

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

薬品分子化学研究室

今井 美湖

目次

序論	1
第 1 章 新規な高粘弾性レシチン逆紐状ミセル系の探索	5
第 1 節 各種カルボン酸の逆紐状ミセル形成能に関する検討	7
1. 各種カルボン酸を対象としたゲル化スクリーニング	7
第 2 節 各種カルボン酸／レシチン／ <i>n</i> -デカン系の物理化学的性質	12
1. 各種カルボン酸／レシチン／ <i>n</i> -デカン系の状態図	12
2. 各種カルボン酸／レシチン／ <i>n</i> -デカン系の定常流粘度フローカーブ ..	15
3. 各種カルボン酸／レシチン／ <i>n</i> -デカン系のゼロシアー粘度の検討 ..	17
4. 各種カルボン酸／レシチン／ <i>n</i> -デカン系の動的粘弾性挙動	24
第 3 節 レシチン逆紐状ミセルの形態に関する検討	28
1. スケーリング理論を用いた逆紐状ミセルの形態に関する検討	28
第 4 節 小括	35
第 2 章 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	36
第 1 節 皮膚適用製剤化の検討	38
1. IPM の増粘・ゲル状化に関する検討	38
2. 極性物質／レシチン／IPM の 3 成分系状態図	43
3. 極性物質／レシチン／IPM／TES の 4 成分系状態図	46
4. ゼロシアー粘度に対する薬物添加の影響	48
5. ゼロシアー粘度における温度の影響	52
6. 極性物質／レシチン／IPM／TES 系における粘弾性挙動	54
第 2 節 レシチン逆紐状ミセル製剤からの薬物皮膚透過性に関する検討 ..	56
1. レシチン逆紐状ミセルからの TES の皮膚透過性	56
2. 基剤粘度が TES の皮膚透過性に及ぼす影響	59

3. レシチン逆紐状ミセル製剤からの TES 皮膚透過性	61
4. レシチン逆紐状ミセルの構造変化と TES 皮膚透過性	63
5. レシチン逆紐状ミセルの構造変化と TES の存在状態	67
6. レシチン逆紐状ミセル製剤からの HC 皮膚透過性	71
第3節 小括	73
総括	75
実験	77
謝辞	82
参考文献	83
略語・記号一覧	90
原著論文	91

序論

レシチン逆紐状ミセルは、オイル中で形成される、レシチンを主成分とした紐状の逆ミセルである。十分な量と長さのレシチン逆紐状ミセルがオイル中に存在するとき、これらは互いに絡まり合い 3 次元網目構造を形成してオイルを増粘・ゲル状化する (Fig. 1)。最初の系は、1988 年に Luisi らによって水/レシチン/オイルの 3 成分系として報告された¹⁾。

レシチンのような界面活性剤が溶媒中で形成する分子集合体の形態は、臨界充填パラメータ (Critical Packing Parameter : CPP) により表される²⁾。

$$CPP = v_{tail} / (a_{hg} l_{tail}) = a_{tail} / a_{hg} \quad (1)$$

(v_{tail} : 疎水部の体積、 a_{hg} : 親水基の断面積、 l_{tail} : 疎水部の長さ、 a_{tail} : 疎水部の断面積)

レシチンが単独でオイル中に存在するとき、レシチンの CPP は 3 以上であり、球状もしくは楕円状の逆ミセルを形成する (Table 1)。ここにごく少量の水を添加すると、水分子がレシチンの親水基間に入り込んでリン酸基と水素結合し、親水基の断面積が見かけ上増加する。その結果、レシチンの見かけの CPP はわずかに減少して 2~3 程度となり、分子集合体の界面曲率が変化して球状から紐状の逆ミセルへと構造転移する^{3,4)}。このように、Luisi らの系において、水はレシチン逆紐状ミセルの形成に必須の成分である。

Shchipunov らは、水の代替物としてグリセロール、エチレングリコール、ホルムアミドといった極性物質を使用してレシチン逆紐状ミセルを調製し、使用する極性物質により逆紐状ミセルの物理化学的性質が異なることを明らかにした⁵⁾。2006 年には、Raghavan らによって胆汁酸塩を極性物質として用いた系が見いだされ、その中で固体の極性物質を使用したレシチン逆紐状ミセルの調製方法が報告された⁶⁾。Hashizaki らは、彼らの調製方法を使用して尿素⁷⁾、ショ

糖脂肪酸エステル⁸⁾、D-リボースおよびデオキシ-D-リボース⁹⁾、アスコルビン酸¹⁰⁾、ポリグリセリン¹¹⁾を極性物質として用いたレシチン逆紐状ミセルを見出し、その物理化学的性質について報告している。

レシチン逆紐状ミセルは、生体膜の主要構成成分であるレシチンを主成分とするため、生体に対して高い親和性をもち、医療分野および食品分野において利用可能なゲル状オイルを調製することができる。今回使用したレシチンの構造、分子量等および構成脂肪酸を Figure 2 に示す。レシチンは生分解性をもつため、高分子ゲル化剤を用いたオイルでしばしば問題となるような、廃棄物による環境問題を回避することもできる。また、レシチン逆紐状ミセルは、ミセル構造に起因する可溶化能をもち、親水性・疎水性いずれの物質も可溶化することから、難溶性薬物を安定して溶解できる¹²⁾。ミセルは熱力学的平衡系であるため、その経時的安定性および構造回復性も利点である¹³⁾。さらに、レシチン逆紐状ミセルの調製方法は非常に簡便であり、極性物質が液体であれば、極性物質、レシチン、オイルを常温で攪拌するだけで調製することができる¹⁾。したがって、熱に弱い薬物を配合することも可能である。

一方で、これまで報告されているレシチン逆紐状ミセルでは、高分子ゲル化剤や低分子ゲル化剤で得られるような、高い粘度をもつオイルを調製することができていないことが欠点のひとつと言える。レシチン逆紐状ミセルの物理化学的性質は、極性物質の種類によって異なるため、この欠点を補うことのできるレシチン逆紐状ミセルを見出すためには、新規な極性物質の探索が有効であると考えられる。第1章では、より高い増粘・ゲル化作用をもつレシチン逆紐状ミセルの発見を目的とし、新規な極性物質の探索を行った。

応用においては、レシチン逆紐状ミセルの安全性や可溶化能といった利点を最大限に活かすことのできる分野として、皮膚適用製剤での利用が注目される。第2章では、様々な極性物質を用いて調製したレシチン逆紐状ミセル基剤にテストステロンまたはヒドロコルチゾンを追加し、製剤としての物理化学的性質およびレシチン逆紐状ミセル製剤からの薬物皮膚透過性について検討した。

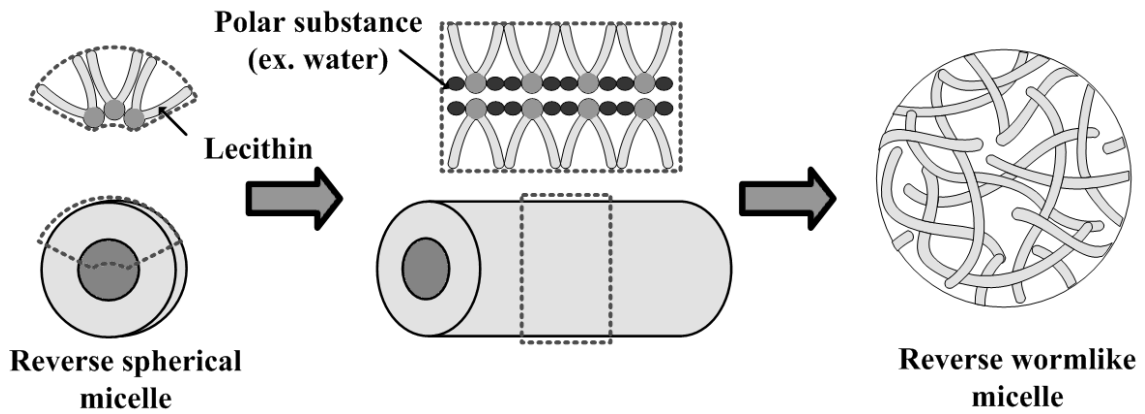
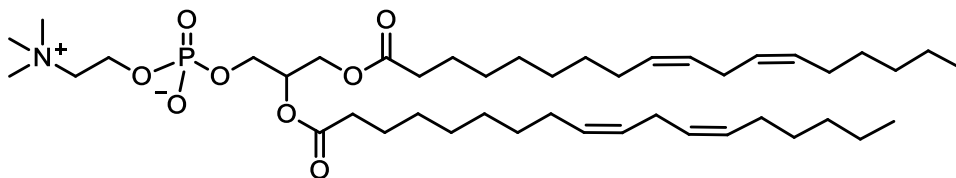


Fig. 1 Formation mechanism of lecithin wormlike micelle.

Table 1 Relation of molecular assemblies and *CPP*.

<i>CPP</i>	≥ 3	$3 \sim 2$	$2 \sim 1$	1
Surfactant shape				
Structures formed	 reverse micelle	 reverse rodlike/wormlike micelle	 reverse vesicle	 lamellar

Lecithin



molecular weight*	Average : 775.037
molecular formula*	Predominant Species : C ₄₄ H ₈₀ NO ₈ P
fatty acid distribution*	linoleic acid (63.0 wt%)
	palmitic acid (14.9 wt%)
	oleic acid/vaccenic acid (11.4 wt%)

*Data from Avanti polar lipids Ltd. web site.

Fig.2 Chemical structure, physicochemical properties and fatty acid distribution of soy bean lecithin.

第 1 章 新規な高粘弾性レシチン逆紐状ミセル系の探索

レシチン逆紐状ミセルは、様々な利点を有する。しかし、これまで報告されているレシチン逆紐状ミセルには、高分子ゲル化剤や低分子ゲル化剤と比較して十分なゲル化能を示さないという欠点があった。これは、逆紐状ミセルの絡み合いの緩和モードおよび緩和時間によって説明される。

緩和時間とは、物質に一定のひずみを与えたとき、初期応力 σ_0 が σ_0/e まで減少するのにかかる時間のことで、高分子や逆紐状ミセルの絡まり合いの解消しやすさを表す。鎖状高分子の場合、絡み合いはレプテーションにより解消されるため、緩和時間は広い分布をもつ¹⁴⁻¹⁷⁾。レプテーションとは、絡み合った高分子が、自身のブラウン運動によって末端から徐々に絡み合いを解す運動様式のことをいう。一方、逆紐状ミセルの絡み合いは、レプテーションによる緩和に加え、可逆的な切断・再接合 (breaking) によっても解消される。レシチン逆紐状ミセルの緩和時間は、逆紐状ミセルの可逆的な切断・再接合とレプテーションのバランスによって決まり、切断・再接合時間 (τ_b) がレプテーション時間 (τ_{rep}) よりも十分に短い場合に単一の Maxwell 挙動を示し、 G' および G'' は (2)、(3) 式にフィットする。そして、この場合の緩和時間 (τ) は τ_b と τ_{rep} の幾何平均で示される ((4) 式)¹⁸⁾。

$$G' = \frac{\omega^2 \tau^2}{1 + \omega^2 \tau^2} G_0 \quad (2)$$

$$G'' = \frac{\omega \tau}{1 + \omega^2 \tau^2} G_0 \quad (3)$$

$$\tau = (\tau_b \tau_{rep})^{1/2} \quad (4)$$

ここで、 G' は貯蔵弾性率、 G'' は損失弾性率、 ω は周波数、 G_0 はプラトー弾性率である。 G_0 は(5)式のような関係式が成立する^{6,18)}。

$$G_0 = \nu kT = \frac{kT}{\xi^3} \quad \xi = \phi^{-0.75} \quad (5)$$

ここで、 ν は絡み合いの数密度、 k はボルツマン定数、 T は絶対温度、 ξ は絡み合いネットワークのメッシュサイズである。また、 ϕ は逆紐状ミセルの体積分率であることから、 G_0 は逆紐状ミセルの量を反映している。これらの関係式を用いて、 τ から逆紐状ミセルの長さ ξ と G_0 から逆紐状ミセルの量について検討を行うことができる。また、ゼロシア粘度 η_0 は逆紐状ミセルの量と長さによって決定され、次の式で示される¹⁹⁾。

$$\eta_0 = G_0 \times \tau \quad (6)$$

本研究では、切断・再接合という逆紐状ミセルの緩和モードと緩和時間 τ に着目し、より高い増粘・ゲル化作用をもつレシチン逆紐状ミセルの探索を行った。レシチン逆紐状ミセルのドライビングフォースは、レシチンのリン酸基と極性物質間の水素結合であり、強い水素結合を形成する極性物質を見出すことができれば、十分なゲル可能を有するレシチン逆紐状ミセルを調製できると考えられる。これまで報告されているレシチン逆紐状ミセルでは、極性物質に-OH基もしくは-NH₂基を持つものを使用している^{1,5-7,9-11,13)}。そこで新しい極性基として、-OH基よりも水素結合が強いとされる、カルボキシ基に注目した。本章では、極性物質/レシチン/オイルの3成分系状態図の作成やレオロジー挙動の検討により、新規な極性物質を用いた逆紐状ミセル系の物理化学的性質を明らかにした。また、各種レオロジーパラメータのスケーリング理論を用いて逆紐状ミセルの形態についても検討を行った^{18,20)}。

第 1 節 各種カルボン酸の逆紐状ミセル形成能に関する検討

1. 各種カルボン酸を対象としたゲル化スクリーニング

カルボキシ基を有する物質は数多く存在するが、レシチン逆紐状ミセルの調製に用いるためには、いくつかの条件を満たす必要がある。すなわち、環境および生体に対する親和性が高いこと、低分子量であること、さらに極性物質が室温で固体の場合には、調製のためにメタノールやエタノールなどの溶媒に溶解する必要がある。

これらの条件を踏まえ、不飽和結合や芳香環を含むものなど、様々な構造のものの中から、異なる価数のカルボン酸およびヒドロキシカルボン酸 25 種類を対象に、ゲル化スクリーニングを行った。なお、レシチン濃度は 10 wt% に固定し、各種カルボン酸の濃度は 0.5~3.0 wt%、オイルには *n*-デカンを用いて検討した。対象とした各種カルボン酸およびそのゲル化能に関するスクリーニング結果を Table 2 に示す。状態の判別は、バイアルを倒置して 10 秒以上流動しないものをゲル状 (gel like)、10 秒以内に流動しはじめるものを増粘 (viscous)、流動性が高く、バイアルを倒置する間に流動するものをゾル (sol) とした。また、固体物質を極性物質として使用する場合には、調製時にメタノールもしくはエタノールに溶解させるが、この手順において、いずれの溶媒にも溶けないものを不溶 (insoluble) とした。その結果、カルボン酸 3 種、ヒドロキシカルボン酸 5 種を極性物質に用いた系で、オイルがゲル状となった。

一例としてクエン酸を用いた系の外観を Figure 3 に示す。クエン酸の濃度が 0.7 wt% と低いとき (Fig. 3 (a)) は、オイルはゾルであるが、クエン酸の濃度を 1.75 wt% に増加させるとオイルは透明なゲル状となる (Fig. 3 (b))。さらにクエン酸の添加量を 3.0 wt% に増加させると (Fig. 3 (c))、オイルは白濁した。

続いて、ゲル状化したオイルの内部構造を確認するため、小角 X 線散乱測定 (SAXS) を行った。測定に際し、レシチンによって形成される分子集合体同士の間相互作用を排除するために、*n*-デカンで 5 倍に希釈したものを使用した。

Figure 4 に、クエン酸/レシチン/*n*-デカン=0.35:2.0:97.65 (wt%) の散乱ベクト

ル (q) と散乱強度 ($I(q)$) との関係を示す。ここで $q=(4\pi/\lambda)\sin\theta$ で、 θ は散乱角、 λ は X 線の波長である。Guinier 領域と Porod 領域の間にある中角領域の傾きが-1であったことから、溶液中には棒状の粒子すなわち逆紐状ミセルが存在することが明らかとなった²¹⁾。

以上の結果から、高粘弾性を持つレシチン逆紐状ミセルを形成するためには、カルボン酸では 3 個の、ヒドロキシカルボン酸では 1~3 個のカルボキシ基をもつ必要があることがわかった。

Table 2 Gelation ability of various carboxylic acids against *n*-decane at a fixed lecithin concentration of 10 wt%.²²⁾

	Compound	State
Monocarboxylic acid	Acetic acid	sol
	Propionic acid	sol
	Benzoic acid	sol
Dicarboxylic acid	Succinic acid	sol
	Fumaric acid	viscous
	<i>o</i> -Phthalic acid	sol
Tricarboxylic acid	<i>trans</i>-Aconitic acid	gel like
	1,2,3-Propanetricarboxylic acid	gel like
	1,3,5-Trimesic acid	gel like
	1,4,5-Trimellitic acid	viscous
Tetracarboxylic acid	Pyromellitic acid	insoluble
Hexacarboxylic acid	Mellitic acid	insoluble
Hydroxymonocarboxylic acid	Glycolic acid	viscous
	Salicylic acid	sol
	<i>o</i> -Coumaric acid	viscous [22]
	<i>m</i> -Coumaric acid	viscous [22]
	<i>p</i>-Coumaric acid	gel like
	3,4-Dihydroxybenzoic acid	gel like
Hydroxydicarboxylic acid	Tartaric acid	gel like
	L(-)-Malic acid	gel like
Hydroxytricarboxylic acid	Citric acid	gel like

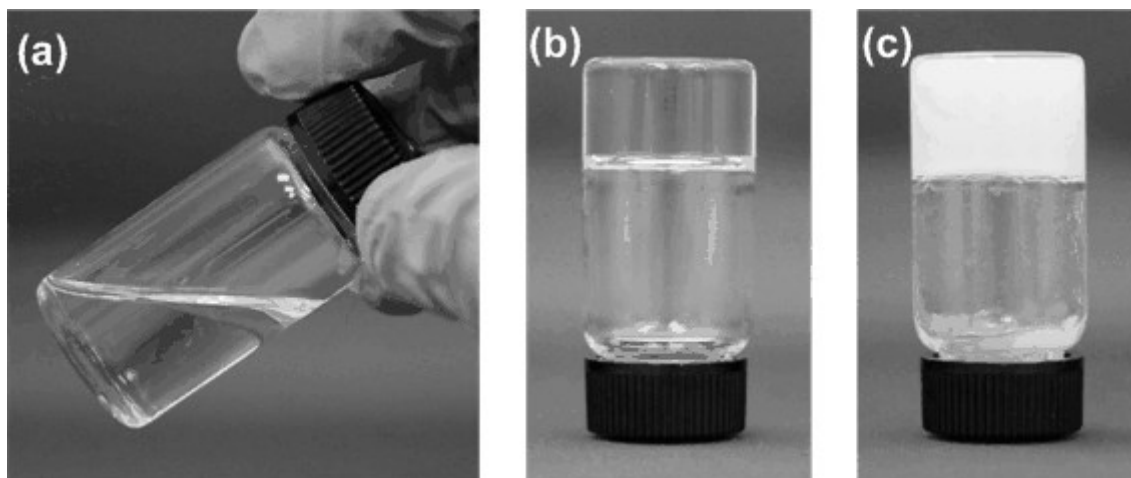


Fig. 3 Photographs of citric acid:lecithin:*n*-decane system at 25°C

(a) 0.7:10.0:89.3 (wt%); (b) 1.75:10.0:88.25 (wt%); (c) 3.0:10.0:87.0 (wt%).

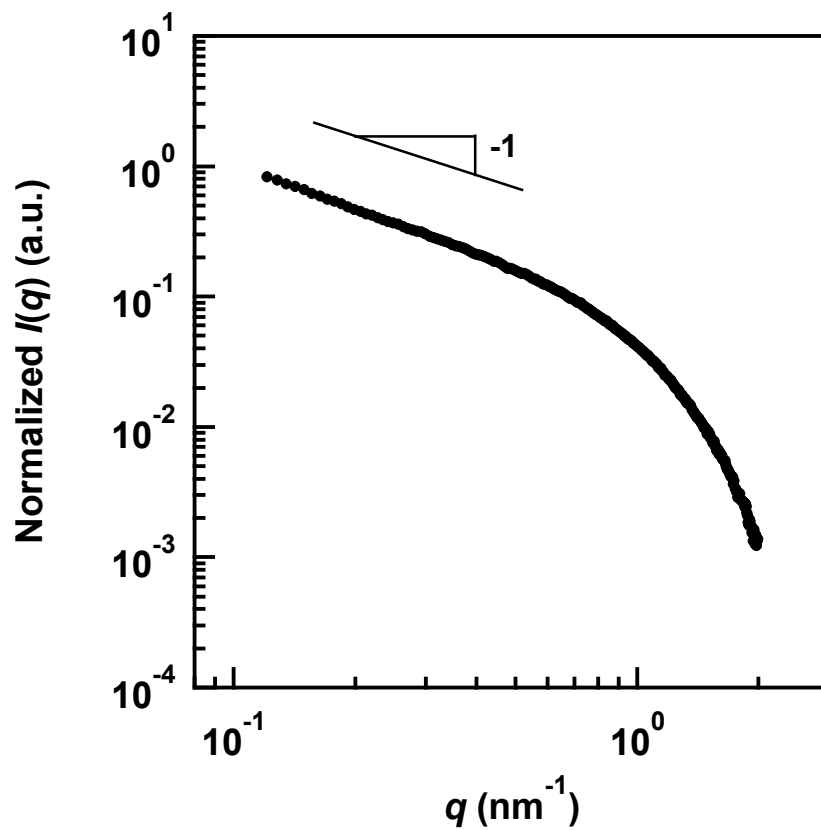


Fig. 4 SAXS intensity [$I(q)$] as a function of the scattering vector (q) for the citric acid/lecithin/ n -decane (0.35:2.0:97.65 [wt%]) system.

