

インスリンの経口投与を指向したキトサン誘導体の開発と評価

(東理大院・物材研) ○大門 裕貴・川上 亘作・井澤 浩則・酒井 秀樹・阿部 正彦・ヒル ジョナサン・有賀 克彦

【諸言】インスリンは糖尿病患者に使われるペプチド医薬品であり、注射による投与が一般的であるため、経口投与が可能になれば患者の負担を軽減できる。しかし、インスリンの経口投与は消化管内での安定性や吸収性の低さから実現していない。本研究では、環状オリゴ糖の一つであるβ-シクロデキストリン (CyD) をグラフト化したキトサン (BCC; Fig.1) を合成し、BCC との複合体形成によるインスリンの安定化について検討した。さらに、BCC に膜透過ペプチドを導入した化合物 (BCCP) を合成し、複合体形成への影響を検討した。

【実験】pH 3.6 酢酸緩衝液、pH 3.6 クエン酸緩衝液、pH 7.4 リン酸緩衝液で調製したヒトインスリン溶液に、BCC、キトサン、CyD、もしくはBCCPを加え、透析膜を用いて会合体の分子量分布を調べた。会合状態は、光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡で可視化した。また、¹H-NMR測定によりBCCとインスリンとの相互作用部位を特定し、蛍光スペクトルから結合定数を算出した。そして、消化酵素であるペプシンの存在下で安定性試験を行った。

【結果・考察】透析実験より、酸性・中性どちらの環境でもBCCはキトサンやCyDと比較してインスリンと高い複合体形成率を示すことが分かった。会合体の顕微鏡観察からは、インスリンとBCCは各緩衝液中で異なる複合体を形成することが分かった。また、¹H-NMR測定及び蛍光測定より、インスリンとBCC間の静電的相互作用、疎水性相互作用の存在が明らかになった。pH 3.6 酢酸緩衝液中でのペプシンに対する安定性は、BCCの添加により大きく改善されることが分かった。なおキャリアによるインスリン安定化効果と、透析実験によって算出された複合体形成率との間には相関が見られた。これらの結果から、BCCとの複合体形成によるインスリンの安定化が示唆された (Fig.1)。また、BCCPが各緩衝液中でインスリンと作る複合体は、BCCが作る複合体とほぼ同様であり、膜透過ペプチドを導入することによる複合体への影響は軽微であることが分かった。

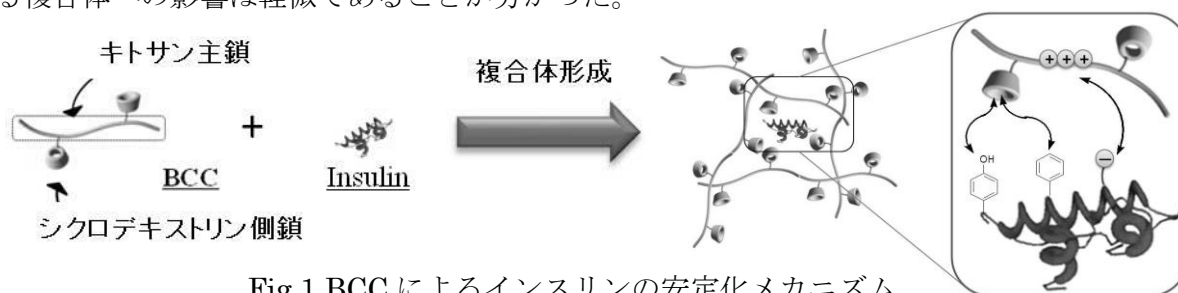


Fig.1 BCC によるインスリンの安定化メカニズム

Development of Chitosan Derivative Carrier for Insulin Oral Delivery

Y. Daimon, K. Kawakami, H. Izawa, H. Sakai, M. Abe, J. P. Hill, K. Ariga (Tokyo Univ. Sci. and NIMS, DAIMON.Yuki@nims.go.jp)

Insulin is a pharmaceutical peptide for treating diabetes. Because its regular injection gives mental and physical burdens to patients, development of oral administration technology for insulin has been expected. However, it has not been achieved yet due to its low chemical stability and low membrane permeability in gastrointestinal tract. Our research is aiming development of a carrier which improves the stability and membrane permeability of insulin. Cyclodextrin-grafted chitosan (BCC), which had chitosan main chain and cyclodextrin side chains, was synthesized as a carrier by four steps. Insulin made complexes with BCC or chitosan. Binding efficiency of BCC with insulin was higher than that of chitosan. The fluorescence study indicated that binding constant between CyD side chains in BCC and insulin was much stronger than molecular CyD due to multivalent interaction comprised of electrostatic and hydrophobic interactions. Stabilization effect of carriers was evaluated in acetate buffer solution contained pepsin. By adding BCC, insulin was stabilized against the digestive enzyme. BCC is expected to improve the insulin stability in gastrointestinal tract.