

《若手研究者紹介》



創薬における早期原薬・製剤研究の貢献

小 野 静 香* Shizuka Ono

小野薬品工業株式会社 創薬技術部

自 己 紹 介

筆者は、大学時代から入社4年目まで創薬化学研究に携わり、その後、現在に至るまで物性研究に従事している。創薬化学研究は医薬品候補化合物を有機合成により創製する“物づくり”であり、生体内標的と化合物との分子レベルの世界であった。一方、物性研究は医薬品候補化合物から原薬や製剤を形成する“品づくり”であり、分子レベルから患者の服用まで、全体像を見据えた視点の拡大につながった。

有効性・安全性・動態などの特性は、化学構造が定まった時点で決定づけられる。それゆえ、有効性・安全性・動態研究は、化合物に固有の特性（運命）を評価することに収束する。一方、物性研究は化合物の特性評価のみならず、“品づくり”の過程で自身のアイデアや着想に基づいたエッセンスを入れ込むことで運命を切り開くこともできる。粒子径、結晶形、塩などの原薬形態の選定や溶解性改善・安定性向上を志向した製剤化において、単に分子構造に起因した運命を評価するだけでなく、自分の意図する工夫や加工を施すこともできる。“品づくり”は至高（思考）の料理であり、その方法は千差万別である。プロジェクトの中で如何に至高の料理を作り上げるかが物性研究者の腕の見せどころと考える。

“化合物の実力を最大限に発揮させることは、研究開発の成功確率を高め、医薬品としての価値の最大化につながる。”創薬における早期の段階で、化合物の実力を最大化するための“品づくり”を効率的に実施するためには、自分のアイデアや独自性を活かしていかなければならない。その取り組みこそ、真の創薬への貢献と考えている。

*1995年3月北海道大学大学院薬学研究科修士課程修了。同年4月小野薬品工業株式会社入社。2002年北海道大学博士号取得。好きな言葉：志を立ててもって万事の源となす。連絡先：〒618-8585 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 E-mail: sh.ono@ono.co.jp

1. は じ め に

創薬における「早期原薬・製剤研究」は、有効性評価やドラッグデザインのように医薬品創出の根幹の役割を担うわけではない。早期原薬・製剤研究によって“化合物の実力の最大化”を達成することで、存在意義と価値があると考えている。

以下に社内検討事例として、「開発候補化合物選択時の難溶解性の課題に対する原薬最適化」と「早期製剤戦略による安全域の最大化」について紹介する。

2. 検討事例1「開発候補化合物選択時の難溶解性の課題に対する原薬最適化」

2.1 難溶解性化合物の定量的リスク評価と溶解性改善

創薬プロセスにおいて、その後の開発リスクを未然に回避する化合物選択は重要である。

例えば、難溶解性に起因した吸収低下のリスクを回避するために、創薬早期から溶解性スクリーニングによる難溶解性化合物の排除が実施されてきた¹⁾。しかしながら、生理活性を中心とした構造最適化の結果として、難溶解性化合物の選択を余儀なくされるプロジェクトも存在する。このようなプロジェクトにおいて開発候補化合物を選択する際、難溶解性に起因したヒトでの吸収低下のリスクを正確に見極めることが求められる。また、工業化を見据えて、将来的な原薬形態や製剤化を視野に入れた候補化合物の選択も重要である。

特に、工業面から優先選択される最安定結晶形の原薬が低い溶解性を示す場合、ヒトにおける吸収率低下のリスク評価と溶解性改善の可能性判断を迅速に実施し、原薬を最適化する必要がある。創薬のスピードアップが求められ、十分な検討期間がない状況で原薬最適化を実践するためには、経験と新規理論を含めた予測性の向上が肝要となる。

