薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
114 (12) 1005—1014 (1994)

乳酸・グリコール酸共重合体のマイクロスフェアの製剤設計。
ゲンタマイシンの *in Vitro* の放出性の解析

長田俊治,* 竹島和男, 平野耕一郎, 高岸 靖
塩野義製薬株式会社研究所

Pharmaceutical Dosage Form Design of Copoly (Lactic/Glycolic Acid)
Microspheres. Mechanism of *in Vitro* Release of Gentamicin

Shunji NAGATA,* Kazuo TAKESHIMA, Koichiro HIRANO,
and Yasushi TAKAGISHI

Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.,
5-12-4, Sagisu, Fukushima-ku, Osaka 553, Japan

(Received July 5, 1994)

The sustained release mechanism of gentamicin (GM) from lactic acid/glycolic acid copolymer (PLGA) microspheres was investigated. The terminal free carboxyl group of polymer was proved to be necessary for GM to be highly incorporated into microspheres by comparing interactions with GM and two types of polymers; free (ionized and non ionized) and the terminal esterified carboxyl group of polymer. The weight-average molecular weights (M_w s) of component PLGAs of microspheres with an ionizable carboxyl group used here were approximately 4900 and 10000. The release pattern of GM was tested in phosphate buffered saline. The release rate of GM was dependent on the initial M_w and surface form. The GM release continued for 20 and 30 d from PLGA 4900- and PLGA10000-microspheres, respectively. The changes of total weight of microspheres tended to decrease with time, and the molecular weight distribution of PLGA gradually shifted to lower distribution, indicating a decrease in M_w . The changes and the shifts were dependent on the initial M_w s of PLGAs but independent of their surface form. The half-times of weight loss of PLGA 4900- and PLGA10000-microspheres were about 10 and 20 d, respectively. From these results, the release profile of GM from PLGA microspheres was explained by the following three steps, *i.e.*, 1) the release from the surface, 2) the relatively slow release caused by the obstruction of channels followed by the degradation of PLGA, 3) the release accompanied by the erosion of microspheres.

Keywords—microsphere; lactic acid/glycolic acid copolymer; gentamicin; *in vitro* release; degradation; weight-average molecular weight

緒 言

薬物の血液中又は投与部位における濃度を一定水準に維持することは、薬効の増強・副作用の抑制、又は服用の煩わしさの回避など、医療にとって優れた効用をもたらす。薬物の放出を制御した製剤の開発は、この目的に沿ったものであるが、1回に服用する製剤中に通常の製剤の多回分の薬物を含有する。そのため、急激な過剰放出（バースト）が生じた場合には、重篤な

副作用の発現を招きやすく、また期待される薬物量の放出が起こらない場合には、疾病の悪化につながる。したがって、このような製剤では、内包する薬物の放出速度に影響する製剤側の諸要因について十分検討した設計が必要とされる。

非経口の放出制御製剤の素材として、生体適合性に優れたポリ乳酸系の生分解性高分子が知られており、マイクロカプセル¹⁾やマイクロスフェア²⁾又はインプラント³⁾などの剤形が考案されている。このような素材を用いた製剤では、高分子の非酵素的な加水分解に伴って、内包される薬物の放出速度も変動すると考えられる。したがって、緻密な放出制御製剤の設計のためには、バーストの制御に加えて、経時的な薬物の放出の機構に関しても明らかにする必要がある。我々は、分解速度の遅い乳酸系高分子のマイクロスフェアについて、素材とした高分子の結晶性と内包される薬物のバーストとの関係をすでに報告してきた。⁴⁾

