

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07191

研究課題名（和文）コアモルファス形成に基づいた難溶解性/難吸収性中分子医薬品の創薬戦略の構築

研究課題名（英文）Construction of drug development strategies for middle-molecule drug with low solubility and absorption based on coamorphous formation

研究代表者

内山 博雅（Hiromasa, Uchiyama）

大阪医科薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：60792744

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：CYPの基質であるアゼルニジピンとCYPの阻害剤であるケトコナゾール間で水素結合を介したコアモルファス形成が可能であった。コアモルファスからのアゼルニジピンとケトコナゾールの溶解性および膜透過性を評価したところ、両化合物ともに未処理の原末と比較して高い溶解性および膜透過性の改善が確認された。調製したコアモルファスをラットに経口投与したところ、アゼルニジピン原末と比較して約9倍もの経口吸収性の改善が確認された。以上のことから、CYP阻害剤を用いたコアモルファス形成によって、難溶解性かつ難吸収性を示すアゼルニジピンの経口吸収性の改善が可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低分子創薬から中分子創薬への移り変わりに伴い、創薬の成功確率はさらに低くなっている。経口創薬においては、難溶解性かつ難吸収性という性質を持つ新薬候補化合物が増大し創薬をますます難しくしている。本研究成果は、現在の創薬において課題となっている溶解性改善だけでなく吸収性改善を可能にする。また製造方法は、既存の装置で可能であることから、新たな設備投資なども必要としない。さらに基剤側の組み合わせを選択していくことで様々な機能性を有した粒子調製が可能になる。今後ますます新薬候補化合物の物理化学的性質が複雑化していくと予想される中、本研究は波及性の高い研究になる。

研究成果の概要（英文）：A coamorphus was formed through hydrogen bonding between azelnidipine as CYP substrate and ketoconazole as CYP inhibitor. Both compounds were confirmed to have high solubility and improved membrane permeability compared to untreated bulk powder. When the prepared coamorphous was orally administered to rats, it was confirmed that the oral absorption of azelnidipine was improved up to 9 times compared to the bulk powder of azelnidipine. It was possible to improve the oral absorption of azelnidipine, which is poorly soluble and poorly absorbable properties, by forming a coamorphous using a CYP inhibitor.

研究分野：製剤学、薬剤学

キーワード：コアモルファス 溶解性改善 経口吸収性改善

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

低分子から中分子創薬への移り変わりに伴い、難溶解性かつ難吸収性を示す化合物の割合は劇的に増大し、経口投与による新薬開発の成功確率は格段に低下している。さらに次世代中分子創薬の候補化合物として、低分子化合物とバイオ医薬品の 2 つの利点を兼ね備えたペプチド創薬が期待されているが、難溶解性かつ難吸収性を示すことが分かってきており、現状の創薬技術では開発を進めることは難しい。経口投与による未来の創薬を考えた際に、製造技術や開発コストを考慮した現実的な方法で、ペプチド創薬にまで応用可能な経口投与方法の確立が切望されている。

2. 研究の目的

コアモルファス技術とは、難溶解性薬物と低分子あるいは中分子化合物などのカウンター化合物との間で分子間相互作用を形成させ、両化合物をアモルファス状態へと変換する技術である。アモルファス状態は、結晶状態に比べ高い溶解性が得られるため、基剤に水溶性ポリマーを使用する従来のアモルファス技術に変わる溶解性改善方法として、近年報告が急増している。しかし、溶解性改善を主目的とする既存のアモルファス技術のターゲットは難溶解性薬物であるため、p 糖タンパク質 (P-gp) やシトクロム P450 (CYP) による吸収阻害を大きく受ける薬物に対して吸収性の問題を十分に解決できないことが現状の課題であり、そこを打破できる創薬技術が求められている。本研究では、コアモルファス技術が基剤に低分子や中分子化合物を使用するという特性に着目し、基剤に CYP の阻害効果 (基質) を有する化合物を用いてコアモルファス形成を行うことで、溶解性に加え吸収性も高めることのできる創薬技術の構築を試みた。

3. 研究の方法

(1) コアモルファス形成の候補探索

モデル化合物には難溶性かつ CYP の基質となることで経口吸収性の低いアゼルニジピン (分子量: 582.64) を用い、コアモルファス形成の基剤にはケトコナゾールやベルガプテンなど 12 種類の化合物を使用した。96-well プレートを用いたスクリーニング試験により、コアモルファスを形成し得る組み合わせを網羅的に探索した。アゼルニジピンと基剤をそれぞれ、エタノールあるいはメタノールに溶解し、モル比で 1/2, 1/1, 2/1 となるように 96-well プレートに加え乾燥させた。偏光顕微鏡によりアモルファス状態となったことを確認するとともに、小腸模擬液を用いた溶解度試験により、溶解性が改善できる処方を検討した。

