総合論文 **マイクロエマルション-ベース-オルガノゲル**

宮田 勇・米勢政勝

名古屋市立大学 薬学部 薬品物理化学教室 (〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1)

W/O 型マイクロエマルションにゼラチンを添加して生成される新規ゲル (マイクロエマルション-ベース-オルガノゲル, MEBG) が, 1986 年に Luisi らと Eicke らによって最初に報告された。それ以来, MEBG の形成条件, 形成機構, 構造などの多くの研究がなされている。MEBG は熱可逆性の透明なゲルであり, その系内に水相領域とオイル領域が共存しており, 多くの反応性のある分子を共同的に可溶化することができる素材である。従って, 化学的, 薬学的な応用に対して, MEBG は非常に興味ある素材となっており, 応用研究も始められている。この総説では, まず, MEBG の形成条件, 形成機構, 構造の研究について記述した。次に, MEBG の物理化学的性質について記述し, さらに, MEOG の応用研究の例および応用への基礎研究について記述した。

(連絡者: 宮田勇) Vol.1, No.7, 743 (2001)

総合論文 **薬物担体粒子の構造設計**

川口春馬

慶應義塾大学理工学部応用化学科 (〒223-8522 横浜市港北区日吉 3-14-1)

低分子医薬はしばしば高分子微粒子に包含にされて利用させる。それにより, 薬物の安定化, ターゲッティング化, 徐放化などを効果的に行うことができるからである。この目的で使われる粒子は, 無毒であり, 残留性が小さいことが望まれる。そのような基準にたつて, 多くの場合, 薬物担体粒子を構成する高分子として, 天然高分子, および/または, 生分解性高分子が選択される。粒子の作製法は既存の高分子から微粒子を作成する方法および微粒子作製重合に大別される。既存の高分子から微粒子を作製する方法には, 沈殿法, 相分離法, 自己組織化法, 高分子溶液滴から溶媒を除く方法, 液滴硬化法, スプレイドライ法, などがある。微粒子精製重合には, 乳化重合や変則乳化重合, 分散重合, 沈殿重合がある。いずれの方法でも, 好ましい粒子を得るためには表面を安定に保つことが必要で, その目的のために, しばしばポリエチレングリコール, あるいはポリエチレングリコールと疎水性ポリマーからなるブロック共重合体が使われる。後者を使った高分子ミセルや, 内部にスペースをもつナノ粒子であるデンドリマーは, 今後用途を拡張していくものとして特に期待される。

(連絡者: 川口春馬) Vol.1, No.7, 757 (2001)

総合論文 **時間治療とパルス薬物放出製剤**中嶋武尚^a・牧野公子^b

a 日本シエーリング(株)PFS 準備室

b 東京理科大学薬学部

生体内にはサーカディアンリズムが存在し, 薬物動態に影響を与えるような多くの因子が一日の中で変動することが知られている。例えば, 血流速度, 血圧, 血中のホルモン濃度などは一日の中で時間に依って異なる。50 年間, 薬物投与時間と治療効果の関係が時間薬理学の領域で研究されてきた。その結果, ある種の薬に関しては, 薬物の血中濃度が一定であることよりも, ある時間に投与することが有効であることが明らかになった。このような薬物に対しては, 新しい薬物放出システムであるパルス薬物放出製剤が有用である。本稿では, S 字型薬物放出システム, 時間制御型崩壊システム, PULSINCAP, OROS 時間遅れ薬物放出システム等のパルス薬物放出製剤を紹介する。また, 錠剤成形の新技术として, 3 次元プリントを紹介する。

(連絡者: 中嶋武尚) Vol.1, No.7, 765 (2001)

マイクロエマルション-ベース-オルガノゲル Microemulsion-based-organogels

宮田 勇

名古屋市立大学薬学部
薬品物理化学教室
〒467-8603
名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

Isamu MIYATA

Department of Physical Chemistry,
Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Nagoya City University
3-1, Tanabe-doori, Mizuho-ku,
Nagoya-shi, 467-8603

米勢政勝

名古屋市立大学薬学部
薬品物理化学教室
〒467-8603
名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

Masakatsu YONESE

Department of Physical Chemistry,
Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Nagoya City University
3-1, Tanabe-doori, Mizuho-ku,
Nagoya-shi, 467-8603

Abstract: A novel gel (Microemulsion-based-organogel, MEBG) prepared by the addition of gelatin to W/O microemulsion, was first reported by Luisi et al. and Eicke et al. in 1986. The conditions and mechanism for MEBG formation and MEBG structures have extensively been investigated by methods. MEBGs are a transparent and thermally reversible and in which, water phase and oil phase domain were present together. Therefore, MEBGs are materials which enable us to solubilize mutually many more reactive molecules. Consequently, MEBGs are very interesting materials for the chemical and pharmaceutical applications, and also applied studies have been started. In this review, first, studies of the conditions and mechanism for MEBG formation and MEBG structures, next, physico-chemical properties for MEBGs, furthermore, examples for applied studies for MEBG and fundamental study toward application, were described.

Key words: Microemulsion, Organogel, Water-in-Oil Structure, Bicontinuous Structure, Transdermal Drug Delivery

1 はじめに

オイル/エアロゾル-OT (bis(2-ethylhexyl)sodium sulfo-succinate, AOT)/水三成分系の W/O 型マイクロエマルションにゼラチンを添加して生成される新規ゲルが、1986 年に Luisi ら¹⁾ と Eicke ら²⁾ によって最初に報告された。このゲルは熱可逆性の透明なゲルであり、その系内に水相領域とオイル領域が共存しており、マイクロエマルション-ベース-オルガノゲル (Microemulsion-based-organogel) と命名された。

ベースとなっているマイクロエマルションは、コサーファクタントとして適度な鎖長のアルコールを添加することにより、通常、オイル/コサーファクタント/界面活性剤/水の四成分系 (コサーファクタントを必要としない系もある) からなる透明または淡青色で、相対的に低粘性のコロイド分散系であり、熱力学的に安定な系を構成するといわれている³⁾。マイクロエマルションはそのタイプにより、水中にオイル液滴が分散している O/W 型、オイル中に水液滴が分散している W/O 型、水相及びオイル相がランダムに絡み合ったような共連続

型 (bicontinuous type) に分類される³⁻⁵⁾。マイクロエマルション-ベース-オルガノゲル (以下、MEBG と略称する) のベースとなるマイクロエマルションは W/O 型であると言われている。

ゲル (gel) は「溶媒に不溶の三次元網目構造をもつ分子量無限大の高分子膨潤体」として定義されている^{6,7)}。オルガノゲル (organogel) はリオゲル (lyogel) と同義語で、ゲル固相の骨組みの間に有機溶媒を含むゲルのことをいい、水を含むものをハイドロゲルと呼ばれる。ハイドロゲルの研究は多くなされており、我々も研究を行っている⁸⁻²⁰⁾。それに対して、オルガノゲル自身についての研究はハイドロゲルと比較して、まだ多くなされていない現状であると共に、MEBG は界面活性剤、オイル、水及び高分子 (ゼラチン) からなる複雑な系であるために、ゲルの形成条件、形成機構、ゲル構造などの未解明の問題が多く、MEBG に関する研究は様々な角度からなされている²¹⁻³⁷⁾。また、MEBG の応用研究³⁸⁻⁵⁴⁾ についても始められている。我々の研究室で行なった研究を紹介すると共に、他の研究者の研究についても触れ、MEBG について述べる。

