

ハニカムフィルムおよび自己組織化脂質を用いた
新規皮膚適用製剤の開発

鈴木 貴雅

目次

略号および記号	1
緒言	2
第1章 新規支持体（ハニカムフィルム）の応用	7
第1節 実験の部	8
1.1 試薬および実験材料	8
1.2 実験動物	10
1.3 各種 PSA テープ剤の調製法	10
1.4 ハイスピードカメラを用いた剥離状態の観察	11
1.5 <i>In vitro</i> 放出試験	12
1.6 <i>In vitro</i> 皮膚透過試験	12
1.7 薬物の定量方法	13
1.8 粘着力試験方法（傾斜式ボールタック試験法 ¹⁾ ）	14
1.9 透湿試験	16
1.10 <i>In vivo</i> 製剤貼付試験	16
第2節 結果	17
2.1 調製製剤の厚みおよび表面状態	17
2.2 試験製剤の貼付力	18
2.3 透湿試験	19
2.4 各 PSA テープの角層剥離量および TEWL 変化量の比較	19
2.5 剥離された角層の観察	20
2.6 ハイスピードカメラによる観察結果	21
2.7 製剤からの放出性	23
2.8 製剤の皮膚透過性	24
第3節 考察	25
第4節 小括	28
第2章 テープ剤への自己組織化脂質の含有	29
第1節 実験の部	30
1.1 試料および実験材料	30
1.2 実験動物	31
1.3 非ラメラ液晶の調製	32
1.4 PSA テープ製剤の調製	32
1.5 調製したテープ製剤の組成および命名法	32
1.6 粘着層の厚み測定	33
1.7 粘着層の蛍光顕微鏡撮影	34

1. 8	NLLC の構造解明.....	34
1. 9	<i>In vitro</i> 放出試験.....	35
1. 10	<i>In vitro</i> 皮膚透過試験.....	36
1. 11	薬物の定量法.....	36
1. 12	テープ表面状態の観察.....	37
1. 13	電気伝導性の測定.....	37
第 2 節	結果.....	38
1. 1	製剤の調製および均一性.....	38
2. 2	製剤からの放出性.....	40
2. 3	製剤の皮膚透過性.....	40
2. 4	テープ表面状態.....	42
2. 5	電気伝導性の測定.....	43
2. 6	NLLC の構造解明.....	44
第 3 節	考察.....	45
第 4 節	小括.....	46
第 3 章	エアゾールへの自己組織化脂質の含有.....	47
第 1 節	実験の部.....	48
1. 1	試料および実験材料.....	48
1. 2	製剤調製.....	49
1. 3	NLLC の構造解明.....	51
1. 4	エアゾール剤噴霧時間と噴霧量の関係.....	51
1. 5	実験動物.....	51
1. 6	<i>In vitro</i> 皮膚透過試験.....	51
1. 7	薬物の定量法.....	53
1. 8	重量変化.....	53
1. 9	種々前処理を施した <i>in vitro</i> 皮膚透過試験.....	53
1. 10	スプレー噴霧直後の皮膚切片の観察.....	54
1. 11	BG を添加した NLLC を用いた <i>In vitro</i> 皮膚透過試験.....	54
第 2 節	結果.....	55
2. 1	製剤の外観観察および LPG 中への分散性評価.....	55
2. 2	エアゾール剤噴霧時間と噴霧量の関係.....	56
2. 3	SAXS による結晶構造評価.....	57
2. 4	製剤からの皮膚透過性.....	58
2. 5	重量変化.....	59
2. 6	前処理による皮膚透過性.....	60
2. 7	スプレー噴霧直後の皮膚切片の観察.....	62

2.8 BGを添加したNLLCを用いた皮膚透過性	64
第3節 考察	65
第4節 小括	66
総括	67
謝辞	69
引用文献	70

略号および記号

BA	生物学的利用率
DIA	drug in adhesive
EtOH	エタノール
FL-Na	フルオレセインナトリウム
HC-PSA	非貫通型ハニカムフィルム
HO-PSA	貫通型ハニカムフィルム
HPLC	液体クロマトグラフ
i.p.	腹腔内投与
Ko/w	<i>n</i> - オクタノール/水分配係数
LC	液晶
LLC	ラメラ液晶
LPG	液化石油ガス
M.W.	分子量
MGE	1- <i>O</i> -(5,9,13-Trimethyl-4-tetradecenyl) glycerol ester
NLLC	非ラメラ液晶
PB	リン酸緩衝液
PET	ポリエチレンテレフタレート
PHY	3,7,11,15-Tetramethyl-1,2,3-hexadecanetriol
PSA	感圧接着型
SAXS	小角X線回折
TB	ツロブテロール
TDDS	経皮薬物送達システム
TEM	透過電子顕微鏡
UV	紫外線

緒言

医薬品の皮膚などに適用される製剤（以下、皮膚適用製剤）は、投与が簡便かつ服用管理が容易、嚥下障害患者への投与が可能、長時間にわたる安定した血中濃度の維持、肝初回通過効果の回避、副作用発現時の投与の中断が可能など多くのメリットを有する。皮膚適用製剤の中でも規定した用量の適用が可能な貼付剤は特に重篤な疾患の治療に有効であり、これらにはテープ剤およびパップ剤がある。また、これらの2剤を比較すると、テープ剤はパップ剤に比べて基剤が薄く、伸縮性に富んでいることから関節部など可動域に貼付しやすく、剥がれにくいという特徴がある^{1,2)}。

テープ剤は主に支持体、粘着層、ライナー（剥離体）から構成され、薬物の放出制御システムとして、放出制御膜を用いたリザーバー（膜透過）型とシリコーンや高分子ポリマーなどからなる粘着層および薬物含有層を有するマトリックス型に分類される^{3,4)}。マトリックス型でも特に薬物を含む粘着層（膏体）を有する感圧接着型テープ剤（pressure-sensitive adhesive tape、PSA tape）は、薄く、貼付部位に目立たずに長時間貼付でき、また、粘着性に優れているため、関節などの可動部位に貼付することが可能という利点がある⁴⁾。

これまでに米国で販売された皮膚適用製剤には1980年代にはリザーバー型のクロニジンやエストラジオール製剤、1990年代前半にはニコチンなどのマトリックス製剤、1990年代後半にはリドカインなどの粘着層に薬物が溶解しているDrug in adhesive（DIA）型製剤など多様な剤形がある。粘着剤にはゴム系では幅広い粘着性と低い化学反応性、アクリル系では基剤自体に粘着性があり、変性・収縮が容易、シリコーン系では耐薬品性に優れるなどの特徴があり、化学的な構造やその機能の違いにより使用用途に応じて使い分けられている^{4,5)}。

また、超高齢社会を迎えた本邦においては、加齢に伴う薬物有害事象の著しい増加が懸念される。その増加要因としては、疾患上の要因、機能上の要因および社会的要因に大きく分類され、中でも薬物動態の加齢変化や認知機能等の低下などの機能上の要因を取り除く対策法としては皮膚に適用される製剤にスイッチすることが有効であると考えられている⁶⁾。

一方で、皮膚適用製剤による有害事象についても一部報告されている。たとえば貼付時には主薬、添加剤および粘着剤などの基剤による化学的な刺激や、皮膚を覆うことにより汗の蒸散などが妨げられ皮膚が蒸れた状態になる物理的刺激などにより、皮膚の炎症（紅斑、浮腫など）や皮膚そう痒感が引き起こされることが報告されている⁷⁾。また、製剤を剥離する際に角層の一部をも隔離することにより、皮膚のバリア能の低下や炎症なども懸念される。これらの課題については、これまでに主薬のプロドラック化^{8,9)}や低刺激性の添加剤の封入および透湿性の高い支持体への変換¹⁰⁾などが行われてきたが、依然として解決すべき課題は残っている。

また、製剤化における大きな課題として、皮膚適用製剤に封入が可能な主薬が限られていることが挙げられる。これは、皮膚は脂溶性の高い角層によって覆われており、この層が高いバリア能を有し、外部からの物質の侵入並びに体内からの水分の蒸散を防いでいるためである¹¹⁾。皮膚に適用した薬物で薬効を得る場合、主薬は適度な脂溶性（Log Ko/w: 1~3）を有し、融点が低くかつ分子量 500 Da 以下などの物理化学的特性を有することが必要であることが広く知られている^{4,12)}。また、薬物は皮膚を介して体内に緩やかに吸収されるため、一定の血中濃度を長時間にわたり維持出来る利点はあるが、急速な血中濃度の上昇が必要な薬物や高い血中濃度が必要となる薬物には皮膚適用製剤化には向かない¹³⁾。これら課題となっている皮膚透過性の向上には、これまでに化学的促

進法^{14, 15)}や物理的促進法^{16, 17, 18)}などの研究が数多く進められてきた。このうち化学的促進法は角層の流動性および薬物の活量を高める、角層を水和させるなどの作用メカニズムを有する。現在、使用されている化学的促進剤は化学的構造によりいくつかのグループに分類される。例えば、アルコール、脂肪酸、アミン、エステル、アミド、炭化水素、界面活性剤、テルペン、スルホキシド、リン脂質などに分けられる^{14, 15)}。また、物理的促進法には電圧を皮膚に印加することで発生する溶媒流や主薬との反発を利用して皮膚内部に薬物を送達するイオントフォレシスや微細孔を開けることによって角層のバリア部分を回避するようなマイクロニードルなどの研究^{16, 17, 18)}が進められたが、適用時の皮膚刺激性並びにその回復性の問題や実用化における薬事規制上のハードルをクリア出来ず、課題の解決には至っていない。

また、主薬のライフサイクルマネジメントの一環として、または嚥下困難な患者にも使用出来るなど剤形としての選択肢を増やすために、経口剤などで先行して開発、販売が行われた主薬を皮膚適用製剤化する開発モデルも一般的¹⁹⁾である。なお、その際には経口剤では腸管からの吸収を高めるため主薬が塩であることが多く、テープ剤にする際には主薬の粘着剤への溶解性や皮膚からの吸収性が問題になることが少なくない。

そこで本研究では、新規の素材または添加物を用いて現在の皮膚適用製剤における課題の解決（皮膚適用製剤適用時に起こる物理的要因が原因となる有害事象の低減、水溶性薬物のテープ製剤への含有および皮膚からの吸収性の改善）に取り組んだ。

第一章では、皮膚刺激性の改善を目的として蜂の巣構造を有し、高い透湿性が期待されるハニカムフィルム²⁰⁾を皮膚適用製剤の支持体として用いた研究を

進めた。なお、これまでにハニカムフィルムを皮膚適用製剤に応用した例はない。

第二章では、薬物の皮膚透過性を著しく改善可能な方法として近年注目されている自己組織化脂質をテープ剤の添加剤として使用し、水溶性薬物のテープ剤化を検討した。ある種の自己組織化脂質は水に触れることで非ラメラ液晶 (NLLC) を形成する。NLLC は、ラメラ液晶 (LLC) と並んで液晶 (LC) の一種である²¹⁾。代表的な LLC の薬物キャリアとしてリポソームが知られており、これは疎水基と親水基が占める体積が等しい両親媒性脂質から成る。一方、NLLC は疎水基が占める体積が親水基の占める体積よりも大きな両親媒性脂質から成り、キュービック構造や逆ヘキサゴナル構造を形成する。これらの構造は、内相と分散相が連続した表面積の大きな 3 次元立体構造を形成することで、リポソームと同等以上の高い物質内包性や生体付着性に優れている²²⁾。著者が所属する研究室では、水溶性薬物を内封した NLLC ゲルからの薬物の皮膚透過促進効果について報告している²³⁾。PSA 内に吸収促進剤として NLLC を含有させることで吸収性改善だけでなく、貼付剤に選択可能な薬物の適用範囲の拡大に繋がると期待される。

第三章では、皮膚適用製剤の剤形としてエアゾールを選択し研究を進めた。テープ剤などは粘着力の維持のため一定の厚みの粘着層が必要となるが、薬物の溶解層に厚みがあると製剤中で主薬の速やかな拡散が必要となり、利用可能な濃度が見かけよりも低下することがある。一方、エアゾールは薬物溶解層を薄くすることによって高い皮膚透過性が期待されることに加えて、バックングレスのためテープ剤の支持体より皮膚水分の蒸散が妨げ、蒸れや皮膚刺激性などを解決することも可能と考えた。以上の二つの課題について、薬物の吸収促

進と刺激性の低減を目的として製剤の厚みに着目し、薄型のフィルムを形成する可能性があるエアゾールに着目し研究を行った。

第1章 新規支持体（ハニカムフィルム）の応用

PSA ポリマーを用いた DIA パッチは良好な薬物溶解性や高い安定性、皮膚への接着性並びに薬物の放出制御能を有するため、多くの全身作用型皮膚適用製剤（TDDSs）に使用されてきた²⁾。さらに、より軽量で薄く皮膚への追従性を高めたパッチが近年では汎用されている。それらの性質は皮膚表面の接着性だけではなく、患者のコンプライアンスの向上にも寄与する³⁾。しかしながら、依然として、テープ剤による密封が原因となる蒸れとそれによる皮膚刺激性の問題は解決していない。また、テープに含有する主薬や基剤又は添加剤による化学的な刺激だけではなく、テープ剥離時には貼付部位の角層の一部も剥離されることがあり、それも皮膚刺激性を引き起こす原因の一つとして考えられている⁷⁾。加えて、テープ貼付時に皮膚の柔軟性が失われることや貼付部位の蒸れによる細菌感染もその要因として挙げられる²⁴⁾。

これまでに支持体には不織布やポリエチレン、ポリエステルフィルムが用いられているが、長期時間の貼付時には水分や空気の蒸散が妨げられることにより、貼付力の低下や皮膚刺激が誘発される。加えて、高齢者の皮膚では一般的に顆粒層および角層表面のラメラ細胞数や脂質の合成能並びにケラチノサイトの合成能が低下しており、その結果皮膚のバリア能が低下する²⁵⁾。その結果、角層剥離が懸念される TDDS 製剤が治療の選択肢から外れる場合もある。

ハニカムフィルムは六角形の孔を有しハチの巣型構造をとり、空隙を有し構造的に安定であり物理的に強固であるなどの優れた性質も持つ。本章においては、皮膚適用時の蒸れを改善するためハニカムフィルムの支持体への応用を検討した。また、角層の剥離量にも着目し研究を進めた。

第1節 実験の部

1.1 試薬および実験材料

ハニカムフィルム (Figure 1-1) は株式会社リコー (神奈川、日本) から供与された。なお、ハニカムフィルムは、縦方向に貫通した貫通型ハニカムフィルムと片面がアクリル系紫外線硬化型粘着フィルムで覆われた非貫通型ハニカムフィルムを用いた。貫通型ハニカムフィルムは厚さ約 300~350 μm 、非貫通型ハニカムフィルムは厚さ約 350~400 μm のものを用いた。

アクリル酸エステル共重合体およびウレタンアクリレートより構成される UV 硬化アクリル粘着フィルムはリンテック株式会社 (東京、日本) より供与された。

ツロブテロール (TB) は和光純薬工業株式会社 (大阪、日本) から、Sudan II は東京化成工業 (東京、日本) からそれぞれ購入した。アクリル系粘着剤の Duro-tak (87-5216、ヘンケルジャパン株式会社、東京、日本)、シリコーン加工されたポリエチレンテレフタレート (PET) フィルムのライナー、PET フィルム (それぞれ、4310-01B2、1203-4929、Filmbyna、厚み 75 μm 、幅 200 mm、藤森工業株式会社、東京、日本) の支持体は、帝國製薬株式会社 (東かがわ、香川、日本) より供与された。

市販のツロブテロール製剤 (久光製薬株式会社、東京、日本) を対照製剤として使用した。

Table 1-1 に本研究で用いた試験製剤を示す。

その他の試薬およびその他の溶媒および試薬は市販の液体クロマトグラフ (HPLC) 用または特級品を用いた。

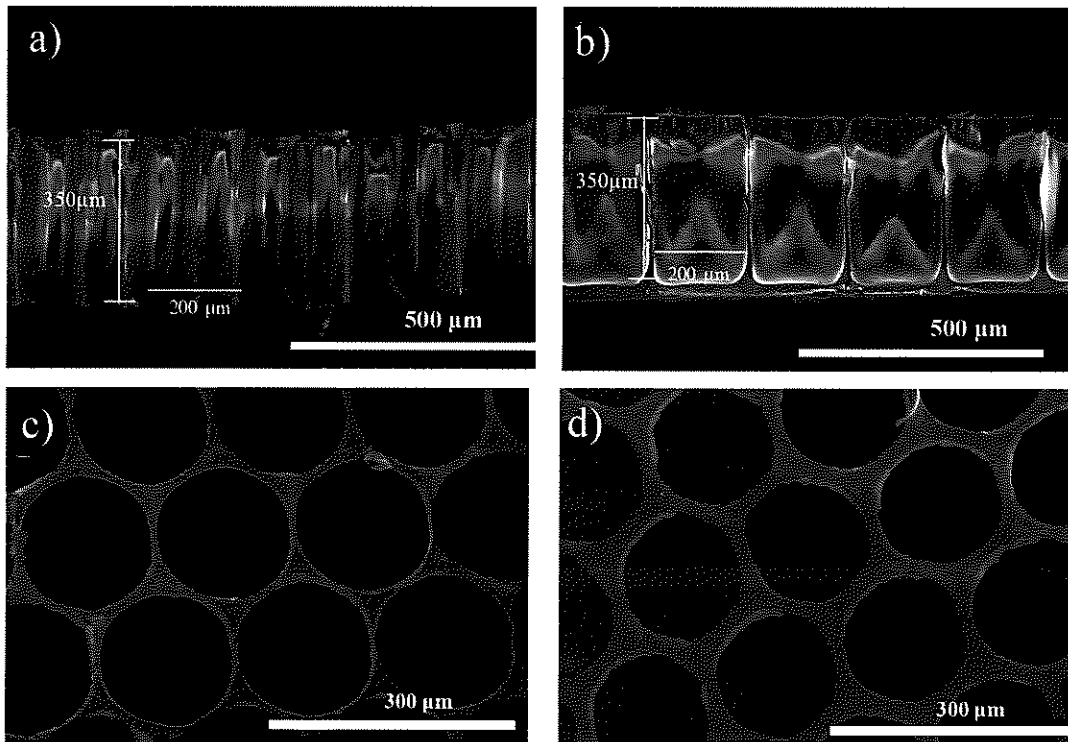


Fig. 1-1. SEM observation of the vertical and horizontal section of HC- and HO-PSAs vertical (a) and horizontal (c) sections of open-type honeycomb film. Vertical (b) and horizontal (d) sections of closed-type honeycomb film.

Table 1-1. Composition of PSA tape used in this experiment.

