

—総説—

糖転移化合物の新規医薬品添加剤への応用を目指した 製剤設計及び処方検討に関する研究

内山博雅, 竹内洋文*

要約: 開発段階での医薬品候補化合物の水溶性が極端に低下する中、候補となる難水溶性薬物の溶解性の改善かつ吸収性の増大が、医薬品開発の継続や製品化において鍵となる。しかし、既存の製剤技術や処方設計では十分な結果が得られない場合も多く、新たな製剤技術や処方設計による溶解性の改善が強く望まれている。我々は、近年の酵素合成技術の革新によって開発され、機能性食品添加剤として使用され始めた糖転移化合物に着目した。糖転移化合物は、既存の化合物に糖を転移することで、水溶性を増大させた化合物の総称であり、食品分野においては広く使用され、安全性が確保されている。本研究の目的は、糖転移化合物 α -glucosyl hesperidin (Hsp-G) 及び α -glucosyl Stevia (Stevia-G) を用いて、難水溶性化合物の溶解性及び吸収性改善効果を目指した新規の処方検討を行い、改善効果の評価、メカニズムの解明、新規処方設計の提案により、糖転移化合物の医薬品添加剤や機能性食品添加剤としての可能性を見出すことにある。

索引用語: 糖転移化合物、溶解性改善、吸収性改善、固体分散体、ミセル様構造

Research on the Dosage Form Design and a Formulation Study Aimed at Application to New Pharmaceutical Excipients of Transglycosylated Compounds

Hiromasa UCHIYAMA, Hirofumi TAKEUCHI*

Abstract: While the water solubility of new drug candidates in the development phase is often extremely poor, the improvement of the dissolution and absorption of poorly water soluble drug candidates is a key factor in the continuation of drug development and making new drugs. Since the existing technology and formulation design cannot produce acceptable results for poorly water soluble drugs in many cases, improvement in dissolution with new techniques and formulation designs is essential. We focused on transglycosylated compounds which were recently developed by innovation of enzyme synthesis technology and have begun to be used as functional food additives. A transglycosylated compound is the general term for compounds which increase water solubility by the addition of sugar to an existing compound making it safe and widely used in the food industry. The purpose of this study was to evaluate the potential of Hsp-G and Stevia-G as pharmaceutical excipients and functional food additives to enhance the dissolution and absorption of poorly water soluble drugs using a new formulation, as well as an evaluation of the improvement and mechanism of dissolution enhancement effect.

Key phrases: transglycosylated compound, improvement of dissolution, improvement of absorption, solid dispersion, micelle-like structure

1. 緒言

近年有用な薬理効果を持った薬物候補化合物がコンビナトリアルケミストリー¹⁾やハイスループットスクリーニング²⁾などの技術の進歩によって合成されている。しかし

新薬合成の過程では、既存の化合物に疎水基などを導入するケースが多く、そのため新薬の約 40 %が難水溶性薬物となる。経口投与は最も簡便な投与経路であり、患者のコンプライアンス向上などを考えるうえで最も望まれる投与方法であるが、投与された薬物が胃や腸で吸収されるた

めには薬物は胃液や腸液の中で溶解しなければならない。しかしながら難水溶性薬物は消化管での溶解性が低いいため、十分な薬理効果を示す薬物量が体内に吸収されないことが問題となる。十分な薬理効果を得るため投与量を増大させた結果、副作用を認めるケースもある。従って難水溶性薬物の溶解性を改善することは、消化管での薬物の溶解を助け結果として薬物の吸収量を増大させると考えられるので、製剤設計において重要な手法となっている。

難水溶性薬物の溶解性を改善する方法として、界面活性剤による可溶化^{3,4)}、非晶質化⁵⁾、薬物結晶の微粒化⁶⁾、固体分散体化⁷⁻⁹⁾など多くの手法が用いられている。中でも固体分散体はポリマー中に薬物を非晶質あるいは分子分散した状態で粉末を得ることができる点で幅広く用いられている。また吸収に関して、多くの難水溶性薬物が受動拡散により吸収される。受動拡散は薬物の濃度勾配により吸収が促進する機構である。このことから薬物結晶の微細化や非晶質化により溶解性が向上すれば、結果として薬物のバイオアベイラビリティが増大すると考えられる。固体分散体化による薬物の溶解性改善効果は、薬物結晶の粒子径の減少や非晶質化、基剤による薬物の可溶化、基剤と薬物との分子間相互作用などに起因すると考えられる¹⁰⁻¹¹⁾。一般的に固体分散体は、基剤に水溶性高分子を用い、そのマトリックス構造中に薬物を分子状態で分散させる技術である。しかしながら、既存の基剤では、新薬に対して十分に適応できていないというのが現状である。よって新たな固体分散体の基剤が求められている。

界面活性剤も難水溶性薬物の溶解性改善の手段として用いられてきた^{3,4)}。界面活性剤は臨界ミセル濃度 (CMC) 以上になるとミセルを形成しその構造中に薬物を可溶化することができる¹²⁾。中でも胆汁酸ナトリウムやドデシル硫酸ナトリウムなどのイオン性界面活性剤は、難水溶性薬物に対しての適応例が多く報告されている¹³⁻¹⁴⁾。ミセル中に可溶化された薬物は高い見かけの溶解度を保ったまま消化管に到達することができる。難水溶性薬物の多くは受動拡散によって吸収が起こるため、ミセル中に可溶化することで吸収性の改善も可能となる。しかしながらこれらの界面活性剤において十分な可溶化効果を得ようとする場合、ある一定量の界面活性剤の量が必要となる。イオン性界面活性剤は細胞に対して障害性を示す。そのため処方中への添加量が制限されるという問題点がある。

界面活性剤を2種類以上混合した場合、それらの界面活性剤の間で混合ミセルを形成し、個々の界面活性剤が示す性質よりもいくつかの優れた性質を示す¹⁵⁻¹⁷⁾。界面活性剤の混合は、イオン性及び非イオン性界面活性剤が示す欠点を補うことができ、熱や塩の存在に対して安定なミセルの形成を可能にする。また界面活性剤の混合によって、単一の界面活性剤が示す CMC の値より、混合システムが示す CMC の値が顕著に低くなる場合がある。混合システムが

示す CMC の低下は、結果として処方中の界面活性剤の量を減らすことが可能となり、コストの面や人に対する毒性の面からも優れた点になると考えられる。

我々は、近年の酵素合成技術の革新によって開発され、機能性食品添加剤として使用され始めた糖転移化合物に着目した。糖転移化合物は食品中の難水溶性成分を分散させたり可溶化したりするのに用いられている。糖転移化合物の中でも α -glucosyl hesperidin (Hsp-G) および α -glucosyl Stevia (Stevia-G) は安価であり安全性も高いという点から特に注目している。Hsp-G はヘスペリジンに cyclomaltodextrin glucanotransferase による酵素処理によって糖を付加することで合成される¹⁸⁻²⁰⁾。ヘスペリジン自体の抗炎症作用や血圧降下作用などは報告されているが、その使用はヘスペリジン自体の溶解性の低さによって制限されている。ヘスペリジンに酵素処理を施すことで合成される Hsp-G は、ヘスペリジンに糖を1つ付加するだけでヘスペリジンの300倍以上もの溶解度を示す。このような Hsp-G の示す高い溶解度は固体分散体の基剤として有利となる。また我々の研究室では、Hsp-G と健康食品成分として注目されているナリングニンとの固体分散体が、ナリングニンの見かけの溶解度を60倍にまで増大することを報告している²¹⁾。しかしながら Hsp-G に関して、難水溶性医薬品に対して応用された例は今までに報告されていない。ステビアは150-300種類の化合物を含むものの総称であり、血圧降下作用や血中グルコース濃度を下げる効果を示すことが報告されている²²⁾。ステビアは20年以上も食品分野で広く使用されているが、重篤な副作用は一つも報告されていない。このことから人への長期投与において安全性が高いと考えられる。Stevia-G はステビアに酵素処理し糖を付加することで合成される化合物である。Stevia-G はステビアと比べ甘みが非常に強く、ステビアに認められる苦みをほとんど示さない。このことから Stevia-G は苦味マスキング剤としての応用も期待される。加えて Stevia-G も Hsp-G と同様に水への高い溶解性を示す。安全であり高い水溶性を持つ Stevia-G は、固体分散体の基剤としての応用が十分に期待される。しかしながら Hsp-G と同様に Stevia-G においても、難水溶性医薬品に関して応用された例はこれまでに報告されていない。また糖転移化合物が示す、難水溶性食品成分に対しての分散及び可溶化効果のメカニズムも解明されていない。

