

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：32665  
研究種目：若手研究  
研究期間：2020～2022  
課題番号：20K16059  
研究課題名（和文）多孔性シリカにイオン液体を封入した粉末経鼻製剤による水溶性中分子の脳移行性の解析  
  
研究課題名（英文）Analysis for brain transfer of water-soluble macromolecule administered by intranasal formulation consisting of IL encapsulated porous silica  
  
研究代表者  
鈴木 直人（SUZUKI, Naoto）  
  
日本大学・薬学部・講師  
  
研究者番号：60756005  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、粘膜透過性を促進可能なイオン液体を血液脳関門非透過性薬物であるエトドラクや水溶性中分子のイヌリンに適用し、鼻から脳への直接経路の存在する鼻腔内に経鼻投与したところ、各化合物の嗅球、脳および血中への移行性が増加することを明らかにしたことで、脳標的経鼻投与製剤の設計において、イオン液体は有用な製剤材料であることが示唆された。  
また、イオン液体自身は粘稠であり汎用経鼻デバイスによる噴霧が困難なため、吸収剤の多孔性シリカにイオン液体を高温条件下で攪拌混合することで封入することにより、優れた流動性を示し汎用経鼻投与デバイスで噴霧可能なイオン液体含有粉末経鼻投与製剤の設計が可能であった。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会への突入により増加傾向にある難治性中枢性疾患の治療薬に対するニーズは増加の一途である。本研究では、経鼻投与した薬物の脳移行性に及ぼす影響とその製剤化技術ならびに性能を明らかにしたことで、これら疾患に対する治療薬の開発を促進する一助となることが期待される。また、脳移行性の乏しさから開発を断念した化合物や、市販された脳標的医薬品のリポジショニングするための製剤設計にも貢献し得る知見であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we applied ionic liquids that can enhance mucosal permeability to etodolac (BBB-impermeable drug) and inulin (water-soluble middle molecule) and administered them into the nasal cavity, where the direct nasal-to-brain pathway exists, and found that the transfer of these compounds into the olfactory bulb, brain and blood was increased. These results suggest that ionic liquids are useful materials for the design of intranasal formulations targeting the brain.

Since the ionic liquid is viscous and difficult to be sprayed with a general nasal device, the ionic liquid was encapsulated in porous silica, which is an absorbent, under optimal conditions. As a result, it was possible to design an ionic liquid-containing powder nasal administration formulation that exhibited excellent flowability and could be sprayed with a general nasal device.

研究分野：製剤学，薬剤学，DDS

キーワード：イオン液体 経鼻投与 鼻腔内滞留性 多孔性シリカ 水溶性中分子 NSAIDs 粘膜透過性 噴霧性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

中枢性疾患の治療を目的としたペプチドや核酸などの新たな創薬モダリティである水溶性中分子は、血中に投与された場合、血液脳関門 (BBB) により脳への移行が著しく制限される。これら薬物を血液を介さず脳へ直接送達できる投与方法として、近年、経鼻投与が注目されている。経鼻投与された薬物の鼻腔から脳への効率的な送達には、添加剤による鼻腔内滞留性ならびに粘膜透過性の付与が必須である。しかしながら、添加剤の多用は製剤中薬物濃度の低下や鼻から脳への薬物送達に大きく寄与する嗅粘膜への薬物付着量を減少させるため、十分な量の薬物が脳へ送達されないことが懸念される。近年、皮膚透過性促進作用を示す製剤材料として、カチオンとアニオンからなる分子複合体の "イオン液体" が注目を集めている。イオン液は分子間相互作用としてイオン結合を介する分子複合体で一般的に粘稠性を示すため、経鼻投与へのイオン液体の適用により鼻腔内滞留性ならびに鼻粘膜透過性の付与が期待される。一方で、経鼻投与デバイスによる射出が困難であると予想されるため、何らかの製剤学的工夫を施す必要である。

### 2. 研究の目的

本研究では、BBB 非透過性薬物の経鼻投与による脳への送達に、鼻腔内滞留性ならびに鼻粘膜透過性を併せもつことが期待されるイオン液体が及ぼす影響を明らかにするため、当初評価を予定していた水溶性中分子モデルのデキストランの代わりにイヌリンと BBB 非透過性薬物で非ステロイド性抗炎症薬であるエトドラクについて、イオン液体を適用し経鼻投与した場合の脳移行性を評価することで、脳標的経鼻投与製剤の設計におけるイオン液体の有用性を評価した。また、イオン液体の経鼻投与製剤化における欠点である流動性の悪さを多孔性シリカに封入させることで改善し、汎用経鼻投与デバイスによる噴霧が可能な経鼻投与製剤を調製するため、多孔性シリカへの IL の封入条件の最適化について検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) BBB 非透過性薬物・エトドラクに関する検討 (脳移行性・治療効果)