溶解性改善を伴う原薬の最適化には種々の手法があるが、フリー体原薬の粉碎や塩への変換は最初に検討されることが多い。なかでも塩への変換は、溶解性が向上しても、吸湿性や安定性などの原薬物性に問題があるケースや結晶化できないケースもある。このような場合、最適な塩の探索に多くの時間・労力・原薬量を要する。したがって、原薬最適化を効率的に検討するためには、溶解性改善法の選択時にフリー体原薬の粉碎か塩への変換か、成功確率がより高い手法を優先的に選択することが必要である。また、創薬段階では原薬が十分に提供されないことも多く、少量で検討可能な評価法を設定することも求められる。

次項では、難溶解性化合物 ONO-X の原薬最適化における効率的评价の事例について紹介する。

2.2 難溶解性化合物の原薬設定における方法論

化合物 ONO-X は膜透過性が良好である一方、原薬の緩衝液 (pH 6.8 以下) への溶解度が 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と低く、難溶解性である。予想されるヒト有効最大投与量から計算した Dose Volume (投与された薬物が完全溶解するために必要な液量であり、難溶解性の指標。数値が高いほど、吸収率低下の可能性が高まることを意味する) は 10 L 以上になり、溶解性に問題なしと判断できる 250 mL をはるかに超える。そこで、本化合物における難溶解性への対応として、期間および原薬必要量が多くなる塩変換を検討する前に、原薬粉碎の溶解性改善への効果を *in silico* で予測した。

原薬を粉碎した場合、必ずしも吸収改善効果が得られるわけではない。粉碎による吸収改善効果は、未粉碎原薬の溶解速度が膜透過速度よりも遅い場合に有効と考えられる。また、Noyes-Whitney の溶解速度式から、理論上、粉碎された原薬の表面積増加率と溶解速度上昇率は一致すると考えられるが、粉碎原薬表面の親水性が増加する場合は、表面積増加以上の溶解速度改善効果が得られるケースも想定された。したがって、粉碎による親水性面の増加について *in silico* を用いて予測することで、実際に粉碎検討に十分な原薬がない時点でも、粉碎による溶解速度への影響を推測可能と考えた。

アクセルリス社の Morphology は、結晶構造から結晶形態を予測するソフトウェアである。本ソフトウェアでは、結晶構造における各結晶面の成長率が、

その付着エネルギー (成長中の結晶表面に成長片が付着する際に放出されるエネルギー) に比例すると仮定している。すなわち、付着エネルギーが小さい結晶面の成長率は遅くなり、逆に付着エネルギーが大きい結晶面の成長率は速くなり、成長率における結晶面間の相対比にもとづいて結晶の外部形状が予測される。原薬粉碎の観点からは、結晶形状を形成している成長面の中で付着エネルギーが最小の面は、粉碎時に優先的に開裂すると考えられる。付着エネルギーが小さく、粉碎により出現しやすい結晶面の物性 (親水性) が溶解速度に関連すると考え、粉碎による溶解速度改善効果の推測を *in silico* 手法で検討した。

まず、数 mg の ONO-X の単結晶より得られた結晶構造から *in silico* 予測した結晶の外部形状は、実際の安定晶の形状と類似していた (図 1)。安定晶取得時に溶媒や不純物などによる影響が少ないと仮定すると、*in silico* 予測結果が実際の形状を反映していたことから、本ソフトウェアの付着エネルギー計算は妥当であると考えられた。

つぎに、付着エネルギーが最も小さく、粉碎時に優先的に開裂しやすい面を予測した。ONO-X の外部形状を形成している結晶面の中で付着エネルギーが最小となるのは (001) 面であり (表 1)、粉碎で (001) 面が優先的に開裂し、露出しやすいことが予想された。付着エネルギーはファンデルワールス力、静電的相互作用、水素結合の総和として算出される

