

# 粒子サイズが溶解性、溶解速度、経口バイオアベイラビリティに及ぼす影響： 裸のナノ結晶としての補酵素<sub>Q10</sub>を用いた評価

本論文は、以下のDove Pressジャーナルに掲載されました：International Journal of Nanomedicine  
2012年11月9日  
本論文の閲覧回数

Jiao Sun<sup>1</sup>  
ファン・ワン<sup>1,2</sup>  
スイ・ユエ<sup>1</sup>  
謝振楠<sup>1</sup> 翟文軍<sup>1</sup>  
王春玲<sup>1</sup> 鄧一輝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>薬学部, 瀋陽薬科大学, 中国瀋陽市; <sup>2</sup>北京智建金瑞応用薬学株式会社, 中国北京市

**要旨：**本研究では、溶媒/非溶媒法を用いて界面活性剤やポリマーを一切使用せずに、4種類の裸のナノ結晶（サイズ範囲80～700 nm）を調製した。粒子サイズが溶解性、溶出性、経口バイオアベイラビリティに及ぼす影響を調査した。溶解度および溶出試験は3種類の溶出媒体で実施され、補酵素<sub>Q10</sub>ナノ結晶とバルク薬物の平衡溶解度は溶出媒体の影響を受けないが、速度論的溶解度は影響を受けることが明らかになった。速度論的溶解度曲線と粒子径分布の変化を測定し、提案した溶解化モデルによってナノ結晶とバルク薬物の両方をよく説明できた。粒子径が溶解に及ぼす影響は、各種溶解媒体の拡散係数によって明らかに影響を受け、粒子径が小さくなるにつれて<sup>コエンザイムQ10</sup>の溶解速度は増加した。粒子径を小さくすることで、ビーグル犬への経口投与後の<sup>補酵素Q10</sup>の生体利用率が向上した。700 nmのナノ結晶の場合、 $AUC_{(0-48)}$ は4.4倍大きかった。

粗い懸濁液では、粒子サイズを700 nmから120 nmにさらに減少させても生物学的利用能の向上には寄与しなかったが、粒子サイズを80 nmまで縮小すると生物学的利用能が7.3倍増加した。

**キーワード：**粒子径、溶解度、溶出、ナノ結晶、生物学的利用能、<sup>補酵素Q10</sup>

## はじめに

1980年代にSuckerらがナノ粒子を製造して以来<sup>1</sup>、ナノ化技術は、特に難溶性薬剤の生物学的利用能向上において大きな注目を集めてきた<sup>(2-7)</sup>。難溶性薬剤の経口投与においては、溶解度の限界と低い溶出速度により、腸管と血管間の濃度勾配が小さく、輸送が制限されるため、経口吸収に影響を及ぼす。溶解度と溶出速度の向上は有望なアプローチである。この観点から、粒子サイズを少なくとも一辺が1000 nm未満に縮小するナノ化技術は、オストワルト・フロイントリッヒ方程式<sup>(2,3,5,7,8)</sup>、ノイエス・ホイットニー方程式<sup>(2,4,6-8)</sup>、プラントル方程式<sup>(2,5,9)</sup>、およびオストワルト熟成<sup>(7)</sup>といった理論的考察に基づいて開発されてきた。

これらの理論の中でも、オストワルト・フロイントリッヒの式はマイクロ化ではなくナノ化に特化したものであり、製薬業界で広く用いられてきた。ただし、この式にはいくつかの論争があり、現時点では完全に証明されていない。<sup>10</sup> この式はケルビンの式から導出され、飽和溶解度または平衡溶解度が粒子サイズに依存することを次のように表す：<sup>10</sup>

$$\rho v \frac{RT}{M} \ln \frac{S_r}{S_\infty} = \frac{2\lambda_{cl}}{r} \quad (1)$$

連絡先：鄧一輝瀋陽薬科大学薬学部  
中国瀋陽市

Tel +86 24 2398 6316  
Fax +86 24 2398 6316  
Email pharmdeng@gmail.com

切に引用されていることを条件に、  
非営利目的での無制限の利用を許可  
します。

**5733**



ここで、 $S_r$  = 半径  $r$  の粒子の溶解度、 $S_\infty$  = 平面表面（または大きな粒子からなる）固体の溶解度、 $\lambda_{sj}$  = 界面張力、 $M$  = モル質量、 $\rho$  = 固体の密度、 $v = 1$ モルの電解質から生成されるイオンのモル数を表す（非電解質では  $v = 1$ ）、 $R$  = 気体定数、 $T$  = 絶対温度。この式は、特に200 nm以下の1000 nm未満の球状粒子に適用可能である。

(<sup>11</sup>)式2はノイエス・ホイットニー式である：<sup>(12,13)</sup>

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DA}{Vh} (C_s - C) \quad (2)$$

ここで、 $dC/dt$  = 溶解速度、 $D$  = 拡散係数、 $A$  = 表面積、 $V$  = 溶解媒体の体積、 $C_s$  = 飽和溶解度、 $C_x$  = バルク溶液中の薬物濃度、 $h$  = 流体力学的境界層の厚さであり、これはプラントルの式で表されるように粒子径の影響も受ける。<sup>9</sup> これは、粒子径の縮小後、飽和溶解度の増加、表面積の拡大、拡散層の薄化が溶出速度を劇的に増加させ、それによって同時に生物学的利用能を改善し得ることを示している。<sup>14</sup> オストワルト熟成は、「大きな魚が小さな魚を食べる」ように、溶解度の差の結果として、大きな結晶が小さな結晶を犠牲にして成長する過程である。

粒子サイズが溶解性、溶出性、生物学的利用能に及ぼす影響については、多くの研究者によって報告されている。<sup>(4,6,15-17)</sup> しかしながら、使用された製剤は界面活性剤やポリマーによって安定化されていたため、粒子サイズの影響を真に反映しているとは言いがたい。これまで、裸のナノ結晶（すなわち安定化剤を含まない100%の薬剤）を用いた粒子サイズ効果の調査はほとんど報告されていない。

ナノ結晶系において、高い薬物負荷量の達成は課題である。増大した表面積を減少させるために沈殿や凝集が生じる傾向があり、通常は界面活性剤や安定剤を添加することでこれを抑制する必要がある<sup>(18)</sup>。そのため、300 nm未満のイトラコナゾールナノ粒子における86%（イトラコナゾール重量/総固形分重量）の薬物負荷量が高いとみなされてきた。<sup>19</sup> これまで、製薬業界における裸のナノ結晶の使用に関する研究はごくわずかしかなか<sup>20-24</sup>、関連する研究のほとんどは、その調製方法のみを対象としている。Wangら<sup>23</sup>およびSunら<sup>24</sup>は、さまざまなサイズの裸のナノ結晶を

補酵素Q10を溶媒/非溶媒法を用いて合成し、粒子径と溶解度の関係を

4種類のエタノール-水溶液における溶解性を調べた。しかしながら、裸のナノ結晶に関する体系的な研究はまだ存在しない。したがって、本研究では

本研究は、別の観点から コエンザイムQ10の粒子サイズが溶解性と溶出性に及ぼす影響をさらに調査することを目的とした。加えて、経口投与に関するより安定したデータを得るための確立されたモデルであるビーグル犬を用いて、粒子サイズと生物学的利用能の関係を調査した。

## 材料と方法

### 材料

原料コエンザイムQ<sub>10</sub>は雲南

楚雄孫製薬株式会社（中国雲南省）。

補酵素Q<sub>10</sub>カプセルは上海普康製薬株式会社（中国・上海）より入手した。無水エタノール

メタノール（99.7% v/v）およびイソプロパノール（99.7% v/v）は天津博迪化学控股有限公司（中国天津）より提供された。Tween 20は天津ケルメル化学試薬有限公司（中国天津）より購入した。高性能液体クロマトグラフィー（HPLC）用メタノールは江蘇漢本科技株式会社（江蘇省、中国）より、エタノールは天津ケルメル化学試薬有限公司より入手した。その他の化学薬品及び試薬は全て分析用グレードであった。