本報では、ゲンタマイシン (GM) を内包するマイクロスフェアを作製し、そのマイクロスフェアからの GM の *in vitro* における放出メカニズムの解析を中心とした製剤設計について報告する。なお、GM はアミノグリコシド系の抗生物質であり、グラム陰性桿菌などに対する抗菌力は強いが、腎障害や第 8 脳神経系障害などの副作用も強いため、その使用時には血液中濃度をモニターするなど細心の注意が必要とされている。現在、GM は骨髓炎の治療のために、徐放性ビーズ製剤が臨床試験中である。⁵⁾ その製剤は骨セメントとして知られているポリメチルメタクリネートの直径 7mm のビーズ中に GM を含有させたもので、数十個を金属性ワイヤーで連結して約 1—2 週間感染部位に埋没する。⁵⁾ この素材は生体適合性が良く、GM は投与部位において治療期間中数十 $\mu\text{g/g}$ の濃度を維持し、^{5b)} その放出性は十分制御されていると考えられるが、いっぽうではビーズのサイズが大きく、また生体内での分解が期待できないため、投与時及び摘出時には患者への負担がかなり大きいものと予想される。生分解性高分子を素材とするマイクロスフェア製剤の開発は、注射器による投与、投与量の微調整及び治療終了時の摘出の不要化などのメリットが期待されるばかりでなく、粒子サイズが小さいことを利用して、骨髓炎以外の適用可能な疾患部位が新たに開拓されることが考えられる。

実 験 の 部

生分解性高分子 使用した乳酸・グリコール酸の共重合体 (PLGA) 又はポリ乳酸 (PLA) について Table I に物性を示した。PLGA4900, PLGA10000 と PLA3800 は多木化学製を、PLGA19000 は MEDISORB Technologies International 製 (USA, Delaware) を用いた。PLGA4900 と PLGA10000 は、市販の高分子を塩化メチレンに溶解させ、蒸留水で水溶性画分を抽出除去して精製した。

試料 硫酸ゲンタマイシン (塩野義製薬) を原料として、カラムクロマト法によりゲンタマイシンの遊離塩基を得た。すなわち、シリカゲル 60 (70—230 メッシュ, Merck, Germany)

TABLE I. Characteristics of Polymers

Name	M _w	M _n	Composition (%) (lactic acid/glycolic acid)	T _g (°C)	Terminal group	Trade name
PLGA4900	4867 ^{a)}	2420 ^{a)}	L 50/50 ^{c)}	23.6 ^{a)}	Carboxylic acid ^{c)}	PLG1600ML
PLGA10000	10058 ^{a)}	4001 ^{a)}	DL 75/25 ^{c)}	32.3 ^{a)}	Carboxylic acid ^{c)}	PLG2900HDL
PLGA19000	18670 ^{b)}	7587 ^{b)}	DL 52/48 ^{b)}	32.4 ^{b)}	Lauryl ester ^{b)}	MEDISORB 5050DL
PLA3800	3800 ^{c)}	1600 ^{c)}	DL 100/ 0 ^{c)}	22 ^{c)}	Carboxylic acid ^{c)}	PL1500DL

a) Experimental data. b) MEDISORB's specification. c) TAKI's specification.

約 10 g を充填した内径 2 cm のガラスカラムを用い、クロロホルム-イソプロパノール-17%アンモニア水 (2/1/1) の下層を溶離液として、蒸留水に溶解した硫酸ゲンタマイシンを展開した。硫酸イオンの消失はイオンクロマトで確認した。ポリビニルアルコールは和光純薬工業の吸光分析用試薬を使用した。他の試薬はすべて市販特級品を使用した。

マイクロスフェアの調製 GM の 0—500 mg を蒸留水 0.5 ml に溶解し、これを 10 g の PLGA を溶解した塩化メチレン 10—18 ml 中に加え、Polytron (Type PT10-35, Kinematica GmbH, Switzerland) を用いて、回転数約 24000 rpm で約 2 分間攪拌した (GM の含量に応じて PLGA 濃度は適宜変更した)。この液を 1% (w/v) のポリビニルアルコール水溶液 300 ml 中に加え、オートホモミキサー (特殊機化工業) を用い 8000 rpm で 2 分間攪拌した。さらに、ペラ型モーターを用いて約 1000 rpm で氷冷下 2 時間攪拌後、37°C で数時間攪拌した。湿式分級にて 37 μ m 以下のマイクロスフェアを捕集し、マンニトールを含有する溶液で洗浄後凍結乾燥した。

