、採取された。

実施例 7 および 8 は、アルブミン付加物を含有する中空アルブミン マイクロカプセル の調製を開示する。

10

実施例 7

10% アルブミン（HSA）水溶液、60ml が調製され、パーフルオロヘキサンなどの揮発性油、40ml に添加された。この混合物は、ベンチ トップ シルヴァーソン ホモジナイザーを用いて、6000 - 8000rpm で 3 分間、均一化された。5ml のポリ（メチルフェニルシロキサン）が、500ml のダイズ油 B.P. に添加され、完全に攪拌された。15ml のアルブミンエマルジョンがダイズ油に添加され、6000 - 8000rpm で 3 分間、均一化された。パドル攪拌機を用いて、15分間、115 の最高温度までで攪拌しながら、油浴で加熱することにより固体化した。冷却後、石油エーテルを前記混合物に添加し、この マイクロカプセル は、遠心分離および濾過により、採取された。

20

実施例 8

全蛋白質の 5 - 10% が HSA - PEG（ポリエチレングリコール）または HSA - PAA（ポリアミドアミド） - PEG である、10% アルブミン（HSA）水溶液が調製された。このアルブミン溶液、60ml が、パーフルオロヘキサン（沸点 58 - 60）などの揮発性油、40ml に添加され、ベンチ トップ シルヴァーソン ホモジナイザーを用いて、6000 - 8000rpm で 3 分間、均一化された。5ml のポリ（メチルフェニルシロキサン）が、500ml のダイズ油 B.P. に添加され、完全に攪拌された。15ml のアルブミンエマルジョンがダイズ油に添加され、6000rpm で 3 分間、均一化された。このエマルジョンは、パドル攪拌機を用いて、15分間、115 の最高温度まで攪拌しながら、油浴で加熱された。冷却後、石油エーテルを前記混合物に添加し、この マイクロカプセル は、遠心分離および濾過により、採取された。

30

ジクロロメタン（沸点、39 - 40）、パーフルオロメチルシクロヘキサン（沸点、76）、パーフルオロジメチルシクロヘキサン（沸点、101 - 102）などの他の揮発性油も使用可能である。

実施例 9

固形 マイクロカプセル が以下の方法によってアミロデキストリンから調製された。

第 1 エマルジョン形成

10% 澱粉ゲルが、10g のアミロデキストリンポテト澱粉（シグマ ケミカル カンパニー）を 100ml の冷却された蒸留水に分散させることにより調製された。この分散液を次いで透明になるまで加熱した。これは、約 90 で起こった。このゲルを、磁性攪拌機で攪拌しながら冷却した。10ml のパーフルオロヘキサン（95% アルドリッチ ケミカル カンパニー、ギリンガム、ドルセット）が、前記冷却されたゲルに添加され、7000rpm で 4 分間均一化されるか、またはマイクロフリューダイザに通過させた。

40

第 2 エマルジョン形成

15ml の第 1 エマルジョンを、500ml のダイズ油（J. セインスパーリー plc）に添加し、6000rpm で 3 分間均一化した。

マイクロカプセル の調製および採取は、実施例 1 に開示されているように行なわれた。

実施例 10

固形ヒト血清アルブミン マイクロカプセル が、ダブルエマルジョン方法を用いて調製された。マイクロカプセル は固体であり、平均粒径は、製造条件によって、1 マイクロメートルと 30 マイクロメートルの間である。

50

第1 エマルジョン形成

10mlのパーフルオロヘキサン

20mlの10%ヒト血清アルブミン（アルブテイン25%：アルファセラピックス）。アルブミン溶液およびパーフルオロヘキサンが混合され、マイクロフルイダイザ（1400psiで3サイクル）に通過させた。氷のパックされた冷却コイルが、エマルジョンの温度が40℃以上にならないようにするために固定された。

第2 エマルジョン形成

15mlの第1エマルジョンを、500mlのダイズ油に添加し、6800rpmで3分間均一化した。

マイクロカプセルの調製および採取

第2エマルジョンが油浴に移され、温度が非常にゆっくりと（1℃/分）上げられた。エマルジョンが、6-ブレード攪拌機で、1500rpmで攪拌された。攪拌ブレードは、そのヘッドがエマルジョンの表面より4cm下のところにあるように設定された。エマルジョンの温度は、ここで120℃まで上げられ、約20分間均衡化された。

マイクロカプセルの採取

エマルジョンは冷却され、200mlの石油エーテルが添加された。この混合物は次いで4500rpmで20分間、遠心分離され、ペレットが収集された。このペレットはエーテルに再懸濁され、1マイクロメートルのフルオロポールフィルタに通過させた。フィルター層がエタノールおよびアセトン、それぞれで洗浄された。この懸濁液は次いでさらに濾過され、濾過層は、デシケーター内で、室温で空気乾燥された。マイクロカプセルは、必要に応じてフリーズドライされてもされなくてもよい。

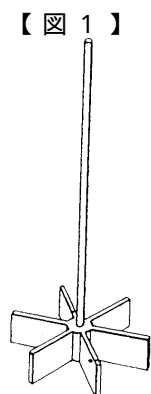


Fig.1

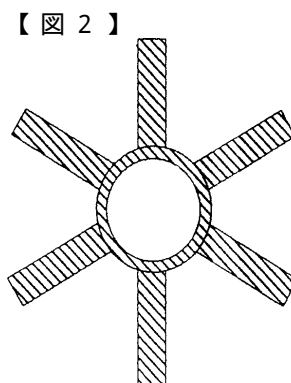


Figure 2

10

20

フロントページの続き

(74)代理人

弁理士 成瀬 重雄

(72)発明者 イラム, リスベス

イギリス国 NG7 1BA ノッティンガム ザ パーク ケーヴンデッシュ クレセント ノ
ース 19

(72)発明者 ジョンソン, オルファンミロヨ リリー

イギリス国 NG3 4GF ノッティンガム マッパーリー エルム アヴェニュー 28ビー

審査官 小川 慶子

(56)参考文献 国際公開第91/12823(WO, A1)

特開昭50-35072(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

A61K 49/00, 9/50

B01J 13/02 - 13/12