

different solute miscibility in the freeze-concentrated phases surrounding ice crystals.^{21,22} Single transitions that shifted between T'_g of the component solutes (dextran 1060 and PVP 10,000 or dextran 35,000) indicated their freeze-concentration into the same nonice-phase (A). Two transitions at temperatures close to the T'_g of the individual polymers indicated freezing-induced separation of PVP 29,000 and dextran 35,000 into different concentrated phases predominant in one of the polymers (B). The transition temperatures of the PVP-rich (T'_{g1} , lower temperature) and dextran-rich (T'_{g2} , higher temperature) phases rose gradually with the increase in the dextran ratio. The polymer mixture also showed the two T'_g s in freezing from more dilute aqueous solutions (10 mg/mL each, data not shown).²¹ Single T'_g transitions observed in some frozen solutions containing predominantly one of the polymers (PVP 29,000 or dextran 35,000, $\geq 90\%$, w/w) suggested their miscibility in the freeze-concentrated phase and/or an inapparent transition of the minor phase. Aqueous

two-layer formation of the PVP 29,000 and dextran 35,000 mixture solutions was observed at above certain polymer concentrations, dependent on the temperature (120 mg/mL each at room temperature, 80 mg/mL each at -10°C).^{21,24,31} Apparent clouding was not observed in the cooling process of the lower concentration polymer mixture solutions (50 mg/mL each) on the lyophilizer shelves. The addition of 200 mM NaSCN merged the two T'_g s, indicating mixing of the polymers in the frozen solutions.²²

Freeze-Drying Microscopy

We studied the collapse phenomena of the frozen polymer solutions by FDM (Fig. 2).¹²⁻¹⁶ Scanning of the frozen solution containing PVP 10,000 and dextran 1060 (50 mg/mL each, A-C) under vacuum showed collapse phenomena typical for the miscible noncrystalline solutes. An advance of ice sublimation on the upper left portion of the image left a dark structurally ordered dried solid layer up to a certain

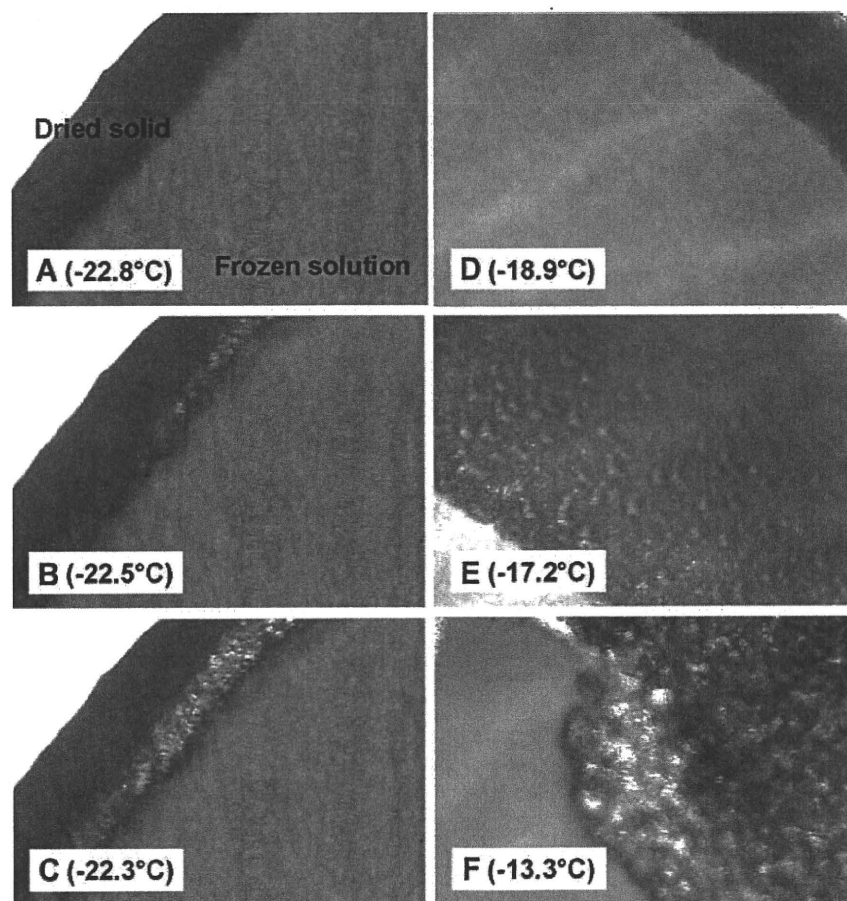


Figure 2. Freeze-drying microscopy images of frozen solutions containing PVP 10,000 and dextran 1060 (A-C) and PVP 29,000 and dextran 35,000 (D-F) (50 mg/mL each) obtained at different temperatures. The frozen solutions were scanned at $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$ under reduced pressure (0.097 Torr).

temperature (A). The appearance of translucent dots behind the sublimation front suggested the onset of physical collapse (T_c , B). Further heating of the frozen solution induced intensive loss of the structure in the region (C). The frozen solutions containing PVP 29,000 and dextran 35,000 (50 mg/mL each) also showed an ordered dried region at the lower temperature (D). The emergence of translucent dots, which indicates the onset of collapse, was rather unclear in the phase-separating frozen polymer solution (E). The ice sublimation advanced, leaving a reticulate dried region for several degrees, before significant deterioration of the solid structure (F). The temperatures of the translucent dot emergence and transition to the large structural change were assigned as T_{c1} and T_{c2} in this study.

Figure 3 shows the relationship between the polymer compositions and the T_c s of the frozen solutions obtained by the FDM analysis. The thermal transition temperatures (T'_g) are also included in the figure for comparison. Each polymer used in the study showed an apparent collapse at a temperature (PVP 10,000: -21.7°C , PVP 29,000: -19.4°C , dextran 1060: -19.1°C , dextran 35,000: -10.3°C)

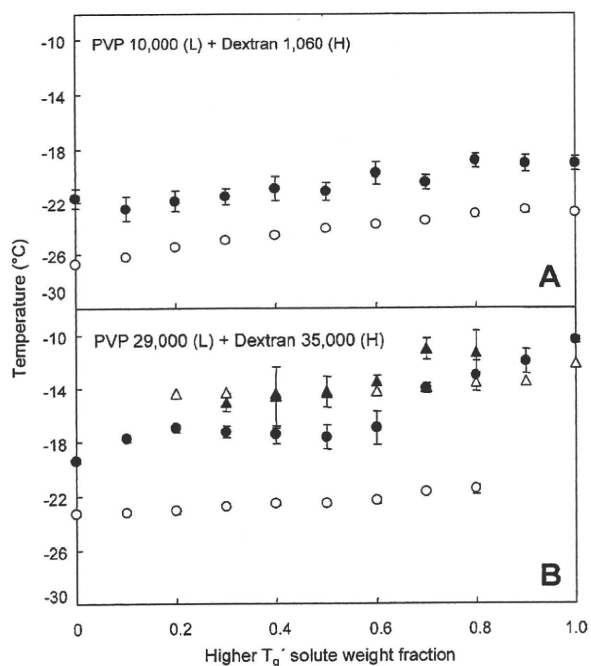


Figure 3. Collapse temperatures of frozen solutions containing PVP 10,000 and dextran 1060 (A) and PVP 29,000 and dextran 35,000 (B) (100 mg/mL total) obtained by freeze-drying microscopy. Each symbol denotes the average \pm SD ($n = 3$) of the collapse onset temperature (T_c , T_{c1} : \bullet) and the second collapse temperature (T_{c2} : \blacktriangle). Thermal transition temperatures of the corresponding frozen solutions (T'_g , T'_{g1} : \circ , T'_{g2} : \triangle) are included for comparison.

several degrees (2.9 – 5.1°C) higher than the corresponding T'_{g1} obtained by thermal analysis. The phase-separating frozen PVP 29,000 and dextran 35,000 solutions showed collapse onset (T_{c1}) above the T'_g . Some frozen solutions also showed transition to the severe structural change (T_{c2}). There were large shifts in the collapse temperatures at certain (between 60 and 70 mg/mL) dextran concentration ratios.

Experimental Freeze-Drying

Freeze-drying of the polymer mixture solutions at different shelf temperatures (-32 to -12°C) during the primary drying segment resulted in collapsed or cake-structure solids (Fig. 4). The miscible solute combinations (dextran 1060 and PVP 10,000 or dextran 35,000) showed significantly different solid structures depending on the shelf temperatures below (cake-structure) and above (collapsed solid) their composition-dependent T'_{g} s during primary drying. No difference was observed in the appearance of the solids freeze-dried at several positions on the shelves. The slower primary drying process carried out at higher chamber pressures kept the difference between the designated shelf temperatures and those of products within 2°C (data not shown).⁵ The usual primary drying process at reduced pressures should significantly lower the product temperature by faster ice sublimation. Limitations with regard to controlling the pressure of the system made it difficult to appropriately keep the product temperatures above -12°C in this study.

The phase-separating polymer combination (PVP 29,000 and dextran 35,000) also retained the cake structure in freeze-drying at temperatures below both of the T'_{g} s ($< -24^\circ\text{C}$). Freeze-drying of the polymer combinations at temperatures between the two T'_{g} s (-22 and -14°C) resulted in apparently different solid structures depending on the main polymer component in the initial solutions. Figure 5 shows the typical appearance of the lyophilized solids containing PVP 29,000 and dextran 35,000 obtained at a primary drying temperature (-16°C). The solutions containing more than 50 mg/mL dextran 35,000 were dried as cake-structure solids without apparent volume change. Some of the cake-structure polymer mixture solids (e.g., 50–70 mg/mL dextran 35,000) freeze-dried at -20 to -14°C showed a coarse surface texture compared to those dried at -32°C (data not shown). In contrast, the mixtures containing a higher concentration ratio of PVP 29,000 lost their cylindrical structure during primary drying between -22 and -14°C . Colyophilization with NaSCN induced overall collapse at temperatures slightly higher than the single T'_g of each mixture.

