

## 論文の内容の要旨

氏名：谷川 寛明

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名：NSAIDs を含有する脳標的経鼻投与製剤の開発に向けたイオン液体の適用に関する研究

### 【背景および目的】

超高齢化社会下のわが国において、難治性の中枢神経系疾患の罹患者数は年々増加傾向にある。これらの疾患の多くは、脳内で生じる炎症反応がその発症要因の 1 つであることが知られている。この脳内での炎症反応を抑制する治療候補薬の一つとして非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）が期待されている。しかしながら、NSAIDs は、従来の経口あるいは注射による経路では血液脳関門（BBB）の存在により血液中から脳への移行が厳密に制限される。したがって、BBB を迂回して、NSAIDs を脳へ直接送達するための投与経路と製剤材料を併用した新たな薬物送達技術の開発が喫緊の課題である。

近年、鼻から脳への直接経路（Nose-to-Brain 経路）を利用可能な経鼻投与が注目を集めている。鼻腔の表面には、生体防御機構である粘液纖毛クリアランス（MCC）が存在する。MCC は、鼻腔内に侵入した細菌やウイルスなどの異物や経鼻投与された薬物を咽頭側へ排泄することで、鼻粘膜からの異物を除去する働きがある。そのため、薬物の吸収は抑制され、バイオアベイラビリティの低下が懸念される。これらの課題を克服するために、Nose-to-Brain 経路を利用する脳標的経鼻投与製剤の設計では、鼻粘膜表面における薬物の滞留性を改善し、鼻粘膜における薬物透過性を促進させる必要がある。これらを達成する製剤設計の戦略として、粘膜付着剤や吸収促進剤などの添加剤の利用が挙げられる。しかしながら、複雑な構造からなるヒトの鼻腔は、製剤を投与できる鼻腔内容積が限られていることから、従来の経口あるいは注射による経路と比較して投与できる製剤量は極めて少量である。製剤設計において添加剤の多用は、投与する製剤量の増大につながり、製剤中の薬物含量が減少する。したがって、脳に送達できる一定の薬物量を確保するためには、複数の製剤特性を併せもつ製剤材料を利用する必要がある。このような材料を経鼻投与製剤に適用することで、Nose-to-Brain 経路による効率的な薬物の脳送達を達成し得る製剤の開発が期待できる。

イオン液体（IL）は、アニオンとカチオンのイオン性相互作用を介して形成される液状有機塩の総称である。薬物を構成成分とする IL を設計することで、その薬物の溶解性、粘稠性および熱安定性などの物理化学的特性を付与することができる。これら特長を有する IL を経鼻投与製剤に用いることで、他の添加剤を用いることなく製剤に鼻腔内滞留性や鼻粘膜透過性を付与することが可能となり、Nose-to-Brain 経路による薬物の効率的な脳送達を達成できると考えた。

本研究では、非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）の経鼻投与による脳への送達に IL を適用することの有用性を明らかにするため、NSAIDs と既報のカウンターイオンであるプロリンエチルエステル（ProOEt）を用いた新規 IL を試み、その形成に関するスクリーニングならびに疑似鼻粘液に対する溶解挙動を評価した。また、新規に見出したエトドラク（ETD）含有 IL について、経鼻投与後の脳移行性ならびに脳内炎症モデルマウスにおける抗炎症効果を評価した。

### 1. NSAIDs 含有 IL のスクリーニングと物理化学的特性の評価

#### 【方法】

NSAIDs としてケトプロフェン（KPF）、インドメタシン（IMC）、メロキシカム（MLX）、ピロキシカム（PRX）あるいはエトドラク（ETD）と別に合成した ProOEt をモル比 1:1 にてそれぞれ秤量し、40℃で 2 時間振とう混和して液状混合物を得た。なお、混合後に固体成分の析出が認められた NSAIDs の組合せについては、ProOEt の薬物に対するモル比を増加させて同様に混和し、液状混合物が得られるかどうかについて検討した。得られた液状混合物について、示差走査熱量測定（DSC）、赤外分光法（IR）およびプロトン核磁気共鳴法（<sup>1</sup>H-NMR）で融点およびイオン化に伴うスペクトルの変化を評価することで、IL の形成についてスクリーニングした。次に、溶解性に及ぼす IL の影響を評価するため、鼻腔内環境を想定した 34℃の疑似鼻粘液（pH 5.5）に NSAIDs 含有 IL を添加したときの溶解性について検討した。

