

バイオアベイラビリティ改善に向けた製剂的・動態的戦略

万有製薬 薬物動態研究所 石井康行

1. はじめに

100万を超える化合物が、UHTS (ウルトラ・ハイスループット・スクリーニング) にかかれ、短期間に目的の生物活性を持った化合物の顔が見えてくる。これらヒットと呼ばれる化合物は、さらに幾つもの篩いかけられた後に、いわゆるリード化合物として認定される。リード化合物を出発点として、メディシナル・ケミストの手により、あるいは combinatorial chemistry の手法を用いて、多くの化合物が合成され、それらの生物活性が HTS で確認され、構造と生物活性の関係 (SAR, structure-activity relationship) が明らかになり、生物学的に高活性な化合物へと姿を変えていく。当然のことながら、これらの化合物が全て医薬品になるわけではなく、非臨床開発段階で医薬品としてのポテンシャルが多角的に評価される。このように、多くの難関を突破した化合物のみが臨床試験に進むことができるが、新薬申請までたどり着く割合は 10% 程度であることが報告されている¹⁾。

では、何故臨床段階で開発を断念したのであろうか？イギリスでの調査によると、不十分な薬物動態 (PK) 特性が原因で開発を断念した化合物が全体の 40%、安全性の問題が 20% を占めた²⁾。

In vitro HTS や combinatorial chemistry の手法によって標的に対し高い生物活性を持った化合物が短期間に得られるようになってきたが、それらの化合物全てが開発可能であるとは限らない。一般に、in vitro HTS によって得られた生物学的に高活性な化合物は、難水溶性で、脂溶性が高く、分子量も大きい傾向にある。しかしながら、これらの性質は、経口投与の際の吸収性や代謝安定性に大きな影響を与え、十分なバイオアベイラビリティが得られず、結果として in vivo での有効性が確認できない場合がある。この問題を克服するためには、創薬段階からいわゆる "drug-likeness" を意識したリード化合物の選択・至適化をする必要がある。"Drug-likeness" の定義は、研究者により少々異なるが^{3, 4)}、ヒトの in vivo において、良好な薬物動態特性を有し安全性の面でも優れた化合物であることが、drug-like であると考えられる。したがって、創薬段階のスクリーニング並びに化合物の至適化の際に、"drug-likeness" の概念を取り入れること、具体的には、SAR のみに焦点をあてることなく、化合物の溶解性、膜透過性並びに代謝安定性と構造の関係をも考慮した戦略を立てることが、安全で有効な医薬品を創製するために必須であると考えられる。以下に、創薬段階での我々の取り組みを紹介する。

2. 溶解性

経口投与された化合物が体循環に到達するまでには、多くの障壁を越える必要がある (Fig. 1)。まず、投与された化合物は消化管内で、溶解しなければならない。化合物の結晶形・粒子径、安定性、投与液に用いる溶媒、消化管内容物などが、化合物の溶解

性に影響を与えられられるが、化合物の溶解度スクリーニングとしては、溶液

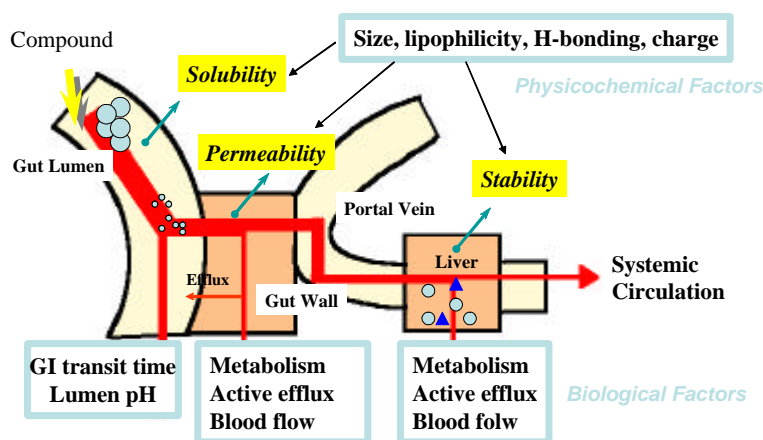


Figure 1. Factors which influence the bioavailability of drugs

沈殿法を用いている。DMSO に溶解した化合物を 96-well plate 上で水あるいはバッファで希釈し、生成した沈殿をフィルタープレートで遠心ろ過したのち、ろ液を高速 HPLC で測定することにより、化合物の溶解度を判定している。従来の固体溶解法（固体の飽和溶解量を測定）と比較した結果、相関も良好であった（Fig. 2）