2 MEBG の形成法と形成条件

2.1 MEBG の形成法

MEBG の形成法は, Luisi ら¹⁾ によると「イソオクタン/AOT/水系のミセル溶液に固体状態のゼラチンを加え, 40 ~ 50℃で激しく攪拌した後, この加熱混合物を, 非常に高粘性で均一になるまで攪拌混合下, 約 30℃で冷却する。その後, この白濁した高粘性混合物を透明なゲルを形成するまで室温で静置する。」とある。我々は, Luisi らの方法に基づき形成を試みたが, ゲルを形成することができなかった。特に, ゼラチンを加えた混合物を均一に攪拌混合することが非常に困難であった。また, Quellet ら²⁾ によると「AOT/イソオクタンの逆ミセル溶液とゼラチン水溶液を 60℃で混合し, 十分攪拌後, 室温で放冷する。」とある。Quellet らの方法では, 二つの溶液を混合するときに組成成分の一部損失をまねく可能性があるため, 我々は Luisi らの方法に, ゼラチンを加えた後の混合物の均一化に若干の改良を加えることで, 組成成分の損失なく, MEBG の形成が比較的容易にできるようになった。我々の改良した方法⁵⁵⁾ は次に記述した形成法である。それは, 密栓付き試験管にイソオクタン/AOT (ナカライテスク社)/水系マイクロエマルジョン溶液を調製し, 粉末状ゼラチン (Sigma 社, 酸処理, Type A : 300 Bloom) を添加後, すぐに加熱するのではなく, ゼラチンをマイクロエマルジョン溶液中に分散・平衡膨潤させるために, ボルテックスミサーで混和して数時間室温に静置した。その後, 加熱温度を 60 ~ 70℃にして, 懸濁混合物を約 10 分間加熱し, 再度ボルテックスミサーで混和して室温に静置して透明な MEBG を得る方法である。

2.2 MEBG の形成条件

Luisi ら¹⁾ は, 「イソオクタン/AOT/水系の逆ミセル溶液に, 水に対して 10 ~ 20%のゼラチンを添加することによって得られた。」と記述しているのみで, MEBG の形成へのイソオクタン/AOT/水系マイクロエマルジョンの組成領域とゼラチン量の関係がまだ明確になっていなかった。我々は, マイクロエマルジョン組成領域とゼラチン量が, MEBG の形成にどのように関係しているかを明らかにするために, イソオクタン/AOT/水系でのゲル化領域を決定することを試みた。Fig. 1⁵⁵⁾ にイソオクタン/AOT/水系の三角相図上に, 25℃での MEBG の透明ゲル (点線で囲った領域) と白濁ゲル (灰色の領域) が形成した粗い領域を示した。ゼラチン量を示す F ($=W_g/W_w$, W_g :ゼラチン重量, W_w :水重量) は, 水に対するゼラチンの重量比を表す。これより, ゼラチン量が増加すると MEBG の透明ゲルの形成

領域が拡大することがわかった。MEBG は熱可逆性オルガノゲルであるので, 25℃で系が透明な高粘性ゾル状態であれば, 温度低下によって MEBG が形成し, 25℃よりも低い温度では当然, ゲル化領域は拡大した。また, 透明ゲルの形成領域はベースとなるイソオクタン/AOT/水系マイクロエマルジョン組成に依存することが明らかとなった。MEBG 形成におけるマイクロエマルジョン組成の依存性は, マイクロエマルジョンの微視的構造の変化, すなわち W/O 型から共連続型への変化に関係していると考えられる。このことについては後で述べる。

Fig. 1 MEBG Regions which is Added Gelatin at Various F ($=W_{\text{gelatin}}/W_{\text{water}}$) into Isooctane/AOT/Water Microemulsion Systems at 25℃. White regions ; transparent MEBG, dark regions ; opaque gels.

MEBG のベースとなるマイクロエマルジョンの組成において, 界面活性剤として二本鎖のアニオン性の AOT (bis(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate) が用いられているが, AOT の誘導体³⁴⁾ と生体界面活性剤であるレシチンを除いて, 現在, 他の界面活性剤を用いて MEBG を形成したという報告はないが, AOT に非イオ

ン性界面活性剤の Tween85 を混合させた系で MEBG を形成した報告はある^{26, 54)}。レシチンの場合、レシチンオルガノゲルと呼ばれ、ゼラチンなどの高分子の添加は必要としないが、少量の水を含む組成でのみゲル化することが報告されている^{26, 50, 51, 56-59)}。

次に、マイクロエマルション組成のオイルは、ヘプタンとイソオクタンを用いた報告がほとんどであるが、他に炭化水素であるブタン¹³⁾、ヘキサン^{43, 46, 48, 50, 51)}、デカン^{34, 47)}、ドデカン³⁵⁾、シクロヘキサン^{34, 39)}、トルエン⁴⁶⁾、生体適合性の良いイソプロピルミリスレート⁵⁴⁾の報告がある。中鎖のアルカンであるヘプタンとイソオクタンが多く用いられているのは、ベースとなるマイクロエマルションの単一相領域の広さとその微視的構造に起因する MEBG の形成の容易さによるものと思われる。ヘプタンとイソオクタンを用いた MEBG は形成しやすいが、ヘプタンやイソオクタンの揮発性が高いために、開放系での常温安定性があまり良くない。我々はオイルとして揮発性の低いドデカンとイソプロピルミリスレートを用いて、イソオクタン系と同じ条件で MEBG の形成を試みたが、イソオクタン系に比較して室温でのゲル化領域が非常に狭く、AOT の量がドデカン系で系全体の 30 数%以上、イソプロピルミリスレート系で 40 数%以上必要であることがわかった。

ゲル化剤としてすべてゼラチンが用いられている。マイクロエマルションへの ABA ブロックコポリマー添加によるネットワーク形成の報告^{27, 31, 60, 61)}があるが、現在、他に高分子を用いて MEBG を形成したという報告はない。MEBG 形成には、マイクロエマルション中に可溶化する最大量よりも、わずかに過剰な量のゼラチンが必要とされ¹⁾、界面活性剤と水の量によるが、系に対してゼラチン濃度が 5 ~ 6% 以上が必要と報告されている²⁹⁾。また、用いられているゼラチンはほとんど酸処理されたものである。アルカリ処理したゼラチン (Sigma 社, Type B : 225 Bloom) を用いた場合において、我々は同じ組成において MEBG を形成を試みたが、酸処理ゼラチンに比較してかなり柔らかいゲルが形成した。これは、MEBG 形成に、ゼラチンのカチオン荷電と AOT のアニオン荷電の静電的相互作用が大きな役割を果たしていると思われる。ゼラチンと AOT の相互作用についての詳細は文献^{62, 63)}を参照されたい。