ゲンタマイシンの定量 GM の定量には蛍光イムノアッセイ法 (エームス TDA ゲンタマイシン, 三共マイルス) を用いた。マイクロスフェア中の GM は、マイクロスフェアの約 10 mg をクロロホルム 3 ml と 0.05% のポリソルベート 80 を含む 10 mM 磷酸緩衝生理食塩液 (pH 7.4; 試験液) 8 ml 及び 1 N 塩酸水溶液 1 ml の混液で抽出し、上層中の GM を定量した。

ゲンタマイシンと生分解性高分子との相互作用 PLA3800 又は PLGA19000 をそれぞれ 100 又は 10 mg 溶解したクロロホルム 3 ml と、45 μ g/ml の濃度に調整した GM の試験液 9 ml とを 30 分間混合後遠心 (2500 rpm, 10 分間) し、その上層中の GM 濃度を定量して、水層への回収率を求めた。さらに、PLA3800 では試験液に塩酸を加えて pH を 2 以下に調整した時の回収率も求めた。

In Vitro における放出試験 マイクロスフェアの約 90 mg に試験液を 15 ml 加え、37°C の恒温下 20 rpm で攪拌 (RT-50 回転培養器, タイテック) した。経時的に試験液を採取し、直ちに 0.45 μ m のフィルター (カラムガード, 日本ミリポアリミテッド) で濾過した後、放出した GM 量を定量した。

マイクロスフェアの in Vitro での分解 In Vitro の放出試験と同一の操作を行い、経時的に試験液の全量を 0.2 μ m のフィルター (フロリナートメンブレン, 日本ミリポアリミテッド) で捕集した。フィルター上のマイクロスフェアを蒸留水で数回洗浄後凍結乾燥し、マイクロスフェアの重量を測定した。マイクロスフェア中の PLGA の重量平均分子量 (M_w) は、マイクロスフェアをクロロホルムで完全に溶解し、gel permeation chromatography (GPC) で分子量分布を測定し、常法に基づいて算出した。ポンプはデュアルポンプ CCPD (東ソー) を、カラムは Shodex KF-804+Shodex KF-803 (昭和電工) を、溶離液はテトラヒドロフランを 1.0 ml/min の流速で使用した。モニターには、示差屈折計 (RI-8011, 東ソー) を使用した。

また、放出試験液中のマイクロスフェアの一部を、0.45 μ m のフィルター (MF-ミリポアメンブレンフィルター, 日本ミリポアリミテッド) で捕集し、洗浄・凍結乾燥後、常法に従って試料を作製して、走査電子顕微鏡 (SEM: JSM-840A, 日本電子) で観察した。調製直後のマイクロスフェアについても、SEM で表面を観察し、粗密度を密から粗へ 4 段階で表現した。

結 果

ゲンタマイシンの定量法とポリマーとの相互作用

GM の in vitro 放出量やマイクロスフェア中の含量などは、血清中の GM 濃度定量用のキッ

トで測定した。試験液に GM を直接溶解したとき、1—20 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で良好な検量線が得られた。さらに GM の溶解した試験液をクロロホルムで処理した時、GM の定量上の影響は全く認められなかった。しかし、クロロホルムに PLA3800 を溶解させた時、試験液中の GM の回収率は 30% に低下した。一方、クロロホルムに PLGA19000 を溶解した時には、GM はほぼ 100% 水層に回収された。また、PLA3800 を溶解したクロロホルムでも、試験液の pH を塩酸を用いて 2 以下に調整した時には、GM の回収率は 100% であった。

マイクロスフェアの特性

PLGA4900 又は PLGA10000 を素材としたマイクロスフェアの GM の含量及び調製直後の表面の粗密度を Table II に示した。MS-A と MS-F はいずれも GM を全く含有しないマイクロ

TABLE II. Characteristics of Microspheres

No.	Polymer ^{a)}	GM content (mg/g)	Roughness of surface ^{b)}
MS-A	PLGA4900	—	+
MS-B		15.2	++
MS-C		17.7	+
MS-D		26.4	+++
MS-E		35.3	++++
MS-F	PLGA10000	—	+
MS-G		23.9	++
MS-H		23.8	++++
MS-I		27.6	++++

a) MS-A, B, C, D, E were made of PLGA-4900. MS-F, G, H, I were made of PLGA-10000. b) Roughness of surface was observed using scanning electron microscopy (SEM). Smooth < + < ++ < +++ < ++++ < rough.

