

シクロデキストリン類を用いた抗悪性腫瘍薬の物性制御と固形製剤化

研究代表者：小川法子（医療生命薬学研究ユニット）

研究分担者：小幡 徹（医療生命薬学研究ユニット）

古野忠秀（医療生命薬学研究ユニット）

研究協力者：山本浩充（医療生命薬学研究ユニット）

【背景と目的】

近年、薬効ターゲットに対する高い親和性を持つことで高い薬理効果が期待されるとして、多くの薬物やその候補化合物が合成、選択されている。これらの化合物の多くは、構造が複雑で疎水性であるため、水への溶解性が低い。難水溶性の薬物は、開発過程において十分な血中暴露が得られないなどの理由でドロップアウトするケースが多く、医薬品候補として高いポテンシャルを有する多くの化合物が患者のもとに届くに至っていない。

我々はこれまでに、難溶性のモデル化合物として、動物実験において経口投与で固形がんを含めた多くのがん種に優れた抗がん効果を発揮することが報告されている抗腫瘍候補化合物 1-(2-C-cyano-2-deoxy-β-D-arabino-pentofuranosyl)cytosine の N^4 -パルミトイル誘導体(CS-682)を用い、両親媒性高分子 Soluplus[®]を適用することで、溶解性改善ならびに、*in vitro* および *in vivo*（腹腔内投与）での抗腫瘍作用増強を報告してきた¹⁾。しかし、Soluplus[®]で溶解した CS-682 の経口投与による *in vivo* 評価では十分な効果を確認することができなかった。この原因として、薬物の可溶化が十分でなかったこと、ならびに長期間(1ヶ月)の *in vivo* 投与計画によって、薬物が分解した可能性が考えられた。

難水溶性化合物の可溶化技術の一つに、シクロデキストリン (CD) 類の利用がある。CD は、グルコピラノース単位から形成される α -1,4 結合の環状糖類であり、水溶液中で疎水性の空洞内に疎水性物質であるゲスト化合物を取り込み(包接し)、可溶化や安定化等の機能を付与することができる。そこで本研究では、水溶性の CD 誘導体であるヒドロキシプロピル β -CD (HP- β -CD) を用いて抗腫瘍候補化合物を包接し、溶解性改善を図った。ま

た、長期にわたる *in vivo* 評価に備えて、抗腫瘍候補化合物の液体および固体状態での安定性を評価した。さらに、HP- β -CD を添加した製剤について、経口投与による *in vivo* 評価を行った。

【実験方法】

溶解性評価と安定性評価 一定過量の抗腫瘍候補化合物 (CS-682) に上記添加剤の水溶液 (Soluplus[®] : 4, 40, 100 mg/mL, HP- β -CD : 100, 200, 300 mg/mL) を加え、平衡時の上清中の薬物濃度を定量することで薬物溶解性の評価を行った。また、薬物の安定保存を目的として、Soluplus[®]ならびに HP- β -CD を用いて薬物の固形製剤化を行った。固形製剤化は、遠心エバポレーター又は凍結乾燥機を用いて、添加剤による可溶化液より溶媒を留去することにより行った。さらに、薬物の安定性について、添加剤により可溶化した薬物溶液（液体状態）と、薬物溶液より溶媒を留去させた固形製剤中の薬物量を一定期間 (0, 7, 30 日) 経過後に定量することにより、評価した。各試料は、室温、冷蔵、冷凍で保存し、試料中の薬物量は液体クロマトグラフ法 (HPLC) により定量を行った。(実施者：小川、古野)

動物実験による抗腫瘍効果の評価 ICR マウス (5 週齢, 雌) の下肢皮下に腫瘍 (S-180) を移植し、固形がん動物モデルとした。S-180 移植後 3 日後に、固形がんモデルマウスに評価試料 (イオン交換水、HP- β -CD300mg/mL 溶液、CS-682 水分散試料、CS-682 含有 HP- β -CD300mg/mL 製剤) の経口投与を開始した。HP- β -CD300mg/mL 溶液及び CS-682 含有 HP- β -CD300mg/mL 製剤は、凍結乾燥機により溶媒除去し固形製剤とし、使用まで冷凍保存した。各試料は、使用時にイオン交換水を加