### 裸の補酵素Q10ナノ結晶および粗懸濁液の調製

裸の補酵素Q10ナノ結晶の懸濁液を製造するための沈殿法を開発した。簡潔に述べると、30.0 mgおよび10.0 mgの 補酵素Q10 をそれぞれ溶解した。

3.0 mLのエタノールを60°Cの水浴中で有機相として調製した。これを27.0 mLの二重蒸留水に14,000 rpmで注入し、15秒間攪拌した（IKAT18 Ultra Turrax<sup>®</sup>、ドイツ製）。これによりそれぞれ120 nmおよび80 nmの懸濁液を得た。400 nmおよび700 nmのナノ結晶の懸濁液は、50°Cの水浴で、27.0 mLの二重蒸留水を、それぞれ800 rpmおよび400 rpmで攪拌しながら、1分間に30 mLおよび15 mLの速度で有機相に分散させることで調製した。80 nmのナノ結晶懸濁液は、限外ろ過（Millipore社、マサチューセッツ州ベッドフォード）により濃縮した。粗懸濁液は、30.0 mgの補酵素Q<sub>10</sub>を10% v/vエタノールを含む30.0 mLの蒸留水に分散させることで調製した。5つの懸濁液の補酵素Q<sub>10</sub>含有量は、約1 mg/mLに調整した。

### ナノ結晶懸濁液の特性評価

粒子径分布とゼータ電位

裸のナノ結晶の粒子径分布は、PSS Nicompを用いた動的光散乱法により決定した。

380 ZLSは、632.8 nmのHe-Neレーザー光源（PSS Nicomp, サンタバーバラ, カリフォルニア州）を備え、23°C、90度の角度で、強度加重粒子サイズによって特徴づけられた。懸濁液サンプル（約1 mL）を粒子径分析装置のサンプルホルダー内に配置し、希釈せずに直接測定した。所定の強度が得られた時点で分析を実施し、平均粒子径と多分散性指数を取得した。ゼータ電位もPSS Nicomp 380 ZLSを用いて測定した。

### 透過型電子顕微鏡観察

異なるサイズのナノ結晶懸濁液の試料を蒸留水で希釈し、メッシュサイズ300のコロジオンフィルム被覆銅グリッドにピペッティングした。吸収紙を用いて乾燥後、リンタンングステン酸で4分間染色し、最終的に常温下で乾燥させた。粒子の形態評価は透過型電子顕微鏡（JM-1200EX; JEOL, 東京, 日本）を用いて実施した。

### 示差走査熱量測定

懸濁液中のナノ結晶およびバルク薬物の熱分析図は、示差走査熱量計（1 STARe; Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland）を用いて取得した。20 μmの補酵素 Q<sub>10</sub>に相当するサンプルをアルミニウム製の皿に入れ、1 分間に 40 mL の窒素パージ下で、1 分間に 10°/min のスキャン速度で 20° から 60° まで加熱した。結果は STAReソフトウェアを用いて解析した。その後、液体サンプルを別のアルミ製パンに移し、溶媒を除去するために室温で12時間乾燥させた。続いて、乾燥サンプルの熱分析図を同じ操作条件で取得した。

### 溶解媒体の調製

本研究では、一連のin vitro溶出試験および溶解度試験におけるサイズ効果を調査するため、3種類の溶出媒体を用いた。溶解媒体Aは1.3% w/vのTween 20を含み、溶解媒体Bは1.3% w/vのTween 20と5.0% v/vのイソプロパノールを含み、溶解媒体Cは1.3% w/vのTween 20と10.0% v/vのイソプロパノールを含んだ。

## 溶解度測定

### 振とう挙動

溶解媒体 A において、異なる量の薬物含有量を持つバルク補酵素 Q<sub>10</sub>の動的溶解度を調べ、2 種類の振とう挙動を

調査した。補酵素Q<sub>10</sub>の2 mg、6 mg、10 mg、20 mgのサンプルをそれぞれ60 mLの溶解媒体に分散させた後、3 mLのサンプルをバイアルに移し、キャップで閉じてパラフィルム®で密封した。同じ薬物含有量のサンプルを、水平方向と垂直方向の2方向にシェーカープラットフォームにテープで固定し、25°Cに保たれた水浴中で100 rpmで連続的に攪拌した。溶解した薬物の量は、各サンプルを0.1 μmのミリポアフィルターに通し、逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて薬物濃度を分析することにより、さまざまな時点で測定しました。測定は3回繰り返しました。

### CoQ<sub>10</sub>ナノ結晶およびバルク薬物の溶解度

4種類の補酵素Q<sub>10</sub>ナノ結晶およびバルク薬物の3種類の溶解媒体における平衡溶解度値を、希釈法を用いて決定した。溶解媒体Bを例にとると、粒子サイズの異なる1 mLの補酵素Q<sub>10</sub>ナノ結晶懸濁液（薬物含有量は約1 mg）を、2 mLの媒体（1.95% w/vのTween 20および7.5% v/vのイソプロパノールを含む）にキャップ付きバイアルに加え、溶解媒体B（1.3% w/v Tween 20、5.0% v/v イソプロパノール含有）を調製した。バイアルをパラフィルムで密封し、シェーカープラットフォームに水平にテープ固定した後、25°Cに維持された水浴中で100 rpmで連続攪拌した。平衡化したサンプルを、異なる時点において三層膜フィルター（上から下層への孔径が0.1μm、0.05μm、0.1 μm）、また単層0.05 μmミリポアフィルターも検討した。濾液は逆相HPLCで分析した。

## in vitro溶解プロファイル測定

5種類のコエンザイム Q<sub>10</sub>懸濁液の溶出試験を薬物溶出試験装置（ZRS-8G）で実施した。

天津天発科技有限公司（中国天津）のパドル法を用いた。前項で得られた溶解度値に基づき、0.6 mLの補酵素Q<sub>10</sub>ナノ結晶懸濁液（補酵素Q<sub>10</sub> 0.6 mg含有）を900 mLの溶出媒体に分散させ、シンク条件を設定した。溶出速度は100rpmに固定し、温度は25°Cに維持した。所定の時間間隔で溶出媒体3mLを採取し、同量の新鮮な媒体と置換した。未溶解の薬物粒子を除去するために0.05μmの膜フィルターを使用した。薬物濃度はHPLCにより定量し、溶出試験は3回繰り返し実施した。

## ビーグル犬を用いた生物学的利用能試験

12頭の健康なビーグル犬（体重 $10.02 \pm 0.57$  kg）は、中国瀋陽市にある瀋陽薬科大学実験動物センターより提供された。動物実験は瀋陽薬科大学の動物実験ガイドラインに従い実施され、同機関の動物倫理委員会の承認を得た。4種類の異なる粒径のコエンザイムQ10ナノ結晶懸濁液、

粗懸濁液、および市販カプセルを経口投与した。

12頭のビーグル犬に対し、60 mg/体重の用量でクロスオーバー法により投与した。各連続投与間には1週間のウォッシュアウト期間を設けた。投与前12時間絶食させたが、水は自由に摂取可能とした。血清サンプル（1.5 mL）は、投与前（0時間）、および投与後0.17、0.5、1、2、3、

4、6、8、12、24、36、48時間後に採取した。血清サンプルは血液サンプルを遠心分離して得られ、さらなる分析まで $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。

## 分析法

CoQ<sub>10</sub> 溶解媒体中

溶解性および溶出性試験用の試料は、HPLCポンプ（モデルP230；大連エリート分析儀器有限公司、中国大連）と212 nmに設定した紫外検出器（モデルUV228；大連エリート分析儀器有限公司）で構成されるシステムを用いてHPLC分析を行った。分析カラムには、 $30^{\circ}\text{C}$ で操作したC18カラム（Haito pack ODS C18、 $4.6\text{ mm} \times 100\text{ mm}$ ,  $5\text{ }\mu\text{m}$ ; 中山海拓生物材料科技有限公司、広東省、中国）を分析カラムとして使用した。移動相はメタノールとエタノールの混合液（40:60、v/v）であり、流速は毎分1.0 mL、注入量は100  $\mu\text{L}$ であった。

血清中のコエンザイムQ<sub>10</sub>

血清中のコエンザイム<sub>Q10</sub>は、検証済みHPLC法により測定した。まず、100  $\mu\text{L}$ の血清に10  $\mu\text{L}$ の内部標準溶液（エタノール中<sub>ビタミンK1</sub>、15  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を添加し、 $37^{\circ}\text{C}$ で20分間保持した。ボルテックスミキサーで十分に混合した後、メタノール200  $\mu\text{L}$ とヘキサン600  $\mu\text{L}$ を混合液に加え、ボルテックスミキサーで3分間よく混合した。その後、混合液を10,000 rpmで10分間遠心分離し、上清500  $\mu\text{L}$ を採取した。同様の手順で抽出を2回繰り返し、上清600  $\mu\text{L}$ を採取した。総