第 2 節 各種カルボン酸／レシチン／*n*-デカン系の物理化学的性質

1. 各種カルボン酸／レシチン／*n*-デカン系の状態図

各種カルボン酸を対象としたスクリーニングの結果から、トリカルボン酸であるアコニチン酸、1,2,3-プロパントリカルボン酸、トリメシン酸もしくはヒドロキシモノカルボン酸である *p*-クマリン酸、ジヒドロキシ安息香酸、ヒドロキシジカルボン酸である酒石酸、リンゴ酸、ヒドロキシトリカルボン酸であるクエン酸が *n*-デカンのゲル化に有用な極性物質であることが明らかとなった。

レシチン逆紐状ミセルは、極性物質／レシチン／オイルの 3 成分からなる平衡系であり、これらの成分の質量比によって相状態が変化する。また、使用する極性物質やオイルの種類によっても逆紐状ミセルの形成のしやすさは異なる。そこで、ヒドロキシカルボン酸として (a) グリコール酸、(b) リンゴ酸、(c) クエン酸を、カルボン酸として (d) コハク酸、(e) プロパントリカルボン酸をそれぞれ用いた場合の、極性物質／レシチン／*n*-デカンの 3 成分系状態図を作成し、高粘弾性を持つ逆紐状ミセルの形成領域を特定した。なお、相の判別は偏光板を用いた目視観察および SAXS 測定により行った。

Figure 5 に各極性物質を用いた場合の部分状態図を示す。状態図中の逆ミセル形成領域 (Om 領域) をグレーで示した。薄いグレーの領域はゾル状態および増粘状態、濃いグレーの領域はゲル状 (高粘弾性) 領域を表す。モノカルボン酸であるコハク酸および、ヒドロキシモノカルボン酸であるグリコール酸を極性物質に用いた系では、Om 領域中に高粘弾性領域は認められなかった。したがって、レシチン濃度を増やしても、これらのカルボン酸を極性物質とした系では *n*-デカンはゲル化しないことが示された。一方、カルボキシ基を 3 つもつカルボン酸であるプロパントリカルボン酸や、カルボキシル基を 2 つ以上もつヒドロキシカルボン酸であるリンゴ酸およびクエン酸を用いた場合には、Om 領域内に高粘弾性領域が確認された。この高粘弾性領域では、十分な長さと同量の逆紐状ミセルが形成しているものと考えられる。クエン酸以外のカルボン酸を極性物質に用いた系では、極性物質を過剰に添加した場合、溶液は 2 相に分

離した (2-phase 領域)。これは、逆紐状ミセルが凝集し、オイルを抱え込みきれなくなって離油した状態であると考えられる。一方、クエン酸を用いた場合には、クエン酸の添加量が過剰な領域において高粘弾性を維持したままゲルが白濁した (Turbid 領域)。これは、レシチンがより大きな分子集合体を形成している可能性が考えられる。

カルボン酸を極性物質として用いた系の状態図に現れた相は、いずれも従来の系の状態図にも現れるものであり、また Om 領域や高粘弾領域の広さは、代表的な極性物質である水を用いた系よりも広く²³⁾、D-リボースを用いた系と同程度であることが明らかとなった⁹⁾。

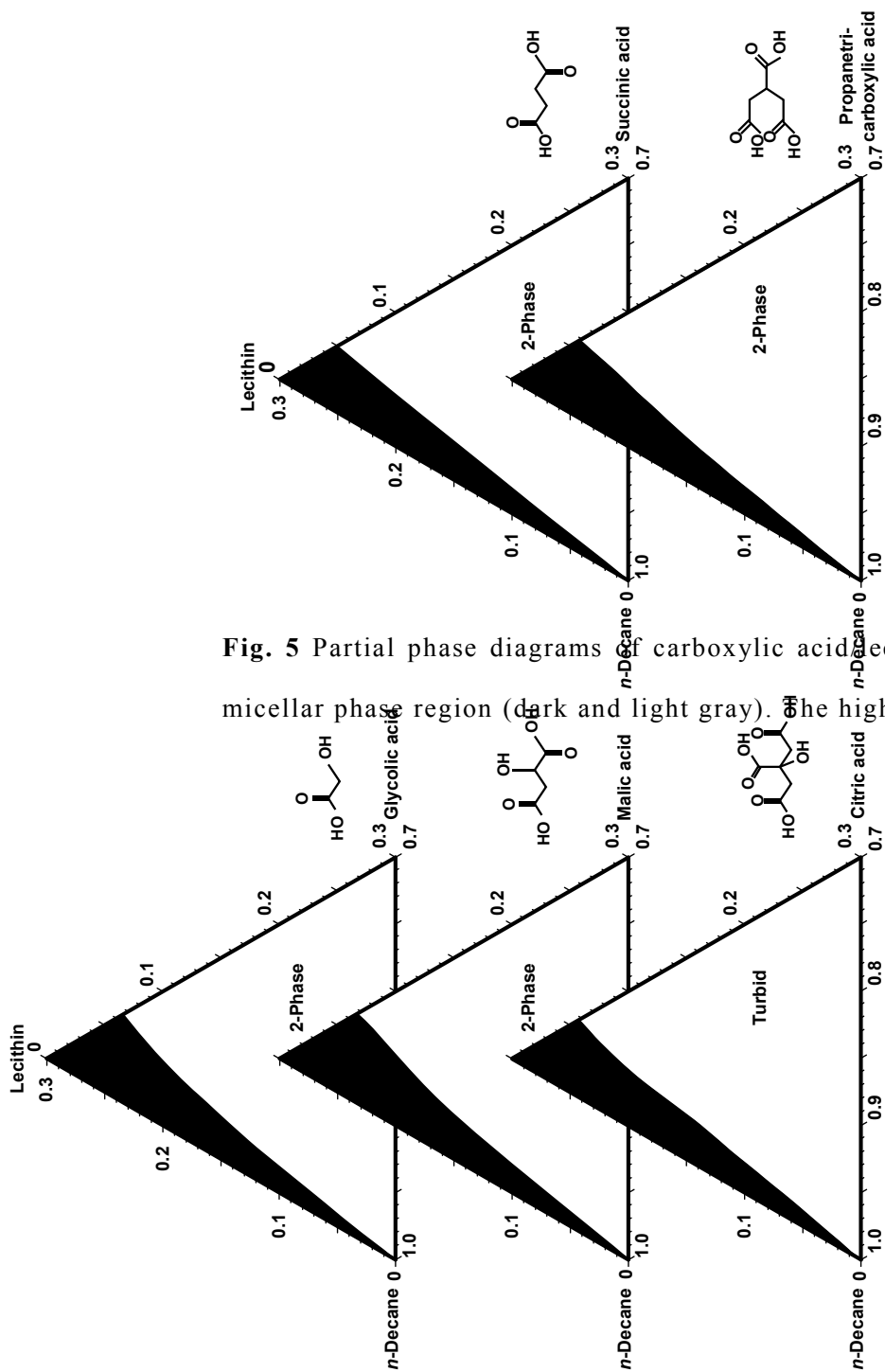


Fig. 5 Partial phase diagrams of carboxylic acid/lecithin/*n*-decane systems at 25°C. The dark and light gray regions indicate micellar phase region (dark and light gray). The highly viscoelastic region within the

2. 各種カルボン酸／レシチン／*n*-デカン系の定常流粘度フローカーブ

極性物質／レシチン／オイルの3成分系状態図より、Om領域および高粘弾性領域を明らかにした。レシチン逆紐状ミセルは、使用する極性物質により、流動性などの物理化学的性質が異なる。そこで、逆紐状ミセル形成領域のレオロジー特性を検討した。

各種カルボン酸／レシチン／*n*-デカン系の、定常流粘度測定を行った。Figure 6には一例として、クエン酸／レシチン／*n*-デカン系において、クエン酸濃度を変化させたときの定常流粘度フローカーブを示す。なお、レシチン濃度は10 wt%に固定した。いずれのクエン酸濃度でも、溶液の粘度は低せん断速度側では一定であり、あるせん断速度を超えると急激に低下した。このことから、これらの試料は低せん断速度側ではニュートン流動を示し、高せん断速度側では非ニュートン流動を示すことが明らかになった。これは、ニュートン流動を示すせん断速度範囲では、逆紐状ミセルからなる3次元網目構造が見かけ上壊れないことを意味している。このような定常流粘度フローカーブの挙動は、他のカルボン酸を極性物質として用いた場合にも同様に認められた。

一般に逆紐状ミセル中の界面活性剤は、バルク中のモノマーと熱力学的平衡状態にあるため、ミセルとモノマー間で常に界面活性剤の交換反応が起こっている。このため、逆紐状ミセルにより形成される3次元網目構造は、切断と再接合を繰り返す一過性のものであり、加えたせん断速度が逆紐状ミセルの再接合にかかる時間よりも遅い場合、網目構造が見かけ上壊れないためにニュートン流動を示す。一方、高せん断速度側では、加えたせん断速度が逆紐状ミセルの再接合にかかる時間よりも早く、網目構造の再接合が間に合わないため構造が壊れて粘度は減少する。

以上の結果から、各種カルボン酸を極性物質に用いた系においても、レシチン逆紐状ミセルに特徴的な流動特性を示すことが明らかとなった。

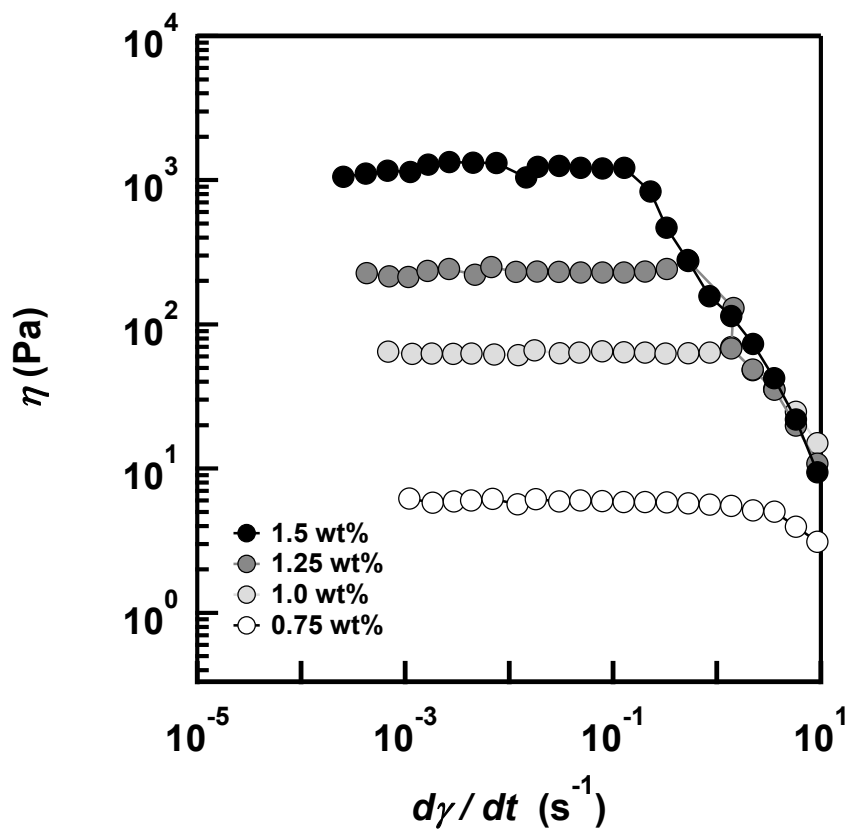


Fig. 6 Steady shear rate-viscosity (η) curves for citric acid/lecithin/*n*-decane system at various concentrations of citric acid (25°C). Lecithin concentration was fixed at 10 wt%.

3. 各種カルボン酸／レシチン／*n*-デカン系のゼロシア－粘度の検討

いずれのカルボン酸を用いた系においても、逆紐状ミセルに特徴的な流動特性を示した。次に、逆紐状ミセルのゼロシア－粘度 η_0 に及ぼす各種カルボン酸の影響について検討を行った。ゼロシア－粘度は、定常流粘度測定により得られた粘度をせん断速度 0 s^{-1} に外挿した値である。

Figure 7 に、ヒドロキシトリカルボン酸のクエン酸、ヒドロキシジカルボン酸のリンゴ酸、ヒドロキシモノカルボン酸のグリコール酸といった価数の異なる3つのヒドロキシカルボン酸をそれぞれ極性物質として用いた系のゼロシア－粘度と極性物質濃度との関係を示す。いずれの極性物質を用いた系においても、極性物質濃度の増加に伴ってゼロシア－粘度が増大した。これは、極性物質の濃度が増加するに従い、レシチン逆紐状ミセルの長さや量が増加するためであると考えられる。これらの極性物質を用いて作成した逆紐状ミセルのゼロシア－粘度を比較した結果、ヒドロキシトリカルボン酸であるクエン酸は最も効果的に粘度を上げることができる極性物質であり、ヒドロキシモノカルボン酸であるグリコール酸が最も効果が小さいことが示された。このことから、分子中のカルボキシ基の数がレシチン逆紐状ミセルの粘度に影響を及ぼすことが示唆された。

Table 3 は、ゲル化スクリーニングでゲル状と判断されたカルボン酸について、レシチン濃度 10 wt% に固定したときの最大ゼロシア－粘度を示す。*p*-クマル酸を除くすべてのカルボン酸を用いた系で、代表的な極性物質である D-リボースや水を用いた場合と比べてはるかに大きいゼロシア－粘度を示した。一般にカルボキシ基は、-OH 基と比較して強い水素結合を形成するとされている。この結合の強さが、カルボン酸を極性物質に用いた系が高いゼロシア－粘度を示す一因であると考えられた。このことから、カルボン酸は、高粘弾性を持つ逆紐状ミセルを形成するための極めて優れた極性物質であるということが明らかになった。

極性物質濃度と逆紐状ミセルの長さとの関係については、SAXS 測定の結果を用いて、より詳細に検討した。Figure 8 (a) には、一例としてクエン酸／レシチン／*n*-デカン系を用い、クエン酸濃度の異なる試料の SAXS スペクトルを示す。なお、先の検討と同様、相互作用を排除するために *n*-デカンで 5 倍に希釈し、レシチン濃度は 2 wt% に固定した。そこで、中角領域のプロットの傾きから、クエン酸濃度と逆紐状ミセルの長さの関係を検討した。クエン酸濃度の増加に伴い、小角側の端領域の勾配が急になった。このことから、クエン酸濃度によって逆紐状ミセルの全長、持続長、屈曲性が変化することが示唆された。逆紐状ミセルの長さは、Guinier 領域における直線領域の範囲と関連付けられており、直線領域がより小角側まで認められるものほど長い。したがって、クエン酸濃度の高いものほど逆紐状ミセルの全長が長いということになり、ゼロシア粘度の上昇とよく一致した^{21,24)}。

SAXS 測定の結果を用いて逆紐状ミセルの断面半径に関する検討を行った。Figure 8 (b) には一例としてクエン酸／レシチン／*n*-デカン系の Cross-section プロットを示す。直線の傾きから断面の回転半径 R_c が求まり、(8) 式を使用することで断面半径 (r) が得られる²¹⁾。

$$\ln qI(q) = \ln qI(0) - \frac{R_c^2}{2} q^2 \quad (7)$$

$$r = \sqrt{2}R_c \quad (8)$$

式 (7) および式 (8) を用いて算出した断面半径 r とクエン酸濃度との関係を Figure 9 に示す。クエン酸濃度が増加するのに伴い、逆紐状ミセルの断面半径がわずかに増大した。このことから、クエン酸濃度が増加すると、逆紐状ミセルの長さだけでなく断面半径もわずかに増大するということが示された。これ

は、極性物質がレシチンの親水基間に入り込むことによって界面曲率が減少し、*CPP* が 2 に近づくため逆紐状ミセルの断面半径が増加したものと考えた。

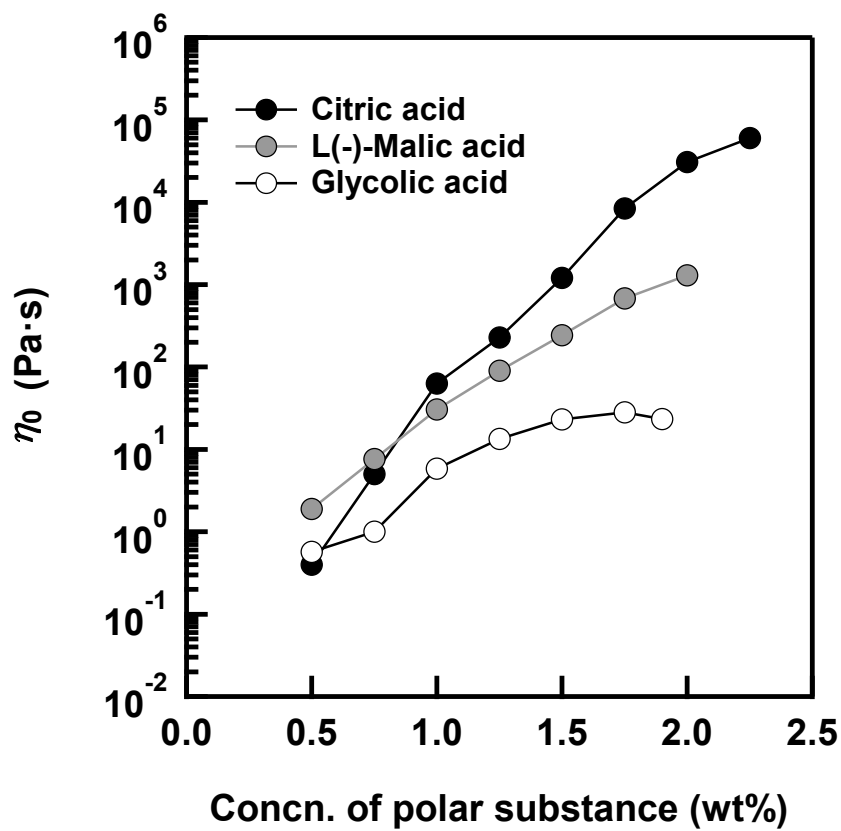


Fig. 7 Zero-shear viscosity (η_0) of carboxylic acid/lecithin/*n*-decane systems as a function of carboxylic acid concentration at 25°C. Lecithin concentration was fixed at 10 wt%.

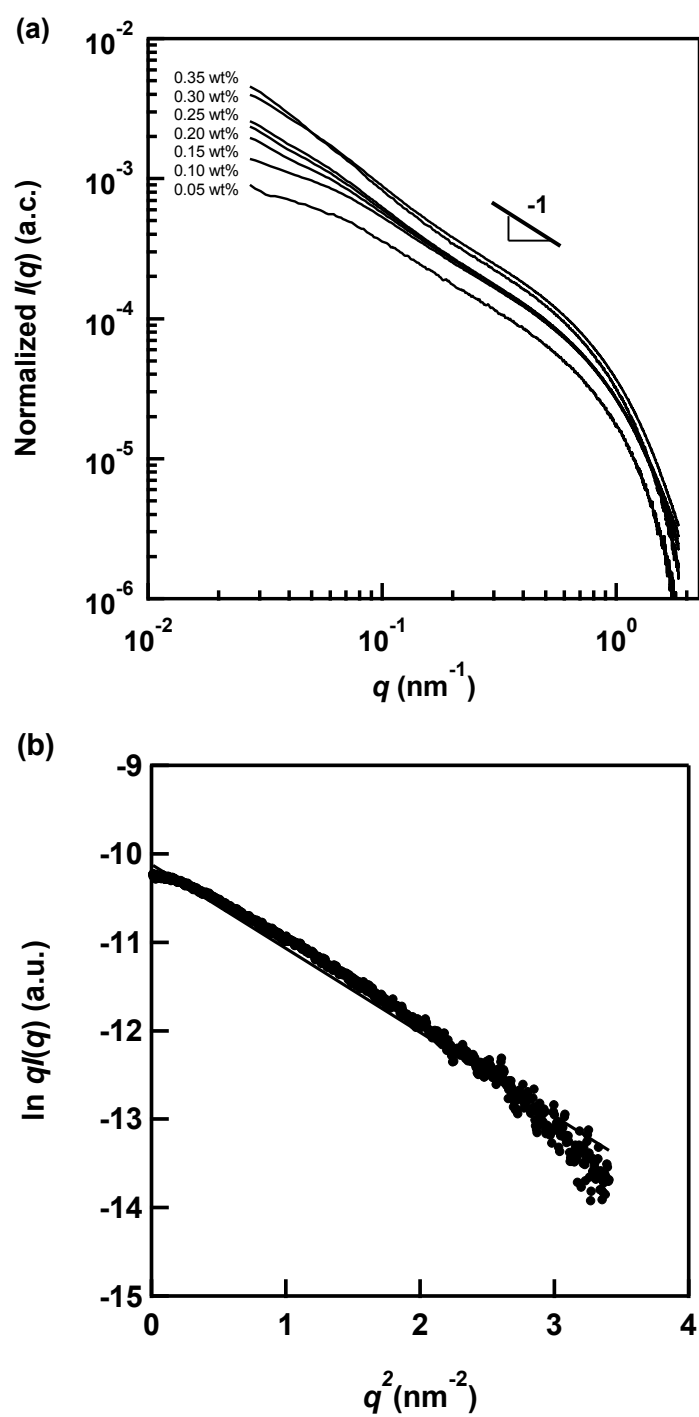


Fig. 8 (a) SAXS scattering intensity [$I(q)$] as a function of the scattering vector (q) for citric acid/lecithin/ n -decane systems at various concentration of citric acid (25°C). (b) Cross-section plot of the SAXS profile of citric acid/lecithin/ n -decane [0.35:2.0:97.65 (wt%)] system. The fitting result based on Eq. 8 is shown by solid line.

