

化合物の溶解度および膜透過性は経口投与後の生物学的利用能に影響を及ぼすことが知られている。近年、製薬産業では多くの化合物が合成されているが、約 40%が低い溶解性や生物学的利用能のために医薬品としての開発が中止されている。このような傾向は医薬品のみならず、健康・美容補助食品にも多く見られる。しかし、これら補助食品の有効成分の体内動態に関する詳細な検討は医薬品に比べてもはるかに少なく、溶解性や生物学的利用能が低い場合は、体内動態を評価して吸収改善技術を発展させる必要がある。ジオスゲニンは卵巣摘出マウスにおいて薄化した表皮を肥厚させる作用や、B16メラノーマ細胞において、リン酸化酵素の活性化を介してメラニン産生を抑制することが報告されており、美容・健康食品の有効成分として近年特に注目されている。しかし、医薬品の有効成分として開発されていないことから、経口投与後の体内動態に関する報告は少なく、皮膚等の組織への移行性を調査した報告はない。

そこで本研究では、ジオスゲニンの溶解度、生物学的利用能、組織移行性を改善するために、第1編ではシクロデキストリン (CD) およびその誘導体について、第2編では液晶製剤または自己乳化型薬物送達システム (SMEDDS) 製剤と CD の併用効果について検討した。

### 第1編 難水溶性化合物であるジオスゲニンのシクロデキストリンによる生物学的利用能の改善

シクロデキストリンは、その疎水性空洞内に疎水性物質を内封する包接機能を有する。包接により内封した化合物の安定性向上や溶解度、消化管膜透過性、生物学的利用能の改善作用が知られている。そこで本編では、ジオスゲニンの生物学的利用能の改善を目的として、CD およびその誘導体との複合体を調製し、物理化学的性質の評価とラットを用いた経口投与実験を行った。天然の CD を使用した検討では、 $\beta$  および  $\gamma$ -CD がジオスゲニンの溶解度を改善した。結合定数は  $\beta$ -CD でより高い値を示したため、ジオスゲニンに対しては  $\gamma$ -CD と比較して  $\beta$ -CD の内孔径が適切である可能性が示された。 $\beta$ -CD は薬物の包接に広く利用されているが、 $\alpha$  および  $\gamma$ -CD と比較して溶解度が 18.5 mg/mL と低いため、使用には課題がある。そこで、 $\beta$ -CD 溶解度を改善するために水溶性の  $\beta$ -CD の誘導体として methyl (M)  $\beta$ -CD、hydroxyethyl (HE)  $\beta$ -CD、hydroxypropyl (HP)  $\beta$ -CD を使用した。ジオスゲニンの溶解度改善効果は M  $\beta$ -CD、HP  $\beta$ -CD、 $\beta$ -CD、HE  $\beta$ -CD の順に高値を示すことが明らかとなった。調製した複合体の X 線回折法、示唆走査熱量測定法、走査型電子顕微鏡観察法による解析より、 $\beta$ -CD およびその誘導体は、ジオスゲニンと包接複合体を形成していることが示唆された。ラットを用いた静脈内投与実験の結果より、ジオスゲニンの血漿中濃度の対数値と時間プロットは直線性を示し、ジオスゲニンの消失は線形 1-コンパートメントモデルに従うことが推察された。ジオスゲニン経口投与後の生物学的利用能は 4.4%と低値を示し、

$\beta$ -CD および HP  $\beta$ -CD の複合体投与により、それぞれ 7.6 および 11.3 倍に改善された。また、皮膚中含量も有意に改善され、血漿中濃度が皮膚移行性と相関していることが示唆された。

## 第2編 液晶製剤および自己乳化型薬物送達システム製剤とシクロデキストリンの併用によるジオスゲニン生物学的利用能の改善

前編ではジオスゲニンの生物学的利用能および組織移行性の改善に  $\beta$ -CD およびその誘導体が有用であることが示された。しかし、CD 複合体は調製に時間を必要とすることや、経口投与時に水に懸濁して投与する必要があるなどの欠点が存在する。そこで本編では調製が簡便な液晶製剤および自己乳化型製剤を使用した。また、調製した製剤と CD の併用による効果についても評価した。

液晶製剤は glyceryl monooleate (GMO) や phytantriol (PHY) などの両親媒性脂質と水を混合することによって形成され、難水溶性化合物の経口投与後の生物学的利用能を改善することが報告されている。X 線小角散乱測定より、GMO および PHY で調製したジオスゲニン含有する液晶製剤は、それぞれヘキサゴナルおよびキュービック液晶相を形成することが示された。また、粒子径測定結果より、100-200 nm 程度の粒子で水中に分散することが明らかとなった。液晶製剤の経口投与により、GMO で調製した液晶製剤は最大血漿中濃度 ( $C_{max}$ ) を増加し、PHY で調製した液晶製剤は最大血漿中濃度到達時間を延長した。また、 $\beta$ -CD の併用によって生物学的利用能は、さらに改善された。このメカニズムとして、ジオスゲニンおよび液晶を構成する脂質の放出を  $\beta$ -CD が促進したことが推察された。