上清（1100  $\mu\text{L}$ ）を採取し乾燥させた

残渣を100  $\mu\text{L}$ の移動相（メタノールとエタノールの混合物）で再構

成した

5736

原稿を投稿する | www.dovepress.com

Dovepress

（30:70、v/v）で溶解し、10,000 rpmで10分間遠心分離した後、HPLCポンプと275 nmに設定した紫外検出器（モデルUV200H; Elite）で構成されるHPLCにより測定した。20  $\mu\text{L}$ のサンプルを、 $30^{\circ}\text{C}$ に保たれたC18カラム（Hypersil BDS C18、 $4.6\text{ mm} \times 150\text{ mm}$ ,  $5\text{ }\mu\text{m}$ ; Elite）に注入し、移動相を用いて1分間に1.0 mLの流速で10分間分析した。すべての実験は低照度条件下で実施した。

## 薬物動態解析

コエンザイム<sub>Q10</sub>の標準的な薬物動態パラメータは、血漿中濃度-時間曲線から得られた。これら

薬物動態パラメータには、血漿中薬物濃度ピーク値（ $C_{\text{max}}$ ）、ピーク濃度に到達するまでの時間、および曲線下面積（ $\text{AUC}_{0 \rightarrow 48}$ ）が含まれ、これは0~48時間について直線台形法を用いて算出された。

## 統計解析

統計解析は、SPSS バージョン

16.0ソフトウェア（IBM Corporation, Armonk, NY）を用いて実施した。P値が0.05未満の場合、統計学的に有意とみなした。

## 結果と考察

懸濁液中のコエンザイムQ<sub>10</sub>ナノ結晶の

サイズ分布とゼータ電位

懸濁液中におけるコエンザイムQ10ナノ

図1に示すように、原薬および裸のコエンザイム<sub>Q10</sub>ナノ結晶の異なるサイズの懸濁液は異なる外観を示した。5つの製剤の薬物含有量は製剤の薬物含有量は同一であり、外観の差異はサイズ変動のみに起因した。全てのナノ結晶が均一分散しており、



図1 原薬および裸のコエンザイム<sub>Q10</sub>ナノ結晶の懸濁液

ナノ結晶の懸濁液

室温で2日間保存後の異なるサイズ。

**注記：**左から右へ：原薬、80 nm、120 nm、400 nm、700 nmのナノ結晶  
700 nmのナノ結晶。全5製剤の薬物含有量は約1 mg/mLであった。

粒子径の減少に伴い、色が濃色から淡色へと変化した。対照的に、懸濁液中に分散したバルク薬物は非常に不安定で、2日目までに完全に沈殿していた。

4種類の異なるサイズのコエンザイム<sub>Q</sub>10ナノ結晶の平均粒子径、粒径分布、ゼータ電位は表1に示す。物理的安定性の結果は以下の通りである。

図2に示すように、異なる懸濁液中の補酵素Q10ナノ結晶の平均サイズは

80.6 nm、122.2 nm、391.6 nm、および680.1 nm（ナノメートル単位で表す）であった。

80 nm、120 nm、400 nm、700 nmのナノ結晶をそれぞれ調製した。400 nmおよび700 nmサイズのナノ結晶は少なくとも2週間安定であったが、80 nmおよび120 nmサイズのナノ結晶は室温で最大1か月間物理的に安定であった。ゼータ電位測定により、懸濁液中のナノ結晶が負に帯電していることが示され、これは大きな表面積による吸着の原因となり、物理的安定性に寄与した可能性がある。補酵素<sub>Q</sub>10ナノ結晶と溶媒間の強いブラウン運動と小さな密度差も、その安定性に寄与した可能性がある。

## 形態および結晶形の評価

透過型電子顕微鏡写真からは、ナノ結晶が明らかに球状であることが確認できる（図3）。これは、古典的なオストワルト・フロイントリッヒの式によって提唱されたサイズと溶解度の関係性を調査する上で極めて重要である。

結晶形態の変化を検出するには通常、示差走査熱量測定とX線粉末回折分析が用いられる。本研究の補酵素<sub>Q</sub>10ナノ結晶は安定化剤なしで調製され、エタノール-水混合物中に分散されたため、凍結乾燥法やその他の乾燥法などの追加処理は粒子サイズの変化を引き起こす可能性がある。したがって、懸濁液中のナノ結晶を後続の実験に使用した。懸濁液中の80nmナノ結晶に対する小角X線散乱の感度は残念ながら低かったため、元の懸濁液サンプルを調査するために液体示差走査熱量測定が選択された。液体示差走査熱量測定の結果（図4参照）は、ナノ結晶が失敗したことを示している

表 1 コエンザイム Q<sub>10</sub> ナノ結晶の粒子径、多分散性指数、ゼータ電位 (n = 4)

製剤	粒子径 (nm)	PI	ゼータ電位 (mV)
A	80.6 ± 4.3	0.042 ± 0.023	-32.20 ± 0.36
B	122.2 ± 10.5	0.156 ± 0.005	-31.29 ± 0.24
C	391.6 ± 14.3	0.238 ± 0.085	-16.98 ± 0.27
D	680.1 ± 63.1	0.181 ± 0.069	-5.58 ± 1.46

略語：PI、多分散性指数。

融点を実証<sup>する</sup>ため、50倍に濃縮した場合でも測定を行った。興味深いことに、水中に分散した原料は典型的な融点約50°Cを示したが、室温で4時間保存すると融点が消失した。これは溶媒によって<sup>補酵素Q10の</sup>結晶転移が誘起される可能性を示唆している。この仮説を検証するため、乾燥サンプルを対照試料として用いた。全サンプルで明らかな吸熱ピークが確認された（図5参照）。特に50倍濃縮した120nmナノ結晶懸濁液では、薬物量が検出感度を満たす十分な量であり、さらに溶媒誘起結晶転移を示した。

## 溶解性

難溶性の<sup>補酵素Q10について</sup>、水溶液は溶解度と溶出性の結果があまりにも

測定には低濃度であるため、既報の方法に従い非イオン性界面活性剤Tween 20を用いた<sup>(25)</sup>。さらに、エタノールよりも揮発性の低いイソプロパノールを異なる濃度で添加し、サイズの影響を調べるための3種類の媒体を調製した。界面活性剤は使用したが、適切な溶解条件を開発するため、ナノ結晶調製後に添加した。これは、ナノ結晶調製時に界面活性剤を安定化剤として使用した場合とは異なる状況である。全ての調製法で同一濃度の界面活性剤を用いたにもかかわらず、曲率と表面積の違いにより、異なるサイズのナノ結晶に分散した界面活性剤の密度は異なった。

## 振とう挙動の検討

文献では、溶解度測定は常に過剰量の薬剤を溶出媒体に加え、水浴中で連続的に攪拌しながら、一定時間（例えば24時間）ごとにサンプリングして行われる。<sup>4</sup> 平衡状態での溶解度の測定には長い時間を要し、化学的不安定性、生分解、溶媒の揮発など多くの問題が結果に悪影響を及ぼす可能性があるため、「動的」溶解度が好ましく、頻繁に測定される。

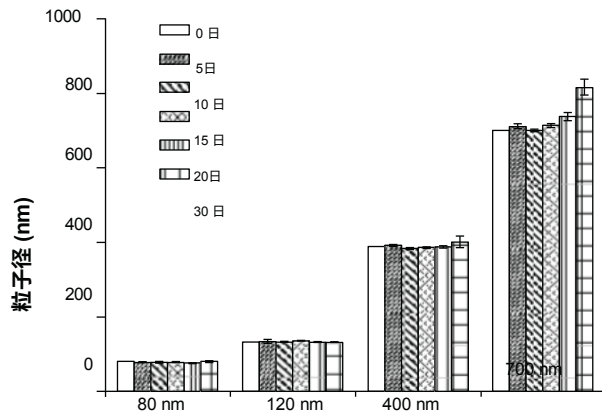


図2 裸の補酵素 Q<sub>10</sub> ナノ結晶の懸濁液の室温における物理的安定性 (n = 3)。

図6に示すように、薬物含有量は動的溶解度に明らかな影響を与えた。薬物含有量が高いほど、溶解速度は速く、平衡到達までの時間は短くなった。攪拌挙動は無視できる影響ではなかった。溶解度実験は通常 100 rpmで行われるが、本研究ではこの攪拌速度は弱く、振動が不均一に分布することが判明した