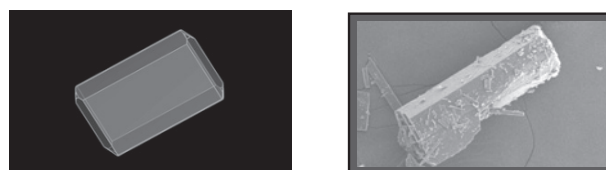


図 1 ONO-X の *in silico* 形態予測結果 (左図) と実際の取得結晶の形状 (右図)

表 1 ONO-X (原薬結晶) の各結晶面の付着エネルギー

結晶面 (hkl)	付着エネルギー (kJ/mol)	静電的相互作用と水素結合の占める割合 ^{a)} (%)
(001)	-31.4	76.6
(101)	-47.5	18.4
(100)	-68.7	48.6
(011), (0-11)	-102.0	45.7
(111), (1-11)	-109.0	46.1
(110), (1-10)	-119.1	43.3

^{a)} (静電的相互作用 + 水素結合) / 付着エネルギー。

が、(001)面において、静電的相互作用と水素結合によるエネルギーが付着エネルギーの約77%の割合を占めていた。この割合が高いことは、水分子との親和性が高いことを示唆している。さらに、(001)面は溶解に寄与する、親水性の高い官能基が並ぶ表面構造を形成していた。したがって、粉碎品は未粉碎品よりも親水性面が露出する傾向にあり、結晶表面の水和能が高まり、かつ親水性面は付着エネルギーが最小のため分子がより溶出しやすく、粉碎による表面積増加以上の溶解速度改善につながると予測した。

難溶解性化合物の溶解性改善が吸収性改善に及ぼす効果を評価するためには、科学的根拠に立脚した手法で予測することが重要である。摂南大学の山下教授らが開発したD/Pシステム²⁾は、ヒトの消化管液を反映した溶出相と、ヒトの消化管上皮細胞を模したCaco-2細胞とを使用した*in vitro*評価系である。消化管環境における薬物の溶出と膜透過の過程を同時に評価できるため、原薬の溶解性改善に伴うヒト吸収率の改善効果を予測できることが期待される。D/Pシステムによるヒト吸収率の予測性に関する報告²⁾に加えて、社内の難溶解性化合物を用いて実施した検証試験からも、本評価系は有用であることを確認している。

数十mgの少量の原薬を使用して、ONO-Xの未粉碎品のヒト吸収率予測をD/Pシステムで検討した。原薬最適化検討時の未粉碎品の粒子径は、体積基準の累積50%径が9 μm 、累積90%径が13 μm であり、大きくはなかった(表2-1)。これは、粉碎工程で得られる標準的な粒子径範囲であった。にもかかわらず、予想有効投与量(100mg)でのヒト予測吸収率は27%と低く(表2-2)、臨床試験において低い吸収性が問題になる可能性が示唆された。

そこで、前述の*in silico*予測から粉碎による効果的な溶解性改善が示唆されていたため、実際に粉碎効果を検討した。その際、将来的な工業化を視野に入れ、乾式粉碎を選択した。さらに、創業のスピードアップを考慮して検討原薬量を極力削減するために、数百mgからでも対応可能なジェットミル装置(MC-ONE型, Jetpharma社製)を用いて少量粉碎を実施した。粉碎により原薬の粒子径は約1/2、比表面積は約2倍の変化であったのに対し、溶解性は3倍以上向上した(表2-1)。このような粉碎による表面積増加以上の溶解性改善効果は、*in silico*で示唆

表2-1 ONO-X原薬の物性パラメータ

		未粉碎品	粉碎品
体積基準	累積50%径(μm)	9	4
粒子径	累積90%径(μm)	13	7
BET比表面積(m^2/g)		4.5	8.4
溶解性 ^{a)}	溶解濃度 ^{b)} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	9	29
(人工腸液)	溶解速度比	1	: 3.2

^{a)}温度37°C, 測定時間5, 15, 30, 60, 120 min, 攪拌速度200 rpm, ^{b)}測定時間120 min.

