論文の内容の要旨

氏名：望月　隆一郎
博士の専攻分野の名称：博士（薬学）
論文題名：デカン酸/アルギニン系超分子ヒドロゲルの物理化学的性質と皮膚適用製剤への応用に関する研究

【緒言】

皮膚適用製剤は、経口投与や注射投与と異なり、肝初回通過効果の回避、全身性の副作用の危険性が低いといった利点がある。また、経口投与が困難な高齢者や幼児への投与が簡便であるため、患者のコンプライアンスの向上が期待できる。しかし、親水性の薬物や分子量 500 Da 以上の薬物は、皮膚のバリア機能を通過しにくいことが知られているため、皮膚適用製剤として利用できる薬物には制限がある [1]。

薬物の皮膚透過性を向上させるために、吸収促進剤が用いられている。直鎖飽和脂肪酸のデカン酸（C10）は、薬物の皮膚透過を促進することが知られている [2]。しかし、C10 は常温で固体であり、水に対して難溶性であるため、製剤として利用しにくいといった欠点がある。

超分子ヒドロゲルは、低分子の両親媒性物質が水素結合やファンデルワールス力などの非共有結合を介して自己組織化し、三次元構造を構築することで形成される。一般に、超分子ヒドロゲルの形成には精密な分子設計により化学合成された両親媒性物質が必要となる。一部の化学合成された両親媒性物質は、形成される分子集合体の形態が pH によって変化し、ゲル化することが知られている [3]。また、脂肪酸と塩基性アミノ酸を水中で混合すると、化学合成をせずにミセルやラメラなど様々な分子集合体を形成することが報告されている [4]。

本研究では、利用しにくい C10 を超分子ヒドロゲルとして活用できる形に製剤化することを目的とした。超分子ヒドロゲルの調製について、C10 と塩基性アミノ酸のアルギニン（Arg）からなる両親媒性様物質を用いて検討を行った。また、デカン酸/アルギニン系ヒドロゲル（C10/Arg）からの薬物の皮膚透過性について調べ、新たな皮膚適用製剤としての有用性を検討した。

第 1 章　デカン酸/アルギニン系ヒドロゲルの調製と物理化学的性質

C10 と Arg はいずれも弱電解質であり、配合比によって水溶液の pH が異なるため、それぞれの分子形とイオン形の割合も変化すると考えられる。そこで本研究では、pH 7 に固定し、C10/Arg の調製について検討した。また、C10/Arg の物理化学的性質は、相状態の観察、レオロジー測定により調べた。超分子ヒドロゲルは低分子の両親媒性物質が分子集合体を形成して作られているため、配合物によってゲルの物理化学的性質に影響を及ぼすことが考えられる。そこで、薬物を配合した C10/Arg の物理化学的性質の検討は、モデル薬物として 0.5%ヒドロコルチゾン（HC）、1%インドメタシン（IM）、1%デキストラン（Dex, Mw; 6,000 Da）を用いた。

C10/Arg の調製は、必要量の Arg を水に溶解し、あらかじめ加温して融解しておいた C10 を加えて撹拌混合した。C10/Arg の pH を 7 にする際、水の一部を 1 mol/L NaOH 水溶液または 1 mol/L HCl 水溶液に置き換えて pH の調整を行った。Fig. 1 には、C10/Arg/水の三成分系部分状態図を示す。C10 ≧ 12%、Arg ≦ 9%の範囲で半透明のゲルが調製できた。一例として、Fig. 2 に得られた半透明ゲル（C10/Arg-2; C10 = 17%、Arg = 2.9%）の外観写真を示す。この C10/Arg-2 について偏光顕微鏡観察をすると、特徴的な偏光パターンを示したことから、規則構造を有する分子集合体であることが確

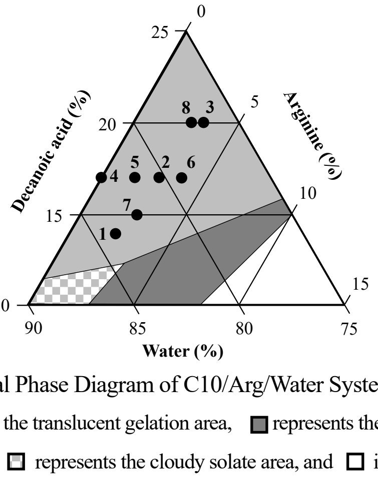

Fig. 1. Partial Phase Diagram of C10/Arg/Water System.
▢ represents the translucent gelation area, ▢ represents the cloudy gelation area, ▢ represents the cloudy solate area, and ▢ indicates not tested.
Numbers in the figure are the formulation number of C10/Arg.