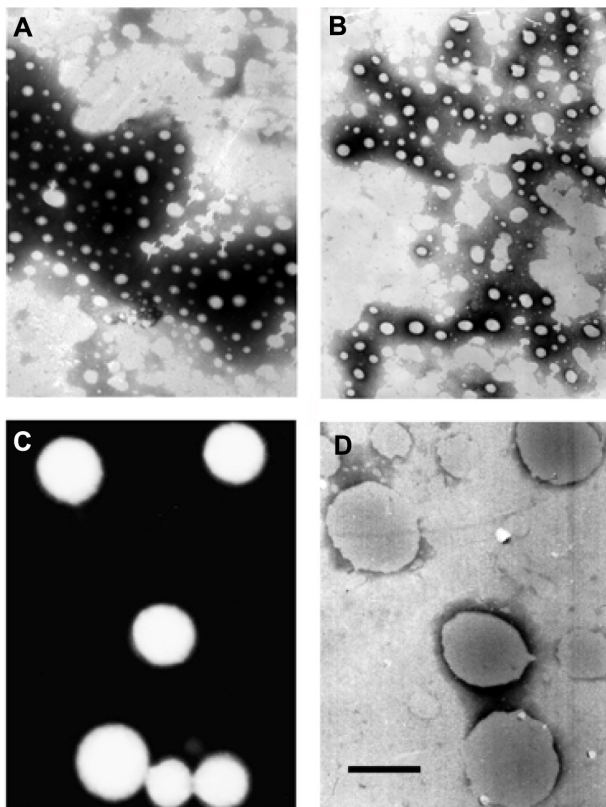


図3 粒子径が(A)80 nm、(B)120 nm、(C)400 nm、(D)700 nmの補酵素Q<sub>10</sub>ナノ結晶の透過型電子顕微鏡写真。

注：スケールバー = 500 nm。

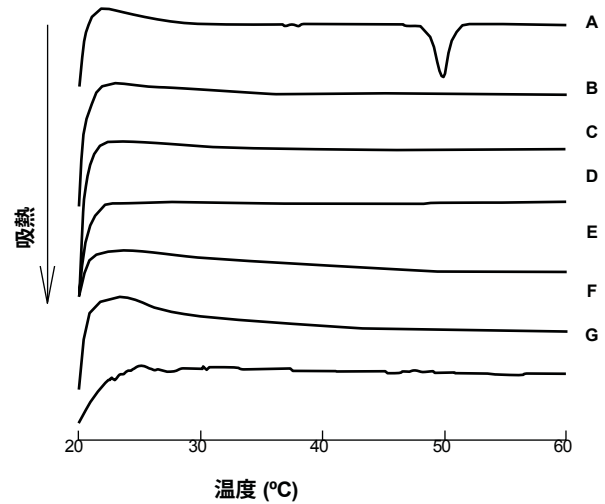


図4 異なるサイズの補酵素Q<sub>10</sub>ナノ結晶懸濁液および粗懸濁液の示差走査熱量測定パターン。

注記：(A)粗懸濁液；(B) 80 nm；(C) 120 nm；(D) 400 nm；(E) 700 nm；(F) 4時間保存後の粗懸濁液；(G) 50倍濃縮した120 nmナノ結晶懸濁液。

サンプルを垂直に配置した場合、薬剤粒子がチューブ底部に沈殿した。溶出媒体に曝露される表面積が減少したため、図6に示すように平衡到達時間が延長した。サンプルを水平に配置した場合、完全な振動効果が得られ、薬剤含有量0.10 mg/mL、0.17 mg/mL、0.33 mg/mLのサンプルはいずれも25日目までに平衡に達した。

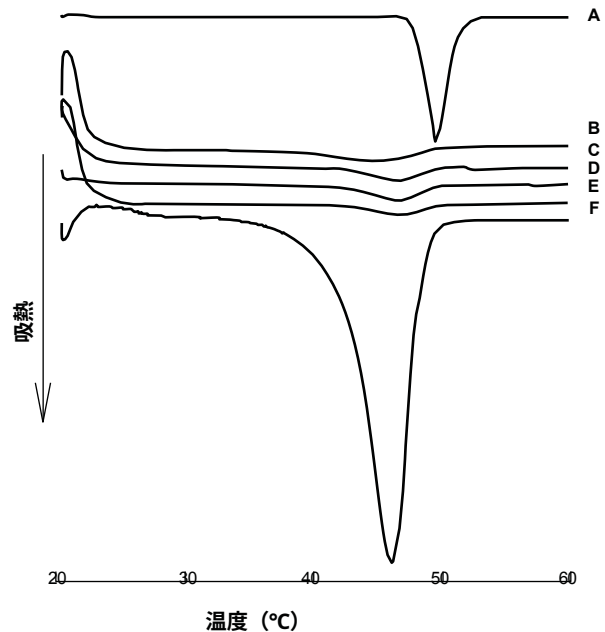


図5 異なるサイズの補酵素 Q<sub>10</sub> ナノ結晶の乾燥懸濁液および粗懸濁液の示差走査熱量測定パターン。

注：(A)粗懸濁液；(B) 80 nm、(C) 120 nm、(D) 400 nm、(E) 700 nm；(F) 50倍濃縮した120 nmナノ結晶懸濁液。

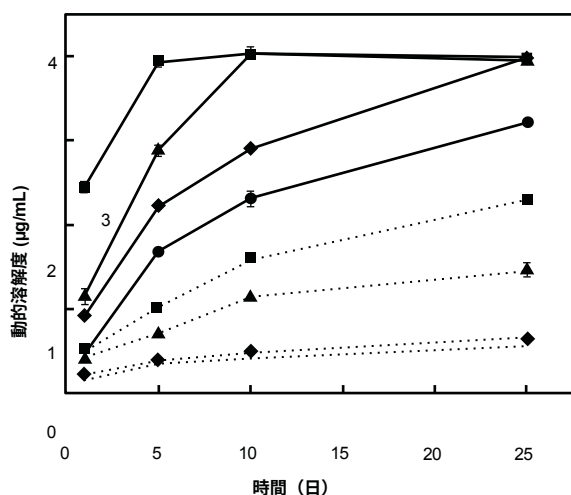


図6 薬物含有量が約0.03 mg/mLから0.33 mg/mLの範囲で変化する条件下における補酵素Q10の動的溶解度  
約0.03 mg/mLから0.33 mg/mLの範囲におけるコエンザイムQ10の動的溶解度。  
注記：結果は3回の反復実験の平均値±標準偏差で示される。  
● = 0.03 mg/mL; ■ = 0.10 mg/mL; ▲ = 0.17 mg/mL; ◆ = 0.33 mg/mL. 実線：  
水平配置; 点線：垂直配置。

平衡状態に達しない場合、薬物含有量が増加するにつれて溶解度が高いという誤った印象が生じ、異なる薬剤や製剤を比較する際に不正確さを招く。したがって、動的溶解度を比較指標として用いる際には、「過剰量」という曖昧な表現ではなく、使用されている薬物の量を特定することが不可欠である。さらに、前述の方法を用いて平衡状態を評価することも可能である。薬物含有量が増加する一連の試料において、2つ以上の試料の溶解度が完全攪拌後に同一値を示す場合、平衡状態に達しており、その同一値が平衡溶解度となる。ただし、この方法は薬物含有量に依存する溶解度を示すイオン化薬物には適用されない点に留意が必要である。

#### 補酵素Q10 ナノ結晶とバルク薬物の溶解度

溶解性実験は通常、固体状態の薬剤を用いて実施される。界面活性剤を一切使用せずに裸のナノ結晶を乾燥させると粒子サイズが変化する可能性があり、また吸着ガスが障壁として溶解速度に影響を与えることを考慮し<sup>26</sup>、懸濁液を直接使用した。すなわち、一定量のナノ懸濁液または粗懸濁液を添加して