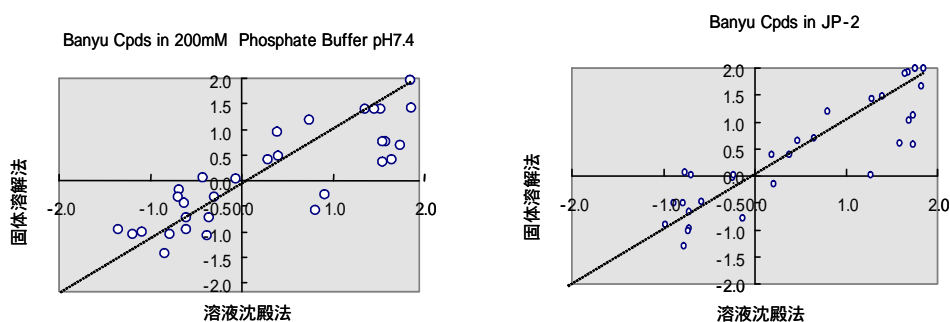


Figure 2. High-speed measurement for solubility of compounds

3. 膜透過性

この過程は非常に複雑であることから、Caco-2 や MDCK などの生細胞を用いて、みかけの膜透過係数 (P_{app}) を求め、膜透過性の指標としている。しかしながら、生細胞を用いた実験は時間と手間がかかることから、簡便に膜透過性を予測できる何らかの指標が望まれる。膜透過に影響を与える因子としては、化合物の脂溶性、分子量、イオン化の程度、水素結合能などが上げられることから、水・オクタノール間の分配係数を求めるシェイクフラスコ法を 96-well deep plate に適用して、簡便かつ迅速に $\log D$ を求める方法を開発した。得られた $\log D$ 値は膜透過性の指標として用いるだけでなく、標的部位での薬効発現の指標としても用いている。さらに、計算で求められるパラメータのうち $\text{Clog } P$ や PSA (polar surface area) について、Caco-2 細胞を用い実験的に求め

た Papp との相関性について検討した。その結果、Clog P との間には良好な相関が認められなかったが、PSA が 40 ^2 以下の場合、膜透過性が良好であった (Fig. 3)。

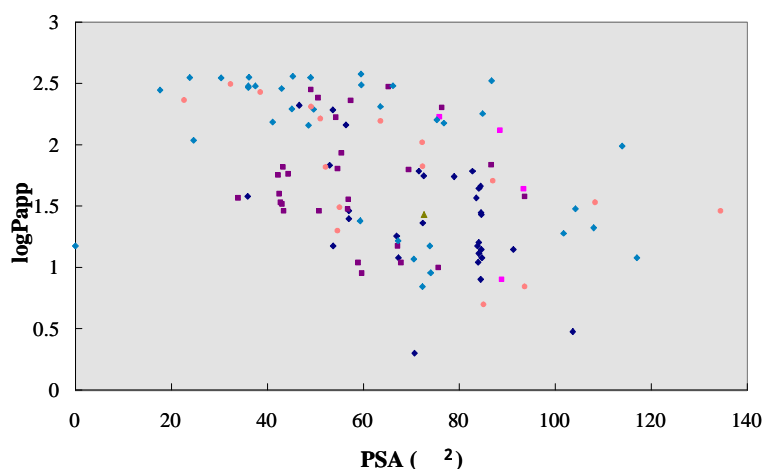


Figure 3. Plot of polar surface area (PAS) versus Caco-2 cell permeability (Papp)