表2-2 *in vitro*ヒト予測吸収率と臨床ヒト吸収率相関

		未粉碎品	粉碎品
<i>in vitro</i> ヒト予測吸収率(%)	投与量	27	68
	100mg(空腹)	(28 ^{a)})	(70 ^{a)})
	投与量	20	63
	600mg(空腹)	(20 ^{a)})	(64 ^{a)})
臨床ヒト吸収率概算値 ^{b)} (%)		—	70
投与量	100mg(空腹)		

^{a)}溶液に対する粉碎品の相対吸収率, ^{b)}完全溶解となる低用量投与時のAUCに対して、用量比に応じて増加したAUCの相対%.

された親水性面の露出と関連が深いと考察している。

さらに、本粉碎品の溶解性改善が吸収性改善にどの程度に寄与するかを、同じくD/Pシステムで評価した。予想有効投与量(100mg)における粉碎品のヒト予測吸収率は68%に改善し、より高投与量(600mg)におけるヒト予測吸収率も同程度であった(表2-2)。

粉碎によって吸収低下を克服できる可能性が*in silico*予測/*in vitro*評価で示唆されたことにより、最適化原薬として粒子径を制御した粉碎品を効率的に選択し、ONO-Xを開発候補化合物として前臨床段階へステージアップすることができた。

なお、粉碎品原薬を用いた臨床試験結果でのヒト吸収率概算値(70%:表2-2の脚注で説明)と*in vitro*予測による吸収率(70%)は同等であった(表2-2)。本結果から、D/Pシステムによる*in vitro*の定量的な吸収率予測、および一連の原薬設定における方法論の妥当性が確認できた。

以上、*in silico*手法を用いた理論的な戦略構築により溶解性改善に対する粉碎の寄与度を予測し、粉碎検討を優先的に選択した。さらに、少量原薬を用いて粉碎による吸収改善効果を*in vitro*評価で定量的に判断することで、難溶解性化合物の原薬最適化を効率的に実施することができた。一連の方法論と

プロセスは創薬研究の効率化にとって有益であり、創薬段階で吸収性改善の可能性を判断して候補化合物を選択することは、結果的に開発リスクの低減につながるかと考えている。

3. 検討事例 2「早期製剤戦略による安全域の最大化」

医薬品は、有効性を確保しつつ副作用の発現をできる限り抑制しなければならない。医薬品の中には徐放性製剤にすることで、原薬の有する副作用の発現を低減させ、有効性を持続させた事例もある³⁾。

創薬段階において、経口剤開発を志向した化合物 ONO-Y は優れた有効性を示していたが、安全性の課題を有していた。ONO-Y の溶液経口投与で消化器症状が発現し、特にサルにおいては安全域が 3 倍程度と狭く、ヒトにおいても消化器症状が問題になることが危惧された（なお、本化合物の原薬の Dose Volume は 250 mL より小さく、毒性発現用量においても溶液投与となる）。

毒性（消化器症状）が血中濃度の急激な立ち上がり、すなわち最高血中濃度（ C_{max} ）に依存し、かつ有効性は C_{max} に依存しないならば、徐放性製剤により血中濃度を平坦化して安全域を拡大することが可能である。このような製剤的工夫による安全域の拡大は、臨床試験のステージで実践されるケースが多い。しかしながら、製剤変更による開発スピードの遅延を抑え、安全域を最大化した製剤で臨床試験に臨むためには、前臨床試験開始と同時に徐放性製剤での開発を決定することが得策と考えた。

徐放化の必要性の判断には、 C_{max} の抑制により毒性が低減されるか否かを明確にすることが必須である。本検証に使用する徐放性製剤を取得するために、1) ONO-Y の放出速度を遅延させた際のカニクイザ