MEBG の形成条件は、以上述べたように、界面活性剤に AOT、オイルに中鎖の炭化水素、ゲル化剤に酸処理ゼラチンを用い、マイクロエマルションの組成、特に水と AOT のモル比を考慮することによって、基本的には容易に形成することができる。水と AOT のモル比を考慮する目安として、マイクロエマルション単一相の安

定となる温度の上限が、ゼラチンのヘリックス-コイル転移温度 (30℃) 付近にあることである^{28, 30)}。

3 MEBG の構造と形成過程

3.1 MEBG の構造

MEBG の構造については、Eicke ら²⁾ はイソオクタン/AOT/水系 MEBG の小角 X-線散乱 (SAXS) 測定によって、ゼラチンが水滴中ではランダムコイルで可溶化され、イソオクタン中ではコラーゲン状ヘリックスの橋架けによって近傍ナノ粒子間を繋いだ三次元的ネットワークを形成しているという構造モデル (Fig. 2) を提案した。一方、Atkinson ら¹⁰⁾ は n-ヘプタン/AOT/水系 MEBG の小角中性子散乱 (SANS) 測定によって、マイクロエマルション水滴系と共存する剛体性のゼラチン-水棒状構造のネットワークを形成しているという構造モデル (Fig. 3) を提案した。また、Luisi ら²¹⁾ はイソオクタン/AOT/水系 MEBG の NMR 測定によって、ゼラチンと水の堅いネットワークが直径で 400 ~ 2000 Å の有機溶媒を取り囲んだ構造をしていると推定した。Luisi らのモデルは Atkinson らのモデルに近い。これらの三つのモデルを、Petit ら²⁹⁾ は Fig. 4 に示すように模式的な図にまとめている。Petit らは、イソオクタン/AOT/水系 MEBG のでの SANS と SAXS の両方の測定を行なった結果、Eicke らのモデルを支持した。これに対して、Aliotta ら³⁶⁾ は n-ヘプタン/AOT/水系 MEBG 種々の実験法 (密度法、屈折率法、電導度法、レオロジー法、誘電率法、超音波法、極超音波法) を行い、その結果 Atkinson らのモデルを支持した。このよ

Fig. 2 Proposed Model Structure of MEBG by Eicke et al.

Fig. 3 Proposed Model Structure of MEBG by Atkinson et al. Aqueous microemulsion droplets in equilibrium with a network of rods of gelatin and water, surrounded by the surfactant AOT.

Model 1

Model 2

Model 3

Fig. 4 Three Structure Models of MEBG. Model 1; cylindrical model (Luisi et al.), Model 2; reverse micelles and cylindrical structure (Atkinson et al.), Model 3; reverse micelles interconnected by gelatin rods (Eicke et al.).

うに、Eicke らのモデルと Atkinson らのモデルのどちらを支持するか、現在意見が分かれています。

3・2 MEBG の形成過程⁶⁴⁾

MEBG の平衡構造に関しては様々に研究され、前述したモデルが提案されているが、構造形成に関する研究

はなされていない。MEBG が形成されるとき、マイクロエマルションはドロプレット構造 (W/O 型構造) から油相、水相とも連続な 3 次元ネットワークとなる共連続構造 (bicontinuous 構造) へのモルフォロジー転移が起こると考えられる。MEBG は調製を高温 (約 60℃) で行うため、このドロプレット-共連続モルフォロジー転移過程は以下の 2 通りが考えられる。(a) 温度変化によりベースのマイクロエマルション自身のモルフォロジーが転移し、ゲル化剤によりその構造が固定する。(b) 温度に対してマイクロエマルション自身のモルフォロジーは変化せず、ゼラチンを添加することで共連続構造へ転移する。

上記の 2 つのモデルを検証するために、我々は SANS 測定により、まずマイクロエマルション単独のモルフォロジーの温度依存性を検討し、次にマイクロエマルションにゼラチンを少量添加 (系全体にゲル化が起こらない程度の添加量) した系のモルフォロジー変化を追跡した。SANS 測定には、東京大学物性研究所の装置 SANS-U を使用した。SANS 測定用試料の調製には、水相と油相をマッチングさせて AOT 界面膜を浮き上がらせたフィルムコントラスト法で行なった。マイクロエマルションの組成はイソオクタン : AOT : 水の重量比が 0.28 : 0.12 : 0.60 であった。

Fig. 5 に種々の温度でのマイクロエマルションの散乱曲線 (散乱強度 vs. 散乱ベクトル) を示す。この散乱曲線はドロプレット型構造の典型的のものであり、温度上昇によって、共連続型構造の散乱曲線は出現せず、マイクロエマルションの微視的構造の温度依存性はないこと

Fig. 5 Scattering Intensity vs. Scattering Vector, q for Microemulsion of Weight Ratio of Isooctane : AOT : Water = 0.28 : 0.12 : 0.60.

○; 30℃, +; 35℃, △; 42℃, ◇; 45℃, □; 47℃, ▽; 50℃

が明らかとなった。さらに、マイクロエマルションがドロプレット型であるかを確かめるために、散乱曲線をフーリエ変換して、散乱長密度の密度相関関数を解析した。その結果を Fig. 6 に示す。最初のピークは隣のドロプレットとの密度相関を示す。二つ目のピークは隣のドロプレットよりも遠いドロプレットの密度相関を示す。これより、マイクロエマルションはドロプレット型であることが確認された。

Fig. 6 Correlation Function of Scattering Length Density vs. Interdroplet Distance, r for Microemulsion of Weight Ratio of Isooctane : AOT : Water = 0.28 : 0.12 : 0.60. $\circ$; 30°C, +; 35°C, $\triangle$; 42°C, $\diamond$; 45°C, $\square$; 47°C, ∇ ; 50°C

マイクロエマルションに少量ゼラチン添加したときの散乱曲線を Fig. 7 に示す。散乱ベクトル, q の小さいところで、散乱強度が上昇し、さらに散乱ピークが消失してくる。これはドロプレット間の融合を示している。ゼラチンをさらに増加させれば、ピークは完全に消失することが推察される。マイクロエマルションの温度依存性の解析と同様に、散乱曲線をフーリエ変換して、散乱長密度の密度相関関数を解析した結果を Fig. 8 に示す。ゼラチン添加によって、ドロプレット間距離, r の小さいところで、密度相関が上昇して、隣のドロプレットとの相関が区別できなくなっている。これは散乱曲線と同様に、ドロプレット間の融合を示している。

以上のことより、マイクロエマルション自身のモルフォロジーは温度を変化させてもドロプレット構造であるが、ゼラチンをごく少量添加することでドロプレットが静的に融合し、添加量を増すに従い融合が進行していく事が明らかとなった。しかし、少量 ($\leq 5\%$) のゼラチンを添加したときもマイクロエマルションのモルフォロジーは基本的にドロプレット構造であると考えられ、共連続構造への転移には至っていないことが明らかに

Fig. 7 Scattering Intensity vs. Scattering Vector, q for Microemulsion of Weight Ratio of Isooctane : AOT : Water = 0.28 : 0.12 : 0.60 at Different Added Amounts of Gelatin, F . $\circ$; $F=0$ at 30°C, +; $F=0.01$ at 30°C, $\triangle$; $F=0.03$ at 30°C, ∇ ; $F=0.05$ at 27°C.

