

## 新規有核錠 OSDrC®による結腸へのターゲティング製剤の調製とその薬物放出性

櫻井雅人,<sup>\*,a</sup> 尾関有一,<sup>b</sup> 安藤正樹,<sup>b</sup> 岡本浩一,<sup>a</sup> 檀上和美<sup>a</sup>

## Preparation and Release Profile of Colon-Targeting Drug Delivered as Novel One-Step Dry-Coated Tablets (OSDrC®)

Masato SAKURAI,<sup>\*,a</sup> Yuichi OZEKI,<sup>b</sup> Masaki ANDO,<sup>b</sup>Hirokazu OKAMOTO,<sup>a</sup> and Kazumi DANJO<sup>a</sup><sup>a</sup>Faculty of Pharmacy, Meijo University, 150 Yagotoyama, Tenpaku-ku, Nagoya 468-8503, Japan,and <sup>b</sup>OSDrC Division, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd., 363 Shiosaki, Hokusei-cho, Inabe City 511-0406, Japan

(Received May 9, 2007; Accepted August 30, 2007)

One-Step Dry-Coated tablets (OSDrC) of a colon-targeting drug were prepared using Eudragit L 100-55 (Eud-L) and chitosan (Chit) as the outer layer. Lag time in the 1st fluid, which simulated the stomach, was affected by differences in the pores occurring as a result of Chit dissolution. The dissolution rate of Chit was decreased by the addition of Eud-L. On the other hand, lag times in phosphate buffer (pH 7.4) simulating the small intestine, and in the 2nd fluid simulating the colon, were affected by differences in the pores occurring as a result of Eud-L dissolution and Chit swelling. The lag time of OSDrC with an outer layer of Eud-L : Chit at a ratio of 3 : 1 in each test medium was greater than the gastric emptying time in the 1st fluid and the small intestine transit time in phosphate buffer (pH 7.4). Furthermore, lag times were similar when test media were changed sequentially. Therefore, it is possible to deliver colon-targeting drugs as OSDrC with an outer layer of Eud-L : Chit at 3 : 1.

**Key words**—colon-targeting drug; OSDrC (One-Step Dry-Coated tablets); chitosan; pH- and time-controlled; swelling

## 緒 言

結腸薬物送達システムは近年、様々な大腸疾患の局所的治療や消化管上部において消化酵素の影響を受け易い薬物の体内吸収改善、及び1日1回持続性放出製剤の導入など、多くの関心を集めている。これまでに、消化管内のpH変化を利用したpH依存型、消化管通過時間を利用した時間依存型、腸内細菌の分解酵素を利用した酵素依存型など、いくつかの異なるアプローチ<sup>1-6)</sup>で試みられてきた。

一方、有核錠は内核と外層を有し、放出制御製剤に用いる剤形として最も有用な剤形の1つとされている。ただし、従来の有核錠製造方法では、あらかじめ調製した核錠を外部から供給するため、核錠のズレ、多核錠、無核錠といった問題が発生していた。新規有核錠製造方法であるOSDrC-technology (One-Step Dry-Coated tablets technology)<sup>7-10)</sup>は、杵

が中心杵と外杵の二重構造を有しており、核錠を外部から供給することなく一度に有核錠を製造できる方法である。これにより、従来の有核錠製造方法における諸問題を一挙に解決できる。さらに、核錠の形状、及び配置も自由に選択することができ、核錠の供給工程を必要としないため、難成形性の粉末でも内核に包含することが可能となった。

そこで本研究では、OSDrC-technologyを用いて、消化器系のpH、及び消化管通過時間に基づくpH-時間依存型DDSによる結腸ターゲティング製剤の調製を試みた。有核錠の外層成分には、腸溶性コーティング剤として用いられ、pH 5.5以上で溶解するEudragit L 100-55、及び酸性条件下で溶解し、中性から塩基性においては膨潤するキトサンの混合物を用いた。キトサンは、結腸内の腸内細菌により生分解される特性を有する<sup>11)</sup>ことから、結腸薬物送達システムに用いられてきた<sup>12-15)</sup>が、中性付近で膨潤し、不溶である性質を利用した報告はまだ少ない。さらに、胃液によるキトサンの溶解を抑える

<sup>a</sup>名城大学薬学部, <sup>b</sup>三和化学研究所 OSDrC 事業部

\*e-mail: o0574502@cmail.meijo-u.ac.jp

ため、調製した製剤を腸溶性コーティング剤等でフィルムコーティングする方法が報告されている<sup>14,15)</sup>が、本研究では、腸溶性コーティング剤とキトサンを物理混合する方法で行った。

消化器系の pH は食餌等の影響によりバラツキがあるものの、一般に胃 (pH 1.5-5) から回腸 (pH 7-8) までは徐々に上昇し、その後、結腸 (pH 5.5-7) では腸内細菌により糖類が分解されて生じる脂肪酸のため、低下する傾向がみられる。<sup>16)</sup> さらに、消化管通過時間は胃や大腸ではバラツキが大きいものの、小腸通過時間は年齢、性別に関係なく、さらに食餌、薬物の影響を受けることなく、3-4 h と言われている。<sup>16)</sup> このことから本研究の溶出試験における薬物放出開始遅延時間 (lag time) の目標値を、胃を想定した溶出試験液第 1 液 (pH 1.2) で胃内容排泄時間 (15 min-3 h) 以上、小腸を想定したリン酸塩緩衝液 (pH 7.4) で小腸通過時間 (3-4 h) 以上薬物放出を抑制し、結腸を想定した第 2 液 (pH 6.8) で薬物を放出することを目標とした。

## 実験の部

**1. 試料** 有核錠の内核には大腸疾患に適応を有するモデル薬物として 5-Fluorouracil (5-FU, 和光純薬)、賦形剤として Lactose (Lac, DMV) を用い、外層には Eudragit L 100-55 (Eud-L, degussa) 及び、Chitosan 10 (Chit, 和光純薬) を用いた。内核・外層を Table 1 に従い、試験管振とう機 (VORTEX-GENIE2, エムエス機器) により、それぞれ 10 分間物理混合して調製した。

**2. OSDrC の調製** モデル杵臼 (中心杵: 直径 6 mm, 外杵: 直径 9 mm) を用い、各処方につき、圧縮圧力 150 MPa, 圧縮速度 1 mm/min 下で、万能圧縮試験機 (AG-5000D, 島津製作所) に

より圧縮成形した。同様の方法により、Core (直径 6 mm) のみも調製した。

**3. 無核錠の調製** 無核錠 (外層成分のみからなる錠剤) は、OSDrC の調製に用いたモデル杵を用いて調製した。中心杵と外杵を一体化した平型の上下杵 (直径 9 mm) を用い、各処方につき、圧縮圧力 150 MPa, 圧縮速度 1 mm/min 下で、万能圧縮試験機により圧縮成形し、錠剤質量 200 mg の無核錠を得た。

**4. 溶出試験** 溶出試験は第 15 改正日本薬局方溶出試験法パドル法に準じ、溶出試験器 (NTR-3000, 富山産業) を用いて行った。溶出試験液には第 1 液 (pH 1.2), 0.05 mol/l リン酸塩緩衝液 (pH 7.4), 及び第 2 液 (pH 6.8) 900 ml を用い、パドル回転数は 50 rpm, 液温は  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  とした。各検体が溶出試験器へ付着あるいは浮上した場合は、日本薬局方に準じたシンカーを用いた。経時的に溶出試験液からガラスフィルターを用いてサンプリングした各検体中の 5-FU 濃度は高速液体クロマトグラフィー (CLASS LC-10, 島津製作所) にて測定した。また、各検体の lag time は、溶出曲線が立ち上がるまでの時間とした。

**5. 錠剤表面状態の観察** 圧縮成形した OSDrC の第 1 液 (pH 1.2) における溶出試験前、及び溶出試験 24 h 後 (24 h 以上風乾後, 24 h 以上デシケーター中で保存) の錠剤表面状態を走査型電子顕微鏡 (JSM-6060, 日本電子) で観察した。

**6. 浸食挙動の評価** 無核錠を日本薬局方に準じたシンカー内に入れ、溶出試験液として第 1 液 (pH 1.2), 0.05 mol/l リン酸塩緩衝液 (pH 7.4), 第 2 液 (pH 6.8) 900 ml を用い、パドル回転数は 50 rpm, 液温は  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  とした条件下で、経時的な錠剤質量の減少量を測定した。経時的に試験液からサンプリングした各錠剤は、事前に質量を測定したサンプル管に入れ、 $70^\circ\text{C}$ , 7 日間乾燥させた。完全に乾燥させた錠剤の質量を測定し、経時的な錠剤の浸食量を算出した。

**7. 細孔分布の測定** 前述の 6. 浸食挙動の評価において、溶出試験液として第 1 液 (pH 1.2) を用いて 24 h 浸食挙動を測定した無核錠の細孔分布は、水銀ポロシメータ (PoreMaster-33, ユアサアイオニクス) を用いて測定した。

**8. 膨潤挙動の評価** 圧縮成形した OSDrC に

Table 1. Ingredients of OSDrC

Formulation (mg/tab)	Core		Outer layer		Total
	5-FU	Lac	Eud-L	Chit	
Eud-L only	10	40	150	—	
Eud-L : Chit=3 : 1	10	40	112.5	37.5	
Eud-L : Chit=1 : 1	10	40	75	75	
Eud-L : Chit=1 : 3	10	40	37.5	112.5	
Chit only	10	40	—	150	
	50		150		200

ついて、溶出試験液における膨潤挙動（上面及び、側面）をデジタルカメラで経時的に撮影し、その画像をコンピューターに取り込み、錠剤の直径方向と垂直方向の変化（増加あるいは減少）から、体積変化を算出した。試験液には 0.05 mol/l リン酸塩緩衝液（pH 7.4）、第 2 液（pH 6.8）900 ml を用い、かく拌はせず、液温は  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  とした。

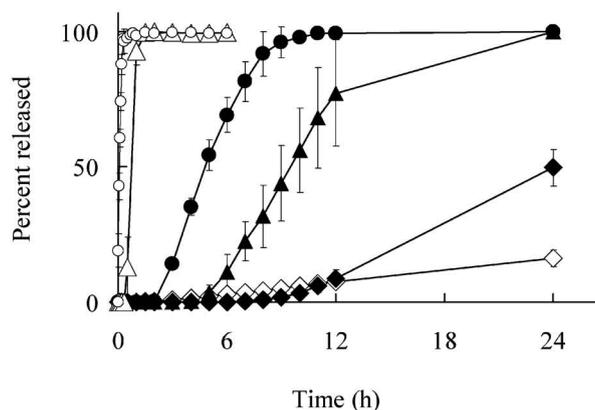
### 結果及び考察

**1. 第 1 液における薬物放出挙動** 溶出試験液に第 1 液を用いて、OSDrC の薬物放出挙動を測定し、Fig. 1(a)に示した。Core の溶出率は 30 min 以内に 100%に達したが、OSDrC の Chit を含む処方での lag time は Eud-L : Chit=3 : 1 では 7 h, 1 : 1 では 4 h, 1 : 3 では 2 h, Chit only では 20 min と Chit の混合比率（Chit%）の減少に伴い延長した。これに対し、Chit を含まない Eud-L only の lag time は 2 h であり、3 : 1, 1 : 1 よりも短い結果となったものの、24 h 後の薬物放出率は 16%と最小であった。

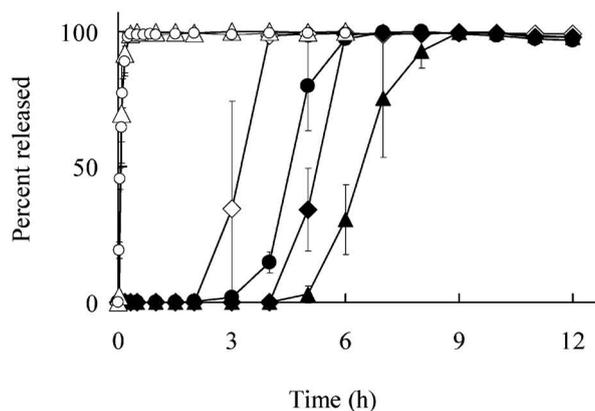
ここで、薬物放出挙動に対する Chit%の影響を評価するために、圧縮成形した OSDrC の第 1 液における溶出試験前後の錠剤表面状態を観察した。試験前には錠剤内細孔の大きな差はみられないものの、試験後（24 h）では Chit%の増加に伴い細孔の増加が確認できた（Fig. 2）。そこで、薬物放出挙動に対する錠剤内細孔の影響を評価するために第 1 液に 24 h 浸食させた無核錠の細孔分布を測定した結果を Fig. 3 に示した。測定したすべての処方において 0.1–100  $\mu\text{m}$  の細孔が確認できた。Eud-L : Chit=3 : 1 では 0.1–0.4  $\mu\text{m}$ , 1 : 1 では 0.5–1.5  $\mu\text{m}$ , 1 : 3 では 0.5–5  $\mu\text{m}$  の分布が多く、Chit%の増加に伴い細孔径の増大が確認できた。細孔容積は Eud-L only が最小であり、3 : 1, 1 : 1 に差はなく、1 : 3 が最大となった。これらの結果から、生じた細孔の径及び容積の増加が lag time に影響を及ぼしたものと推察した。

さらに、第 1 液における錠剤の浸食挙動と Chit%の関係の評価するために、圧縮成形した無核錠の質量減少を経時的に測定し、Fig. 4(a)に示した。Chit%の増加に伴い質量減少率は増加し、第 1 液において溶解する Chit only は 3 h で消失した。これに対し、Eud-L only は 24 h でも質量減少はみられ

#### a) 1st fluid (pH 1.2)



#### b) phosphate buffer (pH 7.4)



#### c) 2nd fluid (pH 6.8)

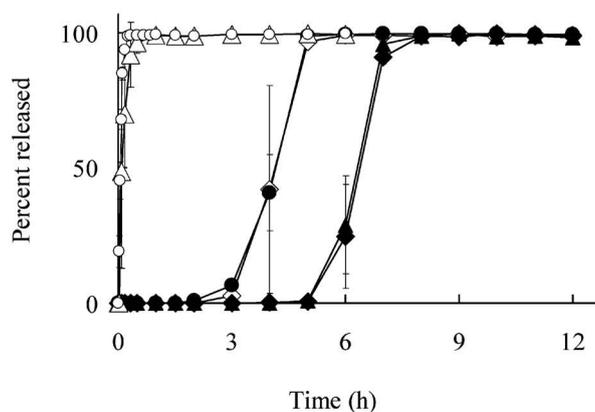


Fig. 1. Drug Release Profiles of 5-FU from OSDrC in Test Medium

Each data point represents the mean  $\pm$  S.D. of three measurements.  $\diamond$ : Eud-L only,  $\blacklozenge$ : Eud-L : Chit=3 : 1,  $\blacktriangle$ : Eud-L : Chit=1 : 1,  $\bullet$ : Eud-L : Chit=1 : 3,  $\triangle$ : Chit only,  $\circ$ : Core.

なかった。また、Eud-L : Chit=3 : 1, 1 : 1, 1 : 3 は 24 h でそれぞれの Chit%と同程度の質量減少があった。したがって、質量減少は酸性条件下におけ

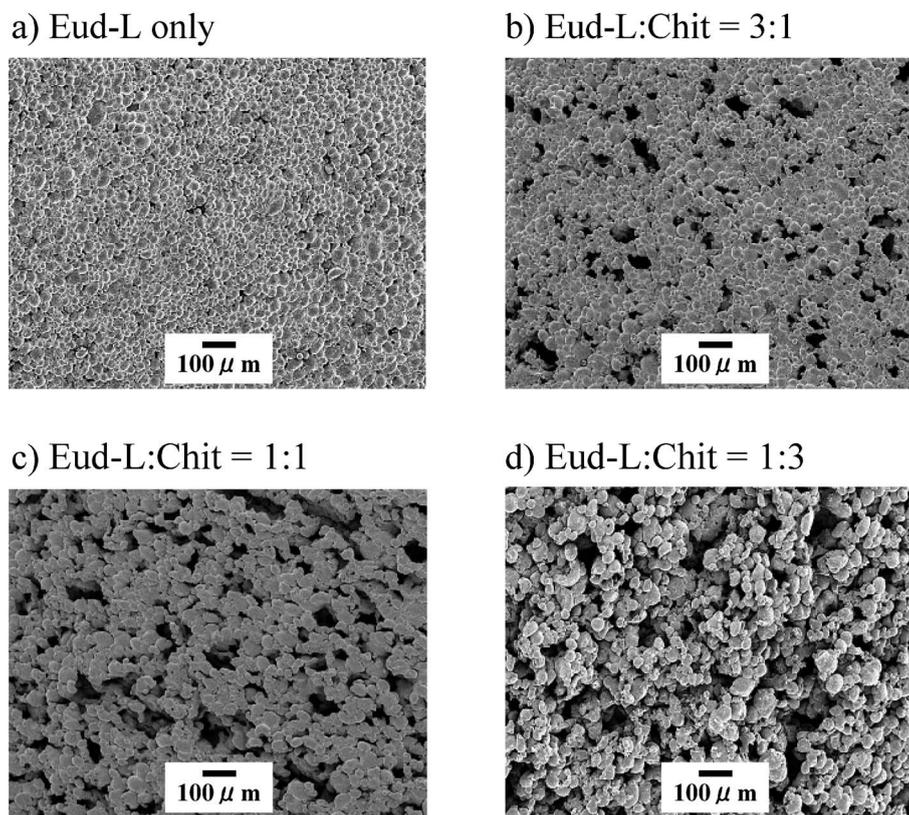


Fig. 2. Scanning Electron Micrographs of the Surface of OSDrC after Dissolution Test in the 1st Fluid  
Scanning electron micrographs magnification:  $\times 100$ .

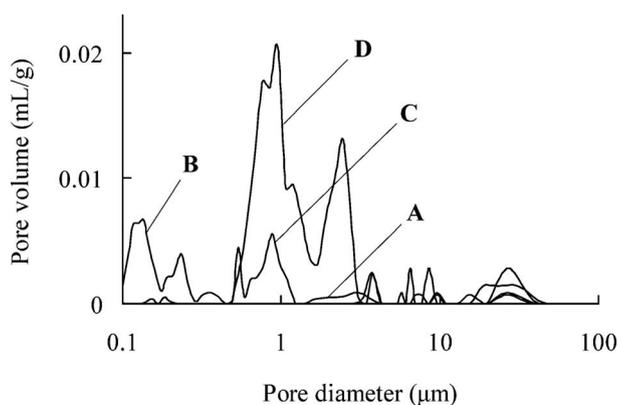


Fig. 3. Pore Distribution of Tablets Consisting Only of Outer Layer after 24 h in the 1st Fluid  
A: Eud-L only, B: Eud-L : Chit=3 : 1, C: Eud-L : Chit=1 : 1, D: Eud-L : Chit=1 : 3.

る Chit の溶解のみによるものであり、その Chit は酸性条件下において、ゲル形成後に溶解する。その溶解速度は試験液に接する Chit の表面積に比例、つまり Chit 量に比例するものと考えられることから、Eud-L の添加により Chit の表面積が相対的に減少し、その溶解速度が低下したと推察した。

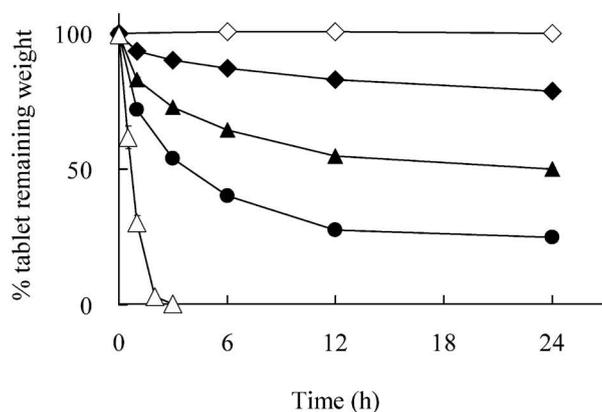
以上より、第 1 液における溶出試験で生じた錠剤

内細孔は Chit の溶解により生じたものであり、この細孔の径及び容積の差により Chit の溶解自体にも差が生じた。その結果 lag time に影響を及ぼしたと考えられ、第 1 液においては Chit% によって lag time を制御できる可能性を示唆した。

2. リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) における薬物放出挙動 溶出試験液にリン酸塩緩衝液 (pH 7.4) を用いて、OSDrC の薬物放出挙動を評価した。その結果は Fig. 1(b) に示した。第 1 液と同様に、Core の溶出率は 30 min 以内に 100% に達したが、OSDrC の lag time は Eud-L : Chit = 1 : 1 では 5 h, 3 : 1 では 4 h, 1 : 3 では 3 h, Eud-L only では 2 h となり、1 : 1 の lag time が最大となった。pH 7.4 では Chit は膨潤し、その挙動は Eud-L : Chit = 3 : 1, 1 : 1, 1 : 3 において確認できた。

そこで、薬物放出挙動に対する膨潤挙動の影響を評価し、Fig. 5(a) に示した。同様に第 2 液についても評価した (後述, Fig. 5(b))。体積は時間の経過に伴い増加し、Chit% が大きいものほど、膨潤した体積も増大した。lag time も Chit% の増加に伴い

## a) 1st fluid (pH 1.2)



## b) 2nd fluid (pH 6.8)

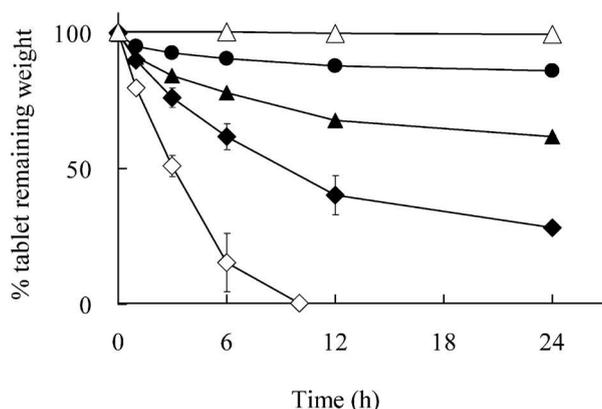
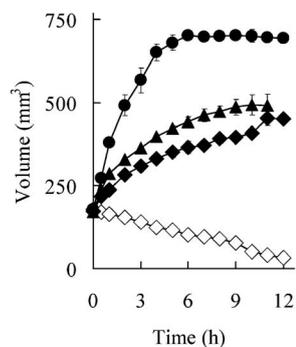


Fig. 4. Change in Weight of Tablets Consisting Only of Outer Layer in Test Medium

Each data point represents the mean  $\pm$  S.D. of three measurements. Most error bars are included in symbols because of small value.  $\diamond$ : Eud-L only,  $\blacklozenge$ : Eud-L : Chit=3 : 1,  $\blacktriangle$ : Eud-L : Chit=1 : 1,  $\bullet$ : Eud-L : Chit=1 : 3,  $\triangle$ : Chit only.

## a) phosphate buffer (pH 7.4)



## b) 2nd fluid (pH 6.8)

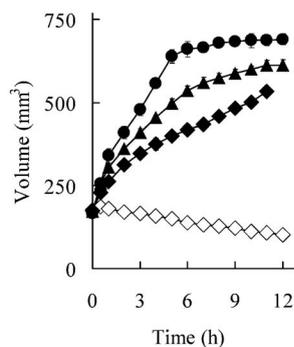


Fig. 5. Swelling Profiles of Tablet Consisting Only of Outer Layer in Test Medium

Each data point represents the mean  $\pm$  S.D. of three measurements.  $\diamond$ : Eud-L only,  $\blacklozenge$ : Eud-L : Chit=3 : 1,  $\blacktriangle$ : Eud-L : Chit=1 : 1,  $\bullet$ : Eud-L : Chit=1 : 3. Chit only bursted within 5 min.

延長する傾向があることから、Chitの膨潤がlag time延長に関与しているものと推察した。さらに、pH 7.4では、Eud-Lは溶解しやすく、Chitは溶解せずに膨潤することから、Eud-L%が高く、Chit%が低いほど多孔質になり易い。そのため、本来であるならば、lag timeはEud-L : Chit=3 : 1 < 1 : 1 < 1 : 3のrank orderになると考えられるが、1 : 3のlag timeは3 hとなり、3 : 1, 1 : 1よりも短い結果となった。1 : 3は溶出試験中、錠剤側面に亀裂が確認できたことから、Chitの膨潤に錠剤強度が耐えられなくなったため、その生じた亀裂から薬物が放出され、結果的にlag timeにこのような差が生じたと推察した。また、亀裂が生じたのは側面のみであり、圧縮面にはみられなかった。膨潤挙動は直径方向よりも、荷重軸方向に顕著にみられたことから、膨潤による体積変化は錠剤の厚さを増加させ、その結果錠剤側面が弱くなり亀裂が生じたものと推察した。

3. 第2液における薬物放出挙動 溶出試験液に第2液を用いて、OSDrCの薬物放出挙動を評価した。その結果はFig. 1(c)に示した。第1液、リン酸塩緩衝液(pH 7.4)と同様に、Coreの溶出率は30 min以内に100%に達したが、OSDrCのlag timeはpH 7.4と比較して、Eud-L onlyと、Eud-L : Chit=3 : 1のlag timeが延長し、結果として3 : 1, 1 : 1のlag timeが5 hと最大になった。1 : 3については、pH 7.4と同様に錠剤側面に亀裂が確認できた。pH 7.4と比較してlag timeが延長したのは、第2液ではpH 7.4と同様に、Eud-Lは溶解し、Chitは膨潤するものの、Eud-Lの溶解がpH減少に伴い溶解速度も低下するため、多孔性が低下した結果と推察した。このEud-Lの溶解性を評価するために、Eud-L only、及びEud-L : Chit=3 : 1について圧縮成形した無核錠のpH 7.4、及び第2液における質量減少を経時的に測定し、Fig. 6に示した。両検体ともpH減少に伴い浸食速度は低下した。pH 7.4、及び第2液において溶解するのはEud-Lのみであるため、Eud-Lの溶解速度はpH減少に伴い低下することが確認された。また、Eud-L onlyと比較して、Eud-L : Chit=3 : 1は浸食挙動に対するpHの影響が少なかった。これはChitの膨潤により、試験液の浸入が抑制され、結果としてEud-Lの溶解が抑制されたと推察した。

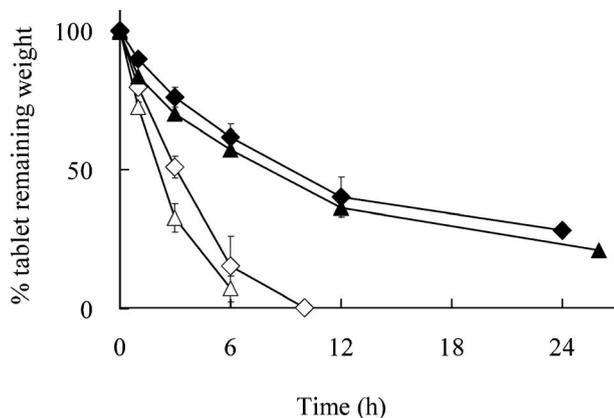


Fig. 6. Change in Weight of Tablets Consisting Only of Outer Layer in Test Medium

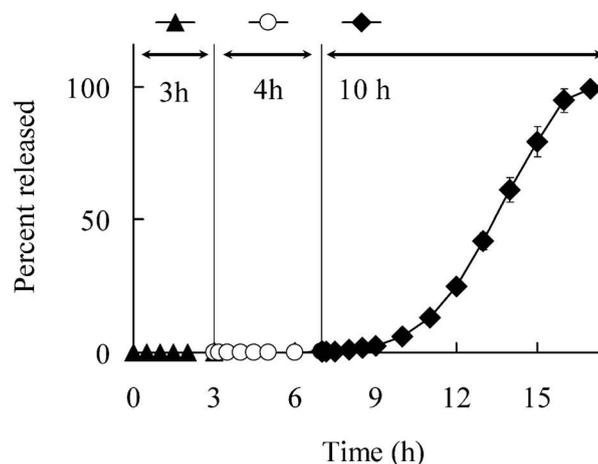
Each data point represents the mean  $\pm$  S.D. of three measurements.  $\Delta$ : Eud-L only in phosphate buffer (pH 7.4),  $\blacktriangle$ : Eud-L : Chit=3 : 1 in phosphate buffer (pH 7.4),  $\diamond$ : Eud-L only in the 2nd fluid (pH 6.8),  $\blacklozenge$ : Eud-L : Chit=3 : 1 in the 2nd fluid (pH 6.8).

また、Fig. 5(b)に示したように、Chitの膨潤がpH 7.4と同様に確認できた。pH 7.4と比較すると、各処方とも膨潤した体積は増加した。これは、pHによるChitの膨潤の差ではなく、pHによるEud-Lの溶解性の差、つまり残存するEud-L量の差が体積の差につながったと推察した。さらに、第1液と同様に、第2液における錠剤の浸食挙動とChit%の関係を評価するために、圧縮成形した無核錠の質量減少を経時的に測定し、Fig. 4(b)に示した。Chit%の減少に伴い質量減少率は増加し、第2液では溶解するEud-L onlyは10hで消失した。これに対し、Chit onlyは24hでも質量減少はみられなかった。したがって、第2液における質量減少はEud-Lの溶解のみによるものであり、その溶解により細孔が生じると考えられることから、Eud-L%がlag timeに関与していると推察した。また、Eud-L : Chit=3 : 1, 1 : 1, 1 : 3は24hでの質量減少率がそれぞれのEud-L含有率を下回る結果となった。これは、Chitの膨潤により、Eud-Lの溶解がいくらか抑制されたと推察した。

以上より、第2液における薬物放出挙動にはEud-Lが溶解したことにより生じた細孔の差、及びChitの膨潤が関与しているものと推察した。

**4. The sequential pH change method** 最終的に溶出試験において、目標とした第1液で3h以上、リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) で4h以上薬物放出を抑制し、第2液で薬物を放出する条件を満たした

a) Eud-L:Chit = 3:1



b) Eud-L:Chit = 1:1

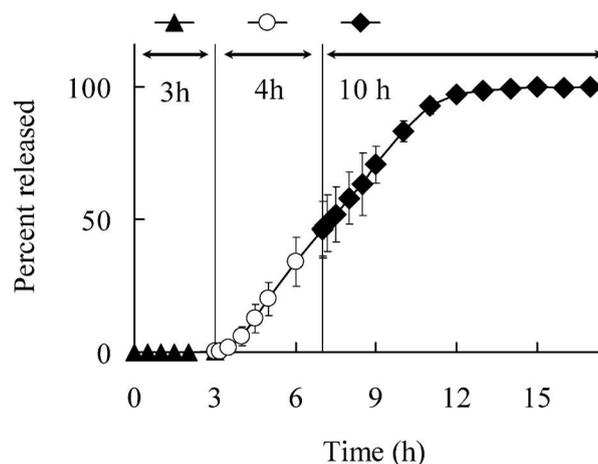


Fig. 7. Drug Release Profiles of 5-FU from OSDrC in the Sequential pH Change Method

Each data point represents the mean  $\pm$  S.D. of three measurements.  $\blacktriangle$ : 1st fluid (pH 1.2),  $\circ$ : phosphate buffer (pH 7.4),  $\blacklozenge$ : 2nd fluid (pH 6.8).

処方、Eud-L : Chit=3 : 1, 1 : 1であった。この2種類について、より生体内の条件に近付けるために、試験液を1種類ではなく、連続的に変更させ、薬物放出挙動を評価した。Fig. 7に示したように、Eud-L : Chit=3 : 1は試験液を変更しない場合と同様に、第1液、リン酸塩緩衝液 (pH 7.4)において薬物の放出を抑制できた。これに対し、Eud-L : Chit=1 : 1では第1液において薬物の放出を抑制できたものの、リン酸塩緩衝液 (pH 7.4)では投入30 min後から徐々に放出され、4h後には約50%の薬物が放出される結果となった。これは、前述の第1液における浸食挙動の結果からEud-L : Chit=

3 : 1 は 3 h で 10%, 1 : 1 は 27% 質量が減少しており, Chit の溶解により生じた細孔に差が生じていたためと推察した.

### 結 論

本研究で調製した OSDrC は, 外層に Eud-L と Chit を有し, 胃を想定した第 1 液では, Chit の溶解により生じた細孔の差が lag time に影響を及ぼし, その溶解速度は Eud-L の物理混合による添加により, 低下させられることが明らかとなった. 小腸を想定したリン酸塩緩衝液 (pH 7.4), 及び結腸を想定した第 2 液では, Eud-L が溶解したことにより生じた細孔の差, 及び Chit の膨潤が lag time に影響を及ぼしたと推察した.

Eud-L : Chit = 3 : 1 を外層成分とする OSDrC は, 各試験液における lag time が, 胃を想定した第 1 液では胃内容排泄時間以上, リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) では小腸通過時間以上であり, さらに試験液を連続的に変更させても同様の結果が得られたことより, 結腸ターゲティング製剤としての可能性が示唆された.

### REFERENCES

- 1) Ashford M., Fell J. T., Attwood D., Woodhead P. J., *Int. J. Pharm.*, **91**, 241–245 (1993).
- 2) Qi M., Wang P., Wu D., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **29**, 661–667 (2003).
- 3) Cheng G., An F., Zou M. J., Sun J., Hao X. H., He Y. X., *World J. Gastroenterol.*, **10**, 1769–1774 (2004).
- 4) Fukui E., Miyamura N., Uemura K., Kobayashi M., *Int. J. Pharm.*, **204**, 7–15 (2000).
- 5) Pang Y. N., Zhang Y., Zhang Z. R., *World J. Gastroenterol.*, **8**, 913–917 (2002).
- 6) Xu C., Zhang J. S., Mo Y., Tan R. X., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **31**, 127–134 (2005).
- 7) Ozeki Y., Watanabe Y., Inoue S., Danjo K., *Int. J. Pharm.*, **259**, 69–77 (2003).
- 8) Ozeki Y., Watanabe Y., Inoue S., Danjo K., *Int. J. Pharm.*, **267**, 69–78 (2003).
- 9) Ozeki Y., Ando M., Watanabe Y., Danjo K., *J. Control. Release*, **95**, 51–60 (2004).
- 10) Ozeki Y., Watanabe Y., Okamoto H., Danjo K., *Pharm. Res.*, **21**, 1177–1183 (2004).
- 11) Hejazi R., Amiji M., *J. Control. Release*, **89**, 151–165 (2003).
- 12) Raghavan C. V., Muthulingam C., Jenita J. A., Ravi T. K., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 892–895 (2002).
- 13) Zambito Y., Di Colo G., *J. Pharm. Pharm. Sci.*, **6**, 274–281 (2003).
- 14) Shimono N., Takatori T., Ueda M., Mori M., Higashi Y., Nakamura Y., *Int. J. Pharm.*, **245**, 45–54 (2002).
- 15) Shimono N., Takatori T., Ueda M., Mori M., Nakamura Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 620–624 (2003).
- 16) Watts P. J., Illum L., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **23**, 893–913 (1997).