

薬物の溶解性と経口吸収性を向上させる共結晶の設計及びメカニズム解析

Enhancing Solubility and Oral Bioavailability of a Drug via Cocrystallization and Mechanistic Analysis

令和6年度 論文博士申請者 坂本菜沙 (Sakamoto, Nasa)

近年の医薬品開発において創薬モダリティの多様化により中高分子医薬品の研究開発が急速に進んでいるが、依然として低分子医薬品は肝要なモダリティの一つである。低分子創薬の厳しさは増し、化学構造はより複雑化し、加えて、より高い薬理活性を求めて化合物に疎水性官能基を導入することも多いことから、難溶性化合物の割合が増加している。

共結晶化は結晶工学的に化合物の物性を改善する手法の一つであり、化合物の適応範囲は、塩と異なり中性化合物を含むほぼ全ての化合物に及ぶ。共結晶化による溶解性改善は化合物の膜透過性に影響を及ぼさないことから、膜透過性が良好な難溶性薬物の経口吸収性改善の手法として非常に有用である。すでに、共結晶化によって経口吸収性を向上させた事例は多数報告されているものの、同一薬物を用いた複数の共結晶間における *in vitro* 溶出性と *in vivo* 経口吸収性をヒトと同じ製剤（錠剤、カプセル剤等）を服用できるイヌを用いて比較した報告は少ない。共結晶の *in vivo* 経口吸収性を *in vitro* 溶出性や溶解度から考察し、経口吸収性向上のメカニズムを解明することは、原薬形態候補として複数の共結晶形態がある場合において理論的に最終形態を選定することができるだけでなく、製剤化工程で共結

晶のパフォーマンスを最大限に引き出す戦略を立てることに繋がる。このような背景の下、本研究ではまず共結晶の基礎検討として図 1 に示す中性化合物の oxyresveratrol (ORV) を使用し、網羅的な共結晶スクリーニングと基礎物性評価を実施した。その後、得られた知見を基に大塚製薬株式会社で創製された新規抗結核薬候補

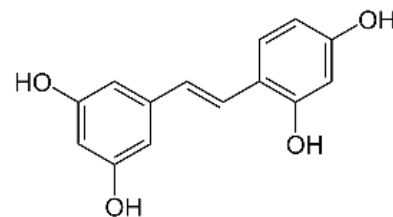


図 1 Oxyresveratrol の構造式

化合物 quabodepistat をモデル化合物とし、経口吸収性向上を目的とした共結晶化の検討と見出された 2 種の共結晶の物性評価（単結晶構造解析，*in vitro* 溶出試験）およびビーグル犬を用いた *in vivo* 経口吸収性を評価した。さらに、共結晶間の経口吸収性の違いについてメカニズム解析を行った。

1. ORV の共結晶スクリーニング¹⁾

ORV の共結晶スクリーニングは、酸、アミノ酸、アミド、サッカライドを含む 67 種のコフォーマーを使用し、粉碎法にて行った。その結果、L-プロリン、ベタイン (BTN)、エチルマルトール、尿素、イソニコチンアミド、ニコチンアミドとの組み合わせにおいて、ORV と新規結晶の形成が示唆された。そこでスラリー法または溶媒蒸発法にてスケールアップ検討を行い、得られたサンプルについて粉末 X 線回折、熱分析、ラマン分光法、赤外分光法での分析を実施し、総合的に 6 種の新規結晶は共結晶であると判断した。興味深いことにスクリーニングとスケールアップのいずれにおいても目的物の共結晶を得ることはできたが、最適な溶媒種は調製方法ごとに異なっていた。すなわち、共結晶形成において溶媒選択は重要なファクターであり、調製手法に応じて薬物とコフォーマー、そして共結晶の溶解度を考慮した溶媒選択の必要性が示唆された。

2. ORV-BTN 共結晶の物性評価

単結晶構造解析は結晶格子内の薬物とコフォーマーの化学量論比やパッ

キングを直接的に観察できる有用なツールである。ORV-BTN 共結晶は X 線構造解析から ORV と BTN が化学量論比 2:3 で結晶化し、さらに ORV 分子の高い平面性と ORV の 4 つの水酸基による相互作用によって形成された空間に BTN 3 分子が収まったユニークなケージ構造を有している