本研究の目的は、糖転移化合物 α -glucosyl hesperidin (Hsp-G) 及び α -glucosyl Stevia (Stevia-G) を用いて、難水溶性化合物の溶解性及び吸収性改善効果を目指した新規の処方検討を行い、改善効果の評価、メカニズムの解明、新規処方設計の提案により、糖転移化合物の医薬品添加剤や機能性食品添加剤としての可能性を見出すことにある。Hsp-G 及び Stevia-G と難水溶性薬物とで固体分散体を形成することで、難水溶性医薬品の溶解性及び吸収性の改善が

可能かどうか検討を行った。また、糖転移化合物が示す高い溶解性改善メカニズムは、界面張力の測定及び環境プローブであるピレンを用いたスペクトル測定により検討した。さらに高い溶解性改善効果が得られる新規処方 の確立を目指して、Stevia-G に界面活性剤を添加することで両者の間でコンポジットの形成を試み、溶解性及び吸収性改善効果に関して評価した。

2. 糖転移化合物を用いた難水溶性薬物の固体分散体粒子の設計と評価

モデル薬物に Flurbiprofen (FP) 及び ProbucoI (PRO) を用い、糖転移化合物及び hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) と重量比で 1/10 となるように噴霧乾燥することで固体分散体粒子の調製を行った。以後噴霧乾燥粒子を spray-dried particle (SPD)、物理混合物を physical mixture (PM) と表記する。噴霧乾燥により調製された粒子の X 線回折測定の結果を Fig.1 に示す。物理混合物では回折ピークを認めただけに対し、噴霧乾燥処理することで薬物結晶由来の回折ピークの消失が認められた。このことから、糖転移化合物は薬物をその構造中に分散可能であり、薬物は糖転移化合物あるいは HPMC 中で分子状態または非晶質の状態 で存在していると推察された。PRO に関して結果は示していないが FP と同様の結果が得られた。

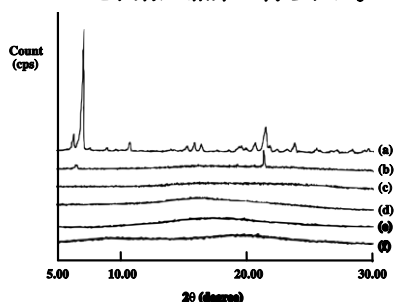


Fig. 1. Powder X-ray diffraction (PXRD) patterns of (a) FP crystal, (b) PM of FP/Hsp-G (1/10), (c) SPD of FP/Hsp-G (1/10), (d) SPD of FP/Stevia-G (1/10), (e) SPD of FP/HPMC (1/10), (f) Hsp-G powder.

次に調製した粒子の溶解性の評価を行った。結果は Fig. 2 に示す。Fig. 2 (a) は蒸留水を溶出試験液に用いたときの結果である。FP の溶解度は一週間の振とう攪拌により約 35 $\mu\text{g/mL}$ を示した。FP 原末は水への溶解性が低く、180 分後において約 17 $\mu\text{g/mL}$ の溶出しか認めなかった。糖転移化合物との物理混合物においては、FP 原末と比較して初期の溶解速度に上昇は認められるものの、180 分後の溶出量は約 20 $\mu\text{g/mL}$ とほぼ FP 原末と同程度の溶出量しか示さなかった。また、HPMC との固体分散体も、糖転移化合物との物理混合物とほぼ同様の溶出プロファイルを示した。一方、Hsp-G 及び Stevia-G との噴霧乾燥物では試験開始直後に急速な溶出を認め、試験開始 5 分で仕込み量の全量にあたる 55 $\mu\text{g/mL}$ の溶出を示した。Fig. 2 (b) には溶出

試験第 1 液 (pH1.2) を溶出試験液に用いた際の結果を示す。FP は pKa 3.78 の酸性薬物であるため、pH1.2 の溶出試験第 1 液中では Henderson-hasselbalch 式よりイオン型がほとんど存在しないため溶解度は極めて低くなることが予測される。実際に溶出試験の結果からも FP 原末からの溶出はほとんど認められていない。これに対して、Hsp-G 及び Stevia-G との噴霧乾燥物では試験開始直後より急速な溶出が認められ、5 分後には平衡に達し、約 50 $\mu\text{g/mL}$ の溶出量を示した。このことから Hsp-G 及び Stevia-G が示す溶解性改善効果は、溶解液に影響されないことが示唆された。またデータには示していないが溶出試験第 2 液においても Hsp-G 及び Stevia-G との噴霧乾燥物は高い溶出を示した。

Fig. 3 には溶出試験液に蒸留水を用い、調製した固体分散体粒子からの PRO の溶出試験の結果を示す。PRO は水への溶解度が 3-5 ng/mL と非常に疎水性が高い薬物であるため、蒸留水中で PRO 原末は溶出を認めなかった²³⁾。また Hsp-G および Stevia-G との物理混合物も原末と同様に溶出を認めなかった。一方 Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した固体分散体から溶出した PRO の溶出量は、原末の 1000 倍以上もの値を示した。このことから Hsp-G 及び Stevia-G との固体分散体粒子は、種々の薬物の溶解性を改善可能であると考えられた。

薬物の溶解度は同一温度、同一 pH 下では一定の値を示す。しかしながら、Fig. 2 及び Fig. 3 から Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した噴霧乾燥物は、FP 及び PRO の両薬物において薬物の溶解度以上の溶出量を示した。薬物の溶解度以上の溶出量を示した要因として一般的に 2 つの要因が考えられる。1 つには基剤とともに噴霧乾燥を行ったことによる薬物結晶から非晶質への結晶状態の変化が、2 つ目には薬物が単分子分散した固体分散体を調製したことが考えられる。薬物が溶解するためには結晶格子を壊す必要がある。非晶質状態は結晶状態より低い結晶格子エネルギーを有し、結晶のように長距離秩序を有さないため結晶よりも高い溶解度を示すことがある²⁴⁻²⁵⁾。また薬物が PVP のような水溶性高分子との固体分散体から溶出される際、薬物が水中で形成されるポリマーマトリックス中に水素結合などの相互作用により分散することで、薬物の見かけの溶解度が増大することも報告されている²⁶⁾。FP の結晶状態は HPMC との噴霧乾燥により非晶質となったが、HPMC との噴霧乾燥物から溶出した FP の溶出量は、Hsp-G 及び Stevia-G との噴霧乾燥物から溶出した FP の溶出量と比べ顕著に低かった。この結果から FP において、結晶状態の変化や固体分散体化は溶出量の増大に影響しないと考えられた。また低分子量の Hsp-G 及び Stevia-G では、水溶性高分子との固体分散体のようにそのマトリックス中に薬物を分散することはできない。従って見かけの溶解度改善効果は水溶性高分子とは異なる機構が考えられる。