Formulation code	Backing layer	Adhesive
HO-PSA	Honeycomb film (perforated typed)	Acrylic type adhesive (Duro-tak 87-5216)
HC-PSA	Honeycomb film (non-perforated type)	Acrylic type adhesive (Duro-tak 87-5216)
D-PSA	Polyethylene terephthalate	Acrylic type adhesive (Duro-tak 87-5216)
Commercial formulation	Polyethylene terephthalate	Squalene Isopropyl salicylate, etc ⁶

1.2 実験動物

Hos:HR-1系雄性ヘアレスマウス（体重 30 g、7 週齢）は株式会社星野試験動物飼育所（坂東、茨城、日本）から購入した。マウスは、 $25 \pm 2^\circ \text{C}$ に調節され 12 時間ごとに照明サイクル（on、off 時間: 9:00-21:00）を繰り返す部屋で飼育した。また、水と飼料（オリエンタル酵母工業株式会社、東京、日本）は自由に摂取可能とした。なお、動物の飼育および実験は城西大学動物実験管理委員会の承認（H28003 および JU18003）を得た後、城西大学全学動物実験規定に従って行った。

1.3 各種 PSA テープ剤の調製法

秤量した TB と酢酸エチルで調製した溶液を Duro-tak に加え、マグネティックスターラーで混合したものを TB 含有粘着剤とした。これを、シリコーン加工された PET フィルムのライナー上に適量垂らし、厚さ 1 mil (25.4 μm) に調節した No.510 ベーカー式フィルムアプリケーター（安田精機製作所、東京、日本）を用いて TB 含有粘着剤を展延した。展延した粘着層は、温度 $20 \pm 2^\circ \text{C}$ 、湿度 $20 \pm 5\%$ で 30 分、さらに温度 32°C 、湿度 $20 \pm 2\%$ の空間で 30 分乾燥させた。乾燥後の TB 含有粘着層に、SN-版画ゴムローラー 3 号（株式会社 谷口松雄堂、京都、日本）を用い HC フィルムを圧着したものを HC-PSA、HO フィルムを圧着したものを HO-PSA、もしくは PET フィルムを圧着したものを D-PSA とした。Figure 1-2 には調製した試験製剤の模式図を示す。

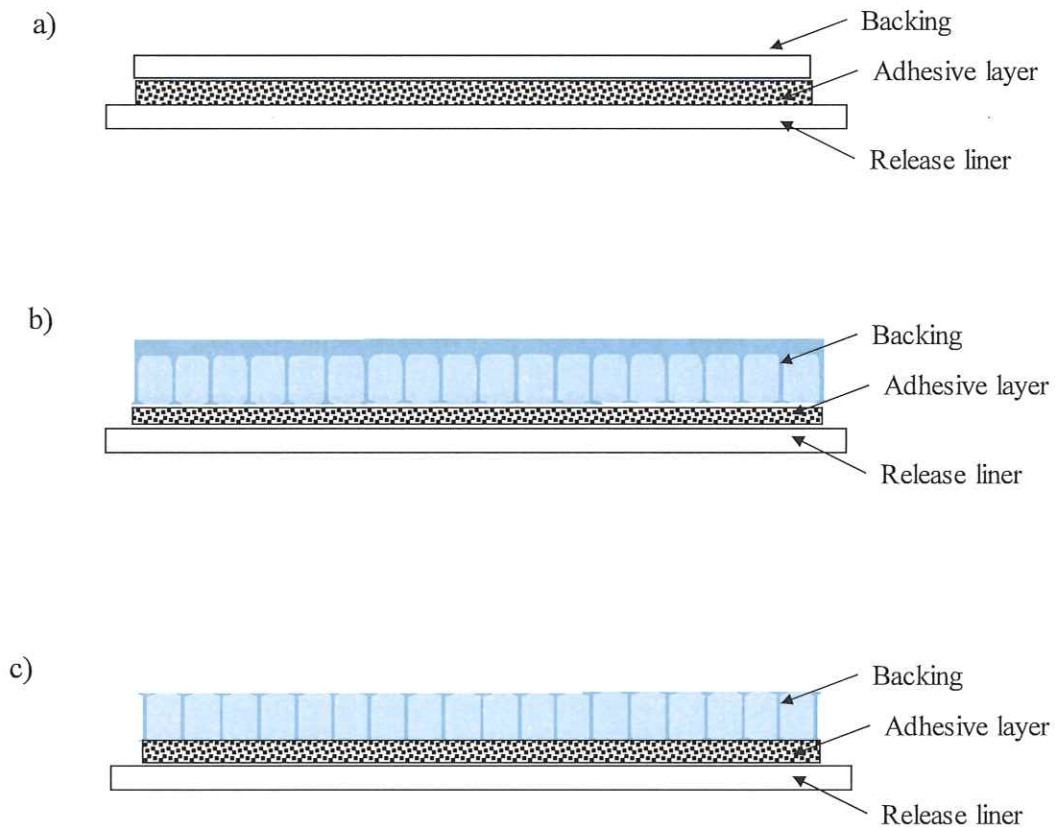


Fig. 1-2. Diagram of the prepared patches; a) D-PSA, b) HC-PSA and c) HO-PSA

1.4 ハイスピードカメラを用いた剥離状態の観察

調製したテープ剤をシリコン膜（厚さ 0.1 mm）に貼付し、剥離用自動ステージに設置した。次に、一定速度（5 mm / s）に設定したテンションゲージの端部にテープ剤を接続し、一定速度でシリコン膜から剥離される粘着層の状態を、高速度カメラ FASTCAM SA5 model 1300K-M1（株式会社フォトロン、東京、日本）を用い撮影した。撮影速度は 1000 fps とした。

1.5 *In vitro* 放出試験

Figure 1-3 に本研究で用いた横型拡散セルを示す。調製した各種 PSA テープ剤を横型拡散セル（セル容量：3 mL、有効透過面積：0.95 cm²）に貼付した。レシーバー溶液は生理食塩液を使用した。レシーバーの温度は 32°C に保ち、レシーバーセル内はスターヘッド型攪拌子をマグネティックスターラーにより 500 rpm で回転させることで攪拌した。試験中はサンプリングポートから経時的に 0.5 mL サンプルングし、その都度、同量の生理食塩液を補充し容量を一定に保った。薬物放出試験は 8 時間実施した。

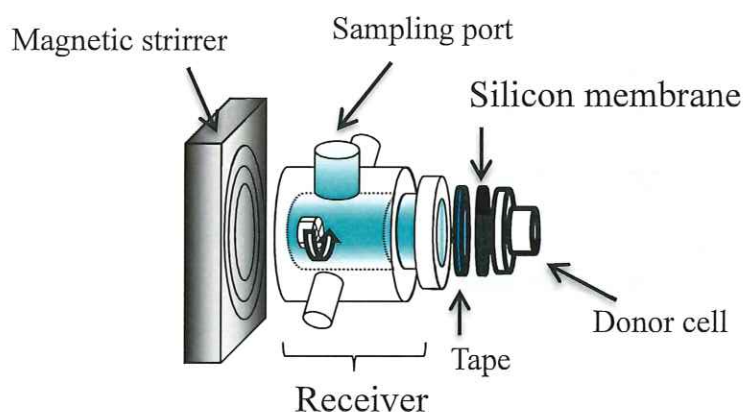


Fig. 1-3. Set-up of side-by-side diffusion cell for *in vitro* drug release experiment from PSA tapes.

1.6 *In vitro* 皮膚透過試験

Figure 1-4 に本研究で用いた縦型拡散セルを示す。三種混合麻酔下（塩酸メドミジン; 0.4 mg/kg、ミダゾラム; 4 mg/kg および酒石酸ブトルファノール;

5 mg / kg) 除毛処理後のヘアレスラット腹部皮膚を正中線の左右から 2 枚ずつ摘出した。摘出皮膚は真皮側の皮下脂肪と血液を丁寧に取除き、角層側に調製した各種 PSA テープ剤を貼付し、縦型拡散セル (セル容量: 6 mL、有効透過面積: 1.77 cm²) に装着した。レシーバー溶液は生理食塩液を使用した。その他実験条件は 1. 5. *in vitro* 放出試験と同様である。

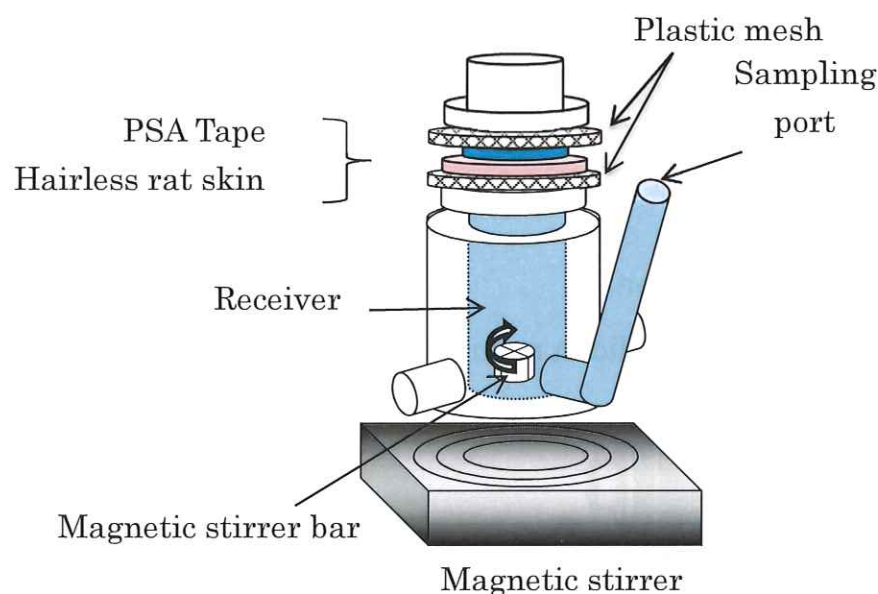


Fig. 1-4. Set-up of Franz type diffusion cell for *in vitro* intact skin permeation experiment.

1.7 薬物の定量方法

放出試験および皮膚透過試験で得られたサンプルは、アセトニトリルと 1 : 1 の割合で混和した後、遠心分離器 (HimacCT15RE、日立工機株式会社、東京、日本) で遠心分離 (21,500 × *g*, 5 min, 4°C) し、得られた上清中の薬物濃度を

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて測定した。Table 1-2 に HPLC の測定条件を示す。

Table 1-2. HPLC conditions for determination of TB in this experiment.

Column	Inertsil® ODS-3, 5 μ m, 4.6 mm I.D. \times 150 mm (GL Sciences Inc., Tokyo, Japan)
Mobile phases	Acetonitrile : 0.004% Phosphoric +1.5 mM IPC-ALKS-8= 35 : 65
Internal standard	Methyl 4-hydroxybenzate
Wave lengths	UV 215 nm
Column temperature	40°C
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	1 μ L

1.8 粘着力試験方法 (傾斜式ボールタック試験法¹¹⁾)

試験機として SUS304 製傾斜坂装置 (株式会社 野中理化器製作所、東京、日本) を用いた。本試験ではボール No. 2 から 12 までのスチールボールを使用した。試験ボールは使用前後にアセトンで洗浄した。傾斜板は、傾斜角 15° に設定し、助走路を 100 mm とし、測定部は、滑走路の下端から 50 mm を粘着面とした (Figure 1-5)。測定結果は粘着面上で 5 秒間以上停止した最大のボール No. を表し、同一条件で 3 回測定した値の平均値とした。なお、本試

験は試験製剤の中に日本薬局方に準拠した基準（長さ 70 mm 以上、幅 10 mm 以上）に満たない製剤があるため、製剤を 22×22 mm に切断し、それらを隙間なく縦方向に 3 枚にならべ、試験を行った¹²⁾。

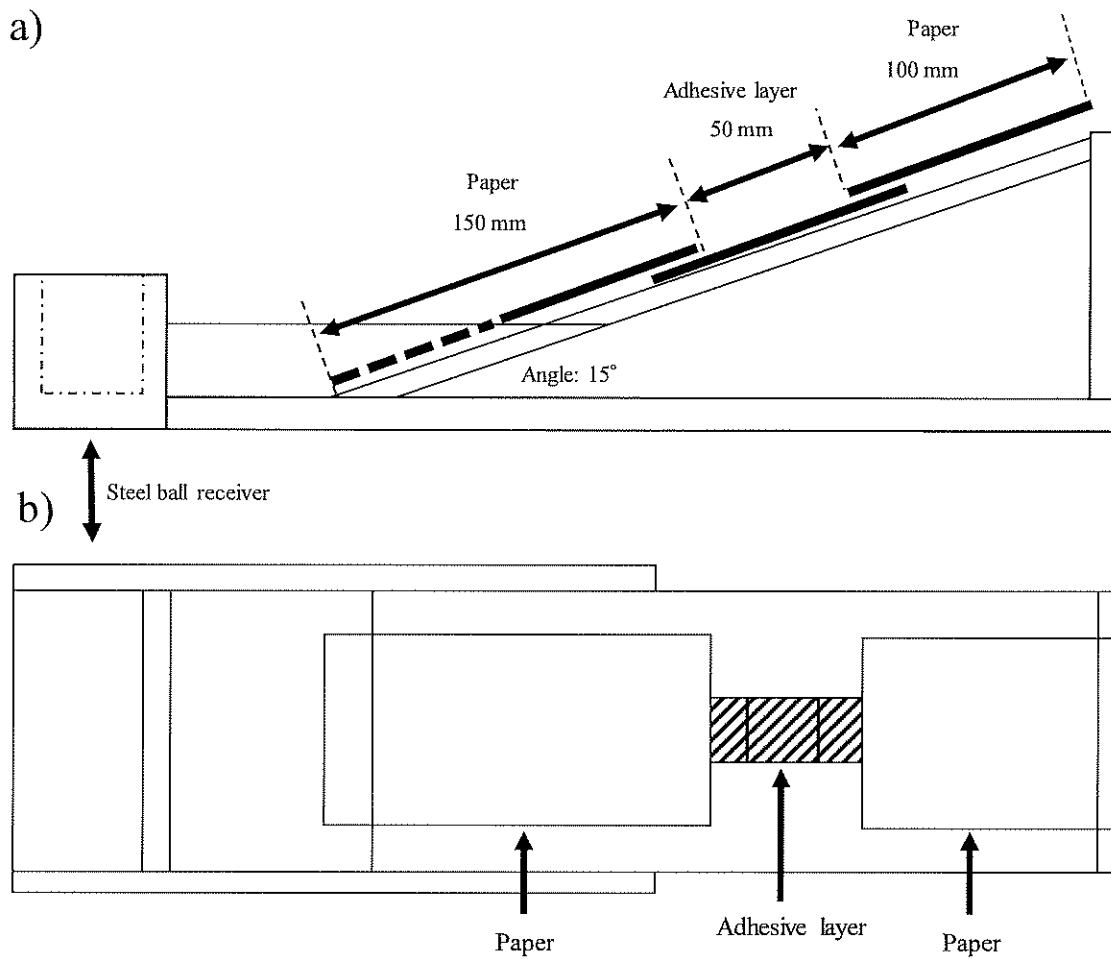


Fig. 1-5. Ball tack tester

1.9 透湿試験

10 mL の精製水が入った 20 mL バイアルの口を試験製剤で密閉した。その後、温度 32°C、湿度 20 ± 2% の空間でインキュベートし、0 および 8 時間にバイアルの重さを測定し、水分蒸発量を比較した。水分蒸発量は下記の式で算出した。

$$\text{水分蒸発量 (mg / cm}^2\text{)} = 0 \text{ 時間 (mg / cm}^2\text{)} - 8 \text{ 時間目 (mg / cm}^2\text{)}$$

1.10 *In vivo* 製剤貼付試験

1.10.1 試験製剤貼付前の TEWL 測定方法^{26, 27)}

ヘアレスマウスに三種混合麻酔（塩酸メドトミジン：0.4 mg/kg、ミダゾラム：4 mg/kg、酒石酸ブトルファノール：5 mg/kg、i.p.）を施し、実験を行った。TEWL 測定器 VAPO SCAN（AS-VT100RS、株式会社アサヒテクノラゴ、神奈川、日本）を用いて温度 20～22° C、湿度 50 ± 5% の空間でヘアレスマウス腹側部皮膚の TEWL を測定した。

1.10.2 角層剥離量測定方法

2.2 × 2.2 cm² 四方に切断した各種試験製剤をマイクロ電子天秤（Mettler Toledo、東京、日本）にて重さを測定した。その後、ヘアレスマウス腹側部皮膚の左右どちらかに試験製剤を 8 時間貼付した。貼付中は 2 時間ごとに麻酔を施した。8 時間経過後、試験製剤を剥離し、マイクロ電子天秤にて剥離後の試

験製剤の重さを測定した。角層剥離量は、製剤の貼付前後の重量差から算出した。

1. 10. 3 試験製剤剥離後の TEWL 測定方法

試験製剤を剥離し、10 分後に VAPO SCAN を用いて温度 20~22° C、湿度 50 ± 5%の空間で剥離部位の TEWL を測定した^{28, 29)}。また、本試験では下記の式にて TEWL 変化率を算出し、製剤剥離による TEWL 変化率を比較した。

$$\text{Change in TEWL (\%)} = \left(\frac{\text{TEWL}_{8h} - \text{TEWL}_{0h}}{\text{TEWL}_{0h}} \right) \times 100$$

第2節 結果

2. 1 調製製剤の厚みおよび表面状態

テープ製剤調製直後に測定した製剤の厚みは、HO-PSA は 350 ± 20 μm、HC-PSA は 550 ± 20 μm であった（共に mean ± S. D.）。Figure 1-6 に HC-PSA にスダンIIを含有した粘着剤を圧着したときの粘着面の写真を示す。写真から明らかなように、ハニカム格子部分と粘着層の間に浮きやずれがなく、均一で滑らかな表面となっており、しっかりと圧着している様子が確認できた。



Fig. 1-6. Light micrograph observation of HC-PSA containing Sudan II in the adhesive layer.

2.2 試験製剤の貼付力

Table 1-3 に各製剤のボールタック試験の結果を示す。試験製剤の粘着力は D-PSA が最も高く、次いで HC-PSA、HO-PSA の順を示した。

Table 1-3. Adhesive property of test preparations.

Test preparation	Ball tack (No.)
HO-PSA	7
HC-PSA	9
D-PSA	11
Commercial formulation	6

2.3 透湿試験

Table 1-4 に各試験製剤を介した水分蒸発量を示す。HO-PSA では市販製剤および D-PSA よりも高い透湿性が見られ、HC-PSA においても高い傾向を示した。

Table 1-4. Amount of water evaporated.