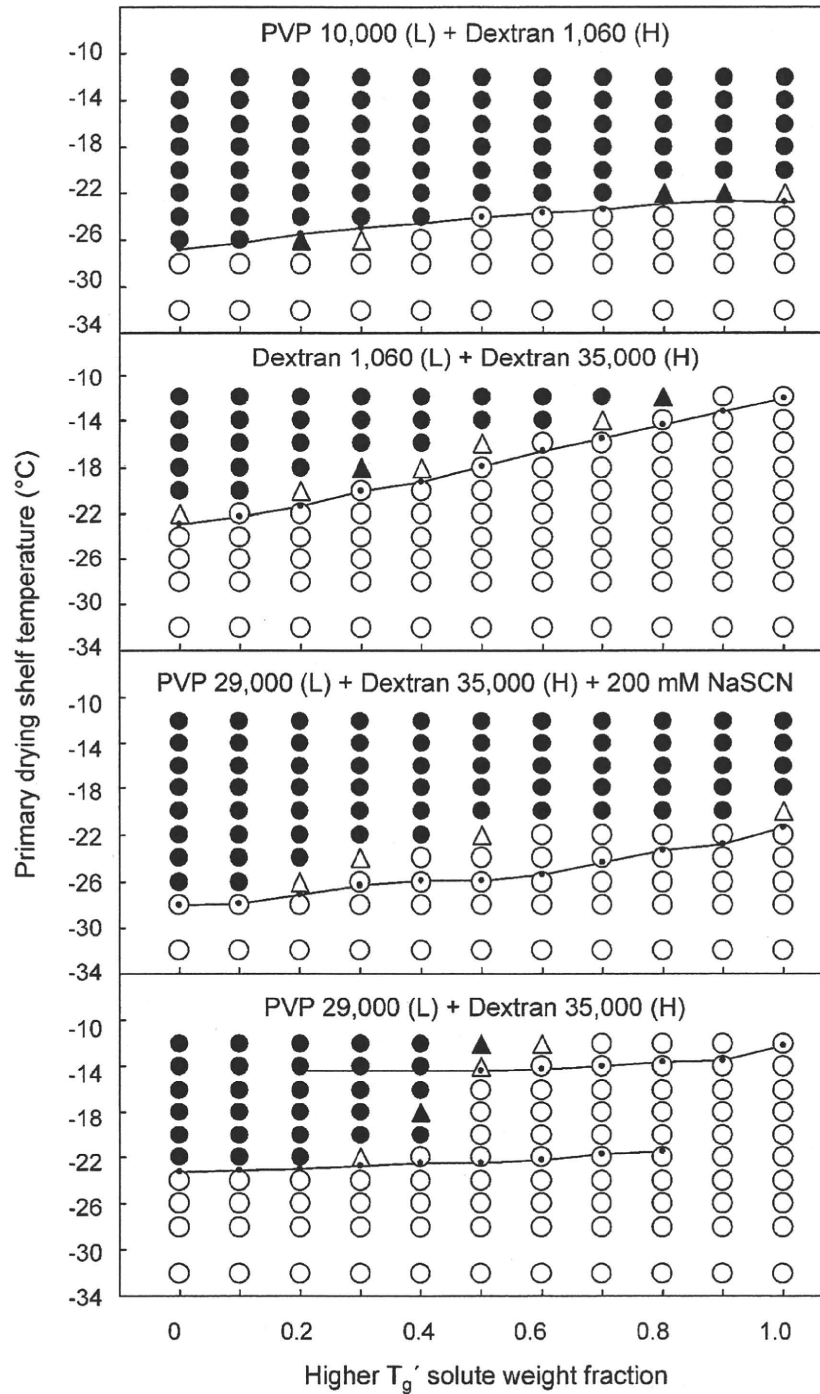
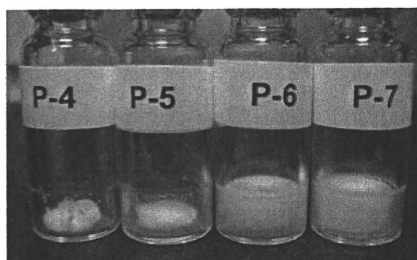


Figure 4. Structure of polymer mixture solids freeze-dried at different temperatures. The initial aqueous solution contained solutes that have lower (L) and higher (H) intrinsic transition temperatures (T_g'). The symbols denote a cake-structure solid (○), slightly shrunk cake (Δ), shrunk cake (▲), and collapsed solid (●). Thermal transition temperatures of the corresponding frozen solutions (T_g' , T_{g1}' , T_{g2}') are plotted as small dots and lines.



| (mg/ml) | | | | |
|----------------|----|----|----|----|
| PVP 29,000 | 70 | 60 | 50 | 40 |
| Dextran 35,000 | 30 | 40 | 50 | 60 |

Figure 5. Images of freeze-dried solids containing PVP 29,000 and dextran 35,000 obtained at a shelf temperature (-16°C) during the primary drying process.

Scanning Electron Microscopy Analysis of Freeze-Dried Solids

Figure 6 shows SEM images of the polymer solids freeze-dried at different temperatures. Freeze-drying of solutions containing PVP 29,000, dextran 35,000, or their mixture at temperatures below all the T'_{g} s (-32°C) resulted in microporous cake-structure solids with a fine-edged local structure. Primary drying at the higher shelf temperature (-16°C) did not affect the morphology of the cake-structure dextran 35,000 solid. In contrast, the high primary drying temperature induced both physical collapse and microscopic structure changes of PVP 29,000. The polymer mixture dried at -16°C showed a round-shaped

domain structure, although the cylindrical solid retained the volume of the original solution, which strongly suggested microscopic collapse in the primary drying at temperatures between the two T'_{g} s. No apparent difference in the amount of residual water was observed in these polymer solids ($<1\%$ (w/w), data not shown).

DISCUSSION

The results indicated the relevance of characterizing frozen solutions and freeze-dried solids in the formulation and process development of multicomponent lyophilized pharmaceuticals. Availability of the various molecular weight polymers and their apparent thermal transitions made the PVP and dextran mixture an excellent model to study their miscibility in frozen solutions. Thermal analysis of frozen solutions showed different miscibilities of PVP and dextran depending on their molecular size and concentration ratios.^{18–21} The large PVP and dextran molecules were freeze-concentrated into different phases that contain specific ratios of a major solute and a minor counterpart component, as has been reported previously in aqueous two-layer systems.^{21,24} The absence of apparent clouding before ice formation and the two T'_{g} s also observed in freezing a lower concentration initial solution (10 mg/mL each) indicated that the increased solute concentrations due to ice growth, rather than the lower

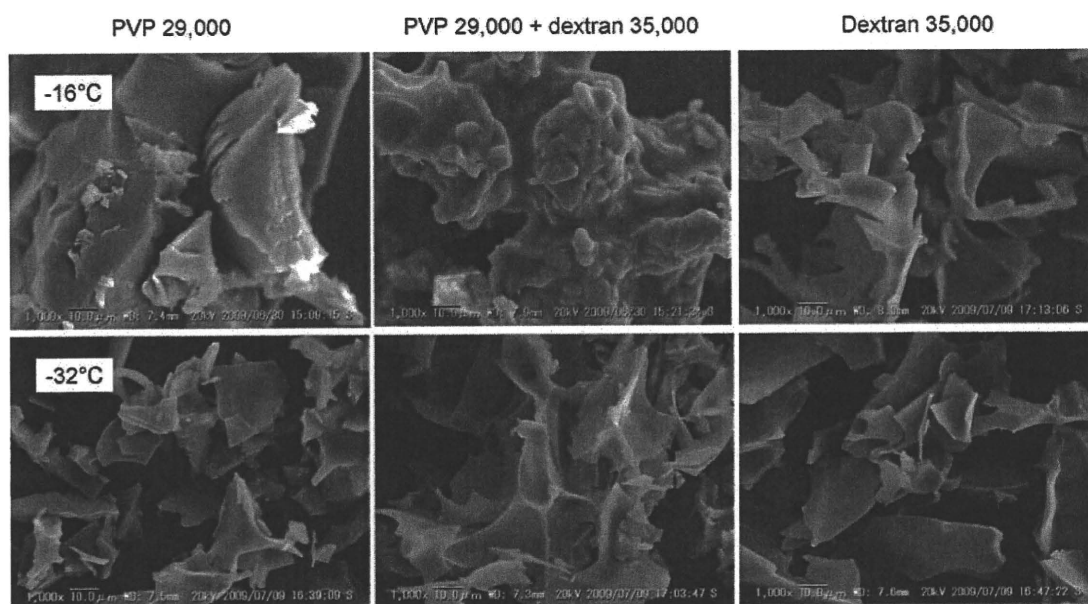


Figure 6. Scanning electron micrographs of solids containing PVP 29,000, dextran 35,000, and their mixture (total 100 mg/mL) obtained by freeze-drying at two primary drying temperatures (-16 and -32°C).

temperatures, were the primary cause of the immiscibility in frozen solutions.²² Polymers dominant in one of the components may remain in the same concentrated phase. Thermal analysis also showed mixing of smaller PVP and dextran molecules in the frozen solutions. Reported aqueous two-layer formation in response to various polymer combinations, including proteins and polymer excipients, suggests possible component immiscibility in their frozen solutions caused by the thermodynamically unfavorable interactions and excess concentrations.^{25,26} The various levels of solute miscibility in the frozen solutions should affect the quality of lyophilized pharmaceutical formulations in various ways.¹⁹ Limited mobility of solute molecules during appropriate freeze-drying process would retain their varied miscibility in the frozen solutions.³²

The miscible and immiscible solute combinations showed different propensities to collapse during experimental freeze-drying at various shelf temperatures. Maintaining the frozen solution at temperatures slightly lower than the T_c (or T'_g) during the primary drying, which allows a higher ice sublimation speed and a rigid freeze-concentrated phase, is a widely accepted means of obtaining cake-structure amorphous solids from single-solute or miscible multisolute aqueous frozen solutions.^{1,5,6,8} The collapse onset temperatures (T_{cs}) of the frozen miscible polymer solutions were observed at temperatures several degrees higher than the corresponding T'_{gs} .^{12,16,30} The high solute concentrations that increase the solid density and technical difficulties in distinguishing collapse onset in the FDM analysis may partially explain the large difference between the T'_{gs} s and T_{cs} . Various other factors (e.g., apparatus, scanning speed) also affect the T_{cs} .¹⁶

The phase-separating larger polymer mixtures showed more complicated collapse phenomena that depend on the component composition. Lyophilization without overall collapse is one of the prerequisites for the multiphased formulations containing highly potent and structurally fragile active ingredients and/or delivery carriers. The schematic relationship between the solute composition (PVP 29,000 and dextran 35,000), the transition temperatures (T'_g), and their physical integrity during lyophilization at various primary drying temperatures is shown in Figure 7. The frozen polymer solutions showed two T'_{gs} s at widely varied concentration ratios. It is reasonable to suppose that rigid amorphous freeze-concentrated phases retain their local morphology and overall cake structure following primary drying below all the T'_{gs} s. In contrast, the uniformly lower viscosities of the separated phases at the product temperatures above all the T'_{gs} s should induce a significant collapse of materials during the primary drying process.

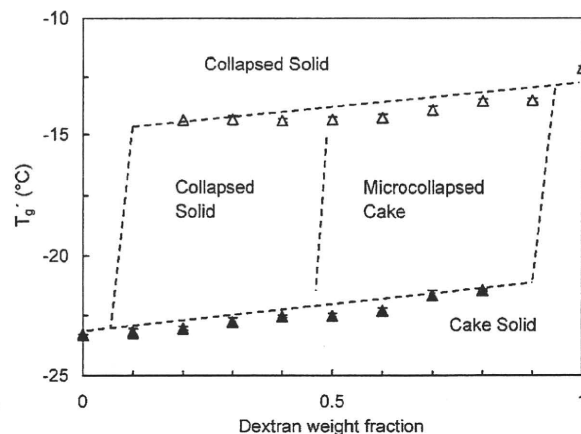


Figure 7. Schematic relationship between the component composition, transition temperature (T'_g), and structural integrity of freeze-dried phase-separating systems containing PVP 29,000 and dextran 35,000.

