

諸言

新規医薬品の開発に向けた創薬研究において、開発期間の短縮及び開発成功率の向上は喫緊の課題となっている。現在、開発成功率を向上させる手段のひとつとして、早期探索的臨床試験の概念が提唱され、その積極的な活用が期待されている。中でも、通常の治療用量の 100 分の 1 以下の超微量の薬物をヒトへ投与することで、経口吸収や体内動態の観点から医薬品としてより望ましい特性を持った化合物を選択する目的で実施されるマイクロドーズ (Microdose, MD) 臨床試験は、安全かつ短期間で実施できる臨床試験として注目されている。しかしながら、MD 試験実施の実現には、微量投与後の血中や組織中の薬物濃度を正確に測定するための高感度測定法に関する基盤技術が必須である。生体試料中薬物濃度測定には、その選択性及び感度の高さから Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) がもっともよく用いられている。本研究では、創薬を効率的に進めるための支援技術として、MD 臨床試験に適用可能な LC/MS/MS 高感度測定技術、およびそれを用いた早期探索的臨床試験の実用的な活用法を構築した。以下、その結果を論述する。

1. 高感度測定のための分析法開発におけるシステマティック・アプローチ

本研究では、早期探索的臨床試験への応用を目的として、化合物情報を用いず、また分析担当者の経験に頼ることなく最適な測定条件を設定する手法の構築を試みた。まず、27 種類の既存化合物について、酸性、中性及びアルカリ性の三条件による保持時間を測定し、6 種類の液液抽出及び 3 種類の固相抽出から前処理の回収率を算出した。各化合物の保持時間および回収率について principal component analysis (PCA) による多変量解析を実施し、保持時間と各化合物の最適な前処理条件との関係について考察した。その結果、液液抽出及び固相抽出のそれぞれにおいて、最適な前処理条件ごとに化合物をいくつかのタイプに分類することができ、化合物の物性情報を考慮することなく、化合物の保持時間を観察することで前処理法の最適化を可能とする手法を開発した。この手法を用いることで、複数化合物を同時に前処理法の最適化することができ、さらに測定に用いる内標準物質の選択にも応用できることが明らかとなった。

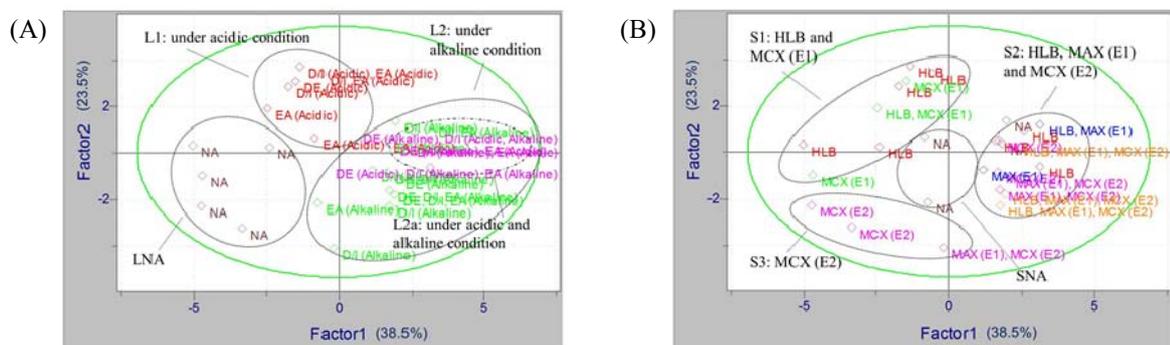


Figure 1. PCA scores of all compounds for appropriate pretreatment with LLE (A) and SPE (B)

2. カセット投与によるマイクロドーズ臨床試験におけるカルシウム拮抗剤の生物学的利用率評価

経口剤の開発プロジェクトにおいて、同等な薬効を示す複数の候補化合物が得られた場合には、最終的にヒトにおいて最も良好な吸収性を示す化合物を選択する必要がある。そこで、三種のカルシウム拮抗剤 (nifedipine, nicardipine 及び diltiazem) をモデルとして、それらのカセット投与による MD 臨床試験を実施し、各化合物の経口吸収率 (生物学的利用率) を評価した。また、吸収率・体内動態の相関性を検討するため、臨床用量 (ThD) での試験も実施した。健康正常人 8 例について、MD 用量として、nifedipine (40 μ g)、nicardipine (30 μ g) 及び diltiazem (30 μ g) をそれぞれ経口及び静脈内へのカセット投与を実施した。また、ThD 用量の nifedipine (10mg)、diltiazem (30 mg) 及び nicardipine (40mg) についても、それぞれ経口投与を実施した。各試験で得られた血漿サンプル中の薬物濃度の分析法の開発には、上記システマティック・アプローチを活用し、diltiazem は 0.2 pg/mL、nicardipine は 1 pg/mL、nifedipine は 2 pg/mL の定量下限濃度を有する超高感度測定法を構築することができた。得られた血漿中濃度推移より MD 投与における吸収率を算出した結果、nifedipine ではほぼ 50%程度と他の 2 剤に比べて高い値が得られた。また、ThD 用量と MD 用量の比較において、nifedipine では吸収率に線形性が見られたが、nicardipine と diltiazem については MD 用量での吸収率が有

意に低くなり、これは主として消化管・肝臓での初回通過代謝の非線形（飽和）によるものと推察された。以上、MD 臨床試験より nifedipine がヒトにおいて良好な吸収性を示す薬物であるとの結論を導くことが可能であり、その有用性が確認された。