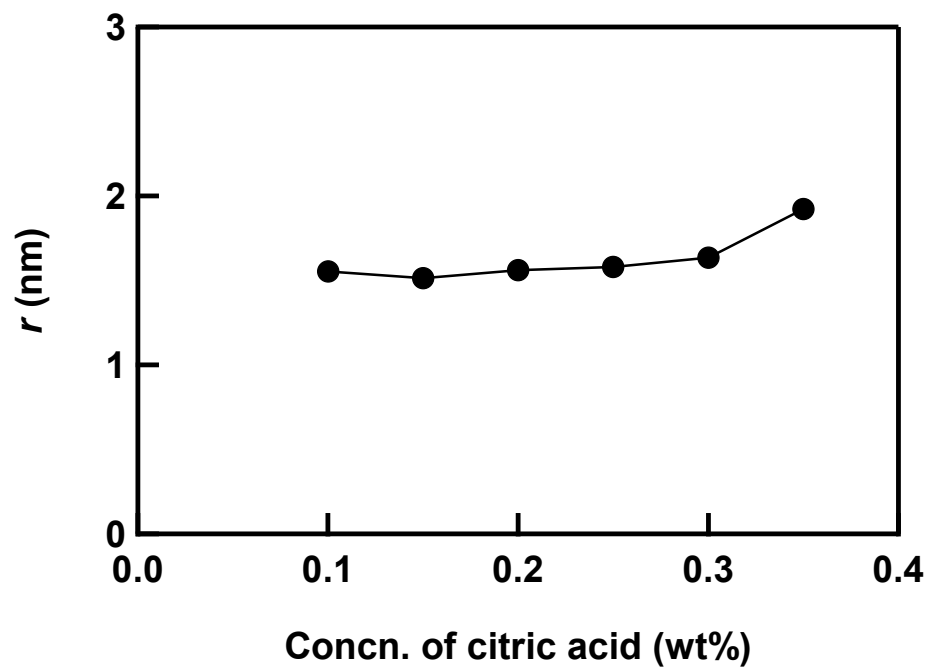


Fig. 9 Relation between the section radius (r) and citric acid concentration in citric acid/lecithin/ n -decane systems (25°C). Lecithin concentration was fixed at 2 wt%.

Table 3 Maximum zero-shear viscosity of various reverse wormlike micelles using carboxylic acid. Lecithin concentration was fixed at 10 wt%.

Polar substance	Zero-shear viscosity (Pa·s)
<i>trans</i> -Aconitic acid	5151
1,2,3-Propanetricarboxylic acid	5088
1,3,5-Trimesic acid	37620
<i>p</i> -Coumaric acid	531
3,4-Dihydroxybenzoic acid	3291
Tartaric acid	49210
L(-)-Malic acid	1360
Citric acid	60100
D-ribose	1234
water	634

4. 各種カルボン酸／レシチン／*n*-デカン系の動的粘弾性挙動

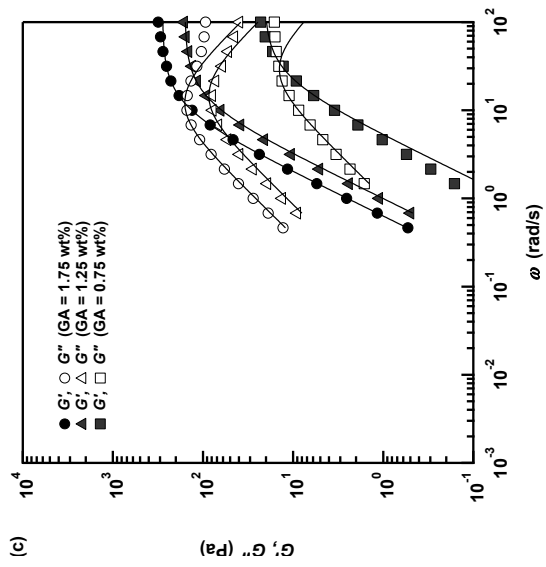
レシチン逆紐状ミセルのゼロシアール粘度は、使用するカルボン酸の種類によって異なることが明らかになった。そこで、レシチン逆紐状ミセルのレオロジー挙動をより詳細に検討するために、動的粘弾性測定を行った。動的粘弾性測定とは、試料に周期的に振動するひずみを与え、それによって発生する応力の測定から、試料の粘弾性挙動を調べる方法である。この測定では、弾性は貯蔵弾性率 (G')、粘性は損失弾性率 (G'') として与えられる。

Figure 10 には極性物質として (a) クエン酸、(b) リンゴ酸および (c) グリコール酸を用いて調製したレシチン逆紐状ミセル系の動的粘弾性測定の結果を示す。いずれの系においても、 G' と G'' はある周波数で交点を示し、交点よりも低周波数側では粘性成分である G'' が優位で、交点よりも高周波数側では弾性成分である G' が優位であった。また、この系で形成される逆紐状ミセルが単一な緩和時間を持つ Maxwell モデルに従うと仮定し、(2)、(3) 式に基づくフィッティングを行ったところ、低周波数側では G' と G'' のいずれの実験結果においても良くフィットしたのに対し、高周波数側ではフィットしなかった。これは、この系で形成される逆紐状ミセルの緩和モードが厳密には単一な Maxwell モデルに当てはまらないことを意味しており、逆紐状ミセルの可逆的な切断・再接合以外に、より早い緩和モードが含まれていることを表している。この早い緩和モードは、逆紐状ミセル自身のミクロブラウン運動、すなわちラウスモードに関係していると考えられる²⁵⁾。

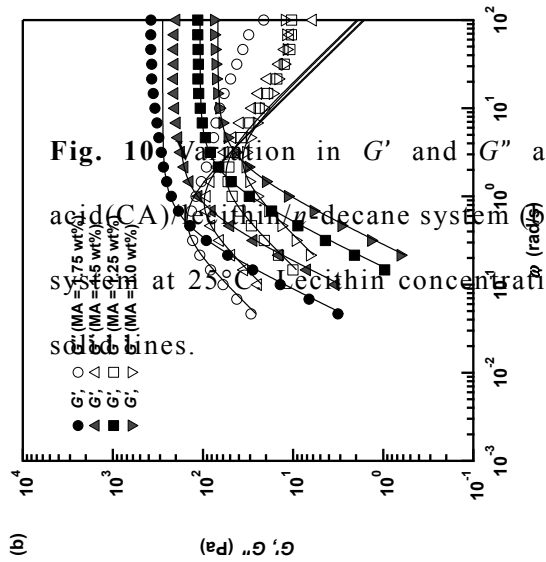
また、いずれのカルボン酸を極性物質に用いた系においても、極性物質の濃度が上昇するのに伴い、粘弾性スペクトルが左上にシフトしている様子が確認された。Figure 11 には、(2)、(3) 式に基づくフィッティングより求めた、クエン酸およびグリコール酸の濃度と G_0 および τ との関係を示す。逆紐状ミセルの量を反映する G_0 は、いずれの極性物質を用いた系においても、極性物質の濃度が増加するのに伴い増大した。これは、極性物質の添加量が増えるに従って、絡み合うことのできる逆紐状ミセルの量が増加することを意味する。一方、逆

紐状ミセルの長さを反映する τ は、クエン酸を極性物質に用いた系では、クエン酸濃度の増加に伴い 200 秒まで上昇したが、グリコール酸を極性物質に用いた系では、緩和時間は 0.1 秒程度で一定になった。逆紐状ミセルの切断・再接合は水素結合の組み替えによって起こるため、極性物質のカルボキシ基の数が多いと、この水素結合の組み替えが起こりにくくなり、緩和時間が長くなることが示された。

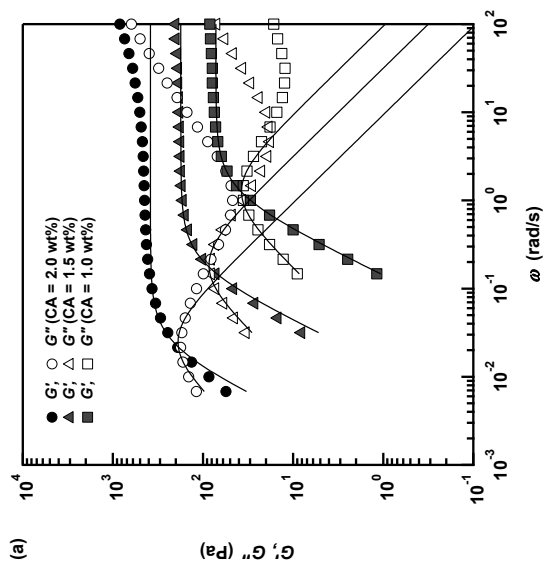
以上の結果から、分子中の -OH 基の数が多いカルボン酸の方が、-OH 基の数が少ないカルボン酸と比較して、より高いゼロシアー粘度をもつ逆紐状ミセルを形成することができると考えられる。



(c) G', G'' (Pa)



(b) G', G'' (Pa)



(a) G', G'' (Pa)

Fig. 10 Variation in G' and G'' as a function of ω at different carboxylic acid concentrations in (a) citric acid (CA)/lecithin/*n*-decane system (b) malic acid (MA)/lecithin/*n*-decane system (c) Glycolic acid (GA)/lecithin/*n*-decane system at 25°C. Lecithin concentration was fixed at 10 wt%. Maxwellian fittings to the experimental data are shown as solid lines.

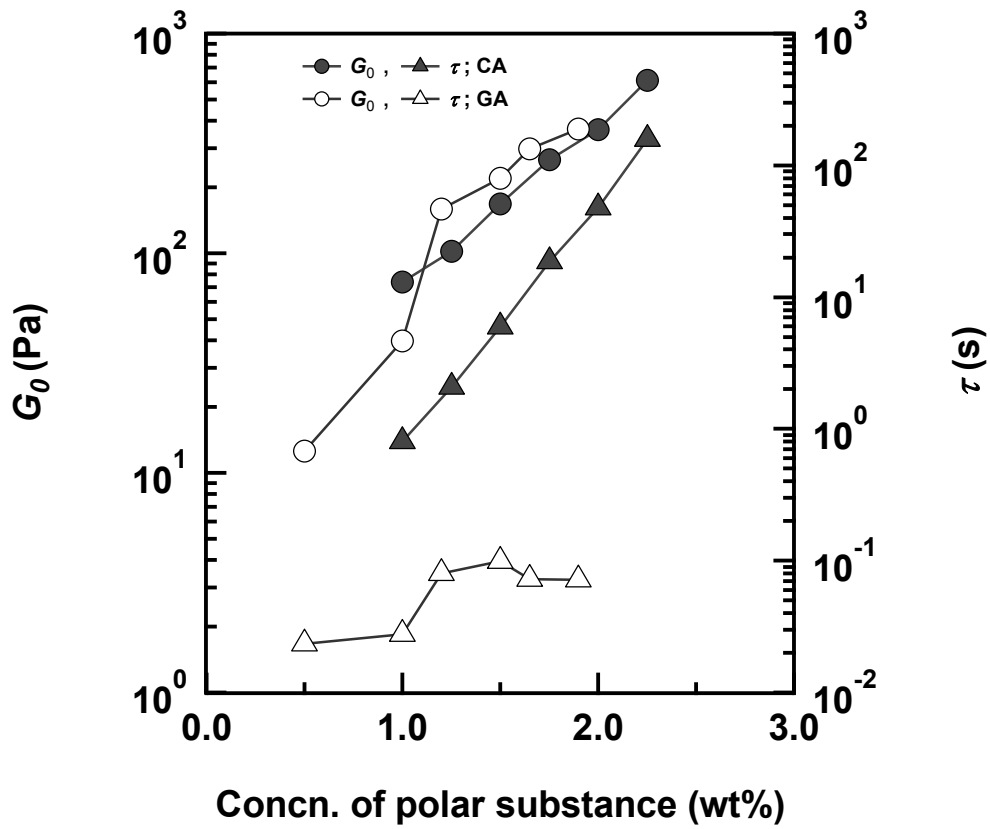


Fig. 11 Variations in G_0 and τ at different citric acid and glycolic acid concentrations in the carboxylic acid/lecithin/*n*-decane systems at 25°C.

第3節 レシチン逆紐状ミセルの形態に関する検討

1. スケーリング理論を用いた逆紐状ミセルの形態に関する検討

カルボン酸を極性物質に用いたレシチン逆紐状ミセルは、これまでに報告された逆紐状ミセル系と比較して優れたレオロジー特性をもつことが示された。レシチン逆紐状ミセルの形態（鎖状または分枝状）は、そのレオロジー挙動と密接に関連することが知られている。一般に、ミセル構造はクライオ電子顕微鏡法を用いて観察されるが、溶媒がオイルである場合は瞬間凍結が難しく、観察が困難である。そこで本検討では、レシチン逆紐状ミセルの形態を、各種レオロジーパラメータのスケール理論を用いて検討した。スケール理論を用いた検討では、逆紐状ミセルの形態の可視化はできないものの、レオロジーパラメータを測定・算出することで逆紐状ミセルの形態を間接的に知ることができる^{18,20)}。

一般に、鎖状または分枝状の紐状ミセルでは、各種レオロジーパラメータ (G_0 、 η_0 、 τ) は、紐状ミセルの体積分率 ϕ に対して、スケール理論が成立することが知られており、各モデルにおけるべき指数が導出されている^{18,20,26-30)}。鎖状ミセル (linear micelle) は、ポリマー様のフレキシブルな直鎖状のミセルであり、分枝状ミセル (branched micelle) は、鎖状ミセル同士が融合することにより形成される (Fig. 12)。

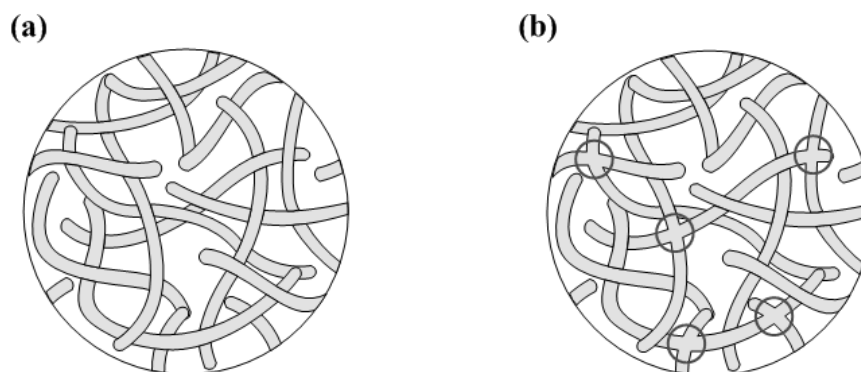


Fig. 12 The model of linear micelle and branched micelle. (a) Linear micelle model
(b) Branched micelle model

逆紐状ミセルが鎖状の場合、 G_0 、 η_0 、 τ の3つのレオロジーパラメータは逆紐状ミセルの体積分率 ϕ に対して以下のような関係が成立する。

$$G_0 \sim \phi^{2.25}; \eta_0 \sim \phi^{3.4}; \tau \sim \phi^{1.25} \quad (9)$$

一方、逆紐状ミセルが分枝状の場合、以下のような関係が成立する。

$$G_0 \sim \phi^{2.25}; \eta_0 \sim \phi^{2.5}; \tau \sim \phi^{0.25} \quad (10)$$

これらを比較すると、 η_0 および τ と逆紐状ミセルの体積分率の関係を表すべき指数が異なることがわかる。

本検討では、ヒドロキシカルボン酸としてクエン酸 (CA) を、カルボン酸として1,2,3-プロパントリカルボン酸 (PtcA) を極性物質として用いた。CA とレシチン、PtcA とレシチンの質量比をそれぞれ一定とし、逆紐状ミセルの体積分率 ϕ を変化させ、各種レオロジーパラメータと ϕ の関係を調べた。ここで、CA とレシチンとの質量比は CA : レシチン = 0.1 : 1、0.13 : 1 および 0.175 : 1 とし、これは CA / レシチン / *n*-デカン系の3成分状態図 (Fig. 13 (a)) の line A、B、C にそれぞれ対応する。PtcA とレシチンとの質量比は PtcA : レシチン = 0.1 : 1、0.125 : 1 および 0.18 : 1 とし、これは PtcA / レシチン / *n*-デカン系の3成分状態図 (Fig. 13 (b)) の line A'、B' および C' にそれぞれ対応する。逆紐状ミセルの体積分率 ϕ は、試料全体に対するレシチンの体積分率とみなした。なお、測定は相図中の実線で示した範囲で行った。

Figure 14 および Figure 15 は、それぞれ CA および PtcA を極性物質に用いた系の各種レオロジーパラメータとレシチンの体積分率の関係を示す。また、Table 4 には各モデルにおけるべき指数の理論値と解析結果をあわせて示す。line A、line B および line B' におけるべき指数は、鎖状ミセルの理論値と良く一致した。これは、この領域で形成される逆ミセルは鎖状であることを示している。また、line C および line C' におけるべき指数は、分枝状ミセルの理論値と

良く一致した。しかしながら、line A'におけるべき指数は、いずれのモデルの理論値よりも大きな値を示した。理論値よりも大きなべき指数は、胆汁酸塩／レシチン／オイル系でも報告されている⁶⁾。この不一致の原因は、極性物質の濃度が低い場合、溶液中には絡み合いに関与しない逆ミセルと絡み合いに関与する逆紐状ミセルが共存しているため、レシチンの体積分率 ϕ が実際に絡み合いに関与する逆紐状ミセルの体積分率と一致しないことから起こると考えられている。

以上の結果より、レシチンからなる逆球状ミセルは、カルボン酸の濃度の増加に伴い、鎖状の逆紐状ミセルを経て、分枝した逆紐状ミセルへと構造転移することが明らかとなった。

一般に、水／レシチン／オイルからなる逆紐状ミセルは、ゼロシア－粘度が水の濃度に対して極大値を持つことが知られている³¹⁾。これは、鎖状の逆紐状ミセルが、分枝状の逆紐状ミセルに転移するためと考えられている。すなわち、分枝状の逆紐状ミセルにおける分岐点は絶えず移動しており、切断・再接合という緩和モードよりも速く応力を緩和することができる。その結果、緩和時間が短くなり粘度が低下する²⁰⁾。CAおよびPtcAを極性物質として用いた系では、lineC および lineC'の領域において分枝状の逆紐状ミセルを形成しているにもかかわらず、ゼロシア－粘度が減少しなかった。これらの系では、分枝状ミセルにおける分岐点の移動が起こりにくいため、粘度の低下がみられなかったものと考えられる。

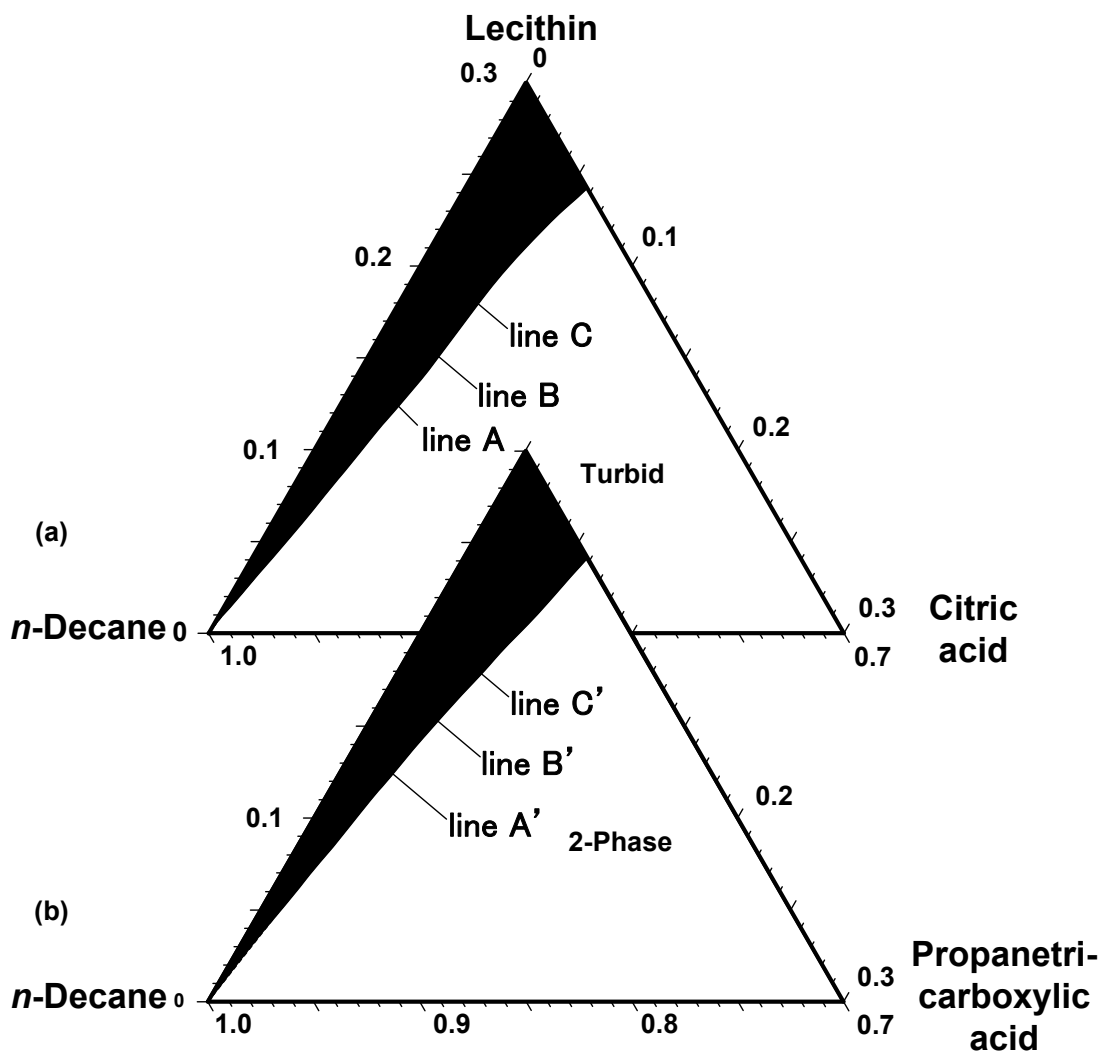


Fig. 13 Phase diagrams of (a) citric acid/lecithin/*n*-decane system and (b) propanetricarboxylic acid/lecithin/*n*-decane system and line A-C and line A'-C'.