Test preparation	HO-PSA	HC-PSA	D-PSA	Commercial formulation
mg / cm ²	35.9 ± 2.3	3.2 ± 0.7	0.8 ± 0.4	1.1 ± 0.5

The mean ± S.D. (n = 3-4)

2.4 各 PSA テープの角層剥離量および TEWL 変化量の比較

Figure 1-7 に角層剥離量および TEWL の変化率を示す。角層剥離量は D-PSA に比べ HO-PSA で有意に低く、HC-PSA で低い傾向が認められた。また、HO-PSA および HC-PSA を皮膚適用前後の TEWL の変化量は D-PSA の比べそれぞれ有意に低かった。

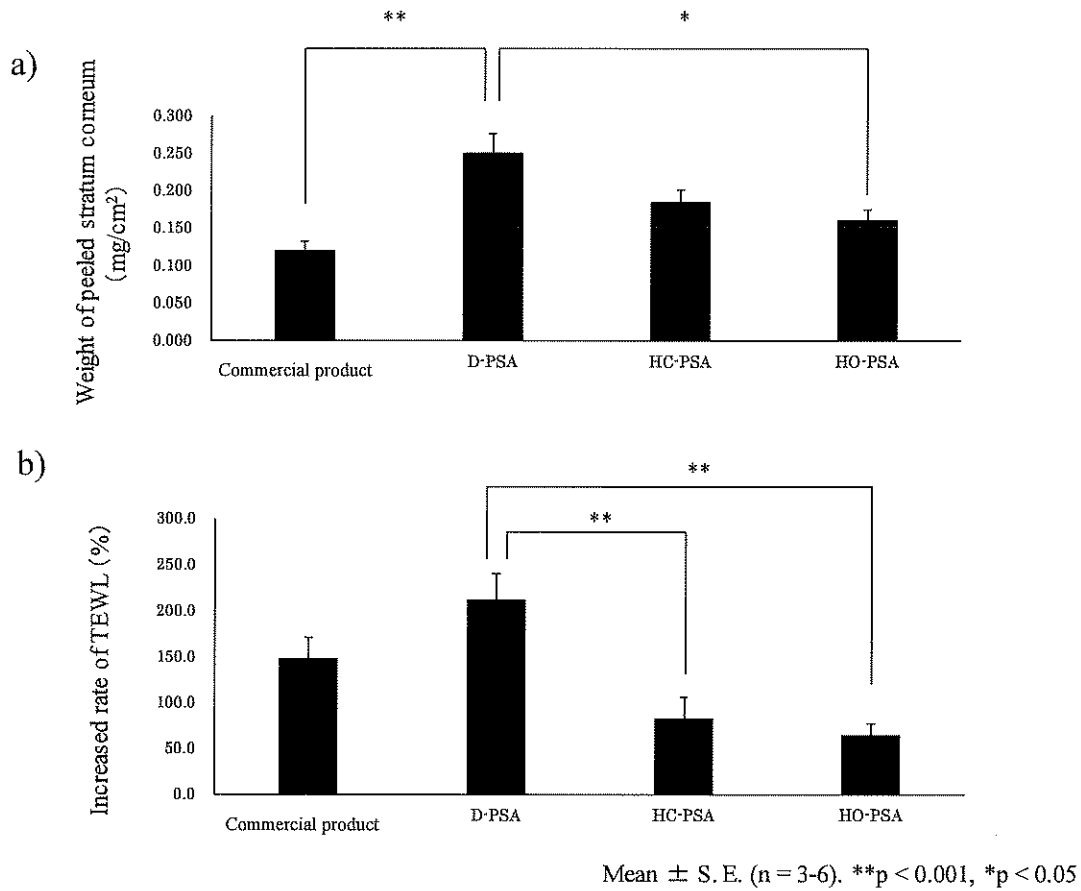


Fig. 1-7. Changes in the total amount of removed stratum corneum (a) and TEWL value (b) after detachment of the allied patch from the skin surface

2.5 剥離された角層の観察

Figure 1-8 に製剤剥離時に剥離された角層の分布パターンを示す。いずれの製剤を用いた時も染色されたケラチノサイト細胞が確認された。D-PSA では観察した範囲に均一に角層が剥離された。特に、矢印で示す色の濃い個所については角層が重層化して剥離されていると考えられた。

一方で、D-PSA に比べて市販製剤、HO-PSA および HC-PSA を用いた時は、剥離された角層面積並びに重層化して剥離した箇所は少ないことが観察された。

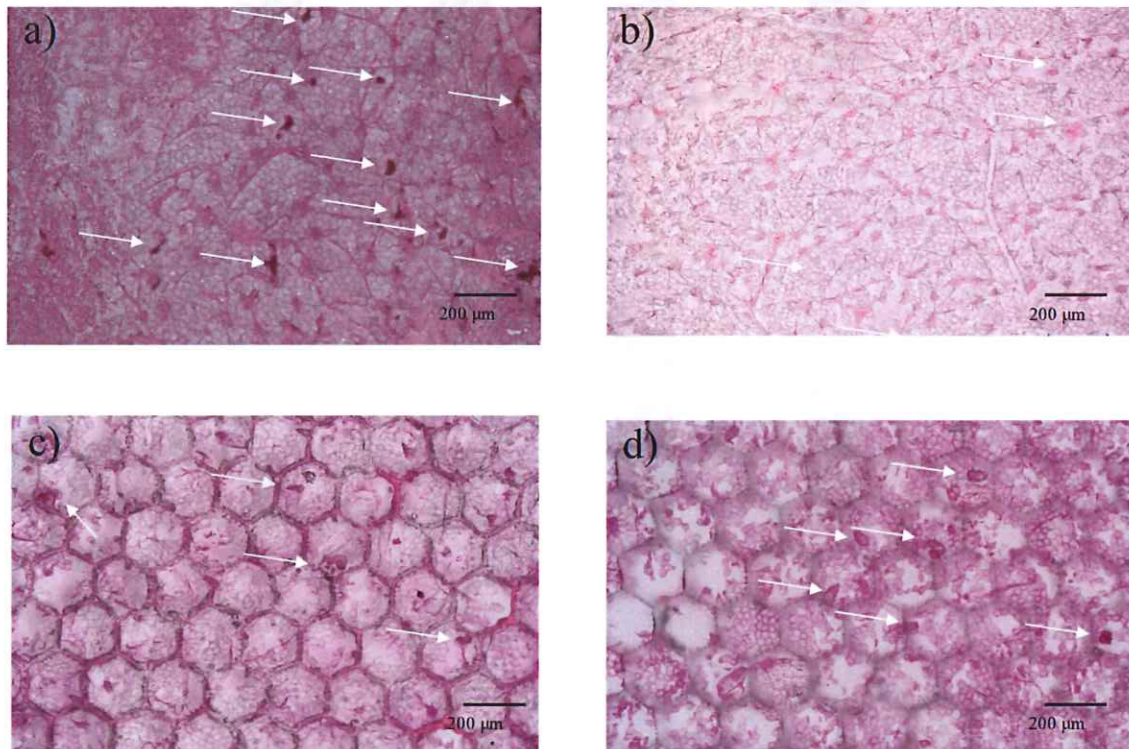


Fig. 1-8. Distribution pattern of the removed stratum corneum after detachment of the applied patch; a) D-PSA, b) the commercial product, c) HC-PSA and d) HO-PS. Bar: 200 μ m.

2.6 ハイスピードカメラによる観察結果

Figure 1-9 にハイスピードカメラで撮影した結果を示す。D-PSA テープ剤および市販製剤は、支持体、粘着層、シリコーン膜の3層の動きが同調して剥がれることが観察された (Fig. 1-9 a and b)。一方、HC-PSA テープ剤では3層の動きが同調せず、粘着層が遅れて剥離することが観察された (Fig. 1-9 c)。こ

これらの結果から、ハニカムフィルムを支持体に用いることで、粘着層に応力緩和が起こり角層剥離量を低減する可能性が示唆された。

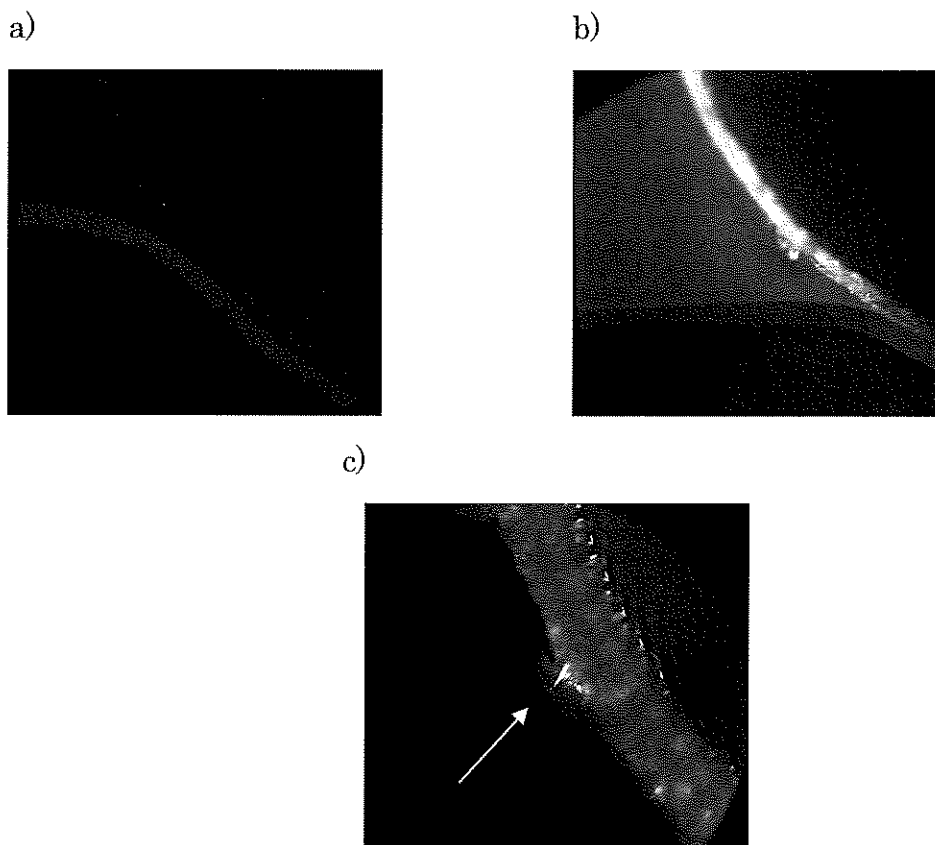


Fig. 1-9. High-speed camera observation of removal of adhesive layers.
a) D-PSA; b) Commercial Formulation; c) HC-PSA.

2.7 製剤からの放出性

調製した各種 PSA テープ剤からの放出試験結果を Figure 1-10 に示す。調製した全ての PSA テープ剤の放出率はほぼ同等の値を示し、製剤間で有意な差は認められなかった。この結果から、TB の放出性は支持体の違いによる影響を受けないと考えられた。

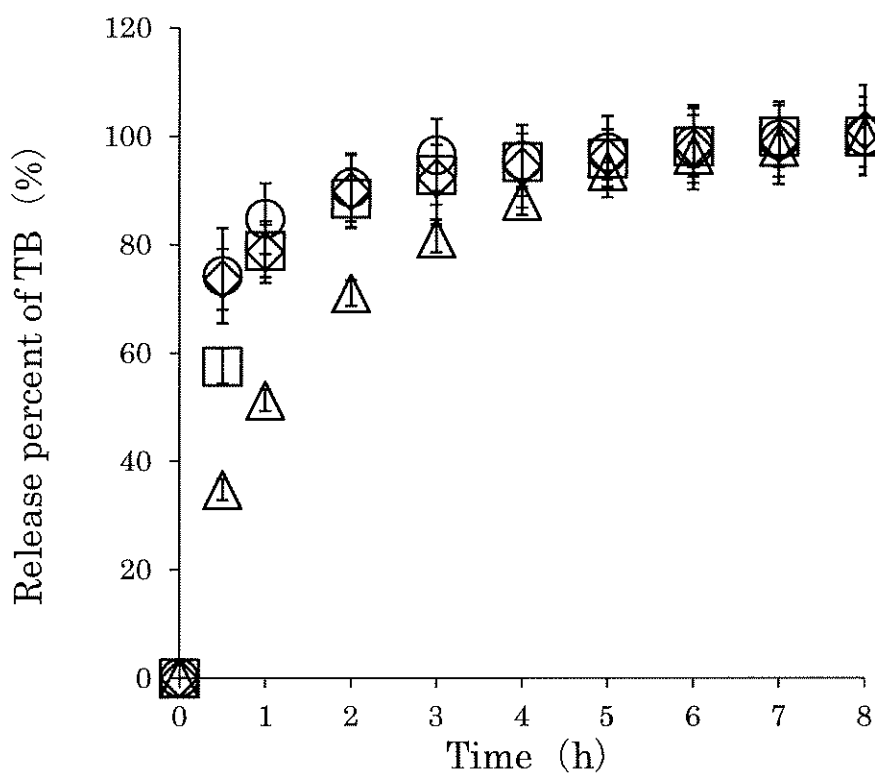


Fig. 1-10. Release profile of TB from PSA tapes. Symbols : □, D-PSA; ○, HC-PSA; △, Commercial Formulation; ◇, HO-PSA. Each point shows as the mean \pm S.D (n = 3).

2.8 製剤の皮膚透過性

各種 PSA テープ剤の皮膚透過試験結果を Figure 1-11 に示す。調製したテープ剤からの TB 透過率は、D-PSA テープ剤からが最も高い値を示したものの、HO-PSA および HC-PSA テープ剤からの TB 透過率と有意な差は認められなかった。この結果から、ハニカムフィルムを用い調製した各種テープ剤は、D-PSA テープ剤と同様に皮膚に正確に貼付され、皮膚透過性に影響を与えないと考えられた。

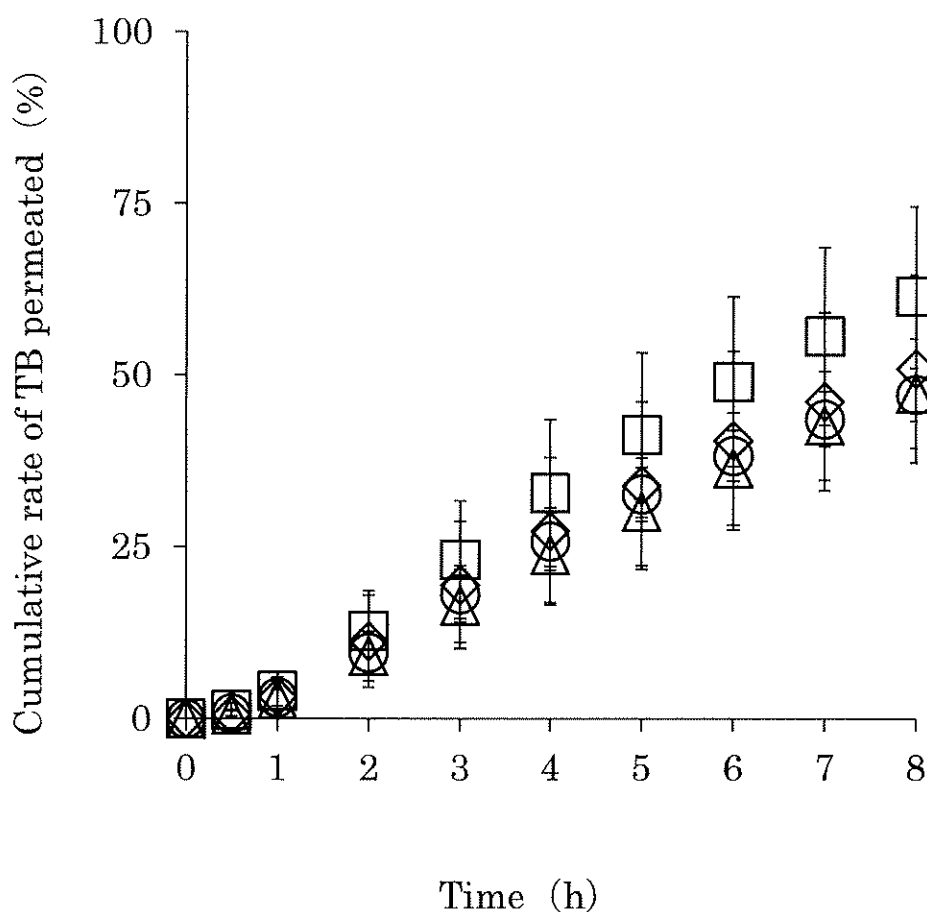


Fig. 1-11. Skin Permeation profile of TB from PSA tape containing TB. Symbols: □, D-PSA; ◇, HO-PSA; ○, Commercial Formulation; △, HC-PSA. Each pint shows as the mean \pm S.D (n = 4-7).

第3節 考察

皮膚適用製剤の長時間の貼付や剥離時に引き起こされる皮膚刺激性の低下は当該製剤をより有用に使用する上で解決すべき課題とされていた。これまでに皮膚適用製剤の支持体としてエチレンビニルアセテート、不織布およびポリエチレンテレフタレートなどが使用されていた^{30, 31)}。Shiらの報告によると、ポリアクリルポリビニルアルコール共重合体により構成されるナノ繊維は高い通気性および透湿性を有している³²⁾。しかしながら、これまでにハニカムフィルムをDIAパッチの支持体に使用し、製剤剥離時の角層剥離量やTEWLの変化について報告した研究はない。

DIAパッチの柔軟性と伸長性は支持体や粘着剤の厚さ、組成、形状および剛性によって影響を受け、またそれらは製剤剥離時の剥離力を決定する要因である³³⁾。本研究では、接着特性、薬物放出性および皮膚透過性について、ハニカムフィルムを支持体を使用した製剤とこれまでに汎用されていたPETフィルムを支持体を使用した製剤および市販製品と比較した。

粘着力試験においては、90°ピール粘着試験およびプローブタック試験でハニカム製剤から粘着層が剥離し、試験が不成立であった。一方、傾斜式ボールタック試験では、HC-PSAおよびHO-PSAのタック値は、同じ粘着剤にもかかわらずD-PSAよりも低かった。これらのことより、ハニカムフィルムでは表面の小孔に粘着剤が入り込む投錨効果により、フィルムと粘着剤の界面接着が強固になることが期待されたが、一方で、ハニカムフィルムは空隙を有するため粘着剤との接着面積が小さくなり、界面破壊が起きたものと考えられた。また、HC-PSAおよびHO-PSAは、D-PSAよりもタック値が低いため、貼り直しも可能な製剤になりうると思われた。

D-PSA と比較して HC-および HO-PSA を剥離した際の TEWL 値の変化は有意に低く ($p < 0.001$)、HC-および HO-PSA の剥離後の TEWL 値の変化を D-PSA の値の比を計算するとそれぞれ約 0.39 および 0.30 であった。さらに、適用されたパッチの剥離によって除去された角層の量を比較するために同様の検討を行った。剥離された角層量の D-PSA と HO-および HC-PSA の比は、それぞれ 0.74 および 0.64 であった。製剤剥離により剥離された角層量と TEWL 値の変化との間に相関関係が認められたが、製剤剥離による角層量変化率と TEWL 変化率を比較すると、角層量変化率の方が低かった。そこで、剥離された角層の分布傾向を光学顕微鏡で観察したところ、除去された角層は D-PSA 中の PSA 層上に均一に分布していたが、HC-PSA および HO-PSA 中には角層が剥離されていない箇所が観察された。また、角層が重層化して剥離される箇所についても、HC-PSA および HO-PSA と比較して D-PSA において比較的高い頻度で観察された。この HC-PSA と HO-PSA で得られた D-PSA との差は、適用パッチの剥離によって除去された角層量変化率よりも TEWL 変化率の方が高いという理由の一つと考えられた。

薬物の放出性に関しては、HC-PSA からの累積薬物放出量は 30 分で HO-PAS および D-PSA よりも少なかったが、いずれの試験製剤からも 2~3 時間時点においてほぼ 100%の放出が確認された。

また、薬物の皮膚透過性に関しては、8 時間目の累積透過量において有意な差はなく、これは薬物の 30 分で認められた放出性の違いは皮膚透過性にほとんど影響を与えていないと考えられた。

