

キトサンの経皮吸収型製剤のためのゲル基剤への応用
に関する研究



甲第25号

佐野 元彦

キトサンの経皮吸収型製剤のためのゲル基剤への応用
に関する研究

佐野 元彦

総論の部

序論

第1章 ゲル化に用いる高分子の荷電状態と薬物の皮膚透過性との関係

- 1 節 各種水溶性高分子共存時の塩酸モルヒネの放出性の検討 5
- 2 節 各種水溶性高分子共存時の塩酸モルヒネの抽出皮膚透過性の検討 8
- 3 節 第1章の考察 10

第2章 キトサンゲルの物理的特性と溶媒組成の関係

- 1 節 キトサンの各種溶媒中における溶解性の検討 14
- 2 節 キトサンゲルの保形性と溶媒組成の関係の検討 20
- 3 節 第2章の考察 27

第3章 吸収促進剤を含有するキトサンゲルからの塩酸モルヒネの皮膚透過性の評価

- 1 節 吸収促進剤を含有する溶媒系における保形性キトサンゲルの検討 30
- 2 節 キトサンゲルからの塩酸モルヒネの皮膚透過性の検討 34
- 3 節 第3章の考察 37

結論 40

謝辞 42

実験の部

第1章の実験 43

第2章の実験 45

第3章の実験 48

引用文献 50

総論の部

総論の部

序論

全身作用を有する薬物の経皮吸収型製剤は、持続的な薬物吸収が長時間得られること、吸収過程における肝初回通過効果を回避できること、第三者による投与が可能であること、製剤を剥がすことにより投与の中断が可能であることなど、多くの利点を有しており、現在臨床の場で広く用いられている。¹⁻⁴⁾ この経皮吸収型製剤が具備すべき基本的な事項としては、主薬の皮膚透過性が十分であること、含有する薬物の安定性が維持されること、一定面積の皮膚に安定して薬物を供給できること、貼付・剥離などの取り扱いが容易であることなどが挙げられる。これらの事項を満足するためには、薬物を含有させる基剤の性能の確保が非常に重要である。すなわち、経皮吸収型製剤用の基剤は、十分な薬物の皮膚透過速度を確保する機能（経皮吸収促進能）と貼付・剥離などの取り扱い上の性能（物理的性能）の両面において満足するものである必要がある。⁵⁻⁸⁾

皮膚は、本来外界からの種々刺激から身体を守る機能を有する組織であり、薬物の皮膚透過性は一般に低い。したがって、十分な薬物の皮膚透過速度を確保することは、経皮吸収型製剤の設計において非常に重要である。薬物の皮膚透過速度を増加させる方法としては、薬物の皮膚透過を増加させる作用を有する添加剤（吸収促進剤）を使用する方法（化学的促進法）と電気、光、熱、音波などの他のエネルギーを用いる方法（物理的方法）がある。⁹⁻¹⁷⁾ 経皮吸収促進剤は、身体に対して有害な作用を示すことなく薬物の皮膚透過速度を増大させる化合物およびその混合物であり、有効な吸収促進剤が得られれば、物理的な吸収促進法を用いる場合と比較してシンプルな製剤設計が可能となる。これらのことを背景として、現在まで経皮吸収促進作用を有する新規化合物、植物由来のテルペン類、アルコール・グリコール類、脂肪酸およびそのエステルなど、広範囲な化合物についてその作用が評価されてきた。経皮吸収型製剤の基剤にはこれらの成分の機能を十分発揮するように保持させることが必要となる。¹⁸⁻²⁴⁾

一方、性能がよい経皮吸収型製剤を開発するためには、基剤の物理的性質も理想的にする必要がある。すなわち、その基剤は適切な硬さや弾力を

有し、皮膚表面に適度な強さで付着し、必要な透過面積が適用期間維持され、また剥がすとき皮膚に残ったり痛みを伴ったりすることがないなどという性能が求められる。基剤にこのような性能を付与するために最も一般的に用いられているのは高分子化合物である。^{25, 26)} 現在テープ剤、プaster剤などの経皮吸収型製剤には、天然ゴム、合成ゴム、アクリル系感圧接着剤などが利用されており、これらは溶剤などの他の成分の最終含量が比較的低い。一方、パップ剤などでは、同様に高分子成分は用いられているものの、その含量は比較的低く、主となる成分が溶剤である、いわゆるゲル剤の形態を取っている。^{27, 28)} パップ剤においては、水を主とするこの溶剤が気化熱を患部より奪うことで冷却作用を示すことがゲル性の基剤を用いることの利点であると考えられているが、全身作用を有する薬物の経皮吸収型製剤においても、溶剤として吸収促進作用を有する溶媒系を用いることで高い薬物皮膚透過が期待できることから、ゲル性の基剤は非常に有望であると考えられている。

経皮吸収型製剤に用いるゲル性の基剤については、経皮吸収促進能と物理的性能の両面においてこれまで多くの研究が行われている。²⁹⁻³²⁾ 全身作用を有する薬物の経皮吸収型製剤においては、特に必要な透過面積が適用期間維持されることが重要であることから、通常の軟膏剤に用いるゲル剤に比較して高い保形性（形を保持する能力）が求められる。ゲルに保形性を付与する方法としては、架橋の挿入が考えられる。最も確実で強い架橋が得られる方法は、共有結合を形成する架橋剤の使用であるが、主薬に対しても反応する可能性があることから、その使用には慎重になる必要がある。現在、パップ剤に広く用いられている架橋法は、イオン架橋法である。イオン架橋法とは、イオン対の形成によって架橋を形成させる方法であり、パップ剤の場合、アクリル酸誘導体などのポリアニオン性の水溶性高分子に多価の金属イオンを添加して、高分子-金属-高分子の結合を形成させることにより保形性が維持されている。^{33, 34)} この方法は、パップ剤における技術の集積があることから、全身作用性薬物の経皮吸収型製剤への応用も期待されているが、以下の二つの点で問題がある。1) 経皮吸収促進剤として現在まで検討されている化合物の多くはアルコールなどの有機性の成分であるが、³⁵⁻³⁸⁾ イオン架橋したゲルはアルコールなどの保持能力が低

く、したがって吸収促進剤の使用に制限が生じる可能性がある。2) パップ剤中の主薬は非ステロイド系の抗炎症薬であり、これらはアニオン性の化合物である。しかし、一般的にカチオン性の薬物も多く存在しており、もしカチオン性の薬物をパップ剤と同様な基剤に添加した場合、薬物と高分子鎖が相互作用し、薬物皮膚透過性が減少することが予想される。したがって、全身作用を有する薬物の経皮吸収型製剤への応用を考慮した場合、パップ剤に用いられているものとはまったく異なる架橋ゲル、例えばカチオン性高分子を主鎖とし、多価アニオンにより架橋するような新しい架橋ゲル系の構築が非常に重要な研究になると思われる。

カチオン性高分子を主鎖とする架橋ゲル系を構築する場合、その骨格であるカチオン性高分子の選択は非常に重要となる。キトサン(CHI)は、自然界に存在する材料から多量に得ることができ、また多くの機能が期待できることから最近注目されている材料である(Fig. 1)。³⁹⁻⁴¹⁾ CHI は、例えばカニの甲羅中のキチンを脱アセチル化することで得られ、その結果として分子内に多くのアミノ基を持つ。また、一部のアセチル基は分子内に残存していることから、ある程度の疎水性も期待できる。これらのことから、全身作用を有する薬物の経皮吸収型製剤のゲル基剤に用いる材料として、CHI は非常に有望であり、もし CHI を主鎖としてそれを多価アニオンにより架橋したゲル基剤が得られれば、その応用性は非常に高くなるものと期待できる。

そこで本研究では、がん患者の疼痛管理において有用であり、その経皮吸収型製剤の開発が期待されているカチオン性薬物である塩酸モルヒネをモデル薬物として選択し、⁴²⁻⁴⁴⁾ 先ず解離基を有する薬物の皮膚透過性に及ぼす高分子電解質の影響を検討する目的で、塩酸モルヒネの皮膚透過に及ぼす高分子共存の影響について検討し(第1章)、また塩酸モルヒネの経皮吸収を促進する効果を有することが報告されている溶媒系を用いた場合のCHI のゲル形成能について検討を行い(第2章)、さらに塩酸モルヒネを含有したCHI ゲルからなる経皮吸収型製剤を試作し、塩酸モルヒネの皮膚透過性について *in vitro* において検討を行った(第3章)。

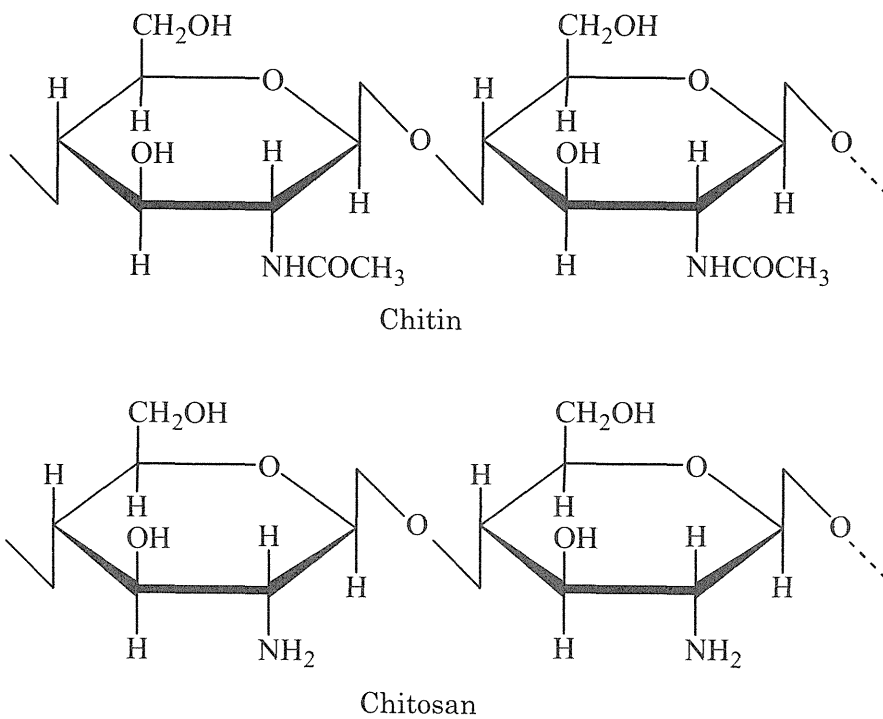


Fig. 1 Chemical Structures of Chitin and Chitosan

高分子電解質は、複数の電荷が共有結合によりつながっているため、相互の反発に起因する低分子の電解質とは異なった特性を示す。⁴⁶⁻⁴⁸⁾ すなわち、隣り合った解離基同士の反発を解消するため、塩形性が高く、この性質がイオン交換樹脂などに利用されている。パップ剤などの外用剤の基剤もこの性質を利用したものが多い。外用剤の基剤に用いられる高分子電解質の多くは、ポリアクリル酸誘導体であり、この溶液に2価や3価の金属イオンを添加することで、2もしくは3個のカルボン酸が金属イオンを挟む形のイオン架橋を形成し、溶液はゲル化される。現在パップ剤に添加されている非ステロイド系消炎鎮痛剤(NSAID) はアニオン性の薬物であり、これらの製剤が十分な薬効を示すことは臨床において広く確認されている。しかし、序論でも述べたように、全身作用性の経皮吸収型製剤への応用が期待されている薬物にはカチオン性の化合物も多く、それらの薬物をアニオン性高分子を用いたイオン架橋ゲルに添加した場合、高分子電解質が有する上述のイオン交換樹脂としての性質から、それらがゲル中に保持され、十分な薬物吸収が得られない可能性がある。

そこで本章では、荷電状態の異なる各種高分子を用いて調製した *l*-メントールとエタノールを吸収促進剤として含む溶液からの塩酸モルヒネの放出性ならびに皮膚透過性について検討を行った。⁴⁹⁻⁵⁸⁾ *l*-メントールとエタノールを水に添加した系は、塩酸モルヒネを始め、いくつかの薬物で高い皮膚透過促進作用を示すことが既に報告されている。本章では、比較の目的で、アニオン性薬物であるサリチル酸ナトリウムについてもその皮膚透過性への高分子共存の影響を評価した。

1 節 各種水溶性高分子共存時の塩酸モルヒネの放出性の検討

高分子溶液からの薬物の放出には、一般に溶液の粘度が重要な要因になると考えられているが、塩酸モルヒネの場合、モルヒネ自体がカチオン性であるため、高分子電解質、特にアニオン性高分子が共存する条件において、分子間の相互作用により放出性が低下することが予想される。⁵⁹⁻⁶¹⁾ そこで各種高分子溶液からの塩酸モルヒネの放出を比較した。Table 1 に用い

た高分子の略語および各高分子溶液の物性を、また Fig. 2 に放出実験の結果を示す。

Table 1 Properties of Polymer Solutions Used in Release and Skin Permeation Studies

			MW	%	Viscosity (mPa·s)
Anion	Carboxyvinylpolymer	CVP	3,000,000	1.0	58.8
	Methylvinylether-maleic anhydride copolymer	MEM	67,000	3.0	245.8
Nonion	Polyethylene oxide	PEO	700,000	3.0	209.4
	Hydroxypropylcellulose	HPC	130,000	3.0	100.0
Cation	Polyethyleneimine	PEI	70,000	3.0	7.2
	Chitosan	CHI	200,000	1.0	1145.0

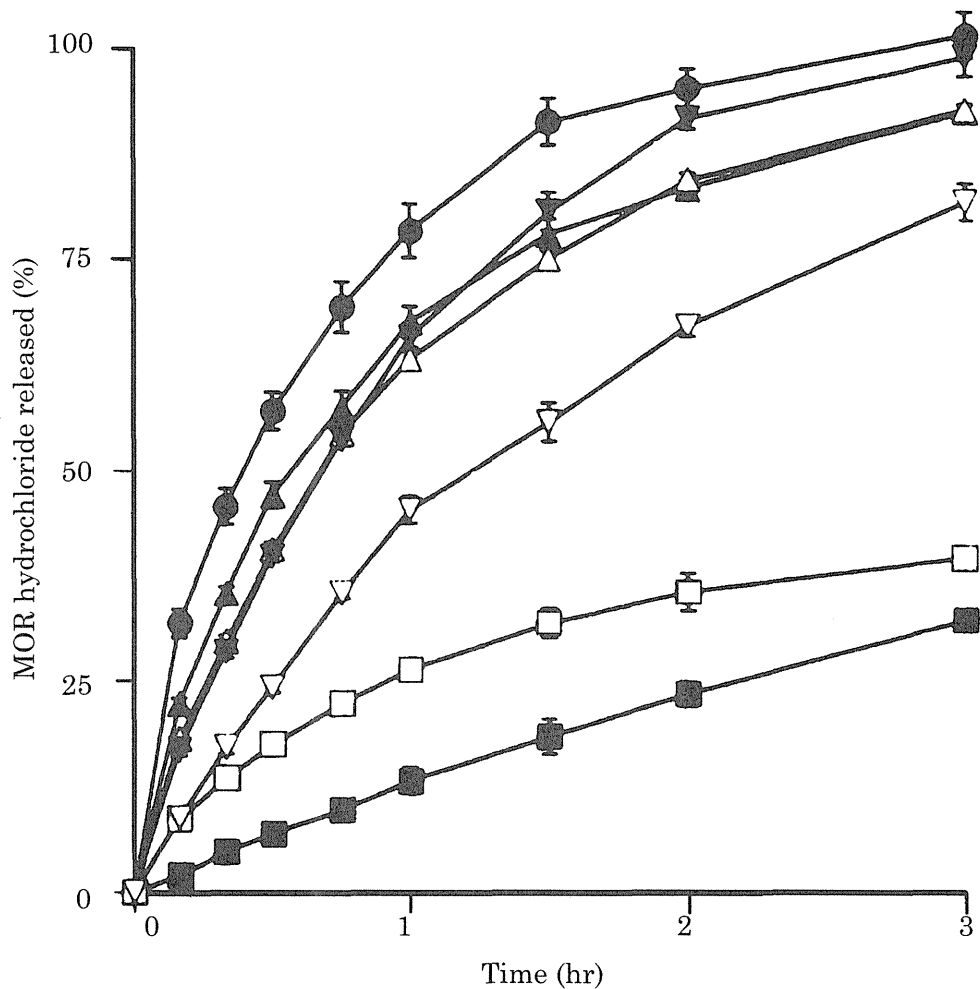


Fig. 2 Effects of Polymers on the Release of Morphine (MOR) Hydrochloride
 ●, without polymer; ▲, 3% PEO; △, 3% HPC; ■, 3% MEM; □, 1% CVP; ▼, 3% PEI; ▽1% CHI.
 Each point represents the mean \pm S.E. of 3 experiments.