最終溶出媒体を得るための溶液。各最終溶出システムにおいて、ナノ懸濁液により約3.3%のエタノール残留物が導入された。当初、ナノ懸濁液からエタノールを除去するために水での透析が用いられたが、粒子サイズが変化し粒子が不安定化したため、この方法は放棄された。したがって、各製剤は一貫性を確保するため同一条件で処理した。さらに、先行実験から3.3%エタノールが溶解性に及ぼす影響は無視できることが示されていた。<sup>(24)</sup>

図7に示すように、異なるミリポアフィルターで得られた溶解度は、特に80 nmおよび120 nmの粒子サイズにおいて大きく異なった。80 nmナノ結晶の場合、溶解媒体A中で1日経過後、単層フィルターで得られた値は、

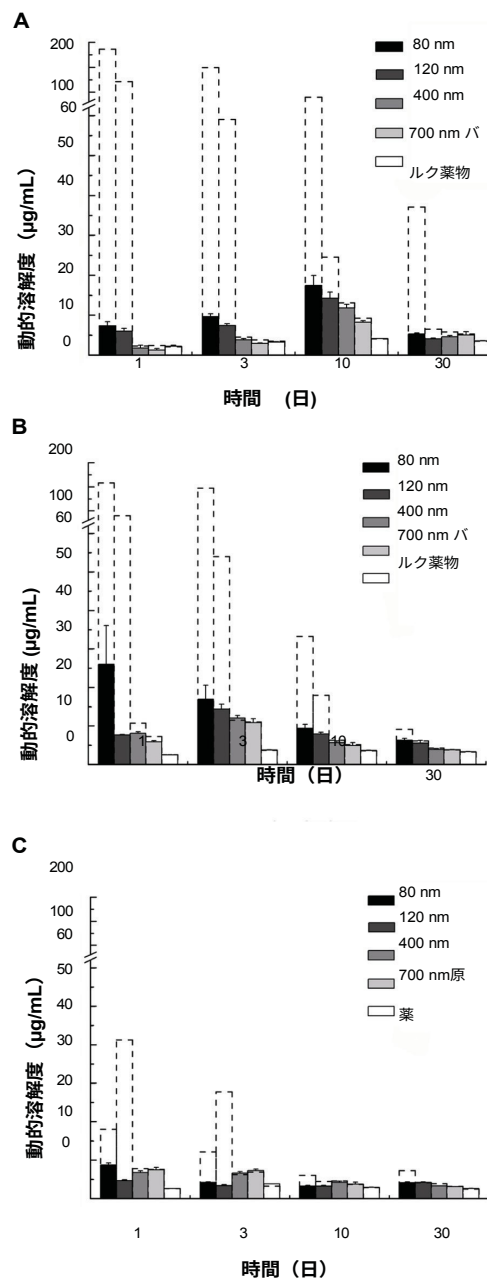


図7 3種類の溶出媒体中における懸濁液からの補酵素Q10ナノ結晶およびバルク薬物の動的溶解度。実験は100rpm、25°Cで実施し、サンプルは水平に配置して撹拌した。各条件における薬物含有量は約0.33mg/mLであった。結果は3回反復実験の平均値±標準偏差で示した。(A) 1.3% w/v Tween 20 含有蒸留水、(B) 1.3% w/v Tween 20 および 5.0% v/v イソプロパノール含有蒸留水、(C) 1.3% w/v Tween 20 および 10.0% v/v イソプロパノール含有蒸留水。  
注記：実線バー：3層膜フィルターを通過（上層から下層への孔径は0.1 µm、0.05 µm、0.1 µm）；破線バー：0.05 µmのMilliporeフィルター1層を通過。

三層フィルター。最小孔径はいずれも0.05 $\mu\text{m}$ であったが、単層フィルターでは微小粒子がより容易に通過した。0.03 $\mu\text{m}$ フィルターのようなさらなる孔径縮小は、水やエタノールが通過しにくくなるため実現不可能であった。このため、より優れた固液分離を得るため、初めて三層フィルターが採用された。上層は大きな粒子を捕捉し目詰まりを防止し、中層はニコンプ分布解析に基づいて選定され微小粒子を捕捉、下層は支持面として機能した。層間の交差配置により、可能な限り優れた固液分離と正確な溶解度データが得られた。本実験では、異なるサイズのナノ結晶について、三層フィルターを用いた動的溶解度は粒子径の減少に伴い増加した。

以前の研究において、我々は「界面溶解度」( $C_y$ )という新たな概念を提案した。これは境界層の平均濃度であり、ナノ結晶とバルク薬物の溶解過程。<sup>24</sup> 図8に示すように、「可溶化」は動的過程であり、溶解と沈殿の両方が同時に異なる比率で発生し、通常は拡散によって進行する。駆動力は界面溶解度( $C_y$ )とバルク溶液濃度( $C_x$ )の差である。微小粒子の界面張力は巨大粒子より大きいので、界面溶解度が高い。微小粒子は濃度勾配が急峻で拡散層が薄く<sup>(27)</sup>、表面積が増大するため溶解速度が速い(図8A)。微粒子では、極めて速い溶解によりバルク溶液濃度が急速に上昇し、過飽和状態に達する。残留粒子が沈殿を誘起し、過飽和度が上昇するため、沈殿速度は徐々に増加し、バルク溶液濃度が最大値 $C_{x(max)}$ に達した時点で溶解速度と等しくなる。その後、沈殿速度は溶解速度を上回る。

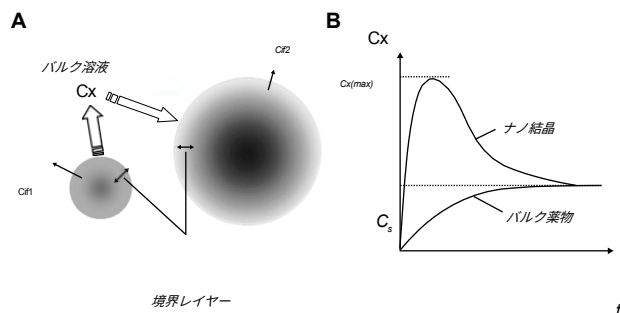


図8 ナノ結晶とバルク薬物の可溶化モデル。(A) 可溶化プロセス；(B) 可溶化曲線。

バルク溶液濃度は減少し、脱飽和が増加する。沈殿の駆動力は次第に減少し、バルク溶液濃度は最終的に飽和溶解度 $C_s$ (すなわち平衡溶解度)という定常状態に達する。通常実測されるバルク溶液濃度 $C_x$ は動的溶解度<sup>(8)</sup>と呼ばれ、準安定状態であり、最終的に平衡溶解度に戻る(図8B)。この過程は濃度勾配が十分に大きい場合に生じる。希釈後はより速く進行し、最終的に微小粒子が溶解して巨大粒子へ再結晶する「オストワルト熟成」と呼ばれる現象を引き起こす。

図7に示すように、イソプロパノールの含有量は補酵素Q<sub>10</sub>の最終平衡溶解度に明らかな影響を与えなかったが、3種類の溶解媒体では動的溶解度が異なった。これはおそらく各媒体の拡散係数の違いによるものである。溶解媒体中のイソプロパノール含有量が0%から10%に増加するにつれて、熟成はより速くなり、バルク溶液の濃度はそれぞれ10日目、3日目、1日目に最大値に達した。異なるサイズのナノ結晶については、サイズが小さいほど熟成プロセスは速くなった(表2参照)。ナノ結晶の可溶化傾向は、濃度がまず増加して過飽和状態に達した後、減少するというものであった。これに対し、バルク薬物の濃度は徐々に増加した。

粒子径と平衡溶解度の関係、および固液分離を調査する際に熟成は問題となる。これは避けられないプロセスであり、希釈と同時に発生するためである(表2に示す通り)。熟成が生じると、得られた値は平衡溶解度ではなく動的溶解度を表し、絶対平衡に達すると微小粒子は巨大粒子へと変化する。最良の方法は、均一な粒子サイズのナノ結晶懸濁液を調製した後、希釈せずに直接懸濁状態における補酵素Q<sub>10</sub>ナノ結晶の平衡溶解度を測定することである。残念ながら、これはミリリップール濾過膜への補酵素Q<sub>10</sub>の吸着によって制限される。