Fig. 8 Correlation Function of Scattering Length Density vs. Interdroplet Distance, r for Microemulsion of Weight Ratio of Isooctane : AOT : Water = 0.28 : 0.12 : 0.60 at Various $F (= W_{\text{gelatin}} / W_{\text{water}})$. $\circ$; $F=0$ at 30°C, +; $F=0.01$ at 30°C, $\triangle$; $F=0.03$ at 30°C

なった。ドロプレット構造から共連続構造へのモルフォロジー転移は、高濃度のゼラチンによるものか、あるいはマイクロエマルション中のゼラチンがゲル化することにより引き起こされるのかを明らかにすることがSANS測定による今後の課題である。

4 MEBG の物理化学的性質⁵⁵⁾

4.1 ベースとなるマイクロエマルションの基礎物性

イソオクタン/AOT/水系の AOT 含量が 40w/w%

以下での我々が作製した 30℃での粗い相図を Fig. 9 に示す。相境界はイソオクタン/AOT の重量比を一定にして、水を滴下していくタイトレーション法による電気伝導度測定で決定した。L は単一透明領域であり、それ以外では白濁相、または二相領域である。L 領域内は透明であるので、マイクロエマルションが存在していると考えられる。また、水が極めて少ない領域では膨潤逆ミセルが共在していると思われる。

Fig. 9 Phase Diagram for Isooctane/AOT/Water Systems at 30°C (weight fraction) / L; transparent single-phase regions.

L 領域内での電気伝導度測定から、AOT 含量が 40w/w%以下での領域では、水含量が 40w/w%以上の領域を除き、電気伝導度が $1 \mu\text{S cm}^{-1}$ 以下を示したことより、この領域では W/O 型マイクロエマルションが存在することが確認された。また、水含量が 40w/w%以上の L 領域では、水含量の増加に伴い電気伝導度が徐々に数百 $\mu\text{S cm}^{-1}$ まで上昇し、いわゆるパーコレーション挙動を示したので、この領域では W/O 型から一部、共連続型マイクロエマルションに移行していることが明らかとなった。Fig. 1 で示したように、この領域での MEBG の形成は、ゼラチン添加量が少量 ($F=1$) でよいことがわかった。

粘度測定の結果から、水が少ない領域を除き、非ニュートン流動を示した。また、電気伝導度測定から明らかになった W/O 型マイクロエマルションが存在する領域では、見かけの粘度が数 mPas を示した。それに対して、一部、共連続型マイクロエマルションに移行していると思われる領域では、水含量の増加に伴い見かけ粘度が徐々に数十 mPas に上昇していることが明らかになった。

4・2 ゴル状態での MEBG の特性

4・2・1 電気伝導度挙動

MEBG のゴル状態 (30℃) での電気伝導度が添加さ

れたゼラチン量によってどのように影響するかを見るために、我々は L 領域内でのイソオクタン:AOT:水の重量比が 0.40:0.18:0.42 で調製されたマイクロエマルションにゼラチンを添加した系のゾル状態での電気伝導度とゼラチン量の間関係を明らかにした。その結果が Fig. 10 であり、ゼラチン量を示す $F (= W_g / W_w, W_g$:ゼラチン重量, W_w :水重量) が小さい領域では、電気伝導度の上昇は、対照ゼラチン水溶液の電気伝導度に比較して抑制されたが、ゼラチン添加量の増加に伴い電気伝導度はゼラチン水溶液と同様の増加曲線を示した。

Fig. 10 Electrolytic Conductivity, κ , vs. Weight Ratio of Gelatin/Water, F , at 30°C.
●; MEBG (weight ratio of isooctane:AOT:water is 0.40:0.18:0.42), □; gelatin aqueous solution.

電気伝導度の挙動パターンから考えられる構造変化を Fig. 11 に示す模式図に沿って考察した。第一に、W/O 型構造のマイクロエマルションにゼラチンを添加しても、Fig. 11 (a) で示すように水滴中にゼラチンが可溶化され、W/O 型構造で分散されている場合で、電気伝導度値が $1 \mu\text{S cm}^{-1}$ 以下を示すと思われる。第二に、Fig. 11 (b) で示すようにベースとなるマイクロエマルションの構造が共連続型である場合、ゼラチン添加量の増加に伴い電気伝導度は増加すると考えられる。これは、ゼラチン水溶液の電気伝導度曲線と同様の曲線パターンである。このとき、電気伝導度が直線的に増加しないのは系の粘性の影響を受けるためである。第三に、Fig. 11 (c) で示すように、W/O 型マイクロエマルションに、少量のゼラチン添加によって分散相である水滴間が一部つながり、さらにゼラチンを添加することで水相の凝集が進み、水とゼラチンからなるネットワークが形成される構造が考えられる場合で、この構造では、系全体にネットワークが形成するまで電気伝導度は抑制され、ネットワーク完成後はゼラチン水溶液同様の電気伝

導度増加 (Fig. 11 (b)) を示す。Fig. 10 で見られた挙動は Fig. 11 (c) の電気伝導度パターンに一致しており、W/O 型マイクロエマルジョンへのゼラチン添加は共連続型構造への移行促進効果を有していることが明らかになった。

Fig. 11 Schematic Diagrams of Microstructural Changes by Adding into W/O Microemulsion and Profiles of Electrolytic Conductivity, κ , vs. Weight Ratio of Gelatin/Water, F .

Dark part ; oil phase, white part ; water phase, winding lines ; gelatin. AOT exist between oil phase and water phase.

4.2.2 粘性挙動

MEBG のゾル状態 (30℃) での粘性が添加されたゼラチン量によってどのように影響するかを見るために、我々は L 領域内での AOT : 水の重量比が 3 : 7 で、種々のイソオクタン量で調製されたマイクロエマルジョンにゼラチンを添加した系のゾル状態での粘度とゼラチン量の関係を明らかにした。その結果が Fig. 12 であり、横軸にはイソオクタン量を表している。 $F=0.1, 0.2$ でゼラチンを添加すると、見かけの粘度はイソオクタン含量の低下に伴わずかに増加を示し、これに対して、 $F=0.3$ で添加した系では全領域で非常に高い粘性を示した。これらの挙動は、ベースとなるマイクロエマルジョンが W/O 型である領域 (イソオクタン w/w% が 50 ~ 90) においても水に対して多量のゼラチンを添加することによって水滴間がつながれ、ネットワーク形成がされることが示唆された。このことは、電気伝導度の挙動の結果と良く一致した。Fig. 12 において、▲, ◆ で示した組成領域では室温で MEBG を形成したが、他の領域で

は高粘性のゾル状態のままであった。これより、MEBG 系のゾル状態 (30℃) での粘性が $\eta_a > 200$ mPa s となる組成が室温で MEBG を形成することが明らかとなった。

Fig. 12 Apparent Viscosity, η_a , vs. Isooctane Content for Weight Ratio of AOT : Water = 3 : 7 at $F=0.1, 0.2$, and 0.3 , at 25℃. □ : gelatin aqueous solution, ○ ; $F=0.1$, △ and ▲ ; $F=0.2$, ◆ ; $F=0.3$.

