

Skin and Ophthalmic Tissue Disposition of Topically Applied Drugs on Eyelid Skin: Optimization of Drug Targeting to Conjunctiva and Eyeball

Gerard Lee Lo See (GKD-16-01)

ABSTARCT

Eyelid skin has gained attention as a drug delivery site for ophthalmic drugs as an alternative to conventional eye drops. The feasibility of topical application onto lower eyelid skin to deliver hydrophilic and lipophilic compounds were evaluated. Skin permeation and skin impedance were determined utilizing eyelid skin from hairless rats, as well as abdominal skin in the same animals for comparison. *In vitro* static diffusion cells were used to assess the skin permeation in order to provide key insights into the relationship between the skin sites and drugs. The obtained results revealed that drug permeation through the eyelid skin was much higher than that through abdominal skin regardless of drug lipophilicity. Specifically, diclofenac sodium salt and tranilast exhibited approximately 6-fold and 11-fold higher permeability coefficients, respectively through eyelid skin. Histomorphological evaluation revealed that eyelid skin has a thinner stratum corneum, thereby lower impedance, which could be the reason for the higher drug permeation through eyelid skin. Confocal laser scanning images revealed stronger fluorescence intensity in the skin and surrounding tissues after topical eyelid application over 8 h when compared with eye drop administration. These results suggest that lower eyelid skin is valuable as a prospective site for ophthalmic medicines.

It was previously found that the conjunctival concentration of drugs administered via eyelid skin is lower than eye drops. In the next study, the necessity for utilizing physical approaches, such as iontophoresis (IP), to promote percutaneous absorption of pilocarpine and two fluorescent dyes following topical eyelid application were investigated. *In vitro* diffusion cells were used to assess skin permeability. Moreover, *in vivo* skin permeation was conducted

to determine drug distribution in the eyeball. Seven-fold higher permeation via eyelid skin was observed compared with that without IP, indicating the usefulness of IP application. In addition, significant differences were observed in the eyeball concentrations between treatment with or without IP at 0.5 h ($p \leq 0.05$) after administration of pilocarpine. The fluorescent dyes could be observed in the eyeball after topical administration onto the eyelid skin with IP. These data suggested that a short application period of IP is effective for drug delivery into eyeballs.

Finally, to further elucidate the critical value of prolonging delivery of drugs onto the eyeball through the eyelid skin, pharmacokinetic studies of pilocarpine and tranilast, administered as eye drops and topical eyelid, were conducted. Pilocarpine concentrations in the conjunctiva and the eyeball were 11-folds lower 2 h after eye drop instillation. Furthermore, conjunctival concentration and eyeball concentration of tranilast were significantly reduced by 11-folds and 4-folds, respectively, detected 2 h after administration signifying short residence time and fast elimination rate from the site of application. Moreover, pilocarpine and tranilast plasma concentration were 12-folds and 97-folds lower, respectively, after topical application onto the eyelid skin, suggesting the ocular absorption rather than the systemic absorption. This is also evidenced by the sustained conjunctiva and eyeball concentrations of both compounds over 8 h. Pupil size reduction increases over time after topical eyelid application indicating prolonged pharmacologic effect of the pilocarpine. This confirms localized drug action with sustained release features.

Topical application onto eyelid skin serves as an alternative route of delivering ophthalmic medications and it can also be applicable in combination with other routes of delivering medications to the eye.

Keywords: Drug targeting, Eyelid skin delivery, Drug delivery, Skin

論文審査の結果の要旨

点眼剤は、長年、様々な眼疾患治療のための医薬製剤として最も広く利用され、投与の容易さおよび患者の良好なコンプライアンスのために、現在、眼科用薬剤の約 90%を占めている。しかしながら、点眼薬は、結膜嚢の容量を超えて投与することはできないため、大部分の点眼薬については、生物学的利用能および標的化能が低く、また、睡眠中の投与が事実上不可能であるなど点眼剤の利用にはいくつかの欠点がある。更に、涙液交換、鼻涙排水および瞬目反射などの解剖学および生理学的な制約によって薬物の送達および生物学的利用能の制御が妨げられるため、眼組織への薬物吸収を改善すると同時に眼科用薬物を高い標的化能で送達するための代替アプローチを探求することが必要である。

眼瞼は、結膜に近接しており、角膜よりも薬物の透過性が高いことが報告されている。結膜は眼球およびその周囲の眼組織と直接接触しているため結膜中に存在する薬物の大部分は、送達標的領域である前眼部および後眼部に分布すると予想される。加えて、経皮薬物送達は、適用部位の真下の真皮層に長時間にわたって一定の薬物濃度を維持することができると考えられる。

これらを背景として、本論文では、結膜への薬物送達において未開拓である眼瞼皮膚に着目して、点眼剤に代わる薬物適用法としての可能性について、3章にわたり論述している。