各高分子溶液の粘度は、without polymer (1.8 mPa·s) < 3% PEI < 1% CVP < 3% HPC < 3% PEO < 3% MEM < 1% CHI の順であり、アニオン性高分子を除くと、塩酸モルヒネの3時間までの放出率の大小関係 (without polymer > 3% PEI > 3% HPC = 3% PEO > 1% CHI) は、溶液の粘度の違いでほぼ説明できた。アニオン性高分子である CVP と MEM の場合、塩酸モルヒネの放出は極端に低く、これはモルヒネの陽電荷と高分子の陰電荷がイオン相互作用した結果であると考えられる。

2 節 各種水溶性高分子共存時の塩酸モルヒネの摘出皮膚透過性の検討

塩酸モルヒネの放出性に関して評価した各溶液について、ヘアレスラット腹部摘出皮膚を用い、塩酸モルヒネの皮膚透過性を比較した。その結果を Fig. 3A に示す。

塩酸モルヒネのヘアレスラット皮膚透過速度は、放出速度より遅く、このことから皮膚透過の全過程において、皮膚透過過程が律速段階と考えることができる。非イオン性高分子である PEO と HPC を含む溶液の場合、塩酸モルヒネの皮膚透過速度は高分子を含まない溶液とほぼ等しく、これは、放出過程が律速段階でないことから、その速度が全体の過程に反映されなかった結果と考えられる。一方、アニオン性高分子である CVP と MEM を含む溶液の場合、塩酸モルヒネの皮膚透過は低く、これは放出実験において観察されたのと同様、モルヒネの陽電荷と高分子の陰電荷がイオン相互作用した結果であると考えられる。興味深い結果として、CHI を含む溶液において最も高い塩酸モルヒネの皮膚透過が観察され、CHI と同様カチオン性高分子である PEI においても高分子を含まない溶液より高い皮膚透過が観察された。この現象は、モルヒネの陽電荷と高分子の陽電荷の静電的反発に起因すると推察できる。

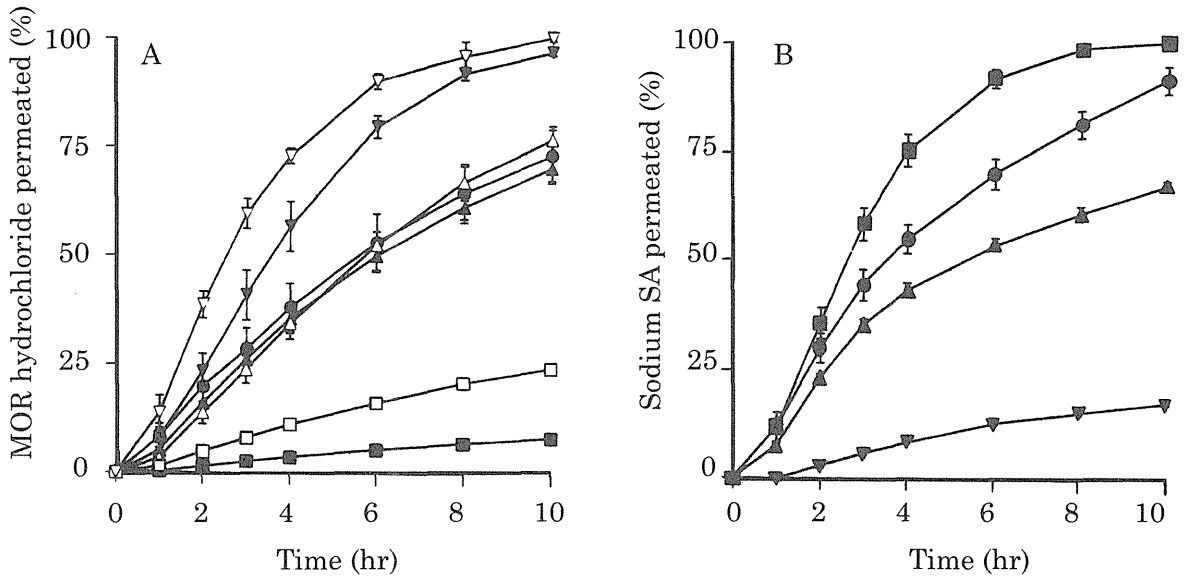


Fig. 3 Effects of Polymers on the Permeation of Morphine (MOR) Hydrochloride and Sodium Salicylate (SA) through Hairless Rat Skin

A, MOR hydrochloride; B, Sodium SA.

●, without polymer; ▲, 3% PEO; △, 3% HPC; ■, 3% MEM; □, 1% CVP; ▼, 3% PEI; ▽1% CHI.

Each point represents the mean \pm S.E. of 3 experiments.

そこで、塩酸モルヒネと荷電の異なるサリチル酸ナトリウムを用いて、その皮膚透過に及ぼす高分子の荷電状態の影響を検討した。その結果を Fig. 3B に示す。サリチル酸ナトリウムの皮膚透過速度の順位は、3% PEI < 3% PEO < without polymer < 3% MEM の順であり、異なる電荷における皮膚透過の抑制と同じ電荷における皮膚透過の促進が塩酸モルヒネの場合と同様観察された。この同じ電荷を有する薬物と高分子の共存時の薬物透過の促進は、Donnan 膜平衡により説明可能かもしれない。^{62, 63)} そこで次に、セルロース透析膜を用いて膜平衡実験を行った。セルロース透析膜への影響を回避するため、溶媒としては精製水を用い、片側のセルに塩酸モルヒ

ネ 10 μ g/mL 溶液を、反対側のセルに 10 μ g/mL の PEI もしくは CVP を含む塩酸モルヒネ 10 μ g/mL 溶液をそれぞれ加え、平衡に達した後の両セルにおける塩酸モルヒネの濃度比を比較した。その結果を Table 2 に示す。濃度比 ($C_{-polymer}/C_{+polymer}$) の値は、PEI において 1 以上、CVP において 1 以下であり、Donnan 膜平衡の効果が確認された。

Table 2 Effects of PEI and CVP on the Equilibrium State of Morphine Hydrochloride

	PEI	CVP
$C_{-polymer}/C_{+polymer}$	1.17 \pm 0.02	0.93 \pm 0.04
	mean \pm S.D.	

3 節 第 1 章の考察

本章では、経皮吸収型製剤の基剤に添加する高分子の荷電状態が薬物との相互作用の観点から重要と考え、種々高分子を用いて、吸収促進剤として *l*-メントールとエタノールを含む溶液からの塩酸モルヒネの放出性ならびに皮膚透過性に及ぼす影響を評価した。これらの吸収促進剤が含まれることで溶液の誘電率は低下するので、イオン相互作用の影響は水溶液と比べ更に高くなることが予想される。⁶⁴⁾

塩酸モルヒネの放出は、アニオン性高分子である CVP および MEM の共存時低下し、これはモルヒネの陽電荷と高分子の陰電荷のイオン相互作用の結果と考えられた。非イオン性もしくはカチオン性高分子の場合、その溶液からの塩酸モルヒネの放出は、溶液の粘度の違いによりほぼ説明できた。

吸収促進剤を含む各種高分子溶液をヘアレスラット腹部摘出皮膚に適用した場合、塩酸モルヒネの皮膚透過は比較的速やかであり、10時間までの累積透過量は、高分子を含まない条件で70%以上であった。しかし、放出速度と比較すると皮膚透過速度は遅く、皮膚透過過程が透過過程の律速段階であることが示された。非イオン性高分子である HPC および PEO を含む溶液からの皮膚透過速度が、放出速度が高分子を含まない溶液と比較して低いにも関わらず同等であった結果は、放出過程が律速段階になっていないことによると考えられる。一方、荷電を有する高分子の場合、塩酸モルヒネの皮膚透過速度は高分子を含まない溶液と異なることが示されたが、上述の理由から、この現象は速度論的な影響の結果ではなく、基剤中の薬物の化学ポテンシャルの違いとして説明されるべきと考える。アニオン性高分子である CVP および MEM の共存時、塩酸モルヒネの皮膚透過速度は減少したが、これは高分子との相互作用によりモルヒネの逃散傾向もしくは熱力学的な活動度が低下し、そのため皮膚への薬物分配量が減少した結果と捉えることができる。また同様に、カチオン性高分子である PEI および CHI 共存時における皮膚透過速度の増大は、Donnan 膜平衡の効果でモルヒネがカチオン性高分子溶液中で高い化学ポテンシャルを有し、そのため皮膚への薬物分配量が増加した結果として捉えることができる。これらの現象が、薬物と高分子の荷電が異なっているか、同じであるかということによって決まるものであり、特別な相互作用の結果ではないことを確認するため、塩酸モルヒネと荷電状態が異なるサリチル酸ナトリウムを用いても皮膚透過実験を行った。その結果、アニオン性高分子共存時の皮膚透過速度の増加とカチオン性高分子共存時の皮膚透過速度の減少が確認され、これらの現象は荷電の違いにより説明可能であることが示された。

Higuchi は、半透膜の薬物透過速度が、Donnan 膜平衡の効果で、同じ荷電を有する水溶性高分子の共存時に増加することを報告している。⁶⁵⁾ しかし、同様の効果が薬物の皮膚透過において観察されたという報告はこれまで無い。もし同様の効果が全ての膜において観察されるのであれば、本章で行った放出実験もセルロースアセテート膜を介した透過であるので、カチオン性高分子共存時に放出の増大が観察されるべきと考えられる。しかし、これは実験結果と一致しない。何故カチオン性高分子共存時におい

て塩酸モルヒネの皮膚透過速度の増加が観察されたのかということの理由には、用いた基剤には *l*-メントールとエタノールが吸収促進剤として含まれていることが関わっていると推察できる。Fig. 4 に、薬物の膜透過速度への Donnan 膜平衡の効果の有無に関する仮説を模式的に示す。セルロース透析膜のような半透膜の場合、薬物は透過可能であるが、高分子電解質は透過しないため Donnan 膜平衡の効果が現れ、Higuchi が観察したように薬物透過速度が増大すると考えられる。一方、放出実験に用いたセルロースアセテート膜の場合、ポアのサイズが大きく、高分子電解質も透過可能であり、Donnan 膜平衡の効果が現れなかったと考えられる。皮膚の場合、毛根や汗腺など付属器官があるが、その寄与は一般に低いとされており、皮膚は穴の無い脂溶性のバリアーであると考えられている。このような膜の場合 Donnan 膜平衡の効果は現れにくいのもかもしれない。吸収促進剤として *l*-メントールとエタノールを含む基剤を適用した場合、皮膚の状態は通常と異なっていると考えられる。Manabe らは、エタノールを含む基剤を皮膚に適用した場合、その濃度に依存して皮膚中に存在する水溶性化合物が透過可能なポアの占有面積が増加することを報告している。⁶⁶⁻⁶⁸⁾ また彼らは、そのポアの半径がエタノールを適用した場合 19 Å、*l*-メントールを適用した場合 12 Å であると報告している。このポアサイズは、透析膜のそれに近い。すなわち、本章で実施した皮膚透過実験は、吸収促進剤として *l*-メントールとエタノールを含んでいる基剤を用いているので、その作用により皮膚の膜としての性質が透析膜に近くなり、その結果として、塩酸モルヒネの皮膚透過速度において、Donnan 膜平衡の透過速度への効果が現れたと考えることができる。

本章では、経皮吸収型製剤の基剤に用いる高分子の荷電状態が重要と考え、種々高分子を用いて、吸収促進剤として *l*-メントールとエタノールを含む溶液からの塩酸モルヒネの皮膚透過を評価した。その結果、カチオン性高分子である PEI もしくは CHI を用いた場合に、無添加時より高い皮膚透過速度が観察された。CHI はカニの甲羅などの成分として安価で大量に得ることができる材料として現在注目されており、本章の研究でも高い基剤粘度と塩酸モルヒネの高い皮膚透過が得られることが明らかとなり、塩酸モルヒネなどのカチオン性薬物の経皮吸収型製剤の基剤に用いる高分

子として非常に有望であると考えられる。

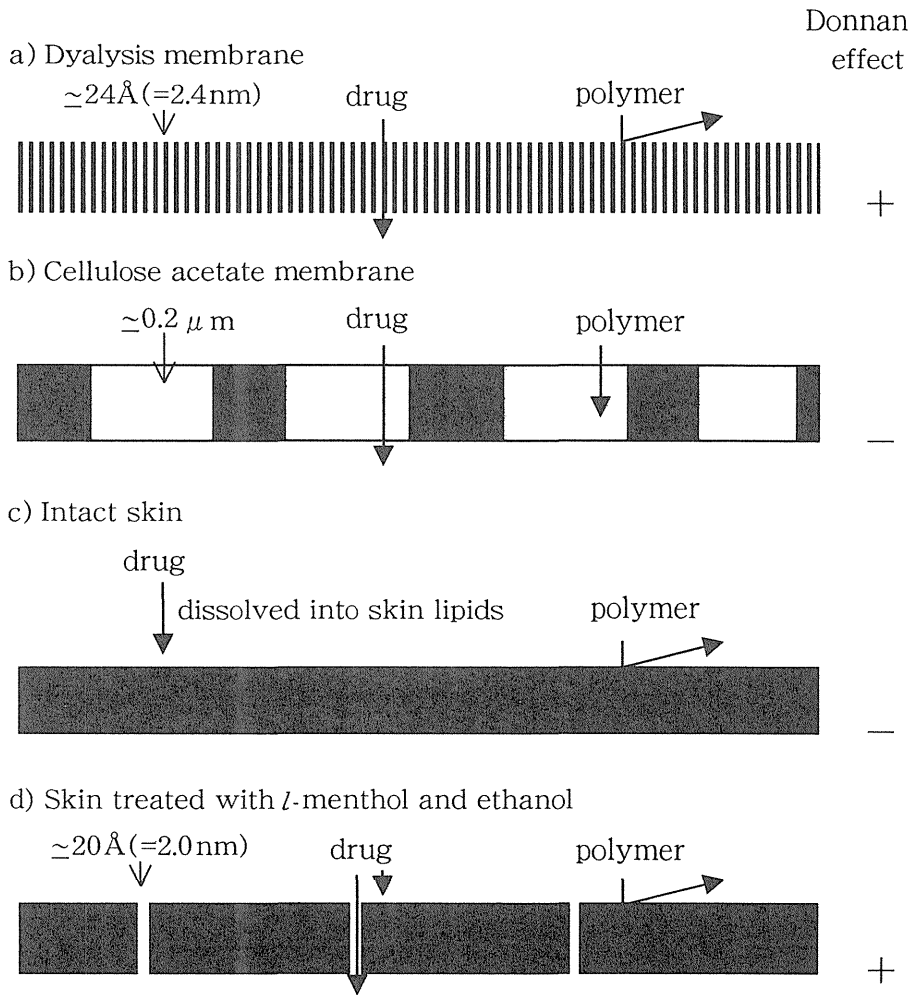


Fig. 4 Consideration for the Donnan Effect on the Permeation of drugs through Different Membranes

第2章 キトサンゲルの物理的特性と溶媒組成の関係⁶⁹⁾

前章において、*l*-メントールとエタノールを含む溶液からの塩酸モルヒネの皮膚透過に及ぼす高分子添加の影響を検討し、カチオン性高分子である PEI もしくは CHI を用いた場合に、無添加時より高い皮膚透過速度が得られることを示した。CHI は、カニの甲羅などをアルカリ処理することにより得ることができる材料であり、処理の方法と時間を変更することで脱アセチル化度が変化し、その疎水性と電荷密度を調節することが可能である。⁷⁰⁻⁷³⁾ 適度なアセチル化度を有する CHI は、疎水性の溶媒への溶解も期待できることから、*l*-メントールやエタノールを吸収促進剤として含む経皮吸収型製剤の基剤に対して形を保つ性質、すなわち保形性を付与するのに有用な材料であると思われる。経皮吸収型製剤の基剤の保形性は、基剤と皮膚が接する面積を適用期間一定に保つ上で、また剥離時の基剤の皮膚上への残存を防ぐ上で必要な特性である。その際、溶液に保形性を付与するための最も一般的な方法は、高分子を用いたゲル化である。