イオン液体の調製ならびにキャラクタリゼーション

エトドラクと Moshikur らの報告をもとに調製したプロリンエチルエステルを混合することで、エトドラク含有イオン液体を調製した。得られたエトドラク含有イオン液体について、示差走査型熱量測定 (DSC)、赤外分光法 (IR) および核磁気共鳴法 (NMR) により各成分の分子レベルでの混和性や分子間相互作用について解析した。また、調製したイオン液体の疑似鼻粘液中における溶解性、ならびに音叉振動式粘度計による粘度を評価した。

#### ② 経鼻投与後におけるエトドラクの鼻腔内滞留性ならびに脳移行性

エトドラクおよびエトドラク含有イオン液体を HEPES 緩衝液で希釈し、これをエトドラクとして 1.67 mg となるようにマウスの左右鼻孔に交互に経鼻投与した。投与 30 分後に、鼻粘膜表面、嗅球、脳および血液中におけるエトドラク量を高速液体クロマトグラフィーにより定量した。

リポポリサッカライドにより誘導した脳内炎症モデルマウスの脳内プロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) の定量

リポ多糖を腹腔内投与し調製した脳内炎症モデルマウスに、エトドラクおよびエトドラク含有イオン液体を 2) と同様に経鼻投与した。投与 30 分後に摘出した脳内の PGE<sub>2</sub> 量を ELISA 法で定量し、経鼻投与したエトドラクによる抗炎症効果について評価した。

#### (2) 水溶性中分子・イヌリンに関する検討 (脳移行性・製剤設計)

イオン液体の調製ならびにキャラクタリゼーション

Zakrewsky らの報告するメタセシス反応<sup>4)</sup>を利用して、コリンとリンゴ酸からなるイオン液体を得た。得られたイオン液体について、DSC、IR および NMR により形成を確認した。

#### ② 経鼻投与後における脳内イヌリン量の定量

放射性標識したイヌリンをイオン液体に溶解しマウスへ経鼻投与後、既定時間後に嗅球および脳を摘出した。摘出した組織中のイヌリン量を液体シンチレーションカウンターにより測定し、経鼻投与後のイヌリンの嗅球および脳移行性を評価する。

多孔性シリカにイオン液体を封入した粉末経鼻投与製剤の設計

イオン液体と多孔性シリカを攪拌混合することで、イオン液体を封入した多孔性シリカであるイオン液体含有粉末製剤の調製した。なお、攪拌中に適宜採取した粉末の IR スペクトルを測定し封入状態を評価することで、イオン液体含有粉末製剤の調製に最適な攪拌温度、攪拌時間ならびに多孔性シリカの種類の最適化を実施した。また、各種イオン液体含有粉末製剤の流動性と汎用経鼻投与デバイスからの噴霧性を、安息角測定および噴霧後のデバイス内粉末残存率より評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) BBB 非透過性薬物・エトドラクに関する検討 (脳移行性・治療効果)

血液脳関門非透過性薬物である非ステロイド性抗炎症薬のエトドラクを用いてイオン液体の調

製を試みた。得られた液体について DSC および IR により評価した結果、DSC 曲線では結晶成分による吸熱ピークは消失し、IR スペクトルでは各構成成分とは異なるスペクトルが認められた。また、NMR 測定より、各成分のイオン化に伴う変化が認められたことから、イオン液体の形成が示唆された。次に、脳内炎症モデルマウスに本イオン液体を経鼻投与したところ、エトドラクの脳内移行性の向上が認められた。これは、エトドラクのイオン液体化により鼻粘膜表面におけるエトドラクの溶解性ならびに鼻腔内滞留性が改善されたことによるものと考えられた。また、脳内に移行したエトドラクにより炎症性マーカーであるプロスタグランジン E2 の脳内レベルを有意に抑制することを明らかにした。これら結果より、経鼻投与による薬物の脳への送達において、イオン液体は有用な製剤材料であることが示唆された。

#### (2) 水溶性中分子・イヌリンに関する検討（脳移行性・製剤設計）

コリンおよびリンゴ酸から得られた液状混合物について評価した結果、スペクトル等の変化が既報の変化と一致したことからイオン液体の形成が示唆された。得られたイオン液体の粘度を測定したところ、測定温度の上昇に伴い粘度の顕著な低下が認められた。続いて、本イオン液体に放射性標識したイヌリンを溶解しマウスに経鼻投与したところ、イオン液体の併用によりイヌリンの嗅球および脳移行量が増加した。イヌリンの脳移行性を向上させた本イオン液体を汎用経鼻投与デバイスによる噴霧を可能にするため、多孔性シリカへ封入することによる粉末化について検討した。イオン液体と多孔性シリカを攪拌混合したところ、攪拌温度ならびに攪拌時間の増加に伴い多孔性シリカ表面に残存するイオン液体に由来するピーク面積の減少が認められた。これは、攪拌温度の増加に伴いイオン液体の粘度が著しく低下したため、効率的に多孔性シリカの細孔中に封入されたものと考えられた。吸水量の異なる多孔性シリカに対してイオン液体を封入させたところ、多孔性シリカによる吸水量とイオン液体の封入量の間には相関関係が認められ、高吸水量の多孔性シリカには多量のイオン液体を封入できることが示唆された。また、一定量のイオン液体を封入させた多孔性シリカの安息角ならびに汎用経鼻投与デバイスによる射出後のデバイス内に残存する粉末量を測定した。安息角測定の結果、イオン液体、多孔性シリカあるいは賦形剤として汎用される乳糖水和物と比較して、イオン液体封入多孔性シリカでは低値を示したため、多孔性シリカへの封入により流動性の良好なイオン液体を含有する粉末を調製できることが明らかとなった。また、噴霧後におけるデバイス内に残存した粉末量は、吸水量の最も高い多孔性シリカを用いた粉末と乳糖水和物で最も低くかった。これより、汎用経鼻投与デバイスによる噴霧可能な粉末を調製できたことが示唆された。