## in vitro溶出試験

コエンザイムQ<sub>10</sub>の懸濁液からのin vitro溶出 懸濁液からの出

80 nm、120 nm、400 nm、または700 nmの裸のナノ結晶とバルク薬物を含むものも、3種類の溶解媒体で調査した。200 nm未満のナノ結晶の溶解はほとんど報告されていない。本論文では、

溶解条件は以下の基準に基づいて選定された

考慮事項：溶出試験の一般的な方法である透析バッグによる拡散の障壁効果



表2 3種類の溶解媒体に所定時間\*溶解した後の各種コエンザイムQ<sub>10</sub>ナノ結晶のサイズ及びサイズ分布

溶媒	日数	80 nm		120 nm		400 nm		700 nm	
		サイズ (nm)	PI	サイズ (nm)	PI	サイズ (nm)	PI	サイズ (nm)	PI
A	0	78.8±0.8	0.05±0.02	134.2±0.9	0.08±0.00	376.9±2.0	0.15±0.00	698.7±2.4	0.23±0.01
	1	81.1±3.7	0.07±0.00	144.9±4.8	0.06±0.00	322.9±4.4	0.18±0.00	667.2±5.1	0.23±0.00
	3	146.7±22.8	0.08±0.01	139.7±9.3	0.05±0.01	330.4±17.0	0.16±0.00	657.8±22.9	0.24±0.01
	30	x	x	x	x	506.8±87.0	0.43±0.06	648.8±66.3	0.26±0.03
B	1	104.4±18.5	0.27±0.09	189.6±13.0	0.21±0.04	385.4±1.2	0.07±0.01	688.4±17.3	0.10±0.01
	3	312.8±74.4	0.39±0.05	198.0±43.0	0.30±0.04	384.4±39.2	0.18±0.01	706.1±79.8	0.24±0.02
	30	x	x	x	x	x	x	763.7±131.1	0.40±0.10
C	1	x	x	x	x	459.7±38.2	0.08±0.01	745.5±83.2	0.22±0.04
	3	x	x	x	x	620.1±127.3	0.46±0.08	924.4±139.7	0.49±0.19
	30	x	x	x	x	x	x	x	x

注記：\*すべてのデータは3回の実験から得られ、平均値±標準偏差で示されている。xは大きな可視粒子を表し、これらは非常に大きな束状に凝集した後、沈降した。

略語：PI、多分散性指数。

試験は避けるべきである<sup>28</sup>。遠心分離法は固液分離に広く用いられているが、小さな補酵素 Q<sub>10</sub> ナノ結晶を分離することはできない（139 nm のナノ結晶の懸濁液を 30,000 rpm で 1 時間遠心分離したところ、上層、中層、下層のサイズ分布はすべて同じであった）。超遠心法や二重遠心法の使用例も報告されているが<sup>(29,30)</sup>、これらは時間を大幅に要し、低温で行われるため薬剤溶解条件が変化する。80 nm などのサブミクロン粒子は一般的なフィルター（0.1 μm）を容易に通過する<sup>(4,31)</sup>。また、前節で述べた三層フィルターはタイムリーなサンプリングには適さない。in vitro 溶解は、薬物の in vivo 挙動を予測するためによく使用され、実験は通常 37°C で実施されますが、0.05 μm フィルターによるろ過中の温度変化と、溶解度測定と条件を一致させることを考慮して、温度は 25°C に設定されました。

図9に示すように、懸濁液中の補酵素Q<sub>10</sub>の溶解速度は粒子径の影響を明らかに受けた。溶解媒体Aでは、80 nmおよび120 nmのナノ結晶のみが顕著な溶解を示した。2時間後に観測されたピーク（80 nmで51.4%、120 nmで45.2%）は、0.05 μmフィルターを通過した未溶解の微小粒子に起因する可能性がある。80 nm ナノ結晶の場合、24 時間で 65.4% の補酵素 Q<sub>10</sub> が溶解したが、120 nm ナノ結晶ではこの値は 13.2% に留まった。溶解媒体Bでは、80 nmと120 nmのナノ結晶の溶解プロファイルの差異がさらに明らかになった。両者とも30分で急速な溶解を示し、前者は62.8%、後者は37.0%の溶解率を示した。

120 nmのナノ結晶はその後ゆっくりと溶解し、24時間経過時点で溶解率はわずか43.3%に達した。対照的に、80 nmのナノ結晶は85.4%まで着実に増加した。400 nmおよび700 nmのナノ結晶ならびにバルク薬物は溶解度が極めて低かったが、イソプロパノール比率が10% v/v（すなわち溶解媒体C）に達するまでは、それらの溶解プロファイルは類似していた。この条件下では、80 nmおよび120 nmのナノ結晶は30分で急速に溶解し、いずれも2時間および4時間で100%溶解に達した。3種類の異なる溶出プロファイルは、図7に示すように3種類の溶媒における補酵素Q<sub>10</sub>の溶解度が近似していたことから、明らかに溶解度に影響されなかった。完全なシンク条件は過飽和とそれに伴う熟成を回避したため、我々の結果は拡散挙動の違いのみを反映している。イソプロパノール含有量が増加するにつれて、拡散は容易になり、溶解はより速く進行した。これらの知見は、溶解における粒子サイズ効果に影響を与えた溶解度に加えて、溶解媒体の拡散係数が重要な要素であることを示している。

## 犬における生物学的利用能試験

全ての血清サンプルは、前述のHPLC法に従って分析した。検量線（10～1000 ng/mL、8濃度）及び品質管理サンプル（50、200、1600 ng/mL）は、各分析ごとに新たに調製した。本法による定量下限は10 ng/mLであった。検量線の直線性係数は0.99～0.9999の範囲を示した。品質管理検体の精度（正確度）は公称値の97.3～103.5%、変動係数は1.3～10.6%の範囲であった。結果から

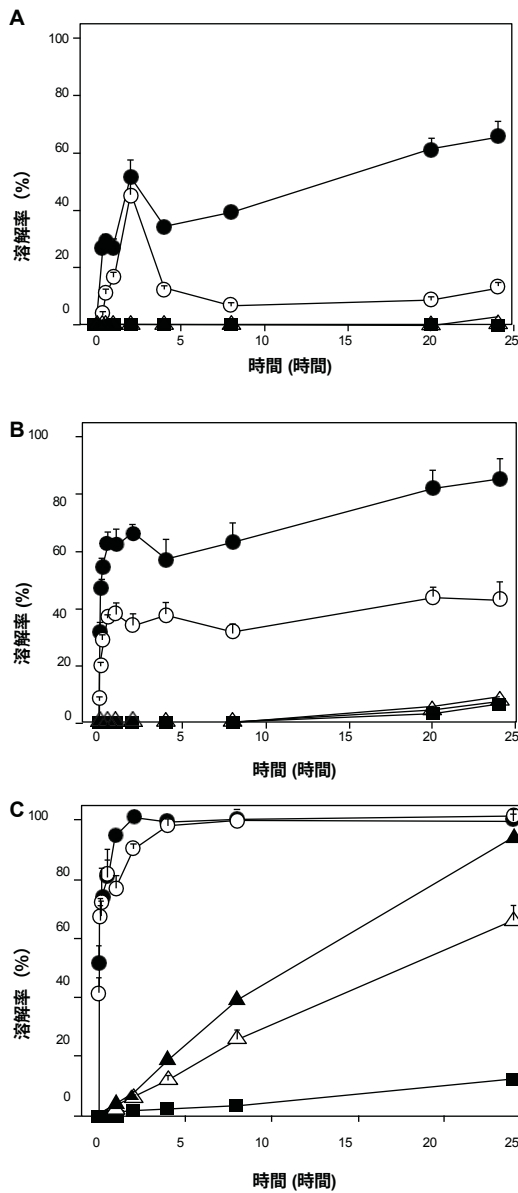


図9 コエンザイム<sub>Q10</sub> ナノ結晶とバルク薬物の溶出プロファイル  
 経口吸収への影響は一定の範囲内に収まり、経口吸収を制御するには3種類の溶解媒体における懸濁液の制御。(A) 1.3% w/v Tween 20 を含む蒸留水、(B) 1.3% w/v Tween 20 および 5.0% v/v イソプロパノールを含む蒸留水、(C) 1.3% w/v Tween 20 および 10.0% v/v イソプロパノールを含む蒸留水。  
 注記：溶出試験は100rpm、25°Cで実施した。約0.6mgのコエンザイム<sub>Q10</sub>を900mLの溶出媒体に溶解して使用した。結果は3回の反復実験の平均値±標準偏差として。● = 80 nm; ○ = 120 nm; ▲ = 400 nm; △ = 700 nm; ■ = バルク薬物。

