

氏 名 (本 籍)	浅 井 和 範	(千 葉 県)
学 位 の 種 類	博 士 (薬 学)	
学 位 記 番 号	乙 第 156 号	
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 15 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当者	
学位論文の題名	経鼻投与製剤における水溶性シクロデキストリンの溶解補助剤としての有用性	
論 文 審 査 委 員	主 査	教 授 高 山 幸 三
	副 査	教 授 町 田 良 治
	副 査	教 授 上 田 晴 久

論文内容の要旨

鼻腔は、薬物投与部位として比較的簡便に使用できること、薬物吸収性が良いことから、注射投与や経口に代わる薬物投与経路として有望視されている。解剖学的には、鼻腔の上部はきわめて薄い篩板により覆われ脳と分離されている。篩板を通じて血管、リンパ管および神経との交流があるため、鼻と脳とは密接な関係にある。セファレキシン、モルヒネなどの薬物では、鼻腔内投与することにより脳への送達が可能となることが報告されている。一方、経鼻投与の問題点として、第 1 に、その内容積が小さいことから投与可能な薬物量に制限が生じることが挙げられる。さらに、消化管と異なり滞留時間が短いために、鼻腔に投与される薬物は溶出過程の不要な液剤などとして調製することが必要である。すなわち、難溶性薬物では溶解性を改善し、液剤とする必要がある。第 2 に、薬物の経鼻吸収性をラットなどの小動物を用いて検討する場合、投与量が制限されるため、薬物動態などの評価が困難となることが多い。

本研究では経鼻投与の問題点を解決するために、難溶性薬物の溶解性を改善し、同時に安全性の保証された経鼻適用製剤の調製を試みた。さらに、微量の血清試料から高感度に薬物を定量し得る、スクリーニングに適した分析方法について検討した。始めに、汎用型の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使用して、固相抽出法 (SPE) を用いたセミクロ HPLC の有用性について検討した。フェニトインをモデル薬物とした汎用型 HPLC (6mm ϕ ×150mm) とセミクロ HPLC (2mm ϕ ×150mm) での結果から、セミクロ HPLC を用いることにより、分析時間は 80% 短縮され、フェニトインの検出感度は 3.97 倍上昇することが明らかとなった。新規に開発した SPE により、フェニトインおよびカルバ

マゼピン添加血清各 50 μ L を前処理したところ、両薬物ともに良好な回収率と定量値の再現性が得られた。血清試料の前処理における SPE カラム固相 (50mg) へのタンパク質の吸着の検討では、一般的に使用される逆相系の固相の中で最も極性作用の低い C18 (オクタデシルシラン結合シリカゲル) を使用した場合も、適切な SPE の設計により吸着量をきわめて僅かに抑えられることが示された。さらに、フェニトインおよびカルバマゼピン添加血清 (各 50 μ L) を試料として SPE カラムによる反復処理の薬物回収率への影響を検討した結果、両薬物ともに同一の SPE カラムで連続 30 回前処理しても、回収率の低下は見られないことが明らかとなった。

次に、難溶性薬物の経鼻適用製剤化を目的とした高濃度水溶性シクロデキストリン (CyD) による製剤の調製を試みた。始めに、高濃度水溶性 CyD による鼻粘膜傷害性を、ラットを用いた組織学的検討により評価した。鼻粘膜傷害性の検討には、3 種の水溶性 CyD (β -CyD, ヒドロキシプロピル β -CyD (HPCyD), ランダムメチル化 β -CyD (RMCyD)) を用いた。また、粘膜傷害性が既に報告されているデオキシコール酸ナトリウム (SDC) およびポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル (Laureth-9) をポジティブコントロールとして使用した。In vivo 単回経鼻投与実験の結果、 β -CyD については 1.5%w/v 溶液の 5 分間適用して、HPCyD については 20%w/v 溶液の 5 分間適用および 10%w/v 溶液の 60 分間適用で、鼻粘膜上皮細胞に対する傷害性は認められなかった。一方、光学顕微鏡による観察では、RMCyD は 20%w/v 溶液の 5 分間適用および 10%w/v 溶液の 30 および 60 分間適用で、鼻粘膜上皮細胞の破壊は見られないものの、粘液分泌の著しい亢進が認められた。さらに、走査型電子顕微鏡により線毛の脱落が生じていることが確認された。In vivo 繰り返し経鼻投与実験からは、Laureth-9 の 1%w/v 溶液を 1 日 1 回 20 μ L、7 日間投与すると鼻粘膜は激しく傷害されるが、RMCyD の 20%w/v 溶液を 1 日 1 回 20 μ L、7 日間投与しても破壊は認められず、粘液分泌の亢進も起こらないことが確認された。