上述のように小腸膜透過性を考える上で、化合物の物性が重要であることは言うまでもないが、これに加えて生体側の因子についても検討する必要がある。すなわち、小腸に存在する薬物代謝酵素や P-gp などのトランスポーターの関与である⁵⁾。このような観点から、我々の研究室では P-gp 蛋白を発現させた LLC-PK1 細胞系を用い、膜透過性(親細胞でもとめた Papp) 並びに P-gp に対する基質性を同時に測定している。本測定系スループットを上げるため、細胞のメンテナンスや測定を全自動で行う機器を導入し、マニュアル法と比較検討している。

4. 代謝安定性

バイオアベイラビリティを考える上で、最後の関門が肝臓による first pass metabolism である。化合物の代謝安定性に関する in vitro 評価系は種々報告されているが、我々は創薬初期段階では、肝ミクロソーム系を用いている。化合物と肝ミクロソームのインキュベーションを自動で行い、反応液中の未変化体を High-Flow LC-MS/MS で定量している。肝ミクロソーム系は、簡便かつ迅速であること、種差が検討できることなど、魅力的である。この段階の代謝安定性情報としては、極端に不安定な化合物をふるい落とせば十分である (Fig. 4)。

5. おわりに

バイオアベイラビリティ向上のための戦略は、言葉を変えれば製剤・薬物動態の枠にとらわれない "drug-likeness" の至適化である。理想的には、"drug-likeness" にかかわる因子を構造式から予測できれば、UHTS と同じステージで最初のスクリーニングフィルターとして利用できる。リード化合物至適化の段階では、予測性の質を高め、さらにスループットを向上させることにより、in vitro "drug-likeness" 情報をケミストと共有し、構造との関連を明らかにしていく必要がある。

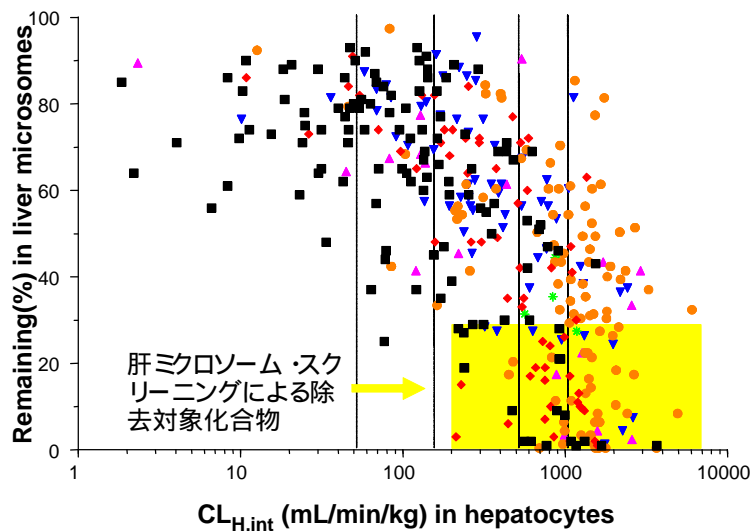


Figure 4. Plot of intrinsic clearance in freshly-isolated rat hepatocyte versus %remaining of parent compound in hepatic microsomes

さらには、トランスポーターによる輸送をどのように評価し、どのようにケミストにフィードバックするかは、今後の大きな課題のひとつである。

創薬段階で製剤・薬物動態に係わる研究者の戦いは、始まったばかりである。創薬初期の段階から drug-likeness を考慮した”speedy”で”simple”なスクリーニング系を”flexible”に組み合わせ、ヒトにおいて有効で安全な医薬品を正確に予測することが、創薬段階で製剤・薬物動態に係わる研究者の目標であると考えている。

[参考文献]

1. Lipper, RA. (1999) *Modern Drug Discovery* 2(1) 55-60.
2. Prentis RA, Lis Y, Walker SR. (1988) *Br. J. Clin. Pharmacol.* 25 387-396.
3. Walters WP and Murcko MA. (2002) *Advanced Drug Deliv. Rev.* 54 255-271.
4. Lipinski CA. (2000) *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 44 235-249.
5. Lin JH and Yamazaki M. (2003) *Clin. Pharmacokinet.* 42(1) 59-98.