以上より、HC-PSA および HO-PSA の剥離時に観察された角層非剥離部分については、製剤と皮膚が接着していない懸念があったが、薬物の放出性および皮

膚透過性に明らかな違いは観察されず、D-PSA と同様の皮膚接触面積を有することを示唆している。

D-PSA に比べて HC-PSA および HO-PSA の剥離によって除去される角層量が少ないことを明らかにするために、PSA 層の挙動を高速カメラで観察した。Figure 1-9 に製剤の PSA 層をシリコン膜から除去した写真画像を示す。D-PSA 中の PSA 層の除去挙動は、シリコン膜からの除去プロセスと類似した挙動を示した。一方、HC-PSA の PSA 層はハニカムフィルム中の空隙を覆っており、その PSA 層の伸長により剥離過程に遅延が確認された。PSA 層は、D-PSA のバックング層に完全に接着し、角層を均一な力で剥離した。対照的に、HC-PSA および HO-PSA 中の PSA 層は、ハニカムフィルムの格子部分に強固に密着し、空隙部分の PSA 層は伸長するため、剥離力を低下させたと考えられた。したがって、空隙部分の PSA 層の伸長は、製剤剥離時に剥離される角層量が減少した一つの要因であると推察した。さらに、ハニカムフィルムは PET フィルムに比べて厚みがあり立体的な構造を有し、剥離過程において柔軟にその形状を変化させることが、剥離力を低下させたと考えた。したがって、支持体の硬度も剥離力に影響を与える重要な要素となる可能性が示唆された³⁴⁾。

本研究においては、適用された製剤の密閉効果による角層水分量の変化を調査しなかったが、密閉効果による角層の過度な水和は、適用製剤の粘着力と角層バリア機能を低下させる³⁵⁾ことが知られている。また、角層の水和は、角層剥離後のバリアの回復機能にも影響を及ぼす³⁶⁾。本研究によって認められた HC-PSA および HO-PSA の高い透湿性はこのような密閉効果の影響を改善する可能性が示唆された。

本研究では、ハニカムフィルムの厚みや硬度の違いが粘着性能に与える影響については検討していないが、実用化に向けたハニカムフィルムの有用性評価には必要と考えられ今後の検討としたい。

第4節 小括

ハニカムフィルムを支持体に用いた DIA テープは薬物の皮膚透過性に影響を与えることなく、従来から支持体に用いられている PET フィルムに比べ高い透湿性を有し、製剤貼付による TEWL の変化量を低下させた。

今後実用化に向けては薬事規制上必要な検討を行う必要があるものの、本研究において剥離時の皮膚刺激を低下させる支持体としてハニカムフィルムの有用性が示された。

第2章 テープ剤への自己組織化脂質の含有

前述した通り、皮膚適用製剤は投与が簡便かつ服用管理が容易、嚥下障害患者への投与が可能、長時間にわたる安定した血中濃度の維持、肝初回通過効果の回避、副作用発現時の投与の中断が可能など多くのメリットを有する。皮膚適用製剤の中でも用量が設定出来る貼付剤である、テープ剤やパップ剤は市場に広く出回っている。

一方で、皮膚適用製剤に含有出来る主薬は、皮膚透過性の面から適度な脂溶性 ($\text{Log } K_{\text{o/w}}: 1\sim 3$) を有し、融点が低くかつ分子量 500 Da 以下であること³⁷⁾、また、市販されている皮膚適用製剤の多くは、24 時間貼付後も製剤内に約 50% 以上も薬物が残存していることから生物学的利用率 (BA) が低い³⁸⁾ という大きな欠点も有している。角層の流動性を高め、薬物の活量を高め、あるいは角層を水和させるなどのメカニズムを有する化学的促進法の多くがすでに実用化されている。

近年、薬物の皮膚透過性を著しく改善可能出来る添加物として、脂質集合体の一つである自己組織化脂質が注目されている。自己組織化脂質は水に触れることで NLLC を形成することがある。NLLC と LLC は LC の一種である²¹⁾。代表的な LLC の薬物キャリアとしてリポソームが知られており、これは疎水基と親水基が占める体積が等しい両親媒性脂質から成る。一方、NLLC は、疎水基が占める体積が親水基の占める体積よりも大きな両親媒性脂質から成り、逆キュービック構造や逆ヘキサゴナル構造を形成する²⁰⁾。これらは、内相と分散相が連続した表面積の大きな 3 次元立体構造を形成することで、リポソームと同等以上の高い物質内包性を示す可能性が高い。また、生体付着性に優れている特徴がある²²⁾。著者が所属する研究室では、水溶性薬物を内封した NLLC ゲルからの薬物皮膚透過促進効果を報告している²³⁾。これらから著者は PSA

テープ剤内に吸収促進剤として NLLC を含有させることで吸収性改善が期待できるだけでなく、水溶性薬物などこれまではテープ剤に封入が困難であった薬物まで封入が可能になると考えた。

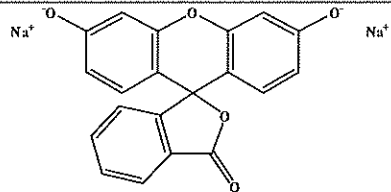
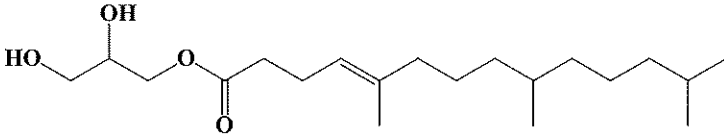
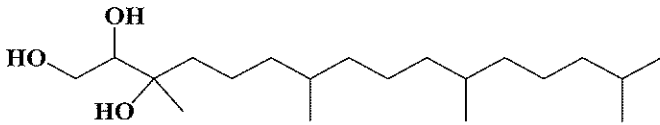
本研究では、NLLC 脂質を含有した PSA テープ剤を調製し、難皮膚透過性の水溶性モデル薬物として選択したフルオレセインナトリウム (FL-Na) の内封剤の調製の可能性および FL の皮膚透過性を調べた。

第 1 節 実験の部

1.1 試料および実験材料

水溶性モデル薬物として用いた FL-Na は、和光純薬工業株式会社（大阪、日本）より購入した。また、1-*O*-(5,9,13-Trimethyl-4-tetradecenyl) glycerol ester (MGE) は、株式会社ファルネックス（神奈川、日本）から供与された。3,7,11,15-Tetramethyl-1,2,3-hexadecanetriol (PHY) 及びミリスチン酸イソプロピル (IPM) は東京化成工業株式会社（東京、日本）から購入した。アクリル系粘着剤の Duro-tak (387-2516)、シリコーン加工されたポリエチレンテレフタレート (PET) フィルム (4310-01B2) のライナー、PET フィルム (1203-4929) の支持体は、帝國製薬株式会社（東かがわ、香川、日本）から供与された。その他の溶媒は市販の特級および HPLC 用を使用した。これらの試薬および溶媒は精製せずにそのまま用いた。なお、Table 2-1 に FL-Na、MGE および PHY の構造式および分子量 (*M.W.*) を示す。

Table 2-1. Chemical structures and *M.W.* of FL-Na and non-lamella liquid crystal forming lipids.

Compounds (Abbreviation)	Chemical Structure	<i>M.W.</i>
Fluorescein sodium (FL-Na)		376.3
1- <i>O</i> -(5, 9, 13- Trimethyl-4- tetradecenyl) glycerol ester (MGE)		342.5
3,7,11,15- Tetramethyl- 1,2,3- hexadecanetriol (PHY)		330.6

1.2 実験動物

雄性ヘアレスラット (WBN/11a-Ht、体重 160-190 g) は石川実験動物研究所 (深谷、埼玉、日本) から購入した。ヘアレスラットは 12 時間ごとに明暗サイクル (on、off 時間 : 9:00-21:00) を繰り返し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ に調節された部屋で飼育した。また、水と餌 (オリエンタル酵母工業、東京、日本) は自由に摂取可能とした。なお、動物の飼育および実験は城西大学動物実験管理委員会の承諾を得た後、城西大学全学実験動物規定に従い行った。

1.3 非ラメラ液晶の調製

MGE または PHY と pH7.4 リン酸緩衝液 (PB) で調製した FL-Na 水溶液が重量比 1:1、2:1、3:1 となるようそれぞれマイクロシリンジ (容量 0.25 mL) (MS-GAN025、株式会社伊藤製作所、静岡、日本) 内に充填後、これら内容物を均一に混合し NLLC を調製した。NLLC 中の FL-Na 含量は最終的に 10 mM となるよう調製した。なお PHY は、常温で半固体のため、ホットスターラー (100°C、30 分) で融解させたのち用いた。

また、対照として一般的に使用されている透過促進剤の IPM と FL-Na 水溶液を 1:1 となるよう同様に混合した。

1.4 PSA テープ製剤の調製

1.3 で調製した混合物に一定量の Duro-tak を加え、マグネティックスターラー (SW-RS077、株式会社 日伸理化、東京、日本) を用いて混合 (500 rpm、5 min) した。この混合物を厚さ 1 mil (25.4 μm) に調節した No.510 ベーカー式フィルムアプリーケーター (安田精機製作所、東京、日本) を用いて PET フィルム上に展延した。展延した粘着層は、温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $20 \pm 5\%$ で 30 分、さらに温度 32°C 、湿度 $20 \pm 2\%$ のインキュベーター内で 30 分乾燥させた。乾燥後の粘着層に SN-版画ゴムローラー3号 (株式会社 谷口松雄堂、京都、日本) を用い PET フィルムの支持体を圧着させた。

1.5 調製したテープ製剤の組成および命名法

Table 2-2 に調製を試みたテープ製剤の組成および命名法を示す。

Table 2-2. Formulation and nomenclature of PSA.

Formulation code Additives	T-D ₈₀ M ₁₀	T-D ₈₀ M ₁₃	T-D ₈₀ M ₁₅	T-D ₈₀ P ₁₀	T-D ₈₀ P ₁₃	T-D ₈₀ P ₁₅
Duro-tak	80	80	80	80	80	80
MGE	10	13.35	15	-	-	-
PHY	-	-	-	10	13.35	15
FL-Na solution	10	6.65	5	10	6.65	5
Total (%)	100	100	100	100	100	100
MGE or PHY : FL-Na solution	1 : 1	2 : 1	3 : 1	1 : 1	2 : 1	3 : 1

Nomenclature : T-D_{20/70/80/90}M/P_{10/13/15}

T : Tape

D : Duro-tak

20/70/80/90 : Duro-tak (%)

M/P : MGE/PHY

10/13/15 : MGE/PHY (%)

1.6 粘着層の厚み測定

ハンドクリッパー（シネックスゲージ、株式会社 テクロック、岡谷、長野、日本）を用いて、調製した PSA テープ製剤の厚みを測定した。なお、粘

着層の厚みは、テープ製剤の厚みから支持体およびライナーの厚みを引いた値とした。

1.7 粘着層の蛍光顕微鏡撮影

乾燥後の粘着層を蛍光顕微鏡（BZ-X700、株式会社 キーエンス、大阪、日本）を用いて粘着面の蛍光観察を行った。蛍光観察時の撮影条件は、対物レンズ CFI Plan Apo λ 2x、蛍光フィルタ GFP（OP-87763 BZ-X フィルタ）、励起波長 470/40 nm、吸収波長 525/50 nm ダイクロイックミラー波長 495 nm、ゲイン +6dB とした。なお、露光時間は、液晶形成脂質を含有している製剤では 1/175s、含有していない製剤では、1/5s とした。

1.8 NLLC の構造解明

小角 X 線散乱装置（SAXS）（Nano-Viewer: リガク株式会社、東京、日本）を用いて、製剤の液晶構造解析を行った。Duro-tak: MGE: FL-Na sol = 1: 4.5: 4.5 で調整したゲルをライナーに展延したものを測定サンプルとした。測定は、金沢大学理工研究域（金沢、石川、日本）に委託した。Table 2-3 の通り、SAXS で得られた各極大ピークにおける 2θ 値から Bragg 式 (1) を用いて面間隔比を算出することで、NLLC 構造の同定することが可能である³⁹⁻⁴²。

$$2d \sin \theta = n \lambda \quad (1)$$

ここで、 d は格子面の間隔、 2θ は散乱角、 n は正の整数、 λ は X 線波長を示す。なお、X 線源は $\text{CuK}\alpha$ (1.5418 Å) を使用した。Table 2-3 にラメラ、逆ヘキサゴナルおよび逆キュービック液晶構造の固有面間隔比を示す。

Table 2-3. Liquid crystal structure of spacing ratio ⁴³⁾.

Liquid crystal structure	Spacing ratio
Lamella	1 : 2 : 3 : 4 : 5
Reverse hexagonal	1 : $\sqrt{3}$: 2 : $\sqrt{7}$: 3
Reverse Cubic	-
Pn3m	$\sqrt{2}$: $\sqrt{3}$: $\sqrt{4}$: $\sqrt{6}$: $\sqrt{8}$
Im3m	$\sqrt{2}$: 2 : $\sqrt{6}$: $\sqrt{8}$: $\sqrt{10}$
Ia3d	$\sqrt{6}$: $\sqrt{8}$: $\sqrt{14}$: 4 : $\sqrt{20}$
Fd3m	$\sqrt{3}$: $\sqrt{8}$: $\sqrt{11}$: $\sqrt{12}$: 4

1.9 *In vitro* 放出試験

Figure 2-1 に本試験で用いた横型拡散セルを示す。調製したテープ製剤を横型拡散セル（セル容量：3 mL、有効透過面積：0.95 cm²）に貼付した。レシーバー溶液は PB を使用した。レシーバーの温度は 32°C に保ち、レシーバーセル内はスターヘッド型攪拌子をマグネティックスターラーにより 500 rpm で回転させることで攪拌した。試験中はサンプリングポートから経時的に 0.5 mL サンプルングし、その都度、同量の PB を補充した。放出試験は 8 時間実施した。

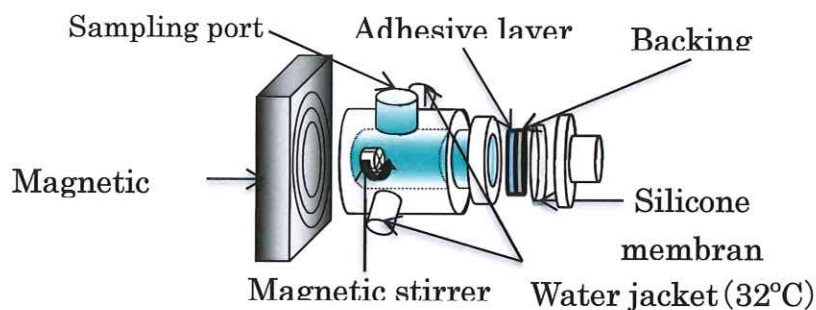


Fig. 2-1. Set-up of side-by-side diffusion cell for *in vitro* drug release experiment from PSA tape.

1.10 *In vitro* 皮膚透過試験

Figure 2-2 に本試験で用いた縦型拡散セルを示す。三種混合麻酔下（塩酸メドミジン：0.15 mg/kg ミダゾラム：2 mg/kg 酒石酸ブトルフェール：2.5 mg/kg、*i.p.*）除毛処理後のヘアレスラット腹部皮膚を正中線の左右から2枚ずつ摘出した。摘出皮膚は真皮側の皮下脂肪と血液を丁寧に取り除いた。1時間水和した後、角層側にテープ製剤を貼付し、縦型拡散セル（セル容量：6 mL、有効透過面積：1.77 cm²）に装着した。レシーバー溶液としてPBを用い、真皮側へ6 mL適用した。その他実験条件は1.9 *in vitro* 放出試験と同様にして行った。

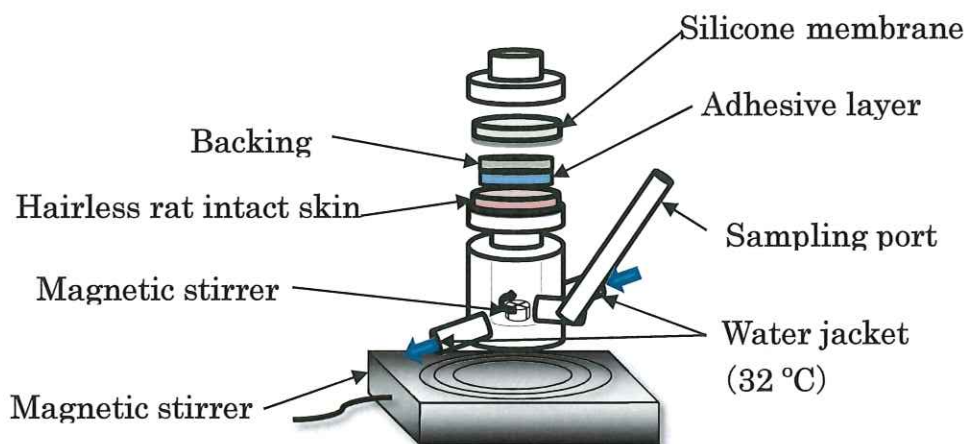


Fig. 2-2. Set-up of Franz diffusion cell for *in vitro* intact skin permeation experiment.

