

医薬品開発を促進する原薬物性の評価ならびに改善技術に関する研究

## Physicochemical Evaluation and the Property Improvement Technologies of Drug Substance to Promote Drug Development

平成28年度 論文博士申請者 山本 克彦 (Yamamoto, Katsuhiko)

指導教員 深水 啓朗

医薬品において、その主たる活性成分の多くは化学合成によって創製・製造された有機低分子化合物である。これら有機低分子化合物は、抗体等に比べ安定でコストが低く、製造性も高いという長所があるが、臨床試験・製造承認に至るまでは創薬段階において膨大な数の化合物を新規に合成することと共に、スクリーニングによってそれらの活性や毒性、薬物動態特性により開発化合物を選択する必要がある。近年、分子生物学的手法の発展により、優れた薬理活性を有する化合物を見出すことが可能となった一方、活性向上のための分子量および脂溶性の増加により、難水溶性など医薬品の物性として相応しくない性質を持つ化合物が選定され、開発期間や開発費用がかさむケースや開発自体が断念されることが見受けられている。こういった事態を避けるために、前臨床段階での物性評価の実施、また、開発化合物の物性改善は医薬品開発において極めて重要である<sup>1)</sup>。本研究では、医薬品開発における創薬研究として適用が可能な迅速物性評価法、溶解度および脂溶性評価法の確立を行うことで開発化合物選択に寄与、また物性改善・製剤設計戦略の指針を早期に定めることを可能とした。続いて、物性改善技術として共結晶の効率的な粉碎法による探索法を新たに開発した。さらに、新たな物性改善技術として研究されつつある複合体

非晶質（コアマルフラス）について物性評価を行い、医薬品としての実現可能性を調べた。

## 迅速な溶解度および脂溶性測定系の確立<sup>2)</sup>

医薬品化合物の水系溶媒に対する溶解度は、経口剤においては吸収性、また注射剤においては製剤化の難易度を左右する重要な物理化学的特性である。脂溶性は薬理活性や毒性とも相関する指標であり、かつ溶解度とも密接に関わる。したがって、両特性を創薬初期段階において並行して評価することは、優れた医薬品を創出するために必要である。本研究では、少量の化合物溶液を用い、迅速に溶解度および脂溶性を評価する系を開発した<sup>2)</sup>。溶解度は医薬品候補化合物のライブラリの保存液として用いられる 10 mM DMSO 溶液を日本薬局方崩壊試験第一液(JP1, pH1.2)、第二液(JP2, pH6.8)などに滴下し、化合物を析出させた後に液中の化合物濃度を測定する。溶解度の測定は高速 HPLC-UV を用い、わずか 1 分にてクロマトグラムの測定が可能な測定法を構築し、200 化合物の 2 溶媒に対する溶解度を 15 時間で測定することが可能となった。脂溶性評価については pH7.4 での分配係数(LogD)を測定した。HPLC を用い、逆相クロマトグラフィー測定における化合物の保持時間と LogD が相関することを利用して、LogD が 5 以下であれば 1 化合物につき 10 分以内で測定が可能な系を構築した。本測定系における、モデル化合物の溶解度および脂溶性の測定結果を表 1 に示す。

表 1 モデル化合物の溶解度と脂溶性

No.	Compound	Solubility ( $\mu\text{g/mL}$ )			LogD
		JP1, pH1.2	JP2, pH6.8	20mMGDC in JP2	
1	Lansoprazole	4.0	58.0	>99	1.789
2	Hydrochlorothiazide	64.8	>74	>74	-1.169
3	Griseofulvin	39.4	49.0	>88	1.643
4	Diclofenac	1.6	68.2	>80	2.107
5	Indomethacin	1.8	74.9	>90	2.359
6	Tamoxifen	1.2	0.2	>93	4.823
7	Albendazole	45.6	0.2	56.7	2.541
8	Pioglitazone	45.3	0.3	47.9	2.189
9	Candesartan	<0.2	12.6	>110	4.320