我々の研究室では Hsp-G に関して、Hsp-G の濃度依存的に健康食品成分であるナリングニンの溶出量を増大できることを報告している²¹⁾。濃度依存的に薬物を可溶化する機構としてミセルの形成やシクロデキストリンによる包摂が考えられる。しかしながら、Hsp-G 及び Stevia-G が薬物を包摂できる部位を持つことは Hsp-G 及び Stevia-G の構造から考えにくい。以上のことから、Hsp-G 及び Stevia-G が示す高い溶解性改善効果は、Hsp-G 及び Stevia-G 分子が、水中でミセルのような薬物を可溶化し得る特異的な分子集合体構造を形成し、FP 及び PRO と相互作用することで薬物の見かけの溶解度を向上していると推察された。

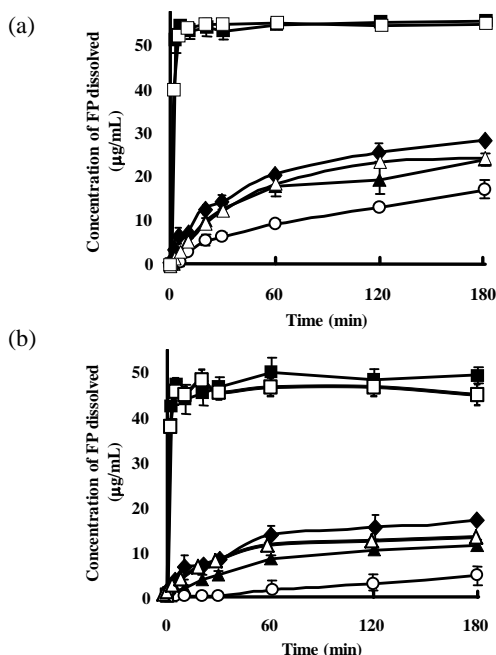


Fig. 2. Dissolution profiles of FP in (a) distilled water and (b) HCL solution (pH1.2) (○, untreated FP; ▲, PM of FP/Hsp-G (1/10); △, PM of FP/Stevia-G (1/10); ■, SDP of FP/Hsp-G (1/10); □, SDP of FP/Stevia-G (1/10); ◆, SDP of FP/HPMC (1/10)). Each point represents the mean±S.D. (n=3).

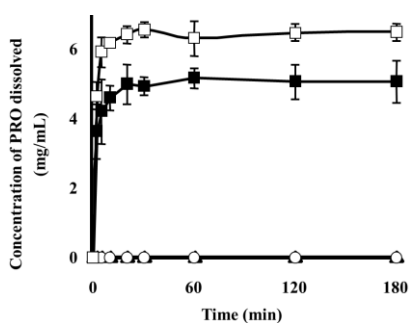


Fig. 3. Dissolution profiles of PRO in distilled water (○, untreated PRO; ▲, PM of PRO/Hsp-G (1/10); △, PM of PRO/Stevia-G (1/10); ■, SDP of PRO/Hsp-G (1/10); □, SDP of PRO/Stevia-G (1/10)). Each point represents the mean±S.D. (n=3).

Fig. 4 には FP をラットに経口投与した際の血中薬物濃度プロファイルを示した。FP 原末をラットに経口投与したところ Cmax は約 3.7 µg/mL を示した。また Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した物理混合物を経口投与したところ、Cmax はそれぞれ約 4.8 µg/mL 及び 5.7 µg/mL を示した。一方 Hsp-G 及び Stevia-G を用いて噴霧乾燥した粒子を経口投与したところ、Cmax はそれぞれ約 10.2 µg/mL 及び 8.3 µg/mL と FP 原末を経口投与した際の 2 倍以上の値を示した。AUC に関して、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した粒子は原末と比べそれぞれ 2.8 倍及び 2.6 倍の値を示した。Fig. 5 には PRO をラットに経口投与した際の血中薬物濃度プロファイルを示した。FP 原末を投与した場合と同様に、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて噴霧乾燥した粒子では、顕著な吸収量の改善が認められた。PRO 原末と比べ Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した粒子を投与した際の AUC の値はそれぞれ 5.3 倍及び 9.8 倍の値を示した。PRO 及び FP は Biopharmaceutics Classification System において Class II に分類される薬物である。Class II に分類される薬物は高い膜透過性を有するが、溶解性が低い性質を有するため、消化管内での溶解が吸収律速となる薬物である。つまり Class II 薬物において溶解性を改善することは、吸収性の改善へとつながることができる。FP は難水溶性の性質を持つ弱酸性薬物である。そのため、経口投与後の消化管内での溶解速度は遅く吸収量も低くなる。Mizoe ら²⁷⁾ は 4 流体ノズルを用いて固体分散体粒子を調製することで、FP の溶解性及び吸収性を顕著に向上することを報告している。Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した固体分散体粒子は、FP 原末と比較して FP の溶解性を顕著に改善した。高い溶解性改善効果が高い吸収性改善効果につながったと考えられた。PRO は現在市販されている薬物の中でも最も疎水性の高い薬物の一つであり、ラットへの経口投与後のバイオアベイラビリティが 6 % 程度と非常に吸収性の低い薬物である²⁸⁾。そのため吸収性を改善するためにいくつかの試みがなされている。それらの例として、PVP を用いた固体分散体の調製、PVP 及び SDS との共粉碎や自己乳化システムを用いたものが報告されている²⁹⁻³⁰⁾。これらの試みは PRO の溶解性を高めた結果、吸収性の改善にも成功している。我々の検討において、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した粒子は、PRO 原末と比較して顕著な溶解性の改善を示したことから、顕著な溶解性の改善が吸収性の改善へとつながったと考えられる。また FP においては Hsp-G を、PRO においては Stevia-G を用いた場合に、より高い溶解性及び吸収性の改善が可能であった。FP の場合では Hsp-G と、PRO の場合には Stevia-G とより強く相互作用したことが、高い溶解性及び吸収性改善効果を示した要因になると推察される。以上のことから、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて固体分散体を調製することで、

Under the Curve (AUC) の値を示した。FP 原末をラットに経口投与したところ Cmax は約 3.7 µg/mL を示した。また Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した物理混合物を経口投与したところ、Cmax はそれぞれ約 4.8 µg/mL 及び 5.7 µg/mL を示した。一方 Hsp-G 及び Stevia-G を用いて噴霧乾燥した粒子を経口投与したところ、Cmax はそれぞれ約 10.2 µg/mL 及び 8.3 µg/mL と FP 原末を経口投与した際の 2 倍以上の値を示した。AUC に関して、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した粒子は原末と比べそれぞれ 2.8 倍及び 2.6 倍の値を示した。Fig. 5 には PRO をラットに経口投与した際の血中薬物濃度プロファイルを示した。FP 原末を投与した場合と同様に、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて噴霧乾燥した粒子では、顕著な吸収量の改善が認められた。PRO 原末と比べ Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した粒子を投与した際の AUC の値はそれぞれ 5.3 倍及び 9.8 倍の値を示した。PRO 及び FP は Biopharmaceutics Classification System において Class II に分類される薬物である。Class II に分類される薬物は高い膜透過性を有するが、溶解性が低い性質を有するため、消化管内での溶解が吸収律速となる薬物である。つまり Class II 薬物において溶解性を改善することは、吸収性の改善へとつながることができる。FP は難水溶性の性質を持つ弱酸性薬物である。そのため、経口投与後の消化管内での溶解速度は遅く吸収量も低くなる。Mizoe ら²⁷⁾ は 4 流体ノズルを用いて固体分散体粒子を調製することで、FP の溶解性及び吸収性を顕著に向上することを報告している。Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した固体分散体粒子は、FP 原末と比較して FP の溶解性を顕著に改善した。高い溶解性改善効果が高い吸収性改善効果につながったと考えられた。PRO は現在市販されている薬物の中でも最も疎水性の高い薬物の一つであり、ラットへの経口投与後のバイオアベイラビリティが 6 % 程度と非常に吸収性の低い薬物である²⁸⁾。そのため吸収性を改善するためにいくつかの試みがなされている。それらの例として、PVP を用いた固体分散体の調製、PVP 及び SDS との共粉碎や自己乳化システムを用いたものが報告されている²⁹⁻³⁰⁾。これらの試みは PRO の溶解性を高めた結果、吸収性の改善にも成功している。我々の検討において、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて調製した粒子は、PRO 原末と比較して顕著な溶解性の改善を示したことから、顕著な溶解性の改善が吸収性の改善へとつながったと考えられる。また FP においては Hsp-G を、PRO においては Stevia-G を用いた場合に、より高い溶解性及び吸収性の改善が可能であった。FP の場合では Hsp-G と、PRO の場合には Stevia-G とより強く相互作用したことが、高い溶解性及び吸収性改善効果を示した要因になると推察される。以上のことから、Hsp-G 及び Stevia-G を用いて固体分散体を調製することで、