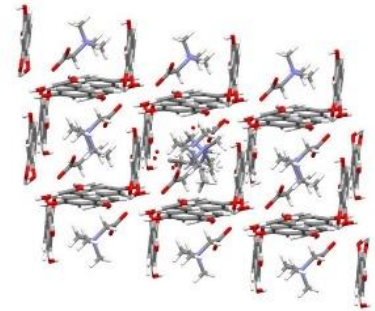


図 2 ORV-BTN のケージ構造 (単結晶構造解析)

ことが明らかとなった (図 2)。また ORV-BTN 共結晶の溶解度は ORV より約 1.4 倍高く、共結晶化による溶解性の向上が認められた。

3. Quabodepistat の共結晶スクリーニングと結晶構造解析^{2) 3)}

ORV の検討で共結晶調製時における溶媒選択の重要性が示唆された。そ

こで quabodepistat の共結晶スクリーニングは溶媒を使用しない熱分析法を採用したところ、図 3 に示す 2,5-Dihydroxybenzoic acid (2,5DHBA) および 2-Hydroxybenzoic acid (2HBA) と新規結晶形成を示唆する熱イベント (複数の吸熱ピークまたは発熱ピーク) が得られた。そこで貧溶媒晶析法でスケールアップし、単結晶構造解析を実施した。なお、2,5DHBA との結晶はサイズが小さかったため電子線結晶構造解析を行った。²⁾ その結果、2HBA および 2,5DHBA いずれも quabodepistat のカルボスチリル骨格とコフォーマーのカルボン酸が水素結合を形成し、化学量論比 1:1 で結晶化しているこ

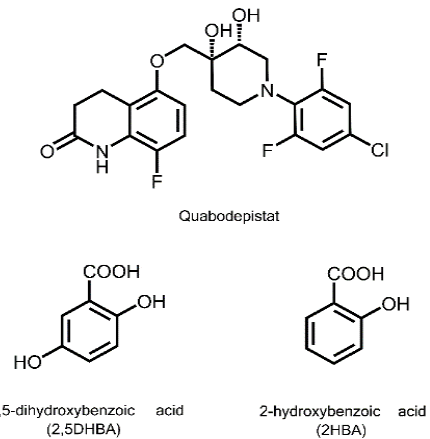


図 3 Quabodepistat とコフォーマーの構造式

とが確認された。さらに 2HBA のカルボン酸の C=O と C-OH の距離の比は 1.08 (1.319 Å/1.224 Å), 2,5DHBA でも同様に 1.08 (1.339 Å/1.243 Å) であ

とが確認された。さらに 2HBA のカルボン酸の C=O と C-OH の距離の比は 1.08 (1.319 Å/1.224 Å), 2,5DHBA でも同様に 1.08 (1.339 Å/1.243 Å) であ

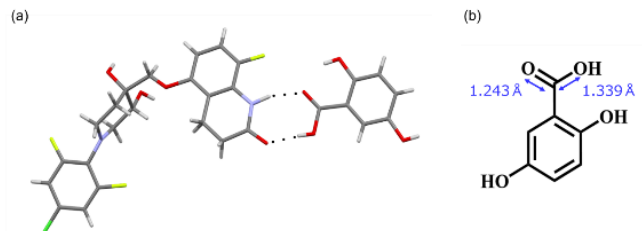


図 4 a) Quabodepistat-2,5DHBA 共結晶の相互作用形式
b) カルボン酸の原子間距離 (電子線結晶構造解析)

とが確認された。さらに 2HBA のカルボン酸の C=O と C-OH の距離の比は 1.08 (1.319 Å/1.224 Å), 2,5DHBA でも同様に 1.08 (1.339 Å/1.243 Å) であ

ったことから、いずれもカルボン酸はプロトン化しておらず、塩ではなく共結晶であることが示された (図 4)。

4. Quabodepistat 共結晶の *in vitro* 溶出試験と *in vivo* 経口吸収性の評価

Quabodepistat と 2,5DHBA または 2HBA との共結晶 (quabodepistat-2,5DHBA または quabodepistat-2HBA) の溶出試験を pH 1.2 と 6.8 で実施した (5 mg/20 mL, 37°C, 150 rpm)。その結果、両共結晶はフリー体と比較して溶解性の向上が認められた (図 5)。溶出挙動は共結晶間で特に差がなかったため、経口吸収性は共結晶間で同等または pH 6.8 でやや薬物濃度が高かった quabodepistat-2,5DHBA の方が優れるのではないかと予想した。

