

新薬候補物質の選定ならびに最適化を加速する物性評価プラットフォームの開発

Analytical Platform Development of Physicochemical Properties for Accelerated Drug Selection and Optimization

令和4年度 論文博士申請者 竹内祥子 (Takeuchi, Shoko)

低分子医薬品は、投与の容易性や確実性、コストの観点から主に経口剤として開発される。低分子化合物が経口吸収性を示すためには、消化器官で製剤からの放出、溶解ならびに消化管膜の通過が必要となる。疾患標的の受容体や酵素に対して高い親和性を有する化合物の探索に伴い、化合物の分子量および脂溶性は増加する傾向にあり、その結果として溶解度は低下する傾向がある。このような化合物では、難溶解性に起因した経口投与後の吸収率不足ならびに個体間、個体内でのばらつきが課題となる¹⁾。吸収改善を目的とした非晶質固体分散体等の可溶化製剤が広く注目を集めているが、通常の経口固形製剤と比較して開発期間の長期化ならびに高コスト化という大きなリスクが伴う。そのため、創薬の初期段階で溶解度の良好な化合物を見出すことは開発リスクが低く、かつ効率的な医薬品開発に繋がる²⁾。また、経口吸収性と溶解度との相関性を解析し、吸収性向上に繋がる溶解度改善の分子構造パラメータを特定し、物性最適化のための合成指針を示すことも重要となる。

低分子化合物は、その結晶構造に依存して溶解性などの物理化学的性質が異なるため、最適な原薬結晶形の選定は、合理的な経口固形製剤設計ならびに円滑な製造工程において重要である。低分子化

合物は、原薬ならびに製剤として製造工程や保存中に水と接触する機会が多いため、水和物を形成することがある。水和物の水に対する溶解度は低いため、特に難水溶性の化合物では、水和物への転移によって吸収率の低下に繋がり、合理的な製剤設計ならびに製品の品質管理において課題となる³⁾。そのため、開発初期段階での水和物形成リスクの評価、ならびに無水物/水和物の安定的に存在する領域を示した相図の解明が重要となる。

近年、新薬開発費の高騰ならびに創薬研究の難易度化、標的分子の枯渇により、現在の医薬品市場では低分子の他に抗体や細胞といったバイオ医薬品の比率が増加しており、モダリティの多様化が進んでいる⁴⁾。多様化するモダリティは低分子と比べて分子量が大きく、構造も複雑なため、低分子とは異なる物性を示す。そのため、多角的な物理化学的性質の評価は、医薬品の安全性確保や品質管理、製剤化の面において望ましい。一方で、物性評価や製剤設計に対する戦略が低分子のように定まっていなかったため、各モダリティに対応する物性評価法や基盤技術、ならびに製剤設計指針の確立が急務と考えられる。

そこで本研究では、経口固形製剤を志向した低分子化合物、および新しい創薬モダリティに対する探索段階での物性評価ならびに合理的な合成最適化のための分析技術プラットフォームを構築した。

物性プロファイリングによる経口固形製剤を志向した低分子化合物の最適化⁵⁾

抗腫瘍性低分子化合物 (計 75 化合物)を用いて、良好な溶解性を示唆する化合物の分子構造パラメータ、さらに結晶形態を考慮した粉末からの溶解度 **thermodynamic solubility** が経口吸収性に与える影響を調べた。物質の親水性と疎水性を判断するパラメータである $\text{Log } D_{\text{pH}7.4}$ との関係性を調べたところ、 $\text{Log } D_{\text{pH}7.4} < 1$ では高い溶解度が達成されており、 $3.5 < \text{Log } D_{\text{pH}7.4}$ では全ての化合物が $1 \mu\text{g/mL}$ 以下と低溶解度を示した。一方、 $1 < \text{Log } D_{\text{pH}7.4} < 3.5$ の領域においては、芳香環数および水素結合数の増加によって溶解度は低下傾向にあり (図 1a, 1b)、平面構造による π - π スタッキングおよび水素結合が関与していることが示唆された。この範囲では一般的な親水性置換基の導入よりも、平面性や分子間相互作用を崩壊させる分子設計が有用と判断された。さらに、生体内を模した試験液である胆汁酸含有の日本薬局方崩壊試験第 2 液 (JP2)における **thermodynamic solubility** はラットの経口吸収性と良好な相関性を示した。