種々の難水溶性薬物の溶解性だけでなく吸収性の改善も可能であり、さらに適切な糖転移化合物を選択することでより高い吸収性改善効果が得られると考えられた。

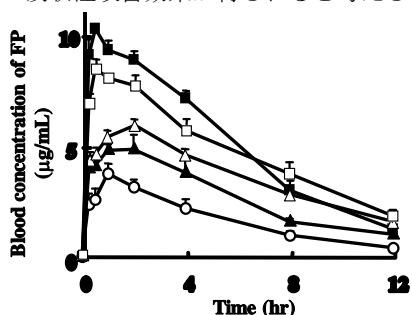


Fig. 4. Plasma concentration-time profiles of FP in rats after oral administration of untreated FP and SDP: (○, untreated FP; ▲, PM of FP/Hsp-G (1/10); △, PM of FP/Stevia-G (1/10); ■, SDP of FP/Hsp-G (1/10); □, SDP of FP/Stevia-G (1/10)). Each point represents the mean ± S.E. (n=6).

Table 1. Pharmacokinetic parameters of FP after oral administration of SDPs of FP/Hsp-G or FP/Stevia-G in rats. (**p< 0.01, compared to untreated FP. ##p< 0.01, Compared to the corresponding PMs).

| | T _{max} (h) | C _{max} (µg/mL) | AUC ₀₋₁₂ (µg·h/mL) |
|---------------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------------|
| untreated FP | 1.0 | 3.73 ± 0.43 | 22.06 ± 2.54 |
| PM of FP/Hsp-G(1/10) | 2.0 | 4.82 ± 0.64 | 32.09 ± 3.98 |
| PM of FP/Stevia-G(1/10) | 2.0 | 5.71 ± 0.31 | 41.26 ± 2.03 |
| SDPs of FP/Hsp-G(1/10) | 0.5 | 10.22 ± 0.14 | 62.65 ± 2.82**## |
| SDPs of FP/Stevia-G(1/10) | 0.5 | 8.34 ± 0.39 | 57.14 ± 2.37**## |

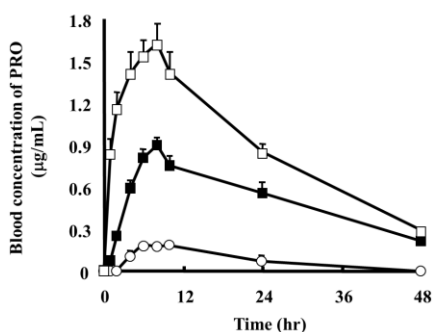


Fig. 5. Plasma concentration-time profiles of PRO in rats after oral administration of untreated PRO and SDP: (○, untreated PRO; ■, SDP of PRO/Hsp-G (1/10); □, SDP of PRO/Stevia-G (1/10)). Each point represents the mean ± S.E. (n=6).

Table 2. Pharmacokinetic parameters of PRO after oral administration of SDP of PRO/Hsp-G or PRO/Stevia-G in rats. (**p< 0.01, compared to untreated PRO. ##p< 0.01, Compared to the SDP of PRO/Hsp-G).

| | T _{max} (h) | C _{max} (µg/mL) | AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL) |
|----------------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------------|
| untreated PRO | 10.0 | 0.18 ± 0.03 | 4.94 ± 2.06 |
| SDPs of PRO/Hsp-G(1/10) | 8.0 | 0.89 ± 0.06 | 26.08 ± 4.52** |
| SDPs of PRO/Stevia-G(1/10) | 8.0 | 1.61 ± 0.16 | 48.79 ± 9.97** |

固体分散体の基剤となりうる条件の1つとして、基剤自

体の生体への安全性が挙げられる。本節ではヒト大腸上皮癌由来細胞である Caco-2 細胞を用いて、糖転移化合物の細胞毒性の有無について検討を行った。結果は Fig.6 に示す。代表的なイオン性界面活性剤である SDS では 0.1 % の濃度において高い細胞毒性を示した。一方 Hsp-G 及び Stevia-G は 10 % の濃度においても毒性を示さなかった。このことから Hsp-G 及び Stevia-G は安全な基剤であると考えられた。

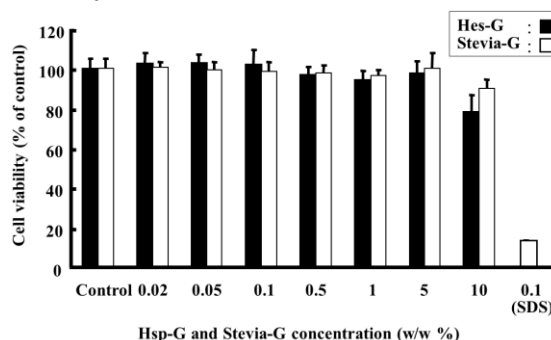


Fig. 6. Cytotoxicity of Hsp-G and Stevia-G to Caco-2 cells (n=8) Control; Phosphate buffer solution (pH 7.4).

3. 糖転移化合物の薬物溶解性改善メカニズムの解明

難水溶性薬物と糖転移化合物との噴霧乾燥物から溶出した薬物の溶出量は、薬物原末と比較して顕著に高い値を示すことを報告した。見かけの溶解度の増大は、糖転移化合物がミセル様の分子集合体を形成し薬物を可溶化したことが要因であると推察された。一般に界面活性剤などのミセルを形成するものは界面活性能を示し、疎水性界面へ集積する性質を持つ。そこで糖転移化合物による溶解性改善メカニズムの解明の手段の一つとして、糖転移化合物を水に添加した際の水の界面張力の測定を行うことで、糖転移化合物の疎水性界面への集積のしやすさについて検討を行った。Fig. 7 には Hsp-G 及び Stevia-G を水中に添加した際の水の界面張力の変化を示した。Hsp-G 及び Stevia-G を添加することで水の界面張力にわずかであるが低下が認められた。また Hsp-G に比べ Stevia-G はより強い界面活性作用を示した。このことから Hsp-G 及び Stevia-G は界面に集積する性質を有することが示された。

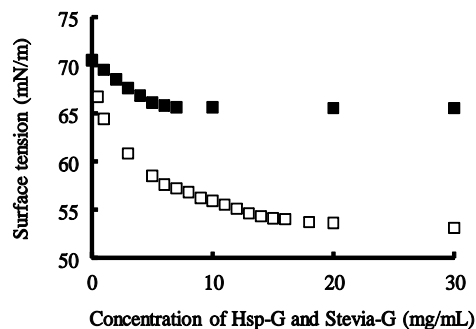


Fig. 7. Surface tension according to concentration of Hsp-G and Stevia-G: (■, Hsp-G; □, Stevia-G).