スフェアである。マイクロスフェアの表面は、GM の含量が高いほど粗い傾向にあった。ただし、マイクロスフェアの調製条件を調節することにより、表面の粗密度は調整可能であり、Table II の MS-G と MS-H の GM の含量は、23.9 と 23.8 mg/g とほとんど差がなかったが、両者の表面の粗密度は、MS-G では ++、MS-H では ++++ であった。MS-G と MS-H の調製条件は、GM 濃度がそれぞれ 0.6 と 1.0 g/ml であり、PLGA 濃度を 0.14 と 0.10 g/ml に調節した。

In Vitro でのマイクロスフェアの重量変化

Fig. 1 [a), b) はそれぞれ PLGA4900 及び PLGA10000 を素材としたマイクロスフェア] に示したように、試験液中でのマイクロスフェアの重量は、PLGA4900 では約 10 日、PLGA10000 の場合は約 20 日で元の約 50% に減少した。In vitro におけるスフェアの重量の変化に対して、Table II に示した GM の含量や表面の粗密度の影響は少なく、素材の高分子の元の分子量に強く依存した。PLGA4900 のマイクロスフェアの重量は試験開始直後からほぼ直線的に減少し

Fig. 1. In Vitro Residual Weight (%) of Lactic Acid Glycolic Acid Copolymer (PLGA) Microspheres in Phosphate Buffered Saline (PBS)

Experimental conditions: PLGA microspheres (90 mg) were suspended in 15 ml of PBS (10 mM, pH 7.4) containing 0.05% Polysorbate 80. They were rotated at 20 rpm and 37°C.

The microspheres were captured on filter (0.2 μm), rinsed with water, and lyophilized.

a) PLGA4900 microspheres: $\diamond$, MS-A; $\circ$, MS-B; ∇ , MS-C; $\triangle$, MS-D; $\square$, MS-E.

b) PLGA10000 microspheres: $\blacklozenge$, MS-F; $\bullet$, MS-G; $\blacktriangle$, MS-H; $\blacksquare$, MS-I.

た。PLGA10000 のマイクロスフェアでは約 10 日まで比較的緩やかに減少し、その後は減少速度が増し、その速度は PLGA4900 のマイクロスフェアとほぼ同じであった。

In Vitro での PLGA の重量平均分子量の変化

マイクロスフェアを形成している PLGA の分子量分布は、*in vitro* の試験液中では時間と共に低分子側にシフトした (Fig. 2 に MS-E の例を示した)。これから算出される M_w の時間的な変化を Fig. 3 [a), b)] はそれぞれ PLGA4900 及び PLGA10000 を素材としたマイクロスフェア]

Fig. 3. *In Vitro* Degradation of PLGA Microspheres Showing the Weight-Average Molecular Weight (M_w)

The microspheres were treated under the same conditions as Fig. 1. They were dissolved in chloroform and M_w s of PLGA were determined by gel permeation chromatography.

- a) PLGA4900 microspheres: $\diamond$, MS-A; $\circ$, MS-B; ∇ , MS-C; $\triangle$, MS-D; $\square$, MS-E.
b) PLGA10000 microspheres: $\blacklozenge$, MS-F; $\bullet$, MS-G; $\blacktriangle$, MS-H; $\blacksquare$, MS-I.