The occurrence of microcollapse (microscopically disordered cylindrical cake-structure solids) in the primary drying of dextran-rich frozen solutions at shelf temperatures between the two T'_{gs} s (i.e., microcollapsing window) should be of particular interest with regard to freeze-drying of the phase-separating systems. Different local viscosities of the separated polymer phases in this temperature range should induce microcollapse or overall collapse depending on the quantitative and dynamic balance of the phases at the drying interface. The mechanism of the microcollapse phenomena observed in multiphased polymer systems should be different from that of the partial collapse that occurs during freeze-drying of some single-solute and miscible multisolute systems in their intermediate viscosity state near the single T'_{gs} , although both can induce locally altered structures. The phase-separating polymer system showed spreading of the reticulate microcollapsed dried region following collapse onset (T_{c1}) for wide temperature ranges (1.8–3.5°C in the PVP 29,000 and dextran 35,000 mixture) before the severe structural change (T_{c2}) in the FDM heating scan. The margin between the two temperatures should vary depending on the T'_{gs} s of the particular system. It is plausible that the local structural change starts at temperatures lower than the observed collapse onset (T_{c1}). In contrast, the single-solute and miscible multipolymer systems showed intense structural change immediately after the collapse onset.

The polymers that form a concentrated higher T'_g phase should contribute to the formation of microcollapsed solids in a manner similar to that of crystallizing solutes.²⁸ Quantitative advantage of the dextran-rich phase should allow the microscopic structure change of the higher fluidity PVP-rich

phase on the rigid microporous cake-structure matrix during primary drying between the two T'_{gs} . In contrast, insufficient physical intensity of a system dominant in PVP should induce the overall structural collapse from the ice sublimation front. Changes in this balance may explain the large T_c shift observed at a particular dextran concentration ratio. Limited viscosity changes in the coexisting freeze-concentrated phases between the two T'_{gs} would explain the similar structure of the particular composition solids lyophilized at the temperature range. Decreasing viscosities of the matrix above the higher T'_{gs} (amorphous solute) or T_{eu} (crystalline solute) should lead to overall collapse during the primary drying process.

The phase-separating multisolute frozen solutions provide several options in the formulation and process design that affect the efficiency and robustness of the lyophilization cycle, as well as the product quality. Primary drying at temperatures lower than the T'_{gs} of all phases is the conventional method for ensuring better product quality at the expense of a longer segment time. Choosing the formulation and process parameters that results in amorphous microcollapsed solids is a promising strategy for achieving faster ice sublimation and cake-structure appearance. Some lower T'_{gs} pharmaceutically active ingredients could be lyophilized in the microcollapsed state by adding a phase-separating high- T'_{gs} matrix polymer (e.g., dextran). The microcollapse, however, can affect the quality of pharmaceutical formulations either directly (e.g., damage higher order structures of biomacromolecules) or indirectly (e.g., reduced storage stability by higher residual water contents) as reported in the collapse of whole systems.^{5,33} The effects of microcollapse and their acceptability are interesting topics that require further study.

Understanding the complex physical behavior of phase-separating frozen solutions is relevant for the formulation and process optimization of various lyophilized pharmaceuticals.^{13–15} Some polymer excipients (e.g., PVP) protect proteins directly (e.g., reduce freezing-induced oligomer dissociation³⁴) and indirectly (e.g., reduce chemical degradation by raising glass transition temperature of colyophilized disaccharide-based solids¹) during the process and storage. Further studies that clarify phase behavior of the complex systems are required for rational design of the polymer-containing protein formulations since many frozen protein solutions show only unclear T'_{gs} transition in thermal analysis. Similar approach would be applicable to some freeze-dried suspension formulations that form concentrated medium and particle phases in frozen solutions. Monitoring of various changes during freeze-drying by appropriate process analytical technology (PAT) tools (e.g., measurement of residual ice by Raman

spectroscopy) should also assist in the implementation of robust freeze-drying cycles.^{35–38}

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by the Japan Human Sciences Foundation (Research on Publicly Essential Drugs and Medical Devices, KHB1006), the Japan Society for the Promotion of Sciences (Scientific Research C, #19590044), and the Promotion and Mutual Aid Corporation for Private Schools of Japan (Science Research Promotion Fund).

REFERENCES

1. Nail SL, Jiang S, Chongprasert S, Knopp SA. 2002. Fundamentals of freeze-drying. *Pharm Biotechnol* 14:281–360.
2. Tang X, Pikal MJ. 2004. Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: Practical advice. *Pharm Res* 21:191–200.
3. Carpenter JF, Chang BS, Garzon-Rodriguez W, Randolph TW. 2002. Rational design of stable lyophilized protein formulations: Theory and practice. *Pharm Biotechnol* 13:109–133.
4. Mehnert W, Mäder K. 2001. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Adv Drug Deliv Rev* 47:165–196.
5. Chang BS, Patro SY. 2004. Freeze-drying process development for protein pharmaceuticals. In: Costantino HR, Pikal MJ, editors. *Lyophilization of biopharmaceuticals*. Arlington: American Association of Pharmaceutical Scientists, pp 113–138.
6. Akers MJVV, Stickelmeyer M. 2002. Formulation development of protein dosage forms. *Pharm Biotechnol* 14:47–127.
7. Kuu WY, Hardwick LM, Akers MJ. 2005. Correlation of laboratory and production freeze drying cycles. *Int J Pharm* 302: 56–67.
8. Franks F. 1990. Freeze-drying: From empiricism to predictability. *Cryo-Letters* 11:93–110.
9. Luyet BJ. 1939. The devitrification temperatures of solutions of a carbohydrate series. *J Phys Chem* 43:881–885.
10. MacKenzie AP. 1971. Non-equilibrium freezing behaviour of aqueous systems. *Phil Trans R Soc Lond B* 278:167–189.
11. Lee MK, Kim MY, Kim S, Lee J. 2009. Cryoprotectants for freeze drying of drug nano-suspensions: Effect of freezing rate. *J Pharm Sci* 98:4808–4817.
12. Pikal MJ, Shah S. 1990. The collapse temperature in freeze drying: Dependence on measurement methodology and rate of water removal from glassy phase. *Int J Pharm* 62:165–186.
13. Kasraian K, Spitznagel TM, Juneau JA, Yim K. 1998. Characterization of the sucrose/glycine/water system by differential scanning calorimetry and freeze-drying microscopy. *Pharm Dev Technol* 3:233–239.
14. Adams GDJ, Ramsay JR. 1996. Optimizing the lyophilization cycle and the consequences of collapse on the pharmaceutical acceptability of *Erwinia* L-asparaginase. *J Pharm Sci* 85:1301–1305.
15. MacKenzie AP. 1964. Apparatus for microscopic observations during freeze-drying (AFBR freeze-drying microscope model 2). *Biodynamica* 9:213–222.
16. Meister E, Gieseler H. 2009. Freeze-dry microscopy of protein/sugar mixtures: Drying behavior, interpretation of collapse temperatures and a comparison to corresponding glass transition data. *J Pharm Sci* 98:3072–3087.

17. Shamblin SL, Taylor LS, Zografi G. 1998. Mixing behavior of colyophilized binary systems. *J Pharm Sci* 87:694–701.
18. Heller MC, Carpenter JF, Randolph TW. 1996. Effects of phase separating systems on lyophilized hemoglobin. *J Pharm Sci* 85:1358–1362.
19. Randolph TW. 1997. Phase separation of excipients during lyophilization: Effects on protein stability. *J Pharm Sci* 86:1198–1203.
20. Izutsu K, Yoshioka S, Kojima S, Randolph TW, Carpenter JF. 1996. Effect of sugars and polymers on crystallization of poly(ethylene glycol) in frozen solutions: Phase separation between incompatible polymers. *Pharm Res* 13:1393–1400.
21. Izutsu K, Aoyagi N, Kojima S. 2005. Effect of polymer size and cosolutes on phase separation of poly(vinylpyrrolidone) (PVP) and dextran in frozen solutions. *J Pharm Sci* 94:709–717.
22. Izutsu K, Heller M, Randolph TW, Carpenter JF. 1998. Effect of salts and sugars on phase separation of polyvinylpyrrolidone-dextran solutions induced by freeze-concentration. *J Chem Soc Faraday Trans* 94:411–418.
23. Gustafsson A, Wennerstorm H, Tjerneld F. 1986. The nature of phase separation in aqueous two-polymer systems. *Polymer* 27:1768–1770.
24. Albertsson PA. 1970. Partition of cell particles and macromolecules in polymer two-phase systems. *Adv Protein Chem* 24:309–341.
25. Izutsu K, Kojima S. 2000. Freeze-concentration separates proteins and polymer excipients into different amorphous phases. *Pharm Res* 17:1316–1322.
26. Tolstoguzov VB. 1988. Concentration and purification of proteins by means of two-phase systems: Membraneless osmosis process. *Food Hydrocolloids* 2:195–207.
27. Izutsu K, Kojima S. 2000. Phase separation of polyelectrolytes and non-ionic polymers in frozen solutions. *Phys Chem Chem Phys* 2:123–127.
28. Johnson RE, Kirchoff CF, Gaud HT. 2002. Mannitol-sucrose mixtures—Versatile formulations for protein lyophilization. *J Pharm Sci* 91:914–922.
29. Dong J, Hubel A, Bischof JC, Aksan A. 2009. Freezing-induced phase separation and spatial microheterogeneity in protein solutions. *J Phys Chem B* 113:10081–10087.
30. Fonseca F, Passot S, Cunin O, Marin M. 2004. Collapse temperature of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus* suspensions and protective media. *Biotechnol Prog* 20:229–238.
31. Zaslavsky BY. 1995. *Aqueous two-phase partitioning*. 1st edition. New York: Marcel Dekker.
32. Newman A, Engers D, Bates S, Ivanisevic I, Kelly RC, Zografi G. 2008. Characterization of amorphous API:polymer mixtures using X-ray powder diffraction. *J Pharm Sci* 97:4840–4856.
33. Wang DQ, Hey JM, Nail SL. 2004. Effect of collapse on the stability of freeze-dried recombinant factor VIII and alpha-amylase. *J Pharm Sci* 93:1253–1263.
34. Anchordoquy TJ, Izutsu KI, Randolph TW, Carpenter JF. 2001. Maintenance of quaternary structure in the frozen state stabilizes lactate dehydrogenase during freeze-drying. *Arch Biochem Biophys* 390:35–41.
35. Tang XC, Nail SL, Pikal MJ. 2005. Freeze-drying process design by manometric temperature measurement: Design of a smart freeze-dryer. *Pharm Res* 22:685–700.
36. Kramer T, Kremer DM, Pikal MJ, Petre WJ, Shalaev EY, Gatlin LA. 2008. A procedure to optimize scale-up for the primary drying phase of lyophilization. *J Pharm Sci* 98:307–318.
37. De Beer TR, Allesø M, Goethals F, Coppens A, Heyden YV, De Diego HL, Rantanen J, Verpoort F, Vervaeet C, Remon JP, Baeyens WR. 2007. Implementation of a process analytical technology system in a freeze-drying process using Raman spectroscopy for in-line process monitoring. *Anal Chem* 79:7992–8003.
38. Gieseler H, Kessler WJ, Finson M, Davis SJ, Mulhall PA, Bons V, Debo DJ, Pikal MJ. 2007. Evaluation of tunable diode laser absorption spectroscopy for in-process water vapor mass flux measurements during freeze drying. *J Pharm Sci* 96:1776–1793.

