

## インドメタシンのヘアレスラット皮膚透過 に対する呉茱萸の促進作用

岩城正宏<sup>\*a</sup>, 吉川正人<sup>a</sup>, 船津紀代<sup>a</sup>, 松田秀秋<sup>a</sup>, 雨宮勉<sup>b</sup>, 久保道徳<sup>a</sup>  
近畿大学薬学部<sup>a</sup>, 第一製薬株式会社<sup>b</sup>

### Enhancement Effect of Evodiae Fructus on Percutaneous Absorption of Indomethacin through Hairless Rat Skin

Masahiro IWAKI<sup>\*a</sup>, Masato YOSHIKAWA<sup>a</sup>, Kiyoo FUNATSU<sup>a</sup>,  
Hideaki MATSUDA<sup>a</sup>, Tsutomu AMEMIYA<sup>b</sup>, Michinori KUBO<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kinki University, 3-4-1, Kowakae,  
Higashiosaka, Osaka 577-8502, Japan

<sup>b</sup>Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd., 3-14-10 Nihonbashi,  
Chuo-ku, Tokyo 103-8234, Japan

(Received July 30, 2003)

We have reported that the antinociceptive and anti-inflammatory effects of indomethacin (IND) ointments with 50% ethanol extract (G-ext) from *Evodiae Fructus* (dried fruits of *Evodia rutaecarpa* var. *bodinieri*) are enhanced compared with IND ointment without G-ext. In this study, the effect of G-ext on enhancing the skin permeation of IND was investigated by using hairless rats *in vitro* and *in vivo*. The concomitant treatment with G-ext (3% in ointment) clearly enhanced the flux of IND 2-fold, but none of its three major components (limonin, evodiamine and rutaecarpine) died. Thus, the *in vitro* enhancing effect of G-ext on transdermal penetration of IND may be ascribed to another component(s) of G-ext. The *in vivo* application of the IND ointment with 3% G-ext produced higher plasma IND concentrations, but lowered the remaining amounts of IND in skin, compared with those of the IND alone. These results suggest that the IND ointment with 3% G-ext is useful as antinociceptive and anti-inflammatory formulation due to the pharmacological effect of G-ext itself and the lowering effect of G-ext on the stratum corneum barrier consequently increases in plasma concentration of IND.

**Keywords:** *Evodiae Fructus*; *Evodia rutaecarpa* var. *bodinieri*;  
percutaneous absorption; skin permeation; indomethacin

非ステロイド系抗炎症外用剤は局所作用だけでなく、非ステロイド系抗炎症剤経口投与時の胃腸障害回避など多くの長所を有し、全身作用をも目的として皮膚領域、整形外科的炎症性ないしは疼痛性疾患の治療に広く使用されている。一方、呉茱萸は鎮痛、去寒薬として冷え性などの治療に用いられる呉茱萸湯、当帰四逆加呉茱萸生姜湯などに配合されている

重要な漢薬である。著者らは *E. rutaecarpa* var. *bodinieri* を基原とする呉茱萸の70%メタノール抽出エキスが経口投与において、強い抗侵害受容<sup>1,2)</sup>、抗炎症<sup>3)</sup>、抗アレルギー<sup>3)</sup>、血流促進作用<sup>4)</sup>を示し、その有効成分は limonin<sup>5)</sup>、evodiamine<sup>5)</sup> および rutaecarpine<sup>6)</sup>であることをすでに報告している。また、このような呉茱萸の薬理作用に着目し、インド

メタシン (IND) 軟膏に呉茱萸の50%エタノール抽出エキス (G-ext) を配合し、ラットに経皮適用したところ、G-extを含まないIND単独の軟膏に比較して抗炎症あるいは抗侵害受容作用が有意に増加することを明らかにした<sup>7)</sup>。G-extとINDを配合した軟膏適用後の薬効増強の原因として二つの要因、つまり、1) G-extとINDの抗炎症ならびに抗侵害受容作用の発現機序が異なるために生ずる薬理的な相加あるいは相乗作用と、2) G-ext配合によるINDの皮膚透過性の向上が考えられる。

そこで本研究では、G-ext配合によるIND軟膏の薬効増強がINDの皮膚透過性の増大にも起因しているのか否かを明らかにする目的で、INDの皮膚透過に対するG-extおよび呉茱萸の有効成分の影響をヘアレスラットを用いて調べた。