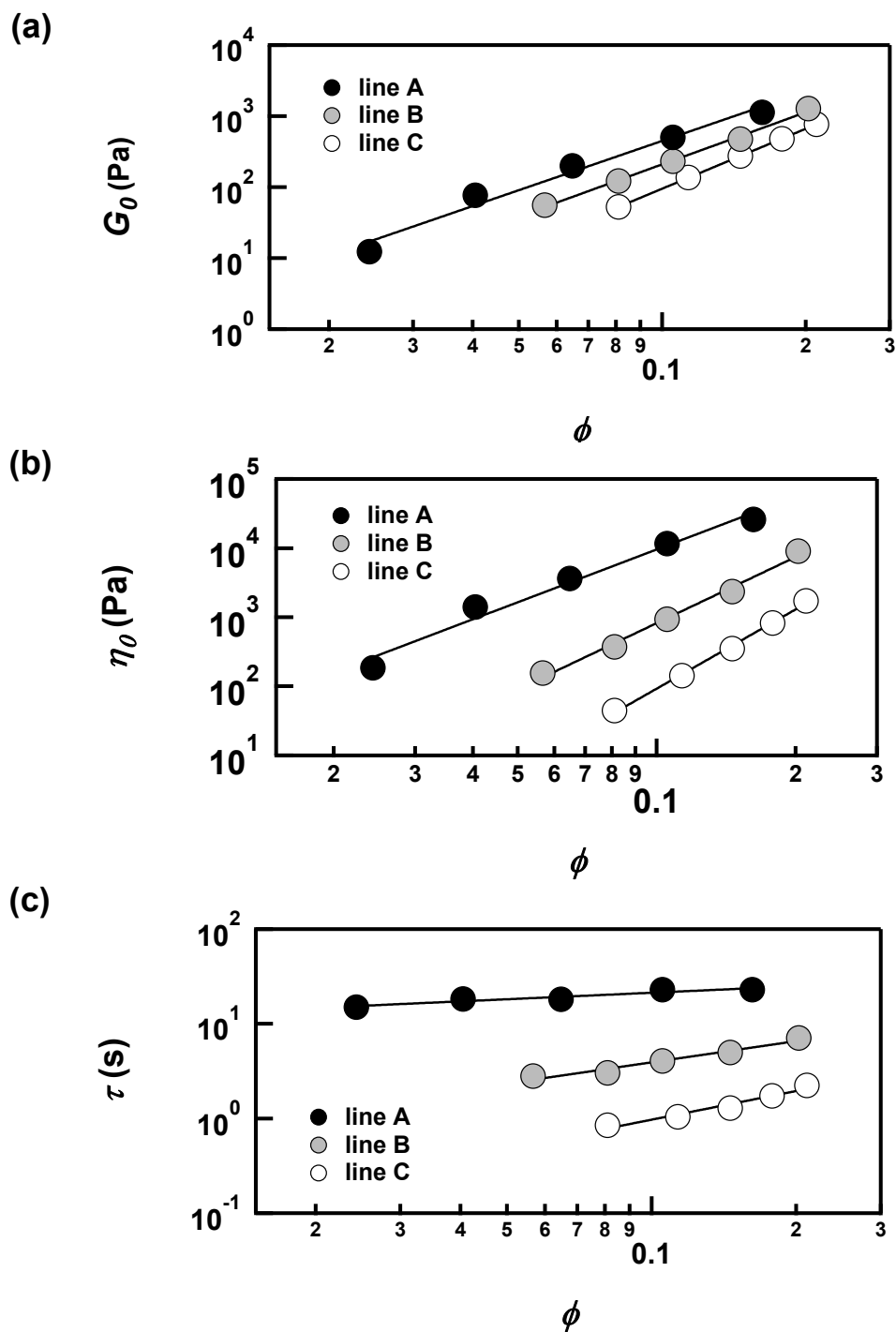


Fig. 14 (a) Plateau modulus (b) zero-shear viscosity (c) terminal relaxation time of CA/lecithin/*n*-decane systems as a function of lecithin volume fraction (ϕ) at three different weight ratios (lecithin : CA). The straight lines were determined by the experimental points using the least-squares method.

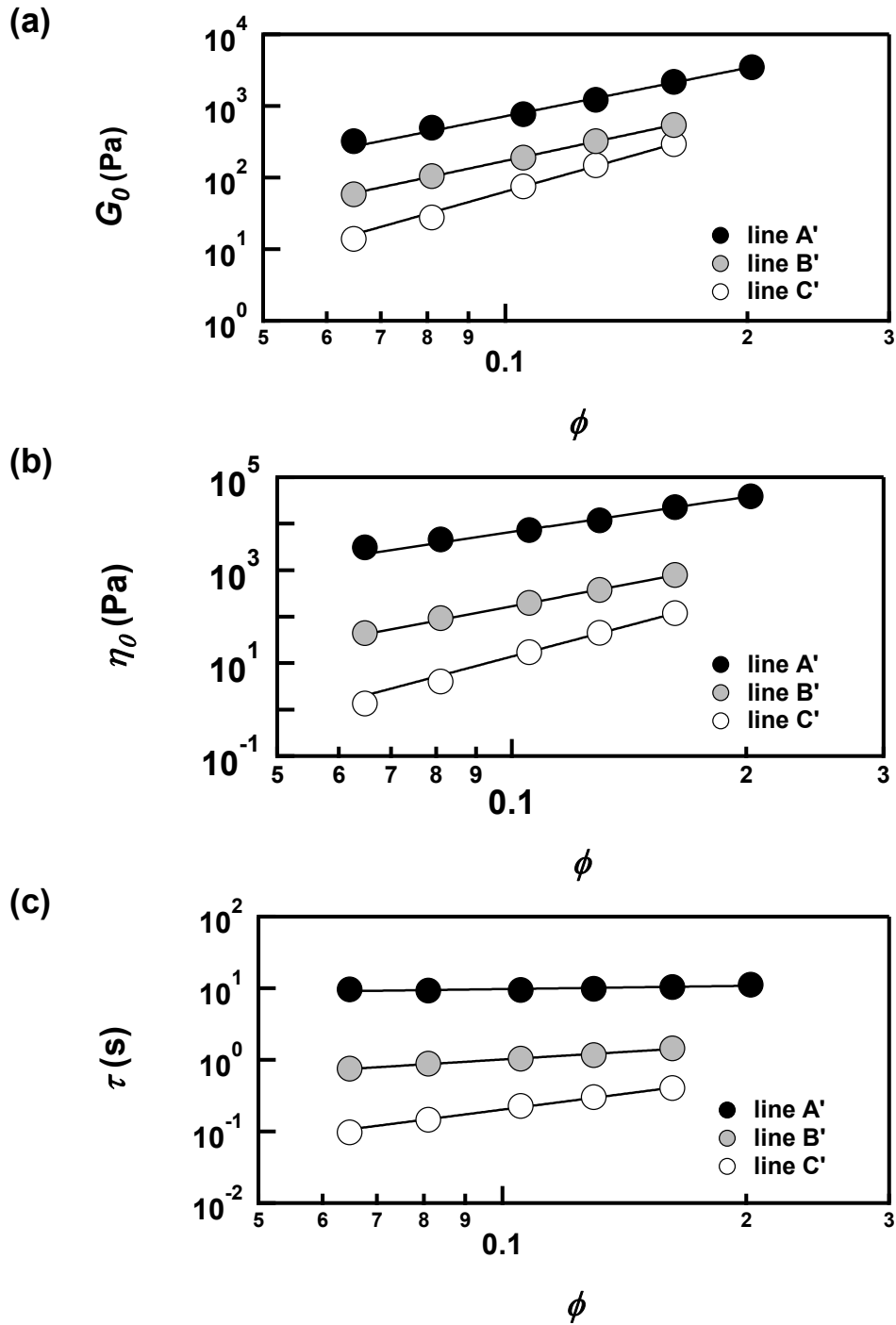


Fig. 15 (a) Plateau modulus, (b) zero shear viscosity, (c) terminal relaxation time of PtcA/lecithin/*n*-decane systems as a function of lecithin volume fraction (ϕ) at three different weight ratios (lecithin : PtcA). The straight lines are determined by the experimental points using the least-squares method.

Table 4 Values of the exponents in the scaling laws.

Model/experiment	G_0	η_0	τ	Refs.
Theoretical values				
Linear micelles	2.25	3.5	1.25	[20]
Branched micelles	2.25	2.5	0.25	[20]
Experimental values				
Lecithin : CA				
1 : 0.1 (line A)	2.80 ± 0.01	3.81 ± 0.12	1.01 ± 0.12	
1 : 0.13 (line B)	2.44 ± 0.09	3.18 ± 0.17	0.75 ± 0.09	
1 : 0.175 (line C)	2.31 ± 0.20	2.54 ± 0.22	0.23 ± 0.04	
Lecithin : PtcA				
1 : 0.1 (line A')	3.39 ± 0.08	4.94 ± 0.12	1.56 ± 0.07	
1 : 0.125 (line B')	2.43 ± 0.03	3.11 ± 0.04	0.68 ± 0.04	
1 : 0.18 (line C')	2.04 ± 0.10	2.13 ± 0.15	0.09 ± 0.05	

第 4 節 小括

高粘弾性をもつ新規なレシチン逆紐状ミセルの発見を目的とし、極性基にカルボキシ基をもつ種々のカルボン酸のオイルゲル化能を明らかにしたのち、そのレオロジー挙動について検討した。

はじめに、25 種類のカルボン酸およびヒドロキシカルボン酸を対象として、スクリーニングを行ったところ、8 種類のカルボン酸でオイルがゲル状化した。このことから、逆紐状ミセルの形成を引き起こすためには、カルボン酸では 3 個、ヒドロキシカルボン酸では 1~3 個のカルボキシ基を有する必要があることが明らかになった。レオロジー挙動を検討したところ、カルボキシ基の数が多しカルボン酸では、オイルの粘度を上昇させる効果が強く、これまでに報告されている代表的な極性物質（水や D-リボース）と比較してはるかに高い粘度をもつオイルを形成した。

また、スケーリング理論を用いて逆紐状ミセルの形態について検討を行った。その結果、クエン酸およびプロパントリカルボン酸を極性物質に用いた系では、極性物質濃度が高い領域で分枝状逆紐状ミセルを形成しているが、水を極性物質に用いた系で言われているような、分枝状への構造転移による粘度の低下が生じないことを明らかにした。

以上の結果から、カルボキシ基はレシチン逆紐状ミセルを形成するための極めて有効な極性基であり、これを用いて調製したレシチン逆紐状ミセル系はこれまで報告されている系と比較して優れたレオロジー特性をもつことを明らかにした。

第 2 章 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

近年、患者の QOL 向上を目指した剤形の多様化が進められている。中でも皮膚適用製剤は、使用の簡便さに加え、経口投与と比べて肝初回通過効果を受けないことや、容易に製剤を適用または除去できることから特に注目度が高く、様々な製剤の開発が行われている³²⁾。そこで、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について検討を行った。

レシチン逆紐状ミセルは、ミセル構造に起因する高い可溶化能を有する。したがって、難溶性薬物をオイルに可溶化することができる¹²⁾。レシチンのもつ経皮吸収促進作用は水を極性物質として用いたレシチン逆紐状ミセル系や促進剤としてレシチンを溶解させた系を用いた基剤で報告されており³³⁻³⁵⁾、またレシチンは高い生体親和性をもつので、レシチン逆紐状ミセルは皮膚刺激の少ない製剤となりうる³⁶⁾。これらのメリットにもかかわらず、皮膚適用製剤としてのレシチン逆紐状ミセル製剤に関する報告はまだ少ない¹²⁾。

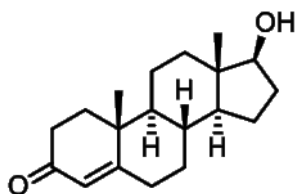
レシチン逆紐状ミセルに薬物を添加した系に関する最初の検討は、プロキサテロールおよびスコポラミンを用いたもので、1991年に Willimann らによって報告された³⁷⁾。その後、いくつかの薬物を添加したレシチン逆紐状ミセル系について *in vitro* での皮膚透過実験の結果が報告されているが、いずれも水を極性物質として用いたレシチン逆紐状ミセルを基剤に使用している^{12,37-40)}。これらの論文では、レシチン逆紐状ミセル製剤において薬物の皮膚透過促進作用がみられることを報告されており、いくつかの論文ではこれをレシチンの皮膚透過促進作用によるものと示唆している。しかし、水以外の極性物質を用いた系での検討はこれまで行われておらず、この薬物皮膚透過促進作用が水を用いた系に特異なものであるのかは明らかでない。

そこで本研究では、はじめに皮膚適用製剤に適したオイルであるミリスチン酸イソプロピル (IPM) を増粘・ゲル状化する極性物質の探索を行った。次に、

レシチン逆紐状ミセル製剤については、レオロジー特性などの物理化学的性質を詳細に検討した。

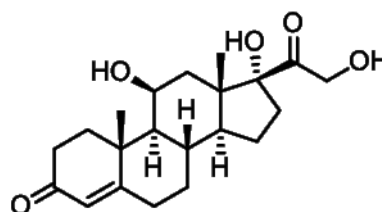
レシチン逆紐状ミセル製剤の薬物皮膚透過性についてテストステロン (TES) およびヒドロコルチゾン (HC) をモデル薬物として用い検討した。Figure 16 にそれぞれの分子構造および分子量等を示す。TES や HC は、ステロイドホルモンであり、TES は少量を持続的に投与できる製剤設計の開発が求められる。HC は局所作用を期待するものであり、貼付剤としての使用が望ましい。また、これらのステロイドホルモンは基剤への溶解性が低いため、レシチン逆紐状ミセル基剤の可溶化能を十分生かすことのできる薬物でもある。これらの実験から、レシチン逆紐状ミセルの皮膚適用製剤としての特性および可能性を検討した。

Testosterone



molecular weight	288.24
molecular formula	C₁₉H₂₈O₂
Log <i>P</i>	3.32
melting point	152~156°C

Hydrocortisone



molecular weight	362.46
molecular formula	C₂₁H₃₀O₅
Log <i>P</i>	1.61
melting point	211~214°C

Fig. 16 Chemical structures and physicochemical properties of TES and HC.

第 1 節 皮膚適用製剤化の検討

レシチン逆紐状ミセルは、熱力学的に平衡な系である。したがって、極性物質／レシチン／オイルの 3 成分系と、薬物を添加した 4 成分系では、必然的に物理化学的性質が異なる。本節では、まず IPM をオイルとして用いた場合の増粘・ゲル化作用について検討し、適切な極性物質を探索した。TES と HC の 2 種類のステロイドを用い、ステロイドの添加がレシチン逆紐状ミセルに及ぼす影響およびステロイドを添加したレシチン逆紐状ミセル製剤の物理化学的性質について検討した。

1. IPM の増粘・ゲル状化に関する検討

レシチン逆紐状ミセルは、様々なオイルを溶媒として形成される。一般に、極性の低いオイルほど逆紐状ミセルを形成しやすいとされており、基礎研究においては主にシクロヘキサンや *n*-デカンが用いられる。しかし、同じ極性物質を使用して調製しても、オイルが違えばその物理化学的性質が異なることが知られており、極性物質はオイルとの組み合わせとして検討する必要がある。

本研究では、IPM をオイルとして選択した⁴¹⁾。薬物の皮膚透過を促進する作用を持つエステル油の一種であり、医薬添加物として外用剤に用いることができる。しかし、IPM はシクロヘキサンや *n*-デカンに比べ、エステル部分に極性をもつためレシチン逆紐状ミセルは形成されにくいと予想された。IPM をオイルとして用いた系において、すぐれた増粘・ゲル化作用を示す逆紐状ミセルを作成するため、これまで報告された極性物質を用いてゲル化スクリーニングを行った。

ゲル化スクリーニングは、オイルに *n*-デカンを用いた場合には優れたゲル状化能を示した、尿素、D-リボース、アスコルビン酸、テトラグリセリン(4PGL)、クエン酸、プロパントリカルボン酸、リンゴ酸、酒石酸、アコニチン酸を対象として行った。なお、レシチン濃度は 10 wt% に固定し、判定基準は、バイアルを逆さまにして 10 秒間流れないものをゲル状とした。

まず、各種カルボン酸を用いて IPM のゲル化を試みた。クエン酸を極性物質として用いた系では、調製から数日で白濁したゲル状オイルとなった。このように白濁したゲル状オイルは安定性が悪く、粘度が低下したり離油をおこすため、薬物の基剤には不向きである。また、プロパントリカルボン酸、リンゴ酸、酒石酸、アコニチン酸のいずれを極性物質に使用した場合も、安定性に問題がみられた。このことから、第 1 章において良好なレシチン逆紐状ミセルを形成した極性物質であるカルボン酸は、極性のあるオイル中では逆紐状ミセルを作りにくいということが示された。これは、カルボキシ基がオイルの極性基となんらかの相互作用をすることが理由であると考えられる。

尿素およびアスコルビン酸を極性物質に用いた場合、IPM は増粘しなかった。Yurtov らは、水を極性物質に用いた系において、IPM やパルミチン酸イソプロピルのような脂肪酸エステルは極性を持つためレシチン逆紐状ミセルの溶媒として最適ではないとしている¹²⁾。本検討から、水以外の極性物質においても、IPM はレシチン逆紐状ミセルの溶媒となりにくいことが示された。

しかし、D-リボースおよび 4PGL を極性物質として用いた場合、IPM は透明なゲル状になった。そこで、D-リボース／レシチン／IPM 系および水／レシチン／IPM 系それぞれに TES を 1 wt% 添加した試料を作成した。いずれの系においても、TES の添加による粘度の低下がみられた。レシチンの濃度を 30 wt% にすることで粘度を増加させ、外観および内部構造を観察した。Figure 17 に、TES 含有レシチン逆紐状ミセルの外観写真を示す。いずれの試料も D-リボースを極性物質として用いており、レシチン濃度を 30 wt%、TES 濃度を 1 wt% に固定した。D-リボースの濃度を変えることにより、オイルの状態が変化した。D-リボースの濃度が極めて低いとき、試料の粘度は IPM そのものの粘度 (10 mPa·s) と大きく変わらない (Fig. 17 (a))。D-リボースの添加量を増加させるとオイルが増粘し (Fig. 17 (b))、更に増加させることでゲル状になった (Fig. 17 (c))。

続いて、小角 X 線散乱測定により内部構造を確認した。一例として、D-リボースを極性物質に用いた系の高粘弾性領域内の試料 (D-リボース／レシチン／

IPM/ TES = 6.18:30:62.82:1.0) を、レシチンによって形成される分子集合体同士の相互作用を排除するために IPM で 15 倍に希釈したもの (D-リボース : レシチン : IPM : TES = 0.41:2.0:97.52:0.067 wt%) の散乱強度 ($I(q)$) と散乱ベクトル (q) の関係を示す (Fig. 18 (a))。中角領域に現れる直線の傾きが -1 であることから、棒状の粒子すなわち逆紐状ミセルが存在することが示された。また、Cross-section プロットを Figure 18 (b) に示す。このプロットの傾きを用いて断面半径を得た。小角 X 線散乱測定による検討については、先に第 1 章第 2 節で詳しく述べた。これらの検討から、溶液内には逆紐状ミセルが存在し、またその断面半径は 1.9 nm であることが示された。

以上のスクリーニング結果から、D-リボースおよび 4PGL を極性物質として用いたとき、IPM は増粘・ゲル状化することが明らかになった。そこで、皮膚適用製剤としての検討は、極性物質として D-リボースおよび 4PGL を用いて行うこととした。また、先行研究との比較を行うため、水を極性物質に用いた系についても検討を行った。

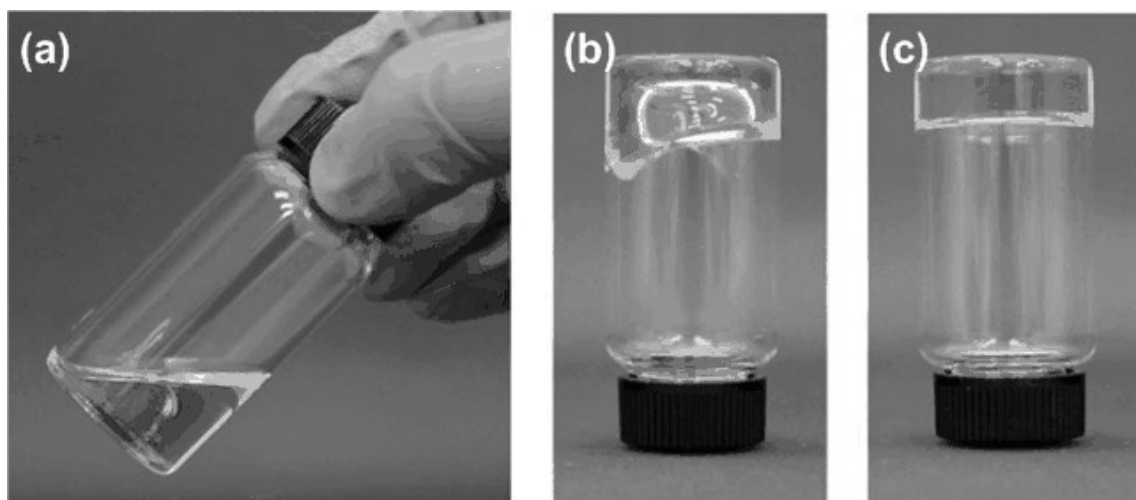


Fig. 17 Photographs of D-ribose/lecithin/IPM/TES = (a) 3.75:30.0:65.25:1.0 (wt%); (b) 4.85:30.0:64.15:1.0 (wt%); (c) 6.18:30.0:62.82:1.0 (wt%) at 25°C.