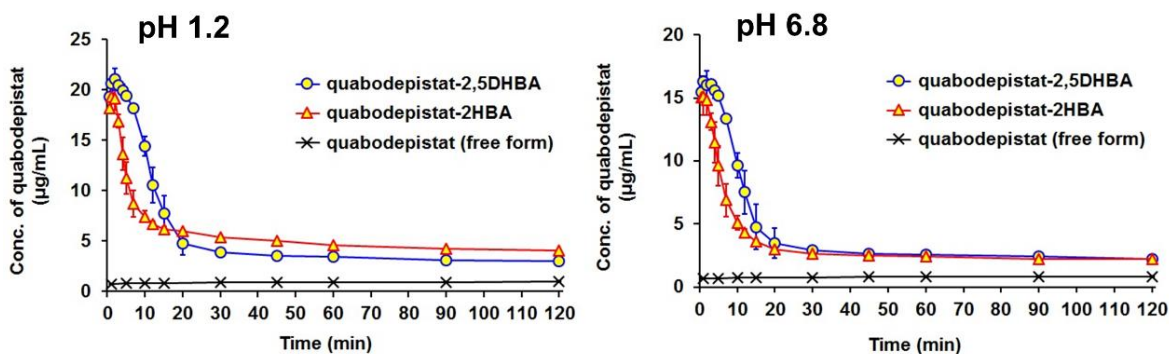


図 5. Quabodepistat 共結晶およびフリー体の溶出試験 (左:pH 1.2 右:pH 6.8, 37°C, 150 rpm)

次に、共結晶の経口吸収性評価をビーグル犬 5 頭を用いて絶食下 100 mg/body で経口投与を行った。その結果、いずれの共結晶もフリー体と比較して有意に高い血中濃度プロファイルを示し、

quabodepistat-2,5DHBA は C_{max} 比で 4.7 倍, AUC 比で 4.1 倍, quabodepistat-2HBA は C_{max} 比

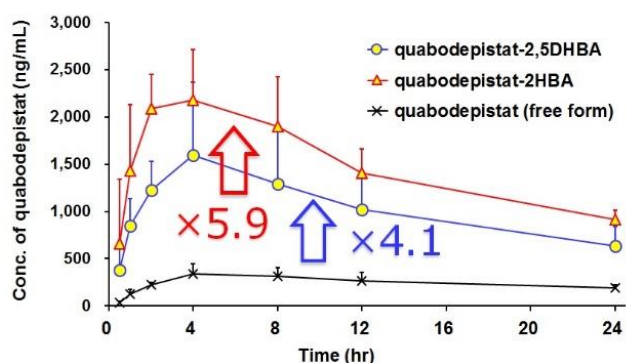


図 6 Quabodepistat (フリー体, 共結晶) をビーグル犬へ投与後の血漿中の薬物濃度推移

で 6.6 倍, AUC 比で 5.9 倍高かつ

た (図 6)。共結晶同士の比較では, quabodepistat-2HBA が quabodepistat-2,5DHBA と比較して C_{max} で 1.4 倍 ($P < 0.05$), AUC で 1.4 倍 ($P < 0.01$)

有意に高かった。これは溶出試験から予想した結果に反していた。

5. Quabodepistat 共結晶の経口吸収性向上のメカニズム解析

先述の溶出試験で両共結晶は高い薬物濃度を示した後、速やかな濃度低下を認めた。これは薬物の溶解度が低いが故に析出が生じていると考えられた。一方で、コフォーマーの溶解度は十分に高く、試験液内で析出することはないことから、コフォーマーの濃度推移は共結晶の溶出プロファイルとみなすことができると考えた。そこで、先述の溶出試験において薬物とコフォーマーを同時に定量し、コフォーマー濃度から共結晶の溶出率へ変換した。その結果、pH 1.2 において quabodepistat-2HBA は quabodepistat-2,5DHBA よりも溶出速度が遅いことが明らかとなった (図 7 左)。このことから、quabodepistat-2HBA は quabodepistat-2,5DHBA と比較して pH 1.2 での溶解度が低く、胃内で共結晶としてより安定であることが示唆された。そして pH 6.8 では溶出挙動に差がなかったことから (図 7 右)、共結晶間で小腸移行後の過飽和性 (溶解性) に特に差はないと考えられた。