8000 までゆるやかな減少後、PLGA4900 とほぼ同じ速度で減少した。

In Vitro におけるマイクロスフェアからのゲンタマイシンの放出性

マイクロスフェアからの GM の *in vitro* 試験液中への放出率を Fig. 4 [a), b)] はそれぞれ PLGA4900 及び PLGA10000 を素材としたマイクロスフェア] に示した。Table II に示したマイクロスフェアの表面の粗密度が、最も粗かった (+++++) MS-E, H, I では、いずれも GM の放出が速かった。また、GM の含量が約 24 mg/g の MS-G と H では、表面の粗い MS-H は緻密な MS-G と比較して放出が速かった (Fig. 4 の b))。すなわち、GM の放出パターンはマイクロスフェアの表面の粗密度に強く影響された。

徐放出化した MS-B と MS-G で、含量の 80% が放出するのに要する日数を比較すると、PLGA4900 を使用した MS-B では約 21 日、PLGA10000 を使用した MS-G では約 28 日を要し、PLGA の M_w の大きさに依存した。

Fig. 2. GPC Profiles of MS-E in PBS

The microspheres were treated under the same conditions as Fig. 1. The molecular weight in the figure refers to that of the standard polystyrene. The areas under the curves correspond to the weight of microspheres.

a, initial; b, 3 d; c, 7 d; d, 14 d; e, 21 d.

に示した。PLGA4900 を用いたマイクロスフェアでは、 M_w は約 2000 まではほぼ 1 次に近似される減少を示し、PLGA10000 では 7000—

Fig. 4. *In Vitro* Release of Gentamicin (GM) from Microspheres

The microspheres were treated under the same conditions as Fig. 1. Aliquots of the solution were filtered through $0.45\mu\text{m}$ and GM concentrations were measured using a substrate-labeled fluorescent immunoassay kit.

a) PLGA4900 microspheres: ○, MS-B; ▽, MS-C; △, MS-D; □, MS-E.

b) PLGA10000 microspheres: ●, MS-G; ▲, MS-H; ■, MS-I.

考

察

ゲンタマイシンを内包するマイクロスフェアの作製

比較的粒子径の大きいマイクロスフェアでは、本報告に用いた液中乾燥法で水溶性薬物でも内包が可能である。⁴⁾ 例えば、Sampath ら⁶⁾ は、ポリ乳酸のマイクロカプセル (径は数百マイクロン) に GM の硫酸塩を内包させ、約 3 週間の持続放出を報告している。しかし、数十マイクロン以下の粒径の場合には、水溶性薬物の内包は困難と言われている。⁷⁾ 戸口^らが、カチオン性ペプチドと PLGA とのイオン性相互作用により、ペプチドの封入率が上昇すると報告しているように、薬物が PLGA などの高分子と相互作用を有すれば、数十マイクロンのマイクロスフェアでも内包され易くなり、またバーストの抑制も可能となる。分子内にアミノ基を有する GM でも同様の効果が期待された。

一方、PLGA は合成方法によって末端基が異なることが知られており、⁸⁾ Table I の PLGA 19000 は末端カルボキシル基はラウリルエステル化されている。⁹⁾ 残り 3 種類はすべてカルボキシル基は遊離状態である。^{10,11)} 末端のカルボキシル基がエステル化されている PLGA19000 では、GM との相互作用は認められなかった。末端に遊離のカルボキシル基を有する PLA3800 をクロロホルムに溶解し GM の試験液と混合した場合には、試験液への GM の回収は元の 30% に低下した。しかし、試験液の pH を 2 以下の酸性にした場合には、GM はほぼ 100% 試験液中に回収された。これらの事実は、GM と PLGA の末端カルボキシル基がイオン性の結合を有することを示している。データは示していないが、GM と PLGA19000 及び GM の硫酸塩と PLGA10000 の 2 通りの組み合わせとも、マイクロスフェア内の GM の内包率は Table II に比して極端に悪くなったことから、薬物の内包には相互作用が必要なが示された。GM を数十マイクロンのマイクロスフェアに内包させるためには、GM と PLGA とのイオン性相互作用が重要であり、そのためには PLGA の末端カルボキシル基が遊離である必要があった。

なお、Table II に示したマイクロスフェアでは、PLGA に対する GM のモル比 (GM は 3 種類の構造式の平均、PLGA の場合は数平均分子量で計算) は、GM の含量が最も高い MS-D 及び H でもそれぞれ 0.22, 0.28 であり、計算上は内包されている GM (1 分子内にアミノ基を 3—4 個有する) のすべてが、PLGA の末端カルボキシル基とイオン結合可能である。