1.11 薬物の定量法

In vitro 放出試験および *in vitro* 皮膚透過試験で得られたサンプル溶液中のFLは、適宜PB（pH 7.4）で希釈し蛍光分光光度計（RF-5300PC、株式会社

島津製作所、京都、日本) を用いて測定 (励起波長 485 nm、蛍光波長 535 nm) した。

1.12 テープ表面状態の観察

走査型プローブ顕微鏡 (SPM-9700HT、株式会社島津製作所、京都、日本) を使用してテープの表面状態を観察した。測定は株式会社島津製作所 (京都、日本) に委託した。

1.13 電気伝導性の測定

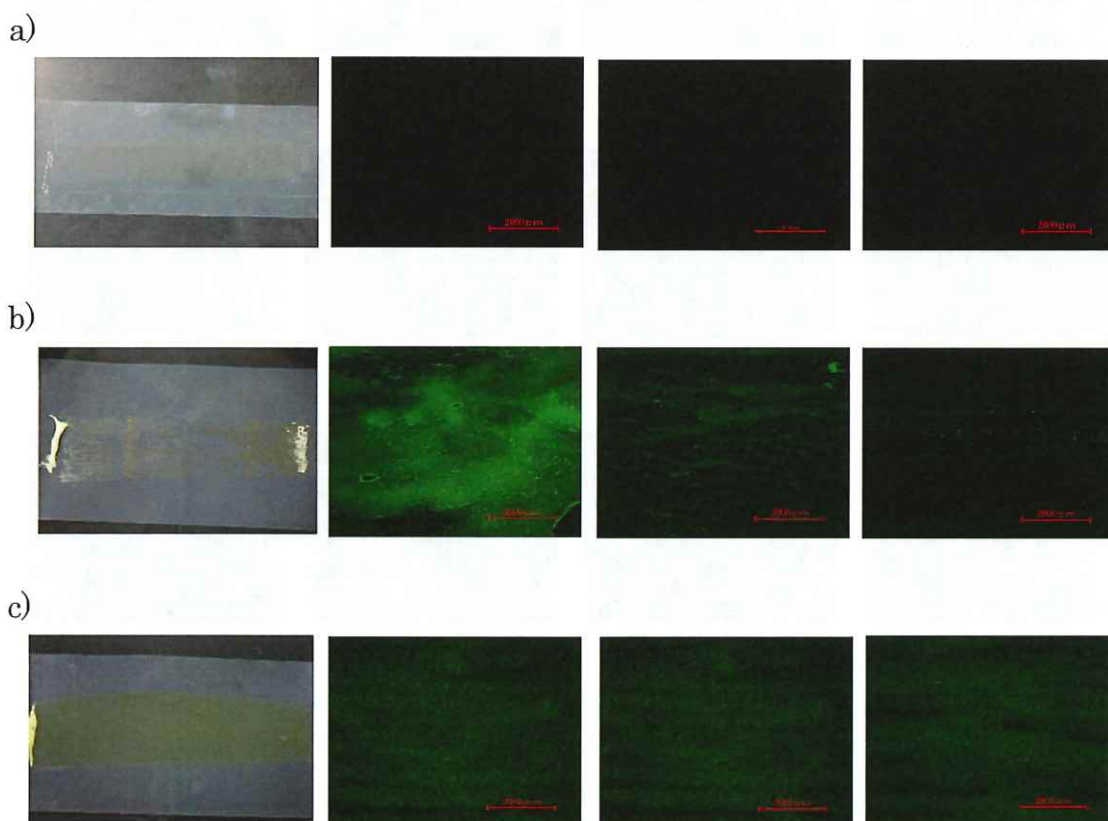
透析膜 (セルロースチューブ 24/32、エーディア株式会社、東京、日本) に DURO-TAK : MGE : FL-Na 水溶液 = 8 : 1 : 1 を展延したものを有効透過面積 0.95 cm^2 の side-by-side diffusion cell に挟み、レシーバーを pH7.4 の PBS で満たした。電圧は IP 装置 (VI1002、プレサイスゲージ株式会社、静岡、日本) を用いて 5 V を印加し、0, 0.5 および 8 時間に電流値を測定した。なお、比較対象として Duro-tak のみを透析膜に展延したものおよび透析膜のみをサンプルとし同じ実験を行った。

第 2 節 結果

1.1 製剤の調製および均一性

粘着剤中の Duro-tak を 80%かつ液晶形成脂質および FL-Na 水溶液の混合比を 1 : 1、2 : 1、3 : 1 にすることで、粘着層の厚みおよび FL-Na 分布が均一な製剤が調製できた。Figure 2-3 に調製したテープ製剤の組成、撮影画像、蛍光顕微鏡画像を示す。なお、蛍光顕微鏡画像については、調製製剤の垂直方向の真ん中において、製剤の両端から均等になるような三点を観察した。

また、IPM と FL-Na 水溶液に Duro-tak を混合したところ、均一に展延出来なかった。



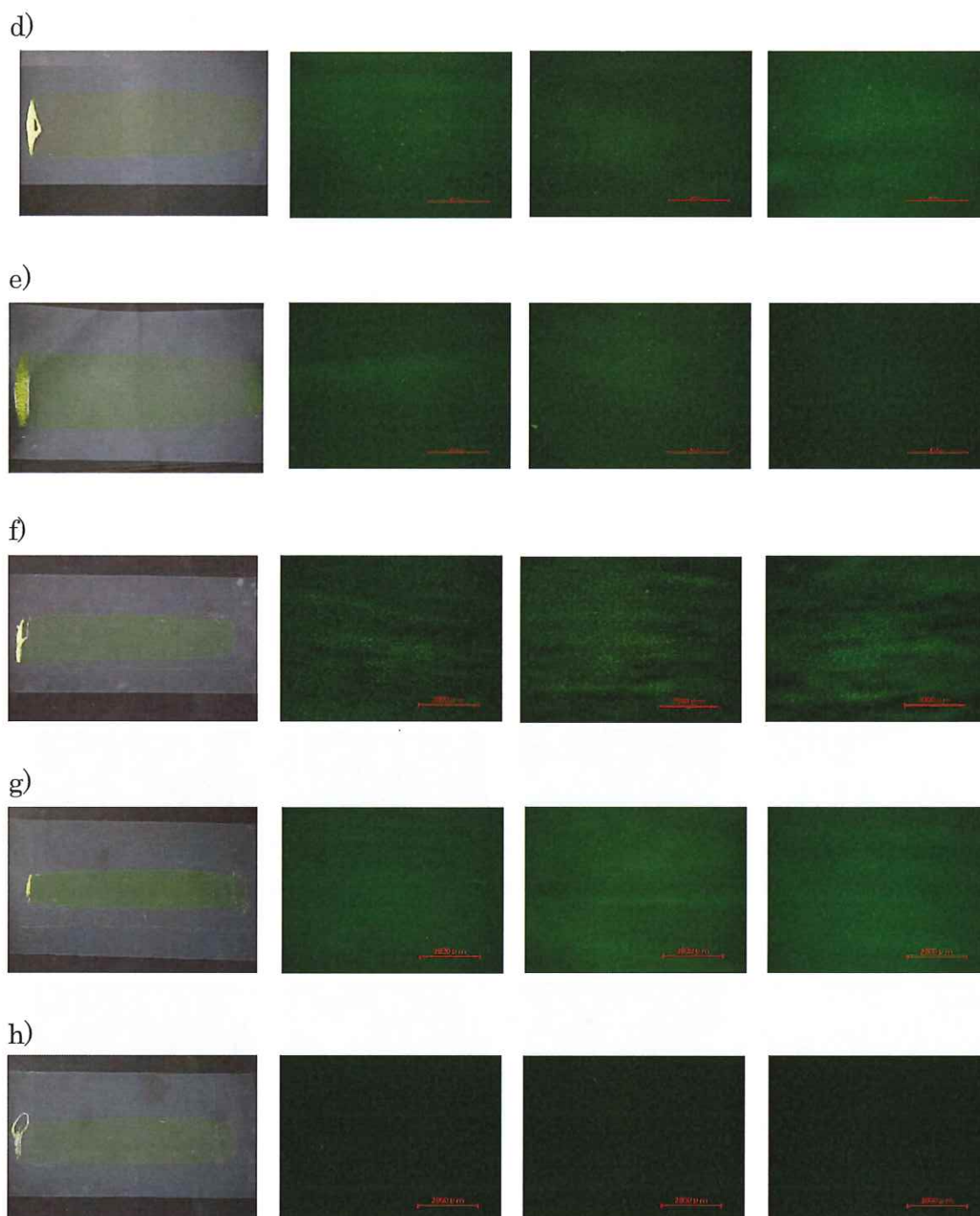


Fig. 2-3. PSA tape adhesive layer of photographic image and fluorescent observation image. a) Duro-tak only, b) Duro-tak + FL-Na solution c) T-D₈₀M₁₀, d) T-D₈₀M₁₃, e) T-D₈₀M₁₅, f) T-D₈₀P₁₀, g) T-D₈₀P₁₃, h) T-D₈₀P₁₅.

2.2 製剤からの放出性

Figure 2-4 に MGE および PHY を含有したテープ製剤からの放出試験の結果を示す。PSA-D₈₀M₁₀ では経時的に薬物が放出され適用開始 8 時間後にほとんどの含有薬物が放出された。一方、PSA-D₈₀M₁₃ および PSA-D₈₀M₁₅ の製剤では、適用開始 3 時間で含有薬物が 100% 放出された。しかし、PHY 含有テープ製剤では、PHY と FL-Na 水溶液の混合比に関わらず、経時的に薬物が放出し適用開始 8 時間目でおおよそ 100% が放出されることが分かった。

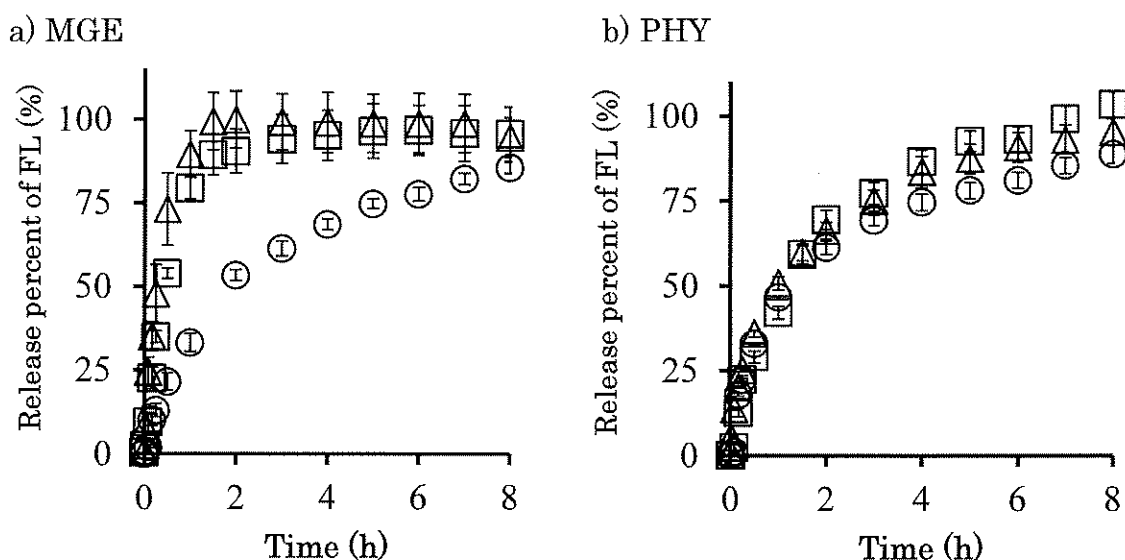


Fig. 2-4. Release profiles of FL from PSA tape. Symbols: (a): (○), PSA-D₈₀M₁₀; (△), PSA-D₈₀M₁₃; (□), PSA-D₈₀M₁₅; (◇), no containing NLLC PSA tape; (b): (○), PSA-D₈₀P₁₀; (△), PSA-D₈₀P₁₃; (□), PSA-D₈₀P₁₅; Each point shows the mean ± S.E. (n = 3-4).

2.3 製剤の皮膚透過性

Figure 2-5 に MGE および PHY を含有したテープ製剤からの透過試験の結果を示す。MGE を含有した製剤の透過率は、MGE の含有割合が高いほど増加

した。しかし、PSA-D₈₀M₁₃ および PSA-D₈₀M₁₅ 製剤間での優位な差はみられなかった。一方、PHY では、PSA-D₈₀P₁₅ に比べて PSA-D₈₀P₁₃ 製剤の透過率が高いことが分かった。

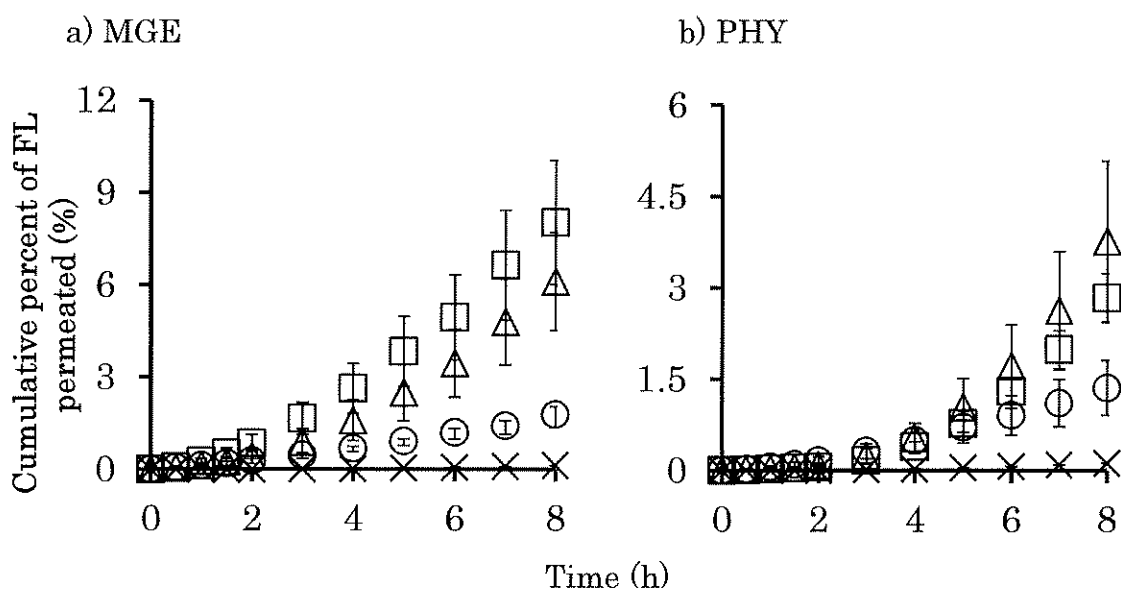


Fig. 2-5. Skin permeation profiles of FL from PSA tape containing a) MGE or b) PHY and FL-Na solution through hairless rat skin. Symbols: (a): (○), PSA-D₈₀M₁₀; (△), PSA-D₈₀M₁₃; (□), PSA-D₈₀M₁₅; (×), FL-Na solution; (b): (○), PSA-D₈₀P₁₀; (△), PSA-D₈₀P₁₃; (□), PSA-D₈₀P₁₅; (×), FL-Na solution. Each point shows the mean ± S.E. (n = 3-4).

MGE および PHY を用いた製剤で、それぞれ最も透過率が高くなった製剤のプロットを Figure 2-6 にまとめる。PHY に比べて MGE を含有した製剤の方が高い透過率を示し、FL-Na 水溶液に比べてそれぞれ 35 倍、65 倍も透過率が上昇した。以上より、NLLC を添加した製剤では、水溶性薬物の皮膚透過性を改善できることが分かった。

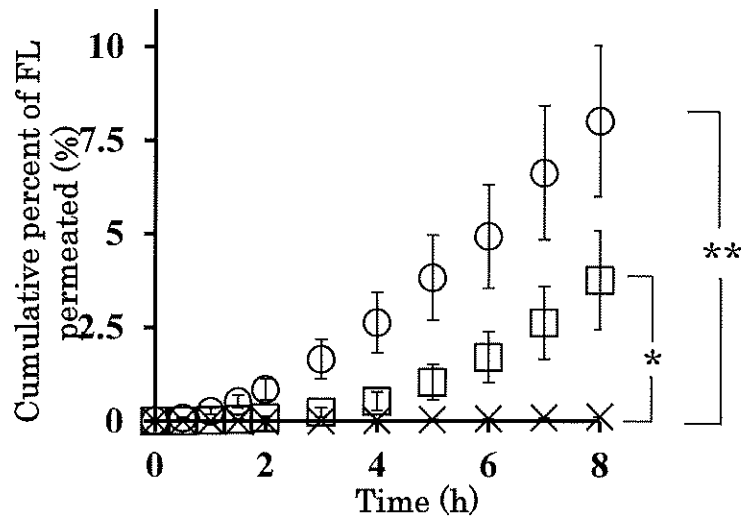
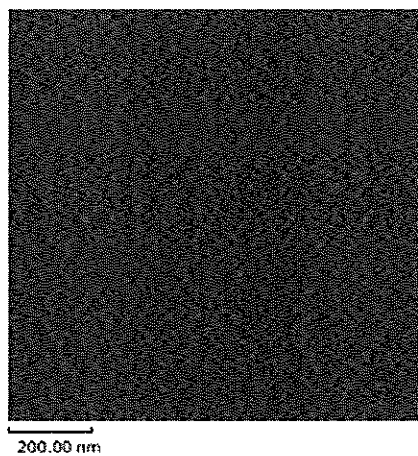


Fig. 2-6. Skin permeation profiles of FL from PSA tape containing MGE or PHY and FL-Na solution through hairless rat skin. Symbols: (○), PSA-D80M15; (□), PSA-D80P13; (×), FL-Na solution. Each point shows the mean \pm S.E. (n = 3-4). *: 35-fold, **: 65-fold.

2.4 テープ表面状態

Figure 2-7 にテープの表面状態の走査型プローブ顕微鏡で観察した。Duro-tak 含有テープでは表面に位相像が認められず滑らかであることが観察されるが、自己組織化脂質含有テープでは表面に凹凸が認められ特徴的な位相像が認められた。

a)



b)

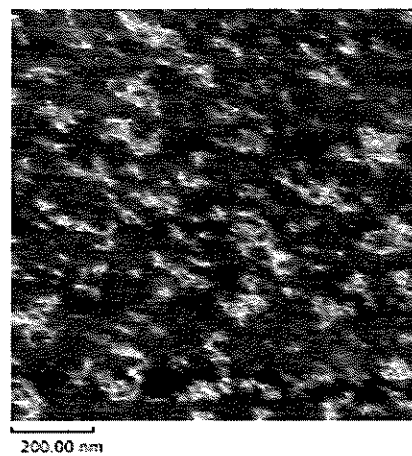


Fig. 2-7. Observation of tape by scanning probe microscope. a) Duro-tak only, b) Duro-tak with MGE.

2.5 電気伝導性の測定

Table 2-4 に測定した電流値およびオームの法則より算出した抵抗値を示す。

Duro-tak のみでは電気伝導性が認められなかったが、Duro-tak に MGE および FL-Na 水溶液を混和すると電気伝導性が認められた

Table 2-4. Determined electric current.

時間 (h)	電圧 (V)	電流値 (mA/cm ²) (抵抗値 (KΩ/cm ²))		
		Duro-tak only	Duro-tak : MGE : FL-Na 水 溶液 = 8 : 1 : 1	透析膜のみ
0	5	通電なし	1.37 (3.65)	2.95 (1.67)
0.5		通電なし	2.21 (2.26)	-
8		通電なし	2.42 (2.07)	-
24	-	-	-	2.95 (1.67)

- : 測定せず

2.6 NLLC の構造解明

Figure 2-8 に Duro-tak : MGE : FL-Na 水溶液 = 1 : 4.5 : 4.5 で調製したゲルをライナーに展延したものの SAXS パターンを示す。また、Table 2-3 より面間隔比がそれぞれ逆へキサゴナル液晶構造、キュービック Pn3m およびキュービック Ia3d との面間隔比とほぼ同等の値を示すため、液晶構造由来のピークと考えられた。

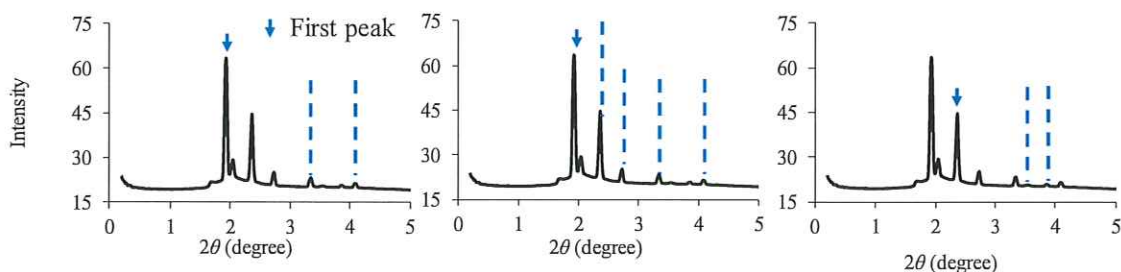


Fig. 2-8. Small-angle X-ray scattering patterns of tape.