化合物の各溶液に対する溶解度の特徴から、溶解度と脂溶性との相関および化合物の酸塩基特性も評価することが可能であった。JP2 に対する溶解度と脂溶性のプロットを図 1 に示す。溶解度と脂溶性はほぼ線形の相関を示したが、No.7 および 8 のようにこの相関から外れる化合物があり、原因として溶液中での結晶化により析出したため、相関より溶解度を示したことが考えられた。このような化合物の物性改善には、塩形成や非晶質製剤といった対応策が有効と示唆された。以上の結果から、本法は化合物選択のためのスクリーニング法として有用であるのみならず、化合物の特性を迅速に判断し、物性改善、それに伴う製剤技術を提案することも可能である。

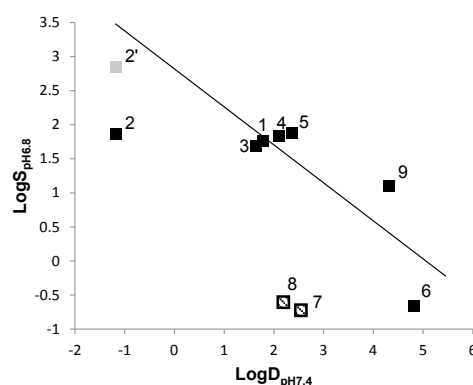


図 1 脂溶性と溶解度のプロット  
番号は表 1 中の No. を示す、2' は粉末からの溶解度実測値

### 効率的な粉砕法による共結晶探索法の開発<sup>3)</sup>

医薬品化合物の物性改善技術として、近年共結晶が注目され、開発化合物にも適用されている。共結晶は、医薬品分子とカウンター分子が塩のようなプロトン移動を伴わずに、1 つの結晶格子内で非イオン性の相互作用を形成している

結晶であり、溶解性改善にも多く用いられている<sup>4)</sup>。求められる物性改善を達成するには、多数のカウンター分子について共結晶の形成を調べる必要があり、効率的な探索法が必要とされている。共結晶は様々な結晶化法で作ることが可能であるが、その中の1つである粉碎法は溶媒の影響を受けず、また応力によって相互作用を促進することが可能であるため形成確率の高い結晶化法であるが、多くの試料量と実験数を必要とする短所を有する。本研究では、あらかじめ4つのカウンター分子を物理混合したカウンター分子混合物との粉碎を行い、1次スクリーニングとして共結晶形成能を調べる、cocktail cocrystal grinding法を開発した<sup>3)</sup>。1次スクリーニングにて共結晶の結晶化が認められた場合、2次スクリーニングとしてヒットした混合物内の個々のカウンター分子との混合粉碎を行い、どのカウンター分子との共結晶が形成されたかを絞り込む。例えば20個のカウンター分子の中から1つの共結晶のみが見出される場合、1対1の従来法では20回の粉碎が必要となるのに対し、本法では混合物の5回に加え、混合物内の個々の4つのカウンター分子との4回、計9回の粉碎実験で可能となり、試料量・実験数を半分以下に減らすことが可能である。3種の難水溶性化合物に本法を適用した結果を表2に示す。各化合物について、新規な共結晶を効率的に見出すことに成功した。本法は、単に試料量・実験工数の削減を可能とした以外にも、複数のカウンター分子が競合するため強い相互作用を有する物理的に安定な共結晶を得ることが可能である。またカウンター分子混合物は同じ部分構造を持つカウンター分子を含有することから、共結晶形成に係る相互作用を特定することも可能とした。本法も、実際に物性が改善した共結晶を複数生み出している。

表 2 モデル化合物との cocktail cocrystal grinding 法試行結果

Carbamazepine		Piroxicam		Spironolactone	
CCF mixture	Individual CCF	CCF mixture	Individual CCF	CCF mixture	Individual CCF
Acid1	Citric acid <b>Fumaric acid</b> <b>Succinic acid</b> <b>L-Tartaric acid</b>	Acid1	<u>Citric acid</u> Fumaric acid <b>Succinic acid</b> L-Tartaric acid	Acid1	Citric acid Fumaric acid Succinic acid L-Tartaric acid
Acid2	<b>Benzoic acid</b> Salicylic acid <b>Gentisic acid</b> <b>Glutaric acid</b>	Acid2	<b>Benzoic acid</b> <b>Salicylic acid</b> <b>Gentisic acid</b> <b>Glutaric acid</b>	Acid2	<u>Benzoic acid</u> <u>Salicylic acid</u> <u>Gentisic acid</u> Glutaric acid
Amide	Nicotinamide <b>Benzamide</b> Glycolamide Lactamide	Amide	Nicotinamide Benzamide Glycolamide Lactamide	Amide	Nicotinamide Benzamide Glycolamide Lactamide
Amine	Tromethamine Meglumine L-Arginine L-Lysine	Amine	Tromethamine Meglumine L-Arginine L-Lysine	Amine	Tromethamine Meglumine L-Arginine L-Lysine
Others	<u>Urea</u> Ethylmaltol <b>Saccharin</b> Stearic acid	Others	Urea <u>Ethylmaltol</u> Saccharin Stearic acid	Others	Urea Ethylmaltol Saccharin Stearic acid