凍結によるリポソームからの脱水と内部の氷晶形成に対する トレハロースの影響

国立医薬品食品衛生研究所

伊豆津 健一, 四方田 千佳子, 川西 徹

Effect of Trehalose on Freeze-induced Liposome Dehydration and Intra-liposomal Ice Formation

Ken-ichi IZUTSU, Chikako YOMOTA and Toru KAWANISHI

National Institute of Health Sciences, Kamiyoga, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan

Thermal analysis of liposome suspensions was performed to study their freezing behavior and effect of trehalose distributed across the membranes. Cooling scan of DPPC (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) liposome suspensions showed exotherm peaks of bulk (heterogeneous ice nucleation, -15 to -25°C) and intraliposomal (homogeneous ice nucleation, approx. -45°C) solution freezing. Changing size of the intraliposomal ice formation peak indicated dehydration of liposomes after the bulk solution freezing. Liposomes of larger size and/or lower membrane fluidity showed slower rate of dehydration upon the bulk solution freezing. Addition of trehalose before and after the liposome preparation resulted in their different distribution across the membrane and varied freezing behaviors.

(Received July 9, 2010; Accepted Aug. 30, 2010)

結 言

医薬品を体内の目的部位に送達するための薬物送達 (DDS) 担体としてリポソームの活用が盛んに検討されている。その多くは懸濁液状態の注射剤として用いられるが、分子集合体を持つ複雑な構造と機能を臨床使用まで保持することは容易でなく、用時溶解型の凍結乾燥製剤が有効性や安全性確保の有効手段となっている。リポソームの凍結や凍結乾燥に

おけるストレスから脂質膜を保護し、凝集や内包薬物の漏出を防ぐ目的でトレハロースやショ糖が安定化剤として用いられる^{1,2)}。糖類の作用はこれまで主にリポソーム粒子間のスペーサー機能や膜構造の保持に必要な水分子の代替作用、およびガラス固体形成による分子運動抑制など乾燥ストレスの軽減機構で説明されてきた。一方で細胞等の凍結で重視される内包溶液の凍結や脱水など動的挙動に対する影響は十分に解明されていない³⁻⁵⁾。本研究ではリポソームの内部の微小空間に閉ざされた溶液が外部に比べ低温で凍結する事を利用し、熱測定による凍結挙動の把握から、糖類の作用機構を検討した^{6,7)}。

第 55 回低温生物工学会研究報告 4.

[Key words: Liposome, Trehalose, Dehydration; リポソーム, トレハロース, 脱水]

材料および方法

1. 実験材料

溶媒留去をしたリン脂質 (DMPC, DPPC, DSPC) に Tris-HCl 緩衝液 (10 mM, pH 7.4) を添加して水和後, 0.1-0.8 μm 孔のフィルターを用いて各脂質の転移温度より 10-15 $^{\circ}\text{C}$ 高温でエクストルージョン法によりリポソーム懸濁液 (6%, w/w) を作製した. トレハロースを含む緩衝液を用いて水和させることによりリポソーム内外にトレハロースを含む懸濁液を作製, さらに緩衝液で透析することによりリポソーム外からトレハロースを除いた試料を得た. 透析後のリン脂質濃度はリン定量 (Bartlett 法) により測定した.

2. 熱測定

上記のリポソーム懸濁液に緩衝液またはトレハロースを含む緩衝液を加えて脂質濃度を 4% (w/w) とし, アルミセルに密封した試料 (10 μl) を DSC (TA インストルメント, DSC Q10) を用いて室温から 1-10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で -70 $^{\circ}\text{C}$ まで冷却走査した. 一部試料は測定中に走査を一旦停止・温度保持し, 冷却再開後の熱挙動から凍結溶液中で緩やかに起こる変化を検討した.

結 果

DPPC リポソーム懸濁液の冷却過程では, 不均一氷晶核形成 (-15~-25 $^{\circ}\text{C}$, バルク溶液の凍結) と均質 (自発) 氷晶核形成 (-40~-50 $^{\circ}\text{C}$, リポソーム内包溶液の凍結) による発熱ピークが観察された

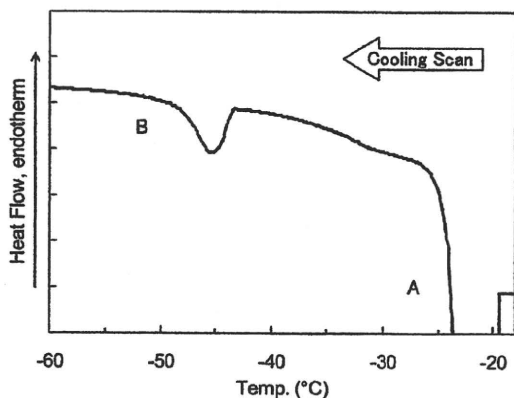


Fig. 1. Cooling thermogram of a DPPC liposome suspension (6%, w/w, 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Exotherm peaks denote heterogeneous ice formation (A, bulk solution freezing) and homogeneous ice formation (B, intraliposomal solution freezing), respectively.

(Fig.1). 冷却速度を上げるとバルク溶液の凍結ピークは狭くなるのに対し, 内包溶液凍結ピーク幅の変化は限定され, 個別領域の溶液が独立して凍結することを示唆した. 一部の試料ではもう一つの発熱ピークが -30 $^{\circ}\text{C}$ 付近に現れ, リポソーム外に流出した溶液, またはリポソーム内への氷晶進入による凍結が示唆された.

DPPC リポソーム内包溶液の凍結ピークは冷却速度を下げると縮小した (Fig. 2A). 懸濁液の冷却をバルク溶液の凍結後に停止・保持すると内包溶液の凍結ピークはさらに小さくなり, 凍結溶液中で脱水が経時的に進むことを示した (図省略). この脱水はバルク溶液の凍結温度に近い -25 $^{\circ}\text{C}$ 付近で最も速く, より低温 (-30, -35 $^{\circ}\text{C}$) では進行速度が低下した. リポソームの粒径および構成脂質を変えた試料の熱測定では, 大粒径 (0.1 < 0.2 < 0.8 μm) および膜の転移温度が高い脂質 (DMPC < DPPC < DSPC) ほど内包溶液の凍結による大きなピークが観察され, 膜の柔軟性または運動性が脱水に影響を与えることが示された (Fig. 2B). 本研究に用いたエクストルージョン法で作製されるリポソームはユニラメラ構造が中心となるが, 粒径が大きくなるほどマルチラメラ構造の比率が増えることも脱水速度低下の一因と考えられる.

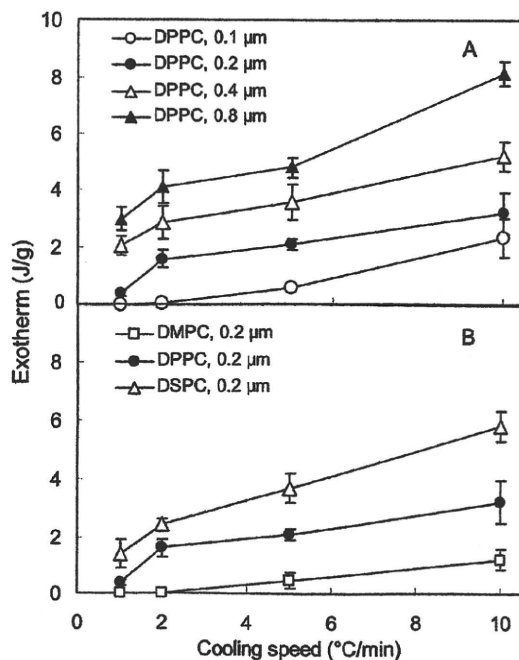


Fig. 2. Effect of liposome size (A) and lipid composition (B) on freezing exotherms of intraliposomal solutions. (n=3)

懸濁液に添加したトレハロースはリポソーム内外の分布により凍結挙動に異なる影響を与えた(Fig. 3). トレハロースをリポソーム作製後に添加(外側)すると内包溶液の凍結ピークは縮小・消失した. この変化は膜内外の浸透圧差による懸濁液中(凍結前)とバルク溶液凍結後の脱水によると考えられた. バルク溶液へのソルビトール, グルコース, ショ糖添加はいずれも内包溶液の凍結ピークを縮小させ, 脱水の促進を示した. 一方でデキストラン(多糖類)添加の影響は明確な影響は見られなかった. グリセリンを添加した懸濁液では, 室温からの冷却で同様な内包水凍結ピークの縮小が観察されたが, リポソームを構成する脂質(DPPC)の転移温度以上で前処理(45°C)することにより内包溶液の凍結ピークが増大し, 溶質の流入による浸透圧差の低下が, 脱水を抑制することを示唆した.

トレハロースをリポソーム作製前の水和時に添加

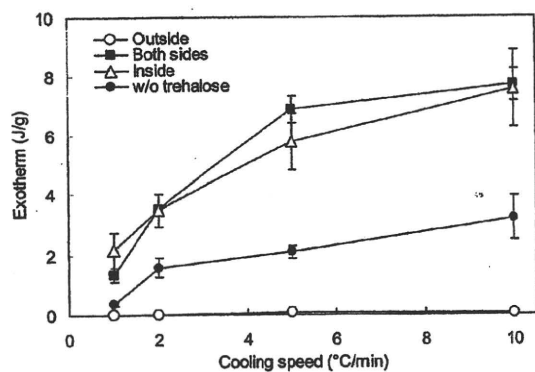


Fig. 3. Effect of trehalose distribution on freezing exotherm of intraliposomal solutions. (4% DPPC, 0 or 12% trehalose, 0.2 μ m, n=3)

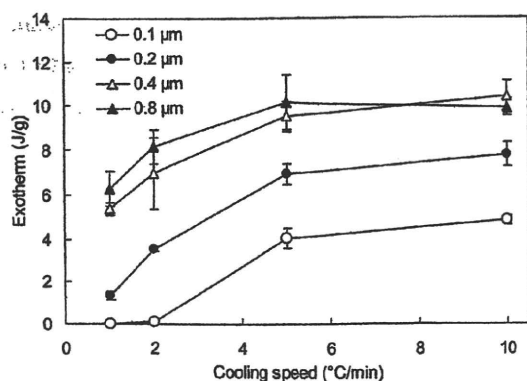


Fig. 4. Effect of liposome size on the freezing exotherm of intraliposomal solutions. (4% DPPC, 12% trehalose, both sides, n=3)

(膜の内外に分配)した試料では脱水の抑制作用を示す内包溶液の大きな凍結ピークが観察された. 同試料の冷却を一旦停止して低温で保持すると, トレハロース無添加の場合と同様に-25°C付近での比較的速い脱水がみられ, 脱水はバルク溶液の凍結温度付近を中心に進むことが明らかとなった. 凍結溶液中における脱水の抑制はバルク相のトレハロースを透析により除いた試料においても観察された.