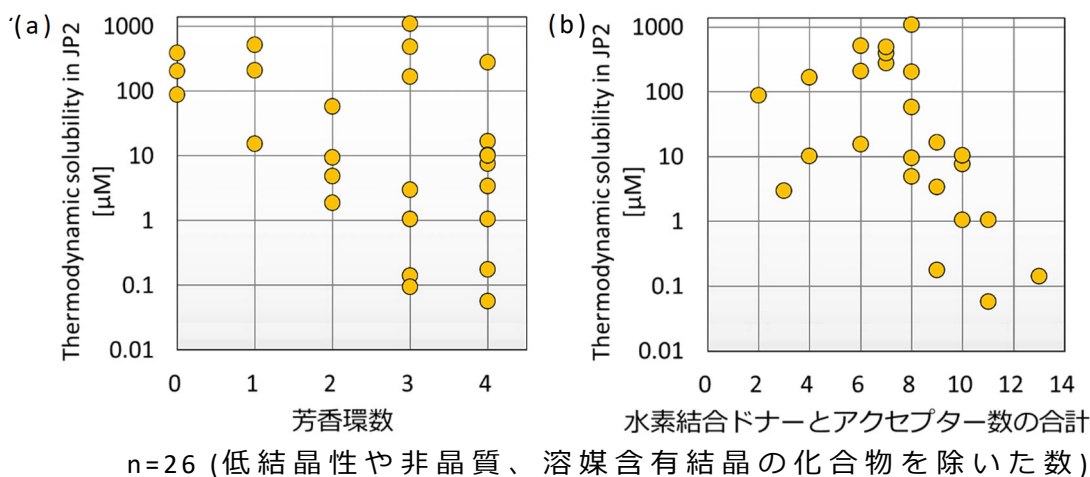


図 1 Thermodynamic solubility と各種パラメータとの相関プロット
(a) 芳香環数、(b) 水素結合ドナーとアクセプター数の合計

以上のことから、結晶形態を考慮した **thermodynamic solubility** による評価は、候補化合物の経口吸収性の予測に関わる項目であるため、十分な経口吸収性が見込まれる候補化合物の選定において有用と考えられた。また、芳香環や水素結合数を考慮した合成展開は、

開発早期における吸収改善のための効率的かつ具体的な戦略として期待できる。

経口固形製剤の開発に向けた相図作成による無水物/水和物の効率的な安定相同定法の確立⁶⁾

武田薬品工業株式会社で抗腫瘍性低分子化合物として開発していた T-3256336 は、無水物および 0.5 水和物、1 水和物が存在する。T-3256336 をモデル化合物として用いて、水和物形成のリスクを評価するため、水分含量に基づいたスラリー実験の適用可能性を検証した。最初に、水和物形成リスク評価法として知られる水蒸気吸着測定や長期高湿度下での保存試験を行ったところ、1 水和物への転移は認められたものの、いずれにおいても 0.5 水和物への転移は観察されなかった。一方、化合物が過飽和状態における 0~100%の異なる水分含量となる水-有機溶媒混液のスラリーの結果、水分量 7~7.5% v/v 領域において無水物から 0.5 水和物への転移が認められた。また、温度上昇につれて水和物への転移における水分量は高くなる傾向にあり、加熱後の冷却によって無水物が得られる溶媒条件