一般的に界面活性剤と呼ばれる物質は、界面活性作用を示し水中でミセルを形成する。ピレンは環境プローブとして幅広く使われている試薬であり、ピレン I_1/I_3 比の測定は界面活性剤の CMC 算出などにも幅広く使われている。そこで Stevia-G 分子がある濃度以上でミセル様の分子集合体構造を形成するのかどうか、ピレンを用いて検討した。Hsp-G の濃度によらず、Hsp-G 溶液中ではピレンの消光が観察されたため Hsp-G に関してはピレンの蛍光スペクトル測定を行うことができなかった。そのため Stevia-G の結果のみを示す。Fig. 8 には Stevia-G の濃度に対するピレン I_1/I_3 比の変化を示す。Stevia-G の濃度の増大に伴いピレン I_1/I_3 比の値に低下が認められた。ピレンは環境プローブであり、ピレンが存在する周りの環境に応じて I_1/I_3 比の値も変化する。ピレンが親水的な環境に存在するときピレン I_1/I_3 比の値は大きく、疎水的な環境に存在するときピレン I_1/I_3 比の値は小さくなる。つまりピレンがミセルなどの構造中に取り込まれるとピレン I_1/I_3 比の値は小さくなる。Fig. 8 において Stevia-G の濃度の増大に伴いピレン I_1/I_3 比の値に低下が認められた。以上のことから Stevia-G は濃度依存的に分子集合体を形成していると考えられた。ピレン I_1/I_3 比のプロットから Stevia-G の CMC を算出したところ 16.5 mg/mL であった。Stevia-G が形成する構造の凝集数は、Turro and Yekta³¹⁾らによって確立された方法である static quenching method を用いて算出した。Fig. 8 から算出される Stevia-G の凝集数は約 15-16 であった。Stevia-G が示すピレン I_1/I_3 比のプロットは頻用される界面活性剤に類似したプロットを示した。このことから Stevia-G は水中でミセル様の分子集合体構造を形成し、その構造中に難水溶性薬物を封入することで薬物の見かけの溶解度を向上していると考えられた。しかしながら、ピレン I_1/I_3 比の示すシグモイド曲線は他の界面活性剤と比べ緩やかであり、また界面張力の値の変化も他の界面化製剤と比較すると小さかった。一般的に使用される界面活性剤は、親水基に対して長い疎水基を有する。そのため、界面活性剤分子を水中に溶解させた際、水中で安定化するために、まず水-空気界面へ界面活性剤分子は配向する。界面での界面活性剤分子の配向が飽和になると、次に水中に存在する界面活性剤を安定化するためミセルを形成する。一方で Stevia-G は、構造中に疎水基を有するが、一般的な界面活性剤と比較して疎水基に対して大きな親水基を有する。つまり Stevia-G 分子は、界面に配向するとともに水中にも溶解できると考えられる。このことから、Stevia-G は一般的な界面活性剤と比較して高い CMC 及び弱い界面活性作用を示すと考えられた。また Stevia-G が形成する分子凝集体の凝集数は、一般的に使用される SDS や Tween 80 などの界面活性剤と比べると小さな値を示した³²⁾。しかしながら、動的光散乱法で測定される SDS 及び Stevia-G の粒子径はともに 2 nm

程度であった (data not shown)。以上のことから、Stevia-G は一般的な界面活性剤が形成するミセルと比べ、構造が密でない緩やかな分子集合体構造を形成すると考えられた。界面活性剤を難溶性薬物の溶解性及び吸収性改善として使用した場合、生体への毒性も問題となるが、低い CMC の値によりミセル構造が安定となり、消化管内で薬物が放出されないことがしばしば問題となる。Stevia-G 分子が形成する緩やかな分子集合体構造は、難水溶性薬物の吸収性を高めるうえでも有利な点になると考えられる。

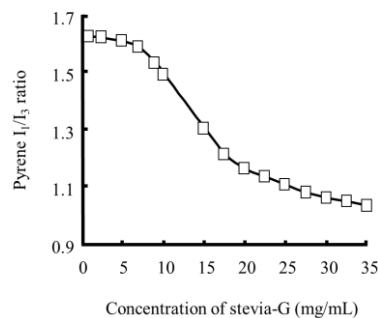


Fig. 8. Plot of pyrene I_1/I_3 ratios versus Stevia-G concentration.

一方 Hsp-G に関しては Zhang ら³³⁾によって、NMR 測定により水中で分子集合体を形成することが報告された。Hsp-G の示す界面活性性能は非常に低いものであったが、水中で Hsp-G の持つフラボン骨格が、糖によって取り囲まれた core-shell 構造を Hsp-G が形成することを報告している。またその構造体が示す CMC の値は 5.0 mg/mL であり、Hsp-G が示す凝集数は 4-5 分子程度、Hsp-G が形成する分子集合体の粒子径は約 2 nm 程度であることを報告している。一方で Hsp-G が示す core-shell 構造内において、糖は比較的自由度が高くそのためフラボン骨格は糖によってあまり強く抑えられないことも報告している。このことから難水溶性薬物は疎水性相互作用を通して、比較的簡単に Hsp-G が形成する構造中に封入されそして放出される。Stevia-G の場合と同様に、Hsp-G が形成する緩やかな分子集合体構造は、難水溶性薬物の吸収性を高めるうえでも有利になると考えられる。

4. Stevia-G と界面活性剤との間でのナノコンポジット形成と製剤設計

Stevia-G が水中でミセル様の構造を形成し、難水溶性薬物の溶解性及び吸収性を改善することを示した。しかしながら、高い溶解性改善効果を得るには、薬物に対して十分な量の Stevia-G が必要となる。そのため経口投与製剤を設計するうえで投与量の増大によるコンプライアンスの低下や、コストの増大などが問題となってくる。よって処方中の Stevia-G の添加量を減らす工夫が必要となる。そこで糖転移化合物に界面活性剤を CMC 以下の量を少量添加することで Stevia-G と種々の界面活性剤との間での相互作用形成を目指し、高い溶解性改善効果を得ること及び

Stevia-G の処方中の添加量を減らせるか検討した。

Fig. 9 には Stevia-G に、陰イオン性界面活性剤である SDS を、CMC 以下の量を添加した際の FP の溶出プロファイルを示す。bicomponent of FP/SDS (1/1 w/w) からの FP の溶出量は FP の溶解度である 35 $\mu\text{g/mL}$ とほぼ同程度の値を示した。このことから SDS のみの添加は FP の溶出量を増大しないことが明らかとなった。また bicomponent of FP/Stevia-G (1/10 w/w) からの FP の溶出量は原末の約 2 倍の値であった。これは Stevia-G が形成する分子集合体構造中に FP が可溶化されたことが要因であると考えられた。一方 Stevia-G に SDS を添加した 3 成分系では、2 成分系と比較して顕著な溶解性改善効果が認められ、特に FP/Stevia-G/SDS (1/10/1 w/w/w) の場合において FP の溶解度の約 7 倍もの溶出量を示した。データには示していないが Stevia-G に陽イオン性界面活性剤である dodecyl trimethyl ammonium bromide (DTAB) を添加した場合においても SDS と同様に、3 成分系からの溶出は 2 成分系と比べ顕著に高かった。以上のことから Stevia-G とイオン性界面活性剤との組み合わせは FP の溶出量を大幅に増大可能であることが示された。

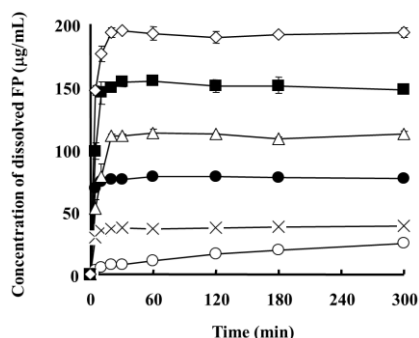


Fig. 9. Dissolution profiles of FP from Stevia-G/SDS systems in distilled water.: (○, Untreated FP, ×; bicomponent of FP/SDS (1/1 w/w); ●, bicomponent of FP/Stevia-G (1/10 w/w); △, tricomponent of FP/Stevia-G/SDS (1/10/0.2 w/w/w); ■, tricomponent of FP/Stevia-G/SDS (1/10/0.5 w/w/w); ◇, tricomponent of FP/Stevia-G/SDS (1/10/1 w/w/w). Each point represents the mean \pm S.D. (n=3).