そこで本章では、アセチル化度約 50 %の CHI を用い、アルコール、グリコール、グリセロールなどのアルコール類を種々割合で含む溶液への CHI の溶解性を評価し、またその溶液のゲル化について検討を試みた。

1 節 キトサンの各種溶媒中における溶解性の検討

CHI は、一般に中性では水に溶解せず、その可溶化には酢酸が広く用いられている。例えば、本実験で用いた CHI の場合、その 3 % 溶液は 2 % の酢酸の添加で完全に可溶化される。そこで、疎水性が異なるアルコール類である、イソプロパノール、エタノール、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリンを種々濃度で含む 3 % CHI 、2 % 酢酸溶液を調製し、CHI の溶解状態を観察した。その結果、アルコールを高濃度で含む溶液では CHI が析出して系が不均一になることが明らかとなった。それぞれのアルコール類において系が均一であるアルコール類の最大濃度を臨界濃度(critical concentration) とし、その値を Fig. 5 に示す。Fig. 5 には各アルコール類の極性を比較する目的でそれぞれの溶解度パラメータも併せて示す。⁷⁴⁾ 臨界濃度の値は、最も極性が高い(溶解度パラメータが大

きい) グリセリンにおいて最も高く、最も極性が低い (溶解度パラメータが小さい) イソプロパノールにおいて最も低く、その値の変化はアルコール類の極性の変化と完全に一致した。このことから、用いた CHI は極性溶媒において溶解性が高く、アルコール類の添加によって溶媒の極性が減少した場合、CHI の溶解性も減少することが示唆された。

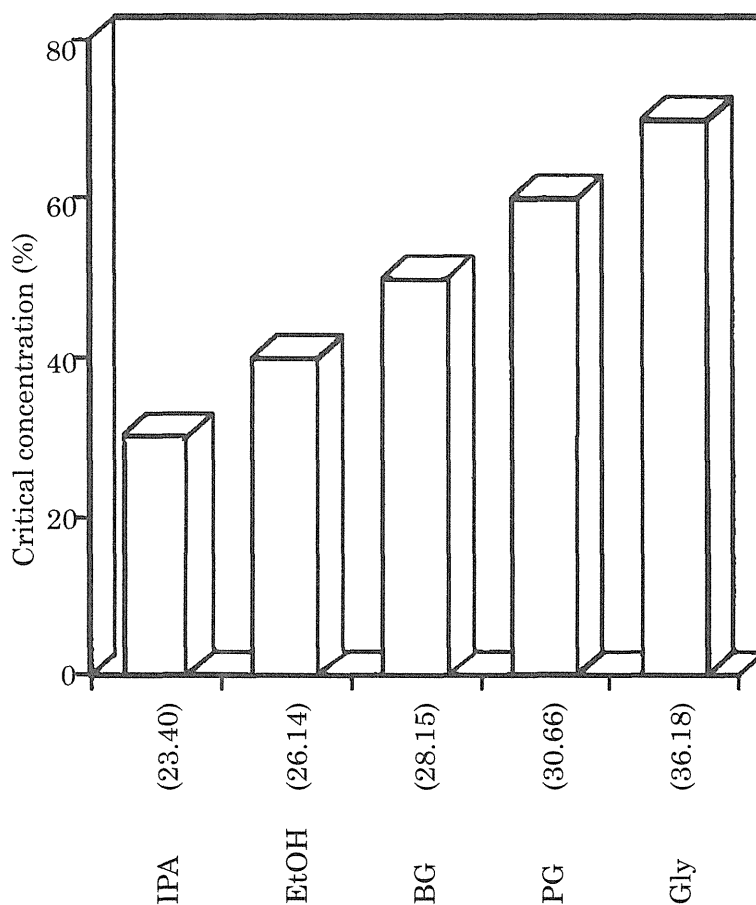


Fig. 5 Critical Concentration of Alcohol in 3 % CHI Solution Containing 2 % Acetic Acid at 32°C

IPA, isopropanol; EtOH, ethanol; BG, 1,3-butylene glycol; PG, propyleneglycol; Gly, glycerol: (solubility parameter; $(J/cm^3)^{1/2}$).

そこで次に、ゲルの調製を意識して、酢酸をシュウ酸に変更してアルコール溶液中への CHI の溶解度を測定した。シュウ酸は 2 価のカルボン酸であることから、CHI の 2 個のアミノ基とイオン相互作用してイオン架橋を形成することが期待できる。Fig. 6 に種々の割合でエタノールを含む 2 % シュウ酸溶液中での CHI の溶解度の値を示す。CHI の溶解度は、エタノールを含まない溶液中で最も高く、その値はエタノール濃度の上昇にしたがって減少した。50 % エタノールでは、Fig. 5 に示した臨界濃度より高いことから、CHI の溶解度は極端に低下した。エタノール濃度 0~40 % の CHI 飽和溶液では、粘度が高く、ゲルの形成が確認された。この結果は、用いた CHI は極性溶媒において溶解性が高く、アルコール類の添加によって溶媒の極性が減少した場合に CHI の溶解性が減少するとした上述の考察と一致する。

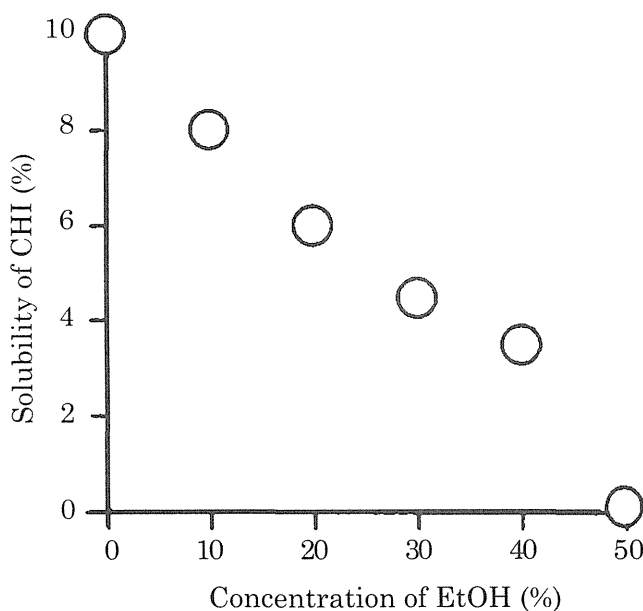


Fig. 6 Solubility of CHI in Aqueous Solution Containing Ethanol (EtOH) and 2 % Oxalic Acid at 32°C

Fig. 5 および 6 において得られた結果が、真に溶媒の極性の違いによって説明されるものか、もしくは各アルコール類の化学構造が何らかの影響を及ぼした結果であるかを解明するため、エタノール溶液中のエタノールの一部を 1,3-ブチレングリコールに置換する効果を検討した。1,3-ブチレングリコールは、アルコール性の OH 基を 2 個有し、溶解度パラメータはエタノールより大きくより極性が高いため、その効果に興味もたれる。Fig. 7 に 40 % もしくは 50 % エタノール溶液の一部を 1,3-ブチレングリコールに置換した場合の CHI の溶解度の変化を示す。エタノールと 1,3-ブチレングリコールのトータル濃度が 40 % の場合、1,3-ブチレングリコールの比率の増大に従い CHI の溶解度は増加した(Fig. 7A)。またエタノールと 1,3-ブチレングリコールのトータル濃度が 50 % の場合、1,3-ブチレングリコール 0 % では臨界濃度以上であり、CHI の溶解度が極度に低いのにに対して、その 10% を 1,3-ブチレングリコールに置換することで CHI の溶解度は増大し、さらに 1,3-ブチレングリコールの比率を増加させることで CHI の溶解度は徐々に増大した(Fig. 7B)。これらの結果から、CHI の溶解度は混合溶媒の極性の高さのみに依存して変化していると考えられる。

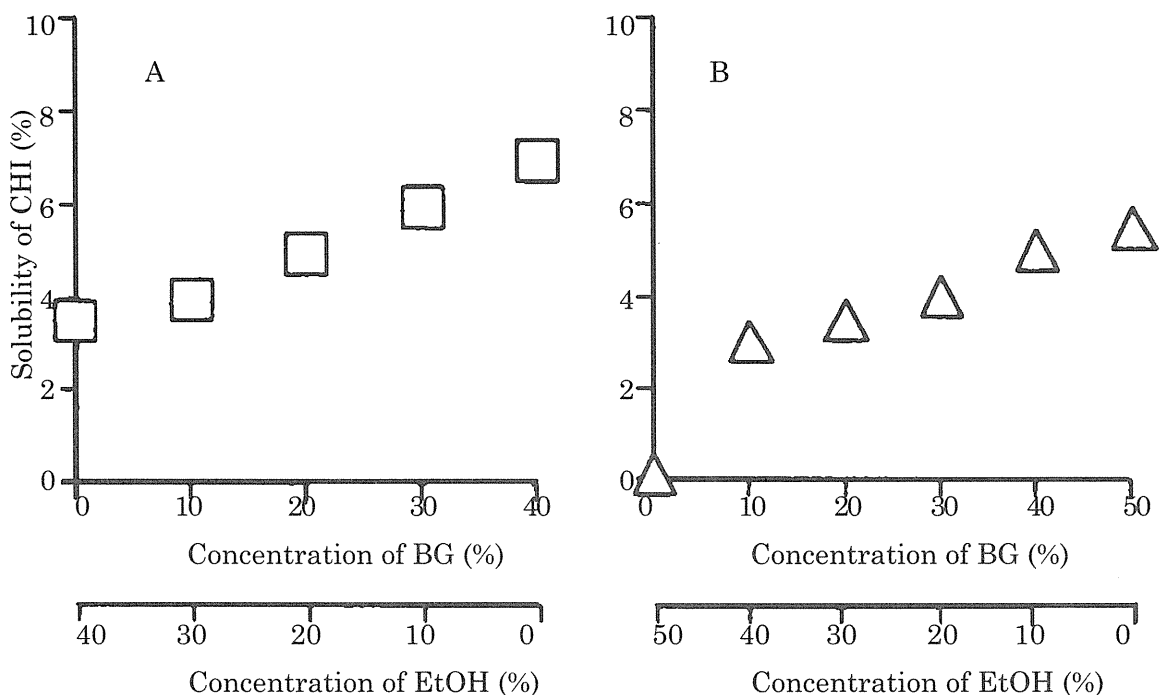


Fig. 7 Solubility of CHI in Aqueous Solution Containing Ethanol(EtOH), 1,3-Butylene glycol (BG) and 2 % Oxalic Acid at 32°C
A, EtOH + BG (total 40 %) /water; B, EtOH + BG (total 50 %) /water.

上述の考えを確認するため、各混合溶媒の溶解度パラメータ値を計算し、その値とCHIの溶解度との関係を検討した。⁷⁵⁾ その結果を Fig. 8 に示す。グラフの形状は、大まかには上述の考えを支持するものであるが、用いるアルコール類の種類や量の違いによる影響も完全には否定できない。これらの系におけるCHIの溶解性については、厳密にはアルコール類とCHI間の相互作用の質的、量的変化についても考慮する必要があるのかもしれない。

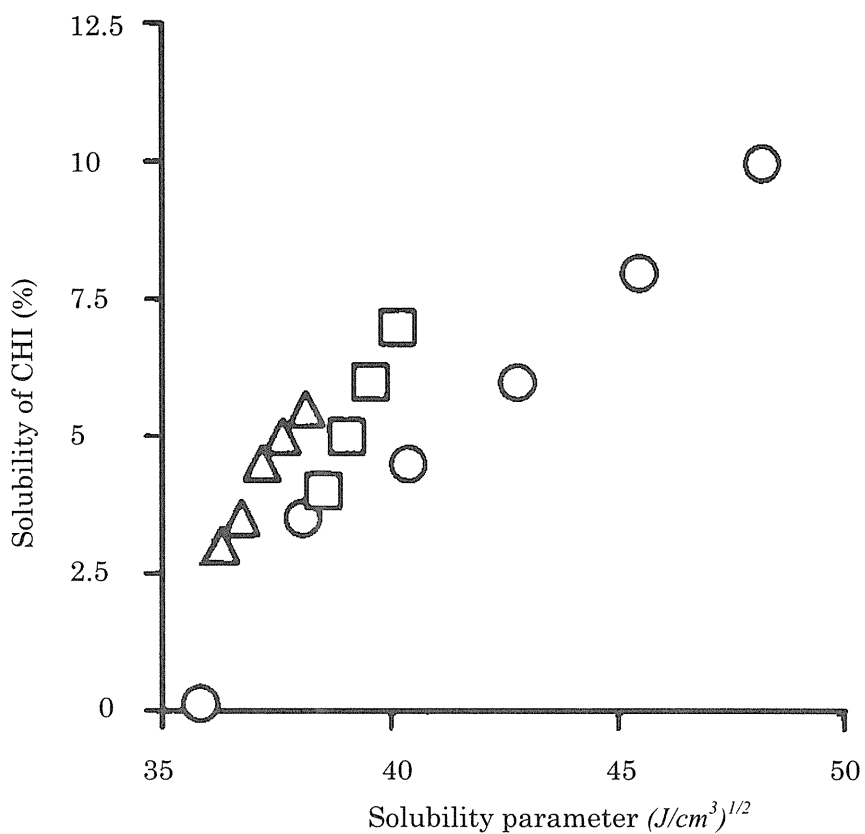


Fig. 8 Relationship between Solubility Parameter of Mixed Solvent and Solubility of CHI in the Solution Containing 2 % Oxalic Acid
 EtOH, ethanol; BG, 1,3-butylene glycol.
 ○, 0–50 % EtOH/water (Fig. 6); □, EtOH + BG (total 40 %)/water (Fig. 7A); △, EtOH + BG (total 50 %)/water (Fig. 7B).

