

氏名	石川英司
生年月日	
本籍	石川県
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	博甲第441号
学位授与の日付	平成13年9月28日
学位授与の要件	課程博士(学位規則第4条第1項)
学位授与の題目	難溶性粉末化経鼻投与製剤による薬物のバイオアベイラビリティの改善に関する研究
論文審査委員(主査)	辻 彰(薬学部・教授)
論文審査委員(副査)	宮本 謙一(医病院・教授) 森本 一洋(北海道薬科大学薬学部・教授) 玉井 郁巳(薬学部・助教授) 松下 良(自然科学研究科・助教授)

## 学位論文要旨

The utility of insoluble powder formulation was evaluated for nasal drug delivery system as a valuable alternative to invasive injection of peptides and to oral administration of drugs with poor bioavailability.

The nasal absorption of hydrophilic compounds with various molecular weights (354–77,000) was compared between liquid and insoluble  $\text{CaCO}_3$  powder formulations in rats. The obtained results indicated that  $\text{CaCO}_3$  powder formulation could improve systemic bioavailability following nasal administration, predominantly by retarding drug elimination from the absorption site. Further, the increase of bioavailability was also achieved with other insoluble powders (ethylcellulose, talc and  $\text{BaSO}_4$ ) as well as  $\text{CaCO}_3$ , but not with soluble powders such as lactose, *d*-sorbitol or *d*-mannitol.

The nasal delivery of elcatonin (ECT), which is a potent calcitonin analog used generally in the treatment of osteoporosis, by insoluble powder formulation was examined in rats and rabbits. The  $\text{CaCO}_3$  powder formulation resulted in significantly increased ECT absorption as compared with liquid formulation. In contrast, similar permeability of ECT across excised rabbit nasal mucosa was observed for both formulations *in vitro*, and the permeability was close to that of inulin, providing evidence for paracellular transport of ECT. The insoluble powder formulation prolonged the residence time of ECT in the nasal cavity.

These results indicate that insoluble powder formulation appears to be effective for nasal systemic drug delivery.

遺伝子工学を中心とするバイオテクノロジーの発展により、生理活性の高い多くのペプチド、タンパク質、および、その誘導体が創製あるいは大量に供給されるようになってきた。しかし、これらは水溶性の高分子であるため、消化管膜透過性が低く、また、消化管内における酵素的分解のために、経口投与ではほとんど吸収されない。そのため、ペプチド性医薬品は皮下投与や筋肉内投与などの痛みを伴う注射による投与を余儀なくされているが、長期にわたる頻回の注射は患者に大きな肉体的・精神的苦痛を与える。したがって、その代替的投与方法として、眼、鼻、肺、膣、直腸などの粘膜を介した非注射投与法の開発が試みられている。

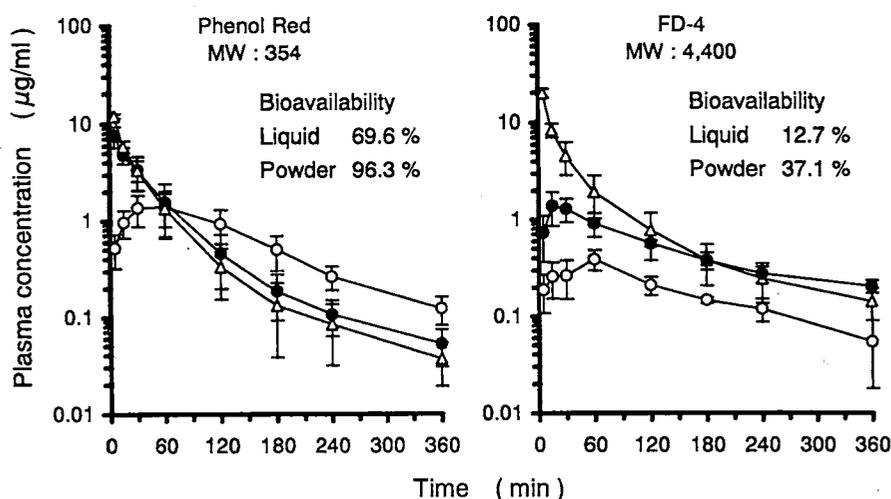
鼻粘膜は他の粘膜に比べ、物質透過性が比較的高く、門脈系を経ずに薬物を全身循環系に到達させることが可能である。また、経鼻投与は、操作が簡便であり、痛みを伴わず、自己投与できることから在宅医療を可能にする。そのため、経鼻投与はペプチド性医薬品だけでなく、経口投与後に初回通過効果を強く受ける医薬品の投与方法としても注目されているのみならず、コンプライアンスの改善や医療経済的にも利点のある投与方法である。一方、鼻粘膜は繊毛運動が活発であり、鼻腔内から容易に薬物が排出されること、さらに、消化管粘膜に比べ弱いながらも酵素的分解活性を有することから、単純な溶液製剤ではペプチド性薬物の bioavailability (BA) は低く、吸収促進剤、粘膜付着剤や酵素阻害剤などの添加剤が不可欠と考えられてきた。一方、吸収促進剤や溶液製剤に含まれる保存剤は粘膜傷害を引起す可能性があり、その使用は大きく制限される。これに対し、本研究の対象とした粉末製剤は、薬物の化学的安定化に寄与すると同時に、保存剤が不要であるため、溶液製剤に比べ有利である。さらに、適切な薬物担体の選択により、吸収部位における薬物の滞留性を増大させることも可能であると考えられる。