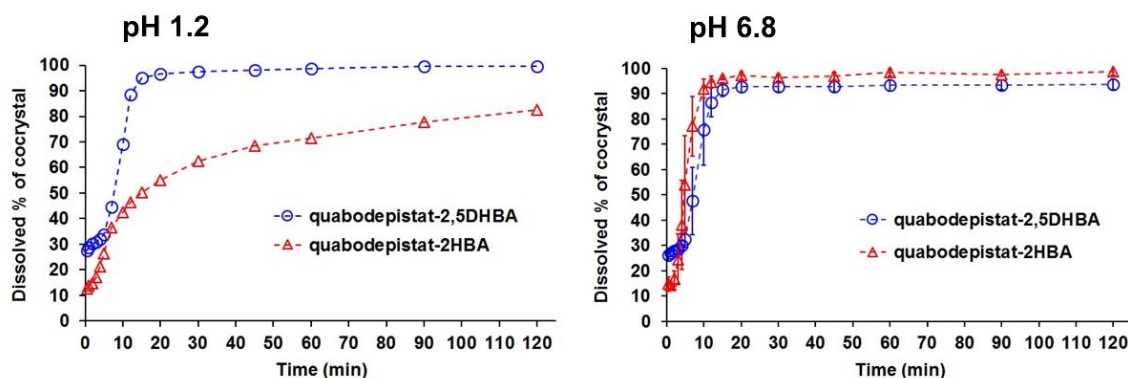


図 7 コフォーマー濃度から算出した共結晶の溶出プロファイル (左: pH 1.2 右: pH 6.8)

この考察を基に *in vitro* 溶出試験で *in vivo* 経口吸収性と相関性のある溶出試験系を確立することを目的として、pH-shift 溶出試験 (pH 1.2→6.8) を実施した。イヌの胃排泄時間を考慮し、pH 1.2 にて 15 分攪拌後に pH を 6.8 に引き上げ、その後の薬物濃度推移を確認した。その結果、pH 6.8 において quabodepistat-2HBA は高い過飽和を示した一方で、quabodepistat-

2,5DHBA は一定の濃度を示し、イヌ *in vivo* 経口吸収性の結果と相関性のある結果を得ることができた (図 8)。このことから、quabodepistat-2HBA は quabodepistat-2,5DHB と比較してより多くが共結晶を維持して小腸へ移行できたものと考えられた。

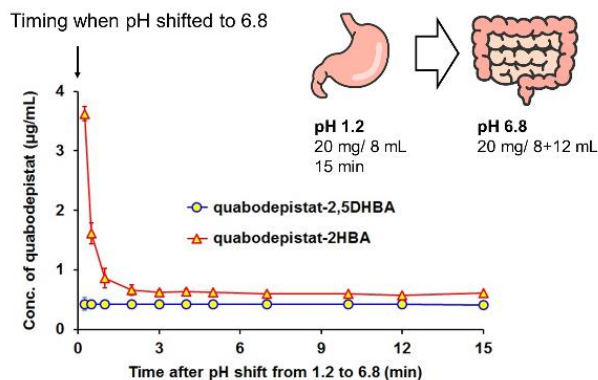


図 8 pH-shift 溶出試験 (pH 1.2→6.8, 37°C, 150 rpm)

6. 総括

ORV を用いた共結晶の基礎検討では 4 種類の新規共結晶を見出し、共結晶形成において溶媒選択が重要であること、また BTN との共結晶がユニークなケージ構造を有していることを明らかにした。Quabodepistat を用いた検討では、経口吸収性がフリー体より 4~6 倍向上した新規共結晶を 2 種類見出すことに成功した。さらに共結晶間で胃内での安定性に差があることを明らかにし、胃内でフリー体へ転移せず共結晶を維持して小腸へ移行できる共結晶の方が、より経口吸収性が高いことを明らかとした。

参考文献

- 1) Four novel pharmaceutical cocrystals of oxyresveratrol, including a 2:3 cocrystal with betaine.
Sakamoto N., Tsuno N., Koyama R., Gato K., Titapiwatanakun V., Takatori K., Fukami T., *Chem. Pharm. Bull.*, **69**, 995-1004 (2021).
- 2) Crystal structure of a 1:1 co-crystal of quabodepistat (OPC-167832) with 2,5-dihydroxybenzoic acid using microcrystal electron diffraction.
Sakamoto N., Gato K., *Acta Cryst.*, **E79**, 920-922 (2023).
- 3) Quabodepistat (OPC-167832), a novel antituberculosis drug candidate: enhancing oral bioavailability via cocrystallization and mechanistic analysis of bioavailability in two cocrystals.
Sakamoto N., Miyata K., Fukami T., *Mol. Pharmaceutics*, **21**, 358-369 (2024).