

抗悪性腫瘍薬の物性制御と抗腫瘍効果

研究代表者：小川法子（創薬科学ユニット）

研究分担者：小幡徹（創薬科学ユニット）、古野忠秀（生命薬学ユニット）

研究協力者：田中基裕（創薬科学ユニット）、山本浩充（創薬科学ユニット）

新規抗悪性腫瘍薬の中には*in vitro*評価や動物実験では高い有効性を示すが、臨床試験では有効性が確立できないものが少なくない。*in vitro*評価や動物実験で投与される処方では、界面活性剤や有機溶媒等で薬物が可溶化されているが、これらの処方は臨床適用できないため、臨床適用を可能とする薬物の物性改善が必要となる。本研究では、上記問題点を有するモデル化合物として、抗腫瘍薬1-(2-C-cyano-2-deoxy- β -D-arabino-pentofuranosyl)cytosineのN4-パルミトイル誘導体 (CS-682)を用いて、(1)溶解性の改善、(2) *in vitro*抗腫瘍効果の評価、(3) *in vivo*抗腫瘍効果の評価、(4)微粒子製剤化、(5) CS-682の溶液および固体状態での安定性評価を行った。

(1) 溶解性の改善 溶解性改善用添加剤として、界面活性剤である Tween 80、新規両親媒性高分子である Soluplus[®] (Sol)、Kolliphor[®] TPGS (TPGS)を用い、薬物の溶解度に及ぼす影響について検討した。過量の薬物に各種添加剤の水溶液を添加して48時間振とうした後、上清中の薬物濃度を定量した。その結果、抗腫瘍薬 CS-682は著しく難水溶性であるが、添加剤を共存させることで溶解性を著しく改善できた。またその効果は、Tween 80 \approx TPGS > Solであった。(小川、古野担当)

(2) *in vitro* 抗腫瘍効果 水に薬物を分散させた懸濁液と Sol に薬物を可溶化した薬物溶液について、数種の培養がん細胞に対して *in vitro* 抗腫瘍効果を実施した結果、薬物懸濁液では溶解性が低いため、抗腫瘍効果が認められなかったのに対し、Solにより可溶化した系では、抗腫瘍効果が認められた。なお、溶解性改善効果の高かった Tween 80 および TPGS は、薬物を含まない水溶液において、100 μ g/mL 以上で細胞毒性が認められた。一方、Sol では、実施した濃度範囲 (0.25 ~ 10000 μ g/mL) では、毒性はほぼ認められなかった。(小幡担当)

(3) *in vivo* 抗腫瘍効果 マウス白血病細胞を播種した CDF1 マウスに対して薬物の Sol 溶液を腹腔内投与することで、*in vivo* 抗腫瘍効果の評価した。*in vitro* で抗腫瘍効果が認められた Sol により薬物を可溶化した系では、Sol に薬物を分散させた懸濁液に対して1.5倍の延命効果を示し、*in vivo* においても Sol による可溶化が抗腫瘍効果に有効であることを確認することができた。しかし、

同動物モデルにおける経口投与による評価では、十分な効果を確認することができなかった。そこで、同薬物の微粒子製剤化を検討することとした。(小幡担当)

(4) 微粒子製剤化 薬物を精製水及び各種添加剤水溶液中で、マイクロフルイダイザー (パウレック社製)により湿式粉碎を行った。得られた粒子について、動的光散乱法を用いて粒子径を測定したところ、湿式粉碎により、薬物結晶を200 nm程度まで微細化することができることが確認され、薬物の溶解度 (0.2 μ m フィルターを通過した溶液濃度)も微細化により向上することが確認された。しかし、*in vitro* において、抗腫瘍効果を実施した結果、微細化による有用性は見出すことができなかった。そこで、経口投与を目的とした CS-682 の錠剤化を目指した固形製剤化とさらなる溶解性改善を目指して、CS-682の固体分散体化を試みた。固体分散体化は、CS-682に Sol 溶液および糖アルコール等の添加剤を加え、遠心エバポレーターで溶媒留去することで行った。溶媒に水を用い、糖アルコールであるマンニトールを添加することで、CS-682の溶解性は向上し、粉末状の試料を得ることができた。今後、固体分散体の調製法および添加剤のさらなる検討を重ね、CS-682の溶解性をより改善できる製剤設計を行う予定である。(小川担当)

(5) CS-682の溶液および固体状態での安定性 実際の製剤化を考慮すると、固体状態及び溶液状態における CS-682の安定性を確保する必要がある。そこで、Solで可溶化した CS-682を固体状態とし、各種温度で保存した後、安定性を評価した。その結果、室温では固体状態で保存することにより、溶液状態よりも安定性が向上した。また、より低い温度で保存するほど安定性は高くなった。一般的な反応と同様に、温度が低いほど分解反応の活性化エネルギーを超える分子が減少したことで、安定性が高くなったと考えられる。CS-682の分解には水が関与することが報告されていることから、今後、各試料の含水率を測定し、安定性と水の関係について、明らかにする予定である。(小川、古野担当)

以上より、Soluplus[®]を用いた可溶化技術による製剤学的手法は、抗腫瘍薬である CS-682の溶解性を改善し、抗腫瘍効果を示すことが示唆された。今後、固体分散体の

調製法および添加剤のさらなる検討を重ね、CS-682の溶解性をより改善できる製剤設計を行う予定である。さらに固体製剤の長期保存に向けて、試料の含水率の測定等を行い、安定の高い製剤設計を行う予定である。

謝辞

本研究は、愛知学院大学医療生命薬学研究所 医療生命薬学助成を受けて実施した。関係各位に深謝する。

研究成果

T. Obata, Y. Suzuki, N. Ogawa, I. Kurimoto, H. Yamamoto, T. Furuno, T. Sasaki, M. Tanaka, Improvement of the antitumor activity of poorly soluble sapacitabine (CS-682) by using Soluplus[®] as a surfactant, *Biol. Pharm. Bull.* **37**(5) 802-807 (2014).