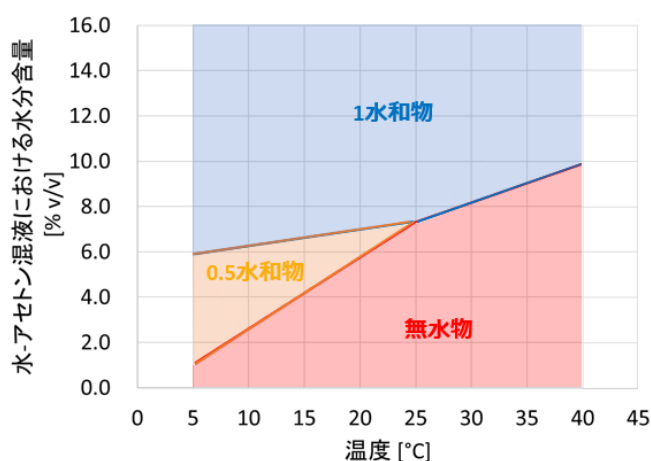


図 2 T-3256336 の無水物と水和物の相図

を見出した (図 2)。

以上のことから、水分含量に基づいたスラリー実験は、探索的な水和物スクリーニングにおいて有用であり、微量で迅速に水-有機溶媒に対する無水物と水

和物の安定な領域を同定する手法として最適と判断された。

Single guide RNA (sgRNA)の安定化を目指したピンポイント修飾に

よる構造最適化⁷⁾

近年ゲノム編集技術として脚光を浴びている CRISPR-Cas9⁸⁾は、sgRNA と Cas9 タンパク質から構成されており、近年では sgRNA 修飾体の安定化による編集効率改善が報告されている。生体中に存在する RNA 分解酵素に対する安定性は、sgRNA の配列設計において重要な物理化学的性質であり、開発初期段階での安定性評価ならびに配列最適化は効率的な候補配列選定に繋がる。本研究では、MALDI-TOFMS ならびに LCMS のコンビネーションによって、マウス筋肉組織中での sgRNA の切断部位を特定した。特定した切断部位へのピンポイント化学修飾の導入によって、sgRNA の劇的な安定化が認められ (図 3)、本研究で構築した安定性評価のための分析法ならびにピンポイント修飾アプローチの構築は、創薬段階を通じて候補配列の選定ならびに化学修飾の最適化に繋がると考えられた。

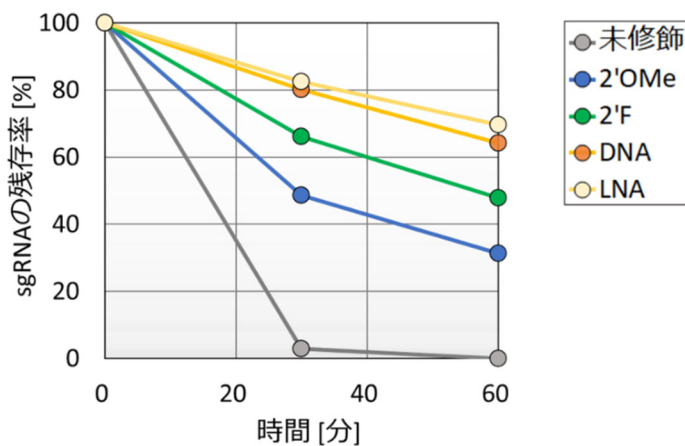


図 3 切断部位にピンポイント修飾した sgRNA の安定性

総括

本研究では、経口固形製剤を志向した低分子化合物の良好な経口吸収性が期待される分子構造パラメータを特定、ならびに網羅的な水和物探索法を構築した。また、次世代モダリティ領域を対象とした物性評価分析プラットフォームを通して、高機能で優れた候補品選定ならびに合理的な最適化アプローチ法を見出した。これらの成果は、医薬品創出の迅速化ならびに新時代に求められる創薬技術の開発に大きく貢献する。

参考文献

- 1) Stegemann S., Leveiller F., Franchi D., de Jong H., Lindén H., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **31**, 249-261 (2007).
- 2) Di L., Fish P.V., Mano T., *Drug Discov. Today*, **17**, 486-495 (2012).
- 3) Khankari R.K., Grant D.J., *Thermochimi. Acta*, **248**, 61-79 (1995).
- 4) Blanco M.J., Gardinier K.M., *ACS Med. Chem. Lett.*, **11**, 228-231 (2020).
- 5) Nakashima S., Yamamoto K., Arai Y., Ikeda Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **61**, 1228-1238 (2013).
- 6) Takeuchi S., Kojima T., Hashimoto K., Saito B., Sumi H., Ishikawa T., Ikeda Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **63**, 858-865 (2015).
- 7) Takeuchi S., Yamamoto M., Matsumoto S., Kenjo E., Karashima M., Ikeda Y., *J. Chromatogr. B*, **1192**, 123149 (2022).
- 8) Hsu P.D., Lander E.S., Zhang F., *Cell*, **157**, 1262-1278 (2014).