え、分散又は溶解させて使用した。試料の投与は、週 5 日、4 週間にわたって行い、対照群と処理群はそれぞれ 8 匹ずつで評価した。経時的に腫瘍径と体重を測定し、腫瘍重量と延命率により薬物の抗腫瘍効果を評価した。なお、腫瘍重量は、腫瘍投与後 5 週でマウスをエーテル麻酔にて安楽死させ、腫瘍を摘出することにより測定した。また、2～3 日間での体重減少が 25%に達した場合、又は腫瘍が体重の 10%を超えた場合を限度として人道的エンドポイントを適用した。(実施者：小幡、小川)

【結果と考察】

抗腫瘍候補化合物 (CS-682) 単体での水への溶解度は、HPLC の検出限界以下 ($<0.02 \mu\text{g/mL}$) であるが、Soluplus[®]又は HP- β -CD を添加することで溶解度は向上した。Soluplus[®]では、添加濃度が高くなるに従い CS-682 の溶解度は増加し、Soluplus[®] 100 mg/mL の添加において、CS-682 の濃度は $79.8 \pm 18.9 \mu\text{g/mL}$ となった。HP- β -CD においても、添加濃度が高くなるに従い CS-682 の溶解度は増加し、HP- β -CD 300 mg/mL の添加において、CS-682 の溶解度は $640.5 \pm 44.5 \mu\text{g/mL}$ となった。以上より、Soluplus[®]よりも HP- β -CD の方が CS-682 を可溶化できることが明らかとなった。

薬物の安定性評価を行った結果、Soluplus[®]と HP- β -CD のいずれの添加試料においても、液体状態よりも固体状態での保存で CS-682 が安定に存在することが明らかとなった。また、液体状態の保存では、室温保存よりも冷蔵保存の方が CS-682 の残存率は高くなったことから、液体で保存する場合は冷蔵保存が適することが確認された。さらに固体保存では、冷蔵保存の方が安定であることが明らかとなった。したがって、*in vivo* 評価用の試料作製・保存の際には、試料を固体状態とし、冷凍での保存が望ましいことを確認した。

固形がん移植マウスに 4 週に渡り各試料を経口投与した結果、対照であるイオン交換水と HP- β -CD 溶液を投与した群では、投与 4 週間後には腫瘍体積が $10,000 \text{ mm}^3$ 近くまで大きくなった。一方、CS-682 を含有する CS-682 水分散液と HP- β -CD 存在下 CS-682 試料では $4,000 \text{ mm}^3$ 程度で

あり、腫瘍の増大が抑制される傾向を示した。CS-682 含有試料では、HP- β -CD 含有 CS-682 試料の方が CS-682 水分散試料に比べて腫瘍の増大を抑える傾向がみられた。しかしながら、いずれの CS-682 含有試料も腫瘍の増大を有意に抑えることはできなかった。本研究での CS-682 の投与量は、これまでに報告のある投与量と比べて、著しく低いものであるため、投与量をより増量して検討することで、有意な効果が期待される。

以上より、抗腫瘍候補化合物に水溶性 CD 誘導体である HP- β -CD を適用することで、Soluplus[®]よりも溶解性改善することを明らかとした。また、安定性評価の結果より、固形製剤化し冷凍保存することで長期投与が可能となることを見出した。今後、*in vivo* 評価における投与濃度を増量し、HP- β -CD 製剤化の有用性を検討し報告したい。

【参考文献】

- 1) Improvement of the antitumor activity of poorly soluble sapacitabine (CS-682) by using Soluplus[®] as a surfactant, T. Obata, Y. Suzuki, N. Ogawa, I. Kurimoto, H. Yamamoto, T. Furuno, T. Sasaki, M. Tanaka, *Biol. Pharm. Bull.* 37, 802-807 (2014).

【謝辞】

愛知学院大学医療生命薬学研究所 医療生命薬学助成により、本研究を実施できましたことに感謝申し上げます。

【研究成果】

学会発表

1. 小川法子, 竹市泰佳, 小幡徹, 古野忠秀, 高橋知里, 田中基裕, 山本浩充, シクロデキストリンを用いた抗悪性腫瘍薬の溶解性改善と製剤化, 第 34 回シクロデキストリンシンポジウム, 名古屋, 2017 年 9 月