Fig. 10 には Stevia-G に非イオン性界面活性剤である n-Octyl- β -D-maltopyranoside (OMP) を、CMC 以下の量を添加した際の、FP の溶出プロファイルを示す。bicomponent of FP/OMP (1/4 w/w) からの FP の溶出量は FP 原末と同程度であった。一方で tricomponent of FP/Stevia-G/OMP のからの FP の溶出量は、bicomponent of FP/Stevia-G (1/10 w/w) と比較して、顕著な違いは認められなかった。またデータには示していないが、非イオン性界面活性剤である Tween 80 を用いた場合にも、FP/Stevia-G/Tween80 の 3 成分系からの溶出は bicomponent of FP/Stevia-G (1/10 w/w) とほぼ同程度であった。以上の結果から、Stevia-G と非イオン性界面活性剤の間の相互作用は、イオン性界面活性剤の場合と比較

して弱く、そのため新たな分子集合体構造が形成されないため、FP の溶出量に顕著な増大が認められなかったと推察された。

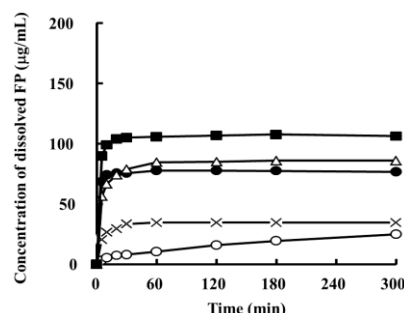


Fig. 10. Dissolution profiles of FP from Stevia-G/OMP systems in distilled water.: (○, Untreated FP, ×; bicomponent of FP/OMP (1/4 w/w); ●, bicomponent of FP/Stevia-G (1/10 w/w); △, tricomponent of FP/Stevia-G/OMP (1/10/2 w/w/w); ■, tricomponent of FP/Stevia-G/OMP (1/10/4 w/w/w). Each point represents the mean \pm S.D. (n=3).

界面活性剤の 2 種類以上の混合により、相乗的な効果が得られることが報告されている。相乗的な効果として、単一の界面活性剤が示す CMC より低い濃度で混合ミセルを形成することが挙げられ、薬物の溶出量を大幅に改善することが期待できる。FP の溶出量が大幅に増大した理由として、Stevia-G とイオン性界面活性剤との間で形成される相互作用が大きく起因していると推察した。そこで FP/Stevia-G/イオン性界面活性剤の 3 成分が示す顕著な溶解性改善効果の解明手段の 1 つとして、界面張力の測定を行った。Fig. 11 には Stevia-G 溶液中に SDS を、CMC 以下の量を添加した際の水の界面張力の変化を示した。SDS の添加量の増大によって界面張力の値に大きな低下は認められなかったものの、界面張力の値がプラトーに達する Stevia-G の濃度は低濃度側にシフトした。同様の現象は陽イオン性界面活性剤である DTAB を添加した場合においても観察されたが、非イオン性界面活性剤の添加では観察されなかった。以上のことから、Stevia-G にイオン性界面活性剤を添加することにより、より低い Stevia-G 濃度で水-空気界面への配向が終わり、その後 Stevia-G とイオン性界面活性剤の間で新たな構造を形成していることが示唆された。

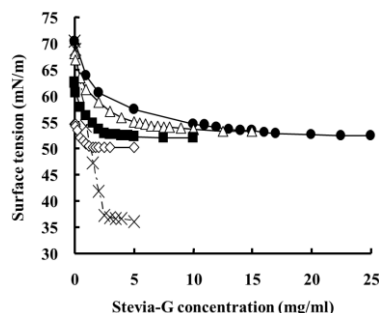


Fig. 11. Changes in surface tension as a function of Stevia-G concentration in distilled water (●, Stevia-G solution; ×, SDS

solution; \triangle , Stevia-G solution with 0.2 mg/ml SDS; \blacksquare , Stevia-G solution with 0.5 mg/ml SDS; \diamond , Stevia-G solution with 1 mg/ml SDS.

Stevia-G 及びイオン性界面活性剤との間の相互作用をより詳細に解明するために、環境プローブであるピレンを用いてさらなる検討を行った。Fig. 12 には Stevia-G 溶液中に SDS を、CMC 以下の量を添加した際の Pyrene I_1/I_3 比のプロットを示した。SDS の添加量の増大に伴い Pyrene I_1/I_3 比のプロットがプラトーを示す Stevia-G 濃度が、より低濃度側へとシフトした。Pyrene I_1/I_3 比のプロットから算出される CMC は、Stevia-G 溶液において 16 mg/mL、SDS 溶液において 2.5 mg/mL、1 mg/mL の SDS を含む Stevia-G 溶液において 0.8 mg/mL であった。

界面活性剤の混合によって相乗効果が得られる場合がある。相乗効果の一つとして、混合成分から推定される CMC の値よりも低い濃度で混合ミセルを形成することが挙げられる。Stevia-G と陰イオン性界面活性剤との混合溶液は、Stevia-G または界面活性剤の単一成分が示す Pyrene I_1/I_3 比のプロットより低い Stevia-G 濃度でプラトーに達した。ピレンは環境プローブでありピレンが存在する外部の環境によりピレン I_1/I_3 比は変化する。ピレン I_1/I_3 比の低下はピレンがミセルなどの構造中に可溶化されたことを示すことから、Stevia-G とイオン性界面活性剤の間で相互作用が形成され、新たな分子集合体の形成つまりコンポジットを形成していると推察された。より低い濃度でのコンポジット形成は、薬物を可溶化するうえで有利となる。

3成分系で認められた難水溶性薬物の溶出量の増大メカニズムは、2つの界面活性剤の間での相互作用が起因する。非イオン性界面活性剤のイオン性界面活性剤に対する相互作用は2つのことが考えられる³⁴⁾。1つにはイオン性界面活性剤が持つ電荷の反発を非イオン性界面活性剤が間に入ることで遮蔽し静電的な安定性を高めること。もう1つは、イオン性界面活性剤が持つ電荷と非イオン性界面活性剤の間で形成されるイオン-双極子相互作用である。イオン-双極子相互作用によって混合ミセル系の熱力学的な安定性は高められる。混合ミセル系の安定性を高めることはミセル相への薬物の可溶化を促進し、薬物に対して高い溶解性改善効果を示すことを可能にすると考えられる。

Fig. 13 には Stevia-G と陰イオン性界面活性剤で形成される構造の推定図を示した。溶出試験、界面張力の測定及び Pyrene I_1/I_3 比の測定結果から Stevia-G はイオン性界面活性剤と相互作用し、イオン性界面活性剤が Stevia-G の形成する構造中にインターカレートしたようなナノコンポジット構造になると推察された。一方でデータには示していないが、非イオン性界面活性剤である OMP の場合には、Stevia-G と混合した場合に、ほとんど溶解性改善効果を示さず、また Pyrene I_1/I_3 比のプロットも Stevia-G 溶液

とほぼ同様のプロットであったことから図に示すような構造を形成できなかったと推察された。

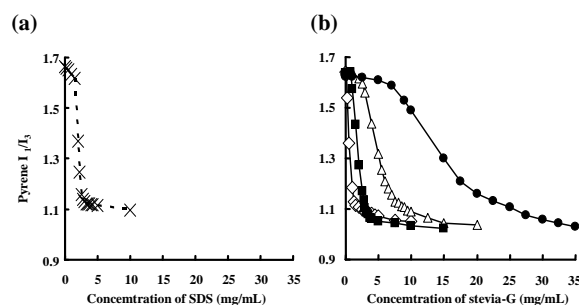


Fig. 12. Plot of Pyrene I_1/I_3 ratios versus (a) SDS and (b) Stevia-G concentration (\bullet , Stevia-G solution; \times , SDS solution; \triangle , Stevia-G solution with 0.2 mg/ml SDS; \blacksquare , Stevia-G solution with 0.5 mg/ml SDS; \diamond , Stevia-G solution with 1 mg/ml SDS).