マイクロスフェアの崩壊・分解と薬物の放出性

Baker¹²⁾ は、スラブ状に成形した生分解性高分子からの薬物の放出パターンは、スラブ内の薬物の拡散とスラブの分解に伴って生じる放出の組み合わせたものであると報告している。しかし、GM は PLGA と相互作用するために、単純な拡散による放出パターンは示さないと考えられた。

Fig. 2 の分子量分布に示したように、高分子量の PLGA は試験開始初期には、すでに消失していた。データは示していないが、PLGA 10000 を素材としたマイクロスフェアでも、PLGA の分子量分布の時間推移は同様の傾向を示した。また、例えば MS-G と MS-H のように、マイクロスフェアの表面形態が異なっても、PLGA の分子量分布の時間推移は、素材の PLGA にのみ影響を受け、マイクロスフェアの物性による差異は認められなかった。このことは、いずれのマイクロスフェアでも PLGA の加水分解はマイクロスフェア内部の場所、例えば表面や中心部に関係なく速やかに生じることを意味している。換言すれば、試験液のスフェア内部への浸出入は速やかなことを示唆している。

一方、GM の放出は同一 PLGA を素材とし

Fig. 5. Profiles of Change in Residual Gentamicin (GM), Residual Weight, and Weight-Average Molecular Weight (M_w) for MS-B

The experimental conditions and the treatments of MS-B were described in Figs. 1, 3, 4.

▼, The microspheres were observed using SEM (Fig. 6).

Fig. 6. Scanning Electron Micrographs of MS-B

MS-B in *in vitro* release test was captured on filter ($0.2\mu\text{m}$), rinsed with water, and lyophilized.

a) initial, b) 3d, c) 7d, d) 10d.

たマイクロスフェアでも、その表面の粗密度によって差が生じた。この原因は、GMはPLGAと相互作用を保ちつつ、又はPLGAの分解したオリゴマーと相互作用をした状態で放出されるため、試験液などの水の拡散に必要な水路に比してより広い水路を必要にするため、マイクロスフェアの粗密度の影響を受け易いためと推察される。

以下に詳細な解析結果を示した。

PLGA4900からなるMS-BについてGMの残存率とマイクロスフェアの重量変化及びPLGAの M_w の関係をFig. 5に示した。約3日まではGMの放出は緩やかであり、その後停滞し、 M_w が約2000になった14日頃から比較的速度やかな放出に転じた。放出試験開始前、3, 7, 10日目のSEM写真(Fig. 6)から、マイクロスフェアの形状は7日目には大きく変化していることがわかる。

試験開始初期には、GMは主として拡散(PLGAのオリゴマーとイオン結合した状態)によって放出するが、3日目頃からマイクロスフェアの表面の形状が変化し、凝集が始まると同時にマイクロスフェア内の水路が塞がって、GMの拡散が停滞した。14日頃にはマイクロスフェアの形状自体が保持できないほどPLGAが低分子化され、GMはPLGAのオリ

Fig. 7. Profiles of Change in Residual Gentamicin (GM), Residual Weight, and Weight-Average Molecular Weight (M_w) for MS-G

The test conditions and the treatments of MS-G were described in Figs. 1, 3, 4.

▼, The microspheres were observed using SEM (Fig. 8).

Fig. 8. Scanning Electron Micrographs of MS-G

MS-G in *in vitro* release test was captured on filter ($0.2\mu\text{m}$), rinsed with water, and lyophilized.

a) initial, b) 7d, c) 14d.

