

論文の内容の要旨

氏名：今井 美湖

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名：高粘弾性を有するレシチン逆紐状ミセル系の探索とその皮膚適用製剤への応用に関する研究

【緒言】

逆紐状ミセルは、界面活性剤がオイル中で形成する分子集合体の一種であり、オイル中で十分な長さかつ量があるとき、3次元網目構造を形成してオイルを増粘体またはゲル状粘弾性体へと変化させる。一方レシチンは、オイル中で逆球状もしくは逆楕円状のミセルを形成するが、ここに水などの極性物質を少量添加すると逆ミセルの臨界充填パラメーターが変化し、逆紐状ミセルへと構造転移することが知られている。また、従来から汎用されている高分子ゲル化剤や低分子ゲル化剤に比べると、レシチン逆紐状ミセルは安全性が高く、調製が簡便かつ安価であるといった優れた特徴をもつ。このレシチン逆紐状ミセルは、使用する極性物質によってその物理化学的性質が異なることが報告されている。当研究室でもこれまでに、D-リボースやポリグリセリン等の極性物質を用いた場合に、レシチン逆紐状ミセルが形成されることが報告されている。しかし、いずれの極性物質を用いた逆紐状ミセル系においても、従来の高分子ゲル化剤や低分子ゲル化剤に比べると、十分なゲル化能を示さない。この問題が克服されれば、応用の可能性が広がると期待される。

また、近年レシチン逆紐状ミセルを皮膚適用製剤の基剤に利用する試みがなされている。しかし、レシチン逆紐状ミセルを皮膚に適用した研究はまだ少なく、薬物の皮膚透過に関するメカニズムについては十分な検討がなされていない。

そこで本研究では、より高い増粘・ゲル化作用を有する新規な逆紐状ミセル系の探索ならびに、レシチン逆紐状ミセル系の皮膚適用製剤基剤としての応用の可能性について検討を行った。

【方法】

レシチン逆紐状ミセル溶液の調製は既報に従い行った。極性物質が室温で固体の場合、必要量のレシチン（ホスファチジルコリン 95%以上）と極性物質を少量のメタノールに溶解させたのち、減圧乾燥により溶媒を完全に蒸発させた。その後、オイルを加えてマグネチックスターラーで攪拌し、25℃の恒温槽で数日間静置して試料に供した。なお、極性物質が室温で液体の場合には、メタノールの添加および減圧乾燥は必要としない。相状態の判別は、偏光板を用いた目視観察ならびに小角 X 線散乱 (SAXS) 測定により行った。レオロジー測定は、ストレス制御式レオメーターを用い、定常流粘度測定および動的粘弾性測定により行った。

皮膚透過実験には、薬物を可溶化させたレシチン逆紐状ミセルを用いた。なお、試料中のレシチン濃度は 30 wt%、薬物濃度は 1 wt% に固定した。薬物の皮膚透過性の評価は、フランツ型拡散セル（有効面積：1.74 cm²）に凍結ヘアレスマウス皮膚を解凍して装着し、試料 1 g を適用し、レセプター溶液（リン酸緩衝生理食塩液、32℃）中の薬物濃度を経時的に測定することにより行った。

【結果と考察】

高粘弾性を有する新規なレシチン逆紐状ミセル系の探索

逆紐状ミセルの形成に必要な極性物質は、構造内にレシチンのリン酸基と水素結合するための官能基が必須で、これまでに -OH 基と -NH₂ 基が有用であることが報告されている。そこで本研究では、新たな水素結合性官能基として -COOH 基に着目し、ヒドロキシカルボン酸を含む多価カルボン酸を用いてレシチン逆紐状ミセル系の探索を行った。

まず、25 種類のカルボン酸およびヒドロキシカルボン酸を用いて、極性物質のスクリーニングを行った。なお、オイルには *n*-デカンを用いた。この結果、8 種類のカルボン酸で高粘弾性の逆紐状ミセルを形成し、カルボン酸では 3 個の -COOH 基、ヒドロキシカルボン酸では 1~3 個の -COOH 基をもつことが必要条件であることが明らかになった。高粘弾性を有する逆紐状ミセルの形成を引き起こす