## 実験の部

### 1. 実験材料

実験材料には中国産呉茱萸 (*E. rutaecarpa* var. *bodinieri*) の乾燥果実、栃本天海堂より購入、標本番号: RUT-94002) を用いた。G-extは前報<sup>7)</sup>にしたがい調製した。呉茱萸の成分limonin, evodiamine, およびrutaecarpineはG-extより単離精製したものを使用した<sup>2)</sup>。インドメタシンはSigma社より購入した。カルボキシビニルポリマー1.0 g, ベンジルアルコール0.5 g, オクチルデカノール5.0 g, ポリエチレングリコール脂肪酸エステル0.5 g, ジイソプロパノールアミン0.7g, エデト酸0.01 gを精製水で全量100 gとした軟膏基剤にIND (1%) の単独あるいはG-ext (1または3%) または呉茱萸有効成分(limonin, evodiamine, またはrutaecarpine, 0.3%) を配合した軟膏を調製した。なお、INDはジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、DMSOが10%含まれるように軟膏基剤に混和した。

HPLCの内部標準物質(I.S.)として用いたメフェナム酸は山本化学工業社製を使用した。ポリエチレングリコール400およびゲンタマイシン硫酸塩は丸石製薬およびSigma社からそれぞれ購入した。他の試薬はすべて試薬特級品またはHPLC用試薬を使用した。

### 2. 実験動物

実験動物には、6-7週令の雄性ヘアレスラット(体重180-200 g, 日本エスエルシー社)を使用した。動物は24±2°Cで飼育し、実験直前まで固形飼料(MF, オリエンタル酵母工業株式会社製)および水道水を自由に与えた。

## 3. 実験方法

### 1) *In vitro* 皮膚透過実験法

電気バリカンおよび電気カミソリでヘアレスラット腹部の毛を皮膚に損傷を与えないように除毛し、腹部皮膚を摘出した。摘出した皮膚を10°Cで生理食塩液に一晩浸した後、皮膚をフランチ型拡散セル(透過面積2.0 cm<sup>2</sup>, リザーバー容量10.5 mL)に装着した。角質層側セルに各種軟膏剤0.3 gを塗布後、セル上部をパラフィルムで密閉し、軟膏からの水分の蒸発を防いだ。真皮側のリザーバーセルにはゲンタマイシン(0.1 mg/mL)を含む生理食塩液/ポリエチレングリコール400混合液(60:40)を加え、攪拌子で攪拌しながら恒温槽中で37°Cに保った。経時的にリザーバー側セルより試料100 μLを採取し、そのつど同容量のリザーバー液を補充し、リザーバー液の容量を一定に保った。試料中のIND量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定し、皮膚透過量を算出した。

### 2) *In vitro* 皮膚内分配量の測定

1)と同様の方法でフランチ型拡散セルに装着した皮膚にIND単独およびG-ext配合軟膏剤を0.3 g適用し、一定時間後にセルから皮膚を取り外し、皮膚表面の軟膏を0.05% 臭化セチルトリメチルアンモニウム溶液を染み込ませたガーゼで注意深く拭き取った。ついで、皮膚をハサミで細切し、10倍量の60%メタノールを加え、Physcotoron (NS-10, 日音医理科機械製作所)を用い皮膚ホモジネートを調製した。得られたホモジネートを12,000 rpmで20分間遠心分離後、上清100 μLを用いて皮膚内IND量をHPLCで測定した。

### 3) *In vivo* 経皮吸収実験

軟膏適用前日にあらかじめ腹部被毛を電気バリカンおよび電気カミソリで除毛したヘアレスラットをペントバルビタール(50 mg/kg, i.p.)麻酔下背位に固定し、円形に切り抜いたシリコンゴム板(内径2.26 cm)をアロンアルファで腹部皮膚に張り付け、その内側に軟膏0.3 gを均一に塗布した。ほぼ同面積のアルミホイルで塗布部を覆い、伸縮性のテーピングテープ(ジョンソン・エンド・ジョンソンメディカル製)で固定した。軟膏適用後1, 3および5 hにおいて、頸静脈より血液を採取し、直ちに12,000 rpmで1分間遠心分離し、得られた血漿をIND定量の試料とした。また、採血と同時に2)の方法により脱血し、屠殺したラットより摘出した腹部皮膚から皮膚内IND量を測定した。