第3節 考察

製剤中の Duro-tak を 80%以上かつ自己組織化脂質を含有することで水溶性薬物を封入した製剤を調製することができた。MGE 含有製剤および PHY 含有製剤は含有薬物を 100%放出した。これは含有されている脂質が水に触れ粘着層内で NLLC 構造を形成することで、FL が放出したと考えられた。MGE 含有製剤では MGE 含有率の増加に伴い放出率が増加した。

一方、PHY 含有製剤では、脂質量の違いによって挙動に差異がみられなかった。NLLC 構造からの薬物放出性はキュービック構造より逆ヘキサゴナル構造を有する場合よりも高いことが知られている⁴⁴⁾。今回得られた結果より、粘着層中の NLLC 構造が脂質含有率や種類の違いにより異なることが示唆された。

透過試験結果から、MGE 含有製剤では脂質の割合が高いほど皮膚透過性が向上することが明らかとなった。脂質による皮膚透過促進能によって、皮膚透過が改善したのではないかと推察された。一方、PHY 含有製剤では T-D₈₀P₁₅ 製剤に比べて T-D₈₀P₁₃ 製剤の透過率が有意ではないが高いことが分かった。また、MGE、PHY 両脂質を含有した製剤では、それぞれ粘着剤中の脂質 10%の製剤からの皮膚透過率が低いことが分かった。よって、皮膚透過性には脂質含有量の最適値があると考えられた。

透過促進のメカニズムについて種々検討を行った。脂質含有テープ (Duro-tak : FL-Na 水溶液 : MGE = 8 : 1 : 1) の表面を観察した結果、特徴的な位相像が認められ、テープ剤中でなんらかの構造体を形成していることが推察された。また、粘着剤の割合が低いテープ (Duro-tak : MGE : FL-Na 水溶液 = 1 : 4.5 : 4.5) の液晶構造を評価した結果、液晶構造由来のピークが観察された。

加えて、脂質含有テープ（Duro-tak : FL-Na 水溶液 : MGE = 8 : 1 : 1）の電気伝導性を評価した結果、テープを介して通電することが認められ、テープ内で電気伝導性を有する構造体を形成している可能性が示唆された。

以上より、自己組織化脂質を含有するテープ剤は著しい透過促進効果が認められ、そのメカニズムを直接的に説明する試験結果が得られていないものの、テープ中で電気伝導性を有する構造体を形成し、水溶性薬物のテープ中での移動ルートを形成することで製剤中の拡散を高めた可能性が考えられた。また、脂質本体も皮膚に作用し吸収促進効果を示すことが推察された。

第 4 節 小括

自己組織化脂質をテープ剤の添加剤とすることで、水溶性薬物含有テープ剤の調製が可能となり、含有薬物の高い皮膚透過促進効果についても期待された。このような方法で、水溶性薬物を PSA に含有させることはこれまでに報告がないことから、皮膚適用製剤における自己組織化脂質の今後の利用可能性が注目される。

第3章 エアゾールへの自己組織化脂質の含有

皮膚適用製剤は、皮膚局所の薬理作用だけでなく全身的な薬理作用を期待した薬物の投与にも用いられている。皮膚を介した薬物の投与は、簡便であることから服薬アドヒアランスを向上できる、肝初回通過効果を回避できる⁴⁵⁾、血中濃度を長時間維持することができる、経口投与ができない患者にも容易に適用できる、などの利点を有している。しかしながら、皮膚最外層に位置する角層は、強固なバリア能を有することから、一般に薬物の皮膚透過速度は遅く、皮膚適用できる薬物は限られている⁴⁶⁾。また、皮膚適用製剤を24時間貼付後の平均薬物利用率は約50%以下であり、最も高い薬物利用率を示すフェンタニル製剤でさえ約30%が貼付後にも製剤中に残存している。すでに皮膚適用製剤の低い透過性や低い薬物利用率⁴⁷⁾を改善する方法として、吸収促進剤の利用や基剤中の薬物の熱力学的活動度の上昇^{48, 49)}などがあるがまだまだ十分とは言えない。

第2章で示したように、薬物や化粧品有効成分の皮膚透過性を亢進させる製剤技術として逆キュービック液晶や逆ヘキサゴナル液晶などのNLLC^{50, 51)}が注目されている。既に著者が所属する研究室では、難皮膚透過性物質の皮膚透過性がNLLCにより著しく改善できることを報告している^{52, 53)}。しかし、NLLC構造はエマルションやリポソームなどの閉鎖小胞体と異なり、水中では外相と内相が連続した非閉鎖小胞体として存在している。そのため、NLLCに内封した薬物は、時間の経過と共に容易に外相へと漏出し、内封率低下による皮膚透過促進効果が損なわれる可能性が否定できない。

皮膚適用製剤の一つである外用エアゾール剤は、極性の低い揮発性の液化石油ガス（LPG）が噴射剤として用いられることが多く、本邦では噴射剤の約70%を占めている。LPGは、噴射圧が高く小粒子を形成する特徴があり、噴射

剤と共に有効成分を噴霧することができる⁵⁴⁾。LPG を内封薬物や NLLC の貧溶媒として用いることができれば、薬物の NLLC からの漏出を防ぐことが可能となり、また、噴霧後に LPG が瞬時に揮発するため、塗布部位にて製剤中の薬物の熱力学的活動度を高めることが可能となる。さらに、皮膚に噴射されたエアゾール製剤はバッキングがないことから蒸れによる皮膚刺激性なども見られない。

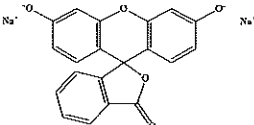
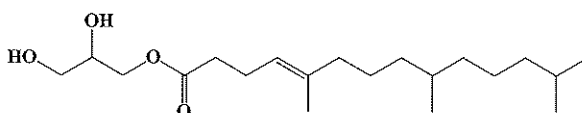
そこで、第 3 章では多くのエアゾール噴射剤として用いられている LPG と NLLC 形成脂質を用いて、水溶性薬物を含有した外用エアゾール剤を調製し、製剤からの水溶性薬物皮膚透過性を確認した。

第 1 節 実験の部

1.1 試料および実験材料

MGE は株式会社ファルネックス（神奈川、日本）から供与された。LPG、エアゾール容器（高さ 13.2 cm、外径 4 cm、内容量 99 mL）およびバルブ（ステム孔内径 4 mm、ハウジング孔内径 3 mm）は株式会社ダイゾー（神奈川、日本）から供与された。Pluronic®F-127 は Sigma Aldrich（St. Louis、MO、U.S.A.）から購入した。FL-Na は和光純薬工業株式会社（大阪、日本）から購入した。EtOH およびその他の試薬および溶媒は市販の特級および HPLC 用を使用した。これらの試薬および溶媒は精製せずにそのまま用いた。Table 3-1 に FL-Na、MGE の構造式と分子量 (*M.W.*) を示す。

Table 3-1. Chemical structures and molecular weight of compounds.

Compound	Structure	M.W.
FL-Na		376.26
MGE		342.50

1. 2. 1 NLLC の調製

NLLC 形成脂質である MGE にノニオン性界面活性剤の Pluronic®F-127 を加え、ボルテックスにて 5 分間混合した。その後、FL-Na 水溶液を加え、高速ホモジナイザー (Polytron RT 3100: Kinematica AG、Littau-Lucerne、Switzerland) を用いてホモジネート (8000 rpm、5 min) 処理を行い NLLC ゲルを調製した。なお、すべての NLLC ゲル中の FL-Na の濃度は 1 mM になるように調製した。Table 3-2 に調製した NLLC の組成を示す。

Table 3-2. Composition of prepared NLLC.

Ingredients	w/w
MGE	1
FL-Na solution	1
Pluronic® F-127	0.1

1. 2. 2 エアゾール内容薬剤の調製

1. 2. 1. にて調製した NLLC ゲルに EtOH を加えボルテックスミキサーにて 5 分間混合し、NLLC 含有 EtOH 溶液 (NE) を得た。Table 3-3 に調製した NE 製剤の組成を示す。

Table 3-3. Composition of prepared NE ratio.

	NE33	NE50
NLLC (N)	1	1
EtOH (E)	0.5	1

1. 2. 3 外用エアゾール剤の調製

1. 2. 1. および 1. 2. 2. にて調製した NLLC ゲルまたは NE 製剤をエアゾール用容器へ入れ、LPG 充填用密封バルブを装着した後、LPG を充填することでエアゾール剤を調製した。Table 3-4 に調製したエアゾール剤の組成を示す。

Table 3-4. Composition of prepared aerosol (w/w).

	N-L	NE50-L	NE33-L
N	1	-	-
NE33	-	2	-
NE50	-	-	2
LPG	4	4	4

1.3 NLLCの構造説明

小角X線散乱装置 (SAXS) (Nano-Viewer、リガク株式会社、東京、日本) を用いて、エアゾール噴霧により得られた脂質製剤の液晶構造解析を行った。なお、エアゾール剤を 25 mL の遠沈管に 3 秒間噴霧し、その後精製水を 5 mL 加えたものを測定サンプルとした。測定は、金沢大学理工研究域 (金沢、石川、日本) に委託した。

1.4 エアゾール剤噴霧時間と噴霧量の関係

調製したエアゾール剤の噴霧時間と製剤噴霧量の関係を調査した。なお、製剤噴霧量は、噴霧前後のエアゾール剤の重量差より算出した。

1.5 実験動物

雄性ヘアレスラット (WBN/11a-Ht、体重 150-200 g、8 週齢) は石川実験動物研究所 (深谷、埼玉、日本) から購入した。ヘアレスラットは、12 時間ごとに明暗サイクル (on、off 時間 : 9:00-21:00) を繰り返し、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ に調節された部屋で飼育した。また、水と飼料 (MF; オリエンタル酵母工業株式会社、東京、日本) は自由に摂取可能とした。なお、動物の飼育および実験は城西大学倫理委員会の承諾を得た後、城西大学動物実験規定に従った。

1.6 *In vitro* 皮膚透過試験

三種混合麻酔 (塩酸メデトミジン : 0.2 mg/kg、ミダゾラム : 2 mg/kg、酒石酸ブトルファノール : 2.5 mg/kg、*i.p.*) を施し、剃毛処理を行った雄性ヘアレス

ラット腹部から正中線を挟んで左右合計 4 枚皮膚を摘出した。皮膚摘出後、真皮側の皮下脂肪をハサミで丁寧に除去し、縦型拡散セル(有効透過面積 1.77 cm²、Figure 3-1) に挟んだ。セルの角層側に PB を 1.0 mL、真皮側に PB を 6.0 mL を適用して 1 時間水和した。水和後、ドナーセルに飛び散り防止用チューブを装着し角層側に調製したエアゾール剤を 1 秒間噴霧し透過試験を行った。また、エアゾール剤にて適用した FL-Na 量に合わせて、NE および NLLC 製剤適用量を決めた。Table 3-5 に本試験で適用した各種製剤および FL-Na 適用量を示す。実験中セル内は 32°C に保ち、レシーバーセル内はマグネティックスターラーにより攪拌した。経時的に真皮側から 0.5 mL サンプルングを行い、その都度、同量の PB を補充した。

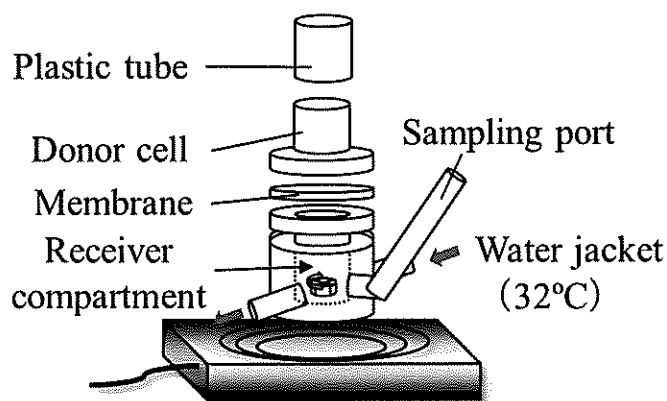


Fig. 3-1. Vertical-type diffusion cell for *in vitro* skin permeation experiment.

Table 3- 5. Application of formulation.

Formulation	Aerosol	NE33	NE50	NLLC
Spray time (sec)	1	-	-	-
Amount (g)	-	0.218	0.290	0.145
FL-Na (μg)	54	54	54	54

1.7 薬物の定量法

In vitro 皮膚透過試験で得られたサンプル溶液中の FL 濃度は、サンプルを遠心分離 (21,500 × *g*, 5 min, 4°C) 後、その上清を蛍光分光光度計 (RF-5300PC: 株式会社島津製作所、京都、日本) によって測定 (励起波長: 485 nm、蛍光波長: 535 nm) した。

1.8 重量変化

縦型拡散セルのドナーセル (有効透過面積: 1.77 cm²) を、シリコン板 (SR-50、タイガースポリマー株式会社、大阪、日本) にシアノアクリレート系接着剤 (アロンアルファ®、コニシ株式会社、大阪、日本) を用いて貼り付けたものを作成した。これを 32°C のホットプレート (RSH-1DN、アズワン株式会社、大阪、日本) 上にて、調製したエアゾール剤 (NE50-L) を 1 秒間スプレーし、噴霧により得られた脂質製剤の重量を経時的に測定した。

1.9 種々前処理を施した *in vitro* 皮膚透過試験

MGE の皮膚透過促進効果を評価するため、皮膚透過試験開始 2 時間前から MGE および MGE+PluronicF127 の混合物を皮膚に適用し、FL-Na 水溶液の透過実験を行った。比較対象として、MGE+PluronicF127 の混合物の適用直後に FL-Na 水溶液を加えたもの、FL-Na 水溶液および NLLC gel を用いて同様の実験を行った。

また、EtOH の透過促進効果を評価するため、皮膚透過試験開始 1 時間前から 50% EtOH を皮膚に適用し、FL-Na 水溶液の透過実験を行った。比較対象として、同様の処理を蒸留水を用いて行った。

なお、皮膚透過試験については、1.6 の方法で実施した。

1.10 スプレー噴霧直後の皮膚切片の観察

1 時間水和したヘアレスラット腹部皮膚に Franz 型拡散セルのドナーセル (1.77 cm²) を接着し、NE50-L を 1 秒間噴霧し、10 分間静置した。その後角層テープストリッピングを 3 回行い、垂直切片を作成した。作成した垂直切片を蛍光顕微鏡 (BZ-X700, KEYENCE, 大阪、日本) で観察した (測定条件: 対物レンズ CFI Plan Apo λ 20x、蛍光フィルタ GFP (OP-87763 BZ-X フィルタ)、励起波長 470/40 nm、吸収波長 525/50 nm、ダイクロイックミラー波長 495 nm、露光時間 1/3 s)。また、対照として NE50、FL-Na 水溶液と EtOH の 50% 混合液および FL-Na 水溶液をそれぞれ適用し、10 分間静置後同様に観察した。

1.11 BG を添加した NLLC を用いた *In vitro* 皮膚透過試験

MGE の NLLC 構造体を形成することの皮膚透過促進効果を評価するため、BG を NLLC に加え NLLC 構造体を形成しない適用条件での比較を行った。

適用した製剤処方および適用量を Table 3-6 に示す。

Table 3-6. Applied formulation and applied amount for *in vitro* skin permeation study.

Applied formulation				
(w/w)	MGE with BG	MGE gel	FL-Na 水溶液 with BG	FL-Na 水溶液
MGE	35	50	-	-
FL-Na 水溶液	35	50	70	100
BG	30	-	30	-
Applied amount	0.285 g	0.2 g	1 ml	1 ml

第 2 節 結果

2.1 製剤の外観観察および LPG 中への分散性評価

Figure 3-2 に調製したエアゾール剤の外観写真を示す。静置状態では、いずれの製剤も分離していることがわかった (Fig. 3-2 a-c)。しかしながら、NE33-L および NE50-L 製剤 (Fig. 3-2 b および c) は手で上下に 5 回攪拌するだけで脂質および薬物が LPG 中に均一に分散することがわかった (Fig. 3-2 e および f)。しかし、N-L 製剤 (Fig. 3-2 a) では攪拌しても脂質および薬物が LPG 中に均一に分散しなかった (Fig. 3-2 d)。

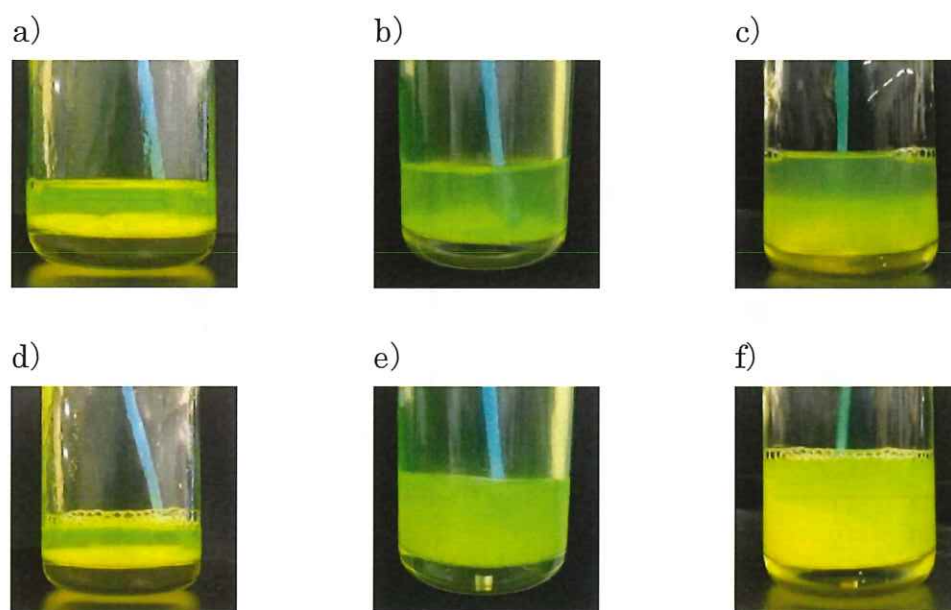


Fig. 3-2. Observation of aerosol formulation before (a-c) and after (d-f) shaking. a and d) N-L, b and e) NE33-L, c and f) NE50-L

2.2 エアゾール剤噴霧時間と噴霧量の関係

Figure 3-3 にエアゾール噴霧時間と噴霧量の関係を示す。NE33-L および NE50-L 製剤のいずれも噴霧時間と噴霧量との間に直線性が得られた。この結果より、噴霧時間をコントロールすることで、製剤噴霧量を定めることができると考えられた。Table 3-7 にエアゾール剤 1 秒間噴霧時の噴霧量を示す。エアゾール剤 1 秒間噴霧では NE33-L では 0.723 g、NE50-L では 0.868 g 噴霧でき、ともに噴霧量のばらつきが少なかった。

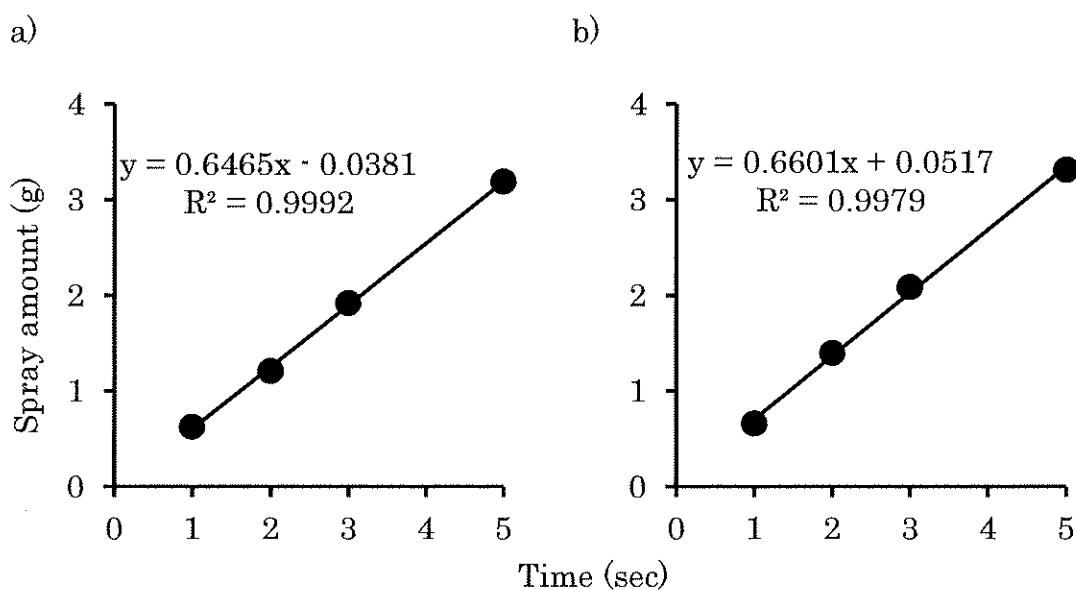


Fig. 3-3. Relationship between aerosol spray time and spray amount. a) NE33-L, b) NE50-L. Each point shows the mean ($n = 1$).

