

Development and optimization of orally and topically applied liquid crystal-drug formulations

Abstract of thesis

Liquid crystals (LCs) are semisolids made of lipids with crystalline structures combining the properties of both crystal and liquid states. First, the oral administration of LC formulations was evaluated. I aimed to develop oral formulations for delivering the drug to skin tissue with a high bioavailability using four different types of LC forming lipid (glyceryl monooleate (GMO), phytantriol (PHT), C₁₇-monoglycerol ester (MGE) and C₂₂-erythritol ester (ERT)) containing a mal-absorptive model compound, *p*-amino benzoic acid (PABA), which is an active element in cosmeceuticals, dietary supplements and skin disorder medicines. The bioavailability and skin concentration of PABA were investigated after its oral administration in rats. The effect of the remaining amount of the LCs formulations in the stomach was evaluated on the pharmacokinetic profiles of orally administered PABA. The skin permeation and concentration of PABA were also investigated using an *in vitro* permeation experiment. As a result, the bioavailability of PABA was significantly improved by administration of PABA-LC formulations compared with that of PABA solution alone, although the remaining effect in the stomach was greatly influenced by the type of LC-forming lipids. The *in vitro* skin permeation study showed that the PABA concentration in skin when applied from the dermis side was higher than when applied from the epidermis side. These findings suggested that oral administration advantageously supports skin drug delivery, and oral LC formulations could be a promising dosage form in cosmeceutical, dietary and clinical fields.

Next, the usefulness of topical LC formulations with skin permeation enhancing ability was investigated. A rather new LC forming lipid, C₁₇-monoglycerol ester (MGE) was evaluated and compared with glycerol monooleate (GMO), which is considered as the gold standard for forming LC formulations. I initially prepared LC formulations containing drugs with different physiochemical properties (tranexamic acid (TXA), 4-methoxy- salicylic acid (4-MS), catechin (CC) and calcein (Cal), and confirmed LC phase structures in the prepared

formulations by a polarizing light microscope and a small-angle X-ray scattering (SAXS). Physicochemical properties of these formulations were also performed using a viscometer and a zetasizer. The release rate of the drugs from LC formulations was determined using a dialysis membrane method. The skin penetration-enhancing ability of LC formulations was also investigated by *in vitro* skin permeation study. The obtained results showed that both MGE and GMO LC forming lipids exhibited the same behavior in terms of their birefringence indexes, LC phase structures, particle sizes and zeta potentials. Both the LC formulations consisted of MGE and GMO were managed to improve the skin permeation for various physiochemical properties of drugs. However, MGE formulations showed lower viscosity, faster drug release rate and better skin penetration-enhancing ability than GMO formulations, which strongly suggesting that the low viscosity of LC forming lipid of MGE might influence drug diffusivity and drug permeability through skin. The present MGE-LC formulations can be utilized as a promising new topical formulations for therapeutic drugs and cosmetic ingredients.

Finally, I aimed to develop strategies for designing and optimizing LC formulations to overcome the challenges of poor bioavailability drugs after oral administration and transdermal application by evaluation of physiochemical characterizations of the designed formulations and their ability for *in vitro* and *in vivo* absorption performance. Very limited studies have investigated on the effect of physiochemical properties of entrapped drugs, percentage of LC forming lipids and phase structure of LC formulations on the drug absorption from these formulations after oral or topical administration. In the present study, various oral and topical LC formulations were designed based on changes in the percentage of LC forming lipid in the formulations entrapped with different physiochemical properties of drugs. The obtained results showed that the drug absorption after oral and topical administration of LC formulations were dramatically affected by the percentage of LC forming lipid and physiochemical properties of drug. An understanding of the effect of such factors could enable us to prepare LC formulations with improved oral absorption and skin permeation of drugs.

論文審査の結果の要旨

医薬品や化粧品有効成分などの基剤成分として、水中で液晶構造を自己組織化できる両親媒性の脂質が注目されている。形成された液晶構造は、難溶性化合物の可溶化および分散化能、さらには化合物の高い安定化能を有していることから、国内外で液晶構造形成脂質に関する検討が化粧品、食品および製薬分野において数多くなされている。しかしながら、形成された液晶構造を薬物送達キャリアとして利用する報告はあるものの、薬物の吸収性に及ぼす液晶形成脂質の種類や濃度などについて系統的に調査した検討は未だなされていない。Wesam R. Kadham 氏は液晶構造を有する製剤を種々液晶形成脂質を用いて調製し、経口投与後の高いバイオバイラベリティおよび皮膚局所適用後の高い透過性を有する製剤の処方最適化を目指した検討を行った。