#### 4) INDの定量法

リザーバー液および皮膚ホモジネート上清100  $\mu\text{L}$  にメタノールに溶解したメフェナム酸(I.S., 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を20  $\mu\text{L}$  加えて混和後, HPLCに注入し, 試料中IND濃度を測定した。血漿中IND濃度は, 血漿50  $\mu\text{L}$  をI.S. (8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を含むメタノール150  $\mu\text{L}$  で除タンパク後, 13,000 rpm, 3分間の遠心分離後上清を分取し, HPLCを用いて定量した。

HPLC装置はShimadzu LC-10AS, 検出器は紫外可視検出器 (Shimadzu SPD-10A) を用いた。カラムはInertsil ODS-2 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 $\times$ 150 mm, GLサイエンス社) を用い, カラム温度35 $^{\circ}\text{C}$ , 測定波長254 nm, 移動相流速は1.0 mL/minで分析した。移動相はアセトニトリル/水/酢酸=55:45:1(v/v)を用いた。

#### 5) 経皮透過パラメータの算出法および統計解析

*In vitro* 透過パラメータ (単位面積あたりの透過速度  $J_s$ , 薬物透過係数  $K_p$ , 薬物拡散係数  $D$ , 軟膏から皮膚への分配係数  $K_m$ , 透過のラグタイム  $\tau$ ) は累積透過量-時間推移データを用いて次式により算出した。

$$J_s = D \cdot K_m \cdot C_s / \delta = K_p \cdot C_s \quad (1)$$

$$D / \delta^2 = 1/6 \tau \quad (2)$$

ここで,  $C_s$  は軟膏中の薬物濃度,  $\delta$  は角質層の厚さ (平均0.002 cm) である。なお,  $J_s$  および  $\tau$  はIND累積透過量-時間推移データにおける直線部分 (定常状態部分) より算出した。

すべてのデータは平均値  $\pm$  標準誤差 (S.E.) で表した。各群の平均値の比較は Bonferroni/Dunn 検定によりおこなった。得られた危険率が5%未満 ( $p < 0.05$ ) の場合, 統計的に有意な差があるとした。検定は Stat View for Windows (Abacus Concepts社) を使用した。

### 結果の部

#### 1) *In vitro* INDの皮膚透過に対する G-ext 配合の影響

IND単独軟膏および1%または3%G-ext配合IND軟膏0.3 gをフランツ型拡散セルに装着したヘアレスラット腹部皮膚に適用した後のINDの累積皮膚透過量の時間的推移をFig. 1に示す。G-extを加えないIND単独軟膏と比較して, G-extを配合した軟膏では濃度依存的にINDの透過量が増加した。特に3% G-ext配合軟膏では, 著しいINDの透過促進が認められ, 軟膏適用12時間における累積透過量はIND単独軟膏の約2倍に上昇した。得られた透過パラメータをTable 1に示す。G-ext配合により透過のラグタイム  $\tau$  は濃度依存的に有意に短縮し, 3% G-ext配合軟膏では皮

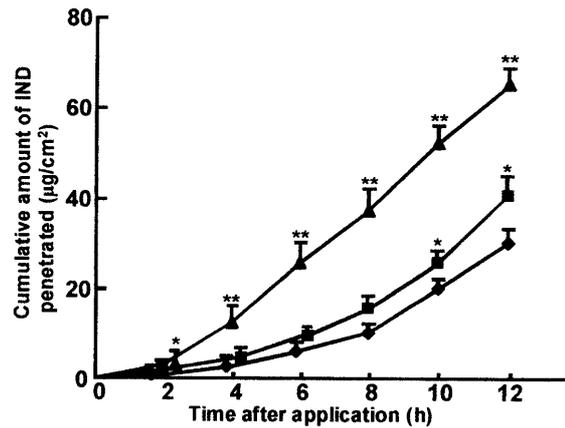


Fig. 1 *In Vitro* Penetration Profiles of IND through Rat Skin after Application of IND Ointments with or without 50% Ethanol Extract (G-ext) from Evodiae Fructus

◆; control, ■; 1% G-ext, ▲; 3% G-ext. IND Ointments (0.3g) was applied to the full-thickness rat skin using saline/PEG400 (60:40) in the diffusion cell. Each value represent the mean  $\pm$  S.E. of 3-5 rats. Significantly different from the control group at \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ .

Table 1 Effect of 50% Ethanol Extract (G-ext) from Evodiae Fructus on *In Vitro* Penetration Parameters of IND

Ointment	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ )	$D$ ( $\times 10^7 \text{cm}^2/\text{h}$ )	$K_p$ ( $\times 10^4 \text{cm}^2/\text{h}$ )	$\tau$ (h)
Control	2.77 $\pm$ 0.63	2.18 $\pm$ 0.43	2.77 $\pm$ 0.63	3.26 $\pm$ 0.31
1% G-ext	3.21 $\pm$ 0.56	2.79 $\pm$ 0.38	3.21 $\pm$ 0.56	2.42 $\pm$ 0.33*
3% G-ext	6.24 $\pm$ 0.22**	3.25 $\pm$ 1.50	6.24 $\pm$ 0.22**	1.57 $\pm$ 0.28**

$J_s$ ; penetration rate,  $D$ ; diffusion constant within skin,  $K_p$ ; permeability coefficient,  $\tau$ ; lag time. The parameters were calculated from the data shown in Fig. 1. Each value represent the mean  $\pm$  S.E. of 3-5 rats. Significantly different from the control group at \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ .

膚透過係数  $K_p$  が有意に上昇した。また皮膚拡散係数  $D$  も有意ではなかったが, G-extの濃度依存的に増加する傾向を示した。

#### 2) *In vitro* での INDの皮膚内残留量に対する G-ext 配合の影響

フランツ型拡散セルに装着したラット皮膚にIND軟膏を適用した後の皮膚内残存量を測定した。その結果をFig. 2に示す。1% G-ext添加軟膏剤では適用後0.5, 1および2 hの各時間においてコントロール (IND単独軟膏) と比較して皮膚内IND量の有意な上昇は認められなかったが, G-extを3%添加することにより適用後1, 3および5 hのすべての時間において皮膚内IND残存量が有意に増加した。

#### 3) *In vivo* 経皮吸収実験

G-ext含有IND軟膏を *in vivo* でヘアレスラット腹部皮膚に適用した後のINDの血漿中濃度-時間推移

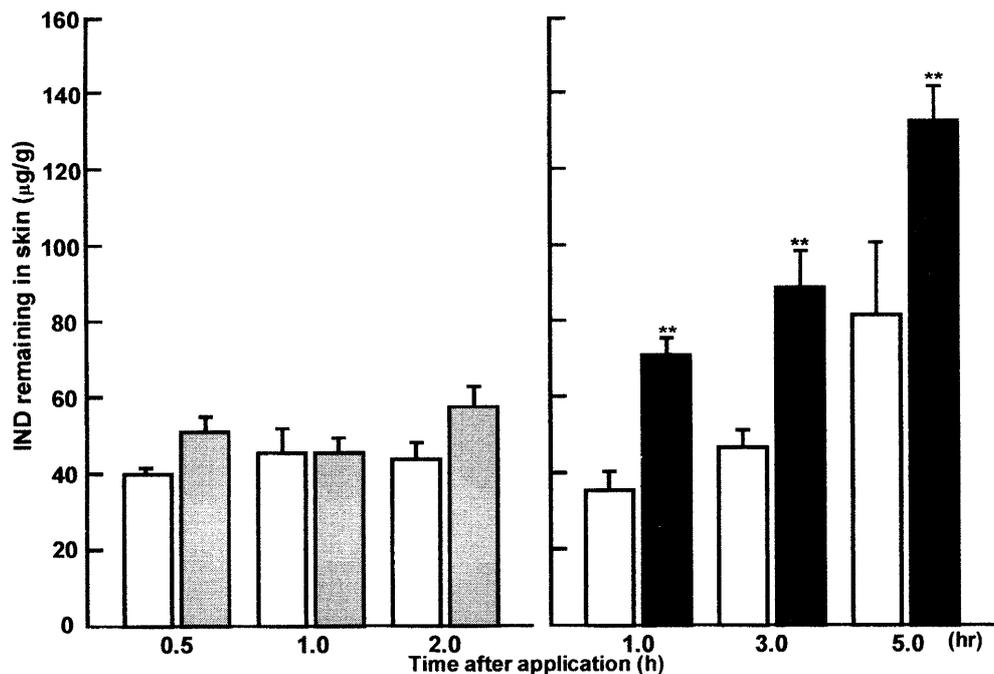


Fig. 2 *In Vitro* IND Remaining in Skin after Percutaneous Application of IND Ointments with or without 50% Ethanol Extract (G-ext) from *Evodiae Fructus*

□; control, ▨; 1% G-ext, ■; 3% G-ext. The skin was removed from the diffusion cell at each time after application of IND Ointment. After wiping off the ointment on the skin surface with absorbent cotton soaked in 0.05% cetyltrimethylammonium bromide solution, the skin was then homogenized with 10-fold 60% methanol and IND concentration in the homogenate was determined. Each value represent the mean  $\pm$  S.E. of 3-5 rats. Significantly different from the control group at \*:  $p < 0.01$ .