2 節 キトサンゲルの保形性と溶媒組成の関係の検討

前節の検討において調製した CHI 溶液の粘性および弾性は、用いた溶媒の組成によって大きく変化し、保形性を有するゲルから粘度が低い流体まで様々な粘弾性特性を示した。そこで、これらの多様な粘弾性特性を示す試料を同一条件で測定して、その特性を比較できる測定方法について検討した。

想定されるゲルの粘弾性モデルを一般的なモデルと合わせて Fig. 9 に示す。^{76, 77)} 完全な弾性体であるバネの場合、一定の歪みを加えるとそれに対応した応力が発生し、その値は歪み一定の条件で一定値を示す。弾性率(E)はこの歪みと応力の関係から計算される(Fig. 9A)。一方、理想的な粘性体であるダッシュポットをバネと直列に結合したマックスウェルのモデルでは、一定の歪みを加えた場合には応力緩和が観察され、時間無限大において応力はゼロになる。経皮吸収型製剤に用いるゲルは、理想的には完全な弾性体として振舞うことが望ましいが、CHI で調製するゲルの場合には粘性体としての性質も残存すると予想される。したがって、それを表すモデルとしては、バネとマックスウェルのモデルを並列にしたモデルが考えられる(Fig. 9C)。このモデルの場合、歪み一定の条件で、応力は歪み発生直後に最大値を示し、その後一部の応力が緩和して、最終的には弾性成分による応力が残存する。

Fig. 9C に示すようなゲルの粘弾性特性は、一般には動的粘弾性測定装置により評価される。しかし、この装置は高価であり、また本研究での CHI 溶液のように低粘度の溶液から保形性があるゲルまでの広範囲の特性を有する試料を同一条件で比較することが必ずしも容易でない。そこで本研究では、比較的安価なレオメータを用い、これらの多様な試料の粘弾性特性の比較を試みた。

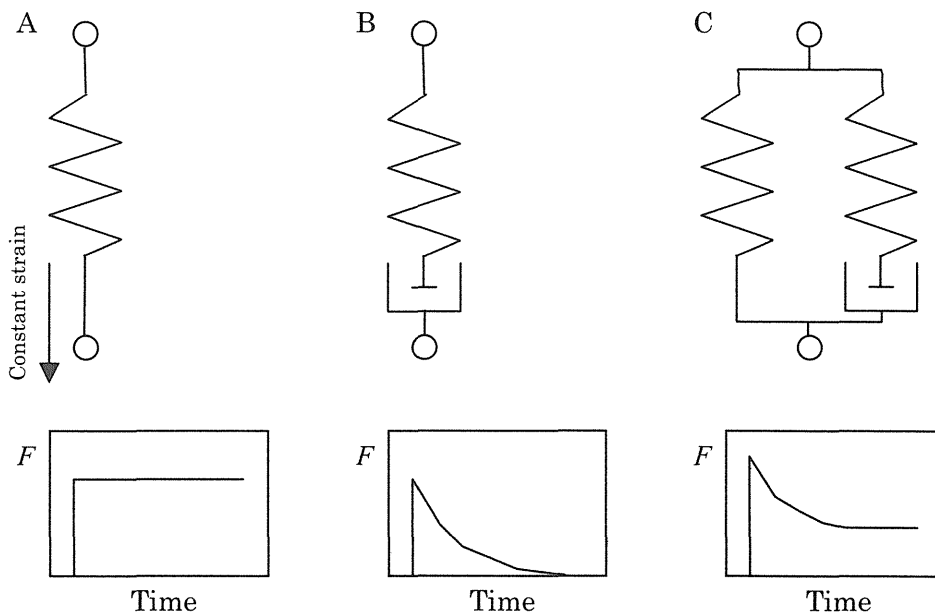


Fig. 9 Viscoelastic Models and Stress-Relaxation Profiles
 A, spring; B, Maxwell model; C, model for CHI gel

Fig. 9C に示すようなゲルに一定の歪みを与えた場合、観察される弾性率の時間変化は Fig. 10 の様になる。このとき、歪みを与えた直後の弾性率の最大値を E_0 、一定時間後一定になった弾性率を E_∞ とすると、ゲルの初期接触時の硬さは E_0 で、ゲルの保形性は E_∞/E_0 で比較することが可能である。これらのパラメータは歪みの程度によって異なるので、試料間の比較は同一歪み条件で行う必要がある。しかし、粘弾性特性が多様な試料に一定の歪みを付与するのは困難である。一般的な測定装置では、プローブが試料に接して応力が発生したところを試料の表面と装置が感知して設定した歪みその後加えられるが、極度に粘度が低い試料では装置の表面感知に遅れが生じ、結果として過大な歪みが加えられてしまう。そこで本研究では、異なった 4 点の歪み値の設定で E_0 および E_∞ を測定し、実際に試

料に生じた歪みとこれらのパラメータの値との関係について回帰分析を実施した。その結果の一例を Fig. 11 に示す。歪みと両パラメータの間には良好な直線関係が示された。各試料の比較は、同様に回帰分析を実施し、歪み 0.04 のときの E_0 および E_∞/E_0 を用いて行った。

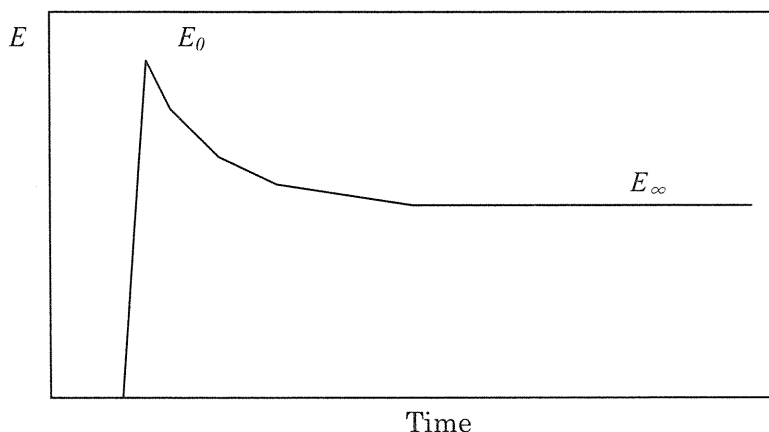


Fig. 10 Time-Profile of Modulus of Elasticity of Gel

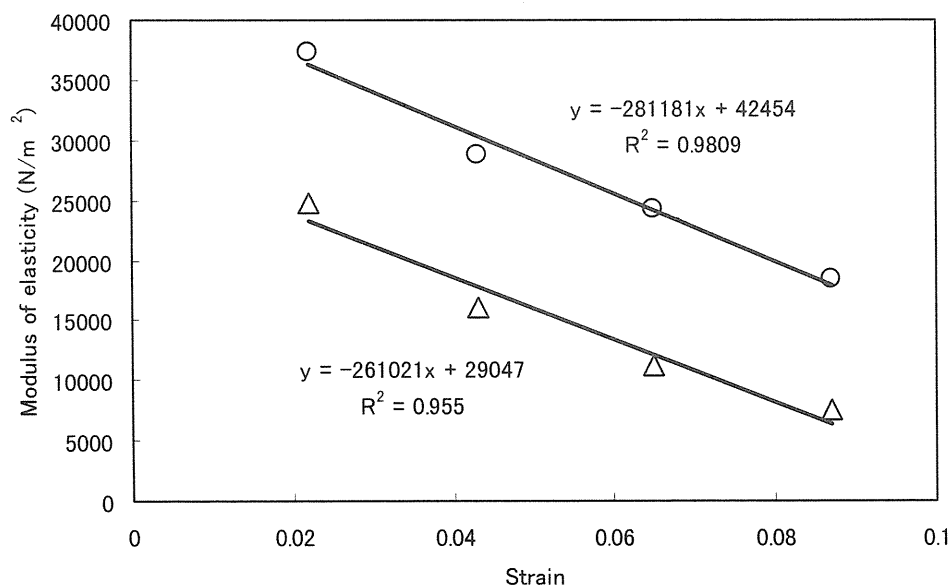


Fig. 11 Relationship between Strain and Modulus of Elasticity of CHI Gel Containing 3% CHI, 2% Oxalic Acid, 10 % 1,3-Butylene glycol, 40 % Ethanol. ○, E_0 ; △, E_∞ .

ゲルの初期接触時の硬さと保形性を表すパラメータとして E_0 および E_∞/E_0 を用い、溶媒組成が異なる各ゲルについてその粘弾性特性を比較した。CHI の濃度は 3 % に、架橋剤であるシュウ酸の濃度は 2 % にそれぞれ固定した。 E_0 および E_∞/E_0 に対するエタノールの影響を Fig. 12 に示す。3 % CHI において、50 % エタノールでは臨界濃度以上であるため系は不均一となり、それ以外の 0~40 % エタノールでは系は均一となった。 E_0 および E_∞/E_0 の値は、エタノール濃度の上昇に従い大きくなったが、系が不均一である 50 % エタノールでは両値とも急激に減少した。0~40 % エタノールでの E_0 および E_∞/E_0 値の変化は、CHI の溶解度の変化 (Fig. 6) と逆であった。50 % エタノールでは、溶解している CHI の濃度が低いため、ゲルの網目構造の形成が十分でないと考えられる。

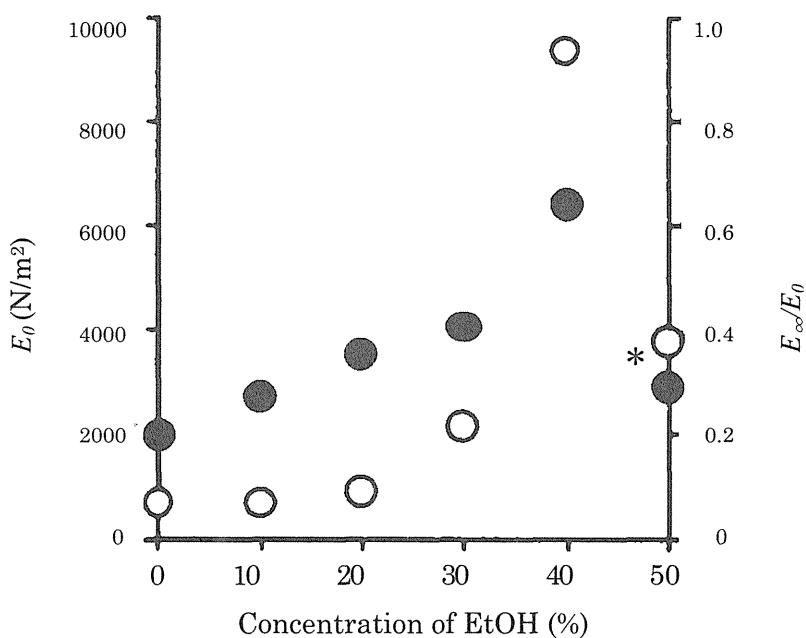


Fig. 12 E_0 and E_∞/E_0 of 3 % CHI Gel Containing Ethanol (EtOH) and 2 % Oxalic Acid

○, E_0 ; ●, E_∞/E_0 . *, Phase-separation occurred.

0~40% エタノールでの E_0 および E_∞/E_0 値の変化が溶媒の極性により説明されるものなのか、もしくはエタノールと CHI の相互作用に関係するものなのかを調べる目的で、溶解度の検討と同様、エタノールの一部を 1,3-ブチレングリコールに置換する効果を検討した。その結果を Fig. 13 に示す。Fig. 13 のデータで 50% エタノールのみが不均一であり、他は全て均一なゲルとなった。系が均一なゲル全てにおいて、CHI の溶解度が低い組成で E_0 および E_∞/E_0 値が高い値を示すことが明らかとなった。CHI のゲルは、溶解度が極度に低い溶媒では十分な保形性を示さないが、系が均一であればゲル中の CHI 濃度とその溶媒中への溶解度が近い場合に保形性が高くなると考えることができる。

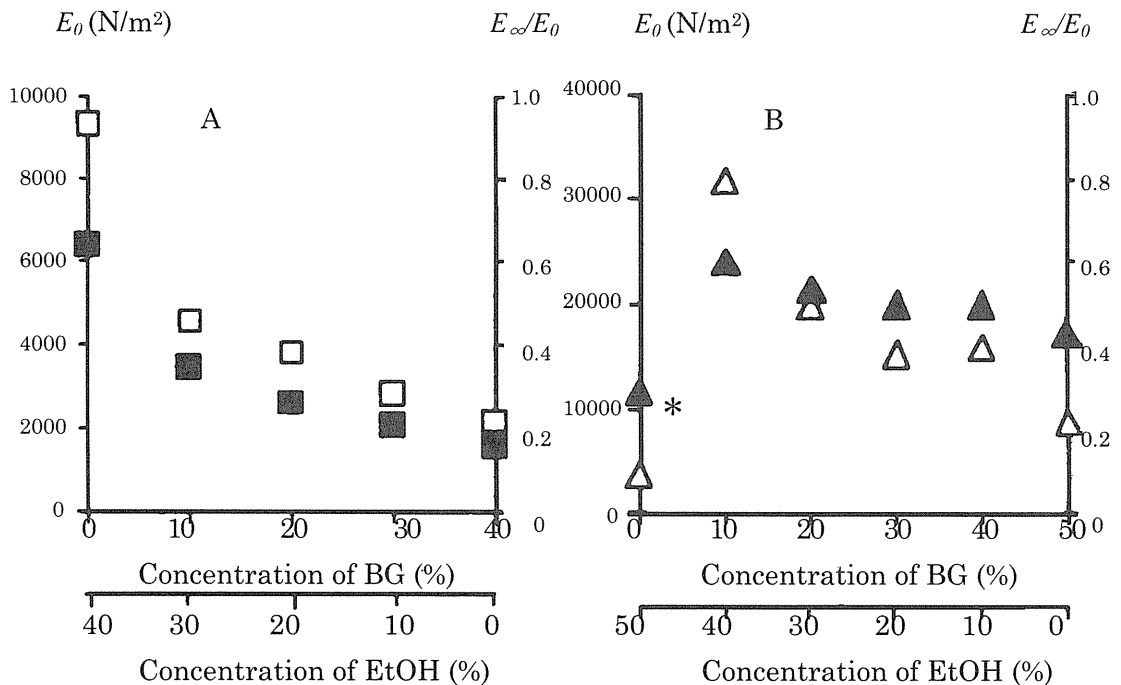


Fig. 13 E_0 and E_∞/E_0 of 3% CHI Gel Containing Ethanol (EtOH), 1,3-Butylene glycol (BG) and 2% Oxalic Acid

A, EtOH + BG (total 40%) /water; B, EtOH + BG (total 50%) /water.

○, E_0 ; ●, E_∞/E_0 . *, Phase-separation occurred.

Fig. 12 および 13 の結果から、CHI ゲルの保形性は、系が均一であれば CHI の溶解度が低い溶媒において高いことが示された。このことから、ゲルの保形性は CHI の絶対的濃度よりはむしろ溶解度に対する相対的な濃度によって決定していることが考えられる。そこで、3 % CHI 以外の条件として、4~8 % CHI/水、1~5 % CHI/ (20 % エタノール+30 % 1,3-ブチレングリコール)、2 % CHI/40 % エタノール、の各条件においてもゲルの保形性を評価し、それらにおける E_0 および E_{∞}/E_0 値を Fig. 12 および 13 の E_0 および E_{∞}/E_0 値と合わせて Fig. 14 にプロットした。グラフの横軸は、CHI のゲル中濃度をその溶媒中の CHI の溶解度で割った相対濃度である。 E_0 については片対数プロットを行ったが、 E_0 の対数値と相対濃度の間には、CHI の実濃度や溶媒系の種類に関らない一定の関係が存在することが示された (Fig. 14A)。このことから、CHI ゲルの初期接触時の硬さは、CHI の実濃度ではなく、溶解度に対する相対的な濃度で決定していると考えられる。溶解度に対する相対的な濃度は、その熱力学的な活動度に関するパラメータであり、溶液中の CHI 分子鎖の高いポテンシャルがゲル形成に関っていると考えられる。また E_{∞}/E_0 値の場合、その値と相対濃度の関係において、溶液中にアルコール類を含まない系 (\diamond) を除き、 E_0 と同様な CHI の実濃度や含んでいるアルコールの種類に関らない一定の関係が示された (Fig. 14B)。このことは、溶液中の CHI 分子鎖の高いポテンシャルがゲルの保形性においても重要であることを示している。溶液中にアルコール類を含まない系は、 E_{∞}/E_0 値の関係において他の系と異なった挙動を示したが、この結果は、アルコール類を含まない系では歪みが加えられた場合の架橋の組み換えが起こりやすいことを意味している。

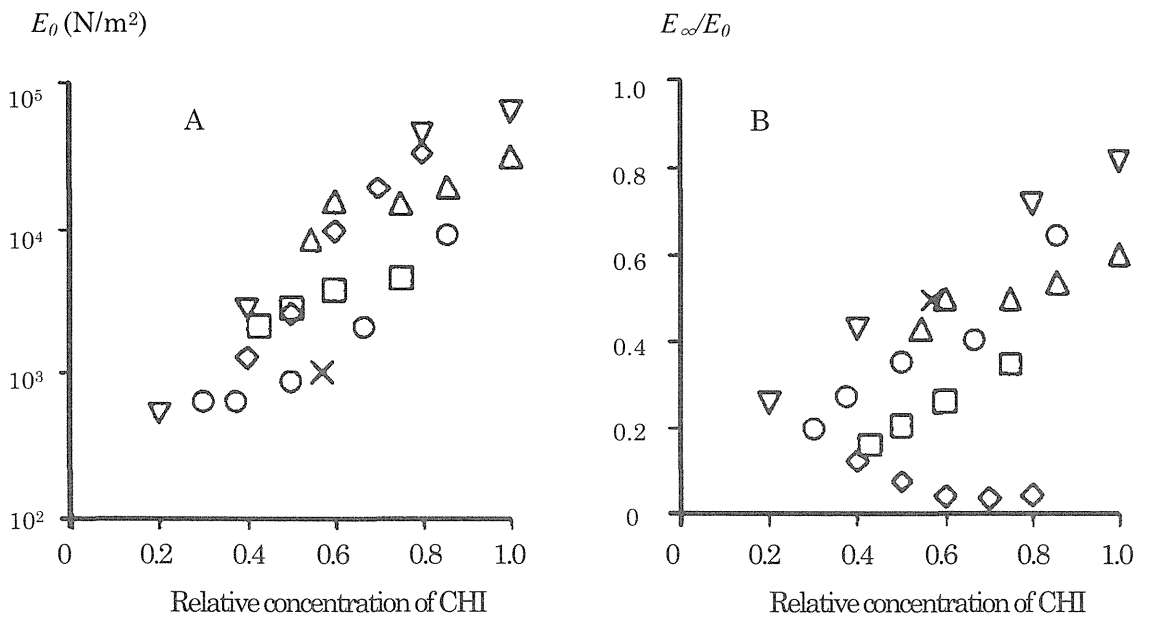


Fig. 14 Relationship between E_0 and E_∞/E_0 and Relative Concentration of CHI (Concentration/Solubility of CHI in Aqueous Solution Containing Ethanol(EtOH), 1,3-Butylene glycol (BG), Water and 2 % Oxalic Acid)
 ○, 3 % CHI/0 – 50 % EtOH/water; □, 3 % CHI/40 % (EtOH+BG)/water;
 △, 3 % CHI/50 % (EtOH+BG)/water; ◇, 4 - 8 % CHI/water; ▽, 1 - 5 % CHI/(20 % EtOH + 30 % BG)/water; ×, 2 % CHI/40 % EtOH/water.