本研究では、経鼻投与製剤の新しい薬物担体として難溶性粉末に着目し、これを用いた薬物の経鼻吸収性を評価した。また、その吸収改善メカニズムの解明を詳細に行い、これらの基礎的知見を基に難溶性粉末化経鼻投与製剤の有用性を明らかにした。

## 難溶性粉末投与による水溶性薬物の経鼻吸収性評価

鼻腔内からの薬物の吸収性は主にその分子量 (MW) に依存することが知られている。そこで、分子量 354~77,000 までの 7 種の水溶性化合物 [phenol red, cyanocobalamin, FITC-dextran (FD-4, FD-10, FD-20, FD-40, FD-70)] をモデル薬物として選択し、難溶性粉末化製剤によるラット経鼻吸収性を検討した。

難溶性担体として calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) を用いた場合、消化管からはほとんど吸収されない phenol red は鼻腔内から極めて速やかに、かつ、完全に吸収され (BA 96%)、その血漿中濃度推移は静脈内投与時のそれに匹敵していた (Fig. 1)。また、FD-4 (MW 4,400) においても粉末投与時の BA は 37% と高かった。



**Fig. 1. Plasma concentration-time curves of phenol red and FD-4 after intravenous and intranasal administration at a dose of 5 mg/kg in rats.**

△, intravenous; ○, intranasal (liquid); ●, intranasal (powder)

Each point represents the mean ± SD of results from 5 rats.

投与形態の粉末化は鼻粘膜表面上に高濃度で薬物を適用できることから、これにより投与部位からの速やかな薬物吸収が期待できる。したがって、粉末製剤は鎮痛剤や制吐剤などのような早い薬効発現が要求される医薬品、あるいは、insulin (MW 5,800) や calcitonin (MW 3,400) のようなペプチド性薬物の有用な経鼻投与剤形になると考えられる。

分子量 1,000 以上の薬物では、これまでに報告されているものと同様、溶液投与時の BA には顕著な分子量依存性がみられた。一方、CaCO<sub>3</sub> 粉末投与時においても BA の分子量依存性が認められたが、分子量 (MW) の程度にかかわらず、BA は溶液投与の約 2 ~ 3 倍に上昇した (Fig. 2)。

鼻腔内からの薬物吸収性は、鼻粘膜繊毛運動による薬物排出クリアランス (E: MW-independent) と鼻粘膜透過クリアランス (P: MW-dependent) とのバランスに左右されると考えられる。そこで、分子量モデルによる鼻腔内薬物挙動の解析を試みた。

Figure 2 に示すように、本モデルは薬物の鼻粘膜透過性が分子量のべき乗式で表されると仮定したものであり、これにより分子量と BA の関係をほぼ説明することができた。また、分子量の影響の受け易さの指標であるパラメータ B は溶液投与と CaCO<sub>3</sub> 粉末投与とで差はなかったが、mucociliary clearance を含むパラメータ E/A は投与形態間で約 12 倍異なり、粉末投与では繊毛運動による薬物排出の影響を受け難いと推察された。さらに、他の薬物担体を用いた検討と鼻腔内滞留性の投与形態間の比較検討から、以下の結果が得られた。