多価カルボン酸のうち、代表的なものについてその物理化学的性質を調べた。一例として、極性物質にクエン酸を用いた逆紐状ミセル系の結果を示す。クエン酸の濃度が上昇するに従って溶液は増粘し、ゲル様の高粘弾性を示したのち、過剰量のクエン酸を添加すると白濁した。この高粘弾性溶液について SAXS 測定を行ったところ、溶液内で逆紐状ミセルが形成されていることが示された。相状態をさらに詳細に検討するために、レシチンの低濃度領域について 3 成分系状態図を作成した (Fig. 1)。状態図上には Om で示した逆ミセルの形成領域が確認され、Om 相中の濃いグレーで示した領域には、高粘弾性を示す領域が認められた。つぎに、溶液のレオロジー特性について検討した。Figure 2 には、クエン酸濃度とゼロシアール粘度との関係を示す。クエン酸を使用した系では特に粘度が高く、レシチンの濃度が 10 wt% のとき、最高到達粘度は 6.0×10^4 Pa·s にまで達した。これは、*n*-デカンの粘度のおよそ 7×10^8 倍に相当する。

以上の結果から、-COOH 基は、レシチン逆紐状ミセルの形成に極めて有効な極性基であり、多価カルボン酸を用いて調製した逆紐状ミセル系は、これまで報告されている逆紐状ミセル系と比較して優れたレオロジー特性を示すことを明らかにした。

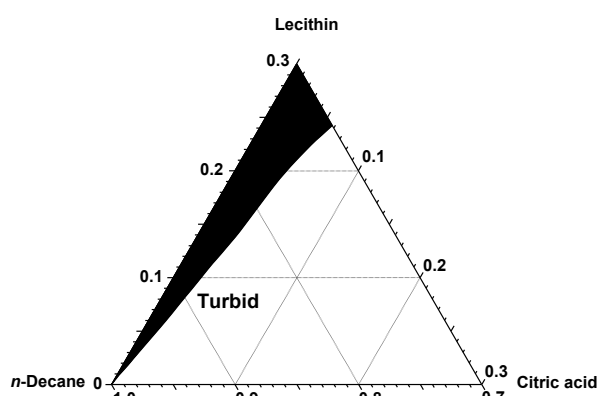


Fig. 1 Partial phase diagram of citric acid/lecithin/*n*-decane system in the dilute region at 25°C. The phase states were identified by visual observation through crossed polarizers or SAXS analysis.

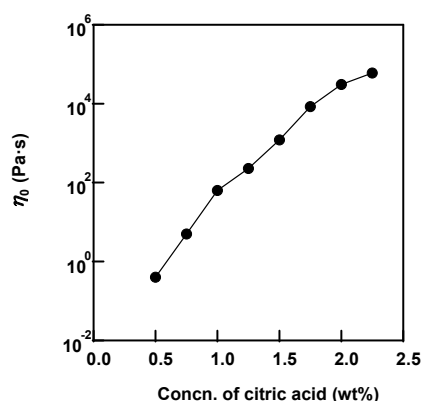


Fig. 2 Zero-shear viscosity (η_0) of citric acid/lecithin/*n*-decane systems as a function of citric acid concentration at 25°C. Lecithin concentration was fixed at 10 wt%.

薬物含有レシチン逆紐状ミセル系の皮膚適用製剤への応用

これまで、レシチン逆紐状ミセル系を用いた経皮吸収製剤に関する研究は、極性物質に水を用いた系でしか報告されておらず、その皮膚透過メカニズムについては十分に検討されていないのが現状である。そこで本研究では、様々な極性物質を用いて薬物含有レシチン逆紐状ミセル溶液を調製し、その物理化学的性質および薬物の皮膚透過性を詳細に検討した。

はじめに、当研究室でこれまで報告した極性物質 (尿素、D-リボース、ポリグリセリン、アスコルビン酸、クエン酸、プロパントリカルボン酸など) に対して、オイルとして皮膚透過促進作用をもつミリスチン酸イソプロピル (IPM) を用いてスクリーニングを行った。その結果、極性物質に D-リボースおよびテトラグリセリン (4PGL) を用いた場合に、高粘弾性の逆紐状ミセルを調製できた。また、先行研究との比較を行うために、極性物質に水を用いた系についても検討した。なお、モデル薬物としてテストステロン (TES) を用いた。

まず、それぞれの系について極性物質/レシチン/IPM/TES の 4 成分系状態図を作成した。いずれの系においても、逆ミセル中に 1 wt% の TES を安定に可溶化させることができた。逆ミセル形成領域および高粘弾性領域の広さは使用する極性物質によって異なり、逆ミセル形成領域は 4PGL を用いた系で最も広く、高

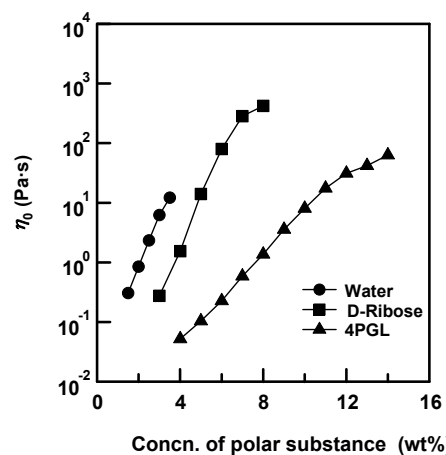


Fig. 3 Zero-shear viscosity (η_0) of polar substance/lecithin/IPM/TES systems as a function of polar substances concentrations at 32°C. Lecithin concentration was fixed at 30 wt%.