第1章では、極性の異なる6種類のモデル薬物（アンチピリン、ジクロフェナクナトリウム、ピロカルピン、アミノピリン、トラニラスト、リドカイン）についてヘアレスラットの下眼瞼皮膚を介した *in vitro* 薬物透過性および皮膚インピーダンスを調べ、同一動物の腹部皮膚と比較した。その結果、用いたすべての薬物において眼瞼皮膚を介した薬物透過性は腹部皮膚を介した場合より高いことが判明した。特に、ジクロフェナクナトリウムおよびトラニラストの眼瞼皮膚を介した透過係数は、腹部皮膚のそれよりそれぞれ約6倍および11倍の高値を示した。また、組織形態学的評価より眼瞼皮膚の角層厚は腹部皮膚のそれよりも薄いこと、また、低いインピーダンスを示すことがわかり、この違いが眼瞼皮膚を介した薬物の透過が腹部皮膚を介した場合よりも高値を示した理由であると考察した。更に、蛍光物質としてローダミン B およびフルオレセインナトリウムを眼瞼皮膚に適用後の共焦点レーザー顕微鏡像を点眼適用後と比較したところ、点眼では、適用直後に蛍光像が結膜に認められたものの、短時間で蛍光像が消失したのに対し、眼瞼皮膚適用では、8時間にわたり結膜に強い蛍光像が観察された。以上の結果より、眼瞼皮膚を介した薬物投与は、点眼に代わる眼科用薬物の投与部位として有用であることが示唆された。しかしながら、点眼剤適用の場合は投与薬物が眼球に直接送達されるのに対し、眼瞼皮膚適用後の眼球への薬物移行は、点眼剤に比べて低いと考えられるため、第2章では、眼瞼皮膚を介した眼球への薬物の経皮吸収を促進させるために物理的手法を導入し、その効果の検討を行った。

第2章では、物理的経皮促進法として知られているイオントフォoresis (IP) を用い、下眼瞼皮膚に適用したモデル薬物の皮膚透過促進効果を評価した。モデル薬物としては、緑内障治療用ムスカリン作動薬であるピロカルピンおよび蛍光物質としてローダミン B およびフルオレセインナトリウムを用い、本章では、拡散セルを用いた *in vitro* 評価に加え、眼球内の薬物分布を評価するために *in vivo* 皮膚透過試験も行った。その結果、ピロカルピンを眼瞼皮膚適用短時間後の IP 負荷 (0.3 mA/cm^2) は、IP 未負荷に比べ約7倍高いピロカルピンの皮膚透過が確認された。その透過性は、IP 負荷による腹部皮膚に比べ、約1.4倍高かった。さらに、ピロカルピンを眼瞼皮膚に適用後に IP 負荷したところ、投与0.5時間

後に IP 未負荷時と比べてピロカルピンの眼球中濃度が有意に高かった。さらに、ローダミン B およびフルオレセインナトリウム投与による眼球中薬物分布を観察したところ、点眼の場合は、0.5 時間後に眼球中に観察された蛍光像が投与 8 時間後には蛍光強度が減少したのに対し、蛍光物質を眼瞼皮膚に適用後に IP 負荷したところ、両蛍光物質ともに投与 8 時間後においても強い蛍光強度が観察された。以上の結果より、IP 適用で眼球へ薬物を送達できることを明らかとなり、IP 負荷が有用な眼瞼皮膚透過促進方法であると結論づけた。

第 3 章では、下眼瞼皮膚を通して眼球へ送達されたピロカルピンおよびトラニラストの眼組織濃度の時間推移を評価した。適用部位からの速やかな消失がみられる点眼剤適用に比べて作用の持続性が期待される眼瞼皮膚適用では、ピロカルピン適用後 4 時間で結膜濃度および眼球中濃度がともに最高となり、8 時間後のピロカルピンの結膜濃度および眼中濃度は、点眼適用時に比べそれぞれ 80 倍および 8 倍であった。また、トラニラストの眼瞼皮膚適用では、適用 6 時間で結膜濃度および眼中濃度がともに最高となり、8 時間後のトラニラストの結膜濃度および眼中濃度は、点眼適用時に比べそれぞれ 216 倍および 18 倍であった。一方、眼瞼皮膚適用時のピロカルピンおよびトラニラストの血漿中濃度は、点眼時と比較して著しく低値を示した。さらにピロカルピン投与後の薬理的効果を評価したところ、点眼では投与後 1 時間で瞳孔径の減少が最大となり、その後の効果は経時的に減少したのに対し、ピロカルピンを眼瞼皮膚に適用した場合は、8 時間にわたり薬理的効果が維持されることが確認された。

これらの結果より、眼瞼皮膚適用は、点眼に比べ眼領域への薬物送達の時間推移が拡張され、また結膜および眼球中の薬物濃度は高値を示すことが明らかとなった。さらに眼瞼皮膚適用における薬物の血漿中濃度が低いことから、眼瞼皮膚適用は全身性というよりはむしろ局所での作用を期待したものとすべきことが明らかとなった。

以上、本研究は、眼瞼皮膚への局所適用が点眼に代わる眼科用薬物の送達法として有用であることを示したものであり、新規剤形の開発において極めて有益な情報を提供するものである。新規性の高いことが認められる本論文は、研究の意義に加えて、独創性および有用性の観点からも意義深く、本薬学研究科課程による博士（薬科学）の論文として十分に値するものであると判断した。