ル血中濃度推移シミュレーション、2) 製剤からの放出プロファイルの設定、3) 試作徐放性製剤を用いたカニクイザル血中動態確認、の手順で検討を実施した。

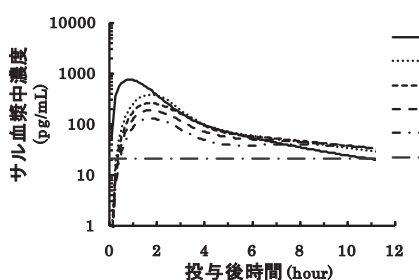
最初に、市販の薬物動態解析ソフトウェアの GastroPlus™ を用いて、ONO-Y の 0 次放出型の徐放性製剤をカニクイザルに経口投与した際の血中濃度推移のシミュレーションを実施した。安全域 10 倍の獲得を目指して、 C_{max} が溶液投与時の 1/3 以下で、かつ推定有効濃度が 12 時間持続する血中濃度推移を指針とした。

GastroPlus™ で最適化したカニクイザル吸収モデルを用いた血中濃度推移シミュレーションでは、本化合物の 50% が溶出する時間（50% 溶出時間）が 1.5 時間以上の徐放性製剤投与の際、 C_{max} が溶液投与時の 1/3 以下となった（図表 1）。また、50% 溶出時間が 1.5~3 時間の製剤投与時には、AUC（血中濃度曲線下面積）が溶液投与時の 62~45% に低下するが、投与後 12 時間血中濃度（ C_{12h} ）は推定有効濃度を維持すると予測された。平坦化の程度を示す C_{max}/C_{12h} は溶液投与時では 43 倍であるのに対し、50% 溶出時間が 3 時間の製剤投与時では 4 倍であり、血中濃度推移の平坦化が見込まれた。

以上の検討結果から、毒性低減についての検証を最終目標として望みとする血中プロファイルを得るためには、50% 溶出時間が 3 時間の徐放性製剤が適切であると予測した。これを指標に徐放性製剤を試作し、カニクイザルでの血中動態を確認した。

ONO-Y の溶液経口投与で毒性が確認された用量で、50% 溶出時間が 3 時間のマトリックス型の試作徐放性製剤を絶食下サルに経口投与した。その際の C_{max} は溶液投与時と比べて約 1/5 に低減し、かつ C_{12h} は推定有効濃度を維持しており、予測と同様の

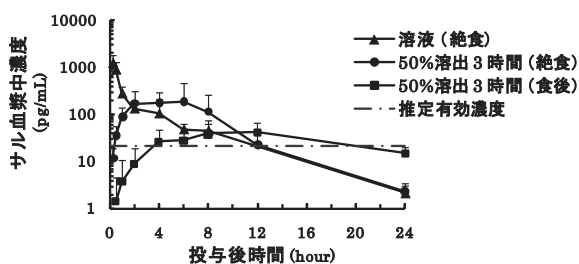
図表 1 ONO-Y の徐放性製剤投与時のカニクイザル血中濃度推移のシミュレーション



シミュレーション：徐放性製剤投与 ^{a)}				
50% 溶出時間 ^{b)} (hour)	溶液投与に対する相対比(%)			C_{max}/C_{12h}
	C_{max}	AUC	C_{12h}	
1	49	73	147	14
1.5	33	62	165	9
2	25	55	171	6
3	16	45	172	4
溶液投与 ^{a)}	100	100	100	43

^{a)}0.03 mg/kg の ONO-Y を投与(絶食下), ^{b)}0 次放出と仮定。

図表2 ONO-Yの徐放性製剤（50%溶出3時間）投与時のカニクイザルの動態および消化器症状



	溶液投与 ^{a)}		徐放性製剤投与 ^{a)}	
	絶食	絶食	絶食	食後
動態パラメータ				
C _{max} (pg/mL)	1,260 ± 530	266 ± 227	48 ± 30	
C _{8h} (pg/mL)	45 ± 19	117 ± 151	38 ± 35	
C _{12h} (pg/mL)	n. m. ^{b)}	23 ± 19	41 ± 25	
AUC _{24h} (pg · h/mL)	1,800 ± 700	1,510 ± 1,400	608 ± 290	
消化器症状の発現例数	5/5	2/5	0/5	

^{a)}0.03 mg/kg の ONO-Y を投与, ^{b)}not measured.