3 節 第2章の考察

本章では、アセチル化度約 50 %の CHI を用い、アルコール、グリコール、グリセロールなどのアルコール類を種々割合で含む溶液への CHI の溶解性を評価し、またその溶液のゲル化について検討を試みた。

高分子と溶媒との相溶性は、相互作用パラメータ χ により特徴付けられ、この値が大きい、すなわち高分子と溶媒の溶解度パラメータの違いが大きい場合に相分離が生じる。⁷⁸⁻⁸²⁾ 高分子溶液の高い粘度は、高分子鎖が溶液中に広がり、それが相互に絡み合うことにより生じるものなので、高い粘性を示すゲルを調製する上で相分離を生じない良溶媒を選択することは重要である。^{83, 84)} 共有結合を生じるような架橋剤を用いてゲルを調製する場合、良溶媒を選択することで、高い粘性と保形性を有するゲルが得られる。一方、CHI ゲルのようにイオン相互作用などの他の相互作用によってゲルを調製する場合、架橋の強度への溶媒の影響も考慮する必要が生じる。Fig. 15A に高分子鎖の間で生じる相互作用の例を示す。⁸⁵⁾ 高分子鎖全体の相互作用パラメータ χ が極度に小さい場合、混合エントロピーが増大する傾向から、見かけの分子量を増大させるような架橋の形成は生じなくなる。したがって、これらの相互作用に基づく架橋によりゲルを調製する場合、高分子の極性と架橋機構に適した溶媒の極性の最適化が必要になるとと思われる。

本章で行った CHI の溶解度の評価から、CHI は極性が高く、アルコール類の添加は CHI の溶解性を減少させることが示された。Fig. 15B に CHI ゲルの架橋構造を示す。CHI の溶解度が低下し、系が相分離するような組成において、十分なゲル形成が観察されなかったことから、CHI ゲルの形成において高分子鎖と溶媒間の親和性に基づく高分子鎖の広がりが重要であることは明らかである。^{86, 87)} 一方、エタノールおよび 1,3-ブチレングリコールを種々濃度で含む CHI ゲルの E_0 値は、アルコール類を含まない CHI ゲルの場合を含めて、CHI の実濃度ではなく、溶解度に対する相対濃度に依存した (Fig. 14)。この結果は、CHI ゲルの E_0 値が、単純な高分子鎖同士の絡み合いを反映したものでなく、高分子鎖と架橋剤間の相互作用の程度を反映したものであることを示唆している。相対濃度は高分子鎖の化学ポテンシャルの高さに関係しており、相対濃度が高い状態において架橋剤と

の間の相互作用が増加し、その結果として高い E_0 値が観察されたと考えられる。同様な傾向は、ゲルの保形性に関する E_{∞}/E_0 値においても観察されたが、 E_{∞}/E_0 値の場合アルコール類を含まない系においてのみ異なった挙動が観察された。この結果は、アルコール類を含まない系では、歪みが加えられた場合、初期には高い粘性を示すものの、その後架橋の破壊もしくは組み換えが起こりやすいことを意味している。この理由として、以下の2つのことが考えられる。その1つは、CHI の濃度の違いである。CHI はアルコール類を含まない水を溶媒としたとき溶解度が高く、そのためこの系での評価は他の系より高い CHI 濃度で実施されている。この高い CHI の実濃度が CHI 分子鎖の距離を近づけ、架橋の組み換えを容易にしているのかもしれない。もう1つは、アルコール類の架橋安定化作用の可能性である。Tanaka らは、種々のゲルの相変化について、水と有機溶媒の混合比の影響を検討している。^{88, 89)} 水への有機溶媒の多量の添加は、高分子鎖間のファンデルワールス力や水の構造的な多様な影響を与える。⁹⁰⁾ 特に本章で検討した CHI の系では、アルコール類を添加した場合の溶媒の誘電率の減少によるイオン相互作用の増加は非常に重要であると思われる。これらのことを考えると、Fig. 14 の E_{∞}/E_0 値の挙動について、後者の理由、すなわちアルコール類は CHI とシュウ酸間のイオン架橋を安定化させる作用を有すると考えることが妥当であると思われる。

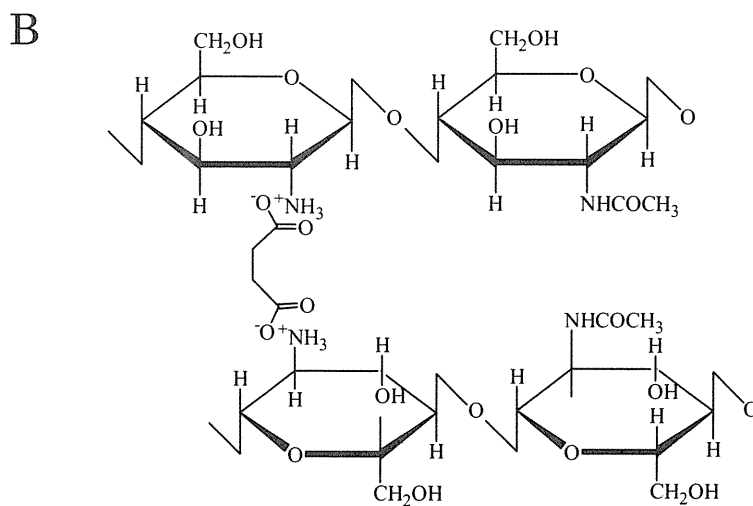
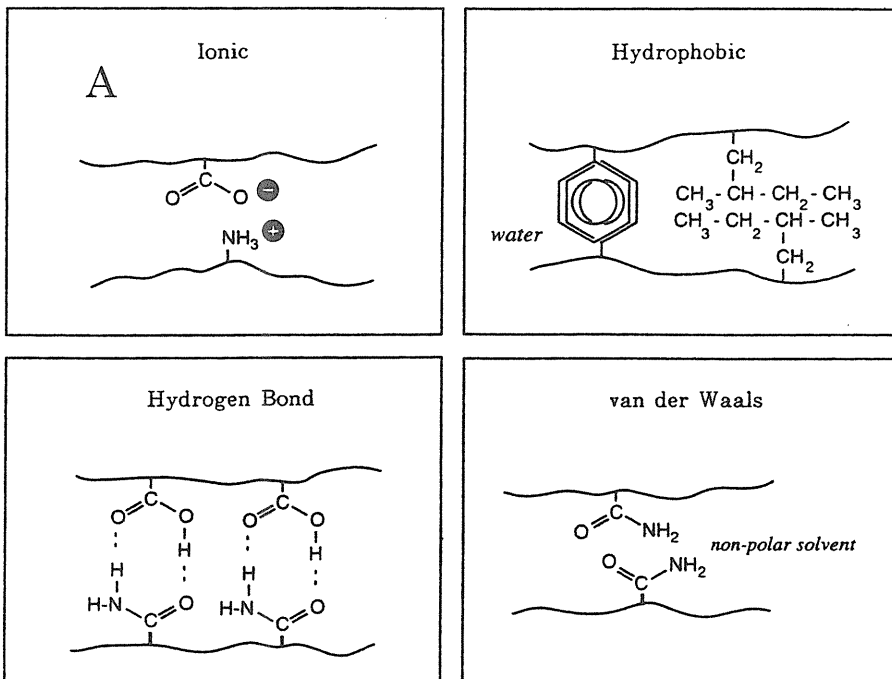


Fig. 15 Interactions in Gel

A, Four fundamental attractive interactions; B, Interaction in CHI gel

第3章 吸収促進剤を含有するキトサンゲルからの塩酸モルヒネの皮膚透過性の評価⁹¹⁾

これまで、カチオン性高分子である CHI が、エタノールと *l*-メントールを含む吸収促進系において、塩酸モルヒネの皮膚透過を更に促進すること（第1章）、CHI の溶解性とゲル形成能はエタノールや 1,3-ブチレングリコールなどの経皮吸収促進作用を有する溶媒の添加濃度の違いにより大きく変化すること（第2章）、を述べてきた。*l*-メントールは、塩酸モルヒネを含む多くの薬物において、エタノールなどのアルコール類と併用することで高い皮膚透過促進作用を示すことが知られている。⁴⁹⁻⁵⁵⁾ その際、*l*-メントールが飽和濃度で含まれていることが十分な効果を期待する上で重要である。^{51,53)} これらのことを勘案すると、十分に高い皮膚透過速度が得られ、且つ使用に耐え得る保形性を有する塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルを調製するためには、CHI、*l*-メントール、アルコール類などの多成分に関する処方最適化を行わなければならない。

そこで本章では、第2章で調製した CHI ゲルに更に *l*-メントールを添加した場合のゲルの保形性について評価し、ゲル処方の最適化を試みた。また、塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルを調製し、そこからの塩酸モルヒネ皮膚透過性を *in vitro* で評価した。

1 節 吸収促進剤を含有する溶媒系における保形性キトサンゲルの検討

塩酸モルヒネの皮膚透過促進に *l*-メントールとアルコール類を組み合わせた系を用いる場合、エタノールと 1,3-ブチレングリコールを適切に組み合わせることで、塩酸モルヒネの持続的な吸収が得られることが報告されている。⁹²⁾ そこで、エタノールと 1,3-ブチレングリコールと水からなる溶媒系における CHI の溶解度を測定した。系に添加する 2 価の酸としては、第2章で用いたシュウ酸ではなく、医薬品添加物としての使用前歴を考慮してコハク酸を用いた。

Fig. 16 にコハク酸を 2% 含む混合溶媒系における CHI の溶解度を示す。第2章で得られた結果と同様、CHI の溶解度は、アルコール類を含まない水において最も高く、アルコール類の添加により CHI の溶解度は減少する

ことが示された(Fig. 6 および 7)。CHI の溶解度は、シュウ酸をコハク酸に変更することで、アルコール類の添加濃度が低い条件でわずかに増加する傾向が認められた。ゲルの調製を考慮した場合、1~5%程度の CHI 濃度が適切と予想される。第 2 章の結果から、この濃度が飽和濃度になるようにすることがゲルの保形性において重要であるが、アルコール類の種類と量を適切に選択することで、その調節は可能であると思われる。

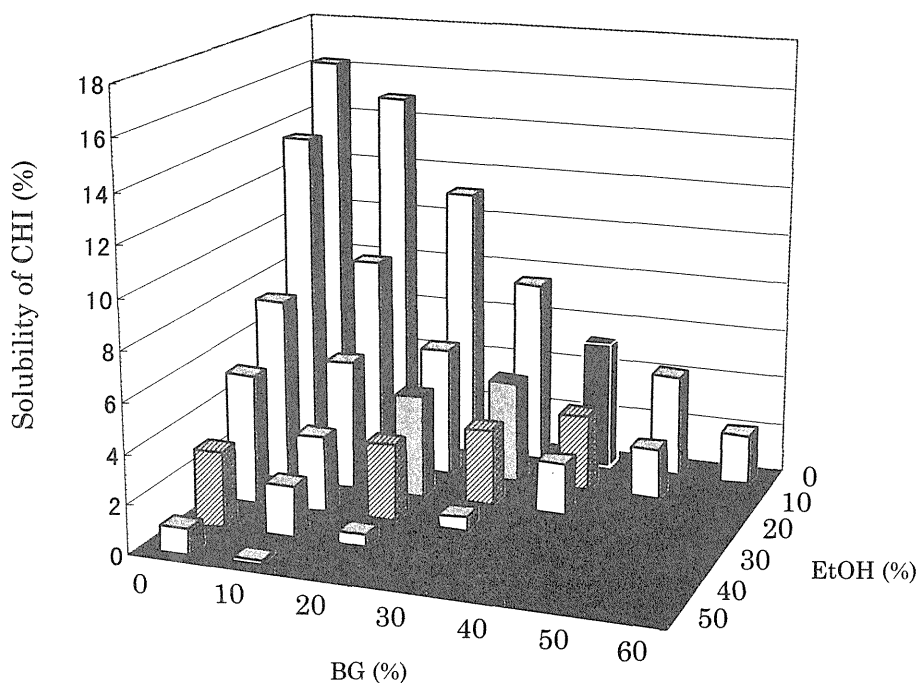
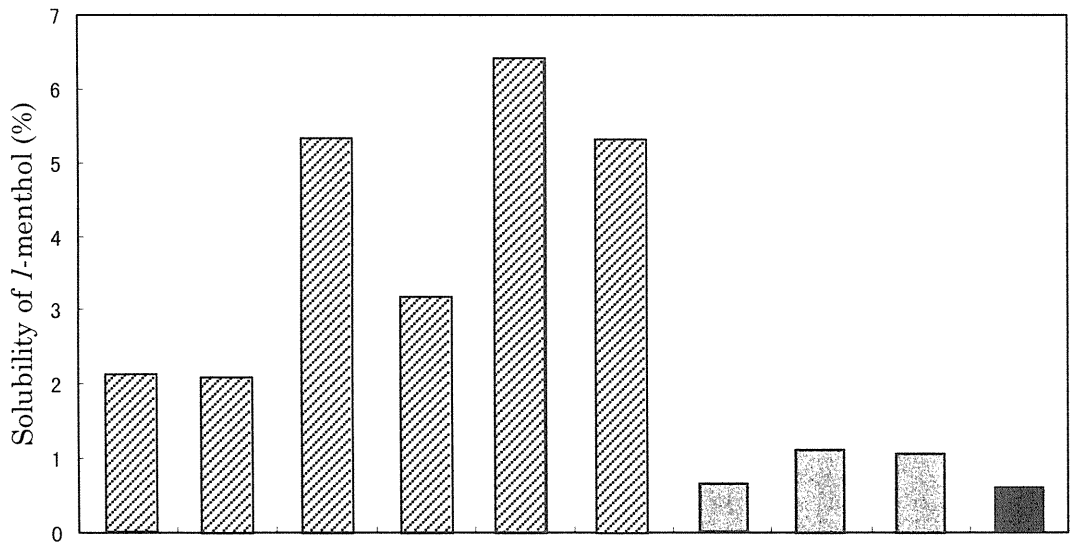


Fig. 16 Solubility of CHI in Mixed System Containing Ethanol (EtOH), 1,3-Butylene glycol (BG) and 2 % Succinic Acid at 32°C
The compositions(▨ , ▩ , ■) were examined in Figs. 17 and 18.

Fig. 16 中の 7 種類の溶媒組成を選択し、その系における *l*-メントールの溶解度を測定した。添加する CHI の濃度は 1 および 3 % とした。また、コハク酸の濃度は 2 % とした。各系における *l*-メントールの溶解度を Fig. 17 に示す。カラムの塗り分けは Fig. 16 に対応しており、▨ は CHI の溶解度が約 3 % の組成、▩ は CHI の溶解度が約 4 % の組成、■ は CHI の溶解度が約 5 % の組成である。*l*-メントールの溶解度は、溶媒組成により 0.5 ~ 6 % と 10 倍程度異なったが、同一組成中への CHI の添加濃度の違いによる差はほとんど示されなかった。*l*-メントールはその飽和濃度において高い経皮吸収促進効果を示すことから、塩酸モルヒネの経皮吸収型製剤の基剤における適切な *l*-メントールの濃度はこれらの溶解度と一致すると考えられる。



EtOH (%)	10	10	20	30	40	40	10	20	20	0
BG (%)	40	40	30	20	0	0	30	20	20	40
CHI (%)	1	3	3	3	1	3	3	1	3	3

1,3-Butylene glycol (BG), CHI and 2 % Succinic Acid at 32°C

Solubility of CHI in ▨, ▩ and ■ were about 3, 4 and 5 %, respectively (Fig. 16).

