





#### 令和2年9月28日

## 医薬・食品分野で利用できる マイクロ/ナノ微粒子の製造法

#### 福岡大学 産学官連携研究機関複合材料研究所 所長 福岡大学 工学部 化学システム工学科

### 教授 三島 健司

E-mail; mishima@fukuoka-u.ac.jp

ナノ粒子複合材料

医療用ナノカプセル

ナノ複合材料

セルロースナノファイバー 高濃度ナノバブル 200.em

1. 超臨界二酸化炭素によるマイクロナノコーティング



## 医療用ナノカプセルについて

#### あらゆる方法で生体への投与が可能





## 超音波照射の違い



## 超音波直接照射の他の効果による実証データ



CO<sub>2</sub>-水-リン脂質系において生成したリポソーム個数濃度を、超音波照射方法の違い により比較した。その結果、直接照射が最も大きく、未照射に比べて<u>約6.4倍</u>、間接照 射に比べて<u>約3.0倍</u>の有意差が生じた。

## 光線免疫療法の作用機序



#### IR700について

## 光増感剤として注目されているIR700 光増感剤



IR700は、波長 700nmの近赤外線 を受けると吸収し 化学変化を起し、 <mark>光エネルギーを吸</mark> 収して発熱すること でがんにダメージ を与える。



## SFEE法によるナノカプセル調製





銅フタロシアニン





## 銅フタロシアニンの粒径測定、TEM写真



銅フタロシアニンのみの 粒径分布27.7 nm





## SFEE法により得られた物質の粒径分布とTEM



平均粒子径 335nm





## 得られた物質のEDXによるマッピングデータ



銅フタロシアニンに含まれるBrのピークが出ていてかつ 炭素のピークが全体に出ているためコーティングできて いることがわかる

## 塩素系化学修飾による光増感機能の強化



## 塩素化亜鉛フタロシアニンの反応式



亜鉛フタロシアニン ジクロロイソシアヌル酸 塩素化亜鉛フタロシアニン

塩素化亜鉛フタロシアニンの合成



イオン交換水

塩素化亜鉛フタロシアニン が析出する。

EDXによる塩素化亜鉛フタロシアニン分析結果

亜鉛フタロシアニンの塩素付加

透過型電子顕微鏡(TEM) による エネルギー分散型 X 線分光分析(EDX)法を 用いた測定結果



塩素化亜鉛フタロシアニン



EDXによるマッピングデータ



#### 亜鉛フタロシアニンの塩素付加

#### UV測定器で測定した結果





(a)亜鉛フタロシアニン(エタノー ル分散) (b)ハロゲン化亜鉛フタロシアニ ン(エタノール分散)

亜鉛フタロシアニン、ハロゲン化 亜鉛フタロシアニンUVスペクトル の比較



#### 蚊の脅威について

世界で最も人間を殺している動物は、蚊である。 早急に対処すべき重大な問題だ(ビル・ゲイツ)



#### 世界の実情

蚊が媒介する病気により年間 100万人が亡くなっている

蚊が媒介する主な感染症 • マラリア • デング熱 • 黄熱病

世界人口の約半分である32憶人が マラリア感染の危機にある

蚊を効率的に死滅させるものが必要





#### 幼若ホルモン類似体の作用機序

※JHA : Juvenile Hormone Analogs(幼若ホルモン類似体)





従来のコーティング法

・粒子径100µm以上の比較的大きい粒子 ,スプレードライコーテイング等

・粒子径100µm以下の微粒子
 <u>有害な有機溶媒や界面活性剤</u>を使用する
 液中乾燥(W/O/W)法



#### 超臨界二酸化炭素中でのコーティング法(本実験)





ピリプロキシフェン



C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub> Mw=321.5 g/mol 溶解度=0.367 mg/L 融点=47.4℃

- ・急性毒性が低く、人体へのリスクが少ない<sup>[3]</sup>
- ・飲料水として使用するための農薬としてWHOが
   認めている唯一の農薬
   ・さまざまな昆虫に対して有効である農薬









