

緑内障治療薬 CS-088 の角膜透過性に及ぼす自己会合特性

および EDTA とホウ酸添加による相乗的吸収促進機構の解明

氏名 菊地 崇行

緑内障治療薬 CS-088 は高濃度側では自己会合により角膜透過が飽和することが *in vitro* 角膜透過実験により確認された。そのため、適切な処方設計および吸収促進剤の添加が必要となった。検討の結果、EDTA とホウ酸を同時に添加することにより相乗的に角膜透過が促進されることが明らかとなった。著者は 3 章にわたり、CS-088 の自己会合特性と角膜透過性との関連、EDTA 及びホウ酸の相乗的吸収促進効果、EDTA 及びホウ酸の相乗的吸収促進機構について検討し以下の結論を得た。

第 I 章 CS-088 の自己会合特性と角膜透過性との関連

表面張力測定、疎水性プローブの吸光度解析により、製剤開発の初期段階で推察された CS-088 の自己会合性が明らかとなった。CS-088 の c.m.c は約 10 mg/mL であることが示された。光散乱解析および ¹H-NMR 解析から、CS-088 は水溶液中で 5 量体を形成することが明らかとなった。特に、¹H-NMR 解析からは 2 量体の存在も確認された。Stokes-Einstein 方程式より算出された流体力学半径は 2 量体、5 量体でそれぞれ 0.87 nm、1.16 nm であった。CS-088 濃度上昇にともなう ¹H-NMR ケミカルシフト変化は、ビフェニル基プロトンで顕著であったことから、ビフェニル基間の疎水的相互作用が主要な役割を示すことが明らかとなった。又、会合体は 2 種の切断試薬により単量体化されたことから、会合体の安定化には疎水結合だけでなく、水素結合も関与していることが明らかとなった。これに対し、NaCl 存在下では 5 量体よりも大きい会合体の形成が認められた。粒度分布測定より得られた平均粒子径は ¹H-NMR 解析結果と一致した。そのため、

CS-088 の自己会合形式は 2 量体形成を介して 5 量体に到る相分離形式であることが明らかとなった。

ウサギ摘出角膜および人工膜を用いた透過実験から、自己会合による粒子径の増大により角膜透過性が低下することが明らかとなり、自己会合が薬理効果にも影響することが示された。

以上、種々の測定方法を用いることにより、CS-088 の自己会合特性および角膜透過性との関連を明らかにすることができた。薬物の自己会合は製剤設計のみならず薬効への影響が予想されることから、自己会合特性の解明は CS-088 を点眼製剤として開発する上で重要な知見になるものと思われる。

第 II 章 EDTA 及びホウ酸の相乗的吸収促進効果

In vitro 角膜透過実験において添加剤のスクリーニングを行った結果、EDTA およびホウ酸が CS-088 の角膜透過を相乗的に促進することが明らかとなった。EDTA、ホウ酸の効果は濃度依存的であり、0.05 mg/mL、10 mg/mL 濃度では CS-088 の角膜透過速度は約 1.6 倍に促進された。EDTA/ホウ酸は FD-4K の透過ならびに上皮膜抵抗には影響しなかったことから、細胞間隙経路には作用しないことが示された。上皮剥離により、透過速度が約 24 倍となったことから水溶性薬物である CS-088 の角膜透過においては、脂溶性の上皮透過が律速になると考えられる。上皮剥離角膜においては EDTA/ホウ酸の効果を観察されなかった。これにより、EDTA/ホウ酸の作用部位は上皮であることが示された。以上の結果より、EDTA/ホウ酸は CS-088 の経細胞的な角膜透過を促進していることが示された。

In vivo 高眼圧ウサギモデルを用いて点眼投与時の眼圧低下効果を評価したところ、EDTA/ホウ酸添加により効果が相乗的に増強された。この効果は、*in vitro* 透過実験から得られた結果と良く一致しており、*in vitro* での評価の妥当性が確認された。

第Ⅲ章 EDTA 及びホウ酸の相乗的吸収促進機構の解明

薬物側および膜側への EDTA/ホウ酸の効果を調べた結果、薬物側の物理化学的性質（分配係数および平均粒子径）には影響しないことが示された。一方、膜側の要因であるリポソームのゼータ電位は EDTA/ホウ酸によって殆ど変化しなかったのに対し、膜流動性は EDTA/ホウ酸の濃度依存的に高まることが明らかとなった。これらの結果より、EDTA/ホウ酸による吸収促進作用は膜流動性の上昇に伴う、膜抵抗性の低下によることが示された。リポソーム膜内への CS-088 透過が EDTA/ホウ酸により促進されたことから、EDTA/ホウ酸は経細胞的な生体膜透過を促進していることが裏付けられた。

EDTA との相乗効果はホウ酸に特異的に認められ、他の緩衝剤では粒子径増大により透過速度が低下した。本処方の吸収促進効果は他薬剤においても認められた。本製剤は既に臨床試験により安全性が確認されていることから、EDTA/ホウ酸を吸収促進剤として他薬剤に適用できることが期待できる。