4.3 MEBG の特性

4.3.1 透明度

MEBG は一般的に光学的に透明とされているが、その透明度がどの程度であるかという報告はない。我々は MEBG の透明度を可視光の透過率として測定した。イソオクタン : AOT : 水の重量比が 0.40 : 0.18 : 0.42 で調製された MEBG のベースとなるマイクロエマルジョンの透過率は 0.98 であった。これに対して、 $F=0.3$ でゼラチンを添加して形成した MEBG の透過率は 0.78 ~ 0.88 となった。このゲルの対照となるハイドロゼラチンゲル ($F=0.126$) の透過率は 0.78 ~ 0.82 であった。これより、MEBG の透明度はかなり高いことが明らかとなった。

4.3.2 膨潤挙動

我々は、直径 22 mm のディスク状にした MEBG の時間、 $t=0$ での重量を W_0 、溶媒中に一定時間浸潤した後の重量を W とし、MEBG の膨潤度を W/W_0 として表した。Fig. 13 に、水中およびイソオクタン中での膨潤度の時間変化を示す。MEBG のイソオクタン中および水中での 60 分後の膨潤度は各々約 1.1 倍、約 4.7 倍となった。また、対照となるハイドロゼラチンゲルの水中での膨潤度は約 1.4 倍となった。オイル相と同じ溶媒中での MEBG の膨潤度は小さいが、水中で大きく膨潤することが明らかになった。イソオクタン中での MEBG の平衡膨潤は約 7 日を要し、約 1.6 倍となったが、その形状と透明性は保持された。一方、水中で MEBG は急激

に膨潤して、透明なゲルから白濁ゲルに変化して脆くなった。これは、ゲル内のゼラチンと水からなるネットワークに水が侵入して太く、不均一になるために白濁ゲルとなると考えられる。また、水中での MEBG の膨潤は、水中に NaCl を添加することによって抑えられることがわかった。生理食塩水中での MEBG の浸潤では、数時間以上透明なゲルが保持された。この塩水中での MEBG の安定性は、イオン強度バランスを達成することで、MEBG への多量の水の侵入を防ぐためと考えられる。さらに、MEBG をホルムアルデヒド蒸気中に静置して、MEBG 表面を化学架橋（ホルマル化）することによっても、水中での膨潤が抑えられることが明らかになった。

Fig. 13 Degree of Swelling, W/W_0 vs. Time, t . ○, ●: MEBG prepared for weight ratio of isooctane : AOT : water = 0.40 : 0.18 : 0.42 at $F=0.3$, □: gelatin-hydrogel prepared at $F=0.126$.

4・3・3 粘弾性特性

空気中での粘弾性測定は、MEBG からイソオクタン蒸発が速いために、正確な測定ができないために、我々は瞬間弾性率、 G_0 を測定して、MEBG 調製後の時間による違いおよび対照ハイドロゼラチンゲルとの比較を行なった。ゲルにひずみ、 γ を与えた時の応力、 S は、Maxwell モデルから (1) 式で示される。

$$G=S/\gamma=G_e+G_r e^{-t/\tau} \quad (1)$$

ここで、 G は時間、 t での弾性率、 G_e は平衡弾性率、 G_r は緩和弾性率、 τ は緩和時間である。 $t=0$ のとき $G_0=G_e+G_r$ となる。イソオクタン : AOT : 水の重量比が 0.40 : 0.18 : 0.42 で調製されたマイクロエマルジョンに、 $F=0.3$ でゼラチンを添加して形成した MEBG 調製後の時間に対する G_0 の変化を Fig. 14 に示す。瞬間弾性率は約 7 日ではほぼ一定となった。これはネットワーク構造が系全体に完成するための時間と考えられる。同じ組成の

マイクロエマルジョンに異なるゼラチン添加量で調製された MEBG の瞬間弾性率の値および対照ハイドロゼラチンゲルの瞬間弾性率の値を Table 1 に示す。MEBG の瞬間弾性率はゼラチン添加量の増加に伴い大きくなることが明らかになった。また、対照ハイドロゼラチンゲルの瞬間弾性率は MEBG より大きな値を示した。これは、大きな要因として、ゲルのネットワーク構造が異なることが考えられる。

Fig. 14 Instantaneous Modulus of Elasticity, G_0 vs. Time after Preparation, t of MEBG Prepared for Weight Ratio of Isooctane : AOT : Water = 0.40 : 0.18 : 0.42 at $F=0.3$.

Table 1 Instantaneous Modulus of Elasticity, G_0 of MEBG Prepared for Weight Ratio of Isooctane : AOT : Water = 0.40 : 0.18 : 0.42 at $F=0.2$ and 0.3, and Gelatin-Hydrogel Prepared at $F=0.126$.

days after preparation	kinds of gels	F	$G_0 / 10^3 \text{ N m}^{-2}$
1	hydrogel	0.126	39
1	MEBG	0.3	6.1
7	MEBG	0.3	13
8	MEBG	0.3	12
8	MEBG	0.2	9.5

5 MEBG の応用研究

MEBG 中に多くの反応性のある分子を共同的に可溶化することは可能であるので、化学的、薬学的、化粧品的な応用に対して、MEBG を用いることに有用性がある。MEBG の応用への興味は、ゲル自身の特性のみならずマイクロエマルジョン自身の物理的性質の次の面に起因することが多い。

1. マイクロエマルジョンは一般的な溶媒として記述され、三つの異なるドメインを含んでいる。すなわち、極性物質が溶解されている極性ドメイン、非極性物質が溶

解されている非極性ドメイン, 両親媒性物質が溶解されている界面ドメイン。それゆえに, マイクロエマルションは, 同じ溶液中に幅広く異なる極性を持った物質を溶解できる。

2. 液滴を含むマイクロエマルションは光学的に透明で単一相, 等方性溶液である。それゆえに, 反応速度の実験などは, UV/可視分光計のような単純な方法を用いて研究できる。

3. マイクロエマルション系は熱力学的安定性があり, かなり再生できる物理化学的性質を保持する。

4. マイクロエマルション液滴は微小反応容器として考えられる。その反応は, 液滴によって提供される限定サイズドメイン中で起こり, 種々のファクター (立体的束縛, 基質/生成物の分配係数, 基質/生成物の配向) によってコントロールされる。

5・1 酵素を固定した反応場としての応用

現在, MEBG を用いた応用研究で多く報告されているのは, 酵素を固定した反応場として MEBG を用い, 酵素反応速度制御, 生成物の高収率分離を目的とした研究である。いくつかの研究例を以下に示す。