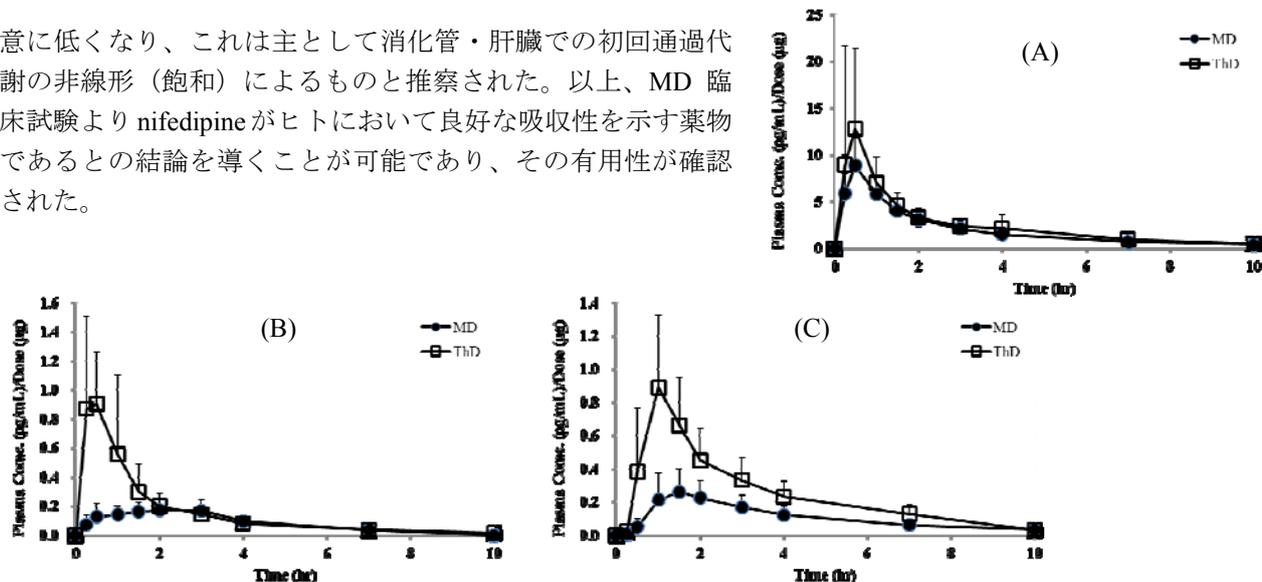


Figure 2. Plasma Concentration/Dose of nifedipine (A) nicardipine (B) and diltiazem (C) in MD and ThD clinical study

3. マイクロドーズ臨床試験における速放製剤と徐放性製剤の検討

MD 試験においては、投与液への溶解性等が問題にならない限り、一般に化合物は溶液として投与される。しかしながら、胃酸に対して不安定な薬物の腸溶製剤化、あるいは血中濃度を長時間維持するための徐放製剤化によって、より有効な臨床応用が可能と考えられる開発化合物については、製剤化の効果を反映した臨床データを早期に得ることが望ましい。そこで、Simvastatin 及び Erythromycin について、それぞれ MD 用量の徐放性製剤及び腸溶性製剤を調製し、ヒト MD 臨床試験を実施した。MD 用製剤として、各化合物がそれぞれ 100 μ g の投与量となるように丸剤を調製し、含量均一性試験、および in vitro での溶出試験等によりその品質を確認した。健康正常人 8 例について、MD での経口投与試験を実施し、投与後の血漿中薬物濃度推移を測定した。その結果、Simvastatin 徐放性製剤では溶液投与の場合と比較して血中濃度推移の有意な延長が確認された。また Erythromycin の腸溶性製剤では、胃内での分解を抑制することによって吸収率が上昇したことから、MD 臨床試験において製剤化の効果を検証することが可能であることが示された。

結論

本研究において、医薬品開発における MD 臨床試験の有用性を明らかにするとともに、その効率的な実施法を構築することができた。すなわち、MD 臨床試験において必要とされる高感度測定法の基盤技術として、化合物情報を用いずに構築するためのシステムティックアプローチを構築し、この手法がカセットドーズ試験のように複数化合物を含む検体の測定に有効であることを明らかとした。カセットドーズによる MD 臨床試験の実施により、複数化合物のヒトにおける経口吸収率を効率よく評価することが可能であり、良好な吸収性を持った化合物の選択法としての MD 臨床試験の有用性を示した。また、MD 用製剤を開発することで、開発の早期段階において製剤処方についての検討が可能であることを示唆した。

以上、本研究で得られた成果は、医薬品開発をより効率的かつ迅速に行う上で早期探索的臨床試験の有用性を明らかにするとともに、開発期間の短縮及び研究費の削減にも大きく寄与できるものと期待される。

本研究の誌上発表

1. S. Yamashita, M. Kataoka, Y. Suzaki, H. Imai, T. Morimoto, K. Ohashi, A. Inano, K. Togashi, K. Mutaguchi, Y. Sugiyama, An assessment of the oral bioavailability of three Ca-channel blockers using a cassette-microdose study: A new strategy for streamlining oral drug development. *J. Pharm. Sci.* **104(9)** 3154-3161 (2015).
2. K. Togashi, K. Mutaguchi, S. Komuro, M. Kataoka, H. Yamazaki, S. Yamashita, Systematic approach to optimize a pretreatment method for ultrasensitive LC/MS/MS analysis of multiple target compounds in biological samples. *J. Sep. Sci.* **39(16)** 3212-3220 (2016).
3. 富樫一天, 牟田口国則, 小室勢津子, 片岡誠, 山崎浩史, 山下伸二, 杉山雄一, マイクロドーズ臨床試験における製剤化検討. *薬剤学*, **77(3)** 177-185 (2017).