① FD-4 の BA の改善は CaCO<sub>3</sub> に特異的なものではなく、別の難溶性粉末 (ethylcellulose,

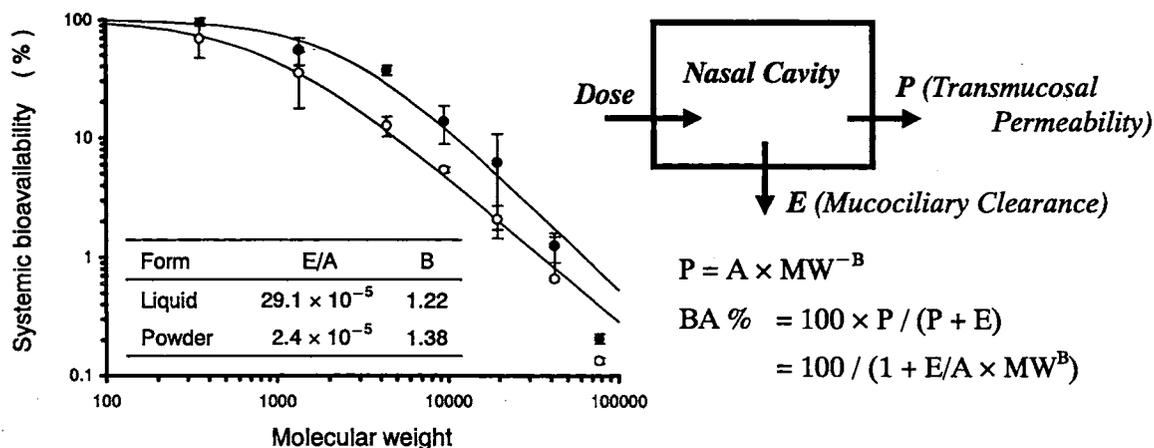


Fig. 2. Systemic bioavailability of hydrophilic drugs following intranasal administration of the liquid (○) and CaCO<sub>3</sub> (●) powder formulations as a function of molecular weight in rats (left); a model for kinetic analysis of nasal absorption of drugs with various molecular weights (right).

Data are presented as the mean ± SD of results from 5 determinations.

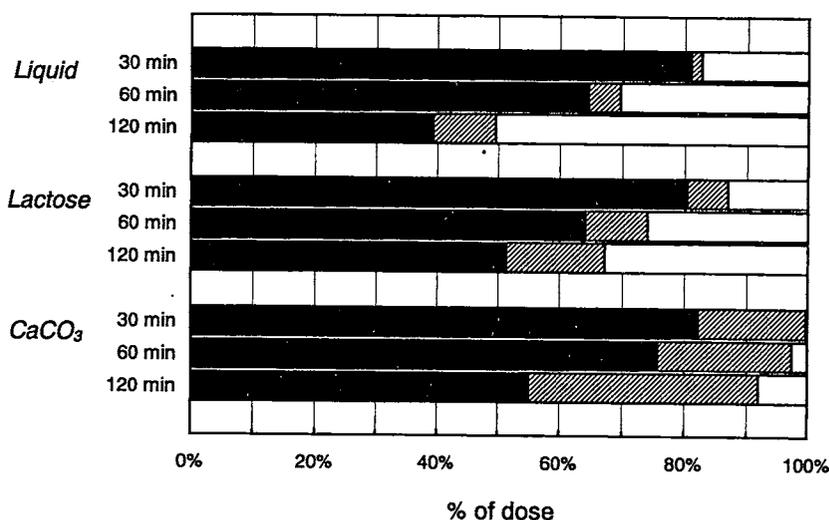


Fig. 3. Disappearance of FD-4 from rat nasal cavity as a function of time following intranasal administration of various formulations.

Closed, hatched and open columns represent the means of the fractional amounts of FD-4 remaining, absorbed and eliminated, respectively, relative to the given dose, from three rats.

talc, barium sulfate) によっても達成可能であり, BA は 37-39%と難溶性粉末の種類によらずほぼ一定である。

- ② 水溶性の lactose, sorbitol, mannitol を用いた粉末投与では FD-4 の有意な BA 改善効果は得られない。
- ③ 溶液投与や lactose 粉末投与に比べ, CaCO<sub>3</sub> 粉末投与は FD-4 の鼻腔内滞留性を増大させる (Fig. 3)。

以上の結果は、難溶性粉末投与におけるパラメータ E/A の減少が、パラメータ A の増加（鼻粘膜透過性の亢進）によるものではなく、パラメータ E の減少（mucociliary clearance の減少）に起因していることを強く支持するものであり、難溶性粉末投与による BA の向上は薬物の鼻腔内滞留時間の延長によるものであると結論した。

したがって、難溶性粉末化製剤は低分子薬物ならびに生理活性ペプチド・タンパク質の経鼻投与形態として有用であると考えられる。

### 炭酸カルシウム粉末投与によるエルカトニンの経鼻吸収改善

骨粗鬆症は高齢者、特に閉経後の女性に多く見られる疾患であり、高齢化社会を迎えた現在、頻繁な通院を必要とせず、患者の許容性、利便性の高い骨粗鬆症治療薬の社会的および医療経済的意義は極めて大きい。Eel calcitonin の合成誘導体である elcatonin (ECT, MW 3364) は、骨粗鬆症の有効な治療薬である。現在、ECT は注射剤のみが上市されており、その有用な剤形として経鼻投与製剤の開発が期待されている。そこで、CaCO<sub>3</sub> 粉末経鼻投与による ECT の BA の改善効果とそのメカニズムをラットおよびウサギを用いて詳細に検討した。