次に膜内外に存在するトレハロースが粒径や構成脂質が異なるリポソームの凍結挙動に与える影響を検討した(Fig. 4). 粒子径の大きなリポソームでは凍結による脱水が内外へのトレハロース添加によりさらに抑制され, 比較的ゆるやかに冷却(1°C/min)した懸濁液においても内包溶液の凍結ピークが観察された. 膜流動性の低いDSPCリポソームを用いた検討でも同様の結果が得られた.

一般に注射剤の工業的な凍結乾燥は, 棚温度の制御による-40°C前後への緩速冷却を行った後に減圧を開始し, 氷晶の昇華(一次乾燥)が進められる. この条件を模して上記の測定で緩やかな脱水を示した試料についてDSCでの緩速冷却(0.5°C/minで冷却)と一定時間の温度保持(-35°Cで3時間)した後の冷却走査により, 内包水の状態を検討した(Fig. 5). 大粒径または膜流動性の低い脂質で構成されるリポソームの内外にトレハロースを添加した懸濁液では, 緩速凍結した試料でも内包溶液の凍結を示す小さなピークが観察され, 一部のリポソームに内包された溶液が長時間にわたり過冷却状態で維持されることを示した.

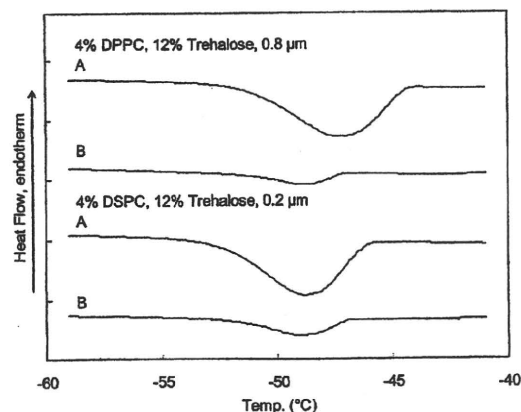


Fig. 5. Thermogram of liposome suspensions obtained by fast cooling (A: 5°C/min) and slow cooling that mimic freeze-drying process (B: 0.5°C/min, held at -35°C for 3h).

考 察

リポソーム内に含まれる溶液は懸濁液の凍結により、外部へ流出(脱水)、過冷却溶液として存在、均質氷晶核形成により凍結の3状態をとることが示された。熱測定はこれら凍結挙動の評価法として有用と考えられる。

リポソームの膜内外に分布するトレハロースなどの添加剤は、浸透圧効果により内包溶液の凍結挙動を大きく変化させることが明らかとなった。リポソームの凍結挙動と安定性についての系統的な検討はこれまで報告されておらず、観察された現象がリポソームの構造や機能に与える影響を直接予測することは難しい。一方で古くから培養細胞や微生物の凍結保存では、バルク水の凍結に伴う脱水や細胞内液の凍結が膜構造の傷害をもたらす代表的なストレス要因として知られ、リポソームの凍結においてもこれらの変化が膜構造の傷害など安定性の変動要因となることが想定される。熱測定による凍結挙動の把握を、顕微鏡観察や内包薬物の保持・漏出試験と組み合わせることで、安定化機構の解明と合理的な製剤設計につながることを期待される。

一部の試料で観察されたリポソーム内包溶液の過冷却状態で保持について、製剤プロセスにおける可能性や影響についてさらに検討を進める必要が有ると思われる。水溶性薬物の送達を目的としたリポソームは高い薬物保持能を持ち、さらにトレハロース等の添加が凍結による脱水を防ぐ可能性が高い。このため凍結乾燥の微妙な温度設定が内包溶液の状態を左右すると考えられる。乾燥過程における安定化作用には膜との添加剤の分子間相互作用を介するとされ、相互作用の決定要因としても凍結挙動は重要と考えられる。

ま と め

リポソームの膜内外に添加したトレハロースが懸濁液の凍結挙動にあたる影響について熱測定により評価・検討した。DPPCリポソーム内の溶液は外側に比べ低温(-45°C付近)で凍結(均質氷晶核形成)による発熱を示した。冷却速度を変えた測定による内包溶液凍結ピークの変化から、バルク相の凍結と溶質濃縮に伴う脱水の情報が得られ、リポソームの

脱水速度は粒径および脂質組成に依存する事が示された。リポソーム作製後に添加(外側)したトレハロースは浸透圧差の増加により脱水を進め、内包水の凍結ピークが消失したのに対し、膜内外へのトレハロース添加(作製時)は脱水を抑制した。リポソーム内に残る溶液は均質氷晶核形成温度以上において過冷却状態で保持された。凍結と凍結乾燥におけるトレハロースのリポソーム安定化機構として水分子置換やガラス固体化とともに凍結挙動への影響が寄与することが示唆された。

文 献

- 1) Miyajima, K., Tomita, K., Nakagaki, M.: Effect of saccharides on the freezing and thawing of liposome dispersion, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2689-2697 (1986)
- 2) Crowe, J. H., Crowe, L. M., Carpenter, J. F., Rudolph, A. S., Wistrom, C. A., Spargo, B. J. and Anchordoguy, T. J.: Interactions of sugars with membranes, *Biochim. Biophys. Acta.*, **947**, 367-384 (1988)
- 3) Chen, C., Han, D., Cai, C. and Tang, X.: An overview of liposome lyophilization and its future potential, *J. Control. Release.*, **142**, 299-311 (2010)
- 4) Harrigan, P. R., Madden, T. D., Cullis, P. R.: Protection of liposomes during dehydration or freezing, *Chem. Phys. Lipids.*, **52**, 139-149 (1990)
- 5) Ohtake, S., Schebor, C. and de Pablo, J. J.: Effects of trehalose on the phase behavior of DPPC-cholesterol unilamellar vesicles, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1758**, 65-73 (2006)
- 6) Talsma, H., Van Steenberg, M. J. and Crommelin, D. J.: The cryopreservation of liposomes. 2. Effect of particle size on crystallization behavior and marker retention, *Cryobiology*, **29**, 80-86 (1992)
- 7) Siow, L. F., Rades, T. and Lim, M. H.: Characterizing the freezing behavior of liposomes as a tool to understand the cryopreservation procedures, *Cryobiology*, **55**, 210-221 (2007)



薬の名前

ステムを知れば薬がわかる

Stems used in drug names : For the better understanding of pharmacological actions of drugs

第45回

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

山本美智子

MICHIKO YAMAMOTO

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

名古屋市立大学大学院薬学研究科

宮田直樹

NAOKI MIYATA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University

はじめに

本連載第44回(本誌2010年3月号)では、抗ウイルス薬を示すステム「-uridine/-vudine」, 「-motine」, 免疫賦活薬, 免疫調整薬, 免疫抑制薬を示すステム「-imex-」, 「-imod」, 「-imus」を紹介した。

今回は、抗炎症薬, 喘息治療薬, 血液凝固因子阻害薬, エンケファリン作動薬, Na⁺/H⁺対向輸送阻害薬, ニューロキニン受容体拮抗薬などを示すステムを紹介する。



「-lubant」 : ロイコトリエンB₄受容体拮抗薬

「-lubant」は、ロイコトリエンB₄受容体拮抗薬を示すステムである。5'-リボキシナーゼによりアラキドン酸から生成されるロイコトリエンは、多くの炎症疾患に関与している。ロイコトリエンB₄(LTB₄)は、白血球を強く活性化する因子であり、細胞膜表面に存在する受容体に結合し、白血球の遊走、活性酸素の産生、ライソゾームの放出を促し、炎症反応や細菌感染に対する防御など生体にとって重要な役割を担っている。また、乾癬や炎

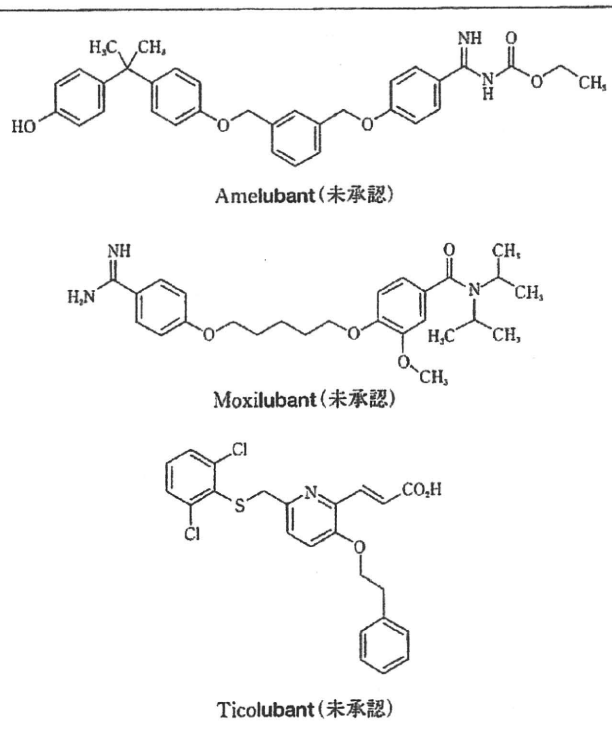


図1 ロイコトリエンB₄受容体拮抗薬を示すステム「-lubant」を持つ医薬品

症性腸疾患, 喘息といった疾患の発症因子であるとも考

薬の名前

ステムを知れば薬がわかる

第45回

えられており、LTB₄受容体拮抗薬は新しい抗炎症薬や喘息治療薬として開発が進められている。

ステム「-lubant」を持つ医薬品として、INNリストにはAmelubant, Moxilubant, Ticolubantが記載されている。Amelubantは、関節リウマチ、嚢胞性線維症、慢性閉塞性肺疾患および喘息治療薬として開発されている。Moxilubantは関節リウマチを適応として、また、Ticolubantは乾癬治療薬として開発されていたが、中止された。図1にステム「-lubant」を持つ医薬品の例を示す。

ステム「-arit」：関節炎治療薬

「-arit」は、関節炎治療薬を示すステムである。ステム「-arit」を持つ医薬品として、JANにはActarit(アクタリット)、およびLobenzarit(ロベンザリット)の二ナトリウム塩が記載されている。

アクタリットは、フェニル酢酸系の抗リウマチ薬で、遅延型のアレルギー反応の抑制作用、および、サイトカインの産生抑制作用により、免疫機能を調整して関節症状を抑制するが抗炎症作用はないため、通常は非ステロイド系抗炎症薬と併用される。ロベンザリットは、ジフェニルアミン誘導体で、非ステロイド系消炎鎮痛薬と似