および皮膚内残存量をそれぞれFig. 3(A)および(B)に示す。軟膏適用後の血漿中IND濃度の時間推移はG-extの添加濃度依存的に上昇し、特に3% G-ext添加軟膏適用では顕著なINDの吸収促進効果が認められた。軟膏適用5 h後の血漿中IND濃度は1%および3%のG-ext添加によりIND単独軟膏と比較してそれぞれ約2および3倍に増加した。一方、各時間におけるINDの皮膚内残存量は*in vitro*の場合とは異なり、G-extの添加により有意に低下した。これらの結果より、G-ext添加は軟膏中のINDを全身循環系に速やかに吸収させることが明らかとなった。

#### 4) *In vitro* INDの皮膚透過に対するG-ext成分の影響

先の実験より、G-extをIND軟膏に配合させることにより、*in vitro*および*in vivo*で有意にINDの皮膚透過を促進させることが判明した。そこで、G-extによるINDの皮膚透過促進効果がG-ext中に含まれる3種の有効成分であるlimonin, evodiamineあるいはrutaecarpineに起因するかどうかを調べる目的で、各成分をそれぞれ0.3%添加したIND軟膏を調製し、それらを適用後のINDの*in vitro*皮膚透過を測定した。

Fig. 4に各成分0.3%を含有する軟膏適用後のINDの累積透過量を、得られたINDの透過パラメータをTable 2に示した。0.3% Evodiamine含有軟膏を用いた場合、IND透過量はコントロールと比較して有意に増加し、透過係数 $J_p$ の上昇ならびにラグタイム $\tau$ の短縮が認められた。しかしながら、3%G-ext添加軟膏適用後の場合と比較するとINDの累積透過量はかなり低値であった。一方、0.3% limoninで $\tau$ の若干の短縮が観察されたが、limoninおよびrutaecarpineの添加では有意なINDの皮膚透過促進効果は認められなかった。

#### 考察の部

ラットにおいてIND軟膏の適用時にG-extを添加することによる抗炎症ならびに抗侵害受容作用の相加的あるいは相乗的作用増強の機構として、G-extの軟膏中への添加がINDの経皮吸収を上昇させた可能性を検討するため本研究を行った。

*In vitro*でのINDの経皮透過に対して、G-extは濃度依存的にINDの皮膚透過係数を上昇させた(Fig. 1)。特に3% G-ext添加により顕著なINDの透過促進が観

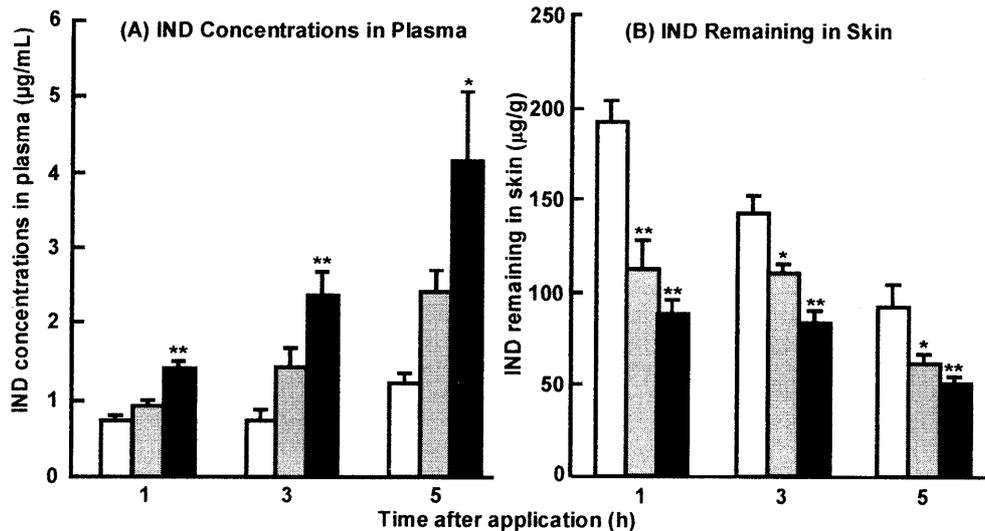


Fig. 3 Effect of 50% Ethanol Extract (G-ext) from *Evodiae Fructus* on *In Vivo* Percutaneous Absorption of IND after Application of IND Ointments

□; control, ▨; 1% G-ext, ■; 3% G-ext.