太字: 見出された既知の共結晶, 太字下線: 新規共結晶, 修飾なし: 共結晶が確認されなかったもの

#### 複合体非晶質（コアモルファス）の物性評価、医薬品としての実行可能性<sup>5)</sup>

医薬品原薬の複合体非晶質（コアモルファス）は、共結晶と同様に溶解性などの物性を改善する新たな技術である。コアモルファスは共結晶のように、医薬品分子とカウンター分子間に水素結合などの非イオン性の相互作用を持つと推測される非晶質形態である<sup>6)</sup>。本研究では、難水溶性薬物であるイトラコナゾール（ITZ）と、共結晶を形成するカウンター分子である有機酸、フマル酸およびL-酒石酸を用い、粉砕にて上記組み合わせのコアモルファスを調製し、その溶解性、安定性などの物性を評価した<sup>5)</sup>。フマル酸との粉砕品はラマン分光測定によって相互作用が示唆され、物理的にも安定で各種ポリマーとの固体分散体のようにその非晶質状態が維持され、化学的にも安定であった。一方、L-酒石酸とのコアモルファスは明確な相互作用が確認されず、化学的にも不安定であった。凍結乾燥にて調製した対象品と比較すると、凍結乾燥品は物理的に不安定で保存中に結晶化が確認され、コアモルファスの製造法としては適用が難しいと判断された。粉砕品が安定であったのは、粉砕の応力により化合物とカウンター分子の相互作用が促進されたことによると推察された。JP1 に対する溶解

度は、表 3 に示すように ITZ 単体の非晶質と同等で、ITZ 単体結晶よりも大幅に高い溶解度を示し、また同じ組み合わせの共結晶よりも高い溶解度を示した。コアモルファスは、高い可溶化効果を持ちつつ製剤化に足る安定性を示すことが確認されたことから、難水溶性薬物の医薬品開発、また医薬品製剤の高機能化に有効な手法の 1 つであると示唆された。

表 3 コアモルファスの溶解度

Solubility ( $\mu\text{g/mL}$ , $n=3$ , Average $\pm$ SD)	
ITZ crystal	4.2 $\pm$ 0.1
ITZ amorphous	165.3 $\pm$ 15.6
ITZ-FA cocrystal	28.8 $\pm$ 2.0
ITZ-TA cocrystal	129.2 $\pm$ 5.3
ITZ-FA coamorphous	149.4 $\pm$ 1.4
ITZ-TA coamorphous	203.2 $\pm$ 4.2

## 総括

本研究は、優れた医薬品を創出するための効率的な物性評価法と新規物性改善技術を開発および評価したものである。各研究成果は医薬品開発体系に取り入れられ始めており、新薬開発に寄与すると期待されるものである。

## 参考文献

- 1) Kawakami, K., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **64**, 480–495 (2012).
- 2) Yamamoto, K., Ikeda, Y., *J. Drug. Deliv. Sci. Tech.*, **33**, 13–18 (2016).
- 3) Yamamoto, K., Tsutsumi, S., Ikeda, Y., *Int J Pharm.*, **437**, 162–171 (2012).
- 4) Shan, N., Zaworotko, M. J., *Drug Discov. Today*, **13**, 440-446 (2008).
- 5) Yamamoto, K., Kojima, T., Karashima, M., Ikeda, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **64**, 1739-1746 (2016).
- 6) Löbmann, K., Laitinen, R., Grohgan, H., Strachana, C., Rades, T., Gordon, K. C., *Int. J. Pharm.*, **453**, 80– 87 (2013).