高い塩酸モルヒネの皮膚透過を得るためには *l*-メントールを飽和濃度で用いることが必要であると報告されている。したがって、性能が高い塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルを調製するためには、*l*-メントールが基剤の中で飽和しており、且つ十分な保形性を有している必要がある。そこで、Fig. 17 に示したエタノールと 1,3-ブチレングリコールの組み合わせにおいて、*l*-メントールが飽和している組成で 3% CHI ゲルを調製し、その粘弾性特性の評価を行った。

Fig. 18 に 3% CHI を含み *l*-メントールが飽和しているゲルの粘弾性特性を示す。エタノール(%) : 1,3-ブチレングリコール(%) = 10:40, 20:30, 30:20, 40:0 の組成(Fig. 18 の左から 4 つの組成) は、*l*-メントールを含まない場合で CHI の溶解度が約 3% の組成であり、エタノール(%) : 1,3-ブチレングリコール(%) = 10:30, 20:20, 0:40 の組成(Fig. 18 の右から 3 つの組成) は、*l*-メントールを含まない場合で CHI の溶解度が約 4% もしくは 5% の組成である(Fig. 16)。第 2 章の結果で E_0 および E_{∞}/E_0 の値は CHI 濃度が基剤中における CHI の溶解度に近い場合に高いことが示された。Fig. 18 の結果もほぼその結果と一致した傾向を示した。しかし、エタノール(%) : 1,3-ブチレングリコール(%) : *l*-メントール(%) = 10:40:2 の組成における低い E_0 および E_{∞}/E_0 の値やエタノール(%) : 1,3-ブチレングリコール(%) : *l*-メントール(%) = 0:40:0.5 の組成における高い E_0 値のように、Fig. 16 に示した CHI の溶解度では説明できない結果もある。その理由としては、*l*-メントールの存在による CHI の溶解度の変化やゲル架橋構造への *l*-メントールの直接的な影響などが考えられる。

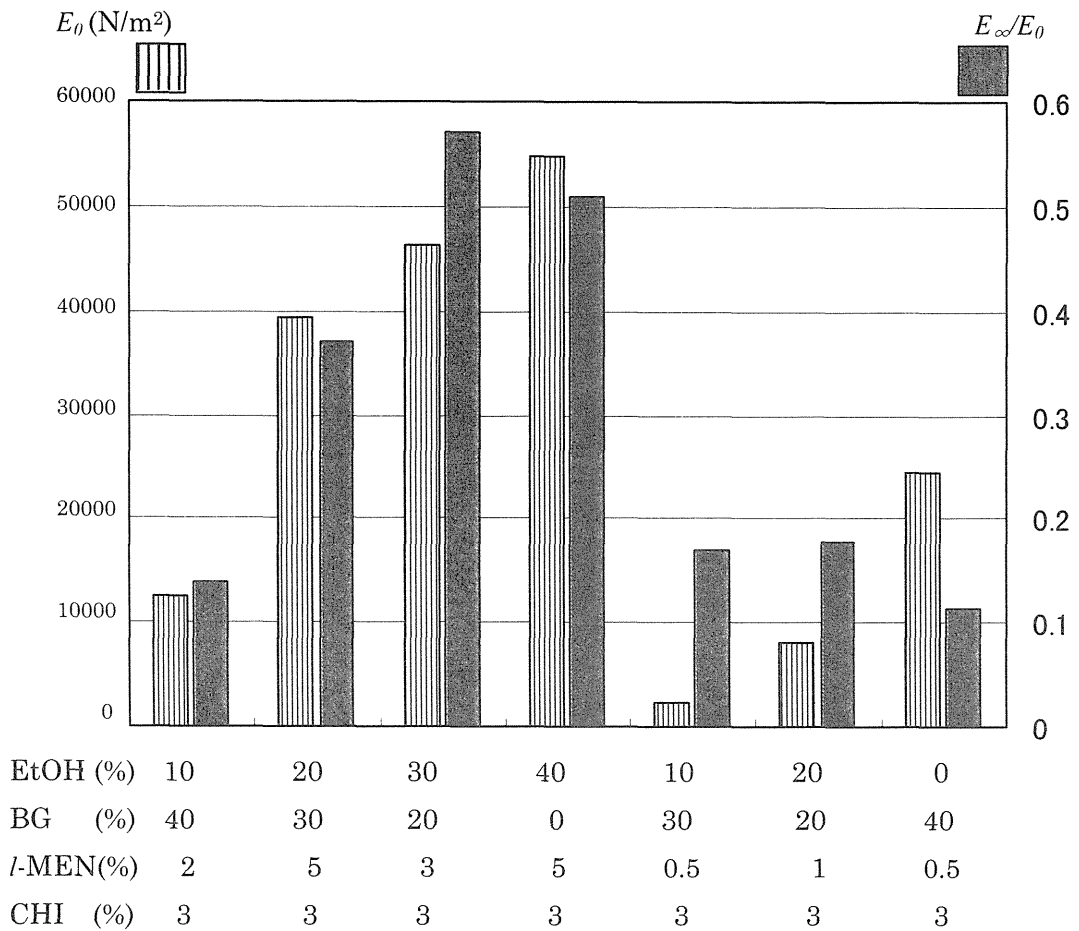


Fig. 18 E_0 and E_∞/E_0 of 3 % CHI Gel Containing Ethanol (EtOH), 1,3-Butylene glycol (BG), *l*-Menthol (*l*-MEN) and 2 % Succinic Acid
 ▨, E_0 ; ■, E_∞/E_0 .

2 節 キトサンゲルからの塩酸モルヒネの皮膚透過性の検討

これまでの検討結果に基づき、*l*-メントールとアルコール類からなる吸収促進剤を含む塩酸モルヒネの経皮吸収型製剤の試作を試みた。その処方 Table 3 に示す。CHI の効果を検討する目的で、非イオン性の高分子であるポリビニルアルコール(PVA)を用いたゲル製剤も調製し、^{93, 94)} 比較を行った。

Table 3 Transdermal Delivery Systems of Morphine Hydrochloride Containing Ethanol (EtOH), 1,3-Butylene glycol (BG) and *l*-Menthol (*l*-MEN)

	CHI gel	PVA gel
Morphine hydrochloride	2 %	2 %
EtOH	20 %	20 %
BG	30 %	30 %
<i>l</i> -MEN	5 %	5 %
CHI	3 %	—
Succinic acid	2.5 %	—
PVA	—	5.6 %
HPC	—	1.5 %

塩酸モルヒネを含む CHI ゲルおよび PVA ゲルをヒト摘出皮膚に適用して行った *in vitro* 皮膚透過実験の結果を Fig. 19 に示す。塩酸モルヒネの CHI ゲルおよび PVA ゲルからのヒト皮膚透過は、初期においてほぼ同等であったが、経時的にその差が明確となり、12 時間から 24 時間の平均透過速度 (flux) の値は、CHI ゲルにおいて有意に高かった。この違いは、第 1 章で明らかにしたカチオン性高分子の効果によるものと考えられる。CHI ゲルからの塩酸モルヒネのヒト皮膚透過は、ラグタイムが比較的短く、一定した透過速度が持続することから、塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルは持続的な鎮痛効果を得る上で非常に有用であると思われる (Fig. 19B)。

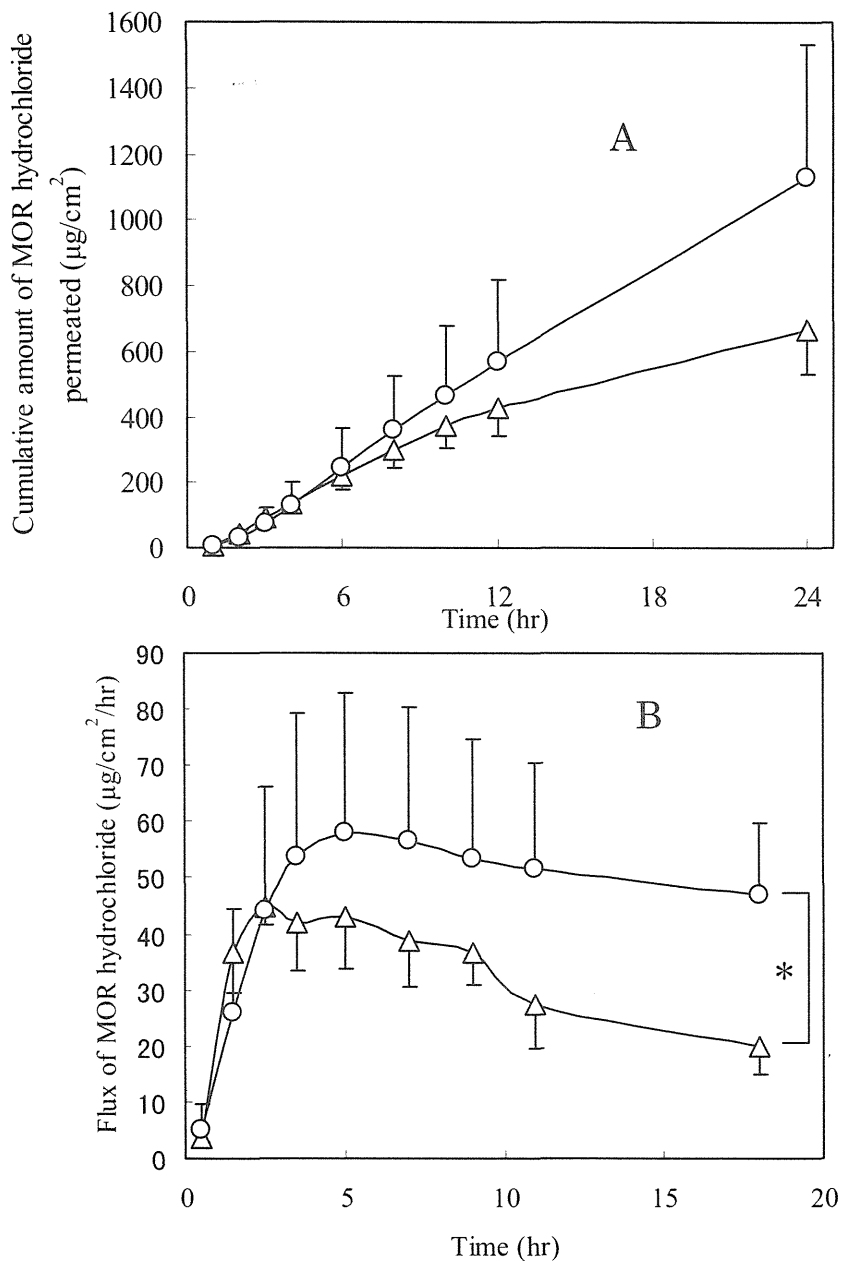


Fig. 19 *In Vitro* Permeation of Morphine (MOR) Hydrochloride from CHI gel and PVA gel through Human Skin

A, cumulative amount of MOR hydrochloride; B, flux of MOR hydrochloride.

○, CHI gel; △, PVA gel. Each data was shown as mean ± SE (n=3).

*p<0.05.

3 節 第 3 章の考察

本章では、第 1 章および第 2 章の結果に基づき、経皮吸収促進剤として *l*-メントール、エタノールおよび 1,3-ブチレングリコールを含む塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルを調製した。

架橋に用いる 2 価のカルボン酸として本章ではコハク酸を用い、第 2 章で用いたシュウ酸と CHI の溶解度に及ぼす影響を比較した。その結果、コハク酸を用いることでアルコール類の添加濃度が低い条件で CHI の溶解度がわずかに増加する傾向が認められたが、添加するアルコール類の種類と量を変更した場合の影響に関する全体の傾向は、シュウ酸を用いた場合と同様であった。

CHI の溶解度が 3~5 % になる 7 種類の組成を選択し、CHI 1 % もしくは 3 % 共存時の *l*-メントールの溶解度を測定した。*l*-メントールの溶解度は、溶媒組成により 0.5 ~ 6 % と 10 倍程度異なったが、CHI の添加濃度の違いによる差はほとんど示されなかった。

高い塩酸モルヒネの皮膚透過を得るためには *l*-メントールを飽和濃度で用いることが必要である。そこで、上述の 7 種類のエタノールと 1,3-ブチレングリコールの組み合わせにおいて、*l*-メントールが飽和している組成で 3 % CHI ゲルを調製し、その粘弾性特性を評価した。その結果、第 2 章で得られた結果と同様、CHI の添加濃度がその溶解度と一致している組成において、高い保形性を有するゲルが得られることが示された。

これらの知見に基づき調製した塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルからの塩酸モルヒネの *in vitro* ヒト皮膚透過速度は、PVA ゲルと比較して吸収が持続的であり、すぐれた経皮吸収型製剤となりえることが示唆された。調製した CHI ゲルをヒト皮膚 10 cm² (塩酸モルヒネ量で 60 mg) に適用した場合の予測血漿中濃度推移とその予測に用いたパラメータを Fig. 20 および Table 4 に示す。⁹⁵⁻⁹⁸⁾ 血漿中濃度の予測にはコンボリューション法を用いた。塩酸モルヒネの有効血漿中濃度は、個体差や病状による違いが大きく、明確ではないが、少なくとも 10 ng/mL 以上が必要と考えられる。CHI ゲルをヒト皮膚 10 cm² に適用した場合の塩酸モルヒネの予測血漿中濃度は、10 ng/mL 以上が長時間持続しており、塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルは疼痛の管理に有用であると思われる。

Table 4 Parameters for Calculation of Plasma Concentration of Morphine Hydrochloride after Application of CHI Gel on Human Skin

Dose	60 mg
Application area	10 cm ²
Pharmacokinetic parameters after intravenous injection	Dose = 4 mg A = 0.4351 μ g/mL B = 0.03473 μ g/mL α = 12.3 hr ⁻¹ β = 0.366 hr ⁻¹

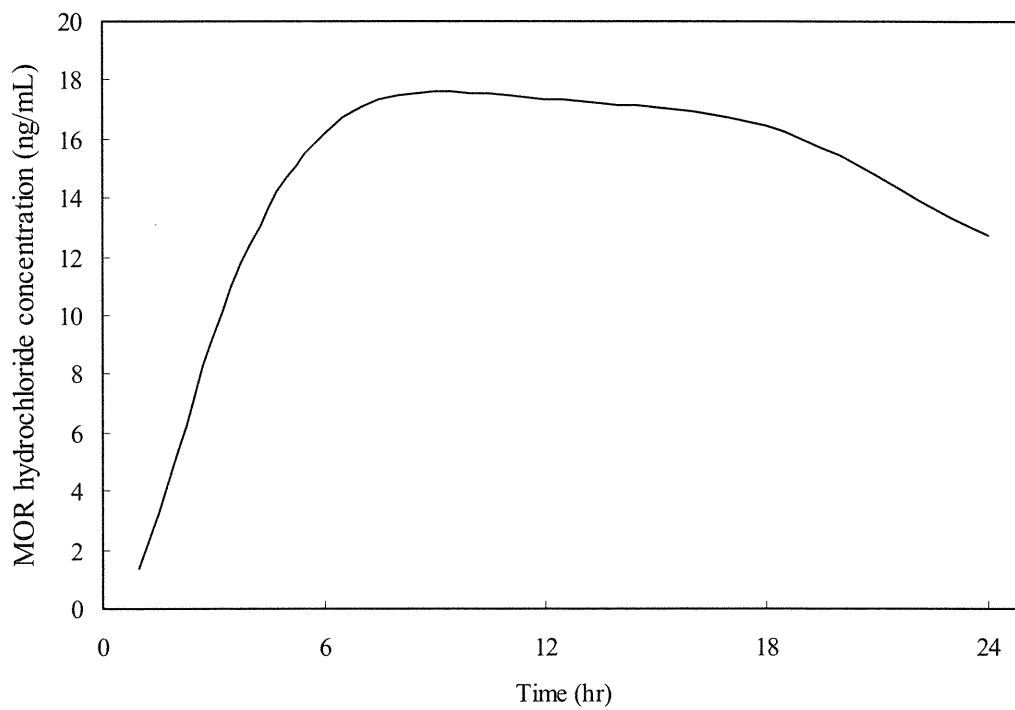


Fig. 20 Predicted Plasma Concentration of Morphine Hydrochloride after Application of CHI Gel on Human Skin (10 cm²)