5・1・1 MEBG 中での酵素反応によるエステル合成⁴⁰⁾

MEBG にリパーゼが固定化し, 水に不溶な有機溶媒 (n-ヘプタン) 中で酵素反応を行い, 構造的に異なる多くのエステルを合成する。合成されたエステルは容易に分離され, 高収率で生成物を得られたことが報告されている。

5・1・2 MEBG に固定されたリパーゼを用いた酵素反応速度研究⁴¹⁾

Chromobacterium viscosum リパーゼを MEBG に固定して, 酵素反応速度研究が n-オクタノールとデカン酸からオクチルデカノエートを合成する過程でなされた。リパーゼを含むゲルの触媒効率は, 基質を含む外部オイル相と接触しているゲルの単位体積当りの表面面積を増加することによって有意義な改良がされたことが報告されている。

5・1・3 MEBG に固定されたポリフェノールオキシダーゼの安定性の増強⁴⁹⁾

MEBG が二つのフェノールオキシダーゼ (ラッカーゼとチロシナーゼ) を固定化するのに用いられた。両酵素の固定化は熱的不活性化への安定性を増強させること, またチロシナーゼを固定化したゲルは, タンパク質の加水分解から完全に保護されたことが報告されている。

5・2 経皮吸収送達系の基剤としての応用

同じ溶液中に幅広く異なる極性を持った物質を溶解できるというマイクロエマルションの特徴を持った

MEBG は, 皮膚吸収薬物の放出に対する基剤 (容器) として有用であるため, 経皮吸収送達系に応用できることが期待されている。

Kantaria ら⁵⁴⁾ はモデル薬物としてサリチル酸ナトリウムを用い, ブタ皮膚による MEBG の経皮吸収送達系への有用性を検討した。その結果, ほとんどのオルガノゲルと違って, 電気伝導性がある MEBG を用いたイオン導入は, 受動拡散に比較してサリチル酸ナトリウムに対してかなり高い放出速度を与え, 流量は薬物添加量と流量密度に比例することを報告している。また, 用いた MEBG はツイーン 85 やイソプロピルミリステートのような薬学的に適用できる界面活性剤とオイルを用いて調製したことや, 水溶液あるいはハイドロゲルと比較して, 改善的な微生物耐性を持つことを報告している。

MEBG ではないが, 同じ着想から, Luisi ら⁵⁹⁾ はイソプロピルパルミテート中でのレシチン溶液にわずかの水の添加によって得られるレシチンオルガノゲル系で, スコポラミンとプロキサテロールの経皮輸送に対するマトリックスとして研究している。

5・3 MEBG からの薬物放出特性⁶⁵⁾

我々は, MEBG を経皮吸収送達系の基剤とする応用への対する基礎研究として, MEBG からの薬物放出の実験を行なった。異なる油水分配係数を有する 2 種のモデル薬物として安息香酸ナトリウム (NaBA, 片山化学社製, 試薬特級, M.W.: 144.11) およびアンチピリン (ANP, 和光純薬, 生化学用, M.W.: 188.23) を用いて薬物含有 MEBG を調製した。MEBG のベースとなるマイクロエマルションの組成はイソオクタン:AOT:水の重量比が 0.40:0.18:0.42 であり, ゼラチン添加量は $F = 0.3$ であった。MEBG は直径 22 mm のディスク状 (平均厚さ: 3.5 mm) に形成した。得られた薬物含有 MEBG (薬物濃度は水溶液として 5 mM) からの薬物放出挙動を, Fig. 15 に示した実験装置を用いて, 放出薬物量をサンプリング法による吸光度測定から求めて検討した。MEBG からの放出薬物量の吸光度測定にあたっては, MEBG の支持体として, セルロース混合エステルタイプメンブレンフィルター (Advantec 社, pore size:

Fig. 15 Apparatus Used for Drug Release Experiments.

1.0 μm , thickness: 150 μm) を使用した。

まず初めに、対照実験としてハイドロゼラチンゲルからの薬物放出挙動を検討した。Fig. 16 に薬物放出量と時間の関係を示す。これより、NaBA は ANP より容易に放出されることがわかった。

Fig. 16 Released Amounts of Drugs, Q , vs. Time, t for Drugs from Gelatin-Hydrogel into Water at 25°C.

次に、MEBG からの薬物放出挙動を検討した。Fig. 17 に薬物放出量と時間の関係を示す。MEBG 試料は水に接触すると徐々に溶解し、同時に AOT が溶出するため、測定開始 60 分後には試料は白濁し、崩壊した。従って、この実験では吸光度は薬物の吸収極大波長において測定したが、その際、吸光度には薬物と溶出された AOT の両者の寄与が含まれている。薬物濃度を評価するために、薬物を含有しない MEBG 試料に対して同様の実験を行い、その際放出される AOT による吸光度の時間変化を測定することにより、薬物放出過程において測定された吸光度を補正した。

MEBG は水中において不安定で、その構造を長く保持することが困難であるため、ホルマール化により MEBG 中のゼラチン分子を分子間架橋し、ゲル構造の安定化を試みた。Fig. 18 にホルマール化 MEBG (f-MEBG) からの薬物放出挙動を示す。Fig. 17 の場合と同様、溶出した AOT による吸光度の寄与を補正した。ホルマール化により、試料は測定開始後 80 分以降も水中において崩壊することなく初期の形状を保ち、吸光度測定が可能であった。更に NaBA と ANP とともに、放出に対してのタイムラグがみられた。これはホルマール化により、ゲル試料の表面近傍に緻密層が形成されたためであると考えられる。

この実験では、薬物はゲルおよびメンブレンフィルターを通過して水中に放出されることを考慮して、次の

Fig. 17 Released Amounts of Drugs, Q , vs. Time, t for Drugs from MEBG into Water at 25°C. (a); MaBA, (b); ANP.

解析をした。まず、ゲルからの放出量、 Q の初期経時変化から (2) 式を用い、みかけの薬物放出速度定数、 k を算出した。

$$J = \frac{1}{A} \cdot \frac{dQ}{dt} = kC \quad (2)$$

ここで、 J は流束であり、 A は水相と接しているゲルの表面積、 C はゲル中の薬物濃度である。ハイドロゼラチンゲル、MEBG 及びホルマール化 MEBG について各薬物に対する k を算出した結果を含水率 (Ww: 重量比) と併せて Table 2 に示す。

吸光度測定においてゲルの支持体として用いた親水性セルロース混合エステルタイプメンブレンフィルターについて、ガラス透過セルを用いて膜透過測定を行い、25°C における NaBA および ANP の膜透過係数を決定した。

Fig. 18 Released Amounts of Drugs, Q , vs. Time, t for Drugs from f-MEBG into Water at 25°C. (a); MaBA, (b); ANP.

Table 2 Apparent Rate Constants of Release for Drugs from Each Gel at 25°C. W_w : water contents in each gel.