第1章では、液晶製剤の有用性の検討を構成脂質の種類に着目して行った。液晶構成脂質として、glyceryl monooleate (GMO) または phytantriol (PHT), C17-monoglycerol ester (MGE), C22-erythritol ester (ERT) を選択し、また、モデル化合物として薬用化粧品や栄養補助食品として汎用されている *p*-アミノ安息香酸 (*p*-aminobenzoic acid, PABA) を用いて、経口投与後のバイオバイラベリティと *in vitro* において皮膚適用後の透過促進能を調べた。最初に 30% の GMO と PHT, MGE の各脂質と PABA を含んだ液晶製剤の構造を小角 X 線回折法で確認した。調製した液晶製剤の X 線回折間隔は $\sqrt{2}$, $\sqrt{3}$, $\sqrt{4}$, $\sqrt{6}$, $\sqrt{8}$, $\sqrt{9}$ であり、逆キュービック液晶の存在が示唆された。また、粒子径は 200 から 400 nm, 温度によっても粒子径の変動はなく、安定な製剤が得られた。MGE 液晶製剤は 25°C および 37°C において、粘度は大きな変化は認められなかった。液晶製剤からの PABA の放出特性は PBS (pH7.4) と 0.1M HCl で変わらなかった。このことから、生理学的な消化管中の pH では、液晶製剤からの PABA の放出性は影響を受けないことが示唆された。また、GMO と MGE 液晶製剤からの PABA の放出は 80% 以上であった。一方、PHT 液晶製剤では 67% であった。37°C において PHT の粘度は高く、液晶製剤中の PABA の拡散および放出速度に影響した可能性がある。続いて *in vivo* ラットにおける薬物動態的な評価を行った。PABA-MGE または PABA-GMO 液晶製剤を経口投与した後の C_{\max} はそれぞれ、36 または 27 nmol/mL であり、PABA 溶液の 13 nmol/mL と比べて有意に高値を示した。PABA-MGE 液晶製剤の投与後の T_{\max} は、PABA 溶液および PABA-GMO, PABA-PHT の液晶製剤と比較して比較的短かった。さらに、PABA のバイオバイラベリティは PABA 溶液が 19% であったのに対して、PABA-MGE と PABA-GMO の液晶製剤の投与でそれぞれ 91 と 78% となり、有意に高値を示した。一方、PABA-PHT 液晶製剤の投与でバイオバイラベリティは有意に高値を示したが、PABA 溶液および他の製剤と比較して C_{\max} の有意な改善は得られなかった。また、液晶製剤経口投与後に胃内残存量を確認したところ、液晶製剤の経口投与後には胃内残存量は溶液投与群と比べ高く、特に PABA-PHT 液晶製剤では投与 8 時間後にも胃内に PABA が残存した。以上、これまでの結果から、PABA-MGE 製剤は、 C_{\max} および PABA のバイオバイラベリティを高めるために最も効果的な製剤であることが考えられた。また、異なる脂質を用いることで様々なタイプの液晶製剤が調製可能であることも明らかとした。*In vitro* 皮膚透過試験では、PABA 溶液を表皮側または真皮側に適用して検討した。その結果、両者に有意な差は認められなかったが、皮膚内の PABA 量は表皮側よりも真皮側に適用した時に有意に高い値を示した。これらの結果は全身循環系に吸収された PABA を皮膚

中に送達させる上で有利になる可能性があり、特に PABA-MGE 液晶製剤は有用性の高い送達システムであると思われた。

第 2 章では、様々な物性のモデル化合物を含有した MGE 液晶製剤の皮膚浸透性の促進に関する検討を行った。モデル化合物はトラネキサム酸、4-メトキシサリチル酸、カテキン、カルセインとした。液晶構成脂質は MGE と GMO を用いた。まず 50%モデル化合物を配合した 50%MGE または GMO 液晶製剤を調製した。小角 X 線回折法により液晶構造の確認をしたところ、X 線回折間隔は 1, $\sqrt{3}$, $\sqrt{4}$ でありヘキサゴナル相の存在が示唆された。また、粒子径は 220 から 280 nm でゼータ電位は -30 から -17 mV を示し、これらは少なくとも 10 日間は安定であることを確認した。粘度は MGE 液晶製剤に比べ GMO 液晶製剤で高いことが明らかとなった。化合物の放出率は GMO 液晶製剤と比較して MGE 液晶製剤で高値を示した。*In vitro* 皮膚透過試験では、試験した全ての化合物で、MGE 液晶製剤 > GMO 液晶製剤 > 化合物溶液の順に皮膚透過性は高く、液晶製剤化によってモデル化合物の皮膚透過は促進した。また、MGE 液晶製剤の皮膚浸透率の促進効率は、GMO 液晶製剤のものよりも高かった。これは、MGE と GMO 液晶製剤の粘度が関連する可能性があり、製剤中の化合物の拡散性が変化することで、化合物の皮膚内および皮膚への移行および浸透に影響している可能性を示唆した。

第 3 章では、経口投与または局所適用製剤としての液晶製剤処方最適化を検討した。液晶構成脂質の含有量を中心に変動させ、経口投与用液晶製剤 18 種、皮膚局所適用製剤として 6 種類を調製した。その中で製剤として不適切なものがそれぞれ 9, 2 種類存在した。小角 X 線回折法により液晶構造の確認をしたところ、X 線回折間隔は 1, $\sqrt{3}$, $\sqrt{4}$ でありヘキサゴナル相の存在が示唆された。液晶製剤からの化合物の放出プロファイルは、MGE の濃度および含有した化合物の物理化学的特性によって変化した。これらの結果は、製剤中の化合物の拡散性が MGE 濃度の増加とともに減少することを示している。また、化合物の拡散性は配合した化合物の物理化学的性質に影響を受けた。さらに、経口投与による液晶製剤からの化合物の吸収は、含有化合物と MGE 濃度および液晶製剤の物理化学的特性によって影響を受けた。PABA のバイオアベイラビリティは、他の液晶製剤または PABA 溶液単独と比較して、20%MGE 液晶製剤によって有意に高値を示した。これは、MGE 濃度を増加させることで、小腸と接触している液晶製剤が増加するためであることを推察している。*In vitro* 皮膚透過試験では、20%と 30%MGE 液晶製剤で化合物の透過量は増加した。40%MGE 製剤では透過量は減少したが、40%MGE 液晶製剤では化合物の放出性が減少したためであることが推察された。

以上、本論文は、薬物送達システムとしての液晶製剤の有用性に対して、極めて有益な情報を提供するものであり、新規剤形の開発において、有用な情報をもたらす重要な研究であると評価できる。新規性の高いことが認められる本論文は、その独創性および研究意義の観点から、本研究科において課程によらない博士（薬科学）の論文として十分に値するものであると判断した。