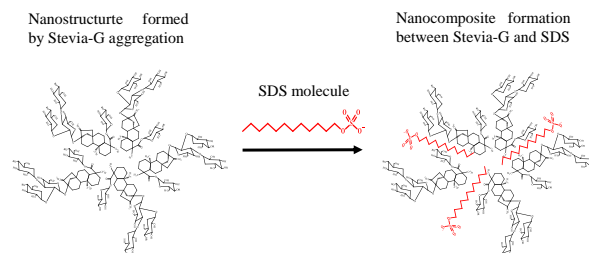


Fig. 13. Schematic representation of nanocomposite formation among SDS and Stevia-G aggregated nanostructures.

イオン性界面活性剤は非イオン性界面活性剤に比べ、細胞毒性が高くなる。イオン性界面活性剤が示す細胞毒性は、フリーなイオン性界面活性剤分子に起因するものである。そこで Stevia-G とイオン性界面活性剤との間でコンポジットを形成させることによりフリーなイオン性界面活性剤分子を減らすことで、イオン性界面活性剤の示す Caco-2 細胞に対する障害性を軽減できるか検討を行った。Fig. 14 には、Stevia-G とイオン性界面活性剤である SDS との混合溶液の Caco-2 細胞に対する細胞毒性を示した。0.1 % の SDS 溶液では Caco-2 細胞に対して強い細胞毒性を示したのに対して、Stevia-G との混液はほとんど毒性を示さなかった。これは Stevia-G とイオン性界面活性剤が相互作用し、コンポジットを形成することで、フリーなイオン性界面活性剤分子が減ったことに起因すると考えられた。Stevia-G とイオン性界面活性剤を混液にすることで毒性を低減できることは経口製剤化において有利になると考えられた。

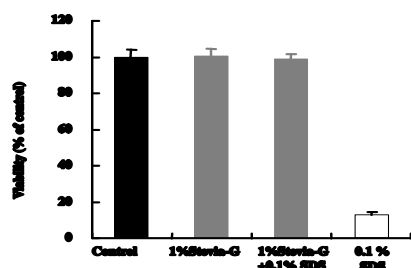


Fig. 14. Cytotoxicity of Stevia-G, SDS and binary mixture of SDS/Stevia-G system to Caco-2 cells (n=8); Control; Phosphate buffer solution (pH 7.4).

Stevia-G/イオン性界面活性剤の間でコンポジットを形成し、難水溶性薬物である FP の溶解性を顕著に向上させることを示した。そこで Stevia-G/イオン性界面活性剤で形成されるコンポジットが、他の難水溶性薬物の溶解性改善も可能か検討した。Fig. 15 には、難水溶性モデル薬物に pranlukast hemihydrate (PLH) を用いた際の溶出プロファイルを示した。PLH を用いた場合にも FP の場合と同様に、混合システムを用いることで高い溶解性改善効果が得られた。また処方中の Stevia-G 量を減らした場合にも高い溶解性改善効果が確認された。bicomponent of PLH/Stevia-G (1/10 w/w) が示す溶解性改善効果と、tricomponent of PLH/Stevia-G/SDS (1/2/1 w/w/w) が示す溶解性改善効果は同程度であった。以上のことから Stevia-G とイオン性界面活性剤が形成する構造は、種々の難水溶性薬物の溶解性を改善し、さらには処方中の Stevia-G の添加量を減らした場合にも高い溶解性改善効果が得られることが示された。

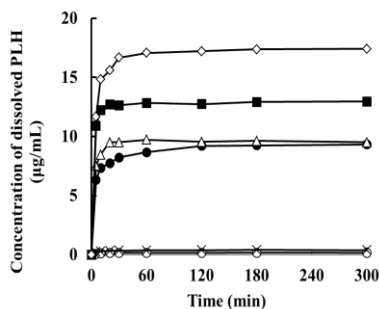


Fig. 15. Dissolution profiles of PLH from Stevia-G/SDS system in distilled water.: (○; Untreated PLH, ×; bicomponent of PLH/SDS (1/1 w/w), ●; bicomponent of PLH/Stevia-G (1/10 w/w), △; tricomponent of PLH/Stevia-G/SDS (1/2/1 w/w/w), ■; tricomponent of PLH/Stevia-G/SDS (1/5/1 w/w/w), ◇; tricomponent of PLH/Stevia-G/SDS (1/10/1 w/w/w). Each point represents the mean±S.D. (n=3).

次に Stevia-G と SDS との間で形成されるコンポジットが、吸収性改善を可能にするか検討した。Fig.16 には PLH/Stevia-G/SDS の 3 成分をラットに経口投与した際のラットの血中薬物濃度プロファイルを示した。原末及び 2 成分系を投与した場合と比較して、3 成分系を投与した場合に顕著に高い血中薬物濃度を示した。特に AUC は原末と比較して、三成分系の場合において約 3.2 倍の値を示し

た (Table 3)。PLH の吸収部位は胃腸管の上部であることが報告されており、それゆえに胃や小腸上部での初期の溶出量を増大させることは重要である。ゼラチンと PLH を共粉砕すること及び、薬物ナノ粒子をマンニトール中に分散させることで、PLH の吸収性改善に成功している報告がある³⁵⁻³⁶⁾。2 成分系において、SDS 及び Stevia-G の濃度は可溶性構造を形成できる濃度には達していなかった。それゆえに PLH の吸収量の増大は、Stevia-G 及び SDS が示す界面活性作用に起因すると考えられた。難水溶性薬物は疎水性が高く、そのため胃液や腸液に対して濡れにくい。薬物が溶解するためには溶解液に対して初めに濡れる必要がある。界面活性剤は難水溶性薬物と消化管液との間に配向し、界面張力を低下させた結果として濡れ性を改善し吸収量が增大したと考えられた。一方で PLH/Stevia-G/SDS の 3 成分系から吸収された PLH の量は、原末及び 2 成分系と比較して顕著に高かった。高い吸収性改善効果を 3 成分系が示した要因として、3 成分系にすることで Stevia-G と SDS との間で形成されるコンポジットコンポジット中に PLH が可溶化されることで、ラット体内で高い見かけの溶解度を得られたことが要因であると考えられた。

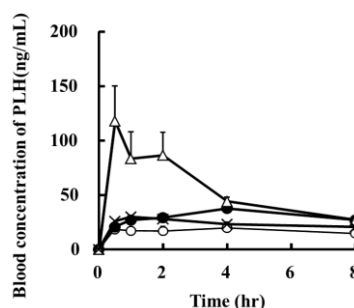


Fig. 16. Blood concentration profile of PLH in rats after oral administration of Stevia-G/SDS system: (○; Untreated PLH, ×; bicomponent of PLH/SDS (1/1 w/w), ●; bicomponent of PLH/Stevia-G (1/2 w/w), △; tricomponent of PLH/Stevia-G/SDS (1/2/1 w/w/w)). Each point represents the mean±S.E. (n=6).