## 【結果および考察】

5種類のNSAIDsとProOEtをそれぞれ混合したところ、MLXおよびPRXではそれぞれの結晶が析出した。これに対して、KPF、IMCおよびETDでは澄明な液状混合物が得られた。それらのモル比は、それぞれKPFで1:1、IMCで1:3およびETDで1:2であった。このうち、ETDとの混合により得られた粘稠な淡黄色の液状混合物では、DSC測定においてETDの融解によるピークは認められなかった (Fig. 1 a)。また、<sup>1</sup>H-NMRスペクトルでは5.3 ppmに新たなブロードピークが出現し、ETD由来する8.6 ppm付近のシングレットピークが9.2 ppm付近にシフトした (Fig. 1 b)。さらに、IRスペクトルでは、1,750 cm<sup>-1</sup>におけるETDのカルボニル基に由来するピーク強度の減弱、3,300 cm<sup>-1</sup>のヒドロキシ基に由来するピークの消失ならびに3,450 cm<sup>-1</sup>におけるProOEtのアミノ基の伸縮振動に由来するブロードピークの消失がそれぞれ認められた (Fig. 1 c)。これら結果より、ETDとProOEtより得られた液状混合物中では、2成分間で新たにイオン結合が形成されたことでILが形成したものと考えられた。同様に、液状混合物を形成したKPFおよびIMCにおいてもDSCにおける融点ピークの消失、および<sup>1</sup>H-NMRとIRにおけるイオン化に伴う分子状態の変化が認められたことから、ILの形成が示唆された。

次に、IL化が各NSAIDsの疑似鼻粘液への溶解性に及ぼす影響を評価した。IL溶液において、疑似鼻粘液添加直後に各薬物濃度の顕著な増加が示され、試験開始120分までNSAIDsのイオン化による溶解性の改善が認められた。一方、結晶状態のNSAIDsでは、試験開始60分には各薬物の溶解度に到達後、その濃度は120分まで維持された (Fig. 2)。これらの結果から、ILは経鼻投与した場合、鼻粘液層において局所的な高濃度層を形成し、鼻粘膜透過性を向上させる可能性が示唆された。一般に経鼻投与された薬物は鼻粘液に溶解した後に鼻粘膜から速やかに吸収されるため、鼻粘液に溶けにくい薬物は鼻粘膜から吸収されることなくMCCにより鼻粘液とともに咽頭へ排泄される。MCCは、90%以上の薬物を120分までに咽頭へ排泄することが知られている。このことから、3種類のNSAIDsからなるILはMCCにより排泄されるまでの時間の間、鼻粘液層でNSAIDsの高濃度が維持できることが明らかとなった。

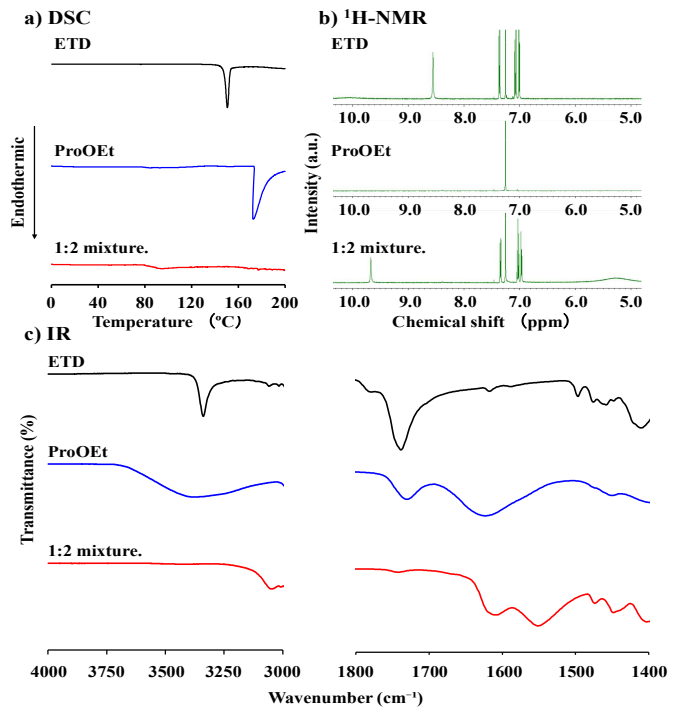


Fig. 1 Characterization of ETD, ProOEt and the liquid-state mixture.