(2) コアモルファスの調製および物理化学的性質の評価

上記の探索検討から見出された処方に関して、溶融冷却法によってコアモルファスを調製した。アゼルニジピンあるいは基剤単独または、アゼルニジピンと基剤がモル比で 1/2, 1/1, 2/1 となるように物理混合粉末を作成し、200 で 5 分間加熱し粉末を溶融させた。その後液体窒素を用いて急速冷却し粉末を得た後、乳鉢により粉碎した。

物理化学的性質の評価として、粉末 X 線回折測定による結晶性、示差走査熱量測定によるガラス転移点、フーリエ変換赤外分光法による薬物と基剤の間の相互作用評価を行った。また、40、75% 条件下で長期保存した後の結晶性を評価することで、アモルファス状態の安定性を評価した。

(3) コアモルファスの溶解性および膜透過性評価

溶解性の評価には小腸模擬液を使用し、コアモルファスからのアゼルニジピンおよび基剤の溶出量を評価した。また膜透過性の評価は、人工膜透過性試験である PAMPA 法により行った。アゼルニジピンの定量は、高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) により行った。

(4) アゼルニジピンの経口吸収性評価

アゼルニジピンの経口吸収性評価は、9 週齢の Sprague-Dawley rat を用いて行った。アゼルニジピン原末、アゼルニジピンと基剤の物理混合物、基剤単独およびアゼルニジピンと基剤とのコアモルファスをアゼルニジピン量として 50 mg/kg となるように経口投与し、経時時間ごとに経静脈から血液を採取した。アゼルニジピンの定量は、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて行った。

4. 研究成果

(1) コアモルファス形成の候補探索

96-well プレートを用いてスクリーニング試験を実施したところ、基剤にケトコナゾール、イトラコナゾール、ベルガプテンおよびクラリスロマイシンを使用した際にコアモルファス形成の可能性が確認された。中でもケトコナゾールを使用した場合に最も高い溶解性改善が確認された。

(2) コアモルファスの調製および物理化学的性質の評価

アゼルニジピンとケトコナゾールをモル比 1/2, 1/1, 2/1 となるように溶融冷却法により調製した粉末の物理化学的性質を評価した。以後アゼルニジピンを AZE、ケトコナゾールを KTZ、物理混合物を PMs、溶融冷却法により調製した粉末を MQPs と表記する。図 1 には、粉末 X 線回折測定および示差走査熱量測定の結果を示す。AZE および KTZ の原末は結晶であったが、MQPs はいずれもアモルファス状態であった。また AZE と KTZ を用いて調製した MQPs は単一なガラス転移点を示し、AZE と KTZ は MQPs 中で相溶した状態であることが確認された。