Table 3-7. Aerosol spray amount per second. Each amount is the mean \pm S.E. ($n = 3$).

	NE33-L	NE50-L
Spray amount (g)	0.723 ± 0.028	0.868 ± 0.015

2.3 SAXSによる結晶構造評価

Fig. 3-4 にエアゾール剤噴霧後に得られた製剤の SAXS パターンを示す。Table 2-3 の通り NE33-L および NE50-L 製剤は、面間隔比が逆ヘキサゴナル液晶構造の面間隔比とほぼ同等の値を示したため、逆ヘキサゴナル液晶構造を形成していることがわかった。一方、NE50-L 製剤では連続型 Pn3m と非連続型 Fd3m が混在することがわかった。

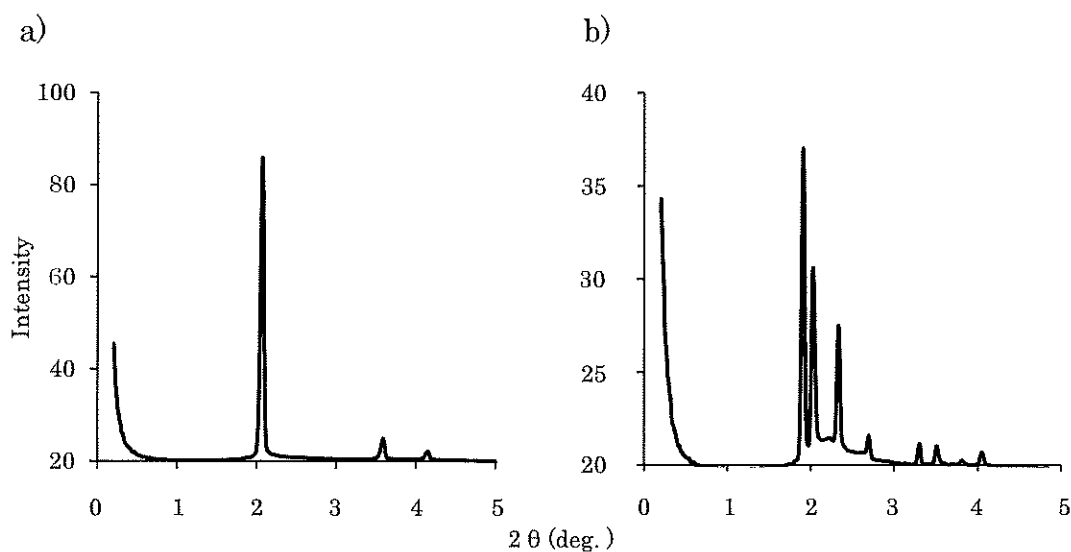


Fig. 3-4. Small-angle X-ray scattering patterns of aerosol formulations. a) NE33-L, b) NE50-L.

2.4 製剤からの皮膚透過性

Figure 3-5 に各種製剤を皮膚に適用した後の FL の皮膚透過プロファイルを示す。MGE を含有する製剤はいずれも水溶液適用と比較して著しく高い FL 透過性を示し、N、NE33 および NE50 は水溶液に比べそれぞれ約 16 倍、約 71 倍および約 217 倍高値を示す。さらに、NE33 および NE50 をエアゾール剤として適用すると NE33-L および NE50-L は、FL-Na 水溶液に比べそれぞれ約 136 倍と約 331 倍もの皮膚透過性を高めることに成功した。N に EtOH を加えることで、内封薬物の FL 透過性を著しく改善できることが明らかとなったが、エアゾール剤として適用することで更に高い透過促進能が得られることが明らかとなった。

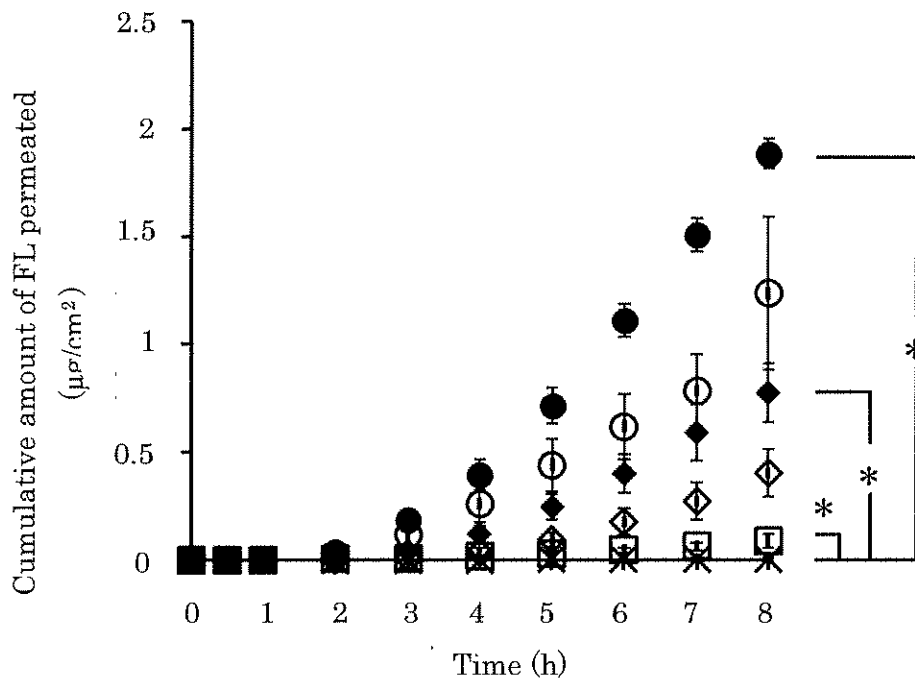


Fig. 3-5. Skin permeation profiles of FL from formulations through hairless rat skin. Symbols: (●) : NE50-L, (○) : NE50, (◆) : NE33-L, (◇) : NE33, (□) : NLLC, (×) : FL-Na solution. Each point shows the mean \pm S.E. ($n = 3-4$).

2.5 重量変化

Figure 3-6 にスプレー直後の重量変化を示す。スプレー直後から重量は速やかに減少し、4 時間目以降は明らかな重量変化は認められなかった。

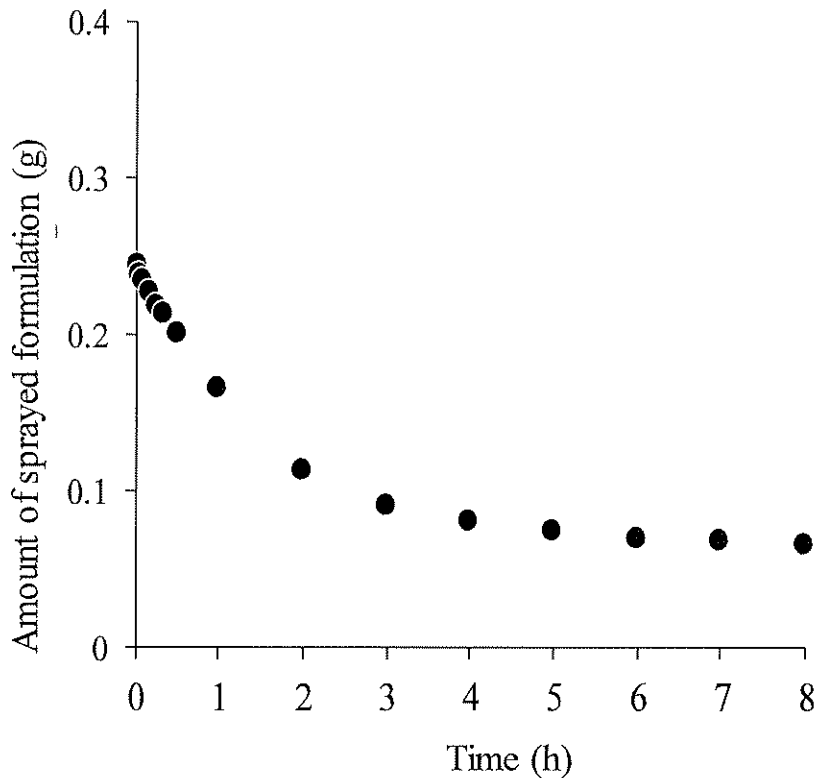


Fig. 3-6. Amount of sprayed formulation.

2.6 前処理による皮膚透過性

Figure 3-7 に MGE および Pluronic®F-127 により前処理を行なった皮膚透過試験結果を示す。FL-Na 水溶液に比べ、MGE 含有製剤では皮膚透過促進効果を示し、中でも MGE および Pluronic®F-127 による 2 時間の前処理が最も高い皮膚透過促進効果を示した。また、製剤中で液晶構造を形成した NLLC gel に比べて、MGE および Pluronic®F-127 に FL-Na 水溶液を分離して加えたサンプルでは高い皮膚透過促進効果が認められた。

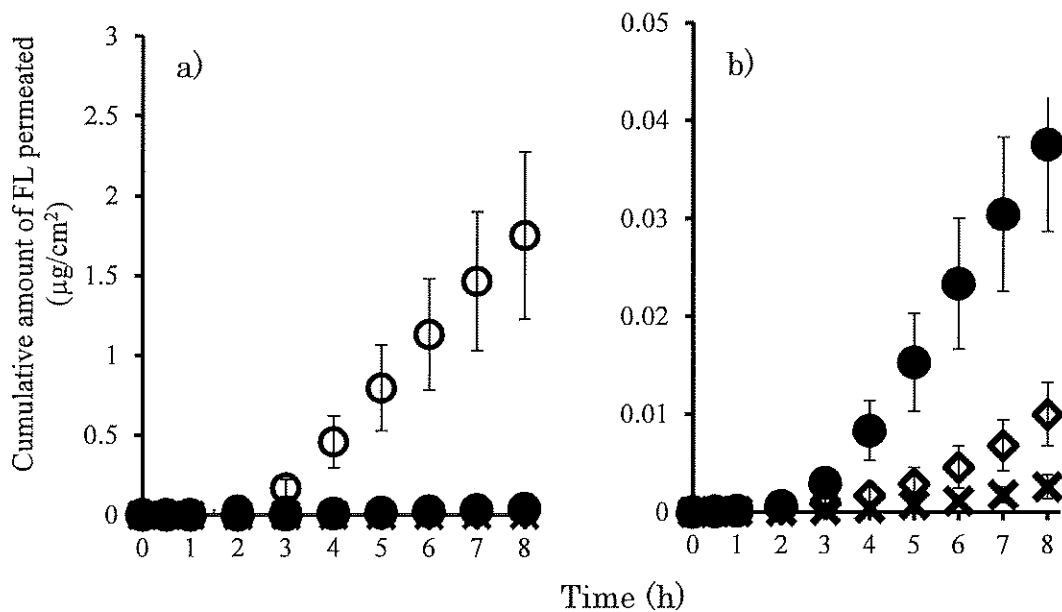


Fig. 3-7. Skin permeation profiles of FL from formulations through hairless rat skin. Symbols: (○) : MGE with Pluronic®F-127 pre-treatment for 2 hours before FL-Na applied, (●) : FL-Na with MGE and Pluronic®F-127, (◇) : NLLC gel, (×) : FL-Na solution. Each point shows the mean ± S.E. (n = 3-4). b) is extended figure of a).

Figure 3-8 に EtOH または蒸留水により、前処理を行なった皮膚透過性試験結果を示す。EtOH および蒸留水の前処理後の FL は類似した皮膚透過性が認められた。

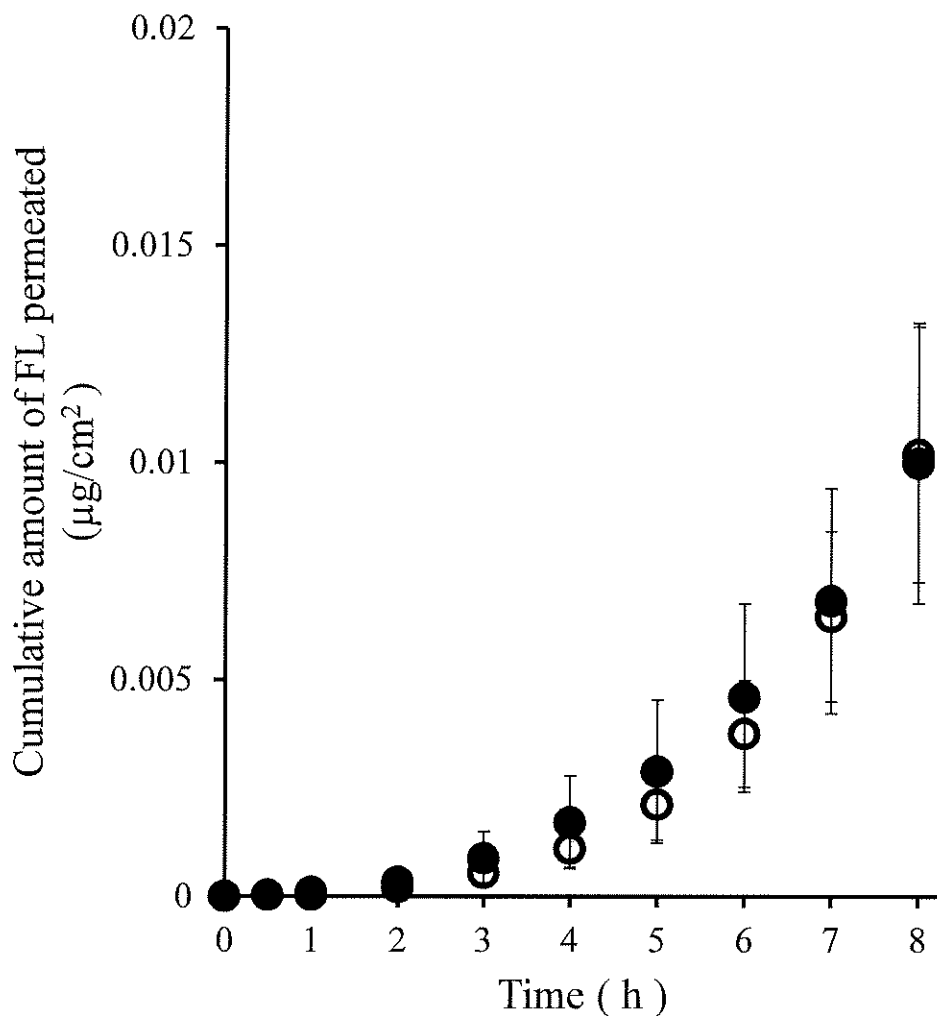


Fig. 3-8. Skin permeation profiles of FL from formulations through hairless rat skin. Symbols: (○) : EtOH pre-treatment for 1 hours before FL-Na applied, (●) : H₂O pre-treatment for 1 hours before FL-Na applied. Each point shows the mean \pm S.E. (n = 3-4).

2.7 スプレー噴霧直後の皮膚切片の観察

Figure 3-9 に 1 時間水和後のヘアレスラット腹部に皮膚に NE50-L を 1 秒間噴霧、NE50、FL-Na sol と EtOH の 50% 混合液および FL-Na 水溶液をそれぞれ 10 分間適用し、3 回テープストリッピングした後の FL の分布を示す。全

他のサンプルで角層表面に蛍光物質が確認されたが、NE50-Lにおいては他のサンプルと比較して、より角層の深部において蛍光物質が確認された。

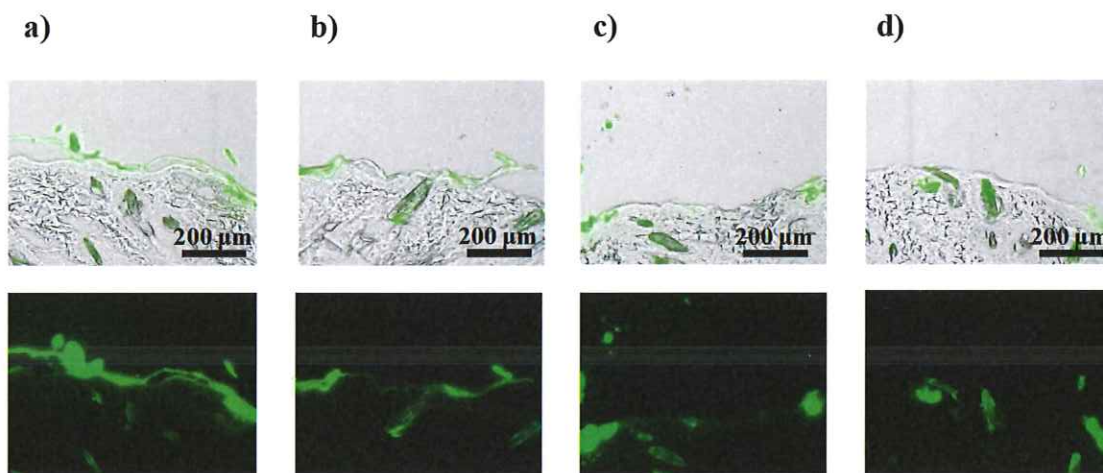


Fig. 3-9. Observation of FL distribution after some samples applied.

a) NE50-L, b) NE50, c) FL-Na sol. : EtOH = 1 : 1, d) FL-Na sol.