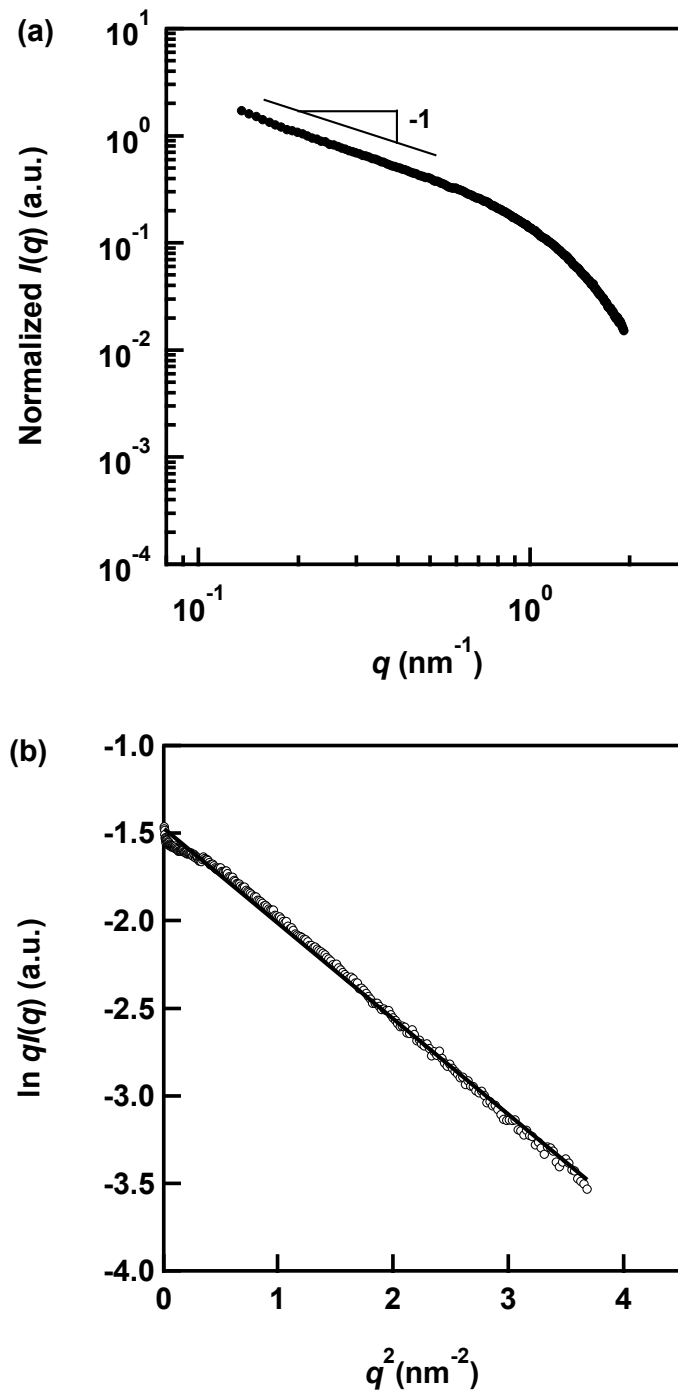


Fig. 18 (a) SAXS intensity [$I(q)$] as a function of the scattering vector (q) (b) Cross-sectional plot of the SAXS profile for the D-ribose/lecithin/IPM/TES (0.41:2.0:97.52:0.067 [wt%]) system.

2. 極性物質／レシチン／IPM の 3 成分系状態図

レシチン逆紐状ミセルでは、構成成分の質量比により相状態が決定する。したがって、系の状態を論じるには状態図の作成が必須となる。Figure 19 に極性物質／レシチン／IPM の 3 成分系状態図を示す。極性物質として水、D-リボース、4PGL をそれぞれ使用した。相状態の判定は偏光板を用いた目視観察および SAXS 測定により行った。状態図中の逆ミセル形成領域 (Om 領域) をグレーで示した。なお、薄いグレーで示した領域はゾル状態と増粘状態を表し、濃いグレーで示した領域は高粘弾性領域を表す。本検討では、ゼロシアール粘度が 100 Pa·s 以上の逆紐状ミセルが生成する領域を高粘弾性領域とした。Om 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る。Om 領域は、4PGL を用いた系で最も広く、水を用いた系で最も狭かった。Om 領域の広さについては、極性物質の極性が影響すると考えられている¹¹⁾。極性の高い極性物質は、レシチンが形成する逆ミセルのミセルコア付近に溶解する。一方、極性の低い極性物質は、親水部と疎水部の界面近傍、すなわちパリセード層に可溶化される。可溶化容量は、ミセルコアよりもパリセード層の方が大きいいため、極性の低い極性物質の方がより多く逆ミセル中に溶け込むことができる⁴²⁾。そこで、有機概念図を用いて水、D-リボース、4PGL の極性を調べた^{43,44)}。有機概念図法では化合物の物理化学的性質について、Van der Waals 力による物性を有機性 (OV : Organic Value)、電子親和力による物性を無機性 (IV : Inorganic Value) としている。各極性物質の有機性と無機性を有機概念図から算出し、無機性を Y 軸に、有機性を X 軸にとり、その傾き α を比較した (Fig. 20)。 α の値が大きいものほど、極性が高い。その結果、各極性物質の極性は水 (90°) > D-リボース (78°) > 4PGL (70°) の順であった。このように、極性物質の極性の大きさと Om 領域の広さに相関がみられたことから、極性物質の極性が Om 領域の広さに大きく影響していることが示唆された。また、高粘弾性領域は、D-リボースを用いた系で最も広く、水を用いた系で最も狭くなった。この傾向は、オイルに *n*-デカンを用いた 3 成分系においても同様である^{9,11,23)}。

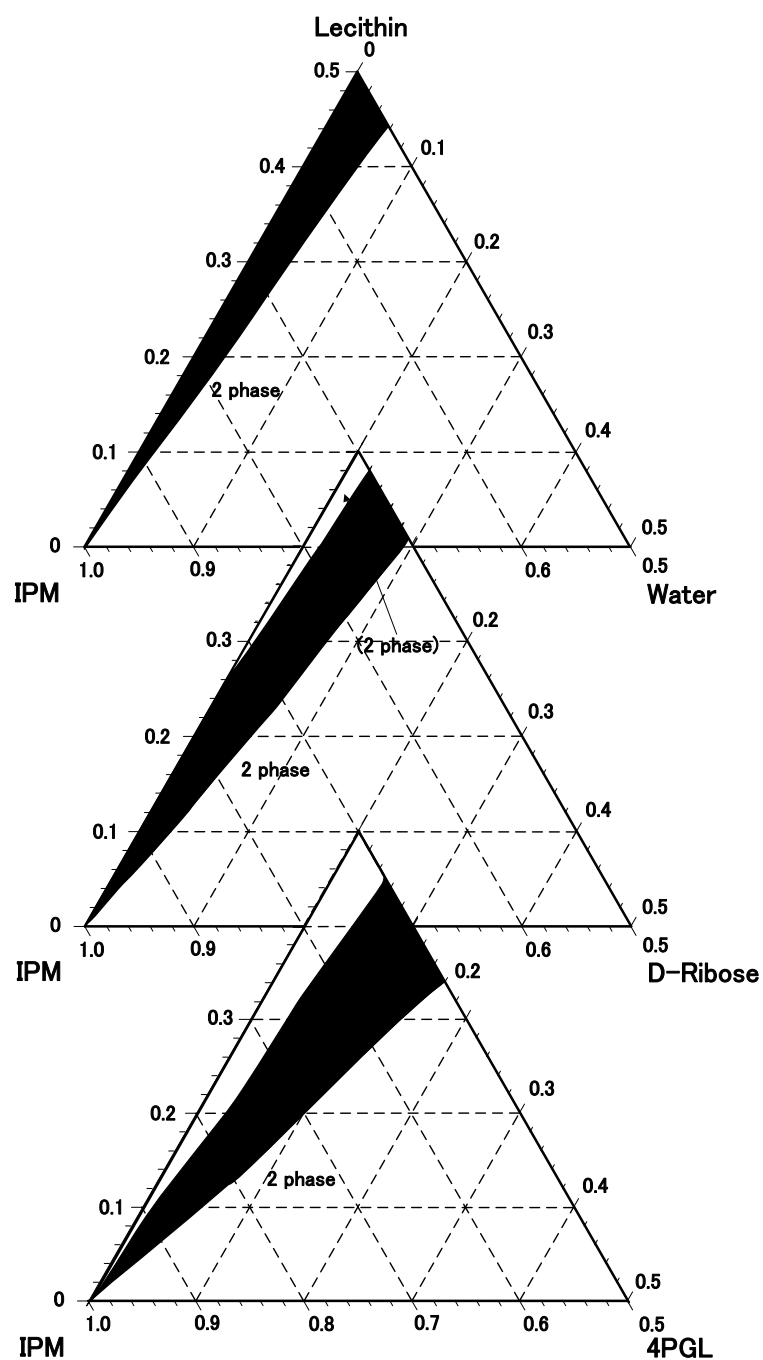


Fig. 19 Partial phase diagrams of polar substance/lecithin/IPM/systems in the dilute region at 25°C. The notation 'Om' indicated the reverse micellar phase region (gray). The highly viscoelastic region within the Om phase is shown by dark gray. The polar substances were water (upper), D-ribose (middle), and 4PGL (bottom).

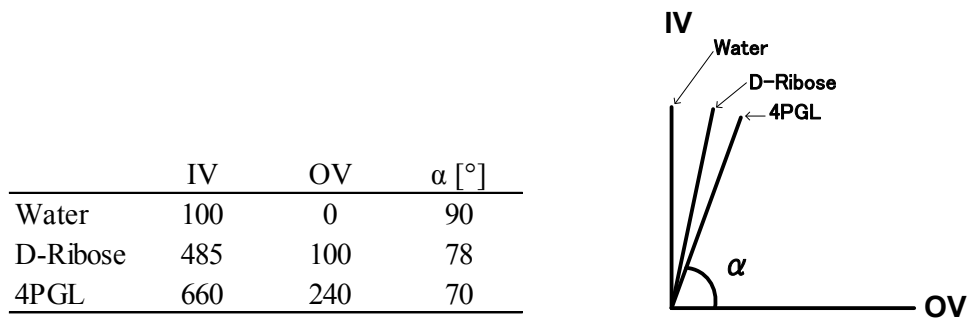


Fig. 20 The value of IV and OV calculated using organic conceptual diagram.

3. 極性物質／レシチン／IPM／TES の 4 成分系状態図

レシチン逆紐状ミセルは、熱力学的に平衡な系であるから、極性物質／レシチン／オイルの 3 成分系と、薬物を添加した 4 成分系では、Om 領域および高粘弾性領域が異なる。そこで、1 wt%濃度の TES を添加した系の状態図を作成し、TES 添加が逆紐状ミセルの形成に及ぼす影響を検討した。

Figure 21 に極性物質／レシチン／IPM／TES の 4 成分系状態図を示す。いずれの極性物質を用いた系においても、Om 領域が認められた。TES の IPM への溶解度は 29 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 程度であるため、Om 領域では、溶解度を越えた TES が逆ミセル中に可溶化されている。したがって、いずれの極性物質を用いた系においても、1 wt%の TES を安定に可溶化できることが示された。

Figure 20 と比較することで、TES 添加が逆紐状ミセルの形成に及ぼす影響を検討した。いずれの極性物質を用いた系においても、TES の添加により Om 領域がわずかに広がった。TES は、構造中に -OH 基をもっているため、-OH 基がレシチンのリン酸基に結合して可溶化していると考えられる。また、TES の疎水部分がかさ高いために、見かけ上、レシチンの疎水基の断面積が増大し、CPP を減少させている。その結果、レシチン逆紐状ミセルの親水部において極性物質に対する可溶化容量が増加し、より高濃度の極性物質を添加できるようになるため Om 領域が広がると考えられる。しかし、高粘弾性領域の広さは、いずれの極性物質を用いた系においても、TES の添加により狭くなった。これは、TES が逆紐状ミセルの形成を阻害して基剤の粘度が低下することによって生じると考えられる。TES の添加が粘度に及ぼす影響に関しては、次項以降で考察する。

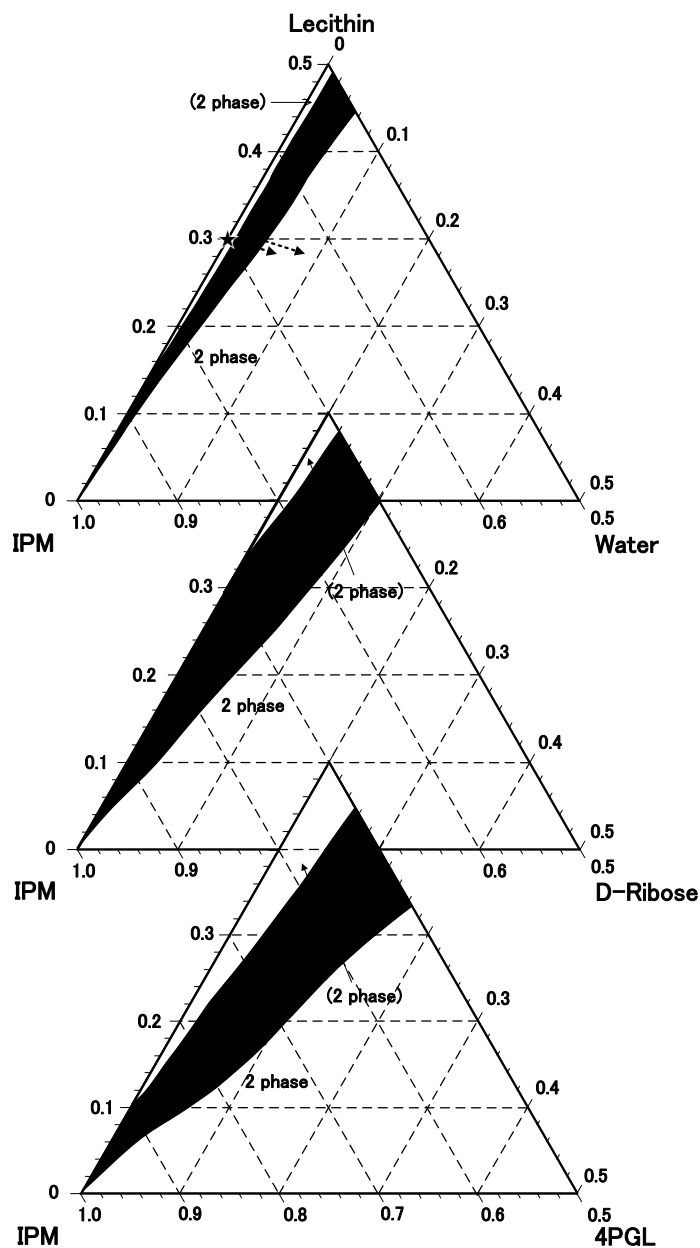


Fig. 21 Partial phase diagrams of polar substance/lecithin/IPM/TES systems at 25°C. The notation ‘Om’ indicated the reverse micellar phase region (gray). The highly viscoelastic region within the Om phase is shown by dark gray. The polar substances were water (upper), D-ribose (middle), and 4PGL (bottom). The TES concentration was fixed at 1 wt%. Black dot and black star were used in skin permeation study.

4. ゼロシアー粘度に対する薬物添加の影響

状態図を作成することで、TES の添加が逆紐状ミセルの形成に影響を及ぼすことが示された。したがって、薬物の添加は、ゼロシアー粘度に対しても大きく影響すると考えられる。

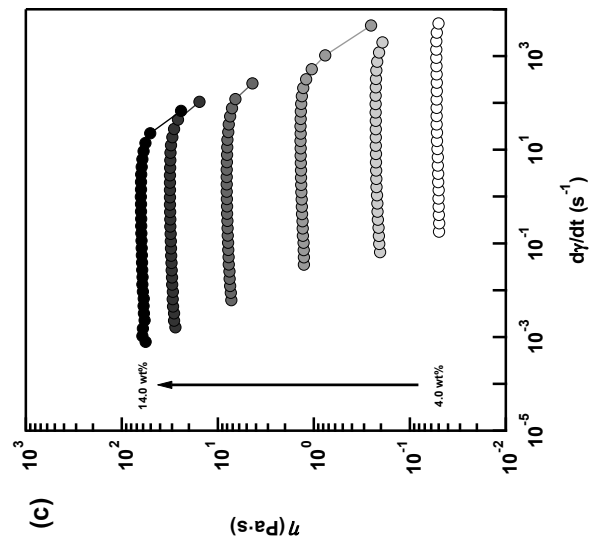
Figure 22 に、水、D-リボース、4PGL をそれぞれ極性物質として用い、TES を 1 wt% 添加した系における定常流粘度測定の結果を示す。皮膚上への適用を想定して 32°C で測定を行った。いずれの系においても、低せん断速度側ではせん断速度の変化に対して粘度が一定であることから、ニュートン流動を示すことが確認された。

ゼロシアー粘度と極性物質濃度との関係を TES および HC を添加した系と共に Figure 23 に示す。いずれの系においても、極性物質濃度の増加に対してゼロシアー粘度が上昇した。水を用いた系で最も急激に粘度が上昇し、4PGL を用いた系ではゆるやかに粘度が上昇した。また、D-リボースを用いた系でゼロシアー粘度が最も高くなった。このことから、皮膚適用製剤として粘度の高い基剤が要求される場合には、D-リボースが有用であることが示された。

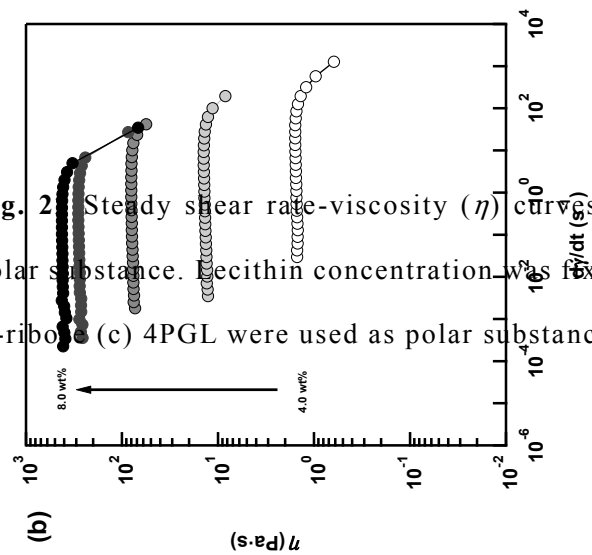
薬物の添加がゼロシアー粘度に及ぼす影響について検討した。水を極性物質に用いた系では、TES と HC のいずれを添加した場合にも、大きく粘度が低下した。Shaikh らは水を極性物質として用いた系において、薬物の添加はレシチン逆紐状ミセルの粘度を低下させると結論付けており、彼らの結果と一致する⁴⁰⁾。しかし、D-リボースおよび 4PGL を極性物質として用いた系では、水を用いた系より粘度の低下は小さかった。この結果から、薬物の添加がレシチン逆紐状ミセルの粘度に及ぼす影響は極性物質の種類に依存することが明らかになった。

薬物の種類による粘度への影響の違いを比較すると、水を極性物質に用いた系では、TES よりも HC の方がゼロシアー粘度に大きく影響し、試料の粘度は低下した。これは、HC がレシチンの親水部付近で水とリン酸基との結合に大きく影響を与えるためと考えられる。D-リボースおよび 4PGL を極性物質に用いた系では、TES を添加するとゼロシアー粘度はわずかに低下し、HC を添加

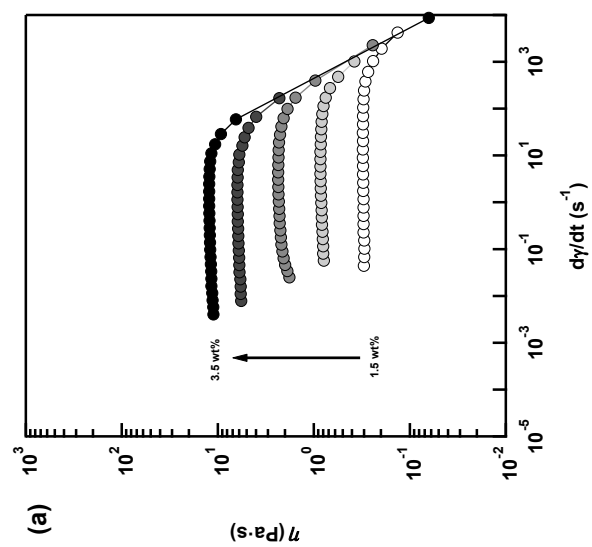
するとわずかに上昇する様子が示された。TES は-OH 基を 1 つ持つため、レシチンと極性物質間の水素結合を阻害する働きをし、HC は-OH 基を 3 つもつため、レシチンに対して極性物質のような働きをし、逆紐状ミセルの形成を補う働きをすることが示唆された。



(c)



(b)



(a)

Fig. 2 Steady shear rate-viscosity (η) curves for polar substance/lecithin/IPM/TES systems at various polar substance. Lecithin concentration was fixed at 30 wt% and TES concentration was fixed at 1 wt% (IPM: 4PGL, D-ribose).