結論

本研究では、CHI の経皮吸収型製剤のためのゲル基剤への応用に関し、がん患者の疼痛管理において有用であり、その経皮吸収型製剤の開発が期待されているカチオン性薬物である塩酸モルヒネをモデル薬物として選択して検討を行った。その結論を以下に要約する。

1：経皮吸収型製剤の基剤に添加する高分子の荷電状態が薬物との相互作用の観点から重要と考え、種々高分子を用いて、吸収促進剤として *l*-メントールとエタノールを含む溶液からの塩酸モルヒネの放出性ならびに皮膚透過性に及ぼす影響を評価した。塩酸モルヒネの放出は、アニオン性高分子である CVP および MEM の共存時低下し、これはモルヒネの陽電荷と高分子の陰電荷のイオン相互作用の結果と考えられた。非イオン性もしくはカチオン性高分子の場合、その溶液からの塩酸モルヒネの放出は、溶液の粘度の違いによりほぼ説明できた。吸収促進剤を含む各種高分子溶液をヘアレスラット腹部摘出皮膚に適用した場合、アニオン性高分子である CVP および MEM の共存時、塩酸モルヒネの皮膚透過速度は非イオン性高分子である HPC および PEO を含む溶液と比較して減少したが、これは高分子との相互作用によりモルヒネの逃散傾向もしくは熱力学的な活動度が低下した結果と考えられる。一方、カチオン性高分子である PEI および CHI 共存時には、HPC および PEO を含む溶液と比較して皮膚透過速度の増大が観察されたが、これは、Donnan 膜平衡の効果でモルヒネがカチオン性高分子溶液中で高い化学ポテンシャルを有し、そのため皮膚への薬物分配量が増加した結果として考えられる。吸収促進剤として *l*-メントールとエタノールを用いたことで皮膚の膜としての性質が透析膜に近くなり、塩酸モルヒネの皮膚透過速度において、Donnan 膜平衡の効果が現れたと考えられる。

2：カチオン性高分子である CHI が塩酸モルヒネなどのカチオン性薬物のゲル化の基剤として有用であると考え、アセチル化度約 50 %の CHI を用い、アルコール、グリコール、グリセロールなどのアルコール類を種々割合で含む溶液への CHI の溶解性とその溶液のゲル化について検討を試みた。CHI は極性が高く、アルコール類の添加は CHI の溶解性を減少させた。

CHI ゲルの形成において、高分子鎖と溶媒間の親和性に基づく高分子鎖の広がりが必要であるが、CHI ゲルの E_0 値が溶解度に対する相対濃度に依存したことから、CHI ゲルの保形性において、高分子鎖と架橋剤間の相互作用がより重要であることが示された。また、 E_{∞}/E_0 値がアルコール類を含まない系においてのみ異なった挙動を示したことから、アルコール類が CHI とシュウ酸間のイオン架橋を安定化させる作用を有することが推察された。

3：上述の結果に基づき、経皮吸収促進剤として *l*-メントール、エタノールおよび 1,3-ブチレングリコールを、架橋に用いる 2 価のカルボン酸としてコハク酸を含む塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルを調製した。CHI の溶解度が 3~5 % になる 7 種類の組成を選択し、CHI 1 % もしくは 3 % 共存時の *l*-メントールの溶解度を測定した。*l*-メントールの溶解度は、溶媒組成により 0.5 ~ 6 % と 10 倍程度異なったが、CHI の添加濃度の違いによる差はほとんど示されなかった。この 7 種類のエタノールと 1,3-ブチレングリコールの組み合わせにおいて、*l*-メントールを飽和するように添加した 3 % CHI ゲルの保形性は、CHI の添加濃度がその溶解度と一致している組成において高いことが示された。これらの知見に基づき調製した塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルからの塩酸モルヒネの *in vitro* ヒト皮膚透過速度は、電荷を持たない PVA ゲルと比較して吸収が持続的であり、すぐれた経皮吸収型製剤となりえることが示された。塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルはがん患者における疼痛の管理に有用であると思われる。

謝辞

終わりに望み、本研究に際して終始御懇篤なる御指導ならびに御鞭撻を賜りました 城西大学薬学部 薬剤学講座教授 従二 和彦先生に深甚なる謝意を表します。

本研究に際して実験研究の細部にわたる有益な御助言並びに力強い御激励を賜りました 北海道薬科大学 薬剤学研究室講師 関 俊暢先生に深謝の意を表します。

本研究に際して終始御指導並びに御助言をいただきました 城西大学薬学部 病院薬剤学講座教授 森本 雍憲先生、城西大学薬学部 臨床薬物動態学講座教授 杉林 堅次先生、城西大学薬学部 薬物治療学講座助教授 夏目 秀視先生、城西大学薬学部講師 川口 健夫先生、城西大学薬学部 病院薬剤学講座講師 小林 大介先生、城西大学大学院薬学研究科助手 沼尻 幸彦先生、城西大学薬学部 病院薬剤学講座助手 上田 秀雄先生、城西大学薬学部 臨床薬物動態学講座助手 長谷川 哲也先生に深謝の意を表します。

本研究に際して有益な御助言並びに御激励を賜りました 大森赤十字病院薬剤師 細谷 治氏、三笠製薬株式会社 研究開発本部 製剤一課長 和田 好夫氏、協和発酵工業株式会社 田岡 照世氏に深謝の意を表します。

本研究に際して研究室関係諸氏の御協力の下に本研究が遂行できましたことに深く感謝いたします。

最後に本研究を遂行するにあたり終始御協力並びに御理解を示していただいた家族並びに知人各位に心より感謝の意を表します。

実験の部

実験の部

第 1 章の実験

材料

塩酸モルヒネは武田製薬工業（大阪）から、塩酸ナロキソンは Sigma Chemical (Si. Louis, MO, USA) からそれぞれ購入した。サリチル酸ナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース (HPC, HPC-M, MW 130,000)、ポリエチレンイミン (PEI, 30% polyethyleneimine P-70 solution, MW 70,000)、キトサン (CHI, chitosan 1000, MW 200,000) は和光純薬工業(大阪)から購入した。ポリエチレンオキシド (PEO, Alkox[®] E45, MW 700,000) は Meisei 化学工業(京都)から、カルボキシビニルポリマー (CVP, Carbopol[®] 934, MW 3,000,000) は BF Goodrich (Cleveland, OH, USA) から、メチルビニルエーテルマレイン酸共重合体 (MEM, Gantrez[®] AN-169, MW 67,000) は 五協産業(大阪)からそれぞれ購入した。他の試薬類は、市販品を購入してそのまま使用した。

試験溶液の調製

各水溶性高分子は、塩酸モルヒネもしくはサリチル酸ナトリウム 1%、*l*-メントール 5%、エタノール 40% を含む水溶液中に添加し、均一に溶解させた。得られた溶液は、pH 6.0 に酢酸、乳酸もしくはトリエチルアミンを用いて調整した。

放出実験

縦型の拡散セル（有効面積 3.14 cm²）を実験に用いた。37°C に保ったセル装置にセルロースアセテート膜（pore size 0.2 μm, アドバンテック、東京）を装着し、受容側セルに精製水 20 mL を、上部セルに薬物と水溶性高分子を含む試験溶液 0.2 g/cm² をそれぞれ加え、放出実験を開始した。試験開始後から 3 時間まで経時的に受容側から 0.5 mL を採取し、その都度容量を一定に保つため、同量の精製水を添加した。実験中シンクコンディションが維持されていることを常に確認した。

粘度測定

各試験溶液の粘度は、Rotovisco RV 100 System (Haake, Germany) を用いて 37°C において測定した。

In vitro 皮膚透過実験

縦型の拡散セル（有効面積 0.95 cm^2 ）を実験に用いた。37°Cに保ったセル装置に雄性ヘアレスラット（HBA/ILA-Ht, 150-180 g, 石川実験動物、埼玉）腹部摘出皮膚を装着し、受容側セル（真皮側）に精製水 4.4 mL を、上部セル（角質層側）に薬物と水溶性高分子を含む試験溶液 0.2 g/cm^2 をそれぞれ加え、皮膚透過実験を開始した。試験開始後から 10 時間まで経時的に受容側から 0.5 mL を採取し、その都度容量を一定に保つため、同量の精製水を添加した。実験中シンクコンディションが維持されていることを常に確認した。

透析膜を用いた平衡実験

セルロース透析膜（pore size 24 Å、三協純薬、東京）を有効面積 0.95 cm^2 の横型セルに挟み、全体を 37°Cに保った。片側のセルに塩酸モルヒネ $10 \mu\text{g/mL}$ と PEI もしくは CVP $10 \mu\text{g/mL}$ を含む溶液 2.8 mL を、反対側のセルに塩酸モルヒネ $10 \mu\text{g/mL}$ を含む溶液 2.8 mL をそれぞれ加え、平衡に達した後、両側の溶液中の塩酸モルヒネ濃度を測定した。

塩酸モルヒネの定量方法

塩酸モルヒネの測定には、HPLC (LC-Module I, Waters, MA, USA) を用いた。その条件は：カラム、LiChrospher 100 RP-18e $5\mu\text{m}$ (4.0 i.d. x 250 mm, 関東化学、東京)；移動相、5 mM ラウリル硫酸ナトリウム含有 0.1 % リン酸-アセトニトリル (65:35) 混合溶液；流速、1.0 mL/min；カラム温度、40°C；検出、UV 230 nm である。サンプルは、内部標準物質である塩酸ナロキソンを含有した同量のメタノールと混合した後遠心し、その上清 $20 \mu\text{L}$ を装置に注入した。

サリチル酸ナトリウムの定量方法

サリチル酸ナトリウムの測定には、HPLC (LC-9A, 島津製作所、京都) を用いた。その条件は：カラム、MCM type C18 DF-5-120A (4.6 i.d. x 150 mm, MC メディカル、東京)；移動相、0.2 % リン酸-アセトニトリル (75:25) 混合溶液；流速、1.0 mL/min；カラム温度、40°C である。サンプルは、内部標準物質であるエチルパラベンを含有した同量のアセトニトリルと混合した後遠心し、その上清 $20 \mu\text{L}$ を装置に注入した。

第 2 章の実験

材料

第 2 章で用いた CHI (Marine Dew PC-100, MW 450,000-900,000) は、味の素 (東京) から購入した。この CHI のアセチル化率は 50 % である。エタノール、イソプロパノール、プロピレングリコール、グリセリンは、和光純薬工業から購入した。1,3-ブチレングリコールは東京化成工業 (東京) から購入した。他の試薬は、第 1 章と同様なものを購入し、そのまま使用した。

アルコール類の CHI 溶解性への影響の評価法

各種アルコール類を用い、それぞれを種々の比率で精製水と混合することで濃度が異なるアルコール類の溶液を調製した。この各溶液を用い、CHI 3 %、酢酸 2 % 含む溶液を透明ガラスバイアル瓶(20 mL) 中に調製した。ボルテックスミキサーによる攪拌と超音波処理の後、32°Cで 48 時間放置し、その後の液の混濁状態を観察した。CHI が完全に溶解し、液が透明な状態であるアルコール類の濃度が最も高い溶液のアルコール類の濃度を臨界濃度(critical concentration) と定義した。

CHI の溶解度の測定法

透明ガラスバイアル瓶(20 mL) 中で、種々の量の CHI と 2 % 対応量のシュウ酸に、エタノール、1,3-ブチレングリコールおよび精製水を種々割合で混合した溶液を加えた。これらを攪拌した後、32°Cで 48 時間放置し、その後の液の混濁状態を観察した。CHI が完全に溶解し、液が透明な状態である最も高い CHI の濃度を用いた混合溶媒中における CHI の溶解度とした。

ゲル形成の評価法

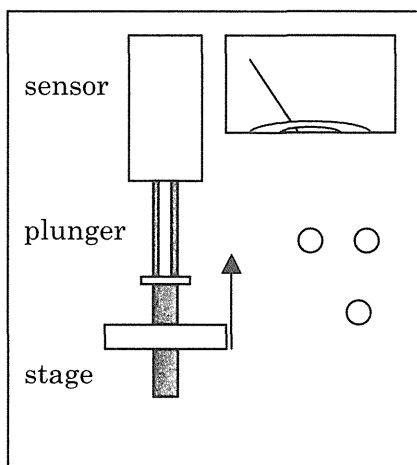
透明ガラスバイアル瓶(50 mL、内径 32 mm、高さ 75 mm) に、3 % CHI と 2 % シュウ酸を含むエタノール、1,3-ブチレングリコール、精製水の混合溶液を 20 g 加えた。これらを攪拌した後、32°Cで 48 時間放置してゲルを形成させた。ゲル形成の程度は、レオメータ(NRM-2002J, 不動工業、東京) を用い、応力緩和を測定することで評価した(Fig. e1)。装置にはステンレス製の円形平面プランジャー (直径 20 mm、厚さ 1 mm) を装着した。試料台にバイアル瓶を置き、30 mm/min の速度で上昇させた。歪み 0.02 から 0.2 の範囲で試料の上昇を止め、その後の応力の変化を記録した。ゲ

ルの弾性係数(E)は次式を用いて計算した。

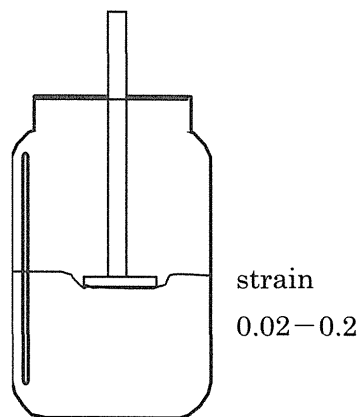
$$E = \frac{F \cdot L}{a \cdot l}$$

ここで、 F は応力、 a はプランジャーの面積、 L はゲルの初期の高さ、 l はゲルの歪んだ長さであり、歪みは l/L で表される。 F の経時変化を記録し、その最大値から得られる E を E_0 、一定値を示したところでの E を E_∞ 、とそれぞれ定義した。異なる4つの歪み条件で E_0 と E_∞ を求め、それらの値と歪みとの関係について一次式で回帰分析を行い、歪み 0.04 の時の値をそのゲルの E_0 および E_∞ とした。ゲル形成の指標としては、 E_0 と E_∞/E_0 を採用した。 E_0 はゲルの硬さを表すパラメータであり、 E_∞/E_0 はゲルの流れにくさを表すパラメータである。ゲル形成が完全でゲルが流れることによる応力の緩和が生じない場合、そのゲルは完全な弾性体であり、 E_∞/E_0 の値は 1 となる。

a) Rheometer



b) Compression of gel



c) Stress relaxation

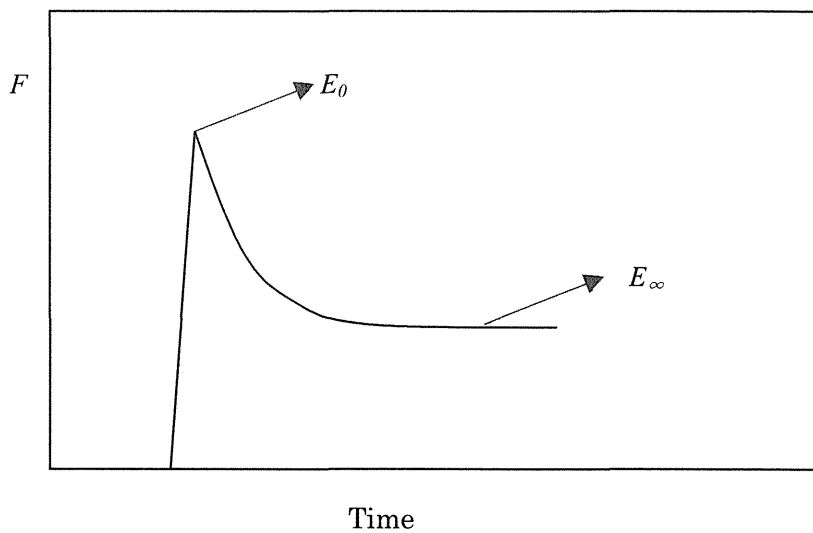


Fig. e1 Viscoelasticity Evaluation of CHI Gelation

第3章の実験

材料

ポリビニルアルコール (PVA, ポバール PVA-117) は、クラレ (東京) から購入した。他の試薬は、第1章および第2章と同様なものを購入し、そのまま使用した。