認された。また、この C10/Arg-2 の小角 X 線散乱（SAXS）スペクトル（Fig. 3）より、ラメラ液晶構造を有することが明らかとなった。

本ヒドロゲルのレオロジー特性を調べるため、レオメーターを用いてひずみ分散測定を行った（Fig. 4）。せん断ひずみ（γ）が小さい領域においては、弾性を示す G'および粘性を示す G''が一定である線形粘弾性領域が認められ、C10/Arg-2 は弾性優位（$G' > G''$）であった。せん断ひずみの増大に伴い G'は減少し、ある γで G'と G''は交差したあと粘性優位（$G'' > G'$）となり、C10/Arg-2 は流動した。以上より、C10/Arg-2 が粘弾性体であることが示された。

C10/Arg-2 にモデル薬物として 0.5% HC、1% IM、1% Dex を配合して物理化学的性質の変化について調べたところ、ラメラ液晶構造が保持されることが示唆された。C10/Arg-2 に HC や IM を配合してもレオロジー特性に大きな変化はみられなかったが、Dex を配合した C10/Arg-2 は G'が上昇し、降伏値が約 3 倍に増大した（Fig. 4）。これは Dex の配合によって C10/ Arg-2 中のラメラ液晶同士の相互作用がより強くなったためと考えられる。

以上の結果より、高濃度の C10 を含む、ラメラ液晶構造を有する半透明のヒドロゲルが容易に得られた。親水性中分子の Dex を C10/Arg に配合すると、レオロジー特性に影響を及ぼすことが示された。しかし、皮膚に塗り広げる際の応力範囲でゲル構造が壊れ流動することから、外用剤としての適用は可能と考えられる。よって、C10/Arg は、皮膚適用製剤として適した物性を有していることが確認された。

Fig. 2. Photograph of C10/Arg-2 in the Vial Placed Upside Down.

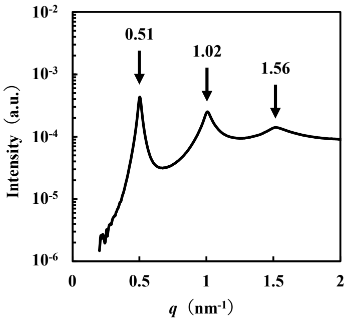

Fig. 3. SAXS Spectrum for C10/Arg-2.

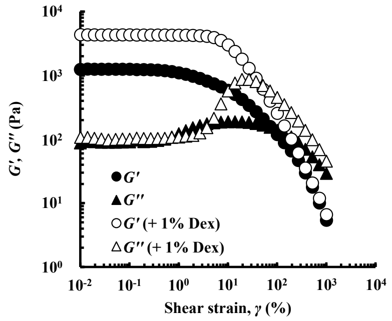

Fig. 4. Strain Sweep Measurement of C10/Arg-2. G' indicates storage modulus and G'' indicates loss modulus.

第 2 章　デカン酸/アルギニン系ヒドロゲルからの薬物の皮膚透過性

皮膚適用製剤の投与部位である皮膚はバリア機能を有しており、低分子量の薬物では角層が、中分子量以上になると顆粒層のタイトジャンクション（TJ）も透過の障壁となる。C10 は、皮膚では角層に作用し、腸管粘膜では TJ に作用して薬物の吸収を促進することが知られている [5,6]。そこで、低分子量～高分子量のモデル薬物を用いて C10/Arg-2（C10 = 17%, Arg = 2.9%）を標準処方とし、フランツ型拡散セルを用いた *in vitro* 皮膚透過試験を行い、C10/Arg による薬物の皮膚透過について検討した。

まず、低分子薬物（HC, Mw; 362.46 Da, IM, Mw; 357.79 Da）の皮膚透過を、ヘアレスマウスを用いて検討した。10 時間後の HC と IM の累積透過量は、薬物水懸濁液と比較してそれぞれ約 16 倍および約 11 倍増大し、C10/Arg は薬物の皮膚透過を促進することが示された。C10 には、角層の角質細胞間脂質の流動性を高めて薬物の透過性を向上させる作用があり [6]、これにより HC および IM の皮膚透過を増大させたと考えられる。

次に、C10/Arg-2 からの中分子～高分子薬物（FD4, Mw; 4,000 Da, FD40, Mw; 40,000 Da）の皮膚透過についてユカタンマイクロピッグの皮膚を用いて検討した。C10/Arg-2 からの FD4 の 24 時間累積透過量は水溶液（aq）に比べて約 40 倍に、flux は aq のそれよりも約 13 倍に増大した

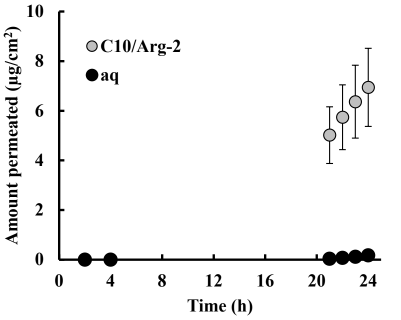

Fig. 5. Skin Permeation Profiles for FD4 from aq and C10/Arg-2.