The plasma and skin samples were obtained at 1, 3, and 5 h after application of 0.3g of IND ointment. Each value represent the mean ± S.E. of 3-5 rats. Significantly different from the control group at \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ .

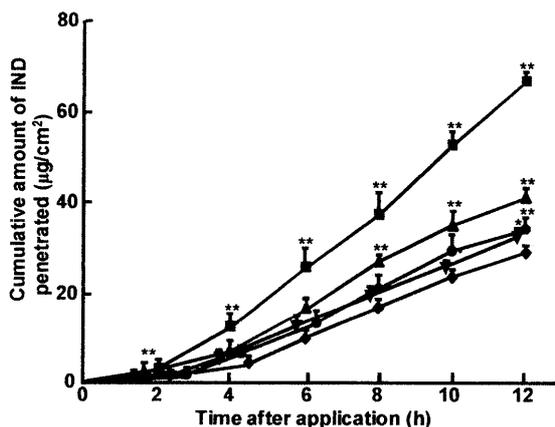


Fig. 4 *In Vitro* Penetration Profiles of IND after Application of IND Ointment with Each Component in 50% Ethanol Extract (G-ext) from *Evodiae Fructus*

◆; control, ■; 3% G-ext, ▲; 0.3% Evodiamine, ●; 0.3% Limonin, ▼; 0.3% Rutaecarpine. IND ointments (0.3g) with 0.3% each component of G-ext were applied to the full-thickness rat skin using saline/PEG400 (60:40) in the diffusion cell. Each value represent the mean ± S.E. of 3-5 rats. Significantly different from the control group at \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ .

察され、皮膚内 IND 量についても同時に増加した (Fig. 2)。一方、G-ext 中の主要な有効成分である limonin, evodiamine および rutaecarpine を 0.3% の含有量になるように IND 軟膏中に添加し、それらの経皮吸収促進効果を調べた結果、evodiamine のみが IND の透過促進にわずかに寄与している可能性が示唆された。しかしながら、3% G-ext の場合と比較してその促進効果は小さく、また G-ext 中には evodiamine はわずか 2.5% 程度しか含まれない<sup>28)</sup>ことを考えると、3% G-ext に含まれる evodiamine は IND

Table 2 Effects of Components in 50% Ethanol Extract (G-ext) from *Evodiae Fructus* on *In Vitro* Penetration Parameters of IND

Ointment	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ )	$D$ ( $\times 10^{-7}\text{cm}^2/\text{h}$ )	$K_p$ ( $\times 10^{-4}\text{cm}^2/\text{h}$ )	$\tau$ (h)
Control	$2.90 \pm 0.26$	$2.90 \pm 0.29$	$2.90 \pm 0.26$	$2.33 \pm 0.10$
Limonin (0.3%)	$3.12 \pm 0.59$	$3.75 \pm 0.07$	$3.12 \pm 0.59$	$1.78 \pm 0.03^{**}$
Evodiamine (0.3%)	$3.92 \pm 0.26^{**}$	$4.40 \pm 0.29^*$	$3.92 \pm 0.26^*$	$1.51 \pm 0.10^{**}$
Rutaecarpine (0.3%)	$3.27 \pm 0.19$	$3.16 \pm 0.31$	$3.27 \pm 0.19$	$2.12 \pm 0.21$

$J_s$ ; penetration rate,  $D$ ; diffusion constant within skin,  $K_p$ ; permeability coefficient,  $\tau$ ; lag time. The parameters were calculated from the data shown in Fig. 4. Each value represent the mean ± S.E. of 3-4 rats. Significantly different from the control group at \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ .

経皮透過の促進に僅かに寄与している可能性は否定できないが、3% G-ext 配合時に顕著な IND 経皮吸収の促進の主たる要因とは考えにくい、おそらく G-ext 中に含まれる他の成分 (たとえば精油成分) が IND の皮膚透過促進に関与していると考えられる。精油成分であるモノテルペン類 (d-limonene, l-menthol など) は角質層脂質に作用し、さまざまな薬物の経皮吸収を促進することはよく知られている。たとえば、d-リモネンでは、角質層脂質の主成分であるスフィンゴ脂質 (セラミド) が脂質領域から引き抜かれ、角

質層脂質ルートの間隙が拡大することが知られている<sup>9,10</sup>。INDは脂溶性が高く、角質層脂質ルートを通ると考えられるのでG-extは角質層脂質ルートに対して何らかの変化をもたらしたと考えられる。

ついで、G-ext添加軟膏が*in vivo*においてもINDの経皮吸収を促進するかを検討した。G-extの添加は、G-extの濃度依存的に血漿中IND濃度を上昇させ、G-extがINDの全身的な吸収に対して促進作用を有することが判明した。一方、皮内IND量は*in vitro*実験の場合とは異なり、G-ext添加軟膏で低下した。皮内IND量に関する*in vitro*と*in vivo*実験の結果の差異は、*in vivo*実験と*in vitro*実験の評価方法の違いと考えられる。つまり、*in vitro*実験では剥離した皮膚(角質層、真皮、皮下組織)を完全に貫通し、リザーバーセルに到達した薬物量を測定しているのに対し、*in vivo*では、角質層を透過し真皮に到達した薬物はそこでただちに真皮中の毛細血管により全身系に運ばれ除去されるため、皮下組織を透過する必要がない。さらに、G-ext中のevodiamineおよびrutaecarpineは血流量増加作用を有する<sup>4)</sup>が、おそらくこの効果のため、*in vivo*では真皮に到達したINDが速やかに真皮より全身循環系に移行したものと考えられる。皮膚中の血流量が増大して皮膚温が高くなり、皮膚からの薬物吸収量が増加することはDestaとGeraets<sup>11)</sup>により報告されている。したがって、*in vivo*ではG-ext添加IND軟膏はG-ext含有成分による角質層バリアー能の低下に加えて、呉茱萸のもつ血流量増加作用により角質層を透過したINDの全身循環系への吸収を促進すると考えられる。

以上の結果より、G-ext併用によるIND軟膏の抗炎症および抗侵害受容作用の相乗的な増強は、G-ext自身の抗炎症、抗侵害受容作用<sup>12)</sup>に加えて、G-extがINDの皮膚透過を促進することによりINDの全身作用が強まり、より薬効が増強したと推察される。今回の実験により、G-extを配合したIND軟膏は局所的作用のみならず全身的作用による相加的あるいは相乗的作用を示す有効な軟膏製剤であることが示された。

#### 引用文献

- 1) Kubo M., Chen Y., Hirose N., Asano T., Matsuda H., *Natural Medicines*, **49**, 451-454 (1995).
- 2) Matsuda H., Wu J.X., Tanaka T., Iinuma M., Kubo M., *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 243-248 (1997).
- 3) Matsuda H., Yoshikawa M., Ido Y., H. Kuwajima., Tanaka T., Iinuma M., Kubo M., *Natural Medicines*, **52**, 470-476 (1998).
- 4) Matsuda H., Yoshikawa M., Ido Y., Tanaka T., Iinuma M., Kubo M., *Natural Medicines*, **53**, 5-14 (1999).
- 5) Matsuda H., Yoshikawa M., Ko S., Iinuma M., Kubo M., *Natural Medicines*, **52**, 203-208 (1998).
- 6) Mastuda H., Yoshikawa M., Iinuma M., Kubo M., *Planta Med.*, **64**, 339-342 (1998).
- 7) Mastuda H., Yoshikawa M., Ido Y., Amemiya T., Kubo M., *Natural Medicines*, **55**, 235-242 (2001).
- 8) Yamahara J., Yamada T., Kitani T., Naitoh Y., Fujimura H., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1820-1822 (1989).
- 9) Ogiso T., Iwaki M., Paku T., *J. Pharm. Sci.*, **84**, 482-488 (1995).
- 10) Ogiso T., Paku T., Iwaki M., Tanino T., *J. Pharm. Sci.*, **83**, 1676-1681 (1994).
- 11) J. F. Desta, D. R. Geraets, *Am. Pharm.*, **22**, 28-35 (1982).