

親水性シクロデキストリンによるインスリングルルギンの製剤特性の改善に関する基礎的研究

生命薬科学専攻 医療薬学講座 製剤設計学分野 上畑 恵子

インスリングルルギン ($C_{267}H_{404}N_{72}O_{78}S_6$ 、分子量 6063) は、明瞭な血糖値のピークを示さない一日一回投与の基礎インスリンとして 2000 年に上市された遺伝子組換えヒトインスリンアナログであり、持続性インスリン製剤においてトップの販売シェアを占めている。しかし、その効果をさらに延長させ、また、時間・血糖降下作用プロファイルをより平坦にすることができれば、画期的な基礎インスリン製剤になり得る。さらに、インスリングルルギンは、特許消失後のバイオ後続品の上市を念頭においたライフサイクルマネジメントが望まれており、新たな付加価値の創出に迫られている。

一方、当研究室ではこれまで、親水性 β -シクロデキストリン (β -CyD) 誘導体が、ウシインスリンの凝集体形成や容器への吸着を抑制し、さらに、その血糖降下作用を持続化することを報告した。しかし、CyD を用いて、インスリンアナログの製剤特性を改善した報告はほとんどない。

このような背景のもと、本研究では親水性 β -CyD 誘導体のうち、注射剤としての応用実績があるスルホブチルエーテル β -CyD (平均置換度 (DS) 3.9 の SBE4- β -CyD および DS 6.5 の SBE7- β -CyD) ならびに、その応用が期待されている硫酸エステル β -CyD (Sul- β -CyD, DS 14.7) およびマルトシル β -CyD (G_2 - β -CyD, DS 1.0) を用いて、インスリングルルギンの製剤特性の改善を行うことを目的とした。以下に本研究で得られた知見を総括する。

- 1) 蛍光スペクトルを用いた検討より、SBE4- β -CyD、SBE7- β -CyD、Sul- β -CyD および G_2 - β -CyD はいずれもインスリングルルギンの芳香族アミノ酸残基と相互作用することが示唆された。また、円二色性 (CD) スペクトルの結果より、Sul- β -CyD はインスリングルルギンの自己会合を促進すること、一方、 G_2 - β -CyD はインスリングルルギンの自己会合を抑制し、かつ単量体および二量体の割合を増加させることが示唆された。SBE- β -CyDs は、インスリングルルギンの CD スペクトルに大きな影響を与えなかった。
- 2) SBE4- β -CyD、SBE7- β -CyD、Sul- β -CyD および G_2 - β -CyD は、pH 9.5 リン酸緩衝液中におけるインスリングルルギンの溶解度を有意に増大させた。また、pH 7.4 リン酸緩衝液中では、SBE4- β -CyD、Sul- β -CyD および G_2 - β -CyD において、顕著な溶解促進効果が得られた。
- 3) 限外濾過実験において、インスリングルルギンの膜透過率は、 G_2 - β -CyD < SBE7- β -CyD < SBE4- β -CyD の順で増大し、これら β -CyD 誘導体は、インスリングルルギンの可溶性多量

体の解離を促進することが示唆された。一方、Sul- β -CyD はインスリングルルギンの膜透過を抑制し、その自己会合を促進させることが示唆された。

- 4) インスリングルルギンの等電点沈殿からの溶出は、SBE4- β -CyD、SBE7- β -CyD および G₂- β -CyD 存在下、有意に増大した。特に、SBE4- β -CyD 存在下でその効果は顕著であった。一方、Sul- β -CyD 系では、等電点沈殿からのインスリングルルギンの溶出を抑制する傾向が認められた。
- 5) SBE4- β -CyD、SBE7- β -CyD、Sul- β -CyD および G₂- β -CyD は、いずれもトリプシンによるインスリングルルギンの加水分解を顕著に抑制した。
- 6) SBE4- β -CyD は、インスリングルルギンの最高血清濃度到達時間 (T_{max}) や最高血清濃度 (C_{max}) に大きな影響を与えなかったものの、投与 2 および 4 時間後の血清中インスリン濃度を増大させた。さらに、血糖値-時間曲線下面積 (AUC_G) はインスリングルルギン単独と比較して有意に増大したことから、SBE4- β -CyD はインスリングルルギンの吸収性や血糖降下作用を増大させることが示唆された。
- 7) SBE7- β -CyD はインスリングルルギンの薬物血清中濃度-時間曲線下面積 (AUC) および平均滞留時間 (MRT)、さらに、最大血糖降下作用到達時間 (T_{nadir}) を有意に増大させた。すなわち、SBE7- β -CyD は、インスリングルルギンの吸収性を増大させ、また、その効果を遅延させることが示唆された。
- 8) G₂- β -CyD は、インスリングルルギンの T_{max}、AUC および MRT を有意に増大させた。さらに、G₂- β -CyD 存在下、インスリングルルギンは、投与 1 時間以降 12 時間後まで、ほぼ平坦な血糖値の推移を示した。

以上の結果より、今回用いた 4 種類の β -CyD 誘導体は、インスリングルルギンの各種製剤特性を改善可能であることが示唆された。特に、SBE4- β -CyD や SBE7- β -CyD はインスリングルルギンの吸収性の改善や遅延放出を行う際に有用であり、また、G₂- β -CyD はインスリングルルギンのほぼ平坦な時間-血糖降下作用プロファイルを可能にすることが示唆された。このように、各種親水性 β -CyD 誘導体を使い分けることにより、目的に応じてインスリングルルギンの時間-血糖降下作用プロファイルを改善することが可能であることが示唆された。本研究で得られた知見は、タンパク質性バイオ医薬品の製剤特性の改善に有用な基礎的資料になるものと考えられる。