以上の知見をもとに、水溶性 CyD を用いたデキサメタゾン経鼻適用製剤の調製を試みた。高濃度水溶性 CyD 溶液を用いて調製したデキサメタゾンの経鼻適用製剤を、*in situ* 薬物滞留法によりラットに経鼻投与し、血中デキサメタゾン動態および凍結脳損傷モデルにおける脳浮腫抑制効果を検討した。水溶性 CyD によるデキサメタゾンの溶解性改善については、HPCyD、RMCyD および毒性試験において HPCyD と同等以上に安全なモノマルトシル β -CyD (GCyD) を加えて検討した。デキサメタゾンの溶解度は、HPCyD の添加で 86.4 倍に、RMCyD、GCyD でそれぞれ 148.3、160.0 倍に増大した。溶解度の上昇が最大であった GCyD を用いて調製したデキサメタゾン-GCyD 溶液を、

経鼻投与 (0.628mg/mL) した結果、血清中デキサメタゾン濃度は速やかに上昇 ($T_{max}=120min$) し、 $AUC_{0-720min}$ (4481.4ng×hr/mL) はデキサメタゾンリン酸エステルナトリウム塩溶液の静脈内投与に匹敵する値が得られた。次に、ラットの凍結脳損傷モデルに、デキサメタゾン-GCyD を経鼻投与 (1.6mg/kg×5times) した結果、デキサメタゾンリン酸エステルナトリウム塩溶液 (1.6mg/kg×5times) の静脈内投与よりも強い脳浮腫抑制効果が認められた。

以上より、SPE とセミマイクロ HPLC を併用した分析法は、小動物を用いた経鼻吸収実験におけるスクリーニング試験に有用であると考えられた。また、20%w/v 以下の HPCyD 溶液および 10%w/v 以下の RMCyD 溶液は、*in vivo* の条件に添った使用においては、繰り返し投与を行っても鼻粘膜に傷害を与えないことが示唆された。したがって、高濃度水溶性 CyD 溶液は、難溶性薬物の経鼻投与製剤における溶解補助剤として有用であると考えられた。さらに、難溶性薬物デキサメタゾンの溶解性を GCyD を用いて改善することで、経鼻投与により良好な吸収が得られ、デキサメタゾンの脳移行性を示唆する脳浮腫改善効果が見られた。したがって、GCyD で溶解性を改善したデキサメタゾンの経鼻投与製剤は、脳浮腫に対する新たな治療戦略になるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

鼻腔は、薬物投与部位として比較的簡便に使用できること、薬物吸収性が良いことから、注射投与や経口に代わる薬物投与経路として有望視されている。一方、経鼻投与の問題点として、その内容積が小さいことから投与可能な薬物量に制限が生じることが挙げられる。また、薬物の経鼻吸収性をラットなどの小動物を用いて検討する場合、投与量が制限されるため、薬物動態などの評価が困難となることが多い。本研究では経鼻投与の問題点を解決するために、難溶性薬物の溶解性を改善し、同時に安全性の保証された経鼻適用製剤の調製について検討した。さらに、微量の血清試料から高感度に薬物を定量し得る、スクリーニングに適した分析方法について検討し、以下に示す知見が得られた。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使用して、フェニトインをモデル薬物とし、固相抽出法 (SPE) を用いたセミマイクロ HPLC の有用性について検討した。その結果、セミマイクロ HPLC を用いることにより、分析時間が短縮し検出感度も向上することが明らかとなった。新規に開発した SPE により、フェニトインおよびカルバマゼピン添加血清を前処理したところ、両薬物ともに良好な回収率と定量値の再現性が得られた。さらに、フェニトインおよびカルバマゼピン添加血清を試料として SPE カートリッジによる反復処理の薬物回収率への影響を検討した結果、両薬物ともに同一の SPE カートリッジで連続 30 回前処理しても、回収率の低下は見られないことが明らかとなった。