自己乳化型薬物送達システム製剤は、難水溶性化合物の経口投与後の生物学的利用能を高めることが報告されているが、CD との併用効果に関する検討はされていない。ジオスゲニン含有 SMEDDS 製剤を調製するために、ジオスゲニンの油脂等への溶解度を測定し、三成分相図の作成を行った。Capryol 90、Cremophor EL、Carbitol を 4:3:3 の割合で混合して調製した SMEDDS 製剤において、広い希釈範囲でマイクロエマルジョンの形成が確認された。SMEDDS 製剤および製剤と  $\beta$ -CD 水溶液の経口投与により、ジオスゲニンの生物学的利用能は増加した。しかし、SMEDDS 製剤投与群と比較して  $\beta$ -CD 併用群で  $C_{max}$  および生物学的利用能は低値を示した。これは、製剤中のジオスゲニンと  $\beta$ -CD が複合体の沈殿を形成し、ジオスゲニン溶解度が減少したためであると推察された。

## 結論

本研究では、難水溶性で生物学的利用能の低いジオスゲニンの溶解度、生物学的利用能、組織移行性を改善することを目的として、CD 包接複合体、液晶製剤、SMEDDS 製剤を調製した。これらの製剤を使用することにより、ジオスゲニンのメラニン産生抑制作用や細胞増殖促進作用の増強効果や投与頻度の減少が可能であると考えられた。本研究の結果によって、難水溶性化合物の効果的な製剤設計の一端が明らかとなり、今後の更なる製剤技術の発展が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

近年、製薬産業では多くの化合物が合成されているが、医薬品としての開発の中止に至っている原因の40%は低い溶解性や低い生体膜透過性に起因する低い生物学的利用能のためであると言われている。このような傾向は医薬品のみならず、健康・美容補助食品にも多く見られる。しかし、これら補助食品の有効成分の体内動態に関する詳細な検討は医薬品に比べてもはるかに少なく、特に溶解性や生物学的利用能が低い場合は、それらの体内動態を評価して消化管吸収改善技術を発展させる必要がある。

本研究では、健康・美容食品のモデル有効成分として美白効果や美容効果があるとされる **diosgenin** (ジオスゲニン) を選択し、その水中溶解度、さらには実験動物 (ラット) に経口投与後の生物学的利用能と組織 (特に皮膚組織) 移行性の改善に及ぼすシクロデキストリン (CD) またはその誘導体、液晶製剤、さらには自己乳化型薬物送達システム (SMEDDS) の有用性について検討し、ひいては難溶解性・難生体膜透過性有効成分の健康・美容食品への利用拡大を目的とした。以下、審査結果を編章ごとに分けて説明する。

第1編第1章では、医薬品でも実用化されている天然型の CD を使用した。ジオスゲニンの溶解度は  $\beta$  および  $\gamma$ -CD との複合体形成によって改善され、結合定数は  $\beta$ -CD で高値を示した。また、ジオスゲニンと  $\beta$ -CD は 1:2 のモル比で包接複合体を形成していることを示した。さらに、 $\beta$ -CD 複合体の経口投与により、ジオスゲニンの生物学的利用能は高値を示し、血漿中濃度と作用部位と考えられる皮膚中量の高い相関性を得た。

第1編第2章では、 $\beta$ -CD の水中への溶解度を改善するために、 $\beta$ -CD 誘導体を使用して検討した。その結果、ジオスゲニンと  $\beta$ -CD 誘導体は水溶性の複合体を形成し、凍結乾燥法によって効率よく包接複合体が形成されることが明らかとなった。また、 $\beta$ -CD 複合体と比較して、 $\beta$ -CD 誘導体の複合体の経口投与により高い生物学的利用能と皮膚移行性が確認された。

第2編第1章では、CD 複合体単独使用と比べて調製が簡便な自己形成型の液晶脂質製剤と CD の併用効果について調べた。液晶形成脂質には **glyceryl monooleate** (GMO) および **phytantriol** (PHY) を用いた。これらの脂質とも消化管内において水分との混合により、それぞれヘキサゴナルおよびキュービック液晶相を形成し、さらに 200 nm 程度の小油滴として分散することを示した。また、GMO で調製した液晶製剤の経口投与によりジオスゲニンの最大血漿中濃度が増加し、PHY で調製した液晶製剤により最大血漿中濃度到達時間が延長した。このように、液晶製剤と  $\beta$ -CD 水溶液を併用することにより、生物学的利用能のさらなる改善効果がみられ、CD は製剤を構成する脂質とジオスゲニンの放出を促進している

可能性を示した。

第2編第2章では、SMEDDS 製剤と CD の併用効果について検討した。ジオスゲニンを Capryol 90 に溶解し、Cremophor EL および carbitol を添加することにより SMEDDS 製剤を調製することができた。また、調製した SMEDDS 製剤の経口投与により、ジオスゲニンの生物学的利用能は改善されたが、 $\beta$ -CD 水溶液併用により改善効果が減少した。これは、製剤中のジオスゲニンが  $\beta$ -CD との複合体の沈殿を形成し、ジオスゲニン溶解度を低下させたことが原因であると考えられた。

以上、本研究で用いた製剤化修飾により、ジオスゲニンの皮膚におけるメラニン産生抑制作用や細胞増殖促進作用を増強させることが期待された。また、本製剤化によりジオスゲニンの投与量や投与頻度を減少させることも可能であると考えられた。本研究が示した消化管吸収促進を可能とする種々製剤化の方法論は、医薬品の有効成分に多くみられる難水溶性化合物にも応用が可能であり、効果的な製剤設計法となることが示唆された。本研究は、今後の健康・美容補助食品関係の研究の発展にも大きな寄与をするものと思われ、その独創性や研究意義のいずれをとっても本研究科課程によらない博士（薬学）論文に十分値するものと判定した。さらに大川原正喜氏の人柄や見識についても博士（薬学）となるのに十分であると判断した。