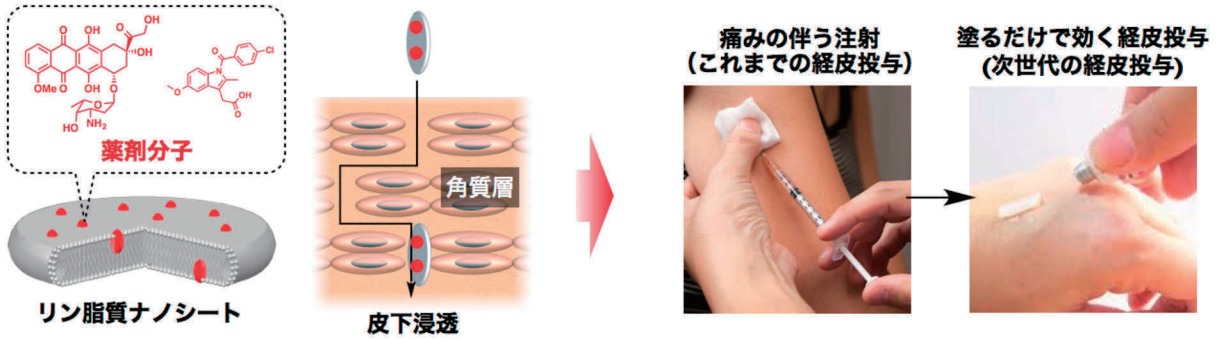
180　リン脂質ナノシートを利用した塗るだけの経皮製剤	内田　紀之

【目的】経皮薬物送達システムは皮膚組織に薬剤を浸透させることで体内に薬剤を送達する手法であり、簡便な投与法であることから、従来の経口投与や血中投与の代替法として有望視されている投与法である。これまで我々は従来の球状とは異なり、ナノシート、状を持つリン脂質集合体に着目し、その材料設計および応用を進めてきた。その中で、最近市販のアニオン性リン脂質がナノシート状の集合体を形成し、それが高い皮下浸透性を示すことを偶然発見した。本研究課題においてはリン脂質ナノシートの設計指針の確立、及び応用を目的とする。
【方法】リン脂質ナノシートに薬剤分子を混合し、超音波処理を行うことで、リン脂質ナノシート内への分子の封入を試みた。また、それを経皮投与することで、材料の皮下浸透性を評価した。
【結果】リン脂質ナノシートにレスベラトロールやピセイド、タキソールをモデル分子として上記の封入法を試みたところ、効果的にリン脂質内部に封入されることが明らかになった。また、それをラットの経皮に投与したところ、効果的な皮下浸透効果を示すことが明らかにされた。

リン脂質ナノシートを利用した経皮製剤の設計



180. リン脂質ナノシートを利用した塗るだけの経皮製剤

内田　紀之

東京農工大学 工学部 応用化学科

Key words：リン脂質，ナノシート，経皮投与，薬剤送達システム，レスベラトロール

緒　言

経皮薬物送達システムは皮膚組織に薬剤を浸透させることで体内に薬剤を送達する手法であり、簡便な投与法であることから、従来の経口投与や血中投与の代替法として有望視されている投与法である。しかしながら、皮膚組織はバリア性の高い角質層で覆われているため、ほとんどの薬剤分子は皮下注射針で投与される。一般的に、注射には痛みと針恐怖症、および意図しない損傷による感染症の伝染、という二つの大きな欠点がある。実際、成人の約 30%が針恐怖症に苦しんでいるとも言われていることに加え、アメリカでは毎年 80 万件の針による損傷が報告されている。本研究課題では塗るだけで効く次世代の経皮投与法を実現し、従来の注射による投与を刷新することを目的とする。