	W_w	$k/10^{-5}\text{cm s}^{-1}$	
		NaBA	ANP
gelatin-gel	0.88	7.2	3.4
MEBG	0.37	2.4	1.5
f-MEBG	0.37	2.7	0.38

その結果を、各薬物の拡散係数、 D と併せて Table 3 に示した。ここで P は濃度勾配により定義した膜透過係数であり、一方、 P' は濃度差により定義した膜透過係数である。

みかけの放出速度定数、 k は透過抵抗の相加性から (2) 式により表せる。ここで k_{gel} はゲルの放出速度定数

Table 3 Diffusion Constants, D , and Permeability Coefficients, P' for Drugs at 25°C.

	NaBA	ANP
$D/\text{cm}^2\text{s}^{-1}$	1.1×10^{-5}	5.3×10^{-6}
$P/\text{cm}^2\text{s}^{-1}$	5.8×10^{-6}	2.8×10^{-6}
$P'/\text{cm s}^{-1}$	3.9×10^{-1}	1.9×10^{-1}

である。Table 3 に示した P' 値を用いて、 k_{gel} を求めた結果を Table 4 に示す。

$$\frac{1}{k} = \frac{1}{k_{\text{gel}}} + \frac{1}{P'} \quad (3)$$

このとき、 $1/P' \ll 1/k$ であるから、ゲルの表面からの放出過程が律速となる。従って、(3)式において、 P' の逆数はほぼ無視でき、 k と k_{gel} の差異は無視しうることがわかった。また、(4)式により定義される NaBA と ANP の k_{gel} の比、 $R_{k_{\text{gel}}}$ と併せて Table 4 に示す。

$$R_{k_{\text{gel}}} = \frac{[k_{\text{gel}}]_{\text{ANP}}}{[k_{\text{gel}}]_{\text{NaBA}}} \quad (4)$$

Table 4 Rate Constant of Release for Drugs from Each Gel at 25°C.

	$k_{\text{gel}}/10^{-5}\text{cm s}^{-1}$		$R_{k_{\text{gel}}}$
	NaBA	ANP	
gelatin-gel	7.19	3.37	0.47
MEBG	2.38	1.46	0.61
f-MEBG	2.71	0.38	0.14

以上のことより、MEBG からの薬物放出特性について次のことが明らかになった。

- 1) ハイドロゼラチンゲルの場合、 $R_{k_{\text{gel}}}$ は 0.47 であり、また拡散係数の比 $R_D (= D_{\text{NaBA}}/D_{\text{ANP}})$ は 0.48 と $R_{k_{\text{gel}}}$ にほぼ等しくなった。このことから、ゼラチンゲルからの薬物放出はゲル中の薬物の拡散により律速されることが明らかになった。
- 2) MEBG の $R_{k_{\text{gel}}}$ は 0.61 であり、ゼラチンゲルに対する値よりも大きい。ANP の油水分配係数は 0.039⁶⁶⁾ と小さいが、これはイソオクタン相が形成するチャンネルを通して ANP が放出されるため、MEBG の $R_{k_{\text{gel}}}$ が大きくなったものと考えられる。
- 3) MEBG の $R_{k_{\text{gel}}}$ 値はゼラチンゲルの場合の 1/2 ~ 1/3 に減少した。これは、MEBG の含水率が小さいため、水チャンネルの分率が減少したためであると考えられる。
- 4) 試料のホルマル化により水チャンネル中のゼラチンが架橋され、弾性率の大きい堅いゲルとなり、表面層では緻密な架橋層が生じている。ホルマー

ル化 MEBG からの NaBA および ANP の放出はタイムラグを有し、特に ANP の場合、かなり長時間 (50 分) となった。これは、表面層の緻密層の影響によるものと考えられる。タイムラグ後の NaBA の k_{gel} はホルマール化の有無によらずほぼ等しくなったが、 $R_{k_{\text{gel}}}$ は 0.14 と小さくなった。これは、タイムラグが長いこと、ホルマール化 MEBG の構造変化 (水チャンネルの切断) が生じたためと考えられる。

6 おわりに

MEBG の形成条件のところで述べたように、ベースとなるマイクロエマルジョン組成のオイルとしてヘプタンとイソオクタンを用いた MEBG は形成しやすいが、ヘプタンやイソオクタンの揮発性が高いために、開放系での常温安定性があまり良くない。種々の実験にヘプタンおよびイソオクタン系 MEBG を用いる場合は揮発を防ぐ工夫などが必要とされるので、開放系での常温安定性の良い MEBG を形成することが応用研究の展開を前進させる鍵となると思われる。また、経皮吸収送達系の基剤とするような薬学的応用には、生体適合性の良いオイルの選択、AOT に代わる生体適合性のよい界面活性剤の模索が必要となる。