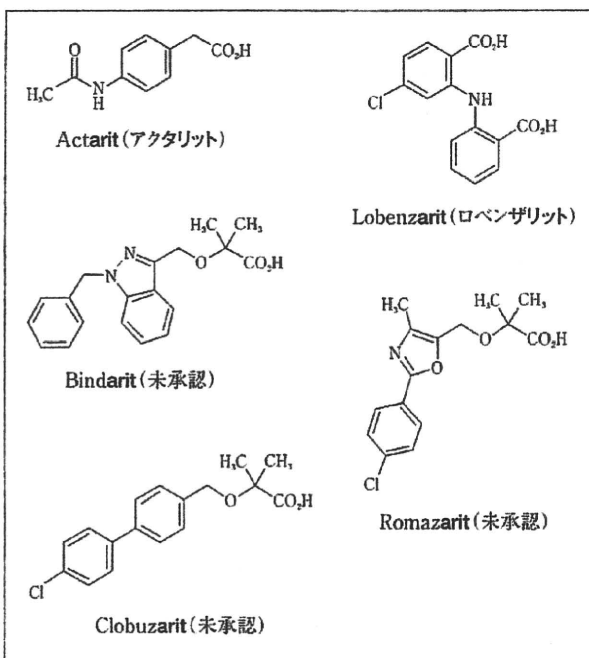


図2 関節炎治療薬を示すステム「-arit」を持つ医薬品

た骨格を持つジカルボン酸である。ともに慢性関節リウマチに適応がある。

この他、INNリストにはBindarit, Romazarit, Clobuzaritが記載されているが、いずれも未承認である。

Bindaritは、indazole誘導体で、MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1)の合成を阻害する。関節リウマチおよびループス腎炎治療薬として開発されている。米国では、ループス腎炎の適応でオーファンドラッグに指定されている。Romazaritはインターロイキン-1(IL-1)阻害薬である。脂質低下、体重低下および血糖値低下作用を示す。抗リウマチ薬として開発されていたが中止された。Clobuzaritも、抗リウマチ薬として開発されていたが承認に至っていない。図2にステム「-arit」を持つ医薬品の例を示す。

ステム「-pladib」：ホスホリパーゼA₂阻害薬

「-pladib」は、ホスホリパーゼA₂阻害薬を示すステムである。

消炎鎮痛薬としてNSAIDsやシクロオキシゲナーゼ(COX)-2阻害薬が用いられている。COX-2阻害薬は胃腸障害を軽減すると期待されたが血栓などの心血管障害のリスクがあることがわかった。現在、新たな消炎鎮痛薬として、脂質メディエーター産生の上流である細胞質型ホスホリパーゼA₂(phospholipase A₂: PLA₂)を阻害する化合物が期待されている。

PLA₂は、グリセリン脂質の2位のエステル結合を切断しアラキドン酸を遊離する酵素であり、生理機能の維持や免疫的炎症反応に関与するアラキドン酸カスケードにおいて重要な働きをしている。遊離したアラキドン酸はCOXで代謝され、発痛・起炎物質であるプロスタグランジンやロイコトリエンなどが合成される。また、血小板活性化因子(PAF)の産生にもPLA₂が関与している。これらの脂質メディエーターは、急性呼吸逼迫症候群、アレルギー性気管支喘息、関節リウマチ、大腸ポリープ、骨粗鬆症、多発性硬化症、虚血再灌流障害など多様な症状の原因となっている。

ステム「-pladib」を持つ医薬品として、INNリストには、Darapladib, Goxalaplادib, Rilapladib, Ecopladib, Efipladib, Giipladib, Varespladibが記載されている。このうち、Darapladib, Goxalaplادib, Rilapladibはアテローム性動脈硬化症治療薬として、ま

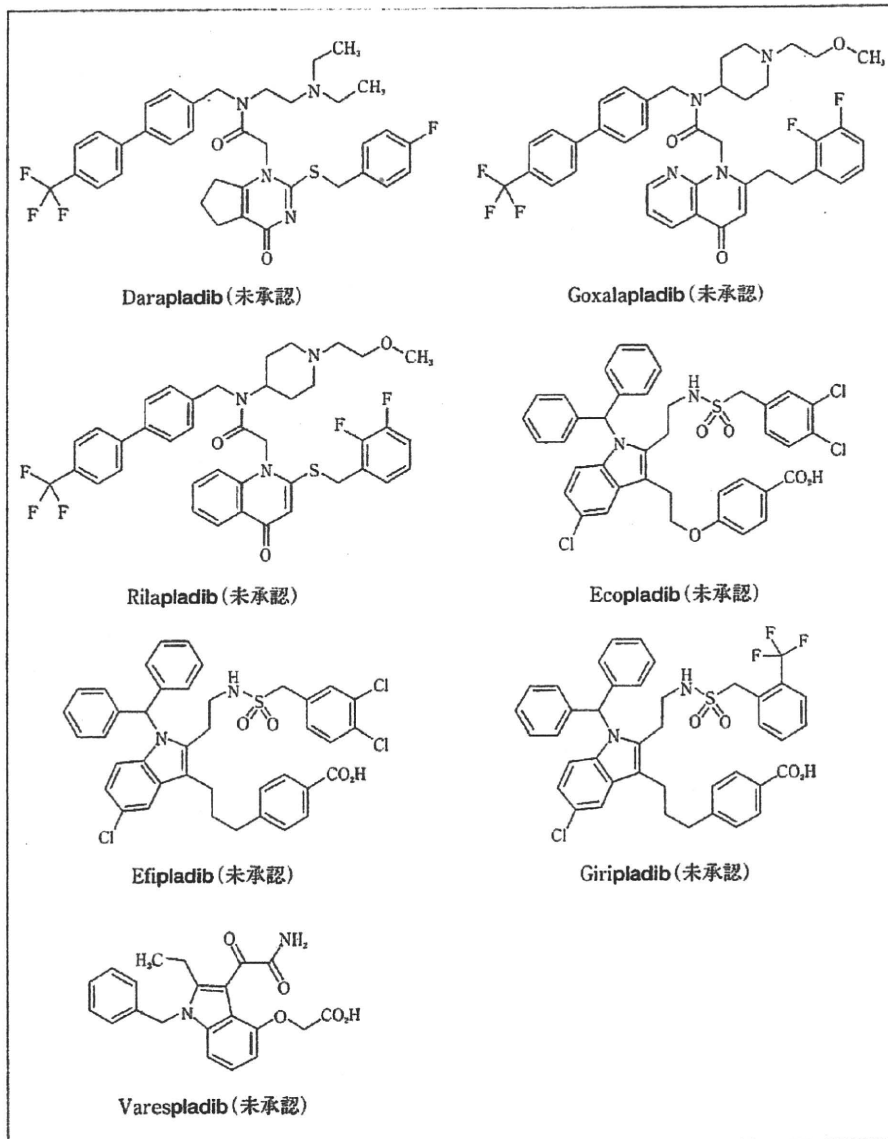


図3 ホスホリパーゼA₂阻害薬を示すステム「-pladib」を持つ医薬品

た、Ecopladib, Efipladib, Giripladibは、関節炎の疼痛治療薬として開発中である。Varespladibは、米国で、2007年に鎌状赤血球貧血患者における急性胸部症候群の予防を適応としてオーファンドラッグに指定されている。図3にステム「-pladib」を持つ医薬品の例を示す。

「-flapon」:
5-リポキシゲナーゼ活性化
タンパク質 (FLAP) 阻害薬

「-flapon」は、5-リポキシゲナーゼ活性化タンパク質 (5-Lipoxygenase activating protein, FLAP) 阻害薬を示すステムである。

アラキドン酸カスケードにおいて、FLAPは、5-リポキシゲナーゼの活性化に必要なタンパク質であり、ロイコトリエン類が産生される。

ステム「-flapon」を持つ医薬品として、INNリストにQuiflaponとVeliflaponが収載されている。Quiflaponは喘息治療薬として、また、Veliflaponは心臓発作予防薬として開発されているが、ともに未承認である。図4にステム「-flapon」を持つ医薬品の例を示す。

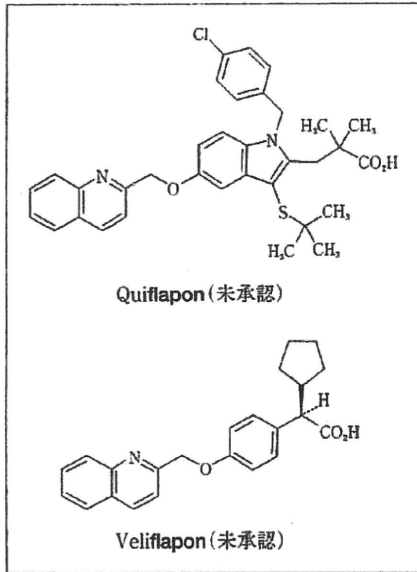


図4 5-リボキシゲナーゼ活性化タンパク質 (FLAP) 阻害薬を示すステム「-flapon」を持つ医薬品

ステム
238

「-xaban」：
血液凝固因子X_a阻害薬/
抗トロンボキサン化合物

「-xaban」は、血液凝固因子X_a阻害薬/抗トロンボキサン化合物を示すステムである。ステム「-xaban」を持つ医薬品としてINNリストには、Rivaroxaban, Apixaban, Fidexaban, Otamixaban, Razaxabanなどがある。

Rivaroxabanは、経口血液凝固剤であり、遊離の血液凝固因子X_aおよびプロトロンビナーゼに結合した血液凝固因子X_aを阻害する。欧州で静脈血栓塞栓症の予防に承認済みである。

Apixaban, Fidexaban, Otamixaban, Razaxaban, なども、血液凝固因子X_a阻害薬/抗トロンボキサン化合物として開発されているが、これらはいずれも未承認である。図5にステム「-xaban」を持つ医薬品の例を示す。