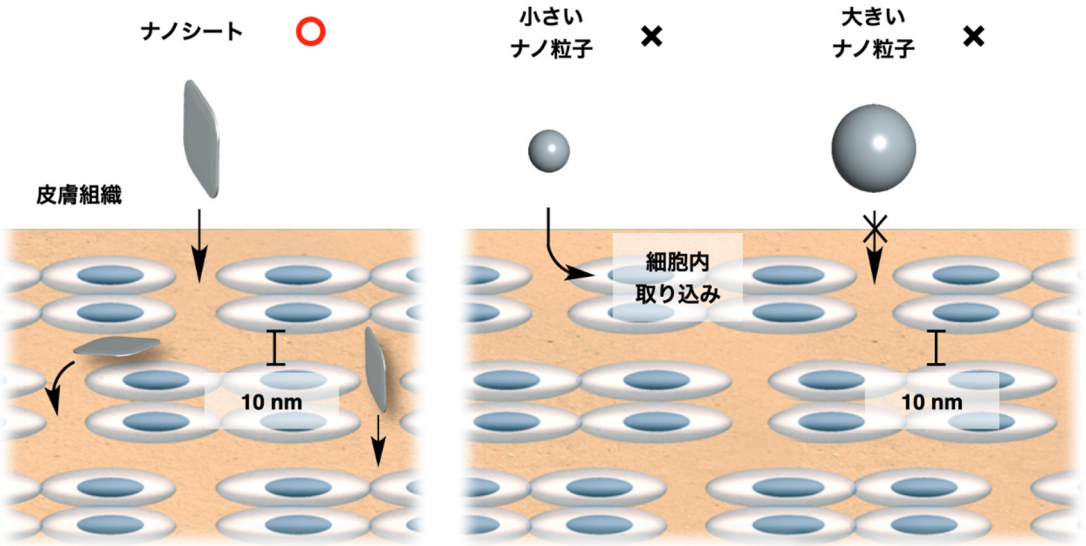


図 1.　リン脂質ナノシートの形状効果を利用した皮下浸透性
ナノシートは皮膚組織の狭い間隔よりも薄いため、高い浸透性を示す。小さいナノ粒子は皮膚表層の細胞に取り込まれ、大きなナノ粒子は皮膚組織の間隙を通過するのが困難。

これまで我々は従来の球状とは異なり、ナノシート状を持つリン脂質集合体に着目し、その材料設計および応用を進めてきた。その中で、最近市販のアニオン性リン脂質がナノシート状の集合体を形成することを偶然発見した。その発見を足がかりとして、リン脂質ナノシートの経皮浸透性を評価したところ、従来の球状のリポソームでは皮膚の角質層に阻まれて皮下に浸透しないのに対し、リン脂質ナノシートの場合は皮膚組織を透過して血中に移行するという形状依存型透過性向上効果（SEP 効果）を示すことを発見した。これはナノシートの極薄の厚みが角質層の皮膚の間隙（6～10 nm）をすり抜ける事で高い皮下浸透が実現されるためである（図 1）。本研究ではこのリン脂質ナノシートを利用した経皮薬剤送達システムの設計指針の確立を目指す。

方　法

1. 蛍光性レスベラトロール

リン脂質ナノシートへの分子封入のモデル系として化粧品成分であるレスベラトロールの封入を行なった。まず始めに経皮投与において局在を評価できるよう、蛍光性のレスベラトロールの合成を行なった図 2 は、Resveratrol-NBD および Resveratrol-Rhd B の合成経路である。まず、炭酸カリウムを含む DMF 溶媒中でレスベラトロールと N-Boc-bromoethylamine を Williamson ether 合成でカップリングさせた。50℃で 2 日間インキュベートした後、分離操作により溶媒と炭酸カリウムを除去した。

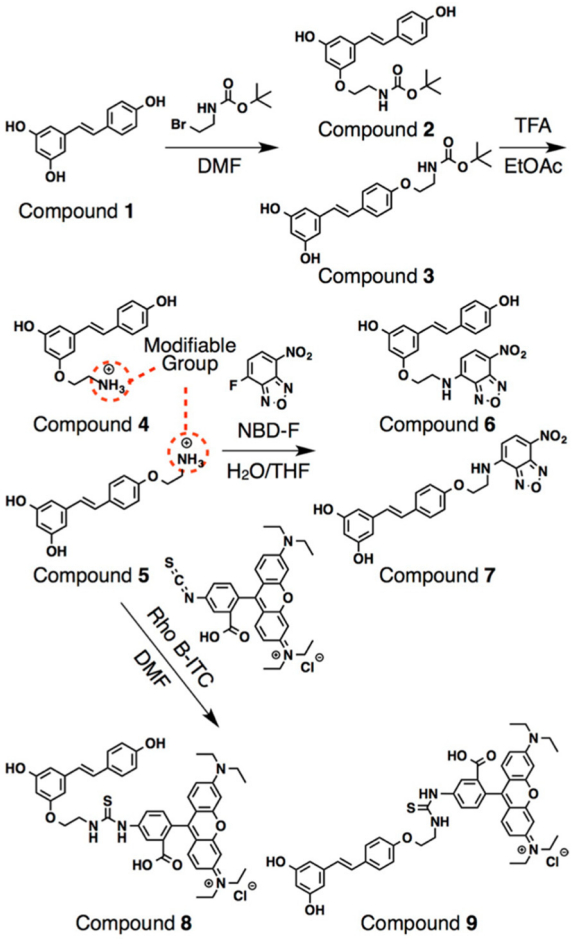


図 2. 蛍光性レスベラトロールへの合成経路
レスベラトロールを出発原料として、アミン官能基を導入し、そこへ NBD またはローダミン色素を付加させることで、NBD ラベル化レスベラトロール及びローダミンラベル化レスベラトロールを合成している。