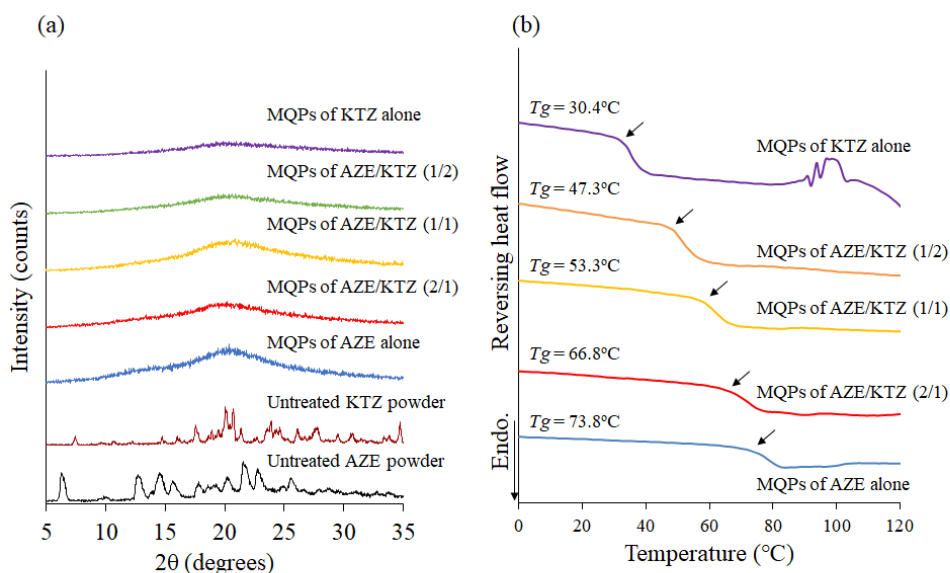


図 1 調製した MQPs の(a)粉末 X 線回折測定による結晶性評価および(b) 示差走査熱量測定によるガラス転移点 (T_g) の評価

フーリエ変換赤外分光法を用いて AZE と KTZ 間での相互作用評価を行ったところ、両化合物間

で水素結合の形成が確認され、AZE と KTZ 間で水素結合を介したコアモルファスが形成されていると考えられた。また 40 °C、75%湿度条件下で 9 週間まで保存したところ、KTZ 単独で調製した MQPs は一週間後に再結晶化が確認されたが、AZE と KTZ 間で調製した MQPs では、9 週間後においても再結晶化が抑制されていた (図 2)。

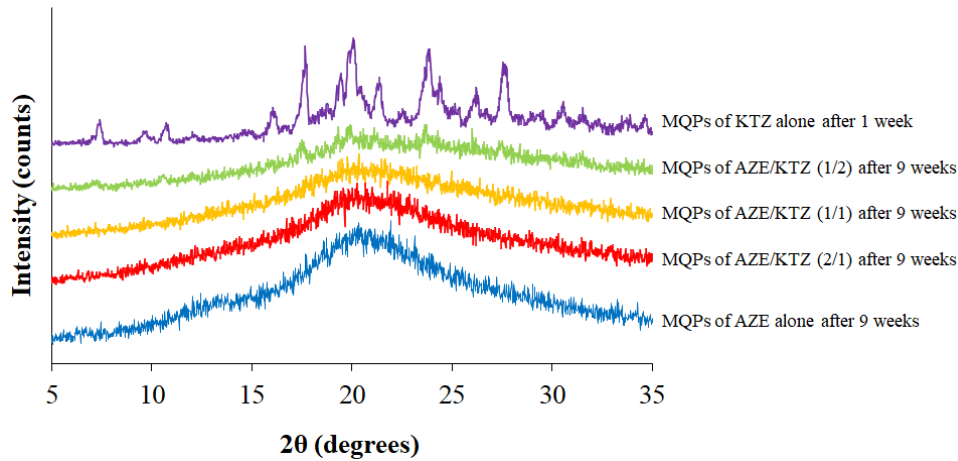


図 2 40 °C、75%湿度条件下で 9 週間保存した後の粉末 X 線回折測定結果

(3) コアモルファスの溶解性および膜透過性評価

小腸模擬液を用いて、コアモルファスからの AZE および KTZ の溶出を評価した結果を図 3 に示す。AZE 原末の溶解性は低く、240 分後における溶解度は約 5 μg/mL であった。一方で AZE 単独の MQPs は高い溶解性を示し、AZE 原末と比較して 7 倍以上の溶出量を示した。一方で KTZ の場合には、KTZ 単独の MQPs は KTZ 原末とほぼ同程度の溶出量を示した。AZE と KTZ 間で調製した MQPs はそれぞれの原末と比較して高い溶解性を示し、中でも AZE と KTZ をモル比 1 対 1 で調製した MQPs では、AZE および KTZ とともに高い溶解性改善が確認できた。相互作用部位をそれぞれの化学構造式から推察すると、モル比 1 対 1 が最も可能性の高い比率となる。粉末状態で最も理想的に相互作用が形成できたモル比 1 対 1 では、溶出試験液に添加後、速やかな溶出が得られたとともに固相からの再結晶化が抑制されたため、高い溶解性の維持が可能であったと考えられた。