粘弾性領域は D-リボースを用いた系で最も広がった。Figure 3 に皮膚上を想定した 32°C における、極性物質/レシチン/IPM/TES 系の極性物質濃度とゼロシアア粘度との関係を示す。この結果から、D-リボースを極性物質として用いた系において最も高い粘度をもつ基剤を作成できることが明らかになった。

皮膚透過実験に用いた各製剤の組成を Table 1 に示す。Control には TES の IPM 懸濁液を用いた。Figure 4 に、Control および逆紐状ミセルを基剤とした場合における TES の flux を示す。一般に、flux は懸濁液 (Control) を基剤とした場合に最も大きい。したがって、逆紐状ミセルからの flux は、懸濁液からの flux と同じか小さくなるはずである。しかし、水および D-リボースを極性物質として用いた基剤からの flux が、Control のそれよりも有意に大きくなった。偏光顕微鏡観察により、これらの系では実験中に皮膚中の水分を基剤が吸収し、皮膚との接触面でラメラ液晶を形成していることが示された (Fig. 5)。構造中に水分を含んだラメラ液晶では逆紐状ミセルよりも TES の溶解度が低く、基剤中で TES が一時的に過飽和状態になっており、TES は熱力学的活量が増大しているものと想定される。このような場合、TES の皮膚への分配が促進されることから flux が増大したと考えられる。一方、Control と有意な差は認められなかった 4PGL を用いた系では、逆紐状ミセルからラメラ液晶への構造転移は生じなかった。なお、薬物としてヒドロコルチゾンを追加した系についても検討を行っており、同様の結果を得ている。

以上の研究から、逆紐状ミセルは皮膚中の水分を吸収してラメラ液晶へと構造転移し、基剤中で薬物が過飽和状態になることで皮膚透過性を増加させるという、新たなメカニズムを明らかにした。また、逆紐状ミセルラメラ液晶構造転移が誘起されるか否かは、使用する極性物質に依存することが明らかになった。したがって、レシチン逆紐状ミセルを皮膚適用製剤として検討する場合には、極性物質の選択が重要であることが示された。

以上、本研究は多価カルボン酸を用いた新規な高粘弾性レシチン逆紐状ミセル系の探索という基礎的研究と、薬物含有レシチン逆紐状ミセル系からの薬物の皮膚透過特性という応用研究の結果を報告するものである。本研究の結果が、レシチン逆紐状ミセル系の皮膚適用製剤としての応用の可能性を高める一助となることを期待する。

Table 1 The compositions of the formulations used in skin permeation study (wt%)

	Control	Water	D-Ribose	4PGL
Lecithin	0	30	30	30
TES	1	1	1	1
Polar substance		3.4	6.18	13.4
IPM	99.0	65.6	62.82	55.6

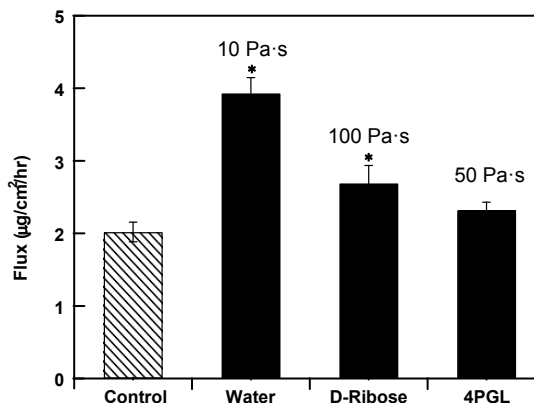


Fig. 4 The flux of TES through hairless mouse skin after application Control or reverse worms. Each datum represents the mean \pm S.D. of at least three experiments. (*) Significant difference from Control ($P < 0.05$).

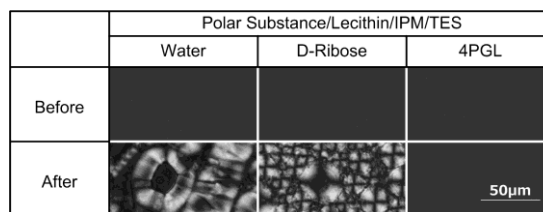


Fig. 5 The polarized microscopic images of viscoelastic reverse worms (25°C). These images were taken before and after the skin permeation experiments.