ステム
239

「-kef-」：エンケファリン作動薬

「-kef-」は、エンケファリン作動薬を示すステムである。エンケファリンは、オピオイド受容体の内因性リガンドであり、5つのアミノ酸からなる直鎖状ペプチドで

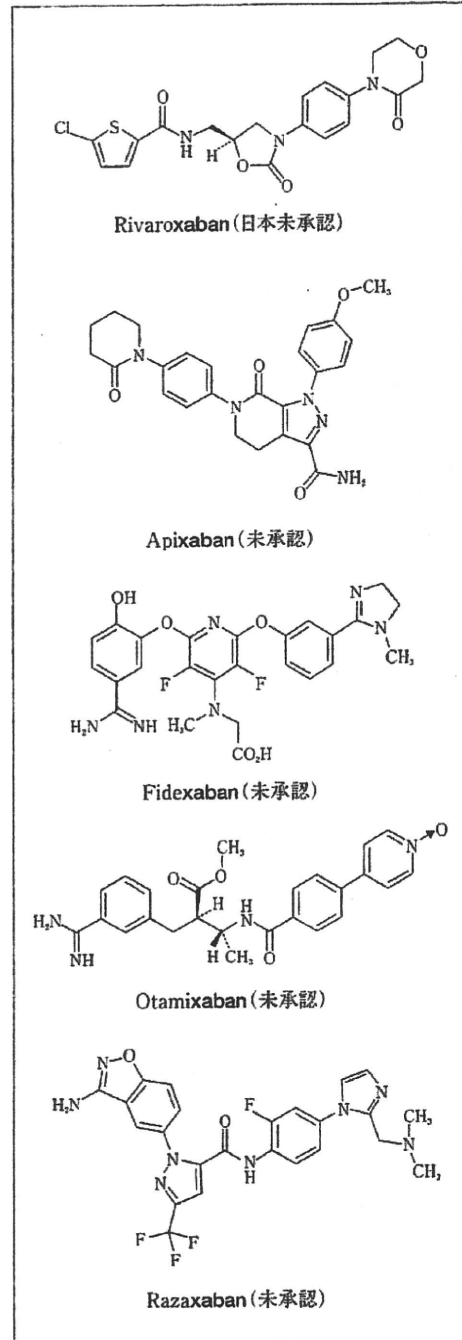


図5 血液凝固因子X_a阻害薬/抗トロンボキサン化合物を示すステム「-xaban」を持つ医薬品

ある。C末端のアミノ酸がメチオニンであるメチオニンエンケファリン (YGGFM) と、ロイシンであるロイシンエンケファリン (YGGFL) の2種類が存在する。脳内に分布するほか、消化管、視床下部、副腎髄質にも存在する。

エンケファリン作動薬として、INNリストに、Casokefamide, Frakefamide, Metenkefalin, Metkefamide が収載されている。Metenkefalinは内因性リガンドであ

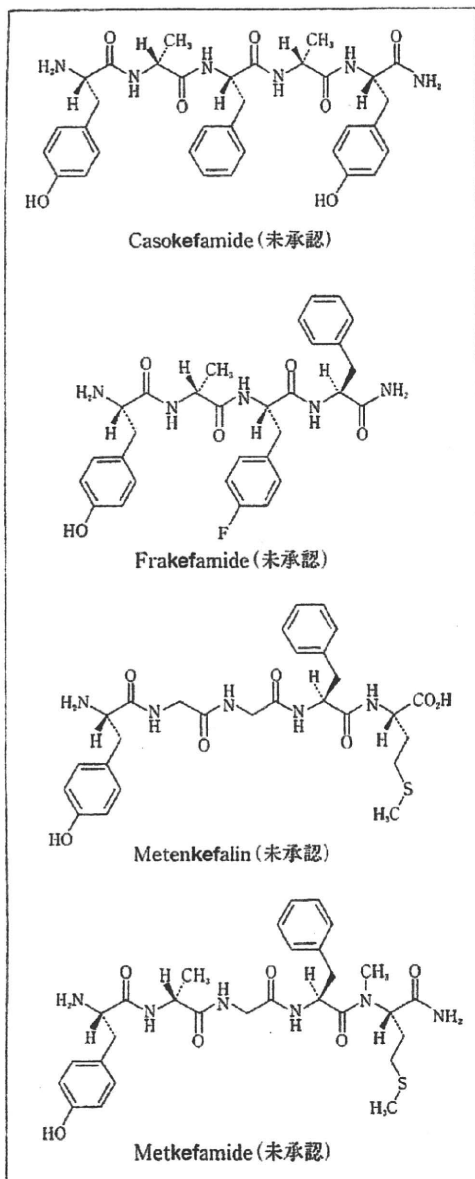


図6 エンケファリン作動薬を示すステム「-kef-」を持つ医薬品

るメチオニンエンケファリンであり、AIDS関連症候群の治療薬として開発されていた。いずれも未承認である。

図6にステム「-kef-」を持つ医薬品の例を示す。

「-mesine」: シグマ受容体作動薬

「-mesine」は、シグマ受容体作動薬を示すステムである。シグマ受容体は、以前はオピオイド受容体の1つに数えられていたが、オピオイド受容体拮抗薬であるナロキソンやナルトレキソンによって拮抗されないため、オピオイド受容体からは除外されている。シグマ受容体には少なくとも2つのサブタイプ(σ_1 , σ_2)があり、神

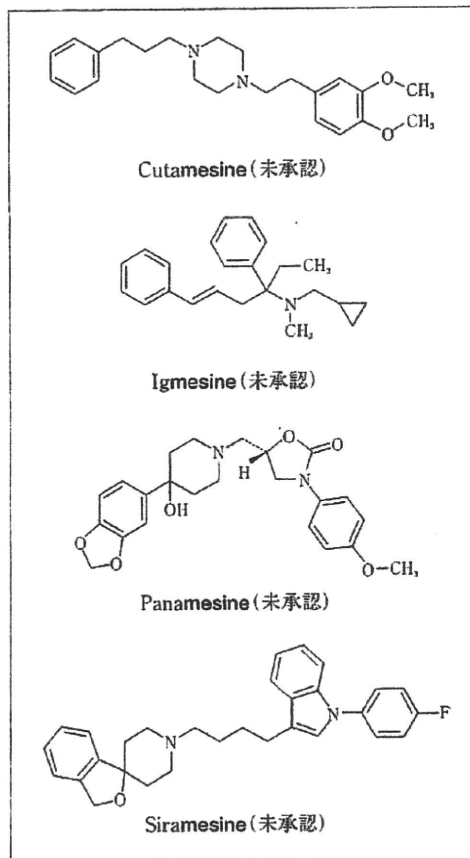


図7 シグマ受容体作動薬を示すステム「-mesine」を持つ医薬品

経の再生、分化やストレス関連疾患に関与することから、シグマ受容体作動薬は抗うつ薬や抗精神薬などストレス関連疾患治療薬として開発されている。ステム「-mesine」を持つ医薬品として、INNリストには、Cutamesine, Igmesine, Panamesine, Siramesineが記載されている。Igmesineは、強力かつ選択的なシグマ受容体作動薬であり、抗うつ薬として開発されていたが、中止された。その他の医薬品も承認には至っていない。

図7にステム「-mesine」を持つ医薬品の例を示す。

「-poride」: Na^+/H^+ 対向輸送阻害薬

「-poride」は、 Na^+/H^+ 対向輸送阻害薬を示すステムである。NHE阻害薬(Na^+/H^+ exchange inhibitors)とも呼ばれる。

Na^+/H^+ 交換輸送体は、細胞膜に存在し Na^+ と H^+ の交換を行う輸送タンパク質である。通常は H^+ を細胞外へ排出するかわりに Na^+ を細胞内に運搬し、細胞内のpHや細

ステムを知れば薬がわかる

第45回

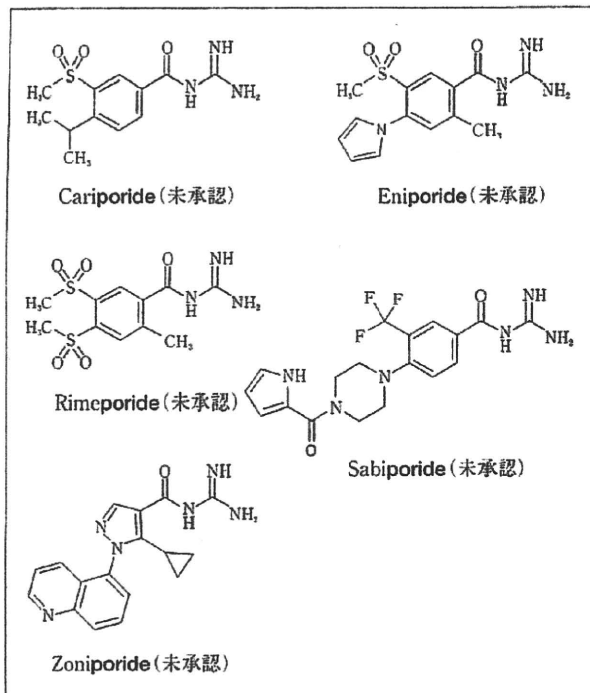


図8 Na⁺/H⁺対向輸送阻害薬を示すステム「-poride」を持つ医薬品

胞内Na⁺濃度を調節し、細胞内環境の恒常性維持に機能している。H⁺の増加が急激に起こる心臓の虚血再灌流時にはNa⁺/H⁺交換系が重要な役割を果たしている。

ステム「-poride」を持つNa⁺/H⁺対向輸送阻害薬として、INNリストには、Cariporide, Eniporide, Rimeporide, Sabiporide, Zoniporideが記載されている。Cariporideは、冠動脈バイパス手術(CABG)時の使用を適応として開発されていたが中止された。他のEniporide, Rimeporide, Sabiporide, Zoniporideも未承認である。図8にステム「-poride」を持つ医薬品の例を示す。

「-tant」(「-pitant」/「-dutant」/
「-netant」/「-nertant」):
ニューロキニン受容体拮抗薬

「-tant」は、ニューロキニン受容体拮抗薬を示すステムである。ニューロペプチドの1つ、ニューロキニン(neurokinin, NK)は、脳内に分布するタキキニン(tachykinin)族に属するペプチドで、P物質(substance P, SP)、ニューロキニンA(NK-A)、ニューロキニンB(NK-B)があり、これらはペプチドのC末端に共通のアミノ酸配列(Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂)を持つ。ニューロキニンは、痛みの伝達、催吐、炎症反応の促進などさまざまな生理作用を持つ。現在、哺乳類のニューロキニン受容体として、NK-1受容体、NK-2受容体、NK-3受容体の3種類が知られており、それぞれの受容体に対して、SP、NK-A、NK-Bが高い親和性を持っている。NK-1受容体は末梢組織と中枢神経系、NK-2受容体は末梢組織、NK-3受容体は中枢神経系に存在している。それぞれの受容体に対する拮抗薬を示すサブシステムとして、NK-1受容体拮抗薬を示す「-pitant」、NK-2受容体拮抗薬を示す「-dutant」、NK-3受容体拮抗薬を示す「-netant」がある。また、同じくニューロペプチドであるニューロテンシン(neurotensin, NT)受容体拮抗薬を示すサブシステムとして「-nertant」がある。

(1) 「-pitant」: ニューロキニン-1(NK-1)受容体拮抗薬

末梢組織と中枢神経系に存在するNK-1受容体と高い親和性を示すSPは、アミノ酸11個からなる鎖状のポリペプチドである。中枢では、脊髄後角深層のニューロンのスパイク発射数(興奮頻度)の増加(wind-up)による中