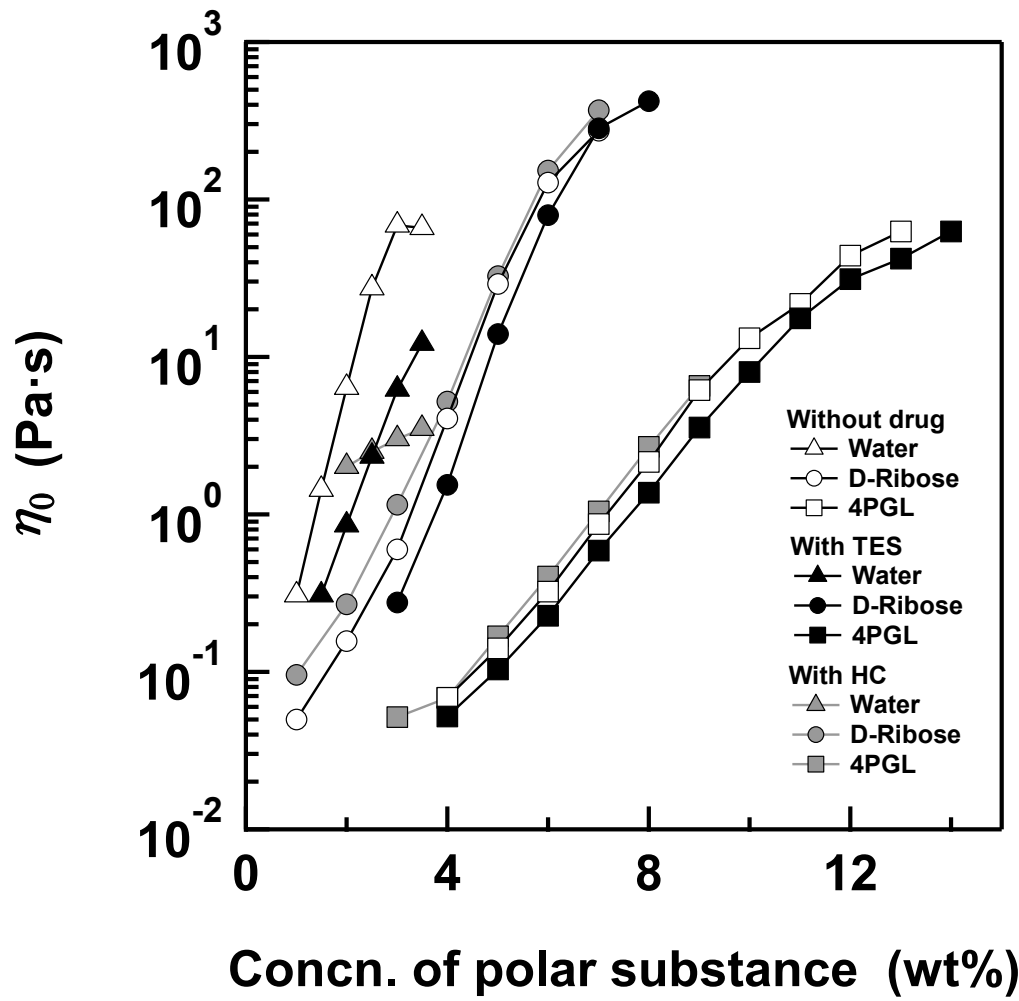


Fig. 23 Relationship between zero-shear viscosity (η_0) and polar substance concentration (32°C). The lecithin and drugs concentrations were fixed at 30 and 1 wt%, respectively.

5. ゼロシアー粘度における温度の影響

薬物を添加することにより、レシチン逆紐状ミセルのゼロシアー粘度に変化が生じることが示された。皮膚透過実験を行うにあたっては、さらに温度の影響を確認する必要がある。状態図は 25℃で作成されているが、皮膚透過実験ではヒト皮膚への適用を前提とするため、32℃で実験を行う。そこで、温度の変化がどの程度ゼロシアー粘度に影響を与えるのか検討した。

Figure 24 に、D-リボース／レシチン／IPM／TES 系および D-リボース／レシチン／IPM／HC 系の 25℃および 32℃におけるゼロシアー粘度と D-リボース濃度との関係を示す。ゼロシアー粘度はいずれの薬物を添加した系においても 50～80%程度低下した。逆紐状ミセルの温度感受性については、極性物質の極性基とレシチンのリン酸基との水素結合の弱化によるものであると考えられており⁴⁵⁾、この現象は薬物を添加した場合にも同様に生じることが示された。

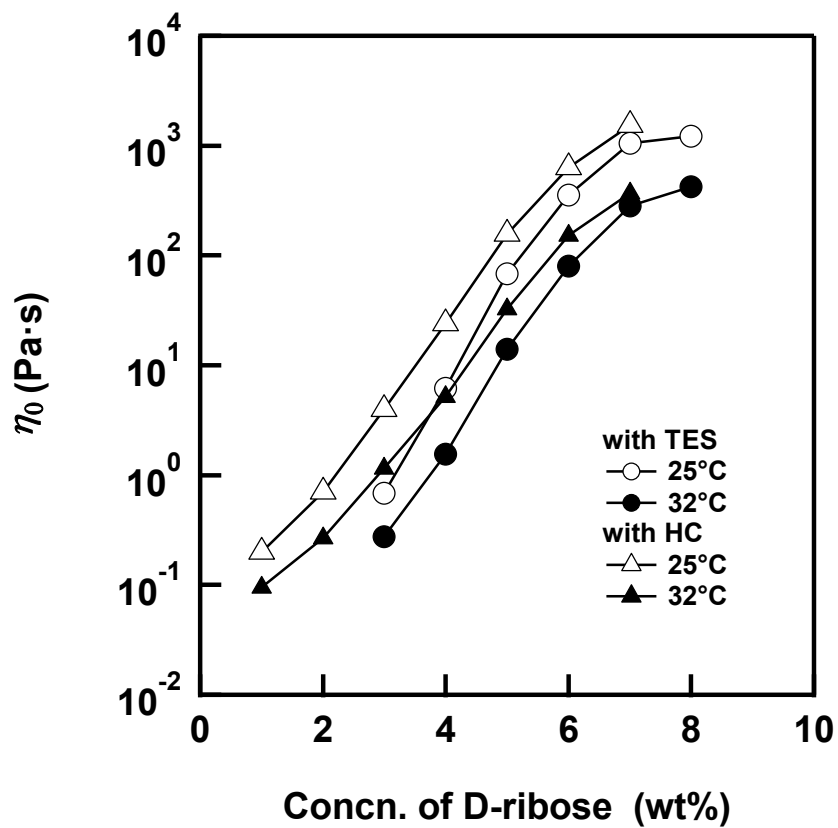


Fig. 24 Relationship between zero-shear viscosity (η_0) and D-ribrose concentrations at 32°C and 25°C. The lecithin and drugs concentrations were fixed at 30 and 1 wt%, respectively.

6. 極性物質／レシチン／IPM／TES 系における粘弾性挙動

薬物の添加により、レシチン逆紐状ミセルのゼロシアー粘度が増減することが示された。TES を添加した系では、TES を添加していない系と比較して粘度が低下することが明らかになったので、TES を添加した系について、粘弾性が維持されているかどうかを検討した。

D-リボース／レシチン／IPM／TES 系の動的粘弾性測定結果を Figure 25 (b) に示す。測定は、ゼロシアー粘度が 1、10、100 Pa·s の試料について行った。ゼロシアー粘度が 1 Pa·s および 10 Pa·s の試料では、いずれの周波数においても G'' が G' よりも優位となり、粘性を示すことが明らかになった。一方、ゼロシアー粘度が 100 Pa·s の試料では、周波数が 22 rad/s で G' と G'' が交点をもち、粘弾性を示した。これらの結果から、ゼロシアー粘度が 100 Pa·s の試料では、十分な長さおよび量の逆紐状ミセルが形成されているために粘弾性を示すことがわかった。

この現象は、水および 4PGL を極性物質に用いた系でも同様であり、水を用いた系ではゼロシアー粘度が 10 Pa·s の試料で (Fig. 25 (a))、4PGL を用いた系ではゼロシアー粘度が 50 Pa·s の試料で (Fig. 25 (c)) 粘弾性を示した。

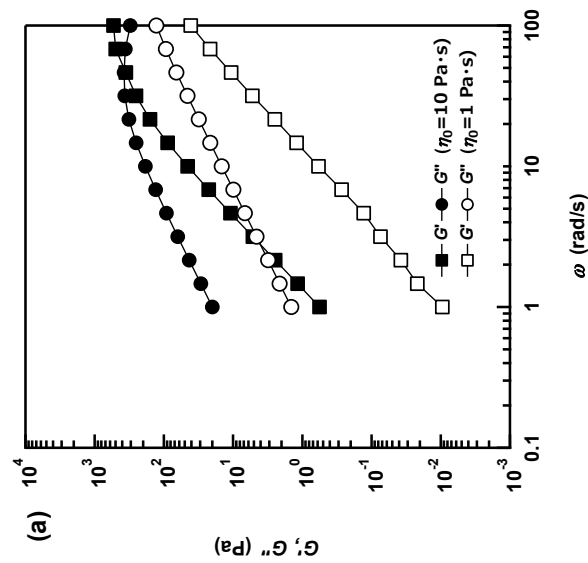
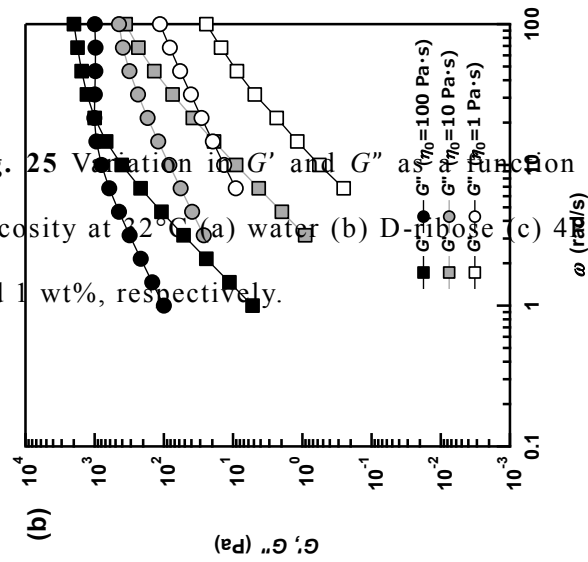
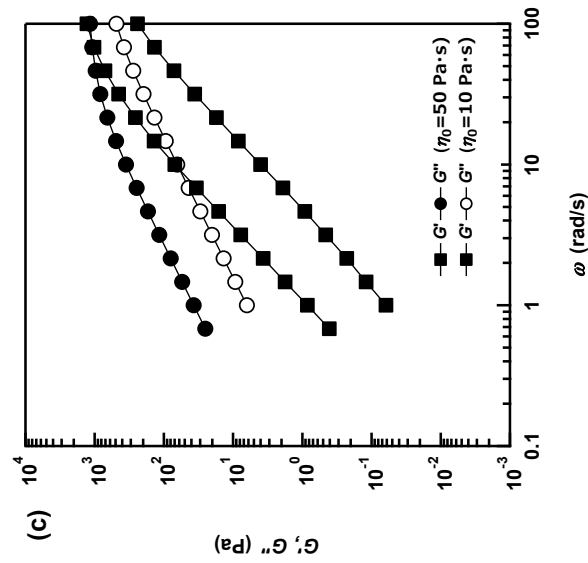


Fig. 25 Variation in G' and G'' as a function of ω at polar substance/lecithin/IPM/TES system with different viscosity at 32°C : (a) water (b) D-ribose (c) 4GL as polar substance. Lecithin and TES concentration were 1 and 1 wt%, respectively.

第 2 節 レシチン逆紐状ミセル製剤からの薬物皮膚透過性に関する検討

第 1 節では、レシチン逆紐状ミセルの製剤化について検討を行った。その結果、水を極性物質として用いたレシチン逆紐状ミセルでは、薬物添加の影響を受けて大きく粘度が低下することが、D-リボースおよび 4PGL を極性物質として用いた系では、粘度の増減は小さいことが明らかになった。また、1 wt%濃度の TES を添加した系の状態図を作成した。皮膚透過実験では、レシチン濃度を固定して行うことが望ましいので、状態図の検討から、極性物質濃度に対して Om 領域が十分な幅をもつよう、レシチン濃度を 30 wt%に固定した。レシチン濃度を 30 wt%に固定すると、最も Om 領域が狭かった水／レシチン／IPM／TES 系においても、0.1~10 Pa·s の範囲で、D-リボースを用いた系では 1~100 Pa·s、4PGL を用いた系では 1~50 Pa·s の範囲で基剤の粘度を選択できる。

1. レシチン逆紐状ミセルからの TES の皮膚透過性

Table 5 に、本研究で使用した各製剤の処方を示す。コントロールには、TES の IPM 懸濁液（コントロール 1）と TES のレシチン／IPM 懸濁液（コントロール 2）を使用した。TES 濃度は 1 wt%に固定した。Figure 26 に各製剤からの TES 皮膚透過プロファイルを示す。いずれの製剤においても TES は皮膚を透過し、一定時間以降で累積薬物透過量が直線的に増加することが確認された。また、皮膚への適用から 10 時間の時点において、水を極性物質として用いた W1 からの累積薬物透過量はコントロール 1 および 2 と比較して約 2 倍有意に増大することが示された。なお、定常状態における直線の傾きから Flux を、直線部分を外挿した χ 切片から Lag time を算出した。

Table 5 Compositions of the formulations (wt%).

	Control		Reverse worms								
	1	2	W1	W2	W3	R1	R2	R3	P1	P2	P3
Lecithin		30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
TES	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
IPM	99.0	69.0	65.6	67.0	67.5						
Water			3.4	2.0	1.5	62.8	64.2	65.3			
D-Ribose						6.2	4.8	3.7	55.6	58.8	61.5
4PGL									13.4	10.2	7.5

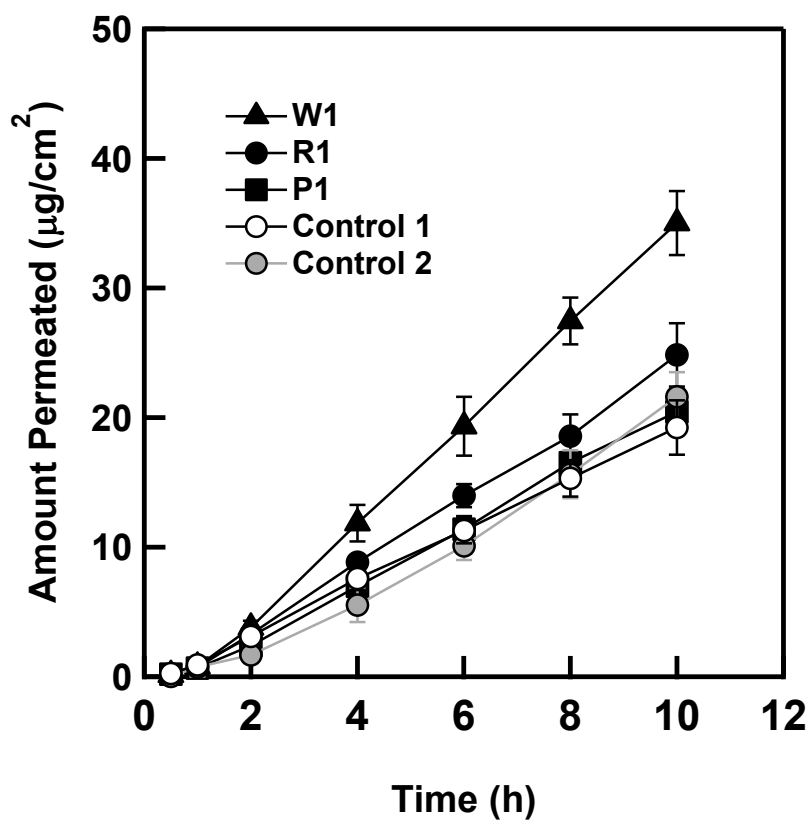


Fig. 26 Permeation profiles of TES through hairless mouse skin from control 1, control 2, and reverse worms at 32°C.

Each point represents the mean \pm S.D. of at least three experiments.

2. 基剤粘度が TES の皮膚透過性に及ぼす影響

各レシチン逆紐状ミセルからの TES の透過量を比較すると、 $W1 > R1 \geq P1$ であった。これらの基剤は、 $10 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 、 $50 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 、 $100 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ と粘度が異なるため、基剤粘度が薬物透過に影響している可能性が考えられる。Stokes-Einstein の式(11)によると、拡散定数は粘度に反比例して減少することから、高い粘度を持つ基剤中では拡散速度が遅くなる。

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r_m} \quad (11)$$

k はボルツマン定数、 T は温度、 η は粘度、 r_m は分子半径を表す。

そこで、基剤粘度が Flux および Lag time に及ぼす影響について検討した。Table 5 に示した全処方において、皮膚透過実験を行い Flux および Lag time を算出した (Table 6)。いずれの極性物質を用いた系においても、極性物質が同じならば、基剤粘度が変わっても基剤粘度は Flux や Lag time にほとんど影響しないことが明らかになった。これは、定常状態における薬物の皮膚透過速度においては、基剤中の拡散速度ではなく、皮膚中の薬物拡散速度が律速となっているためと考えられる。

Table 6 Flux and Lag time of TES from reverse worms at various viscosities (32°C).

Polar substance		η_0 (Pa·s)	Rheological Property	Flux ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Lag time (h)
Water	W1	10	viscoelastic	3.98 ± 0.21	1.06 ± 0.08
	W2	1	viscous	3.96 ± 0.39	0.96 ± 0.08
	W3	0.3	viscous	3.94 ± 0.32	1.17 ± 0.34
D-Ribose	R1	100	viscoelastic	2.69 ± 0.25	0.77 ± 0.13
	R2	10	viscous	2.91 ± 0.23	1.04 ± 0.08
	R3	1	viscous	3.21 ± 0.49	1.20 ± 0.53
4PGL	P1	50	viscoelastic	2.35 ± 0.12	1.02 ± 0.09
	P2	10	viscous	2.27 ± 0.23	1.24 ± 0.09
	P3	1	viscous	2.39 ± 0.19	0.74 ± 0.15

Each data represents the mean \pm S.D. of at least three experiments.

3. レシチン逆紐状ミセル製剤からの TES 皮膚透過性

レシチン逆紐状ミセルからなる基剤の粘度が Flux および Lag time に影響を及ぼさないことが示された。そこで、実用性を考え、各極性物質を用いた系の中で、最もゼロシア-粘度の高い試料である W1、R1、P1 を用いて極性物質の TES 皮膚透過に与える影響を検討した。Figure 27 (1) に種々の試料を適用したときの Flux を示す。W1 および R1 からの Flux は、コントロール 1 からの Flux と比較して有意に増大した。TES の IPM に対する溶解度はおよそ 29 μ g/mL であり、10 mg/mL (1 wt%) のうち多くは逆紐状ミセル中に存在し、バルクの IPM の TES 濃度は 29 μ g/mL またはそれ以下であると考えられる。薬物はミセル中で安定であり、ミセルから皮膚への分配は極めて少ないと考えると、本来、レシチン逆紐状ミセルからの Flux はコントロール 1 からの Flux と同じか、それ以下になる。したがって、レシチン逆紐状ミセル製剤には、薬物の皮膚透過を促進する要因があると考えられる。

Willimann らは、水/レシチン/パルミチン酸イソプロピル系からのスコポラミンまたはプロキサテロールの皮膚透過実験から、レシチンが角質層に影響を及ぼすことにより Flux が増大することを示唆した³⁸⁾。実際に、コントロール 2 からの Flux は、コントロール 1 からの Flux と比較して有意に増大したことから、レシチンの皮膚透過促進作用が考えられる。しかし、レシチンの薬物透過促進作用のみと考えると、同じ量のレシチンを含有している W1、R1、P1 からの Flux は同等となるはずで、有意に異なるという実験結果と一致しない。Figure 27 (2) に、各基剤における Lag time を示す。コントロール 1 と比較して、コントロール 2 および逆紐状ミセルからの Lag time は有意に長くなった。もし逆紐状ミセルの基剤が皮膚に対し作用し、薬物の皮膚内拡散速度を上昇させるのであれば、逆紐状ミセルを用いたときの Lag time はコントロール 1 よりも短くなるはずである。したがって、レシチン逆紐状ミセルの薬物皮膚透過促進作用には別のメカニズムが存在することが示唆された。

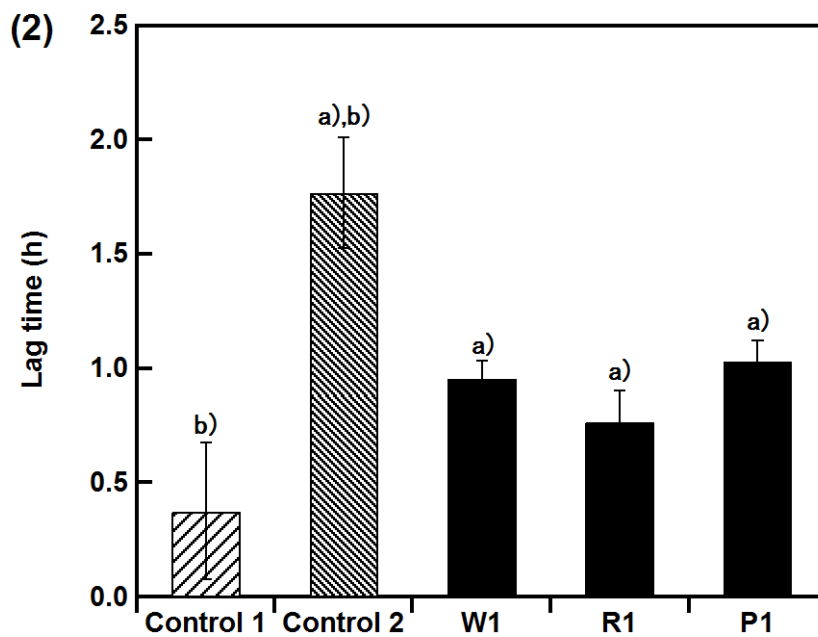
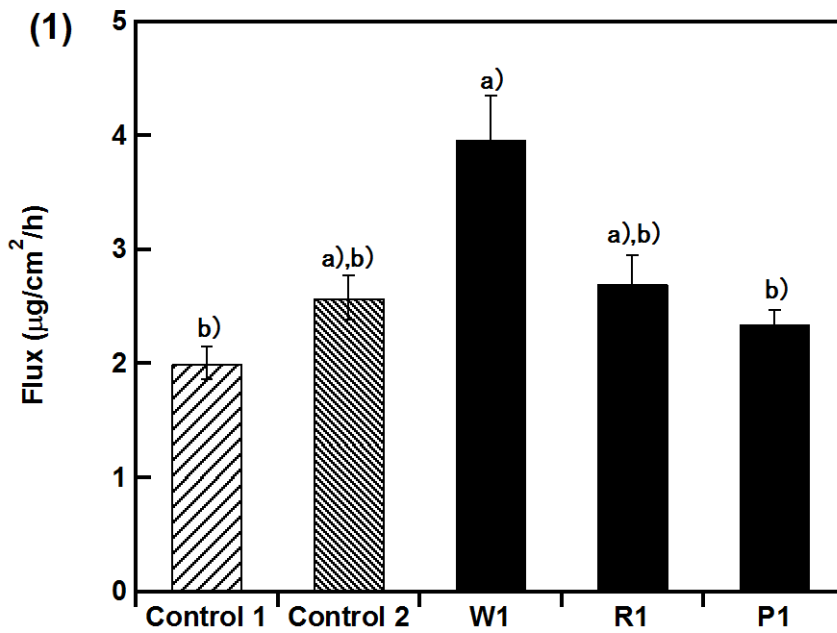


Fig. 27 Comparison of (1) flux and (2) lag time between control 1, control 2, and viscoelastic reverse worms (W1, R1, P1).