#### SEM画像及び粒径分布





コーティング後の試料



## 実験結果



ピリプロキシフェン内包マイクロカプセルの波長に ピリプロキシフェン特有の波長があることから薬剤内包が確認された



タンパク質固化によるマイクロコーティング

従来のコーティング法

・物理的手法
 スプレードライコーテイング等
 <u>製造条件</u>(温度、圧力、pHなど)
 に伴う、機能性の低下

物理化学的手法
 コアセルベーション法
 <u>有害な有機溶媒</u>を使用する

・化学的手法
 界面重合法
 有害な界面活性剤を使用する



・製造条件に伴う機能性の低下
・有害な有機溶媒の使用
・界面活性剤の使用

タンパク質固化によるマイクロコーティング



タンパク質固化によるマイクロコーティング

実験結果

#### (a)芯物質のみを 水中に添加した様子



#### (b)本手法を用いて製造した カプセルを水中に添加した様子



(芯物質:ブロモ化銅フタロシアニン、被覆材:PLA0005+グリシン)

タンパク質固化によるマイクロコーティング

#### ブロモ化銅フタロシアニン原末

# (a)レーザー顕微鏡像 100 µm

#### (b)粒度分布



タンパク質固化によるマイクロコーティング

#### コーティング後の粒子



(芯物質:ブロモ化銅フタロシアニン、被覆材:PLA0005+グリシン)



従来のコーティング法

・粒子径100µm以上の比較的大きい粒子 ,スプレードライコーテイング等

・粒子径100µm以下の微粒子
 <u>有害な有機溶媒や界面活性剤</u>を使用する
 液中乾燥(W/O/W)法



#### 超臨界二酸化炭素中でのコーティング法(本実験)



#### セルロースナノファイバー(CNF)の利点





#### <u>従来技術とその問題点</u>



薬剤などに広く用いられていたゼラチン、ヒドロキシプロピルメ チルセルロース、プルランなどは、直径数ミリ程度のカプセル を製造することはできたが、直径数マイクロメートル程度の微 細なカプセルや複合材を作ることは、困難であった。

発明等の特徴

本発明では、超臨界二酸化炭素を機能性溶媒として用い、微 細構造を形成しやするセルロースナノファイバーをコーティン グ剤として用いることで、直径数マイクロメートル程度の微細 なカプセルならびに複合材を作ることに成功した。

発明等の効果

セルロースナノファイバーをコーティング剤として用いて、直径 数マイクロメートル程度の微細なカプセルや複合材を作ること で、従来困難とされていたセルロースをコーティン材とした機 能性薬剤・機能性食品・再生医療などへの利用が可能な高機 能性微小粒子の形成が可能となった。

マイクロコーティング










On the order of  $10 \mu m$ 







On the order of  $10 \mu m$ 

マイクロコーティング





セルロースナノファイバーの調整



#### 3. 実験方法

## 3.1 CNFの高分散化



1 pH meter 2 Stirrer

- ビーカー内に
- ▪CNF液標準品:50 mL
- •TEMPO:0.008 g
- ・臭化ナトリウム:0.05g
- ・次亜塩素酸ナトリウム

:1.3 mmol/g(-cellulose) をそれぞれ仕込んだ。

室温にしつつマグネチックスターラー で24時間撹拌した。

撹拌しているときはpHを10に保つ ように0.1 M水酸化ナトリウムを 入れた。

#### 実験方法

3.1 CNFの高分散化・みかけの粘度平均分子量算出



1 Thermometer

5

- 2 Viscometer
- 3 Stirring blade
- 4 Heater
- 5 Thermostatic bath

乾燥させたCNFを所定量採り、 エチレンジアミン銅(Ⅱ)溶液に 溶解させた。

図のように粘度計内に仕込んだ。

粘度計の毛細管側から溶液を 吸い上げ、上の標線から下の 標線まで溶液が流下する時間を 測定した。

測定は溶液毎に3回ずつ行った。



·流下時間測定結果

質量[g]		ß	<b>条下時間</b>	t[s]		濃月	を[g/mL]
0.0053	13.51	13.48	13.52	av:	13.50333	C1:	0.000353
0.0106	15.07	15.09	15.07	av:	15.07667	C2:	0.000707
0.0157	16.61	16.6	16.6	av:	16.60333	C3:	0.001047
			TEMPO处	□理Cl	NF 🗸 流 <sup>-</sup>	下時間	の減少
質量[g]		隘	「下時間t	[s]		濃良	C'[g/mL]
0.0056	12.6	12.6	12.54	av:	12.58	C'1:	0.000373
0.0156	12.76	12.78	12.76	av:	12.76667	C'2:	0.00104
0.0357	13.14	13.13	13.16	av:	13.14333	C'3:	0.00238