[<sup>3</sup>H]ECT をラットに経鼻投与したときの総放射活性および未変化体の放射活性のレベルは、いずれも溶液投与に比べ CaCO<sub>3</sub> 粉末投与では高く推移し (Fig. 4), 粉末投与時の未変化体の BA は溶液投与時に比べ有意に増大した。また、ウサギを用いた検討により、ECT の薬理作用である血漿中総カルシウム濃度低下作用も粉末投与により有意に

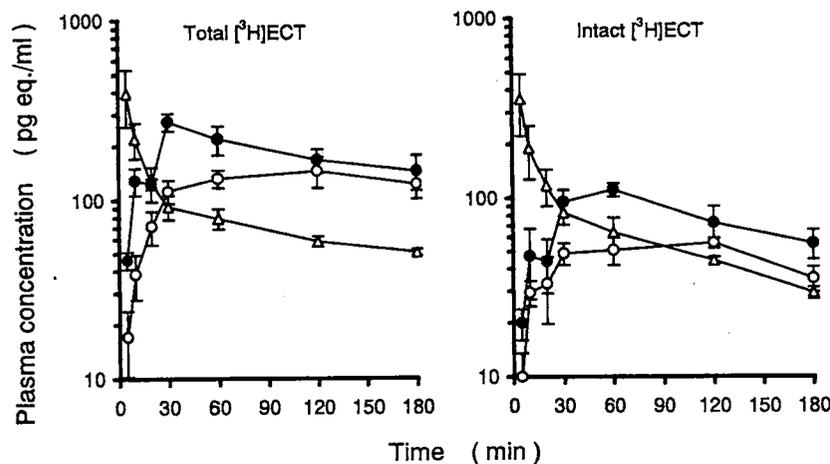


Fig. 4. Plasma concentration-time curves of total and intact [<sup>3</sup>H]ECT after intravenous and intranasal administration in rats.

△, intravenous (0.68 μg)

○, intranasal (liquid, 1.68 μg); ●, intranasal (powder, 1.54 μg)

Each point represents the mean ± SEM of results from 3 rats.

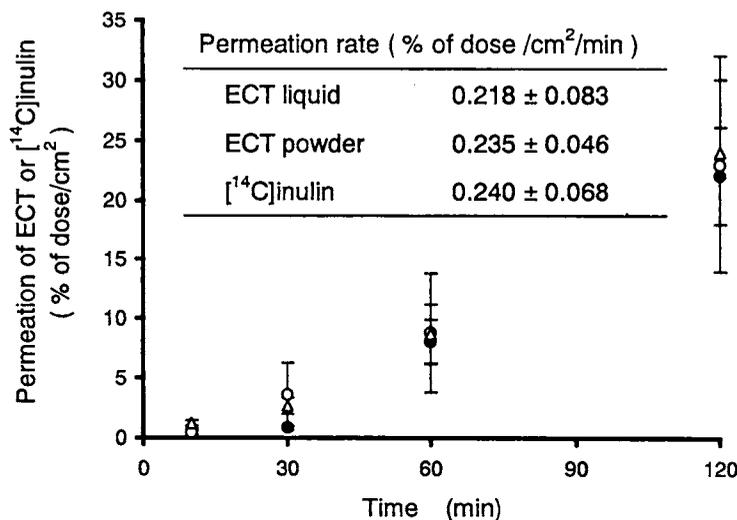
増強されることが認められた。なお、ラットにおける  $\text{CaCO}_3$  粉末投与時の BA (38%) は前述の FD-4 の BA (37–39%, 難溶性粉末投与時) とほぼ同じであり、主に分子量がその経鼻吸収性を支配することが示された。

ECT の鼻粘膜輸送については、一部で能動的な endocytosis が関与していると報告されている (Cremaschi et al., 1996)。そこで、摘出ウサギ鼻中隔粘膜における ECT の *in vitro* 透過性を評価し、ECT の BA 改善のメカニズムについて検討した。