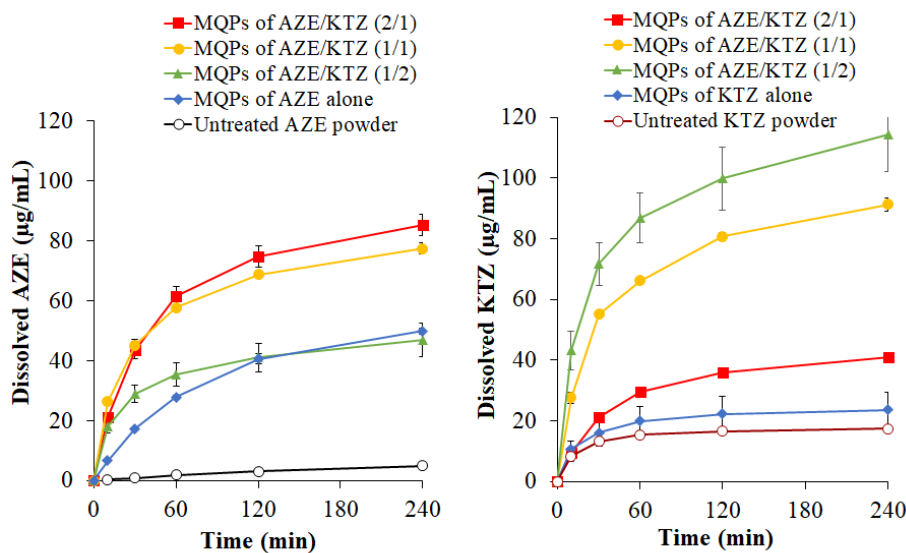


図 3 コアモルファスからの AZE および KTZ の溶解性評価

膜透過性の評価を PAMPA により行ったところ、AZE と KTZ を用いて調製した MQPs では、AZE および KTZ 共に膜透過性の改善が確認され、溶解性だけでなく両化合物の膜透過性の改善も可能であることが確認された。

(4) アゼルニジピンの経口吸収性評価

ラットに経口投与した際の AZE の血中濃度プロファイルを図 4 に、最高血中濃度 (C_{max})、最高血中濃度到達時間 (T_{max}) および血中濃度時間曲線下面 (AUC) の結果を表 1 に示す。AZE と KTZ を用いて MQPs を調製することで、AZE 原末と比較して 9 倍もの経口吸収性の改善が認められた。これはコアマルファス形成により、AZE の溶解性が改善されただけでなく、KTZ が肝臓での AZE の代謝を阻害することで、AZE の高い経口吸収性の改善が得られたと考えられた。

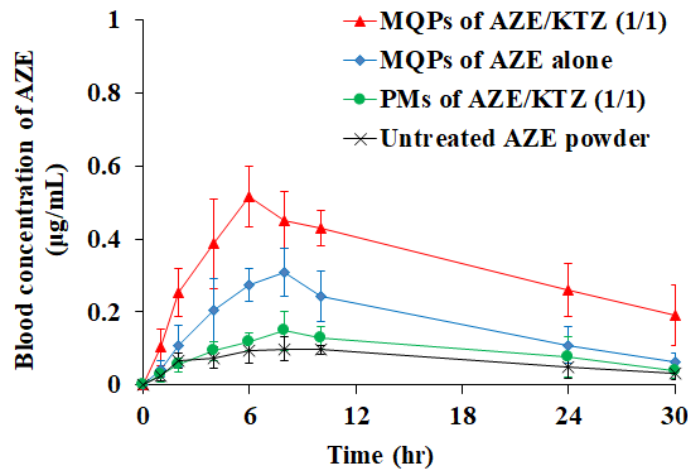


図 4 AZE の血中濃度プロファイル

表 1 最高血中濃度 (C_{max})、最高血中濃度到達時間 (T_{max}) および血中濃度時間曲線下面 (AUC)

	Untreated AZE powder	PMs of AZE/KTZ	MQPs of AZE	MQPs of AZE/KTZ
C_{max} (µg/mL)	0.10 ± 0.03	0.15 ± 0.05	0.31 ± 0.07	0.52 ± 0.10
T_{max} (h)	8.0 - 10.0	8.0	8.0	6.0
AUC _{0-30h} (µg·h/mL)	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.6	3.5 ± 1.3	10.3 ± 3.3

以上より、CYP 阻害剤を用いたコアマルファス形成により難溶解性かつ難吸収性を示す AZE の経口吸収性の改善が可能であった。コアマルファスは、使用する基剤によって機能性を付与することができる。今後様々な機能を有するコアマルファス形成を試み、創薬に貢献していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuta Hatanaka, Hiromasa Uchiyama, Kazunori Kadota, Yuichi Tozuka	4. 巻 65
2. 論文標題 Improved solubility and permeability of both nifedipine and ketoconazole based on coamorphous formation with simultaneous dissolution behavior	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Drug Delivery Science and Technology	6. 最初と最後の頁 102715
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jddst.2021.102715	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiromasa Uchiyama, Taiga Ando, Kazunori Kadota, Yuichi Tozuka	4. 巻 62
2. 論文標題 The formation of an amorphous composite between flavonoid compounds: Enhanced solubility in both oil components and aqueous media	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Drug Delivery Science and Technology	6. 最初と最後の頁 102410
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jddst.2021.102410	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内山博雅、花本夕華、門田和紀、戸塚裕一
2. 発表標題 膜透過性改善を指向したコアモルファス技術の構築とエマルションへの応用.
3. 学会等名 70回日本薬学会関西支部会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	戸塚 裕一 (Yuichi Tozuka) (50312963)	大阪薬科大学・薬学部・教授 (34413)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	門田 和紀 (Kazunori Kadota) (50709516)	大阪薬科大学・薬学部・准教授 (34413)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関