難溶性薬物の経鼻適用製剤化を目的とした高濃度水溶性シクロデキストリン (CyD) による製剤の調製を試みた。はじめに、高濃度水溶性 CyD による鼻粘膜傷害性を、ラットを用いた組織学的検討により評価した。鼻粘膜傷害性の検討には、3 種の水溶性 CyD (β -CyD、ヒドロキシプロピル β -CyD (HPCyD)、ランダムメチル化 β -CyD (RMCyD)) を用いた。In vivo 単回経鼻投与実験の結果、 β -CyD および HPCyD については通常の適用条件で、鼻粘膜上皮細胞に対する傷害性は認められなかった。一方、光学顕微鏡による観察では、RMCyD は、粘液分泌の著しい亢進が認められた。さらに、走査型電子顕微鏡により線毛の脱落が確認された。In vivo 繰り返し経鼻投与実験からは、RMCyD を 7 日間投与しても破壊は認められず、粘液分泌の亢進も起こらないことが確認された。

以上の知見をもとに、水溶性CyDを用いたデキサメタゾン経鼻適用製剤の調製を試みた。高濃度水溶性CyD溶液を用いて調製したデキサメタゾンの経鼻適用製剤を、*in situ*薬物滞留法によりラットに経鼻投与し、血中デキサメタゾン動態および凍結脳損傷モデルにおける脳浮腫抑制効果を検討した。水溶性CyDによるデキサメタゾンの溶解性改善については、HPCyD、RMCyDおよび毒性試験においてHPCyDと同等以上に安全なモノマルトシル β -CyD (GCyD)を加えて検討した。デキサメタゾンの溶解度の上昇が最大であったGCyDを用いて調製したデキサメタゾン-GCyD溶液を経鼻投与した結果、血清中デキサメタゾン濃度は速やかに上昇し、デキサメタゾンリン酸エステルナトリウム塩溶液の静脈内投与に匹敵するAUC値が得られた。次に、ラットの凍結脳損傷モデルに、デキサメタゾン-GCyDを経鼻投与した結果、デキサメタゾンリン酸エステルナトリウム塩溶液の静脈内投与よりも強い脳浮腫抑制効果が認められた。

以上より、SPEとセミマイクロHPLCを併用した分析法は、小動物を用いた経鼻吸収実験におけるスクリーニング試験に有用であると考えられた。また、HPCyD溶液およびRMCyD溶液は、*in vivo*の条件に添った使用においては、繰り返し投与を行っても鼻粘膜に傷害を与えないことが示唆された。したがって、水溶性CyD溶液は、難溶性薬物の経鼻投与製剤における溶解補助剤として有用であると考えられた。さらに、難溶性薬物デキサメタゾンの溶解性をGCyDを用いて改善することで、経鼻投与により良好な吸収が得られ、デキサメタゾンの脳移行性を示唆する脳浮腫改善効果が認められた。したがって、GCyDで溶解性を改善したデキサメタゾンの経鼻投与製剤は、脳浮腫に対する新たな治療戦略になるものと考えられる。本研究は、経鼻投与製剤における水溶性シクロデキストリンの溶解補助剤としての有用性について基礎的検討を行うとともに、臨床応用を目指した病態モデル動物での試験を実施し、鼻粘膜を経路とする脳内薬物送達の可能性を示唆する重要な知見が得られている。博士（薬学）の学位にふさわしい内容である。