Table 3. AUC values of untreated PLH and Tricomponent system during 8 hours after oral administration. (**p< 0.01, compared to the untreated PLH, Bicomponent of PLH/SDS (1/1 w/w) and Bicomponent of PLH/ Stevia-G (1/1 w/w)).

| | AUC _{0-8h} (µg·h/mL) |
|--|-------------------------------|
| Untreated PLH | 136.70 ± 28.50 |
| Bicomponent of PLH/SDS (1/1 w/w) | 189.13 ± 14.28 |
| Bicomponent of PLH/Stevia-G (1/2 w/w) | 231.85 ± 17.14 |
| Tricomponent of PLH/SDS/Stevia-G (1/1/2 w/w/w) | 438.86 ± 68.82 ** |

5. 結論

FP 及び PRO と糖転移化合物を噴霧乾燥法により固体分散体を調製したところ、溶出試験液の pH に依存せず、噴霧乾燥物は原末と比べ顕著に高い溶解性改善効果を示し

た。また溶解性改善のメカニズムは、糖転移化合物が水中で形成するミセル様の分子集合体構造が寄与していることを見出した。調製した粒子をラットに経口投与したところ、いずれの粒子も原末と比べ顕著に高い吸収量を示した。Stevia-G とイオン性界面活性剤の混合は、難水溶性薬物の溶解性を顕著に向上した。Stevia-G とイオン性界面活性剤の混合が示す高い溶解性改善効果の解明を行ったところ、Stevia-G とイオン性界面活性剤の混液は、Stevia-G が単独で形成する分子集合体構造より、低い Stevia-G 濃度で分子集合体を形成していることが明らかとなった。このことから、Stevia-G とイオン性界面活性剤の間で相互作用が生じ、コンポジットが形成されていると考えられた難水溶性薬物及び Stevia-G とイオン性界面活性剤の三成分を物理混合した後ラットに経口投与したところ、薬物原末と比べ顕著に高い薬物吸収量を示した。Stevia-G とイオン性界面活性剤で形成されるコンポジットは、噴霧乾燥などの特別な処理を必要とすることなく難水溶性薬物の溶解性及び吸収性を改善することから、新規処方としての応用が期待される。以上、糖転移化合物が示す高い溶解性改善メカニズムを解明することができ、糖転移化合物の新規医薬品添加剤としての有用性を示すことに成功した。また、Stevia-G とイオン性界面活性剤が形成するコンポジットの新規処方としての有用性を示すことにも成功した。糖転移化合物が今後医薬品添加剤として応用を目指す上で重要な知見を示すことに成功した。本研究は新規添加剤として Hsp-G 及び Stevia-G の応用を目指したものであり、Hsp-G 及び Stevia-G に関して、医薬品への応用やその可溶性メカニズムの解明などを報告した初めての報告となる。

6. 謝辞

本研究に関して貴重な御助言を賜りました大阪薬科大学 製剤設計学研究室 戸塚裕一教授、岐阜薬科大学薬物送達学大講座 製剤学研究室、田原耕平助教に深甚なる謝意を表します。本研究全般にわたり御協力頂きました岐阜薬科大学製剤学研究室各位に感謝致します。

7. 引用文献

- 1) S. Brenner, R.A. Lerner, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 89, 5381-5283 (1992).
- 2) A. Persidis, Nature biotechnology 16 (1998) 488-489.
- 3) J.J. Sheng, N.A. Kasim, R. Chandrasekharan, G.L. Amidon, Eur. J. Pharm. Sci. 29, 306-314 (2006) .
- 4) G.E. Granero, C. Ramachandran, G.L. Amidon, Drug Dev. Ind. Pharm. 31, 917-922 (2005).
- 5) G.Z. Papageorgiou, D. Bikiaris, E. Karavas, S. Politis, A. Docoslis, Y. Park, A. Stergiou, E. Georgarakis, AAPS J. 8, 623-631 (2006).
- 6) Y. Tanaka, M. Inkyo, R. Yumoto, J. Nagai, M. Takano, S. Nagata, Chem. Pharm. Bull. 57, 1050-1057 (2009).
- 7) S. Sinha, M. Ali, S. Baboota, A. Ahuja, A. Kumar, J. Ali, AAPS PharmSciTech. 11, 518-527 (2010).
- 8) F. Qian, J. Huang, M.A. Hussain, J. Pharm. Sci. 99, 2941-2947 (2010).
- 9) M.K. Gupta, R.H. Bogner, D. Goldman, Y.C. Tseng, Pharm. Dev. Technol. 7, 103-112 (2002).
- 10) R.H. Potluri, S. Bandari, R. Jukanti, P.R. Veerareddy, Arch. Pharm. Res. 34, 51-57 (2011)
- 11) R. Pignatello, M. Ferro, G. Puglisi, AAPS PharmSciTech. 3, 35-45 (2002).
- 12) J. Shokri, A. Nokhodchi, A. Dashbolaghi, , T. Ghafourian, M. Barzegar, Int. J. Pharm. 228, 99-107 (2001).
- 13) S.H.Park, M.K. Choi, Int. J. Pharm. 321, 35-41 (2006).
- 14) J.H. Smidt, J.C. Offringa, D.J. Crommelin, J. Pharm. Sci. 80, 399-401 (1991).
- 15) S.K. Mehta, S. Chaudhary, R. Kumar, K.K. Bhasin, J. Phys. Chem. B. 113, 7188-7193 (2009).
- 16) Y. Yan, J. Huang, J. colloid Int. Sci. 337, 1-10 (2009).
- 17) W. Zhang, Y. Shi, Y. Chen, S. Yu, J. Hao, X. Sha, X. Fang, Eur. J. Pharm. Biopharm. 75, 341-353 (2010).
- 18) T. Kometani, T. Nishimura, T. Nakae, H. Takii, S. Okada, Biosci. Biotech. Biochem. 60, 645-649 (1996).
- 19) T. Kometani, T. Nishimura, T. Nakae, H. Takii, S. Okada, Food Sci. Technol. Res. 5, 265-270 (1999).
- 20) T. Kometani, T. Fukuda, T. Kakuma, K. Kawaguchi, W. Tamura, Y. Kumazawa, K. Nagata, Immunopharmacol. Immunotoxicol. 30, 117-134 (2008).
- 21) Y. Tozuka, J. Kishi, H. Takeuchi, Adv. Powder Tech. 21, 305-309 (2010).
- 22) P. Chan, D.Y. Xu, J.C. Liu, Life Sci. 63, 1679-1684 (1998).
- 23) N. Yagi, Y. Terashima, H. Kenmotsu, H. Sekikawa, M. Takada, Chem. Pharm. Bull. 44, 241-244 (1996).
- 24) J.S. Kim, M.S. Kim, H.J. Park, S.J. Jin, S. Lee, S.J. Hwang, Int. J. Pharm. 359, 211-219 (2008).
- 25) B.C. Hancock, M. Parks, Pharm. Res. 17, 397-404 (2000).
- 26) H.A. Garekani, F. Sadeghi, A. Ghazi, Drug Dev. Ind. Pharm. 29, 173-179 (2003).
- 27) T. Mizoe, S. Beppu, T. Ozeki, H. Okada, J. Control Release. 120, 205-210 (2007).
- 28) S. Flemming Nielsen, E. Gibault, H. Ljusber-Wahren, L. Arleth, J. Pharm. Sci. 96, 876-892 (2007).
- 29) Y. Kubo, Y. Terashima, N. Yagi, H. Nochi, K. Tamoto, H. Sekikawa, Biol. Pharm. Bull. 32, 1880-1884 (2009).
- 30) J. Shudo, A. Pongpeerapat, C. Wanawongthai, K. Moribe, to, Biol. Pharm. Bull. 26, 321-325 (2007).
- 31) N.J. Turro, J. Am. Chem. Soc. 100, 5951-5952 (1978).
- 32) M.E. Haque, A.R. Das, S.P. Moulik, J. Colloid Interface Sci. 217, 1-7 (1999).
- 33) Zhang J, Tozuka Y, Uchiyama H, Higashi K, Moribe K, Takeuchi H, Yamamoto K. J. Pharm. Sci. 100, 4421-4431 (2011).
- 34) J.M. Hierrezuelo, J. Aguiar, C. Ruiz, J. colloid Int. Sci. 294,

449-457 (2005).

35) S. Chono, E. Takeda, T. Seki, K. Morimoto, *Int. J. Pharm.* 347, 71-78 (2008).

36) T. Mizoe, T. Ozeki, H. Okada, *J. Control Release*, 122, 10-15 (2007).

8. 特記事項

本総説は、岐阜薬科大学博士論文（甲 135 号）の内容を中心にまとめたものである。