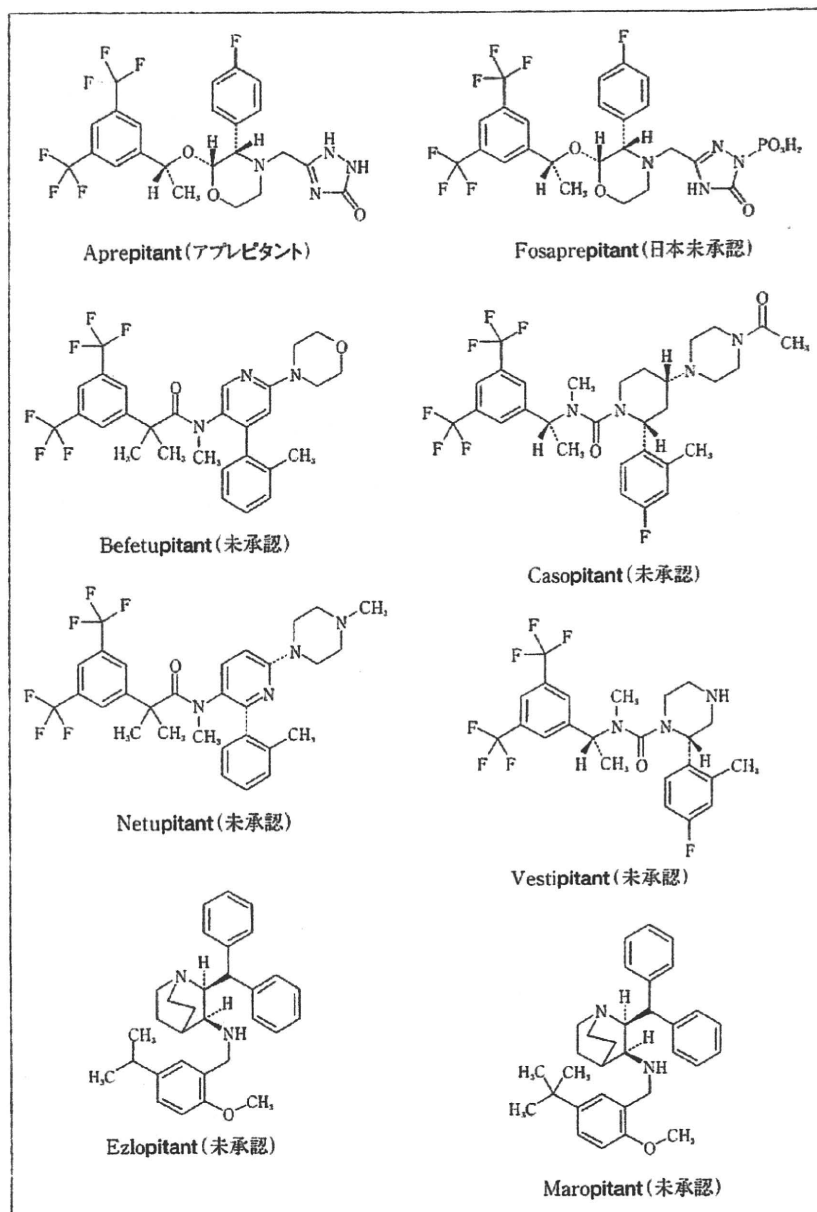


図9 ニューロキニン-1 (NK-1)受容体拮抗薬を示すステム「-pitant」を持つ医薬品

枢の過敏化や、末梢での血管拡張が起きる。NK-1受容体拮抗薬は、鎮痛、制吐、抗炎症作用などを対象に開発された。このうち制吐作用において有効性が認められ、さらに抗うつ作用を有することも示されている。

NK-1受容体拮抗薬を示すステム「-pitant」を持つJAN品目として、Aprepitant(アプレピタント)がある。アプレピタントは、morpholine骨格を有し、抗悪性腫瘍薬(シスプラチン等)投与に伴う消化器症状(悪心、嘔吐)(遅発期を含む)を適応として承認されている。その他、ステム「-pitant」を持つ医薬品として、INNリスト

には、Fosaprepitant, Befetupitant, Casopitant, Netupitant, Vestipitant, Ezlopitant, Maropitantなどが収載されている。このうちFosaprepitantは、アプレピタントをN-ホスホリル化したニューロキニンNK-1受容体拮抗薬である。悪心・嘔吐を適応に欧米で承認されているが、日本では未承認である。その他は、いずれも未承認である。図9にステム「-pitant」を持つ医薬品の例を示す。

(2) 「-dutant」：ニューロキニン-2(NK-2)受容体拮抗薬

末梢組織にあるNK-2受容体に対しては、NK-Aが高い親和性を示す。NK-Aは、アミノ酸10個からなる鎖状のポリペプチドであり、末梢血管拡張作用を示す。

NK-2受容体拮抗薬を示すステム「-dutant」を持つ医薬品として、INNリストには、Ibodutant, Nepadutant, Saredutantが記載されているがいずれも未承認である。

Ibodutantは過敏性腸症候群の治療薬として、また、二環状ペプチドのグリコシド誘導体であるNepadutantは喘息および過敏性腸症候群の治療薬として開発されている。Saredutantは、全般性不安障害および大うつ病を

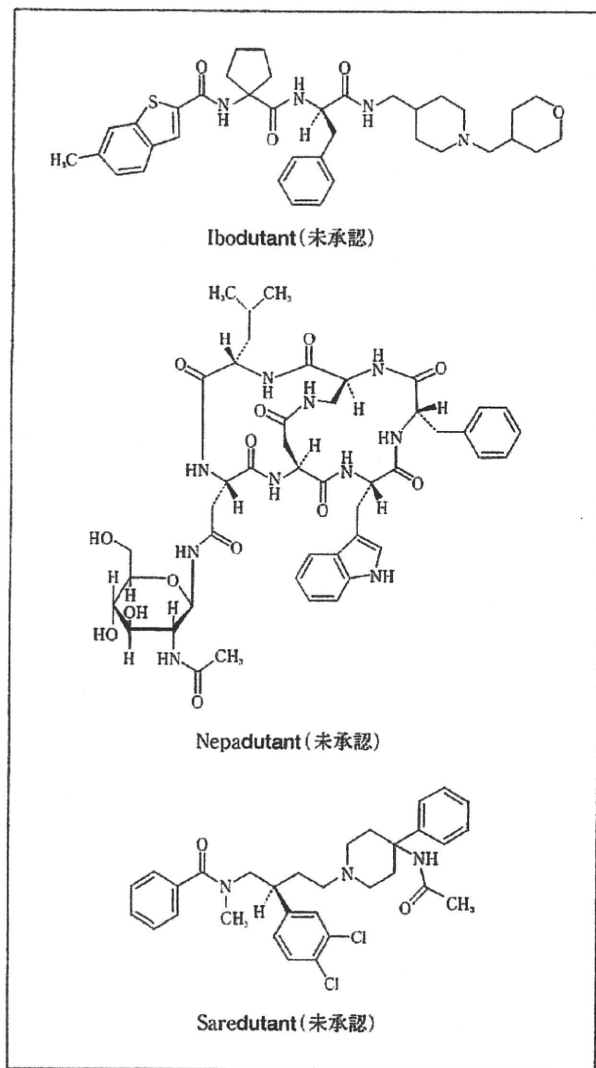


図10 ニューロキニン-2(NK-2)受容体拮抗薬を示すステム「-dutant」を持つ医薬品

適応として開発されていたが中止された。図10にステム「-dutant」を持つ医薬品の例を示す。

(3) 「-netant」：ニューロキニン-3(NK-3)受容体拮抗薬

中枢神経系に存在しているNK-3受容体に対しては、NK-Bが高い親和性を示す。NK-3受容体拮抗薬を示すステム「-netant」を持つ医薬品として、INNリストにはOsanetantとTalnetantが記載されている。Osanetantは、統合失調症、うつ病などを適応に開発されていたが中止された。Talnetantは、経口タイプのNK-3受容体拮抗薬として、慢性閉塞性肺疾患、過活動膀胱、統合失調症などを適応として開発されていたが中止された。図11にステム「-netant」を持つ医薬品の例を示す。

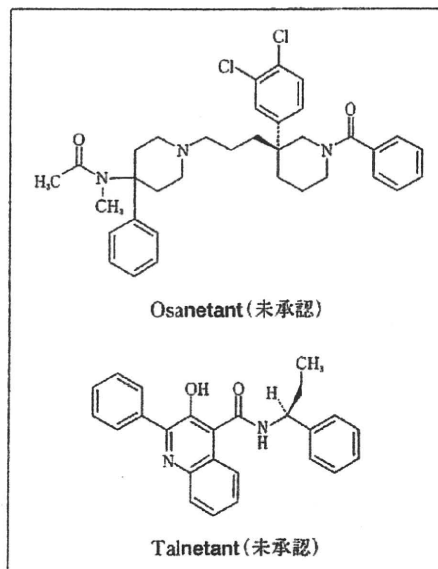


図11 ニューロキニン-3(NK-3)受容体拮抗薬を示すステム「-netant」を持つ医薬品

(4) 「-nertant」：ニューロテンシン(NT)受容体拮抗薬

ニューロテンシン(NT)は、13個のペプチドからなるニューロペプチドであり、中枢神経系、脊髄後角、空腸や回腸の内分泌細胞で産生される。中枢神経系、胃腸膵管系、末梢血管で神経伝達/調節作用を行う。NT受容体拮抗薬を示すステム「-nertant」を持つ医薬品としてはINNリストにMeclinertantが記載されている。Meclinertantは、強力かつ選択的な非ペプチド性NT受容体拮抗薬である。NT受容体は、Gタンパク共役受容体ファミリーに属し脳内ドパミン神経伝達を調節するが、

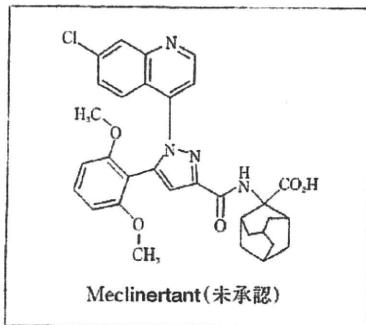


図12 ニューロテンシン (NT) 受容体拮抗薬を示すステム「-nertant」を持つ医薬品

MeclinerantはNT受容体に拮抗し効果を示すことから、錐体外路系副作用が発現しないとされていたが開発は中止された。図12にステム「-nertant」を持つ医薬品の例を示す。

以上、今回は、ロイコトリエンB₄受容体拮抗薬を示す「-lubant」、関節炎治療薬を示す「-arit」、ホスホリパーゼA₂阻害薬を示す「-pladib」、5-リボキシゲナーゼ活性化タンパク質 (FLAP) 阻害薬を示す「-flapon」、血液凝固因子X₂阻害薬/抗トロンボキサン化合物を示す「-xaban」、エンケファリン作動薬を示す「-kef-」、シグマ受容体作動薬を示す「-mesine」、Na⁺/H⁺対向輸送阻害薬を示す「-poride」、ニューロキニン受容体拮抗薬を示す「-pitant」/「-dutant」/「-netant」/「-nertant」を紹介した。

■参考文献

本稿作成に関してこれまでに紹介した文献を使用した。