Each point represents the mean \pm S.D. of at least three experiments.

a) Significant difference vs control 1 ($P < 0.05$).

b) Significant difference vs W1 ($P < 0.05$).

4. レシチン逆紐状ミセルの構造変化と TES 皮膚透過性

レシチン逆紐状ミセルからの TES の Flux がコントロール 1 からの Flux と比較して増大することが明らかになった。これまでの研究では、レシチン逆紐状ミセル製剤においては、レシチンの作用により薬物の透過が促進されていると考えられていたが³⁸⁾、極性物質間で Flux の相違があることから、透過促進メカニズムには他の原因があると考えられた。そこで、実験後の基剤の様子を観察したところ、水および D-リボースを極性物質に用いた系では、皮膚との接触面において局所的に基剤が白濁していたが、4PGL を極性物質に用いた系では、透明のままであった。この基剤の変化が Flux に与える影響について検討した。

偏光顕微鏡を用いて皮膚適用前および皮膚透過実験後の基剤の観察を行った。Figure 28 には W1、R1、P1 およびコントロールの皮膚適用前および皮膚透過実験後における偏光顕微鏡写真を示す。コントロール 1 は、TES の IPM 溶液であり、適用前と皮膚透過実験後いずれにおいても TES の結晶が確認された。コントロール 2 においても、TES のレシチン/IPM 溶液への溶解度が 1 wt% 以下であるため、皮膚適用前には TES の結晶が観察された。しかし皮膚透過実験後には、TES の結晶は観察されず、適用前には見られなかった、ラメラ液晶に特徴的なオイリーストリークおよびマルターゼクロスが観察された。

このコントロール 2 からラメラ液晶への構造転移について、Figure 21 で示した 4 成分系状態図を用いて考察する。水/レシチン/IPM/TES 系の状態図 (Fig. 21 (a)) 中、★部分がコントロール 2 の組成である。皮膚中の水分が基剤に吸収されると、★部分の組成が矢印方向に移動して Om 領域を通過し、ラメラ液晶を形成する組成へと到達する。すなわち、構造転移は 2 段階になっており、2 回目の相転移後に TES の皮膚透過が促進されていると示唆された。2 段階の構造転移を経てから累積皮膚透過量が定常状態となるため、Lag time が延長し、適用 10 時間後の皮膚透過量は逆紐状ミセル系と比較して少ないと考えられる。

W1、R1、P1 の逆紐状ミセルについても同様に検討した。いずれの製剤も、皮膚適用前には透明で光学的等方性な逆紐状ミセルであるため、偏光像はみら

れない。しかし、皮膚透過実験後の W1 および R1 中には、コントロール 2 でもみられたような、ラメラ液晶に特徴的なオイリーストリークおよびマルターゼクロスが観察された。W1 の場合を Figure 21 (a) の状態図上で検証する。●部分の組成が W1 である。ここに、皮膚中の水分が吸収されると、組成が矢印方向に移動し、ラメラ液晶を形成する領域に移動する。皮膚に適用した W1 の様子を経時的に観察した結果を Figure 29 に示す。偏光板を用いて観察したところ、適用 1 時間後からラメラ液晶への構造転移が起こっていることが明らかになった。R1 の場合には、D-リボースに加えて水という第 2 の極性物質が存在することになるため、状態図上での検証は難しいが、W1 と同様のメカニズムでラメラ液晶への構造転移が生じると考えられる。

逆紐状ミセルからラメラ液晶への構造転移が生じる W1 および R1 では Flux が増大し、構造転移が生じない P1 では Flux の増大がみられないことから、逆紐状ミセルからラメラ液晶への構造転移が Flux を増大させる原因であると考えられる。

本研究は皮膚モデルとしてヘアレスマウス皮膚を用いたが、正常ヒト皮膚とヘアレスマウス皮膚においては、経皮水分蒸発量に大きな違いがないことが報告されている^{46,47)}。したがって、ヒト皮膚を使用した場合にも、同様の現象が生じると想定される。

	Control		Polar substance/Lecithin/IPM/TES		
	1	2	Water	D-Ribose	4PGL
Before					
After					

Fig. 28 Polarization micrographs of control 1, control 2, and viscoelastic reverse worms (W1, R1, P1). Images were taken before and after skin permeation experiments.

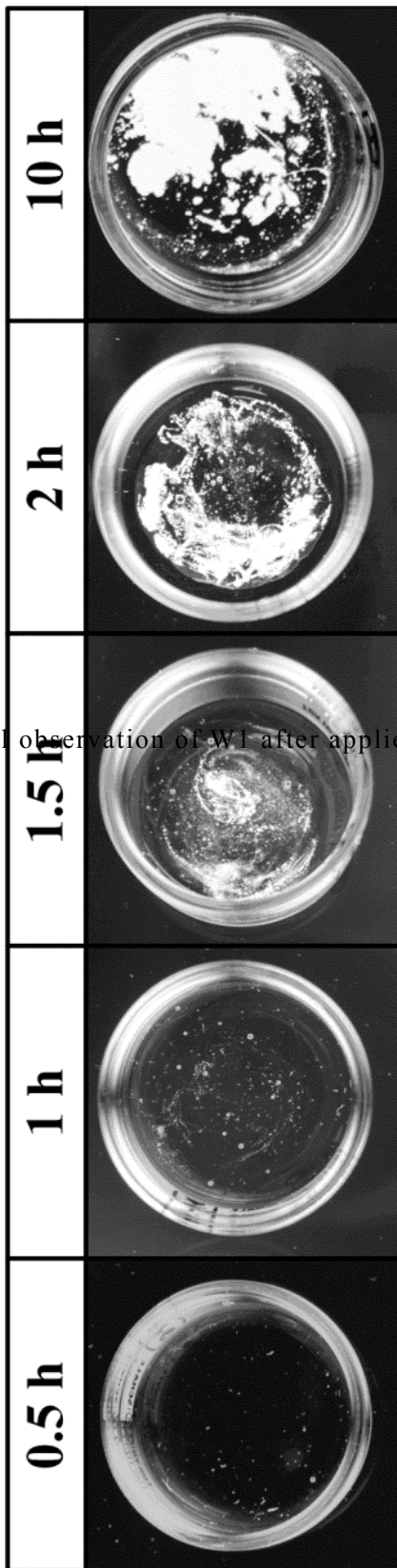


Fig. 29 The visual observation of WI after applied on the skin through crossed polarizers.

5. レシチン逆紐状ミセルの構造変化と TES の存在状態

皮膚との接触面において基剤が皮膚中の水分を吸収し、逆紐状ミセルからラメラ液晶に構造転移した結果、Flux が増加することが示唆された。TES がラメラ液晶中で過飽和状態になっている可能性があるため、皮膚透過実験後の W1 および R1 を 2 日間皮膚上に静置した。その後、偏光顕微鏡で観察すると、皮膚透過実験直後には見られなかった結晶が析出していることを確認した (Fig. 30)。皮膚中の水分を取り込むことで形成されたラメラ液晶中では、逆紐状ミセル中よりも TES の溶解性が低下していることが示された。W1 では適用後 1 h でラメラ液晶に構造転移するが、10 h 経過しても TES 結晶はみられないことから、溶解性が低下したにも関わらず、基剤粘度や分子集合体の存在によりすぐには TES が析出せず、ラメラ液晶中では一時的にエネルギー状態の高い過飽和状態になると考えられる。

ラメラ液晶中で TES が過飽和状態であるとき、Flux にどのように反映されるのか考察した。薬物の皮膚透過速度を示す Flux は、定常状態における単位時間あたりの物質移動量であり、Fick の第一法則を用いて次式で定義される⁴⁸⁾。

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{A \cdot C_v \cdot K \cdot D_s}{L} \quad (12)$$

式中の Q は累積薬物透過量、 A は製剤の適用面積、 C_v は基剤中の薬物濃度、 K は皮膚／基剤間の薬物分配係数、 D_s は薬物の皮膚中拡散係数、 L は皮膚の厚さである。(12) 式は、Higuchi による検討から、熱力学的活量 a を用いて次のように解釈される⁴⁹⁾。

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{a_v \cdot D_s \cdot A}{\gamma_s \cdot L} \quad (13)$$

a_v は基剤中の薬物の活量、 γ_s は皮膚中の薬物の活量係数を表す。本検討においては、実験条件は一定であるので、式中の A および L は一定と考えてよい。また、基剤が皮膚に作用しない場合、 D_s は一定であるから、Flux を増大させるためには、 a_v を増加させるか、もしくは γ_s を減少させればよいことになる。なお、 a_v は皮膚中の活量係数 γ_v を用いて次のように表すことができる。

$$a_v = \gamma_v \cdot C_v \quad (14)$$

Figure 31 にこれを図示する。

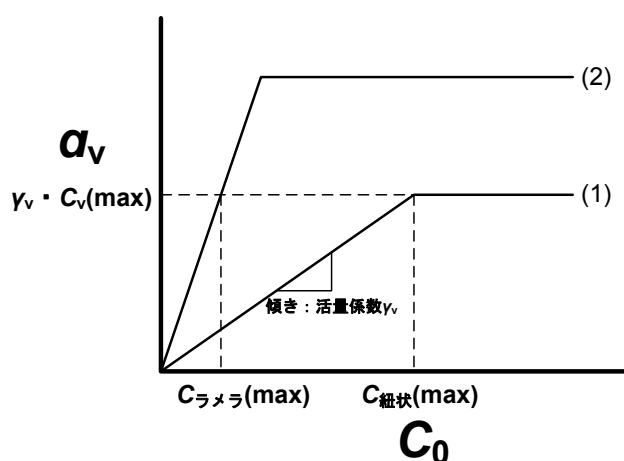


Fig. 31 Relationship between thermodynamic activity and concentration of TES in vehicles.

一般に、飽和溶解度以上に薬物が添加されている系（懸濁液）を適用するとき、薬物が同一であれば基剤によらず a_v は一定であり、かつ最大である⁴⁸⁾ (Fig. 31 中の (1))。ラメラ液晶中の TES はエネルギーの高い過飽和状態であるため、ラメラ液晶中の γ_v は逆紐状ミセル中の γ_v よりも大きい値であると考えられる。また、過飽和状態にある $C_{ラメラ(max)}$ は $C_{紐状(max)}$ と同等であるため、このとき a_v は懸濁液よりも大きくなる (Fig. 31 中の (2))。したがって、TES

がラメラ液晶中で過飽和状態である時、 a_v は増大しており、TESのFluxが促進されるという可能性が示された。すなわち、W1、R1およびコントロール2のTESは、コントロール1のTESと比較して基剤中で活量が大きくなっており、その結果、TESの皮膚への分配が促進されてFluxが増大していることが示唆された。

W1とR1のFluxの違いについては、水とD-リボースの極性の違いが関係していると考えられる。有機概念図を用いて算出した極性物質の極性は、水>D-リボース>4PGLの順である^{43,44)}。このことから、水からなるラメラ液晶中では、D-リボースからなるラメラ液晶中よりTESのエネルギー状態が高いため、水を極性物質に用いた系において皮膚への分配はより容易であり、そのためW1からのFluxがR1からのFluxに比べても大きくなることが示唆される。

レシチン逆紐状ミセルからラメラ液晶への構造転移の現象について、極性物質間での相違を検討するため、1gのW1、R1、P1に水を加え、攪拌した。W1は1 μ Lの水、R1は30 μ Lの水、P1は200 μ Lの水をそれぞれ加えた時、外観が透明から白濁へと変化した。これは、逆紐状ミセル基剤が、水を吸収してラメラ液晶への構造転移していることを示す。また、W1の方が、R1と比べて少ない量の水で構造転移を起こすことが示された。P1では、W1およびR1に比べて、構造転移には多くの水が必要であることが明らかになった。4PGLは構造中に水酸基を6つもっているため、4PGL自身が多量の水を保持することができると考えられる。したがって、4PGLを極性物質として用いた逆紐状ミセルは皮膚中からの水分の影響が最も少なかったと推察された。

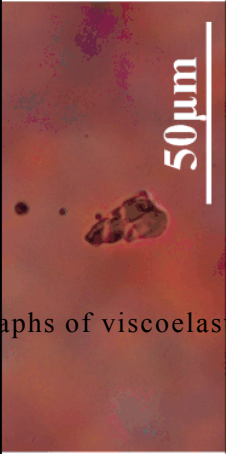


Polar substance/Lecithin/IPM/TES		
Water	D-Ribose	4PGL
Two days After		
		

Fig. 30 Polarization micrographs of viscoelastic reverse worms (W1, R1, P1). Images were taken 48 hours after the end of permeation experiments.

6. レシチン逆紐状ミセル製剤からの HC 皮膚透過性

TES の皮膚透過性について、レシチン逆紐状ミセル製剤では、基剤が逆紐状ミセルからラメラ液晶へと構造転移することで、TES が基剤中でエネルギー状態の高い過飽和状態となり、その結果、皮膚への分配が促進されることが示唆された。他の薬物においても同様の現象が生じるか、HC を添加したレシチン逆紐状ミセル製剤を用いて検討した。

D-リボース／レシチン／IPM／HC (5.4:30.0:63.6:1.0 [wt%]) 系からの HC の Flux および Lag time を算出した (Fig. 32)。コントロール 1 には 1 wt% の HC を IPM に添加した懸濁液を、コントロール 2 には 1 wt% の HC と 30 wt% のレシチンを IPM に添加した懸濁液を用いた。HC は TES と比較して、分子量が大きく、Log *P* が小さいために Flux は小さいが、TES の場合と同様に、逆紐状ミセル製剤およびコントロール 2 からの Flux はコントロール 1 の Flux よりも有意に増大した。皮膚透過実験後の基剤の様子を偏光顕微鏡を用いて観察すると、TES を添加した系と同様に、ラメラ液晶へと構造転移している様子が確認された。また、逆紐状ミセル製剤およびコントロール 2 からの Lag time は、コントロール 1 からの Lag time よりも有意に増大した。これも TES を添加した系と同様であり、基剤が皮膚中の水を吸収して構造変化したのち、HC の透過性が上昇することが理由であると考えられる。

以上の結果から、TES 以外の薬物においても、TES の場合と同様のメカニズムで薬物の皮膚透過性が促進されることが示唆された。このメカニズムにおいては、薬物の IPM 中およびラメラ液晶中での溶解性が大きく影響すると推測される。レシチン逆紐状ミセル製剤では、レオロジー挙動においても薬物の種類の影響を受けるため、極性物質および薬物の選択が重要になってくることが示された。

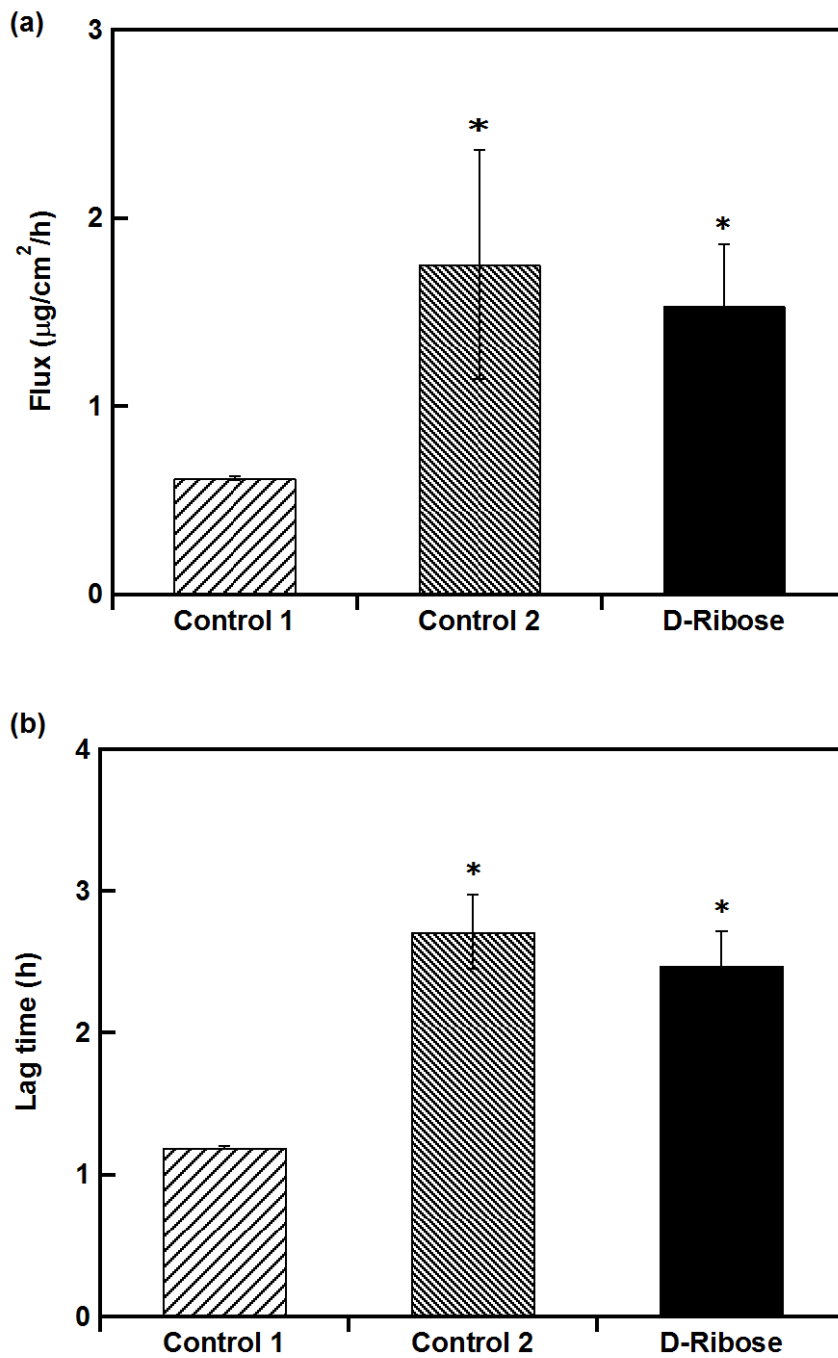


Fig. 32 Comparison of (a) flux and (b) lag time between control 1(HC:IPM=1.0:99.0(wt%)), control 2(HC/lecithin/IPM=1.0:30.0:69.0(wt%)), and viscoelastic reverse worms (D-ribose/lecithin/IPM/HC=30.0:5.4:63.6:1.0(wt%)).

Each point represents the mean \pm S.D. of at least three experiments.

(*) Significant difference vs control 1 ($P < 0.05$).