CHI の溶解度の測定法

第2章と同様に行った。ただし、架橋剤として添加する2価の酸としてはシュウ酸の代わりに2% コハク酸を用いた。

l-メントールの溶解度の測定法

透明ガラスバイアル瓶(20 mL) 中で、3% CHI と2% コハク酸をエタノール、1,3-ブチレングリコールおよび精製水を種々割合で混合した溶液に溶解し、さらに種々の割合で *l*-メントールを加えた。これらを攪拌した後、32°Cで48時間放置し、その後の液の混濁状態を観察した。*l*-メントールが完全に溶解し、液が透明な状態である最も高い *l*-メントールの濃度を用いた混合溶液中における *l*-メントールの溶解度とした。

ゲル形成の評価法

第2章と同様に行った。ただし、ゲル調製のための架橋剤としてはシュウ酸の代わりに2% コハク酸を用いた。

塩酸モルヒネ含有ゲルの調製

塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルの調製： 塩酸モルヒネ(2%)、CHI(3%)、コハク酸(2.5%)をエタノール(20%)、1,3-ブチレングリコール(30%)、*l*-メントール(5%)、精製水(37.5%)の混合溶媒に溶解した。この溶液を底面積 0.95 cm² の円筒のシリコーンゴム製の型に300 mg 加え、32°Cで48時間放置してゲルを形成させた。

塩酸モルヒネ含有 PVA ゲルの調製： PVA の20%溶液を加熱溶解により前もって調製した。この溶液を用い、塩酸モルヒネ(2%)、HPC(1.5%)、PVA(5.6%)、エタノール(20%)、1,3-ブチレングリコール(30%)、*l*-メントール(5%)、精製水(35.9%)を含む溶液を調製した。この溶液を底面積 0.95 cm² の円筒のシリコーンゴム製の型に300 mg 加え、凍結(8時間)－解凍(8時間)のサイクルを3回繰り返すことでゲルを形成させた。

塩酸モルヒネ含有ゲルからの *in vitro* ヒト皮膚透過実験

第1章で用いたものと同様な縦型の拡散セル(有効面積 0.95 cm^2)を実験に用いた。ただし、ゲルを適用するため、適用側セルを変更した(Fig. e2)。37°Cに保ったセル装置にヒト摘出皮膚を装着し、受容側セル(真皮側)に生理食塩水 4.4 mLを、上部セル(角質層側)に塩酸モルヒネ含有 CHI ゲルもしくは塩酸モルヒネ含有 PVA ゲルをそれぞれ加え、皮膚透過実験を開始した。試験開始後から 24 時間まで経時的に受容側の液を採取し、その都度容量を一定に保つため、同量の生理食塩水を添加した。塩酸モルヒネの定量は、第1章と同様に行った。

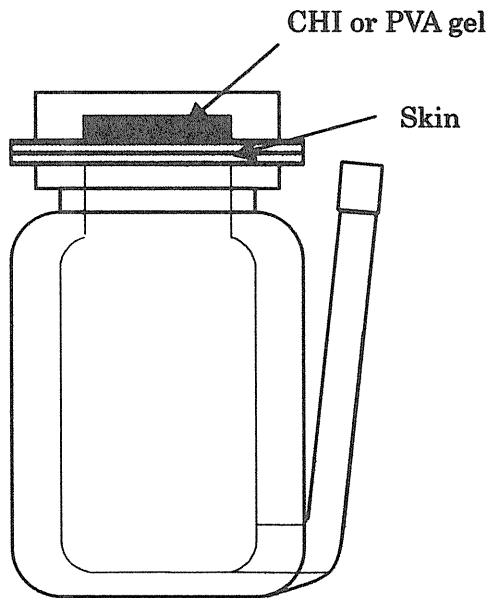


Fig. e2 Diffusion Cell for Application of CHI and PVA gel

引用文献

- 1) R. H. Guy and J. Hadgraft, "Transdermal Drug Delivery," Marcel Dekker, New York, 2003.
- 2) R. B. Bronaugh and H. I. Maibach, "Percutaneous Absorption," Marcel Dekker, New York, 1985.
- 3) B. W. Barry, "Dermatological Formulations," Marcel Dekker, New York, 1983.
- 4) 橋田 充、"夢の薬剤 DDS、"薬業時報社、東京、1991.
- 5) K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *J. Contr. Rel.*, **29**, 177-185 (1994).
- 6) L. K. Pershing, L. D. Lambert and K. Knutson, *Pharm. Res.*, **7**, 170-175 (1990).
- 7) 山口幸也、城西大学大学院薬学研究科、博士論文 (1997).
- 8) J. Yukawa, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *J. Pharm. Sci. Technol. Jpn.*, **49**, 254-262 (1989).
- 9) K. Sugibayashi, S. Nakayama, T. Seki, K. Hosoya and Y. Morimoto, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 58-64 (1992).
- 10) J. Hadgraft, *Pharm. Int.*, **5**, 252-254 (1984).
- 11) B. H. Sage, Jr., C. R. Bock, J. D. Denuzzio and R. A. Hoke, "Trends and Future Perspectives in Peptide and Protein Drug Delivery," eds. by V. H. L. Lee, M. Hashida and Y. Mizushima, Harwood Academic Publishers, Switzerland, 1995, pp. 111-134.
- 12) V. Srinivasan and W. I. Higuchi, *Int. J. Pharm.*, **60**, 133-138 (1990).
- 13) H. Okamoto, 京都大学大学院薬学研究科、博士論文 (1989).
- 14) 稲田裕彦、富山医科薬科大学大学院薬学研究科、博士論文 (1992).
- 15) 上田秀雄、城西大学大学院薬学研究科、博士論文 (1996).
- 16) 沼尻幸彦、城西大学大学院薬学研究科、博士論文 (1999).
- 17) 内田昌希、城西大学大学院薬学研究科、博士論文 (2002).
- 18) Y. Morimoto, T. Seki, K. Sugibayashi, K. Juni and S. Miyazaki, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2633-2641 (1988).
- 19) T. Seki, K. Sugibayashi, K. Juni and Y. Morimoto, *Drug Design Delivery*, **4**, 69-75 (1989).
- 20) Y. Jin, C. Toeda, T. Kawaguchi, T. Seki and K. Juni, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **22**, 653-658 (1996).
- 21) Y. Jin, T. Seki, Y. Morimoto and K. Juni, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **26**, 193-198 (2000).

- 22) S. X. Chen and R. T. Lostritto, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 739-746 (1997).
- 23) M. Hori, H. I. Maibach and R. H. Guy, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 330-333 (1992).
- 24) Y. Morimoto, T. Hatanaka, M. Oguchi, K. Sugibayashi, M. Kobayashi and M. Kimura, *S.T.P. Pharma Sciences*, **3**, 252-258 (1992).
- 25) A. Kydonieus, "Treatise on Controlled Drug Delivery," Marcel Dekker, New York, 1992.
- 26) 中野眞汎, "DDS の製剤化学および工学手法," 井口定男、太田喜夫、小西良士編、R&D プランニング、東京、1986, pp. 115-122.
- 27) S. K. Govil, "Drug Delivery Devices," ed. by P. Tyle, Marcel Dekker, New York, 1992, p. 385.
- 28) 関 俊暢、従二和彦、森本雍憲、月刊薬事、**33**, 1339-1344 (1991).
- 29) 森本雍憲、小林茂久、関 俊暢、杉林堅次、従二和彦、薬剂学、**49**, 241-246 (1989).
- 30) T. Aoyagi, O. Terashima, N. Suzuki, K. Matsui and Y. Nagase, *J. Contr. Rel.*, **13**, 63-71 (1990).
- 31) T. Aoyagi, O. Terashima, Y. Nagase and K. Matsui, *Polymer*, **32**, 2106-2111 (1991).
- 32) T. Aoyagi, 高分子、**41**, 208 (1992).
- 33) K. Noda, A. Nakagawa, T. Yamagata and H. Ide, Fr. Patent 2482456 (1981).
- 34) E. Kamiya, K. Morimoto, T. Takeda, Y. Nakamoto and K. Morisawa, *Int. J. Pharm.*, **17**, 273-281 (1983).
- 35) T. Hatanaka, M. Shimoyama, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *J. Pharm. Sci. Technol. Jpn.*, **52**, 215-223 (1992).
- 36) T. Hatanaka, M. Shimoyama, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *J. Contr. Rel.*, **23**, 247-260 (1993).
- 37) 中村裕行、小林洋一、杉林堅次、森本雍憲, *Drug Delivery System*, **12**, 101-106 (1997).
- 38) Y. Kobayashi, H. Nakamura, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Int. J. Pharm.*, **156**, 153-162 (1997).
- 39) 矢吹 稔, "最後のバイオマス キチン、キトサン," 技報堂出版、東京、1988.
- 40) R. Yamaguchi, S. Hirano, Y. Arai and T. Ito, *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1978-1981 (1978).
- 41) S. Hirano, R. Yamaguchi and N. Matsuda, *Biopolymers*, **16**, 1987-1992 (1997).
- 42) 塚越 茂、堀越 昇、高橋俊二、加藤千明、清水敬生、住永雅司、北島利治、関俊暢、森本雍憲, *Drug Delivery System*, **11**, 393-397 (1996).
- 43) K. Sugibayashi, C. Sakanoue and Y. Morimoto, *Selective Cancer Ther.*, **5**, 119-128 (1989).

- 44) T. Matsuzawa, Y. Wada, M. Shimoyama, K. Nakajima, T. Seki, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Biopharm. Drug Dispos.*, **15**, 665-678 (1994).
- 45) O. Hosoya, M. Sano, Y. Wada, T. Seki, K. Sugibayashi, K. Juni and Y. Morimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 882-885 (1998).
- 46) 伊勢典夫、高分子、**47**, 24-25 (1998).
- 47) M. Hara, "Polyelectrolytes, Science and Technology," Marcel Dekker, New York, 1992.
- 48) F. Oosawa, "Polyelectrolytes," Marcel Dekker, New York, 1971.
- 49) Y. Morimoto, K. Sugibayashi, D. Kobayashi, H. Shouji, J. Yamazaki and M. Kimura, *Int. J. Pharm.*, **91**, 9-14 (1993).
- 50) D. Kobayashi, T. Matsuzawa, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, M. Kobayashi and M. Kimura, *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 254-258 (1993).
- 51) Y. Wada, K. Nakajima, J. Yamazaki, T. Seki, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 600-603 (1993).
- 52) D. Kobayashi, T. Matsuzawa, K. Sugibayashi, Y. Morimoto and M. Kimura, *Pharm. Res.*, **11**, 96-103 (1994).
- 53) Y. Wada, K. Nakajima, H. Inada, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *J. Pharm. Sci. Technol. Jpn.*, **54**, 1-9 (1994).
- 54) K. Sugibayashi, D. Kobayashi, E. Nakagaki, T. Hatanaka, N. Inoue, S. Kusumi, M. Kobayashi, M. Kimura and Y. Morimoto, *Int. J. Pharm.*, **113**, 189-197 (1995).
- 55) D. Kobayashi, S. Kawabata, K. Sugibayashi, Y. Morimoto and M. Kimura, *Skin Pharmacology*, **9**, 130-136 (1996).
- 56) 小林大介、城西大学大学院薬学研究科、博士論文 (1995).
- 57) Y. Maitani, K. Shimada and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 403-408 (1996).
- 58) Y. Obata, K. Takayama, Y. Maitani, Y. Machida and T. Nagai, *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 312-314 (1993).
- 59) Y. Morimoto, T. Kokubo and K. Sugibayashi, *J. Contr. Rel.*, **18**, 113-122 (1992).
- 60) T. Kokubo, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *J. Contr. Rel.*, **20**, 3-12 (1992).
- 61) T. Kokubo, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Pharm. Res.*, **11**, 104-107 (1994).
- 62) 鈴木泰三、星 猛、鈴木裕一 訳、“生体膜輸送の基礎、”東京化学同人、東京、1982.
- 63) 野田春彦 訳、“生命科学のための物理化学、”東京化学同人、東京、1975.

- 64) 日本化学会 編、“化学総説 No. 11 イオンと溶媒、”学会出版センター、東京、1976.
- 65) T. Higuchi, R. Kuramoto, L. Kennon, T. L. Flanagan and A. Polk, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **43**, 646-651 (1954).
- 66) E. Manabe, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Int. J. Pharm.*, **129**, 211-221 (1996).
- 67) 真鍋栄一郎、城西大学大学院薬学研究科、博士論文 (2000).
- 68) T. Hatanaka, M. Inuma, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 3452-3459 (1990).
- 69) M. Sano, O. Hosoya, S. Taoka, T. Seki, T. Kawaguchi, K. Sugibayashi, K. Juni and Y. Morimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1044-1046 (1999).
- 70) C. V. Lusena and R. C. Rose, *J. Fish. Res. Board Can.*, **10**, 521-522 (1953).
- 71) M. N. Moorjani, V. Achutha and D. I. Khasim, *J. Food Sci. Technol.*, **12**, 187-189 (1975).
- 72) K. Kurita, T. Sannan and Y. Iwakura, *Makromol. Chem.*, **178**, 2595-2602 (1977).
- 73) K. Kurita, T. Sannan and Y. Iwakura, *Makromol. Chem.*, **178**, 3197-3202 (1977).
- 74) K. L. Hoy, *J. Paint. Technol.*, **42**, 76-118 (1970).
- 75) A. Adjei, J. Newburger and A. Martin, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 659-661 (1980).
- 76) 久保亮五、“ゴム弾性、”裳華房、東京、1996.
- 77) 荻野一善、“ゲル ソフトマテリアルの基礎と応用、”産業図書、東京、1991.
- 78) P. J. Flory, “Principles of Polymer Chemistry,” Cornell University, Ithaca, NY, 1953.
- 79) P. J. Flory, *J. Chem. Phys.*, **9**, 660-661 (1941).
- 80) P. J. Flory, *J. Chem. Phys.*, **10**, 51-61 (1942).
- 81) M. L. Huggins, *J. Chem. Phys.*, **9**, 440 (1941).
- 82) K. Shinoda and J. H. Hildebrand, *J. Phys. Chem.*, **65**, 1885-1886 (1961).
- 83) 村上講吉、“レオロジー基礎論、”産業図書、東京、1991.
- 84) 西本吉助、影本彰弘、馬場義博、田中英次 訳、“生命科学のための物理化学[下]、”培風館、東京、1988.
- 85) 安中雅彦、“高分子ゲルの機能化、”シーエムシー、東京、1999, pp. 12-21.
- 86) K. Shinoda, “Principles of Solution and Solubility,” Marcel Dekker, New York, 1978.
- 87) 篠田耕三、“溶液と溶解度、”丸善、東京、1974.
- 88) T. Tanaka, *Phys. Rev. Lett.*, **40**, 820-823 (1978).
- 89) Y. Hirokawa and T. Tanaka, *J. Chem. Phys.*, **81**, 6379-6380 (1984).
- 90) 戸井啓雄、小谷 壽、仲川 勤 編、“高分子と水、”共立出版、東京、1995.

- 91) M. Sano, O. Hosoya, T. Seki, K. Morimoto, Y. Morimoto and K. Juni, *Arch. Pharm. Res.*, submitted.
- 92) Y. Morimoto, Y. Wada, T. Seki and K. Sugibayashi, *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 134-136 (2002).
- 93) F. Urushizaki, H. Yamaguchi, K. Nakamura, S. Numajiri and Y. Morimoto, *Int. J. Pharm.*, **58**, 135-142 (1990).
- 94) 沼尻幸彦、城西大学大学院薬学研究科、修士論文 (1988).
- 95) T. Hatanaka, K. Katayama, T. Koizumi, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 826-830 (1994).
- 96) 佐藤 潔、城西大学大学院薬学研究科、博士論文 (1988).
- 97) 東海林 寿、城西大学大学院薬学研究科、修士論文 (1990).
- 98) J. Sawe, B. Dahlstrom, L. Paalzow and A. Rane, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **30**, 629-635 (1981).