以上より、本検討を通して、経鼻投与による BBB 非透過性薬物の脳送達においてイオン液体は有用であることが示唆された。また、イオン液体を吸水量の高い多孔性シリカに封入させることで、汎用経鼻投与デバイスによる噴霧が可能なイオン液体含有経鼻投与製剤を設計することに成功した。本検討は、脳を標的とする経鼻投与製剤の設計に有用な知見となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanigawa Hiroaki, Suzuki Naoto, Suzuki Toyofumi	4. 巻 178
2. 論文標題 Application of ionic liquid to enhance the nose-to-brain delivery of etodolac	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 106290 ~ 106290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejps.2022.106290	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷川寛明, 鈴木直人, 山下友季, 鈴木豊史
2. 発表標題 エトドラクへのイオン液体の適用が経鼻投与後の鼻腔内滞留性および能移行性に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬剤学会 第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福島啓太, 鈴木直人, 藤井美波, 鈴木豊史
2. 発表標題 コリン/リンゴ酸イオン液体に溶解したイヌリンの経鼻投与後の脳移行性ならびに製剤化に関する基礎検討
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福島啓太, 鈴木直人, 神谷千悠, 鈴木豊史
2. 発表標題 製剤化を目的としたコリンおよびリンゴ酸からなるイオン液体の多孔性シリカへの封入
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木直人、井上緋菜、藤井美波、金沢貴憲、鈴木豊史
2. 発表標題 経鼻投与によるイヌリンの脳内送達に及ぼすコリン/リンゴ酸からなるイオン液体の影響
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤井美波、鈴木直人、井上緋菜、金沢貴憲、鈴木豊史
2. 発表標題 コリン/リンゴ酸からなるイオン液体の経鼻投与がイヌリンの嗅球および脳移行性に及ぼす影響
3. 学会等名 第64回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下友季、鈴木直人、谷川寛明、金沢貴憲、鈴木豊史
2. 発表標題 経鼻投与製剤への適用を目的としたNSIADsを含有するイオン液体のスクリーニング
3. 学会等名 日本薬剤学会 第35年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷川寛明、鈴木直人、山下友季、金沢貴憲、鈴木豊史
2. 発表標題 エトドラクからなるイオン液体の経鼻投与後における鼻腔内滞留性および脳移行性
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷川寛明, 鈴木直人, 山下友季, 鈴木豊史
2. 発表標題 エトドラクへのイオン液体の適用が経鼻投与後の鼻腔内滞留性および能移行性に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬剤学会 第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福島啓太, 神谷千悠, 鈴木直人, 橋崎要, 長友太希, 鈴木豊史
2. 発表標題 多孔性シリカへのコリン/リンゴ酸 イオン液体の封入に及ぼす攪拌温度の影響
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神谷千悠, 鈴木直人, 長友太希, 鈴木豊史
2. 発表標題 粘稠性を有するイオン液体のハンドリング性の改善を目的とした多孔性シリカへの封入
3. 学会等名 第66回 日本薬学会 関東支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神谷千悠, 鈴木直人, 栃木杏友, 長友太希, 鈴木豊史
2. 発表標題 多孔性シリカへの封入によるイオン液体の粉末化に調製条件や多孔性シリカの種類が及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神谷千悠, 鈴木直人, 栃木杏友, 長友太希, 鈴木豊史
2. 発表標題 イオン液体を封入した多孔性シリカの流動性ならびに経鼻投与デバイスによる噴霧特性
3. 学会等名 日本薬剤学会第38年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 執筆者：110名、技術情報協会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 580
3. 書名 新規モダリティ医薬品のための新しいDDS技術と製剤化	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>日本大学薬学部ホームページ：科学研究補助金Case Study44  <a href="https://www.pha.nihon-u.ac.jp/research/about/activity/case-study44/">https://www.pha.nihon-u.ac.jp/research/about/activity/case-study44/</a>          日本大学薬剤学研究室ホームページ：研究テーマ：N2Bを指向した製剤設計  <a href="http://yakuzai.pha.nihon-u.ac.jp/theme/theme-02/">http://yakuzai.pha.nihon-u.ac.jp/theme/theme-02/</a></p>
---

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------