CNF標準品

#### エチレンジアミン銅(Ⅱ)溶液のみ

降下時間t0[s]						
12.5	12.45	12.48	av:	12.47667		



#### ・みかけの粘度平均分子量Mv算出(CNF標準品)

濃度C [g/mL]		相対粘度ηr (=t/t0)	比粘度ηsp (=ηr-1)		還元粘度ηsp/C [mL/g]	
<b>C1:</b>	0.000353	1.082287	0.08	2287	232.88755	
C2:	0.000707	1.208389	0.20	8389	294.89008	
<b>C3:</b>	0.001047	1.330751	0.33	0751	316.00389	



固有粘度[η] = 196.82 mL/g



#### ・みかけの粘度平均分子量Mv'算出(TEMPO処理CNF)

濃度C' [g/mL]		相対粘度ηr' (=t'/t0)		比粘度ηsp' (=nr'-1)		還元粘度ηsp'/C' [mL/g]	
C'1:	0.000373	1.008282		0.008282		22.184268	
C'2:	0.00104	1.023243		0.023243		22.349411	
C'3:	0.00238	1.053433		0.053433		22.450872	



固有粘度[ŋ]' = 22.171 mL/g  $[n] = 1.67(Mv/162)^{0.71}$ より、 Mv' = 6190 Mv' 6190 =0.046 134000

Μv

#### ・原子間力顕微鏡(AFM)で測定した結果





## 4.3 マイクロカプセル化

・走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた比較



(a)シリカバルーンのみ
(b)シリカ-CNF
(c)シリカ-CNF-スチレン
(d)シリカ-CNF-スチレン (高分散化)







セルロースナノファイバーの化学修飾実験

#### CNFのスチレン付加



1 Gas cylinder 2 Pressure gauge 3 Stirrer 4 Thermostatic bath 5 Trap 6 Pump V-1,V-2 Stop valve 三角フラスコ内に
 •CNF液:約1 mL
 •スチレン,モノマー:10 mL
 •硝酸ニアンモニウムセリウム(Ⅳ)
 :2.8 mmol/L
 をそれぞれ仕込んだ。

ガスボンベからフラスコ内に 窒素を送液し、フラスコ内空気を 窒素と置換した。

マグネチックスターラーの撹拌を しながら50℃で反応させた。

フラスコ内固体相を分離後、 エタノールを充填した。 (T-CNFの組成は、0.65%)

### マイクロカプセル化実験

## マイクロカプセル化



1 Gas cylinder

11 Stirrer

2 Dryer

4 Filter

cell

- 3 Cooling system
- 6 Pressure gauge 16 Thermometer
- 7 Safety valve 17 Trap

8 Preheating pipingV-1 Back pressure valve

9 Stopper V-2~V-5 Stop valve

10 High-pressure

12 Thermostatic bath

10の高圧セル内に

•エタノール: 2.5 mL

超臨界状態とした。

撹拌を1時間行った。

微粒子を回収した。

をそれぞれ仕込んだ。

•CNF液: 2.5 mL

・シリカバルーン:0.010g

(・ポリ乳酸添加の有無)

ガスボンベからセル内に

二酸化炭素を送液し、セル内を

そのままマグネチックスターラーの

0.067 MPa/minで減圧し、セル内の

- 13 Pressure gauge
- 14 Safety valve
- 15 Heater
- 5 Pump

#### 実験結果

CNFの高分散化

・フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)を用いて測定した結果





### CNFのスチレン付加

・反応物重量での検討

	採取量(乾燥重量)[g]	触媒量[g]	フラスコ内固	体質量[g]
CNF	0.0106	0.0155		0.023
TEMPO処理CNF	0.0105	0.0156		0.029

重量増加率

反応後全固体質量 – 反応前セルロース質量 反応前セルロース質量

	重量増加率 [%]	セルロース1 molあたりの スチレン付加量 [g]
CNF	217.0	189.5(1.82 mol)
TEMPO処理CNF	276.2	285.4(2.74 mol)



CNFのスチレン付加

・フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)を用いて測定した結果



#### コーティング結果

## マイクロカプセル化

・走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた比較







(a)シリカバルーンのみ
(b)シリカ-CNF
(c)シリカ-CNF-スチレン
(d)シリカ-CNF-スチレン (高分散化) 4.3 マイクロカプセル化

・フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)を用いて測定した結果



### 4.2 CNFのスチレン付加 ・CNF-スチレン内の未反応スチレンについて



4.3 マイクロカプセル化

・SALD-2000で平均粒子径を測定した結果



4.3 マイクロカプセル化

・SALD-2000で平均粒子径を測定した結果(濃度依存)