Literatures

- Haering G., Luisi P.L., (1986) *J. Phys. Chem.*, **90**, 5892-5.
- Quellet C., Eicke H.-F., (1986) *Chimia*, **40**, 233-8.
- Hunter R.J., (1991) "Foundations of Colloid Science," Oxford University Press, New York, Vol.2, PP.949-91.
- Miyata I., Miyamoto H., Yonese M., (1996) *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1049-55.
- 宮田 勇, (1995) 日本油化学会界面科学部会関西講演会テキスト, **3**, pp.1-14.
- 山内愛造, 広川能嗣, (1990) 高分子新素材 One Point シリーズ 24, 機能性ゲル", 高分子学会編, 共立出版, 東京.
- 日本化学会編, 化学総説, (1990) "有機高分子ゲル", 学会出版センター, 東京.
- 米勢政勝, (1989) "高分子", 医薬品の開発, 第 15 巻, 廣川書店, pp.95-133.
- 米勢政勝, (1990) *Pharm. Tech. Jpn.*, **6**, pp.7-15.
- 米勢政勝, (1990) "拡散・透過", 生体コロイド第一巻, 廣川書店, pp.351-81.
- 米勢政勝, (1990) "ゲル", 生体コロイド第一巻, 廣川書店, pp.323-49.
- Baba K., Yonese M., Kishimoto H., (1992) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **65**, 121-8.
- Yonese M., Baba K., Kishimoto H., (1992) *Chem. Lett.*, 199-202.
- 米勢政勝, (1993) "ヒドロゲルの機能と薬学のかかわり", 名古屋市立大学薬学部研究年報, **40**, pp.1-18.
- Yones M., Sugie S., Nagata T., Kiyohara K., (1995) *Chem. Letters*, 917-8.
- Yonese M., Kondo M., Miyata I., Kugimiya S., Sato S., Inukai M., (1996) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 819-25.
- Yonese M., Kondo M., Miyata I., Sato S., Kugimiya S., (1996) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 883-9.
- 米勢政勝, (1997) ゲルハンドブック, 第 3 編, 第 4 章, 第 10 節, "ゲルの DDS への応用", 長田義仁編, エヌ・ティ・エス社, pp.542-5.
- M. Yonese, M. Kondo, I. Miyata, S. Sato, S. Kugimiya, (1996) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 883-9.
- Sugie S., Nagata T., Inukai M., Kugimiya S., Sato S., Miyata I., Yonese M., (1997) *Progr. Colloid Polym. Sci.*, **106**, 257-61.
- Capitani D., Segre A.L., Haering G., Luisi P.L., (1988) *J. Phys. Chem.*, **92**, 3500-4.
- Howe A.M., Katsikides A., Robinson B.H., Chadwick A.V., Al-Mударis A., (1988) *Progr. Colloid Polym. Sci.*, **266**, 211-5.
- Daum U., Wei G., Luisi P.L. (1988) *Colloid Polym. Sci.*, **266**, 657-62.
- Atkinson P.J., Grimson M.J., Heenan R.K., Howe A.M., Mackie A.R., Robinson B.H., (1988) *Chem. Phys. Lett.*, **151**, 494-8.
- Atkinson P.J., Grimson M.J., Heenan R.K., Howe A.M., Robinson B.H., (1989) *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1807-9.
- Luisi P.L., Scartazzini G., Haering G., Schurtenberger, P., (1990) *Colloid Polym. Sci.*, **268**, 356-74.
- Quellet C., Eicke H.-F., Xu G., Hauger Y., (1990) *Macromolecules*, **23**, 3347-52.
- Atkinson P.J., Robinson B., Howe A.M., Heenan R.K., (1991) *J. Chem. Soc. Faraday. Trans.*, **87**, 3389-97.
- Petit C., Zemb J.N., Piloni M.P., (1991) *Langmuir*, **7**, 223-31.
- Atkinson P.J., Clark D.C., Howe A.M., Heenan R.K., Robinson B.H., (1991) *Colloid Polym. Sci.*, **84**, 129-32.
- Quellet C., Eicke H.-F., Sager W., (1991) *J. Phys. Chem.*, **95**, 5642-55.
- Seeboth A., Wustneck R., Kragel J., (1994) *Colloid Polym. Sci.*, **272**, 1151-6.
- Atayguneyman N.Z., Atadinc F., Kozluca Y., (1995) *J. Colloid Interface Sci.*, **169**, 246-8.
- Atkinson P.J., Robinson B.H., Howe A.M., Pitt A.R., (1995) *Colloids Surfaces A Physicochem. Engin. Aspects*, **94**, 231-42.
- Acosta E., Kurlat D.H., Biscaglia M., Ginzberg B., Baikauskas L., Romano S.D., (1996) *Colloids Surfaces A Physicochem. Engin. Aspects*, **106**, 11-21.
- Aliotta F., Arcoleo V., Manna G.H., Liveri V. T., (1996) *Colloid Polym. Sci.*, **274**, 989-94.
- Krasovskii A.N., Andreeva A.L., (1996) *Russian J. Applied Chem.*, **69**, 742-50.
- Leser M.E., Wei G., Luthi P., Haering G., Hochkoepller A., Blochliger E., Luisi P.L., (1987) *J. Chim. Phys. -Chim Biol.*, **84**, 1113-8.

- 39) Petit C., Pileni M.P., (1988) *J. Phys. Chem.*, **92**, 2282-6.
- 40) Rees G.D., da-Graca-Nascimento M., Jenta T.R., Robinson B.H., (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, **1073**, 493-501.
- 41) Jenta T. R.-J., Robinson B.H., Batts G., Thomson A.R., (1991) *Progr. Colloid Polym. Sci.*, **84**, 334-7.
- 42) Atkinson P.J., Robinson B.H., Grimson M.J., Heenan P.K., Howe A.M., (1991) *Special Publication Royal Soc. Chem.*, **82**, 542-5.
- 43) Nascimeto M. G., Rezende M.C., Vecchia R.D., Jesus P.C., Aguiar L.M.Z., (1992) *Tetrahedron Letters*, **33**, 5891-4.
- 44) Rees G.D., Jenta T.R.J., Nascimento, Catauro M., Robinson B.H., Stephenson G.R., Olphert R.D.G., (1993) *Indian J. Chem.*, **32B**, 30-4.
- 45) Watzke H.J., Dieschbourg C., (1994) *Adv. Colloid Interface Sci.*, **50**, 1-14.
- 46) Daubresse C., Grandfils C., Jerome R., Teyssie P., (1994) *J. Colloid Interface Sci.*, **168**, 222-9.
- 47) Uemasu I., Hinze W.L., (1994) *Chirality*, **6**, 649-53.
- 48) Dejesus P.C., Rezende M.C., Nascimento M.D., (1995) *Tetrahedron Asymmetry*, **6**, 63-6.
- 49) Crecchio C., Ruggiero P., Pizzigallo D.R., (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **208**, 585-91.
- 50) Backlund S., Eriksson F., Kanerva L.T., Rantala M., (1995) *Colloids Surface B, Biointerface*, **4**, 121-7.
- 51) Backlund S., Eriksson F., Laine A., Rantala, M., (1996) *Colloid Polym. Sci.*, **274**, 540-7.
- 52) Parmar V.S., Bisht K.S., Pati H.N., Sharma N.K., Kumar A., Kumar N., Malhotra S., Singh, A., Prasad A.K., Wengel, J., (1996) *Pure Applied Chem.*, **68**, 1309-14.
- 53) Velasco-Garcia N., Valencia-Gonzalez M.J., Diaz-Garcia M.E., (1997) *Analyst November*, **122**, 1405-9.
- 54) Kantaria, S., Rees, G.D., Lawrence, M.J., (1999) *J. Control Release*, **60**, 355-65.
- 55) a) 中谷香織, 宮田 勇, 米勢政勝, (1996) 第35回油化学討論会, 講演要旨, p.213., b) 中谷香織, (1997) 名古屋市立大学大学院薬学研究科修士論文.
- 56) Scartazzini R., Luisi P.L., (1988) *J. Phys. Chem.*, **92**, 829-33.
- 57) Schurtenberger P.S., Scartazzini R., Magid L.J., Leser M.E., Luisi P.L., (1990) *J. Phys. Chem.*, **94**, 3695-701.
- 58) Capitani D., Segre A.L., Sparapani R., (1991) *Langmuir*, **7**, 250-3.
- 59) Willmann H., Luisi P.L., Gazzaniga A., Stroppolo F., (1992) *J. Pharm. Sci.*, **81**, 871-4.
- 60) Eicke H.-F., Quillet C., Xu G., (1989) *Colloids Surfaces*, **36**, 97-107.
- 61) Zhou Z., Hilfiker R., Hofmeier U., Eicke H.-F., (1992) *Progr. Colloid Polym. Sci.*, **89**, 66-70.
- 62) Knox W.J.Jr., Parshall T.O., (1972) *J. Colloid Interface Sci.*, **40**, 290-6.
- 63) Greener J., Contestable B.A., Bale M.D., (1987) *Macromolecules*, **20**, 2490-8.
- 64) 中谷香織, 宮田 勇, 米勢政勝, 今井正幸, (1999) 日本薬学会第119年会, 講演要旨4, p120.
- 65) 千田晃子, 宮田 勇, 米勢政勝, (1999) 第38回油化学討論会, 講演要旨, p121.
- 66) Morimoto Y., Hatanaka T., Sugibayashi K., Omiya H., (1992) *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 634-9.