結果であった (図表2). そのうえ, AUC は溶液投与時の 84% を確保していた. 結果として, 目標の血中プロファイルを獲得することができた.

また, 本徐放性製剤の食後投与におけるカニクイザル血中動態も評価した. 食後投与において, C_{max} は絶食下溶液投与時の約 1/26 になり, 血中濃度推移がより平坦化し, C_{12h} は推定有効濃度を維持していた (図表2). それゆえ, 徐放性製剤を食後に投与することで, 安全域がさらに拡大することが期待できた.

つぎに, 毒性低減のコンセプトを検証するために, 本徐放性製剤を用いて安全性と有効性を評価した. カニクイザルへの溶液経口投与 (絶食下) では, 5 例中全例に消化器症状が発現していたが, 徐放性製剤の絶食下投与では, 症状の発現が 2/5 例に減少した (図表2). 加えて, 血中濃度がより平坦化した食後投与においては, 症状が完全に消失していた. また, 本徐放性製剤を用いた病態モデルの評価では, 溶液経口投与で有効性が確認された同用量で, 持続的な有効性を確認することができた. したがって, 徐放性製剤投与により血中濃度を平坦化することで, 消化器症状は改善して安全域が拡大するとともに望みの有効性も得られることが確認できた.

さらに, サルで確認された血中濃度の平坦化がヒトでも再現できるか, *in silico* シミュレーションを検討した. GastroPlus™ で設定したカニクイザルにおける動態物性パラメータをヒトの消化管の生理学的モデルに入力し, 徐放化による血中プロファイルのシミュレーションを行った. ヒトにおいても, 50% 溶出 3 時間の徐放性製剤投与時に, ヒトでの溶液投与時の予測 C_{max} の 1/3 になり, かつ C_{12h} は推定有効濃度を維持することが予想された. また, カニクイザルと同様に, C_{max} 低下と比して AUC 低下は小さいことが見込まれた. すなわち, 徐放化すること

による血中濃度の平坦化と作用持続の効果は, サルとヒトで類似することが予測された.

今回の結果から, 安全域拡大のための徐放性製剤の有用性を確認でき, ONO-Y のポテンシャルを最大化するための製剤戦略を確立できた.

これまでの一連の検討により, 創薬段階から安全域拡大に向けた徐放化の必要性を判断できたことで, 臨床早期で徐放性製剤を適用する計画を遂行できた. さらに, 臨床での徐放性製剤による血中濃度の平坦化が事前に予測した結果と同様であることが確認された.

このように, 創薬段階から製剤技術を活用して化合物のポテンシャルを最大限に発揮させる試みは, 臨床試験の成功確率と開発スピードの向上につながると考える.

4. おわりに

創薬段階における「早期原薬・製剤検討の社内検討事例」について述べた. このような活動の中で, 化合物が抱える困難に出会い, それを克服して医薬品候補を創製することで, 自身も成長できたように思える. 夢と情熱をもって新薬創製に向き合っている研究員のひたむきな姿が筆者の研究を支えてくれていることに, 感謝の意を表したい.

引用文献

- 1) L. Di, P. V. Fish, T. Mano, Bridging solubility between drug discovery and development, *Drug Discovery Today*, **17**, 486–495 (2012).
- 2) R. Takano, M. Kataoka, S. Yamashita, Integrating drug permeability with dissolution profile to develop IVIVC, *Biopharm. Drug Dispos.*, **33**, 354–365 (2012).
- 3) P. De Haan, C. F. Lerk, Oral controlled release dosage forms. A review, *Pharm. Weekbl. Sci. Ed.*, **6**, 57–67 (1984).