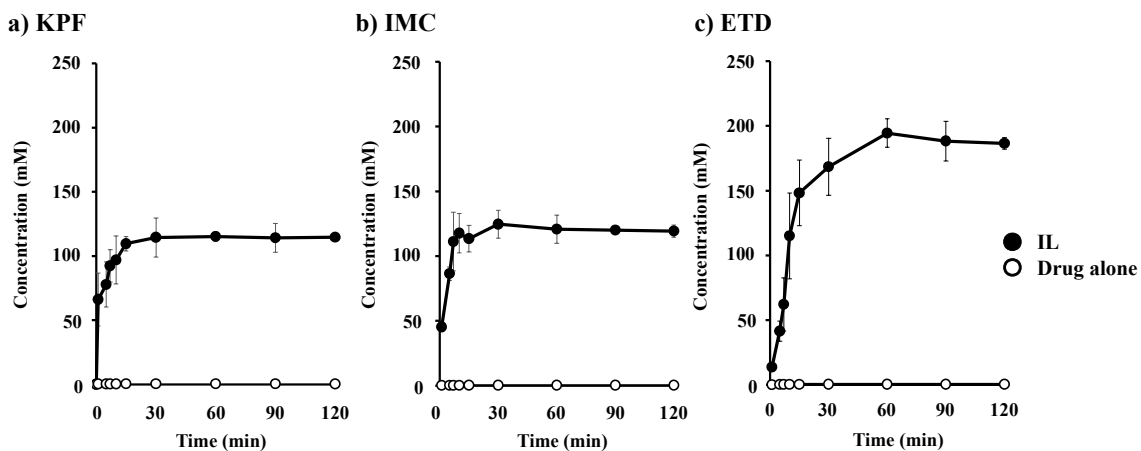


Fig. 2 Solubility test in simulated nasal fluid (pH 5.5) at 34°C. (Mean ± S.D., n = 3).

## 2. ETD 含有 IL 経鼻投与後の鼻腔内滞留性および脳移行性の評価

### 【方法】

ETD 結晶ならびに ETD 含有 IL をそれぞれ HEPES 緩衝液で希釈することで薬物投与液をそれぞれ調製し、各投与液の 34°C におけるみかけの粘度を測定した。また、経鼻投与後の脳および各消化管組織への ETD の移行量ならびに鼻腔内滞留性を評価するため、各投与液を吸入麻酔下のマウスに 1 分間隔で左右の鼻孔に計 8 回経鼻投与し、規定時間静置した後に血管内をリン酸緩衝生理食塩水で還流してから断頭した。鼻腔、脳、食道、胃および小腸を摘出後、各組織中の ETD 量を HPLC で定量した。投与量に対する各組織中に分布する薬物量の割合 (ID %) を次式により算出した。

$$\text{ID \%} = \text{各組織中薬物濃度} / \text{投与溶液中薬物濃度} \times 100$$

脳内における ETD の薬効発現を検討するため、リポポリサッカライドを 3 日間連日腹腔内投与することで脳内炎症モデルマウスを作成した。このモデルマウスに各薬物投与液を経鼻投与後 60 分における炎症性マーカーの 1 つである脳内プロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 量を ELISA 法にて定量した。

### 【結果および考察】

各投与液の 34°C における IL 溶液および ETD 溶液のみかけの粘度は、それぞれ 16.5 mPa·s および 7.7 mPa·s であり、ETD 含有 IL を用いることで投与液の増粘が認められた。これまでに、水溶性高分子などを溶解後に増粘作用を示す粘膜付着剤を添加することで、鼻腔内滞留性の向上が明らかになっていることから、IL 化により ETD の鼻腔内滞留性の向上が期待できると示唆された。