2.8 BG を添加した NLLC を用いた皮膚透過性

Figure 3-10 に BG を添加した NLLC ゲルおよび FL-Na 水溶液ならびに BG 未添加の NLLC ゲルおよび FL-Na 水溶液の *in vitro* 皮膚透過性を示す。適用製剤中において NLLC を形成する MGE Gel に比べ、BG を添加し NLLC の形成を阻害した MGE Gel with BG において著しい透過促進効果が認められた。また、BG 自体に透過促進作用がないことは FL-Na 水溶液の BG 添加又は未添加を比較することで確認された。

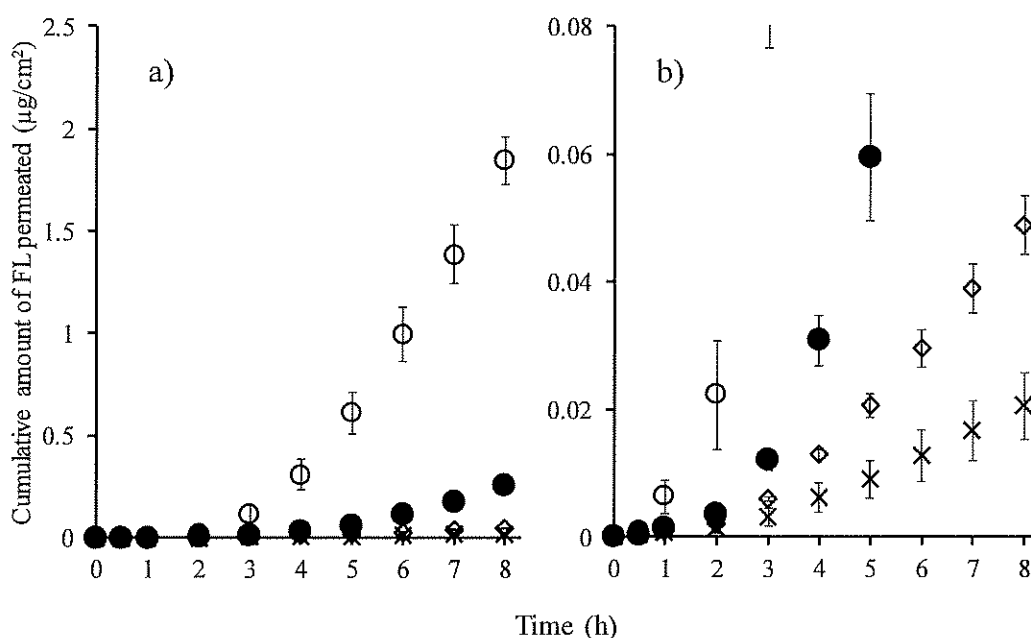


Fig. 3-10. Skin permeation profiles of FL from formulations through hairless rat skin. Symbols: (○) : MGE with BG, (●) : MGE Gel, (◇) : FL-Na sol., (×) : FL-Na sol. with BG. Each point shows the mean \pm S.E. (n = 3-4). b) is extended figure of a).

第 3 節 考察

本研究では、NLLC 形成脂質を用いて水溶性薬物を含有させた外用エアゾール剤を調製し、FL の皮膚透過性を評価した。NLLC は EtOH と混合することで良好な分散性が得られ、また貧溶媒として LPG を用いることで外用エアゾール剤の調製に成功した。また、貧溶媒の揮発により得られた脂質構造体は、NLLC 構造を形成した。エアゾール剤塗布により、FL の皮膚透過性を著しく改善したことから、NLLC 構造形成による皮膚透過促進作用だけでなく、LPG の揮発による製剤中の薬物の熱力学的活動度の上昇が透過促進作用に寄与していると考えられた。

外用エアゾールを噴霧後のシート状製剤の重量は経時的に減少していき、揮発性の高い LPG のみではなく、可溶化剤として添加した EtOH や FL-Na の溶媒である水も速やかに揮発したと考えられた。ここで、皮膚上に残存する MGE などは皮膚へ浸透していくため、その膜厚を測定することは困難であるが、適用時のサンプル量と蒸散量から計算すると 20 μm 以下であることが推定された。また、外用エアゾールとすることにより、適用後速やかに角層の深部にモデル薬物が到達することが確認された。

種々前処理の実験より、MGE は NLLC を形成した後に適用するよりは MGE と Pluronic®F-127 の混合物を適用する方が顕著な皮膚透過促進効果が認められた。これは適用前に脂質構造体の体積が大きい NLLC を形成すると皮膚への分配性が低下するが、脂質単体で適用すると皮膚分配性が向上し、角層に分布した脂質による十分な皮膚透過促進効果が認められたことが考えられる。

一方、本実験条件における EtOH による前処理では皮膚透過性に影響を与えなかったことから、EtOH は吸収促進剤より可溶化剤として働いていると考えられた。加えて、BG を添加し NLLC の形成を阻害した結果、極めて高い皮膚

透過促進効果が認められた。また、スプレーによって瞬間的に角層深部への薬物移行が確認されたことから、噴射圧による物理的に角層への浸透性が向上することが示唆された。

以上の結果から、水溶性薬物の皮膚透過性を改善する方法として自己組織化脂質を含有した外用エアゾール剤は有用であり、その作用機序としてはスプレー時の物理的な角層浸透性の向上、LPG と EtOH などが経時的に蒸散する際に MGE が皮膚へ分配し、MGE の透過促進効果および/または皮膚中で NLLC を形成することが考えられた。

第 4 節 小括

自己組織化脂質をエアゾール剤の添加剤とすることで、著しい水溶性薬物の皮膚透過促進効果が認められ、薄いバッキングレス製剤として適用することが可能となった。

総括

皮膚適用製剤は高齢者への薬物治療において有効な剤形とされているが、適用時や製剤剥離の皮膚刺激性や含有可能な薬物が限定される点など解決すべき課題がある。

本研究第1章において、ハニカムフィルムを支持体とした PSA テープを作成することで、薬物の放出性や皮膚透過性に影響を与えることなく、水分蒸散性の向上による蒸れの改善並びに製剤剥離の際に引き起こす角層剥離量を低下させることが明らかとなり、皮膚刺激性の低減が示唆された。

第2章においては、自己組織化脂質をテープ剤に添加することでこれまでに PSA テープに封入出来なかった水溶性薬物の PSA テープ剤の調製が可能となった。これまでに水溶性薬物をテープ剤に含有する場合は脱塩剤などが使用されてきたが、脱塩時に生成する塩体の不純物など製造工程において解決すべき課題は少なくなかった。薬物含有水溶液と自己組織化脂質を混合することでアクリル系粘着剤である Duro-tak との混合性は向上し、均一な一層のテープ剤を調製した。また、皮膚適用時にはテープ剤中で連続的な構造体を作り水溶性薬物の皮膚への分配を向上させ、自己組織化脂質の皮膚透過促進効果に起因すると考えられる水溶性薬物の著しい皮膚透過促進効果が認められた。

第3章では蒸れや皮膚刺激性の原因の一つとなる支持体を取り除いた製剤としてエアゾールを選択し、添加剤として第2章で皮膚透過促進効果が認められた自己組織化脂質を用いた。水溶性薬物を LPG に混合する際に自己組織化脂質を添加することで分散性が向上し、水溶性薬物含有エアゾールが調製可能となった。また、皮膚に適用したエアゾールは噴霧時に角層の深部に薬物を到達させ、また溶媒である LPG や EtOH などが速やかに蒸散して自己組織化脂質を皮膚に浸透させることで著しく高い皮膚透過促進効果を示した。自己組織化

脂質を含有したエアゾールは脂溶性だけではなく水溶性薬物を含有させることが出来るため、その利用価値は極めて高い。

本研究では、医薬品の承認申請で要求される製剤的な評価は行っておらず、また実使用を想定した製剤の最適化についても取り組んでいないため、今後実用化に向けては更なる研究が必要と考えられたものの、今回提案した皮膚適用製剤の蒸れによる皮膚刺激の軽減法や水溶性薬物の PSA テープ中の含有率を向上させる方法、さらには封入した薬物の吸収促進法は、皮膚適用製剤開発の新しい方法論として有用であると考えられる。

謝辞

本研究に際し、終始懇切な御指導、御鞭撻を賜りました城西大学薬学部薬粧品動態制御学研究室教授 杉林 堅次 先生に深甚なる謝意を表します。

本研究の遂行にあたり有益な御指導、御助言ならびに激励を賜りました城西大学薬学部薬粧品動態制御学研究室准教授 藤堂 浩明 先生に深く御礼申し上げます。

本研究の遂行にあたり有益な御指導、御助言を賜りました城西大学薬学部医薬品安全性学研究室教授 金本 郁男 先生および城西大学薬学部皮膚生理学研究室教授 徳留 嘉寛 先生に心から深謝致します。

本学位論文の審査を頂いた城西大学薬学部機能性食品科学研究室教授 古旗 賢二 先生、城西大学薬学部食品機能学研究室教授 真野 博 先生、城西大学薬学医薬品化学研究室教授 坂本 武史 先生に御礼申し上げます。

最後に、本研究にご協力いただきました、城西大学薬学部薬粧品動態制御学講座 寄迫 優真 氏、青木 智寛 氏、斉藤 大登 氏、東北大学 大学院医学系研究科 栗原 唯 氏をはじめとする関係諸氏に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 川原康慈, 経皮吸収型製剤のタイプと使用感, 薬局, 64, 3153-3157, 南山堂, (2013).
- 2) 外用製剤協議会, <http://www.gaiyokyo.org/gaiyozai/> (2017年3月2日).
- 3) マルホ株式会社, https://www.maruho.co.jp/medical/penles_info/touseki/hifu/hi_04.html (2017年3月2日).
- 4) Michael N Pastore, Yogeshvar N Kalia, Michael Horstmann, Michael S Roberts, Transdermal patches: history, development and pharmacology, Br. J. Pharmacol., 175, 2179-2209, (2015).
- 5) 上田守厚, 粘着剤の安全性評価ノウハウ, PHARMSTAGE, 4, 18-22 (2008).
- 6) 公益社団法人 日本医師会, 超高齢社会におけるかかりつけ医のための適正処方の手引き, 2017
- 7) Yamamoto Y., Uede K., Yonei N., Kishioka A., Ohtani T., Furukawa F., Effects of alpha-hydroxy acids on the human skin of Japanese subjects: the rationale for chemical peeling, J. Dermatol., 33, 16-22 (2006).
- 8) Kawahara K., Tojo K., Skin Irritation in Transdermal Drug Delivery Systems: A Strategy for its Reduction, Pharmaceutical Research, 24, 2, 399-408 (2007)
- 9) Gisele A. Castro, Anna Luíza L.R. Coelho, Cleida A. Oliveira, Germán A.B. Mahecha, Rodrigo L. Oréfice, Lucas A.M. Ferreira, Formation of ion pairing as an alternative to improve encapsulation and stability and to reduce skin irritation of retinoic acid loaded in solid lipid nanoparticles, International Journal of Pharmaceutics, 381, 77-83 (2009)

- 10) Nannan L., Yaqiong Z., Dongmei C., Peng Q., Liang F., Effect of backing films on the transdermal delivery of cyclobenzaprine patch, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15, 780-783 (2016)
- 11) Rawlings, Anthony V., Scott, Ian R., Harding, Clive R., Bowser, Paul A., Stratum corneum moisturization at the molecular level, *Journal of Investigative Dermatology*, 103, 731-740 (1994)
- 12) Bos JD, Meinardi MMHM. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Exp Dermatol*, 9, 165–169 (2000)
- 13) 杉林 堅次 (監修) : 経皮吸収型製剤開発における基礎と実務への応用, 情報機構, 東京, 55-68, (2015)
- 14) Chen, Y., Quan, P., Liu X., Wang M., Fang L., Novel chemical permeation enhancers for transdermal drug delivery, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9, 51-64 (2014)
- 15) Pham QD., Björklund S., Engblom J., Topgaard D., Sparr E., Chemical penetration enhancers in stratum corneum - Relation between molecular effects and barrier function, 232, 175-187 (2016)
- 16) Henry S, McAllister DV, Allen MG, Prausnitz MR. Microfabricated microneedles: a novel approach to transdermal drug delivery. *J Pharm Sci*, 87, 922–925 (1998)
- 17) Fang JY, Lee WR, Shen SC, Fang YP, Hu CH. Enhancement of topical 5-aminolaevulinic acid delivery by erbium:YAG laser and microdermabrasion: a comparison with iontophoresis and electroporation. *Br J Dermatol*, 151, 132–140 (2004)

- 18) Gupta SK, Bernstein KJ, Noorduyn H, Van Peer A, Sathyan G, Haak R. Fentanyl delivery from an electrotransport system: delivery is a function of total current, not duration of current. *J Clin Pharmacol*, 38, 951–958 (1998)
- 19) 吉野 廣祐, Product lifecycle managementの一環としてのDDS, *Drug delivery system.*, 655, 20-6, (2005).
- 20) 岩永 宏, 白土 健太郎, 山崎 英数, 自己組織化を用いたハニカムフィルム
の作製と応用, http://www.kegg.jp/medicusbin/japic_med_product?id=000447
(2017年3月2日)
- 21) Yaghmur A., Rappolt M., Chapter Five – The Micellar Cubic Fd3m Phase: Recent Advances in the Structural Characterization and Potential Applications, *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, 18, 111-145 (2013).
- 22) Mulet X., Boyd B.J., Drummond C.J., Advances in drug delivery and medical imaging using colloidal lyotropic liquid crystalline dispersions, *J. Colloid Interface Sci.*, 393, 1–20 (2013).
- 23) Yamada K., Yamashita J., Todo H., Miyamoto K., Hashimoto S., Tokudome Y., Hashimoto F., Sugibayashi K., *J. Oleo Sci.*, 60, 31–40 (2011).
- 24) Zbigniew C., Agnieszka K., Jolanta S., Pressure-Sensitive Adhesives for Medical Applications, *Wide Spectra of Quality Control*, 309-332 (2011)
- 25) Brent H., Rhonda N., Jacinda W., A Systemic Review of Topical Skin Care in aged care facilities., *Journal of Clinical*, 1, 129-136 (2007)
- 26) SCCJ日本化粧品技術者会,
<http://www.sccj-ifsc.com/terms/detail.php?id=35> (2017年3月2日).
- 27) 高橋 元次, 皮膚の機能・特性と物理計測, *表面科学*, 35, 1-4 (2014)

- 28) Tagami H., Kobayashi H., Kikuchi K., A portable device using a closed chamber system for measuring transepidermal water loss: comparison with the conventional method., *Skin Res Technol.*, 1, 7-12 (2002)
- 29) Szczepanik. M. P., Wilkolek. P. M., Pluta. M., Adamek. L. R., Pomorski. Z. J. H., The examination of biophysical parameters of skin (transepidermal water loss, skin hydration and pH value) in different body regions of poines, *PJVS*, 15, 553-559 (2012). Wiedersberg S., Guy R. H., *J. Control. Release*, 190, 150–156 (2014)
- 30) Lv S., Quan P., Liu X., Fang L., *Asian J. Pharm. Sci.*, 11, 780–783 (2016)
- 31) Wang C., Han W., Tang X., Zhang H., *AAPS PharmSciTech*, 13, 556–567 (2012)
- 32) Shi Y., Li Y., Wu J., Wang W., Dong A., Zhang J., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 25, 713–728 (2014)
- 33) Dimas D., Dallas P., Rekkas D., Choulis N., *AAPS PharmSciTech*, 1, 80–87 (2000)
- 34) Tokumura F., Ohyama K., Fujisawa H., Matsuda T., Kitazaki Y., *Contact Dermat.*, 37, 173–178 (1997)
- 35) Hausen B. M., Krueger A., Mohnert J., Hahn H., König W. A., *Contact Dermat.*, 20, 41–50 (1989)
- 36) Zhai H., Maibach H. I., *Skin Res. Technol.*, 8, 1–6 (2002)
- 37) Pastore M.N., Kalia Y.N., Horstmann M., Roberts M.S., Transdermal patches: history, development and pharmacology, *Br. J. Pharmacol.*, 14, 2179–2209 (2015)
- 38) 藤堂 浩明, 杉林 堅次, 薬物の皮膚表面および皮内からの吸収促進と制御, *Drug delivery system.*, 452, 20-4 (2005)
- 39) Gert Wötle, et al., Transformation of vesicular into cubic nanoparticles by autoclaving of aqueous monoolein/poloxamer dispersions, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 27, 44-53 (2006).

- 40) Gert Wötle, et al., Transformation of vesicular into cubic nanoparticles by autoclaving of aqueous monoolein/poloxamer dispersions, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 27, 44-53 (2006).
- 41) Minoru Nakano, et al., Dispersions of Liquid Crystalline Phases of the Monoolein/Oleic Acid/Pluronic F127 System, *Langmuir*, 18, 9283-9288, (2002).
- 42) Anan Yaghmur et al., The Micellar Cubic Fd3m Phase: Recent Advances in the Structural Characterization and Potential Applications, *Advances in Planar and Liposomes*, 18, 1554-4516, (2013).
- 43) 安部正彦, 鈴木敏幸, 福井寛, 最新・化粧品の機能創製・素材開発・応用技術, 技術教育出版社, 236-241 (2007)
- 44) Wye-Khay F., Tracey H., Ben J. B., Stimuli responsive liquid crystals provide 'on-demand' drug delivery *in vitro* and *in vivo*, 135, 218-226 (2009)
- 45) 橋田充, ドラッグデリバリーシステム, 化学同人, 23-38 (1995)
- 46) 杉林堅次, 永井恒司, DDSの基礎と開発, シーエムシー出版, 34-49 (2000).
- 47) Pastore M. N., Kalia Y. N., Horstmann M., Roberts M. S., Transdermal patches: history, development and pharmacology, *Br. J. pharmacol.*, 14, 2179-2209 (2015).
- 48) Schwarb F. P., Imanidis G., Smith E. W., Haigh J. M., Surber C., Effect of concentration and degree of saturation of topical fluocinonide formulations on *in vitro* membrane transport and *in vivo* availability on human skin, *Pharm. Res.*, 16, 909-915 (1999).
- 49) Matsui R., Hasegawa M., Ishida M., Ebata T., Maniki N., Sugibayashi K., Skin permeation of lidocaine from crystal suspended oily formulations, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 31, 729-738 (2005).

- 50) Fang J., Hong C., Chiu W., Wang Y., Effect of liposomes and niosomes on skin permeation of enoxacin, *Int. J. Pharm.*, 219, 61-72 (2001).
- 51) Yaghmur A., Rappolt M., Chapter five – The micellar cubic Fd3m phase: recent advances in the structural characterization and potential applications, *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, 18, 111-145 (2013).
- 52) Satoru H., Hitoshi M., New discovery of reversed hexagonal (H2) type self-assembly of phetyl chained amphiphilic lipids/water system-hexosome: beyond vesicles and liposomes, *IFSCC magazine*, 2, 113-121 (2011).
- 53) Wesam R. K., Shohei S., Ichiro H., Hiroaki T., Kenji S., A novel chemical enhancer approach for transdermal drug delivery with C17- Monoglycerol ester liquid crystal-forming lipid, *J. Oleo Sci.*, 66, 443-454 (2017).
- 54) 東洋エアゾール工業株式会社, <http://www.toyoa.co.jp/aerosol/> (2018年2月28日現在)