この方法は生物学的サンプル分析の要件を満たしている。  
 血清中濃度-時間プロファイルおよび  
 経口投与されたコエンザイム<sub>Q10</sub>の薬物動態パラメータ  
 経口投与後の  
 異なるサイズのナノ結晶懸濁液、粗懸濁液、およびカプセルを経口投与したビーグル犬における血清濃度-時間プロファイルおよび薬物動態パラメータをそれぞれ図10および表3に示す。これらの結

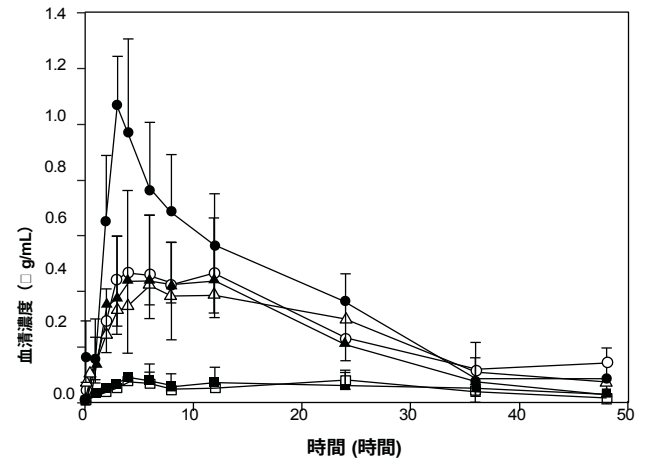


図10 経口投与後の補酵素<sub>Q10</sub>の血清濃度-時間プロファイル  
 ビーグル犬における60 mg/体重の用量での異なる懸濁液およびカプセルの経口投与後の血清濃度-時間プロファイル。  
 注：結果は平均値で示され、棒は標準偏差を示す  
 ● = 80 nm ナノ結晶懸濁液; ○ = 120 nm ナノ結晶懸濁液; ▲ = 400 nm ナノ結晶懸濁液; △ = 700 nm ナノ結晶懸濁液; ■ = カプセル; □ = 粗懸濁液 (n s 4)。

粒子サイズがナノスケール範囲に縮小されるにつれて改善した。バルク薬物の粗い懸濁液と比較して、粒子サイズが80 nm、120 nm、400 nm、700 nmの裸の補酵素<sub>Q10</sub>ナノ結晶懸濁液のC<sub>max</sub>およびAUC<sub>(0-48)</sub>はそれぞれ10.8倍、5.8倍、1.6倍、1.6倍増加した。ナノ結晶懸濁液のC<sub>max</sub>およびAUC<sub>(0-48)</sub>は、それぞれ10.8倍、5.8倍、5.0倍、4.5倍、および7.3倍、5.1倍、4.7倍、4.4倍に増加した。市販のカプセルと比較すると、その値はそれぞれ9.2倍、4.9倍、4.2倍、3.8倍、および6.8倍、4.8倍、4.4倍、4.1倍に増加しました。粒子サイズの差異は、120 nmから700 nmのサイズのコエンザイム<sub>Q10</sub>ナノ結晶では顕著であったものの、これらのナノ結晶懸濁液で観察されたC<sub>max</sub>およびAUC<sub>(0-48)</sub>の増加はほぼ同じ(統計的に有意ではない)であった。これは、粒子サイズが

経口吸収への影響は一定の範囲内に収まり、

表3 異なる補酵素<sub>Q10</sub> ナノ結晶懸濁液、粗懸濁液、およびカプセルを経口投与した後に得られた薬物動態パラメータ (n s 4)<sup>a</sup>

製剤	T <sub>max</sub> (時間)	C <sub>max</sub> (□ g/mL)	AUC <sub>0-48</sub> (□ g h/mL)
80 nm	3.25 ± 0.50*	1.19 ± 0.18**	17.52 ± 1.55***
120 nm	4.86 ± 3.34*	0.64 ± 0.24**	12.18 ± 5.47**
400 nm	5.60 ± 1.67*	0.55 ± 0.09***	11.25 ± 1.16***
700 nm	6.00 ± 3.58	0.50 ± 0.06***	10.53 ± 1.79***
粗い懸濁液	19.50 ± 9.00	0.11 ± 0.01	2.40 ± 0.74
カプセル	19.60 ± 12.52	0.13 ± 0.03	2.56 ± 0.63

注<sup>a</sup> 結果は平均値±標準偏差で表す。\*P < 0.05、\*\*P < 0.01、\*\*\*P < 0.001 (粗懸濁液の対応するパラメータと比較)。略語：T<sub>max</sub>、血漿中濃度ピーク到達時間；C<sub>max</sub>、血漿中濃度ピーク値；AUC、濃度-時間曲線下面積。



この範囲のサイズでは同等の生物学的利用能が達成可能であり、工業規模での応用をより現実的なものとする。この点における80 nmと120 nmナノ結晶の顕著な差異は、主に均一性の程度の違いに起因すると考えられる。120 nmのナノ結晶は広い分布（多分散性指数0.156、表1参照）を示し、2つの主要な粒子サイズ群（それぞれ82 nmと191 nm）を有していた。これは、薬物動態パラメータにおける大きな標準偏差（表3参照）で明らかのように、生体内での不安定な挙動につながった。この異常な結果は、粒子サイズの均一性がナノ結晶にとって極めて重要であることを示している。なぜなら、不均一なナノ結晶は効果がなかっただけでなく、個体差も大きくなったからである。

補酵素<sub>Q10</sub>は生物薬剤学分類システム<sup>32</sup>に基づきクラスII医薬品に分類されるため、

その吸収は溶解過程によって速度制限される可能性がある。in vitro溶解とin vivo生物学的利用能の間に相関は認められなかったものの、図9に示すプロファイルは依然としてin vivo溶解挙動を反映している可能性がある。Jinnoら<sup>4</sup>が発表した論文では、シロスタゾールナノ結晶の吸収は空腹時よりも食後状態で低く、粗い懸濁液の結果とは異なっていた。著者らは、シロスタゾールナノ結晶の溶解速度は十分に速く、吸収は透過性によって制限されるとの見解を示した。本溶解実験の結果は、食後状態におけるナノ結晶の吸収が空腹時より低い理由の一部が、食後の拡散係数低下による可能性を示唆している。

粒子サイズ効果は平衡溶解度とは関連していなかった。なぜなら、平衡溶解度は4種類のナノ結晶サイズおよびバルク薬物すべてでほぼ同等であったからである。動的溶解度、溶出速度、および付着性の改善<sup>(18)</sup>が、補酵素<sub>Q10</sub>の生体利用率向上に寄与していると考えられる。総括すると、粒子サイズをマイクロスケールからナノスケールへ縮小させることで、生体利用率の向上が期待できる。マイクロスケールからナノスケールへの粒子サイズの縮小がバイオアベイラビリティを向上させるが、粒子サイズを100nm未満までさらに縮小しても、それ以上のバイオアベイラビリティ向上には寄与しなかった。

## 結論

異なるサイズの4種類の裸の安定なコエンザイム<sub>Q10</sub>ナノ結晶を調製し、薬物生成のために特性評価を行った。

粒子サイズの影響を調査するためのモデル。4種類のサイズのナノ結晶とバルク薬物の動的溶解度を3種類の媒体で測定した。サイズ

と各種溶解度（すなわち動的溶解度、平衡溶解度）の関係を研究した。結果は明らかに示している

粒子径は平衡溶解度ではなく動的溶解度に関連していた。粒子径と平衡溶解度の関係を調査する上で最大の課題は、固液分離と熟成プロセスであることが判明した。本研究の結果に基づき、「界面溶解度」という新概念とナノ結晶・原薬の溶解化モデルを提案し、粒子径と動的溶解度の傾向によって検証した。3種類の溶出媒体における4種のナノ結晶と原薬の溶出試験も、拡散係数の影響を受ける粒子径の効果を明確に示した。粒子サイズが経口吸収に及ぼす効果には一定の範囲があり、コエンザイムQ10ナノ結晶では700nmから120nmのサイズで同等の生物学的利用能を示した。さらに、[120nmの微小ナノ結晶では、広いサイズ分布（多分散性指数0.156）が個体差を増大させ、小さいサイズが常に最適とは限らないことを示唆している](#)。裸のナノ結晶に関する我々の知見は、[ナノ化の問題、すなわち粒子サイズが溶解性、溶出性、および生体内バイオアベイラビリティに及ぼす影響を理解する上で重要な示唆を与え、新たなナノ薬物送達システムの設計に役立つ可能性がある](#)。