TLC で確認したところ、反応は正常に進行していた。N-Boc-ブロモエチルアミンがレスベラトロールの異なる水酸基と反応した 2 つの位置異性体（化合物 2 および 3）が混合物に含まれていたが、得られた化合物はシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製された。第二段階として、Boc 保護基を EtOAc 中のトリフルオロ酢酸（TFA）で脱保護した。反応は速やかに進行し、分離後に Resveratrol-NH_2-HCl（com- pounds 4 and 5）を得ることができた。最終段階として、Resveratrol-NH_2-HCl を水溶液中で NBD-F と反応させ、NBD 標識レスベラトロール（Resveratrol-NBD；化合物 6 および 7）を得た（図 2）。一級アミンは、レスベラトロールに

様々なアミン反応性基を官能基化することが可能である。実際、代表的なアミン反応性官能基である Rhd B-ITC も Resveratrol-NH2 と反応し、ローダミン B 標識レスベラトロール（Resveratrol-Rhd B; compounds 8 and 9）（図 2）に成功することができた。

結果および考察

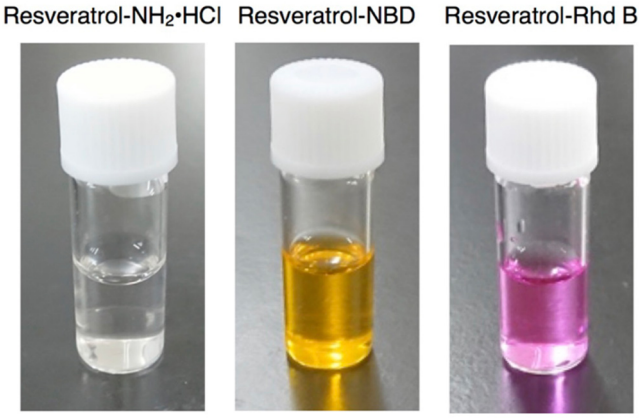


図 3. Resveratrol-NH_2-HCl（左）、Resveratrol-NBD（真ん中）、Resveratrol-Rhd B（右）の目視画像
Resveratrol-NH_2-HCl が透明な分散液であるのに対し、Resveratrol-NBD、Resveratrol-Rhd B はそれぞれ色素の修飾により溶液が着色している。

図 3 に示すように蛍光性ラベル化されたレスベラトロールは溶液中において鮮やかな色を呈し、ラベル化が成功していることが確認できた［1］。

次に、リン脂質ナノシートに封入した Resveratrol-NBD の皮膚透過性を検討した（図 4）。Franz diffusion cell 上に置いたラット皮膚組織とインキュベートした。24 時間培養後、皮膚サンプルの組織切片を作製し、蛍光顕微鏡観察を行った。その結果、コントロールと比較して、Resveratrol-NBD が角質層だけでなく表皮層まで浸透し（図 4）、強い蛍光を観察することに成功した［2］。これはナノシートという特殊な形状のナノ材料を使用することで、これまで例のない高い経皮浸透性を示す材料が作成可能であることを示しており、今後、高効率の経皮 DDS などへの応用が期待できる。

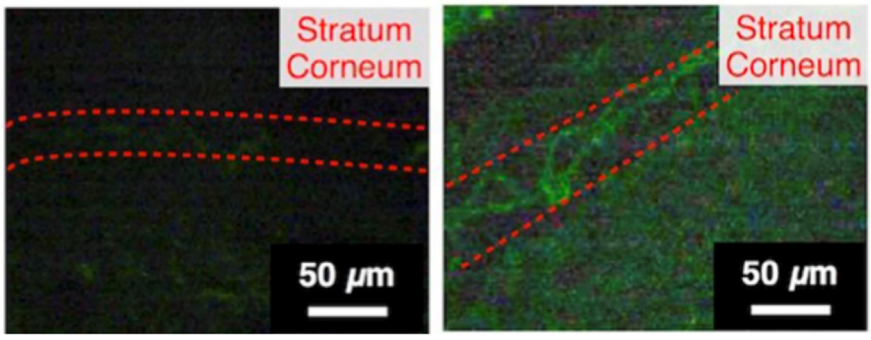


図 4. Resveratrol-NBD 内包形リン脂質ナノシートの投与前（左）と投与後（右）におけるマウス皮膚切片の顕微鏡画像
Resveratrol-NBD 内包形リン脂質ナノシートが投与された皮膚組織は Resveratrol-NBD が皮下に浸透し、その結果角質層、真皮層から緑の蛍光が観察される。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、岡山理科大学大学大学院濱田研究室との共同研究であり、この場を借りて御礼を申し上げます。また、本研究に助成頂いた上原記念生命科学財団にこの場を借りて改めて御礼を申し上げます。

文　献

1） Yanagi Y, Uchida N, Hamada H. Versatile Synthetic Route for Resveratrol Modification via Amine Functionalization. Natural Product Communications Volume 2019 14(9): 1–3 DOI: 10.1177/1934578X19876210

2） Yanagi Y, Uchida N, Shimoda K, Hamada H. Transdermal Delivery of Small-Sized Resveratrol Nanoparticles to Epidermis Using Anionic Phospholipids. Natural Product Communications Volume 15(9): 1–5 DOI: 10.1177/1934578X20951443