Figure 5 に示すように、溶液試料と  $\text{CaCO}_3$  粉末試料との間で ECT の鼻粘膜透過速度に差はなかった。また、ECT の鼻粘膜透過性は  $[^{14}\text{C}]\text{inulin}$  のそれとほぼ同等であったことから、ECT の鼻粘膜透過経路は主に細胞膜を透過しない paracellular なものであり、endocytosis はほとんど関与しないものと思われた。また、 $\text{CaCO}_3$  粉末が ECT の鼻粘膜透過性に影響を与える（透過性を促進する）ものではないことが明らかとなった。

一方、 $[^3\text{H}]\text{ECT}$  を経鼻投与 60 分後の鼻腔内残存放射活性を比較したとき、溶液投与では 33.8% of dose/(g tissue) あったのに対し、 $\text{CaCO}_3$  粉末投与では 71.8% of dose/(g tissue) であり、粉末投与後の ECT の鼻腔内残存率は有意に高かった。

したがって、前述の水溶性化合物での結果と同様、難溶性粉末は ECT の鼻腔内滞留性を増大させることにより、BA を向上させることが明らかとなった。



**Fig. 5. Time courses of permeation of ECT and  $[^{14}\text{C}]\text{inulin}$  across excised rabbit nasal mucosa following application of the liquid and powder formulations.**

Data are expressed as the fractional amount permeated per unit surface area relative to the amount loaded on the mucosal side. Each point represents the mean  $\pm$  SEM of results from 4-6 determinations.

○, ECT (liquid); ●, ECT ( $\text{CaCO}_3$  powder); △,  $[^{14}\text{C}]\text{inulin}$

## まとめ

以上のことから、難溶性粉末は薬物の鼻腔内滞留性を増大させることによってその経鼻吸収性を向上させ、全身作用を目的とした低分子医薬品ならびにペプチド性医薬品の有用な投与形態になり得ると考えられる。

本研究は、「治療最適化を目指した医薬品の投与設計」を主たる目標とし、新たな剤形としての可能性をもつ難溶性粉末化経鼻投与製剤に関して行った基礎的研究であり、経鼻投与製剤の製剤設計において有益な情報を提供するものとする。今後、粉体工学的・製剤学的特性、ならびに、安全性を考慮したより適切な薬物担体の選択、投与方法や投与器具の設計など多面的な研究の展開により、難溶性粉末化経鼻投与製剤が適正な薬物療法の実践に大きく貢献できるものであると期待される。

## 引用文献

Cremaschi, D., Porta, C., Ghirardelli, R., Manzoni, C., Caremi, I.:

Endocytosis inhibitors abolish the active transport of polypeptides in the mucosa of the nasal upper concha of the rabbit, *Biochim. Biophys. Acta*, **1280**, 27-33 (1996).

## 学位論文審査結果の要旨

経鼻投与は、コンプライアンスの改善や医療経済においても大きく貢献できる投与方法であるが、鼻粘膜繊毛運動による鼻腔内からの薬物排出や酵素による分解のため、単純な溶液製剤ではペプチド性薬物の bioavailability (BA) は低く、吸収促進剤や酵素阻害剤などの添加剤が不可欠と考えられてきた。本研究では、経鼻投与製剤の新しい薬物担体として難溶性粉末に着目し、下記に示す新規な知見を得た。

分子量 354~77,000 までのモデル水溶性化合物について、難溶性担体として calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) を用いた場合、ラットにおける BA に顕著な分子量依存性がみられ、鼻腔内薬物滞留時間の延長により BA は溶液投与の約 2~3 倍上昇した。一方、lactose などの水溶性担体では、鼻腔内滞留性の増大はみられず、BA の改善効果も得られなかったが、 $\text{CaCO}_3$  以外の難溶性粉末によっても BA の向上を達成できることが明らかとなった。

骨粗鬆症治療薬 elcatonin (ECT) の  $\text{CaCO}_3$  粉末製剤においても溶液製剤に比べ未変化体の BA の有意な増大と薬効の有意な増強があった。さらに、摘出家兎鼻粘膜における ECT の *in vitro* 透過性において溶液製剤と粉末製剤との間の差は認められず、 $\text{CaCO}_3$  粉末は ECT の透過性を促進しないことを明らかにした。一方、 $\text{CaCO}_3$  粉末投与後の鼻腔内残存率は溶液投与に比べ、鼻腔内滞留性が有意に増大していることが示され、これが ECT の BA を上昇させる要因であると推察された。

難溶性粉末化製剤が、低分子薬物ならびに生理活性ペプチド・タンパク質の新たな経鼻投与剤形として有用であることを明らかとした本研究結果は、全身作用を目的とした経鼻投与製剤の製剤設計において有益な情報を提供するものとする。よって、本論文は博士（薬学）論文に値するものと判断された。