Each point represents the mean ± S.D. of 3 to 8 experiments.

（Fig. 5）。FD40 は、aq では 24 時間後でも透過が認められなかったが、C10/Arg-2 では透過が認められ、24 時間後の累積透過量が 0.233 μg/cm^2 であった。C10/Arg-2 は FD40 の皮膚透過を増大したが、透過量は FD4 の 1/20 程度であり、C10/Arg の皮膚透過促進作用は薬物の分子量に依存することが示された。

皮膚の表面を 20 回または 50 回テープストリッピングした皮膚（20TS skin, 50TS skin）についても FD4 の皮膚透過を調べ、無傷皮膚と比較した。20TS skin では 20 層ある角層の 2/3 が剥離され、50TS skin では角層が完全に剥離され顆粒層が露出していた。Fig. 6 には、異なる状態の皮膚に対して C10/Arg-2 および aq を適用したときの FD4 の flux を示す。50TS skin では C10/Arg-2 と aq の間で flux に差がなかった。過剰なテープストリッピングによって角層や TJ のバリアが機能しなくなったためと推察され、C10/Arg の皮膚透過促進作用は顆粒層以下の表皮や真皮にはないことが示された。20TS skin では、C10/Arg-2 は aq よりも FD4 の flux は約 2.5 倍に増大した。20TS skin では顆粒層は保持されているが、テープストリッピングによって TJ がダメージを受けることが知られている[7]。したがって、残った TJ 機能と角層に対する作用が示唆された。無傷皮膚では、C10/Arg-2 は角層と TJ に作用することで、aq よりも flux を 13 倍に増大したと考えられる。皮膚の状態によって C10/Arg の皮膚透過促進作用の違いが示されたが、角層や TJ への作用の寄与の大小まで明らかにすることができなかった。

以上より、C10/Arg は低分子量から高分子量の薬物の皮膚透過を促進することを明らかにした。この C10/Arg による薬物の皮膚透過促進作用のメカニズムは、皮膚のバリア機能に作用していることが示唆された。したがって、本ヒドロゲル製剤は薬物の吸収促進作用を兼ね備えた新たな皮膚適用製剤として有用であることを明らかとした。

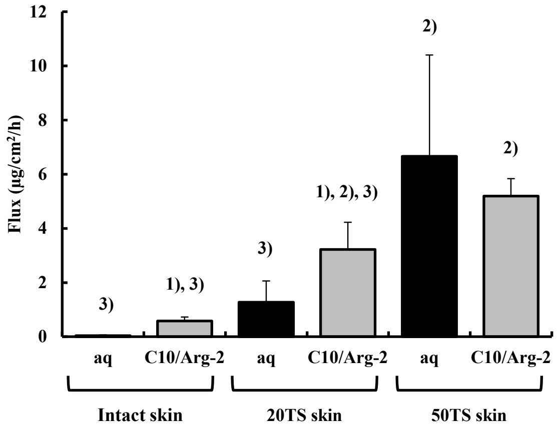

Fig. 6. Variation of Flux According to Skin Condition.
Each point represents the mean ± S.D. of 3 to 8 experiments.
1) Significant difference ($p < 0.05$) between formulations on the same skin, 2) Significant differences ($p < 0.05$) between skin applied with the same formulation *vs.* intact skin, 3) Significant differences ($p < 0.05$) between skin applied with the same formulation *vs.* 50TS skin.

【結論】

新たに化学合成することなく、C10 と Arg を水中で混合することで、容易にラメラ液晶構造を有する超分子ヒドロゲルが得られた。さらに、C10/Arg は、低分子薬物だけでなく、親水性かつ分子量の大きな薬物の皮膚透過性を向上させることが示された。以上の結果は、今まで注射投与されていた皮膚透過性の低い薬物を外用剤として投与できる可能性を見出した。本研究の成果が、新たな皮膚適用製剤の開発の一助になることを期待する。

【参考文献】

1) Bos J. D., Meinardi M. M. H. M., *Exp. Dermatol.*, **9**, 165–169 (2000).
2) Aungst B. J., Rogers N. J., Shefter E., *Int. J. Pharm.*, **33**, 225–234 (1986).
3) Imae T., Takahashi Y., Muramatsu H., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 3414–3419 (1992).
4) Li G., Yang Q., Song A., Hao J., *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, **487**, 198–206 (2015).
5) Krug S. M., Amasheh M., Dittmann I., Christoffel I., Fromm M., Amasheh S., *Biomaterials*, **34**, 275–282 (2013).
6) Aungst B. J., *Pharm. Res.*, **6**, 244–247 (1989).
7) Svoboda M., Bílková Z., Muthný T., *J. Dermatol. Sci.*, **81**, 147–152 (2016).