第 3 節 小括

種々の極性物質を用いて薬物含有レシチン逆紐状ミセルを調製し、皮膚適用製剤としての応用可能性を検討した。

皮膚透過促進作用のある IPM を増粘・ゲル状化する極性物質のスクリーニングを行った。その結果から、水、D-リボース、4PGL の 3 種類の極性物質を用いてレシチン逆紐状ミセル製剤を調製し、その物理化学的性質および薬物皮膚透過特性について検討することとした。

極性物質／レシチン／IPM／TES の 4 成分系状態図を作成し、Om 領域と高粘弾性領域を示した。いずれの系においても 1 wt% の TES を安定に可溶化できることを確認した。

レシチン濃度を 30 wt%、薬物濃度を 1 wt% に固定してレオロジー挙動を検討した。特に D-リボースを極性物質に用いた系で高い粘度をもつ試料を調製できることが明らかになった。基剤粘度は TES の添加により低下し、HC の添加により増大することが示された。

TES を用いた皮膚透過実験においては、Flux は極性物質の種類によって異なり、水および D-リボースを極性物質に用いた系では IPM 懸濁液と比較して Flux が有意に増大することを明らかにした。これらの系においては、皮膚との接触面で基剤が皮膚中の水分を吸収し、逆紐状ミセルからラメラ液晶へ構造転移している様子が認められた。ラメラ液晶中では TES の溶解性が低下し、一時的に過飽和状態となることで TES の皮膚への分配が増大していると考えられた。このような構造転移が誘起されるか否かは極性物質の種類に依存しているため、レシチン逆紐状ミセルを皮膚適用製剤として用いる場合には、極性物質の選択が重要であることが示された。HC を添加した系においても、同様の現象が生じることが示唆された。

薬物を基剤中で過飽和状態に保つことは、皮膚への分配を促進させる手段として評価されている^{50,51)}。しかし、過飽和状態の薬物は不安定なので、製剤中で安定性に問題が生じる。製剤中では安定であり、皮膚への適用後に薬物が過

飽和状態となるレシチン逆紐状ミセル製剤の薬物皮膚透過促進メカニズムは、
製剤学的に非常に興味深いと言える。

総括

レシチン逆紐状ミセルは、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と比較して、調製が簡便で加熱の必要がなく、親水性・疎水性いずれの物質に対しても優れた可溶化能をもち、環境・生体への親和性が高いといった利点をもつ。このレシチン逆紐状ミセルは、調製に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が、いずれの極性物質を用いた逆紐状ミセルにおいても、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。この問題が克服できれば、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¹²⁾。

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い、以下の成果が得られた。

新しい極性物質としてカルボン酸に注目し、新規なレシチン逆紐状ミセルを探索した。クエン酸を極性物質に用いた系では、*n*-デカンの粘度が 7000 万倍にまで増加した。カルボキシ基の数が多いものほど緩和時間が長くなるため、より高いゼロシアー粘度を得られることが示された。また、レオロジーパラメータのスケーリング理論を用いた、レシチン逆紐状ミセルの形態に関する検討においては、クエン酸およびプロパントリカルボン酸の濃度が高い領域においては分枝状逆紐状ミセルになっていることが示されたが、分枝状であるにもかかわらず、粘度の低下がみられなかった。これらの特性は、カルボキシ基が、-OH 基や-NH₂ 基といった従来の極性基よりも強くレシチンのリン酸基と水素結合しているため、応力緩和に際して水素結合の組み換えが起こりにくいことが理由であると考えられた。以上の結果から、カルボキシ基はレシチン逆紐状ミセ

ルの形成に有効な極性基であり、カルボン酸を利用することで優れたレオロジー特性をもつ逆紐状ミセルを形成できることを明らかにした。

次に、レシチン逆紐状ミセルに薬物を添加し、皮膚適用製剤としての応用の可能性について検討した。薬物の添加により、レシチン逆紐状ミセルのゼロシア粘度が増減し、その程度は使用する極性物質の種類に依存するが、製剤として利用できる系を見出した。皮膚透過実験においては、レシチン逆紐状ミセル基剤が TES や HC の皮膚透過を促進することを示した。これは、皮膚との接触面において基剤が皮膚中の水分を吸収して逆紐状ミセルからラメラ液晶へと構造転移するが、ラメラ液晶中では逆紐状ミセル中と比較して薬物の溶解性が低下し、薬物が一時的にエネルギー状態の高い過飽和状態になることが原因であることが示唆された。このラメラ液晶への構造転移の誘起は、レシチン逆紐状ミセルの調製に使用する極性物質の種類に依存することを明らかにした。

本研究により、レシチン逆紐状ミセルに関する研究において、極性物質を中心に検討することの重要性が明らかになり、新規な極性物質の発見は、より優れたレシチン逆紐状ミセルの形成を可能にした。また、皮膚適用製剤として最適なレシチン逆紐状ミセルを形成する極性物質を選択するには、様々な極性物質を用いて比較検討する必要があることが示された。本研究で見出された知見が、皮膚適用製剤としての応用のみならず、新たな応用分野における検討の一助となることを期待する。

実験

第 1 章

1. 試薬

大豆レシチン（ホスファチジルコリン含量 95%）は H.Holstein GmbH & Co. 製 PHOSPHOLIPON90G をそのまま使用した。クエン酸(CA)、グリコール酸(GA)、L-リンゴ酸 (MA)、プロピオン酸、安息香酸、サリチル酸、コハク酸、*o*-フタル酸、酒石酸、1,3,5-トリメシン酸、酢酸、メタノールは関東化学（株）の特級品（鹿特級・特級）をそのまま用いた。フマル酸は関東化学（株）の 1 級品（鹿 1 級）をそのまま使用した。1,2,3-プロパントリカルボン酸 (PtcA) (>95%)、ジヒドロキシ安息香酸 (95.0+%) は和光純薬工業（株）製のものをそのまま使用した。また、*trans*-アコニット酸 (98%)、ピロメリト酸 (>98.0%)、メリト酸 (99%) は SIGMA ALDRICH 社製のものをそのまま使用した。1,4,5-トリメリト酸 (>98.0%) は東京化成工業（株）製のものをそのまま使用した。*n*-デカン は関東化学（株）の特級品を使用した。

2. 試料の調製

必要量のレシチンおよび各種カルボン酸を少量のメタノールに完全に溶解させた。これを一晩ヒュームフード内で乾燥させたのち、減圧乾燥により溶媒を完全に留去した。その後、*n*-デカンを必要量加えてマグネチックスターラーを用いて攪拌し、25℃の恒温槽中で一週間静置して平衡状態とし、試料に供した。

3. 小角 X 線散乱測定

小角 X 線散乱 (SAXS) 測定は、SPring-8 において非結晶小角広角散乱回折実験用ビームライン BL40B2 を用い、直径 2 mm の石英ガラスキャピラリーに試料を充填して用いた。X 線の波長は 0.1 nm、カメラ長は 4000 mm、検出器に

はイメージングプレート（30 cm 角）を用いた。なお、測定温度は 25℃であった。

4. レオロジー測定

レオロジー測定は、ストレス制御式レオメーター（HAAKE RS600, Thermo Fischer Scientific Inc., MA, USA および MARS III, Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA）を用い、コーンプレートセンサー（直径 35 mm もしくは 60 mm、コーン角 1°）、ダブルコーンプレートセンサー（直径 60 mm、コーン角 1°）および平行プレートセンサー（直径 35 mm もしくは 20 mm、ギャップ 1 mm）を使用して測定した。定常流粘度測定は段階的にせん断応力を上げ、各ステップでせん断速度が安定した値を測定して粘度を算出した。また、動的粘弾性測定は、周波数一定下でひずみ依存測定により線形粘弾性領域を求め、線形粘弾性領域内のひずみ（ γ ）を用いて貯蔵弾性率（ G' ）および損失弾性率（ G'' ）の周波数（ ω ）依存性を調べた。また、溶媒の蒸発を防止するためにソルベントトラップを用いて測定を行った。

第 2 章

すべての実験材料および実験方法は第 1 章の方法に準じて行った。以下に第 1 章と異なる点を記載する。

1. 試薬

TES は和光純薬工業（株）の生化学用を、HC は特級品をそのまま使用した。D(-)-リボースは和光純薬工業（株）の特級品を、アスコルビン酸（L-(+)-アスコルビン酸含量 99.6 %以上）は和光純薬工業（株）のものをそのまま使用した。ポリグリセリンは（株）ダイセルのものをそのまま使用した。水については注射用水（（株）大塚製薬工業）をそのまま使用した。尿素は関東化学（株）のものをそのまま使用した。ミリスチン酸イソプロピル（IPM）は、和光純薬工業（株）の特級品をそのまま使用した。ダルベッコりん酸緩衝液生理食塩末（pH=7.5±0.1、500 mL 用）は和光純薬工業（株）の生化学用を使用した。アセトニトリルは関東化学（株）の高速クロマトグラフィー用を使用した。

2. 試料の調製

極性物質が室温で固体の場合、必要量のレシチンおよび極性物質と TES もしくは HC を少量のメタノールに完全に溶解させた。これを一晚ヒュームフード内で乾燥させたのち、さらに減圧乾燥により溶媒を完全に留去した。その後、IPM を必要量加えてマグネチックスターラーを用いて攪拌し、25℃の恒温槽中で 1 週間静置して平衡状態とし、試料に供した。また、極性物質が室温で液体の場合、必要量のレシチンおよび極性物質、TES もしくは HC、IPM のすべてを量りとり、攪拌溶解後、静置した。

3. 小角 X 線散乱測定調製

小角 X 線散乱 (SAXS) 測定は、Bruker AXS 社製の Nano-STAR を用いた。X 線の波長は 0.154 nm、カメラ長は 106 cm、検出器にはイメージングプレートを用いた。なお、測定は 25°C で行った。

4. 薬物皮膚透過実験

薬物の皮膚透過性の評価には、ヘアレスマウス皮膚 (株式会社星野試験動物飼育所、Hos:HR-1 ラボスキン、7 週齢、♂) を使用した。フランツ型拡散セル (Hanson research Co.、有効面積: 1.74 cm²) のレセプター溶液には等張リン酸緩衝液 (PBS) を用い、マグネティックスターラーで攪拌 (550 rpm) した。なお、フランツ型拡散セル内は 32°C 恒温水の循環により温度を保った。試料 1 g をヘアレスマウスの皮膚に塗布し、レセプター溶液 0.5 mL を経時的に採取して等量の PBS で置き換えた。採取したレセプター溶液は、HPLC で TES および HC を測定し、累積皮膚透過量 (μg/cm²) を時間に対してプロットした累積皮膚透過量-時間プロファイルを作成し、Flux および Lag time を算出した。

5. HPLC 測定

HPLC システムは、ポンプ (PU-2080、日本分光株式会社)、紫外可視検出器 (UV-2075、日本分光 (株))、クロマトパック (C-R8A、(株) 島津製作所製) を用いた。カラムは L-column2ODS (一般財団法人化学物質評価研究機構) を使用した。また、移動相には超音波脱気を行ったアセトニトリルと水を体積比 1:1 混液を使用した。また、流速は 1.0 mL/min とし、TES および HC の検出波長はそれぞれ 241 nm および 254nm とした。検量線は、外部標準法を用いて作成した。

6. 偏光顕微鏡観察

試料の偏光像の観察は、偏光顕微鏡（ECLIPSE E600W POL、（株）ニコン、東京）を用いて行った。倍率は 500 倍～1000 倍で観察した。

7. データ解析

皮膚透過実験から得られたデータは平均値±標準偏差（S.D.）で示した（ $n \geq 3$ ）。有意差検定は ANOVA Fisher's PLSD test を用い、 P 値が 0.05 未満の場合に統計的に有意とみなした。

謝辞

本研究を行うに際して、終始暖かい激励とご指導をいただきました、日本大学薬学部教授 本橋重康先生に深く感謝を申し上げます。

日本大学薬学部名誉教授 齋藤好廣先生ならびに日本大学薬学部教授 藤井まき子先生には、多くのご助言とご指導に加え、日々の励ましをいただき、論文を完成させることができました。厚く御礼申し上げます。

また、本論文作成に当たり、有益なるご助言と審査の労を賜りました日本大学薬学部教授 伴野和夫先生に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたりましては、日本大学薬学部准教授 橋崎要先生ならびに日本大学薬学部准教授 田口博之先生の熱心かつ丁寧なご指導と暖かい激励を賜りました。時に厳しく時に優しくご指導いただいたこと、感謝の念に堪えません。

最後に、柳愛子さんならびに西田菜摘さんをはじめ、研究生活を共にし、実験を行うに際して種々のご協力をいただいた日本大学薬学部薬品物理化学研究室卒業研究生の皆様には感謝いたします。また、学部入学から10年にわたり頼もしい相談相手になってくださり、共に大学院での研究生活を送った日本大学大学院薬学研究科 有機化学研究室 市丸嘉くんに深く御礼申し上げます。

本研究の一部は、大型放射光施設 SPring-8（課題番号 2014A1055）を利用して行いました。厚く御礼申し上げます。

参考文献

1. R. Scartazzini, P. Luisi, Organogels from lecithins, *J. Phys. Chem.* **92** (1988) 829–833.
2. 日本油化学会編, 「界面と界面活性剤-基礎から応用まで-」, 日本油化学会, (2005) 95–100.
3. J.N. Israelachvili, D.J. Mitchell, B.W. Ninham, Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2.* **72** (1976) 1525–1568.
4. J.N. Israelachvili, D.J. Mitchell, B.W. Ninham, Theory of self-assembly of lipid bilayers and vesicles., *Biochim. Biophys. Acta.* **470** (1977) 185–201.
5. Y.A. Shchipunov, E.V. Shumilina, Lecithin bridging by hydrogen bonds in the organogel, *Mater. Sci. Eng. C.* **3** (1995) 43–50.
6. S.H. Tung, Y.E. Huang, S.R. Raghavan, A new reverse wormlike micellar system: mixtures of bile salt and lecithin in organic liquids., *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 5751–5756.
7. K. Hashizaki, T. Chiba, H. Taguchi, Y. Saito, Highly viscoelastic reverse worm-like micelles formed in a lecithin/urea/oil system, *Colloid Polym. Sci.* **287** (2009) 927–932.
8. K. Hashizaki, H. Taguchi, Y. Saito, A novel reverse worm-like micelle from a lecithin/sucrose fatty acid ester/oil system, *Colloid Polym. Sci.* **287** (2009) 1099–1105.

9. K. Hashizaki, H. Taguchi, Y. Saito, New lecithin organogels with sugars of RNA and DNA, *Chem. Lett.* **38** (2009) 1036–1037.
10. K. Hashizaki, N. Watanabe, M. Imai, H. Taguchi, Y. Saito, Possibility of vitamin C to induce the formation of lecithin organogel, *Chem. Lett.* **41** (2012) 427–429.
11. K. Hashizaki, Y. Sakanishi, S. Yako, H. Tsusaka, M. Imai, H. Taguchi, Y. Saito, New lecithin organogels from lecithin/polyglycerol/oil systems, *J. Oleo Sci.* **61** (2012) 267–275.
12. N.M. Murashova, E.V. Yurtov, Lecithin organogels as prospective functional nanomaterial, *Nanotechnologies Russ.* **10** (2015) 511–522.
13. K. Hashizaki, H. Taguchi, Y. Saito, A novel reverse worm-like micelle from a lecithin/sucrose fatty acid ester/oil system, *Colloid Polym. Sci.* **287** (2009) 1099–1105.
14. M. Doi, S.F. Edwards, Dynamics of concentrated polymer systems .1. Brownian-motion in equilibrium state, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II.* **74** (1978) 1789–1801.
15. M. Doi, S.F. Edwards, Dynamics of concentrated polymer systems. Part 2.-Molecular motion under flow, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2.* **74** (1978) 1802–1817.
16. M. Doi, S.F. Edwards, Dynamics of concentrated polymer systems. Part 3.-The constitutive equation, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2.* **74** (1978) 1818–1832.

17. M. Doi, S.F. Edwards, Dynamics of concentrated polymer systems. Part 4.-Rheological properties, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2.* **75** (1979) 38–54.
18. M.E. Cates, S.J. Candau, Statics and dynamics of worm-like surfactant micelles, *J. Phys. Condens. Matter.* **2** (1990) 6869–6892.
19. Y.A. Shchipunov, E. Shumilina, W. Ulbricht, H. Hoffmann, The branching of reversed polymer-like micelles of lecithin by sugar-containing surfactants., *J. Colloid Interface Sci.* **211** (1999) 81–88.
20. Y.A. Shchipunov, H. Hoffmann, Growth, branching, and local ordering of lecithin polymer-like micelles, *Langmuir.* **14** (1998) 6350–6360.
21. 日本化学会編, 「コロイド科学 IV. コロイド科学実験法」, 東京化学同人, (1996) 66–80.
22. R. Kumar, A.M. Ketner, S.R. Raghavan, Nonaqueous photorheological fluids based on light-responsive reverse wormlike micelles, *Langmuir.* **26** (2010) 5405–5411.
23. 千葉 聖, レシチン／尿素／オイルからなる新規なレシチンオルガノゲル, (2010) 6–13.
24. H. Matsuoka, J.P. Kratochvil, N. Ise, Small-angle x-ray scattering from solutions of bile salts: Sodium taurodeoxycholate in aqueous electrolyte solutions, *J. Colloid Interface Sci.* **118** (1987) 387–396.
25. P.E. Rouse, A theory of the linear viscoelastic properties of dilute solutions of coiling polymers, *J. Chem. Phys.* **21** (1953) 1272–1280.

26. A. Khatory, F. Kern, F. Lequeux, J. Appel, G. Porte, N. Morie, A. Ott, W. Urbach, Entangled versus multiconnected network of wormlike micelles, *Langmuir*. (1993) 933–939.
27. R. Granek, M.E. Cates, Stress relaxation in living polymers: Results from a poisson renewal model, *J. Chem. Phys.* **96** (1992) 4758–4767.
28. J. Appell, G. Porte, A. Khatory, F. Kern, S.J. Candau, Static and dynamic properties of a network of wormlike surfactant micelles (cetylpyridinium chlorate in sodium chlorate brine), *J. Phys. II*. **2** (1992) 1045–1052.
29. F. Lequeux, Reptation of connected wormlike micelles, *EPL (Europhysics Lett)*. **19** (1992) 675–681.
30. M.E. Cates, Reptation of living polymers: dynamics of entangled polymers in the presence of reversible chain-scission reactions, *Macromolecules*. **20** (1987) 2289–2296.
31. P. Schurtenberger, R. Scartazzini, P.L. Luisi, Viscoelastic properties of polymerlike reverse micelles, *Rheol. Acta*. **28** (1989) 372–381.
32. 渡邊 哲也, 皮膚適用製剤の現状と展望, *Drug Deliv. Syst.* **22** (2007) 450–457.
33. F.P. Bonina, L. Montenegro, N. Scrofani, E. Esposito, R. Cortesi, E. Menegatti, C. Nastruzzi, Effects of phospholipid based formulations on in vitro and in vivo percutaneous absorption of methyl nicotinate, *J. Control. Release*. **34** (1995) 53–63.

34. F. Dreher, P. Walde, P. Walther, E. Wehrli, Interaction of a lecithin microemulsion gel with human stratum corneum and its effect on transdermal transport, *J. Control. Release.* **45** (1997) 131–140.
35. Y. Yokomizo, H. Sagitani, The effects of phospholipids on the percutaneous penetration of indomethacin through the dorsal skin of guinea pig in vitro. 2. The effects of the hydrophobic group in phospholipids and a comparison with general enhancers, *J. Control. Release.* **42** (1996) 37–46.
36. F. Dreher, P. Walde, P.L. Luisi, P. Elsner, Human skin irritation studies of a lecithin microemulsion gel and of lecithin liposomes, *Skin Pharmacol. Physiol.* **9** (1996) 124–129.
37. H. Willimann, P.L. Luisi, Lecithin organogels as matrix for the transdermal transport of drugs, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **177** (1991) 897–900.
38. H. Willimann, P. Walde, P.L. Luisi, a. Gazzaniga, F. Stroppolo, Lecithin organogel as matrix for transdermal transport of drugs, *J. Pharm. Sci.* **81** (1992) 871–874.
39. S. Avramiotis, V. Papadimitriou, E. Hatzara, V. Bekiari, P. Lianos, A. Xenakis, Lecithin organogels used as bioactive compounds carriers. A microdomain properties investigation, *Langmuir.* **23** (2007) 4438–4447.
40. I.M. Shaikh, S.L. Jadhav, K.R. Jadhav, V.J. Kadam, S.S. Pisal, Aceclofenac organogels: in vitro and in vivo characterization., *Curr. Drug Deliv.* **6** (2009) 1–7.

41. K. Sato, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, Effect and mode of action of aliphatic esters on the in vitro skin permeation of nicorandil, *Int. J. Pharm.* **43** (1988) 31–40.
42. L.A. Lyon, "Handbook of applied surface and colloid chemistry vol.2", American Chemical Society, (2002) 159–188.
43. A. Fujita, Prediction of organic compounds by a conceptual diagram, *Pharm. Bull.* **2** (1954) 163–173.
44. Nihon Emulsion Co. Ltd., "Formulation design with organic conceptual diagram", Nihon Emulsion Co. Ltd., (1997) 4-12.
45. S.H. Tung, Y.E. Huang, S.R. Raghavan, Contrasting effects of temperature on the rheology of normal and reverse wormlike micelles, *Langmuir.* **23** (2007) 372–376.
46. R. Rissmann, M.H.M. Oudshoorn, W.E. Hennink, M. Ponc, J. a. Bouwstra, Skin barrier disruption by acetone: Observations in a hairless mouse skin model, *Arch. Dermatol. Res.* **301** (2009) 609–613.
47. E. Benfeldt, J. Serup, T. Menné, Effect of barrier perturbation on cutaneous salicylic acid penetration in human skin: In vivo pharmacokinetics using microdialysis and non-invasive quantification of barrier function, *Br. J. Dermatol.* **140** (1999) 739–748.
48. 渡邊 哲也, 「次世代経皮吸収型製剤の開発と応用」, シーエムシー出版, (2011) 188–191.

49. T. Higuchi, Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **11** (1960) 85–97.
50. H.A. Benson, Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques, *Curr Drug Deliv.* **2** (2005) 23–33.
51. M.A. Pellett, M.S. Roberts, J. Hadgraft, Supersaturated solutions evaluated with an in vitro stratum corneum tape stripping technique, *Int. J. Pharm.* **151** (1997) 91–98.

略語・記号一覧

略語	
4PGL	テトラグリセリン
CA	クエン酸
CPP	臨界充填パラメータ
GA	グリコール酸
HC	ヒドロコルチゾン
IPM	ミリスチン酸イソプロピル
MA	リンゴ酸
Om	逆ミセル
PtcA	プロパントリカルボン酸
SAXS	小角 X 線散乱測定
TES	テストステロン
記号	
A	製剤の適用面積
a	熱力学的活量
a_{hg}	界面活性剤疎水部の断面積
a_{tail}	界面活性剤疎水部の断面積
a_v	基剤中薬物の熱力学的活量
C_v	基剤中の薬物濃度
D_s	薬物の皮膚中拡散係数
γ	せん断ひずみ
γ_s	皮膚中薬物の活量係数
γ_v	基剤中薬物の活量係数
G'	貯蔵弾性率
G''	損失弾性率
G_0	プラトー弾性率

η	粘度
η_0	ゼロシアード粘度
θ	X 線散乱角
$I(q)$	X 線散乱強度
IV	有機性
K	皮膚／基剤間の薬物分配係数
k	ボルツマン定数
L	皮膚の厚さ
l_{tail}	界面活性剤疎水部の長さ
λ	X 線波長
OV	無機性
q	X 線散乱ベクトル
Q	累積薬物透過量
r	紐状ミセルの断面半径
r_m	分子半径
R_c	紐状ミセル断面の回転半径
T	絶対温度
τ	緩和時間
τ_b	切断・再接合時間
τ_{rep}	レプテーション時間
ν	絡み合い密度
ν_{tail}	界面活性剤疎水部の体積
ω	周波数
ϕ	逆紐状ミセルの体積分率
ξ	絡み合いネットワークのメッシュサイズ

原著論文

1. M. Imai, K. Hashizaki, H. Taguchi, Y. Saito, S. Motohashi, A new reverse worm-like micellar system from a lecithin, multivalent carboxylic acid and oil mixture, *J. Colloid Interface Sci.*, **403** (2013), 77-83.
2. M. Imai, K. Hashizaki, A. Yanagi, H. Taguchi, Y. Saito, S. Motohashi, M. Fujii, Skin permeation of testosterone from viscoelastic lecithin reverse wormlike micellar systems, *Biol. Pharm. Bull.*, in press.