## 謝辞

本研究は中国国家重点基礎研究開発計画（973計画 2009CB 930300）の支援を受けた。

## 開示事項

著者らは本研究において利益相反はないことを報告する。

## 参考文献

1. Gassmann P, List M, Schweitzer A, Sucker H. 水溶性の悪い薬剤の非経口投与のための代替手段としてのハイドロゾル。 *Eur J Pharm Biopharm.* 1994;40(2):64-72.
2. ミュラー RH、ジェイコブス C、カイザー O. 治療における粒子状薬剤製剤としてのナノ懸濁液：開発の根拠と将来への期待。 *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;47(1):3-19.
3. Dolenc A, Kristl J, Baumgartner S, Planinsek O. セレコキシブナノ懸濁液製剤および錠剤への変換の利点。 *Int J Pharm.* 2009;376(122):204-212.
4. Jinno J, Kamada N, Miyake M 他。ビーグル犬における難溶性薬剤シロスタゾールの溶解および経口吸収に対する粒子径縮小の影響。 *J Control Release.* 2006;111(1/2):56-64.
5. ミュラー RH、ピーターズ K. 難溶性薬剤の製剤化のためのナノ懸濁液：I. 粒子径縮小技術による調製。 *Int J Pharm.* 1998;160(2):229-237.
6. Dong Y, Ng WK, Shen S, Kim S, Tan RBH. 抗溶媒沈殿法によるスピロラクトンナノ粒子の調製と特性評価。 *Int J Pharm.* 2009;375(1/2):84-88.
7. Kesisoglou F, Panmai S, Wu Y. ナノサイジング - 経口製剤の開発と生物薬学的評価。 *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59(7):631-644.
8. Mauludin R, ミュラー RH、ケック CM. ルチンナノ結晶の動的溶解度および溶解速度。 *Eur J Pharm Sci.* 2009;36(4/5): 502-510.

9. Mosharraf M, Nyström C. 微粒子サイズの形状が実質不溶性薬剤の表面比溶解速度に及ぼす影響. *Int J Pharm.* 1995;122(1/2):35–47.
10. Wu W, Nancollas GH. 溶解度と粒子径の関係に関する新たな理解. *J Solution Chem.* 1998;27(6): 521–531.
11. Kipp JE. 難水溶性薬剤の非経口投与における固体ナノ粒子技術の役割. *Int J Pharm.* 2004;284(1/2): 109–122.
12. Noyes AA, Whitney WR. 固体物質の自己溶液中における溶解速度. *J Am Chem Soc.* 1897;19(12):930–934.
13. Dokoumetzidis A, Macheras P. 溶解研究の1世紀：ノイエスとホイットニーから生物薬剤学分類システムまで. *Int J Pharm.* 2006;321(1):1–11.
14. Babu VR, Areefulla S, Mallikarjun V. 溶解度と溶出促進：概説. *J Pharm Res.* 2010;3(1):141–145.
15. Ghosh I, Bose S, Vippagunta R, Harmon F. 難溶性薬剤の生物学的利用能向上を目的としたナノサスペンションと結晶成長抑制のための安定化剤スクリーニング. *Int J Pharm.* 2011;409(1/2): 260–268.
16. Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. 難溶性薬剤の溶解性向上を目的としたナノサスペンションの調製と評価. *Int J Pharm.* 2006;312(1/2):179–186.
17. Rao GC, Kumar MS, Mathivanan N, Rao ME. ナノ粒子薬物送達システムにおける最も有望なアプローチとしてのナノ懸濁液. *Pharmazie.* 2004;59(1):5–9.
18. Rabinow BE. 薬物送達におけるナノ懸濁液. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(9):785–796.
19. Matteucci ME, Hotze MA, Johnston KP, Williams RO. 抗溶媒沈殿法による薬剤ナノ粒子：混合エネルギー対界面活性剤安定化. *Langmuir.* 2006;22(21):8951–8959.
20. Zhang JY, Shen ZG, Zhong J, et al. 界面活性剤を用いない制御ナノ沈殿法によるアモルファスセフロキシムアキセチルナノ粒子の調製. *Int J Pharm.* 2006;323(1/2):153–160.
21. Zhang X, Xia Q, Gu N. 改良沈殿法を用いた全トランス型レチノイン酸ナノ懸濁液の調製. *Drug Dev Ind Pharm.* 2006;32(7):857–863.
22. Baba K, Pudavar HE, Roy I, et al. 光線力学療法用疎水性薬剤の純粋ナノ結晶形態を用いた新規送達法. *分子薬物学.* 2007;4(2):289–297.
23. 王 F, 孫 J, 鄧 YH. コエンザイムQ10ナノ懸濁液の粒子径と溶解度の関係. *瀋陽薬科大学学報.* 2010;27(12):933–939.
24. Sun J, Deng YH, Ma YL, Han J. 裸のナノ結晶の平衡溶解度は粒子径に関係しない. *瀋陽薬科大学学報.* 2011;28(08):585–593.
25. アンコラ D, ヴィスワナド B, バルドワジ V, ラマラオ P, クマール M. 高血圧治療のための強力な経口コエンザイム<sub>10</sub>ナノ粒子製剤の開発：単純な栄養補助食品は予防/治療のための第一選択治療薬として使用できるか？ *Eur J Pharm Biopharm.* 2007;67(2):361–369.
26. Sheridan PL, Buckton G, Storey DE. 接触角測定に伴う誤差の範囲 II. 粉末用ウィルヘルミープレート法で得られるデータに影響を与える要因. *Int J Pharm.* 1994;109(2):155–171.
27. Anderberg EK, Bisrat M, Nyström C. 薬物放出の物理化学的側面 VII. 難溶性薬物であるフェロジピンの溶解度および溶出速度に対する界面活性剤濃度と薬物粒子サイズの影響. *Int J Pharm.* 1988;47(1/3):67–77.
28. Heng D, Cutler DJ, Chan HK, Yun J, Raper JA. 薬剤ナノ粒子に適した溶出試験法とは？ *薬学研究.* 2008;25(7): 1696–1701.
29. Van Eerdenbrugh B, Vermant J, Martens JA, et al. 結晶性薬剤ナノ粒子に伴う溶解度増加：方法論と意義. *Mol Pharm.* 2010;16(7):1858–1870.
30. Bergstrom CA, Wassvik CM, Johansson K, Hubatsch I. 市販の難溶性医薬品は溶媒和限界溶解度を示す. *J Med Chem.* 2007;50(23):5858–5862.
31. Hecq J, Deleers M, Fanara D, Vranckx H, Amighi K. ニフェジピンの溶解性および溶出速度向上のためのナノ結晶の調製と特性評価. *Int J Pharm.* 2005;299(1/2):167–177.
32. Palamakula A, Soliman M, Khan MM. 単離ラット胃腸管における補酵素Q10の部位別透過性. *Pharmazie.* 2005;60(3):212–214.

## 本誌への投稿

国際ナノ医療ジャーナルは、生物医学分野における診断、治療、薬物送達システムへのナノテクノロジー応用を専門とする国際的な査読付きジャーナルです。本誌は PubMed Central、MedLine、CAS、SciSearch®、Current Contents®/Clinical Medicine、

ジャーナル・サイテーション・レポート/サイエンス版、EMBase、Scopus、エルゼビア書誌データベース。原稿管理システムは完全にオンラインで、迅速かつ公平な査読システムを備えており、すべて簡単に利用できます。掲載済み著者の実際の声は<http://www.dovepress.com/testimonials.php>をご覧ください。

原稿はこちらからご提出ください：<http://www.dovepress.com/international-journal-of-nanomedicine-journal>