- Gas sylinder
- Dryer
- **Cooling unit**
- Filter
- Pump
- **Pressure guage**
- Safety valve
- **Preheater**
- Stopper
- 10 Cell
- Motor
- Water bath
- **Pressure guage**
- Safety valve
- Heater
- Thermometer
- 17 Nozzle
- **Spraying board**
- Air bath
- V-1 Back pressure regulator
- V-2~V-5 Stop valve

Fig. Schematic diagram of experimental apparatus

#### Evolution of Efficiency of Microencapsulation







Fig. Raman spectra of microcapsules





- **Examination factor**
- pre-expansion temperature and
  - pressure
- cosolvent
- polymer concentration
- cosolvent concentration
- injection distance
- type of nozzle



Fig. Effect of polymer concentration on mean particle diameter Core material : Silica balloon , Coating material : PEG6000

#### Effect of polymer concentration



Fig. Influence of polymer concentration on particle size distribution of PEG6000 microspheres by PPSG under the pre-expansion conditions, temperature: 308 K, pressure: 20 MPa, cosolvent(ethanol): 28.2 wt. %.

## Configuration of nozzle

#### Orifice nozzle





#### Capillary nozzle



# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来の有害液体溶媒を用いる技術の問題点であったナノ界面での凝集による 微細化構造制御を改良することに成功した。
- ・従来は産業材料への使用に限られていたが、生体適応性が向上できたため、生体系へも使用することが可能となった。



- 本技術の特徴を生かすためには、高付加価値製品製造に適用することでメリットが大きいと考えられる。
- 上記以外に、製品の高機能化の効果が 得られることも期待される。
- また、達成された無害性に着目すると、
   食品や医薬品といった分野や用途に展開することも可能と思われる。

# 実用化に向けた課題

- ・現在、<u>機能性マイクロカプセル</u>について 生産が可能なところまで開発済み、販路 の点が未解決である。
- 今後、有望な販路について検討していく。
- 実用化に向けて、生産性を向上できるよう技術を確立する必要もあり。



- 未解決の問題を持っている企業については、
   は、
   超臨界流体の技術を用いた共同研究によりその問題を克服できると考えている。
- 高付加価値の製品生産技術を持つ、企業 との共同研究を希望。
- また、マイクロカプセルを開発中の企業、 <u>化粧品、健康食品、医薬、医療品分野</u>への展開を考えている企業には、本技術の 導入が有効と思われる。

## 本技術に関する知的財産権

・ 発明の名称

マイクロカプセル被膜、マイクロカプセル製剤およびマイクロカプセル製剤の製造方法

- 出願番号 特願2018-078030
- 出願人 学校法人福岡大学
- 発明者 三島 健司

#### 産学連携の経歴 三島健司

- ・1995年-1997年 日本ペイント社と共同研究実施
- 1999年-2000年 福岡県産業・科学技術振興財団地域開発促進拠点支援事業 (研究育成型)に採択
- •1999年-2001年 新エネルギー·産業技術総合開発機構(NEDO)平成11年度

ベンチャー企業支援型地域コンソーシアム研究開発事業に採択

- ・2000年-2001年 平成12年度ホソカワ粉体工学振興財団研究助成に採択
- 2001年-2003年 新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)平成13・14年度
   産学連携実用化開発補助事業に採択
- ・2000年-2002年 花王株式会社と共同研究実施
- 2001年-2003年 JST研究成果活用プラザにおける実用化のための育成研究事業 に採択
- ・2006年-2008年 株式会社ファンケルと共同研究実施
- ・2007年-2008年 JST平成19年度シーズ発掘試験に採択
- •2007年-2008年 文部科学省平成19年度都市エリア産学官連携促進事業(発展型) 可能性試験に採択
- ・2007年-2008年 財団法人九州産業技術センター平成19年試験研究に採択
- ・2007年-2008年 財団法人福岡県環境保全公社平成19年研究に採択
- ・2008年-2009年 新日本石油株式会社と共同研究実施
- ・2009年-2010年 株式会社九州電化と共同研究実施 」
- ・2009年-2010年 新日本石油株式会社と共同研究実施
- 2010年大学発研究所 福岡大学産学官連携研究機関複合材料研究所設立 (所長)

## お問い合わせ先

## 福岡大学 研究推進部 産学官連携センター 担当コーディネーター 北井 三正

TEL 092-871-6631(内線2803)
FAX 092-866-2308
e-mail sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp