

口腔内投与型クロナゼパム半固形製剤の開発

坂田 修, 大西 啓,* 町田良治

Development of Semisolid Dosage Form of Clonazepam for Oral Cavity Administration

Osamu SAKATA, Hiraku ONISHI,* and Yoshiharu MACHIDA
Department of Drug Delivery Research, Hoshi University, 2-4-41 Ebara,
Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan

(Received June 22, 2009; Accepted September 17, 2009; Published online October 7, 2009)

A semisolid dosage form of clonazepam (CZP), administered to the oral cavity between the lower gum and bottom lip with small volume of saline, was developed to obtain the stable dosage which can replace the injection dosage form. Semisolid dosage forms were prepared using a mixture of CZP/(polyethylene glycol 1500 (PEG))/(oleic acid (OA)) at the ratios of 1/39/0, 1/37/2 and 2/36/2 (w/w), named CZP1-PEG, CZP1-PEG-OA and CZP2-PEG-OA, respectively, and were evaluated *in vitro* and *in vivo*. No crystal of CZP was observed in CZP1-PEG-OA for at least 8 days, while CZP crystal appeared before administration for CZP2-PEG-OA. When a small volume of saline was added to CZP1-PEG-OA just before the oral cavity administration, more than 80% (w/w) was found to exist in the soluble form. Each semisolid dosage form (40 mg) was administered to the oral cavity in rats, and CZP 1 mg suspension in 0.5% (w/v) sodium carboxymethylcellulose aqueous solution was administered into rat stomach as a control. CZP1-PEG-OA gave the plasma concentrations of more than 5 ng/ml and 12 ng/ml at 30 min and 1 h after administration, respectively, which might be near the plasma levels effective for the suppression of epileptic seizures in human, while the plasma concentration was less than 5 ng/ml at 30 min or did not reach 10 ng/ml at 1 h for the other formulations. It is proposed that the semisolid dosage form CZP1-PEG-OA should be a possibly useful preparation for the antiepileptic or sedative medication.

Key words—clonazepam; semisolid dosage form; oral cavity administration; physical stability; plasma concentration

緒 言

ベンゾジアゼピン系薬物はてんかん発作抑制や鎮静に用いられる。¹⁾ 急性の発作時には早期対応が重要で、薬物の急速な吸収が必要であることから、静脈内投与が最も効果的とされている。²⁾ しかしながら、発作時に静脈内投与が容易ではないことや、痛みによるノンコンプライアンス、急速投与による血漿中濃度上昇による有害作用の可能性の問題があり、ほかの投与方法の検討が試みられてきた。²⁻⁸⁾ 直腸投与、^{2,3,5)} 鼻粘膜投与^{4,6,7)}は急速吸収され、発作抑制に有用であることが報告されているが、必ずしも扱い易いとは言えない。口腔内投与も急速な吸収が期待されると考えられるが、一般的に鼻粘膜投与や直腸投与に比べ吸収速度や吸収量が低いためか、その報告はあまりみられない。^{8,9)} クロナゼパムは小

発作(ミオクロヌス発作, 失立発作, 點頭てんかんなど), 精神運動発作, 自律神経発作等に幅広く効果を発揮する抗てんかん薬¹⁰⁾で, 呼吸抑制のような副作用もジアゼパムに比して起こり難く, 半減期が長いことから発作の防止に有用と考えられている。³⁾ また, 有効血漿中濃度が低いことから, 口腔粘膜投与でも有効濃度が達成される可能性が高いと推測される。そこで, これまでクロナゼパムの口腔内投与剤形の開発を試みてきたが, クロナゼパムを 0.5 mg 含有したオレイン酸配合プロピレングリコール溶液を調製し口腔内に投与することで, 速やかに高い吸収が得られることを前報¹¹⁾で報告した。すなわち, その溶液を口腔内滴下した後 10 分で血漿中濃度は 20 ng/ml 以上を示し, 速やかに有効血漿中濃度以上に達することが見いだされた。^{3,9)} しかしながら, クロナゼパムは難溶性薬物であるため, そのオレイン酸配合プロピレングリコール溶液から薬物が徐々に析出することが観測され, 物理的安定

星薬科大学医療薬剤学教室

*e-mail: onishi@hoshi.ac.jp

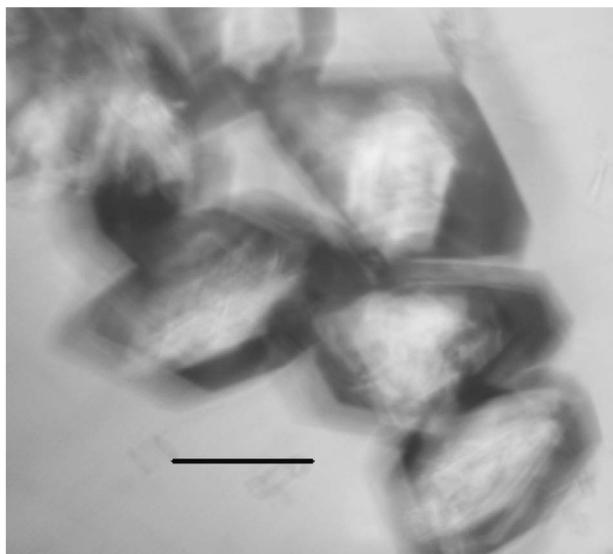


Fig. 1. Precipitation of CZP Crystal in Oral Droplet Solution (CZP/Propylene Glycol(PG)/OA=1/37/2, w/w) 24 h after Preparation
Bar length is 100 μ m.

性の問題が残された。¹¹⁾ 実際、室温下で1日保管した際、明らかな結晶の析出が確認された (Fig. 1)。そこで、本研究では口腔内投与可能で扱い易く、結晶析出が起り難い物理的に安定な剤形の検討を行った。その結果、ポリエチレングリコール 1500 にクロナゼパムを溶解して軟膏状とすることで結晶析出を抑制できることが見い出されたことから、これを再溶解して口腔内に投与するキット製剤として用いることで、急速吸収製剤としての可能性について検討を行った。

実験の部

1. 試料 クロナゼパム [CZP; 和光純薬工業株式会社, 特級生化学用], ポリエチレングリコール 1500 [PEG; 日興製薬株式会社, 特級], オレイン酸 [OA; 日油株式会社, EXTRA OS-85], カルボシキメチルセルロースナトリウム [CMCNa; 和光純薬工業株式会社, 特級] を薬剤の調製に使用した。HPLC の溶媒調製には, アセトニトリル [和光純薬工業株式会社, HPLC 用], 酢酸ナトリウム無水物 [和光純薬工業株式会社, 特級], 酢酸 [和光純薬工業株式会社, 特級] を用いた。動物実験においては, 生理食塩水として, 大塚生食注 [大塚製薬株式会社] を用い, 麻酔にはウレタン (カルバミド酸エチル) [和光純薬株式会社, 特級] を使用した。

2. 実験動物 クリーンレベルの環境下で飼育

Table 1. Formulation of Semisolid Dosage Form of Clonazepam

Formulation	Clonazepam (mg)	PEG1500 (mg)	Oleic acid (mg)
CZP1-PEG	1.0	39.0	—
CZP1-PEG-OA	1.0	37.0	2.0
CZP2-PEG-OA	2.0	36.0	2.0

された Wistar 系雄性ラット (8 週齢, 約 250 g) を東京実験動物株式会社より購入し, 星薬科大学動物センターのクリーンの条件下で飼育した。星薬科大学動物実験指針に従って取扱い, 同動物実験委員会によって承認された実験計画書に基づいて実験を行った。

3. 製剤の調製 4 種類の製剤の調製を以下のように行った (Table 1)。

3-1. クロナゼパム 1 mg 含有ポリエチレングリコール 1500 (CZP1-PEG) 試験管に CZP 1 mg を秤量し, PEG 39 mg を添加し, 水浴を用いて約 80°C で 2 分間加温し溶解した後, 室温でボルテックスミキサーにかけながら半固形軟膏状に製した。

3-2. クロナゼパム 1 mg 含有 5%オレイン酸配合ポリエチレングリコール 1500 (CZP1-PEG-OA) 試験管に CZP 1 mg を秤量し, PEG 37 mg を添加し, 水浴を用いて約 80°C で約 2 分間加温し溶解した後, いったん室温まで冷却後, OA 2 mg を添加し, 続いて約 80°C で約 60 秒間混和し, 室温でボルテックスミキサーをかけながら半固形軟膏状に製した。

3-3. クロナゼパム 2 mg 含有 5%オレイン酸配合ポリエチレングリコール 1500 (CZP2-PEG-OA) 試験管に CZP 2 mg を秤量し, PEG 36 mg を添加し, 水浴を用いて約 80°C で約 2 分間加温し溶解した後, いったん室温まで冷却後, OA 2 mg を添加し, 続いて約 80°C で約 60 秒間混合し, 室温でボルテックスミキサーにかけながら半固形軟膏状に製した。

3-4. クロナゼパム水性懸濁液 (CZP-CMCNa) 試験管に CZP 20 mg を秤量し, これに 0.5% (w/v) CMCNa 水溶液 5 ml を添加し, ボルテックスミキサーで混合し, さらに超音波で 30 分間処理し, CZP 懸濁液を調製した。懸濁液中のクロナゼパムの平均粒子径は, 顕微鏡法で Martin 径を測定した結果, 約 5 μ m であった (Fig. 2)。

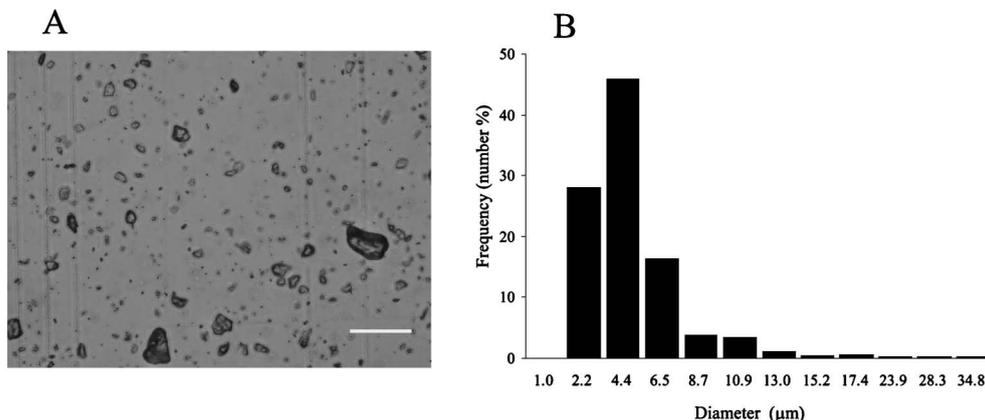


Fig. 2. Photomicrograph of CZP Suspension (A) and Size Distribution of CZP Particles (Martin Diameter)
A, bar length=50 μm. B, n=500.

4. 物理的安定性の測定 得られた半固形製剤を密封して、室温 (23–25°C) に放置し、適時光学顕微鏡を用いて、結晶析出の状況を観測した。

5. 用時溶解性と pH の測定 調製した半固形製剤 40 mg を試験管にとり、薬剤投与時の条件にあわせて生理食塩水 20 μl をマイクロピペットで添加した。37°C に温度調整した恒温槽中で、手動で 5 分間振とう (20 回/min) しながら、軟膏状のサンプルが溶解する時間を測定した。その後、2000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、上澄 10 μl をマイクロピペットでサンプリングし、メタノールで 10 ml に希釈した。その溶液 20 μl を HPLC に注入し CZP を定量し、生理食塩水中に溶存する CZP 量を算出した。用時溶解した際の薬液の pH についても測定を行った。サンプル 40 mg に生理食塩水 20 μl 添加したのでは液量が少ないため、サンプル 0.4 g に対し生理食塩水 0.2 ml 添加して溶解を行い、pH の測定を行った。

6. 吸収実験 ラットに 25% (w/v) ウレタン含有生理食塩水約 1.2 ml を腹腔内投与して、麻酔を行った。ブランク採血後、軟膏状半固形製剤の口腔内投与及び懸濁液の経口投与を行い、適時採血を行い、遠心分離後血漿を採取し、血漿中 CZP 濃度を測定した。半固形製剤に関しては、ブランク採血後、それぞれ 40 mg をオブラート (約 6×6 mm) 上に秤量し、ラットの下唇と下歯茎の間に挿入した。直ちに生理食塩水 20 μl を添加し、リングピンセットの先で軽く混和した。10, 15, 30, 60 分後に、ヘパリン処理したシリンジを用いて採血 (毎回 0.3 ml) を行った。採血したサンプルは 3000 rpm 10 分

間遠心分離し、血漿を採取した。血漿中 CZP 濃度を HPLC により測定した。懸濁液の経口投与については、ブランク採血後、CZP-CMCNa をポルテックスミキサーでよく混合した後、その 0.25 ml (クロナゼパム 1 mg 含有) を、経口ゾンデを用いて胃内に投与し、30, 60, 120, 180 分後にヘパリン処理したシリンジを用いて採血 (毎回 0.3 ml) を行った。採血したサンプルは 3000 rpm 10 分間遠心分離し、血漿を採取した。血漿中 CZP 濃度を HPLC により測定した。

7. HPLC による定量 血漿中 CZP 濃度に関する定量は、Bares らの定量法¹²⁾を参考にして行った。血漿 100 μl につき、0.1 M NaOH 0.2 ml, n-ヘキサン/酢酸エチル (9:1, v/v) 混液 4 ml を添加し、抽出を行った。有機相 3.6 ml を採取し、窒素ガス下、30°C で蒸発乾固を行った後、移動相 40 μl を添加し再溶解させ、20 μl を HPLC に注入し、絶対検量線法より血漿中濃度を算出した。HPLC 分析は室温下で行い、島津 LC-6AD を送液ポンプとし、島津 SPD-10AV UV-VIS を検出器に用いた。分析カラムには資生堂 Capcell Pak C18 column (内径 3 mm×長さ 100 mm) を使用し、感度 0.02 AUFS とし、測定波長 320 nm で分析した。移動相にはアセトニトリル:0.01 M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 7) (4:6, v/v) を用いた。流速は、0.5 ml/min に設定し、クロナゼパムの保持時間が約 4.6 分になるように調整した。サンプル注入量は 20 μl とした。検量線作成に関しては、CZP 0.5 ng, 1.0 ng, 2 ng, 5 ng, 10 ng それぞれに対し、血漿 100 μl を添加し混合し、さらに 0.1 M NaOH 0.2 ml 添加して

混合を行い、*n*-ヘキサン：酢酸エチル（9：1, v/v）4 ml を添加して抽出した。有機相 3.6 ml を採取し、窒素ガス下、30°C で蒸発乾固して、検量線用サンプルとした。これに移動相 40 μ l を添加し再溶解させ、上記の分析条件で 20 μ l を HPLC に注入し、ピーク面積、血漿中濃度をプロットし、検量線とした。

用時溶解時の溶存量の測定については、CZP をメタノールに溶解し、2.5–50 μ g/ml 濃度のメタノール溶液を調製し、同様の HPLC 条件で検量線を作成し、定量した。

結果及び考察

1. 安定性及び用時溶解時の溶解性と pH 投与する前の半固形剤の状態を光学顕微鏡で観測したところ、CZP2-PEG-OA では微細な結晶の析出が観測されたが、CZP1-PEG 及び CZP1-PEG-OA において、結晶の析出は観測されなかった (Fig. 3)。8 日間室温放置した後も、顕微鏡下において、CZP1-PEG 及び CZP1-PEG-OA からの CZP の結晶の析出は観測されなかった。CZP2-PEG-OA については、CZP 2 mg が約 80°C において PEG (36 mg)/OA (2 mg) の基剤中にいったん溶解したものの、基剤中において飽和溶解度以上の濃度に達したために結晶が析出したものと考えられた。以上より、CZP1-PEG 及び CZP1-PEG-OA は物理的に安定な製剤として利用できることが示された。

製剤が半固形状であることから、急速吸収には薬物の速い溶解や分配が必要ではないかと考え、投与時に生理食塩水で用時溶解して用いることとした。その際の製剤の溶解時間や薬物の溶解性、薬物分子

の解離等が吸収に影響を与える可能性が考えられることから、これらについて *in vitro* で検討を行った。薬剤投与時の条件にあわせて CZP1-PEG 及び CZP1-PEG-OA それぞれ 40 mg を生理食塩水 20 μ l を添加し、37°C で振とうして軟膏状のサンプルが完全に溶解する時間を測定した [Fig. 4 (A)]。CZP1-PEG は約 3.4 分、CZP1-PEG-OA は約 3.2 分で溶解した。さらに、軟膏が完全に溶解した後に遠心分離を行い、上澄中のクロナゼパムの溶存量を測定した [Fig. 4 (B)]。CZP は懸濁液作成においてもみられるように水にはほとんど溶けない（水に対する溶解度 10.6 μ g/ml, 37°C)¹³⁾が、本製剤を用時溶解した場合には、CZP1-PEG において 0.76 mg (76%, w/w)、CZP1-PEG-OA で 0.87 mg (87%, w/w) の CZP の溶存が認められ、含有薬物の 3/4 以上が溶解しており、高い溶解性が示された。また、オレイン酸添加は溶存量に大きな影響を与えなかった。用時溶解後の薬液の pH は、CZP1-PEG において、pH 3.5 ($n=3$, 24°C)、CZP1-PEG-OA において、pH 3.6 ($n=3$, 24°C) の弱酸性を示した。クロナゼパムの pK_a が 1.61, 10.35 であることから、溶解時には薬物は分子型を呈するものと考えられた。一般的に薬物は分子型が細胞膜ルートで吸収に関与することから、膜流動性を高めることが知られているオレイン酸¹⁴⁾の添加は、膜流動性に影響して吸収促進に働く可能性が考えられた。

2. 製剤投与後の血漿中濃度 定量に関しては、5 ng/ml までは定量可能であった。すなわち、5 ng/ml に対する定量値は、平均値 5.1 ng/ml、変動係数 7.5% ($n=4$) として得られた。それ未満は定量が困難であり、定量値が 5 ng/ml 未満の場合はその血

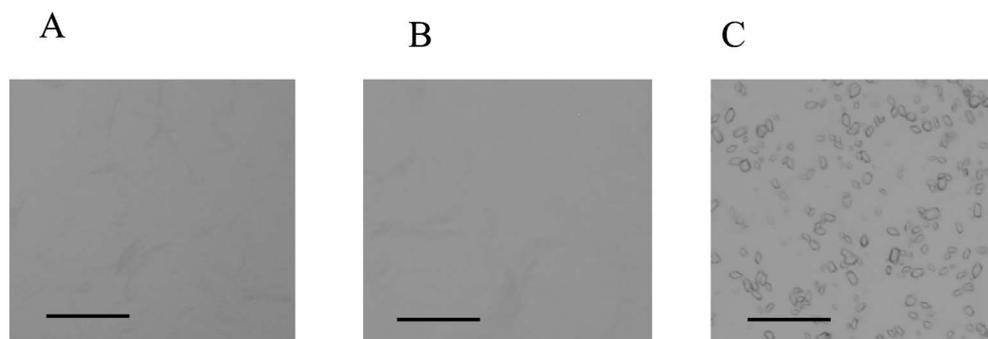


Fig. 3. Photomicrographs of CZP1-PEG (A), CZP1-PEG-OA (B) and CZP2-PEG-OA (C) before Oral Cavity Administration
Bar length is 100 μ m.

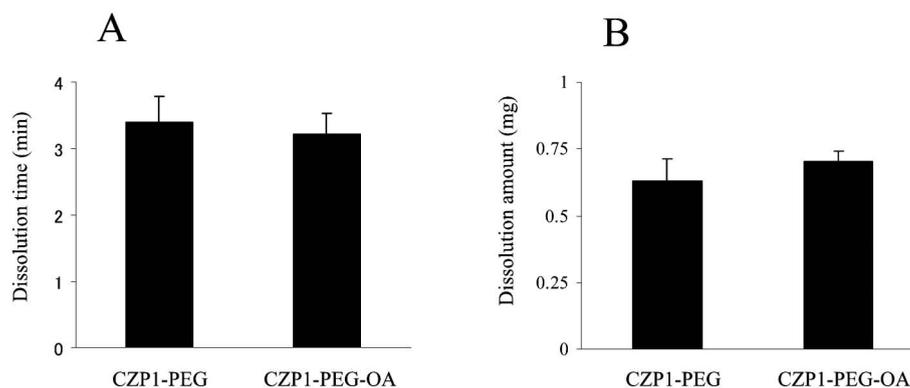


Fig. 4. Time for Semisolid Dosage Form to Dissolve Completely (A) and Amount of Drug Dissolved in Resultant Liquid (B). The results are expressed as the mean \pm S.D. ($n=3$).

Table 2. Plasma CZP Concentration and Pharmacokinetic Parameters on Each Formulation

	CZP concentration at each time ^{a)}				AUC (0–60 min)	MRT (0–60 min)
	10 min	15 min	30 min	60 min		
CZP1-PEG	0.0 \pm 0.0 (3)	2.4 \pm 2.4 (2)	9.0 \pm 5.1 (1)	5.9 \pm 3.0 (1)	314.3 \pm 171.4	38.2 ^{b)}
CZP1-PEG-OA	4.9 \pm 2.6 (1)	4.6 \pm 2.3 (1)	5.8 \pm 3.3 (1)	12.6 \pm 1.6 (0)	402.8 \pm 120.3	42.4 \pm 3.6
CZP2-PEG-OA	4.5 \pm 4.5 (2)	1.8 \pm 1.8 (2)	4.3 \pm 2.3 (1)	13.1 \pm 2.7 (0)	344.3 \pm 94.3	46.7 \pm 6.6
CZP-CMCNa	—	—	0.0 \pm 0.0 (3)	4.3 \pm 2.3 (1)	72.6 \pm 41.6	60.0 ^{b)}

^{a)} The results are expressed as the mean \pm S.E. ($n=3$), and the number in the parentheses is count of animals showing the data less than determination limit (5 ng/ml). ^{b)} The AUC value was 0 for one of the three animals; therefore, only the mean value of two data, not 0, was calculated.

漿中濃度を 0 ng/ml として扱った。血漿中濃度の時間的推移を Table 2 に示す。同時に、定量値が 5 ng/ml 未満（血漿中濃度 = 0 ng/ml）であった動物数を明記した。0–60 min に関する血漿中濃度–時間曲線下面積 AUC (Area under the curve) と平均滞留時間 MRT (Mean residence time) を台形法¹⁵⁾で算出した (Table 2)。

CZP1-PEG では、30 分で 9.0 ng/ml の平均血漿中濃度が得られたが、1 時間値は 30 分値よりも低下し 5.9 ng/ml となった。CZP1-PEG-OA では 30 分以降において 5 ng/ml 以上の平均血漿中濃度が得られ、30, 60 分値はそれぞれ 5.8, 12.6 ng/ml と上昇した。CZP2-PEG-OA は、1 時間値において初めて 5 ng/ml 以上の平均血漿中濃度を与え、1 時間値は 13.1 ng/ml であった。安定性の項で示したように、CZP2-PEG-OA では投与前に結晶の析出がみられたが、実際投与時に口腔粘膜付近に白色の結晶が付着している現象が観察された。CZP1-PEG 及び CZP1-PEG-OA では、動物投与時に結晶の析出は観察されなかった。したがって、CZP2-PEG-OA では、結晶析出によりその分溶容量が減少している

こと、また粘膜面に付着した結晶が薬物の拡散や吸収を妨げることが考えられるため、投与量が 2 倍にもかかわらず、高い血漿中濃度が得られなかったものと推測された。前報¹¹⁾でのプロピレングリコール溶液製剤では、OA 添加で一過性の急速吸収が起きたが持続的な血漿中濃度上昇はみられなかったが、本製剤の場合には、OA の添加で血漿中濃度の上昇を示す傾向がみられた。この現象は基剤の違いに基づく製剤適用時の OA 自身の溶解性や分配に係わっているものと考えられるが、更なる検討が必要と考えられる。CZP 懸濁液経口投与では、1 時間で 4.3 ng/ml の最高血漿中濃度を示したが、観測期間中はこれ以下であった。

AUC においても CZP1-PEG-OA が吸収性に優れている傾向が示された。また、薬物の移行性が MRT に反映されていることが認められた。CZP1-PEG は後半での血漿中濃度の低下で MRT が小さくなり、CZP-CMCNa では吸収が遅いため大きな MRT となった。血漿中濃度、AUC、MRT いずれにおいても、分散分析においてそれぞれの間に有意差はみられなかった ($p > 0.05$, ANOVA)。

CZP 錠剤であるランドセン錠の薬物動態の報告¹⁶⁾によれば、小児、成人の未治療の各種患者 93 例に投与し、クロナゼパム血漿中濃度を測定した 57 例のうち、発作を完全に抑制した 45 例の血漿中濃度は 3–40 ng/ml であった。Dahlin ら¹⁷⁾も発作抑制に必要なクロナゼパムの血漿中濃度を 3.5–12.9 ng/ml と報告しており、いわゆる推奨される基準値 10–60 ng/ml¹⁸⁾ よりも低いレベルで発作抑制が得られることを報告している。また、Browne¹⁹⁾も治療域の血漿中濃度を 5–50 ng/ml としている。小木曾ら²⁰⁾は、ラットにおいてヒト有効血漿中濃度に近いレベル (20–40 ng/ml) で痙攣抑制効果が得られることを報告しており、有効レベルがヒトの基準値に近いことが示されている。したがって、ヒト有効濃度 (Browne によれば 5 ng/ml)¹⁹⁾を目安とすることは意義あるものと考えられる。ただし、製剤評価については、ラットとヒトでは種の違いによる吸収や消失を含めた動態の違い^{16,20–23)}も影響することから、より正確な有用性の評価には更なる検討が必要と考えられる。Table 2 に示したように、今回検討した製剤処方ではバラツキ等で顕著な違いはみられないものの、CZP1-PEG-OA は 30 分で平均血漿中濃度 5 ng/ml 以上、かつ 1 時間において 10 ng/ml を超える血漿中濃度の上昇を示すことから、優れた製剤である可能性が示唆された。現在、半固形製剤の有用性を明らかにするために、水無添加のままでの適用や舌下への適用についても、検討を進めている。

結 論

CZP 1 mg 含有 PEG 製剤及び CZP 1 mg 含有 OA 配合 PEG 製剤は、薬物が PEG 中に溶解した半固形状で、結晶析出が起り難い物理的に安定した製剤であることが見いだされた。また、これらの半固形製剤は生理食塩水で用時溶解した際、高い薬物溶容量を示し、粘膜への適用において、急速吸収の可能性が考えられた。特に、CZP 1 mg 含有 OA 配合 PEG 製剤は、投与後 30 分でヒトの治療域に近い血漿中濃度を示し、1 時間後には 10 ng/ml 以上の血漿中濃度を示した。本製剤は、急性のてんかん発作やてんかん防止、鎮静の維持療法に有用である可能性が考えられた。今後は、水無添加での適用や舌下への適用等の適用法の検討、さらに用量や吸

収促進剤の詳細な検討を行うことにより、半固形製剤の CZP 急速吸収剤としての有用性が明らかになるものと考えられる。

REFERENCES

- 1) Ashton H., *Drugs*, **48**, 25–40 (1994).
- 2) Knudsen F. U., *Arch. Dis. Child.*, **54**, 855–857 (1979).
- 3) Rylance G. W., Poulton J., Cherry R. C., Cullen R. E., *Arch. Dis. Child.*, **61**, 186–188 (1986).
- 4) Bechgaard E., Gizurarson S., Hjortkjaer R. K., *J. Pharm. Pharmacol.*, **49**, 747–750 (1997).
- 5) Scott R. C., Besag F. M., Neville B. G., *Lancet*, **353**, 623–626 (1999).
- 6) Gizurarson S., Gudbrandsson F. K., Jónsson H., Bechgaard E., *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 425–427 (1999).
- 7) Li L., Gorukanti S., Choi Y. M., Kim K. H., *Int. J. Pharm.*, **199**, 65–76 (2000).
- 8) Onishi H., Sakata O., Masuda K., Machida Y., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **31**, 607–613 (2005).
- 9) Schols-Hendriks M. W., Lohman J. J., Janknegt R., Korten J. J., Merkus F. W., Hooymans P. M., *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **39**, 449–451 (1995).
- 10) Pinder R. M., Brogden R. N., Speight T. M., Avery G. S., *Drugs*, **12**, 321–361 (1976).
- 11) Sakata O., Onishi H., Machida Y., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **34**, 1376–1380 (2008).
- 12) Bares I. F., Pehourcq F., Jarry C., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**, 865–869 (2004).
- 13) Society of Japanese Pharmacopoeia, “Orange Book '09,” Yakuji Nippo Limited., Tokyo, 2009.
- 14) Kondoh M., *Yakugaku Zasshi*, **126**, 711–721 (2006).
- 15) Yamaoka K., Tanigawara Y., Nakagawa T., Uno T., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **4**, 879–885 (1981).
- 16) Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd., “Interview Form: Landsen,” 2008, p. 10.
- 17) Dahlin M. G., Amark P. E., Nergårdh A. R., *Pediatr. Neurol.*, **28**, 48–52 (2003).
- 18) Takaku F., Yazaki Y., “Manual of Therapeutic Agents 2009,” Igaku-Shoin Ltd., Tokyo,

- 2009, pp. 333–334.
- 19) Browne T. R., *Arch. Neurol.*, **33**, 326–332 (1976).
- 20) Ogiso T., Ito Y., Iwaki M., Yamamoto Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 446–449 (1989).
- 21) Vyas T. K., Babbar A. K., Sharma R. K., Singh S., Misra A., *J. Pharm. Sci.*, **95**, 570–580 (2006).
- 22) Char H., Kumar S., Ciccone G., Piemontese D., Malick A. W., Behl C. R., *Pharm. Res.*, **10**, 1378–1380 (1993).
- 23) Wang L., Edge J. H., Ono J., Walson P. D., *Chin. Med. J.*, **105**, 726–731 (1992).