そこで、鼻腔内滞留性について評価したところ、IL 溶液の鼻腔表面上における ETD 量は、ETD 溶液と比較して、投与後 60 分まで有意に高く、最大で 2 倍の値を示した (Fig. 3 a)。咽頭からつながる食道および胃では、ETD 溶液の方が IL 溶液と比べ 30 分後まで 2 倍以上高い値を示し、60 分後に同等の値となった。このことから、IL 化により投与液が増粘することで MCC による消化管への薬物の排泄を遅延させ、鼻内滞留性を改善できることが明らかとなった。さらに、脳内における薬物量は IL 溶液液の投与後 30 分後に最大となり、ETD 溶液の約 7 倍の値を示した (Fig. 3 b)。IL 溶液は投与後のいずれの時点においても ETD 溶液よりも有意に高い値であった。これは、IL 化により ETD 溶液より長く滞留する薬物が鼻腔粘膜層において高い薬物濃度を維持することで、鼻粘膜透過性が促進され、脳への薬物送達性が向上したと示唆された。消化管側での薬物の分布は、粘度の低い ETD 溶液において薬物が MCC によって速やかに排泄されたことを裏付けている。

脳内炎症モデルマウスに対する ETD 含有 IL の薬効発現については、モデルマウス脳内の PGE<sub>2</sub> 量は薬物を経鼻投与しない未治療群と比較して、IL 経鼻投与群で約 40% 有意に減少した。これに対して、ETD 溶液群では未治療群との間に有意な差が認められなかった。このことから、従来の経口あるいは注射による経路では BBB により薬物の脳移行性が著しく制限される ETD が、IL 化による経鼻投与で脳移行性を著しく改善することで薬効発現が期待できる薬物量を送達できることが示唆された。

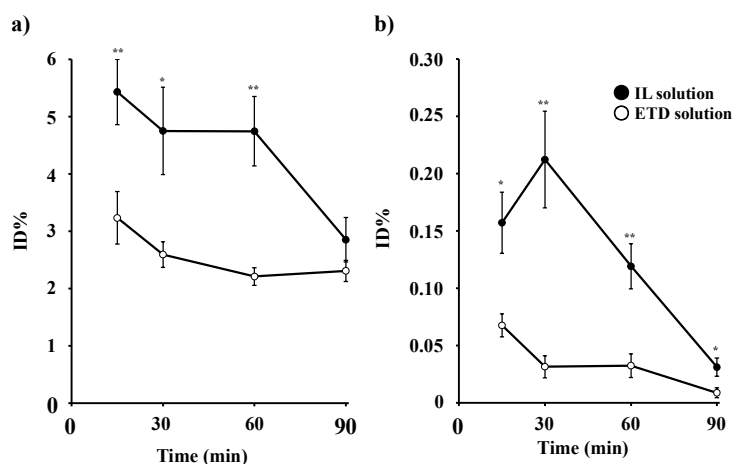


Fig. 3 Time course of the ID% of ETD after intranasal administration. (Mean  $\pm$  S.E., n = 10, \*\*p < 0.01 and \*p < 0.05 (t-test)).

## 【結論】

本研究では、Nose-to-Brain 経路を利用した NSAIDs の効率的な脳送達性を達成し得る経鼻投与製剤を開発するため IL の有用性を評価した。3 種類（KPF, IMC および ETD）の NSAIDs と ProOEt とのそれぞれの液状混合物中において IL の形成が示唆され、それらの疑似鼻粘液に対する溶解性が顕著に改善できることを明らかにした。また、IL 化した ETD の経鼻投与は薬物の鼻腔内滞留性の改善に伴い、脳内炎症を抑制するために必要な薬物量を脳内へ送達できることを明らかにした。以上のことから、脳標的経鼻投与製剤の開発への IL の適用は Nose-to-Brain 経路による効率的な脳移行性に必要不可欠な製剤特性を付与できることが明らかとなった。今後、医薬品有効成分の IL は脳を標的とする経鼻投与製剤の開発において価値のある製剤材料の 1 つになることが期待される。

## 【学術雑誌掲載論文目録】

- 1) **Hiroaki Tanigawa**, Naoto Suzuki, Toyofumi Suzuki. Application of ionic liquid to enhance the nose-to-brain delivery of etodolac. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2022; 178:106290.