ゴマーとイオン結合した状態で放出された。また、その分子量は見かけ上大くなり、放出は水路の形状の影響を受け易くなっている。しかし、Fig. 4 の a) の MS-E のように、表面が粗な場合には、水路が塞がる前に拡散により薬物は放出したものと考えられた。

Fig. 7 には、PLGA10000 からなる MS-G について、マイクロスフェアの重量、PLGA の M_w 、GM の残存率を示した。Fig. 8 には放出試験開始前、7、14 日目のマイクロスフェアの SEM 写真を示した。

Fig. 7 に示したようにマイクロスフェアの M_w の減少速度は 7 日を境に増加し、重量及び GM の残存量の減少速度は 14 日前後を境に増加した。7 日の M_w は約 7000 であり、14 日では約 4000 であった。SEM 写真から 7 日ではマイクロスフェアの形状はわずかに変化し、14 日では完全に形状が崩れることが示された。

マイクロスフェアの分解速度は PLGA の分子量に依存することは、既によく知られた事実である。分子量が約 2 倍異なる PLGA4900 と PLGA10000 のマイクロスフェアの重量の減少を比較すると、後者は約 2 倍長くなった (Fig. 1)。

本研究からは、数十ミクロンのマイクロスフェアでは、高分子と薬物が相互作用がない場合には、内包が困難であるが、高分子と薬物間に相互作用があれば、水路の径を制御することにより、放出も制御可能と考えられた。

また、Table II に示すように GM の含量が増加すると、マイクロスフェア表面の形状が粗になりやすく、放出が速くなる傾向があり、放出制御可能な薬物含量の上限が存在するものと考えられた。

謝辞 秋田 豊氏及び浅田 與氏 (塩野義製薬) には、SEM 写真及びゲンタマイシンの遊離塩基の作製方法について御協力いただき深謝します。また、本研究は、ヒューマンサイエンス振興財団の官民共同プロジェクトに参加して実施したものであり、プロジェクトの運営及び研究に対して多数の助言をいただいた国立衛生試験所薬品部の吉岡澄江博士に深謝いたします。

引用文献及び注

- 1) 戸口 始, 小川泰亮, 岡田弘晃, 山本眞樹, 薬誌, **111**, 397 (1991).
- 2) J.-M. Ruiz, J.-P. Busnel, J.-P. Benoit, *Pharm. Res.*, **7**, 928 (1990); T. Seki, T. Kawaguchi, H. Endoh, K. Ishikawa, K. Juni, M. Nakano, *J. Pharm. Sci.*, **79**, 985 (1990); T. Heya, H. Okada, Y. Ogawa, H. Toguchi, *Int. J. Pharm.*, **72**, 199 (1991); I. Yamakawa, Y. Tsushima, R. Machida, S. Watanabe, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 899 (1992); I. Gradus-Pizlo, R. L. Wilensky, K. L. March, M. Michaels, D. R. Hathaway, *Circulation*, **88**, I-311 (1993).
- 3) L. M. Sanders, B. A. Kell, G. I. McRae, G. W. Whitehead, *J. Pharm. Sci.*, **75**, 356 (1986).
- 4) 竹島和男, 砂川則雄, 長田俊治, 平野耕一郎, 高岸 靖, 薬誌, **112**, 203 (1992).
- 5) a) H. Wahlig, *J. Antimicro. Chemoth.*, **10**, 463 (1982); b) 矢島弘嗣, 糸原弘道, 金森行男, 増原建二, 長鶴義隆, 塩見俊次, 臨整外, **17**, 643 (1982); c) 河路 渡, 星野 孝, 林浩一郎, 祖父江牟婁人, 臨牀と研究, **67**, 899 (1990).
- 6) S. S. Sampath, K. Garvin, D. H. Robinson, *Int. J. Pharm.*, **78**, 165 (1992).
- 7) R. Jalil, J. R. Nixon, *J. Microencapsulation*, **7**, 297 (1990).
- 8) M. Asano, H. Fukuzaki, M. Yoshida, M. Kumakura, T. Mashimo, H. Yuasa, K. Imai, H.

- Yamanaka, *Drug Des. Delivery*, **5**, 301 (1990).
- 9) MEDISORB Technologies International の personal communication.
 - 10) 国産化学株式会社の「低分子量 生分解性 L, DL, D-乳酸ポリマー素材」カタログ.
 - 11) 国産化学株式会社の「低分子量 生分解性 L-乳酸・グリコール酸コポリマー素材」カタログ.
 - 12) R. Baker, "Controlled Release of Biologically Active Agents," John Wiley & Sons, New York, 1987, pp. 116—126.