

創薬における探索薬物動態スクリーニング (I)
—幅広い物性を有する化合物のための吸収評価系の確立—

小村 弘,* 河原亥一郎, 茂本友貴枝, 松田健一,
阿野理恵子, 村山洋子, 森脇俊哉, 吉田長弘

High Throughput Screening of Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Discovery (I)
—Establishment of Assessment System for Absorption to Compounds
with a Wide Diversity of Physical Properties—

Hiroshi KOMURA,* Ichiro KAWAHARA, Yukie SHIGEMOTO, Kenichi MATSUDA,
Rieko ANO, Yoko MURAYAMA, Toshiya MORIWAKI, and Nagahiro H. YOSHIDA
Department of Research Pharmacokinetics, Research Center Kyoto, Bayer Yakuhin, Ltd.,
6-5-1-3 Kunimidai, Kizu-cho, Soraku-gun, Kyoto 619-0216, Japan

(Received May 14, 2004; Accepted October 6, 2004)

The application of combinatorial chemistry and high-throughput screening to biological targets has led to efficient identification of lead compounds in wide therapeutic areas. However, the physicochemical properties of some lead compounds are lipophilic with low water soluble. Since these parameters determine *in vivo* absorption, we established robust screening methods for solubility and Caco-2 membrane permeability which are applicable to our screening strategy based on the structure-pharmacokinetic parameter relationship (SPR). Of test compounds with different core structures, turbidimetric solubility and apparent solubility as determined by HPLC-UV analysis after dilution of aqueous media from DMSO stock solution was overestimated in comparison with the corresponding thermodynamic solubility obtained using a traditional shake-flask method. A new powder-dissolution method providing thermodynamic solubility similar to that in the traditional method was developed using 96-well plates for equilibrium dialysis. The throughput of the method was the almost the same as that using the apparent solubility method. In a conventional Caco-2 assay, membrane permeability (P_{app}) of some lipophilic compounds was underestimated due to low solubility in the apical site and adhesion to the device, resulting in a poor relationship between the *in vivo* absorption fraction and the P_{app} values. The addition of 0.1% Gelucire 44/14 into the apical site and 4% bovine serum albumin into the basolateral site improved the relationship. These newly developed methods are therefore useful to optimize lead compounds with less water solubility and high lipophilicity on the basis of SPR.

Key words—solubility; Caco-2 permeability; absorption; high-throughput screening; structure-pharmacokinetic relationship; drug discovery

緒 言

経口吸収性は生体内利用率に影響する重要なファクターの1つであり、ヒトでの低い吸収率さらにはその個体間の大きなバラツキは、開発候補品のディベロッパビリティを大きく低下させる。近年コンビナトリアルケミストリー及びハイスループットスクリーニング (HTS) の導入は幅広い生物学的ターゲットに対して効率的にリード化合物の創出を可能にしてきたが、リード化合物の経口吸収性を初め体

内動態に関わる物性を悪化させた。¹⁻³⁾したがって、創薬において吸収性に優れた開発候補品を創製するためにはリード化合物の最適化が必要となる。吸収性は主に水に対する溶解性と膜透過性が大きく関わっており、これらのスクリーニング系が開発されてきた。³⁻⁵⁾近年その処理能力を上げるため、より簡便な比濁分析法⁶⁾や溶液沈殿法⁷⁾を用いた溶解性試験、さらには Caco-2 細胞の短期間培養法^{8,9)} N in one^{10,11)} 及び 96 well format⁸⁾ を用いた透過性試験系が採用されている。

しかしながら、最適化の初期段階における合成展開は構造活性相関に基づいた *in vitro* 薬理活性を上

バイエル薬品株式会社中央研究所探索薬物動態分野
e-mail: hiroshi.komura.hk@bayer.co.jp

げることが目的としているため、動態特性の最適化をほとんど考慮していないのが現状である。すなわち、合成された新規誘導体はまず *in vitro* 薬理試験にかけられ、ある一定以下の IC_{50} を示す化合物が溶解性及び膜透過性などの *in vitro* 動態試験で評価される。このような状況下において *in vitro* 薬理活性が大きく改善されたにも関わらず薬物動態特性に対する最適化が遅れ、*in vivo* 薬理試験で評価するための化合物を見出せない、又は投与しても十分な経口活性が得られないという状況に陥り易い。その結果プロジェクトが長期化し、創薬におけるコストが上昇する。これを避けるためには、*in vitro* の薬理活性と同様に薬物動態と化学構造の相関を創薬初期段階から明確にすべきであり、われわれはカスケードに従った動態スクリーニングに加え相関性の確立を試みてきた。得られた結果を構造活性相関と並行して評価することにより、経口活性の期待できる合成展開の方向性が明らかになってくる。しかし、化合物を取捨選択するために使用されてきたこれまでの HTS スクリーニングシステムでは false negative 又は false positive の結果を避けることができず、相関性の検討を行うのに適していないものと考えられる。そこで今回、われわれの目的に合致した溶解性及び膜透過性のスクリーニング系を開発し、従来の方法から得られた結果と比較することにより、その有用性を確認した。さらに溶解性及び膜

透過性に問題のあるプロジェクトへ適応し得られた化学構造と薬物動態との関係についてその一例を報告する。

実験方法

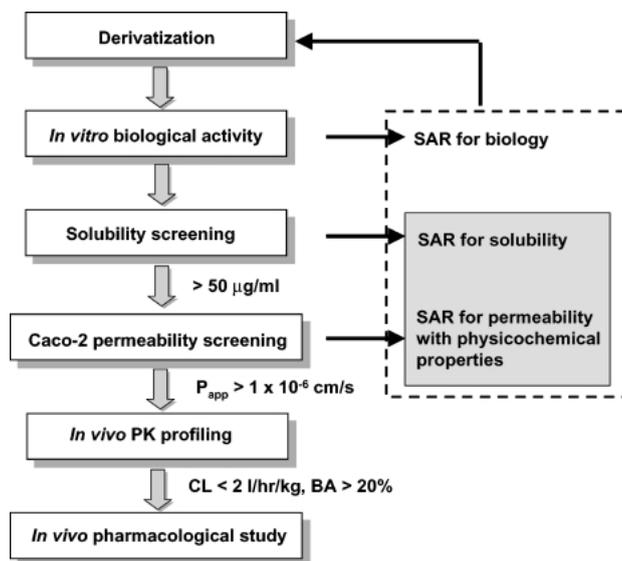
1. 試薬 用いた試薬はシグマアルドリッチ (Tokyo, Japan)、和光純薬工業 (Osaka, Japan) 又はナカライ (Kyoto, Japan) から購入した。Dulbecco's modified eagles medium (DMEM) は岩城化学 (Tokyo, Japan) から、fetal bovine serum (FBS) 及び抗生物質 (ペニシリン; 5000 IU/ml, ストレプトマイシン; 5000 μ g/ml) は大日本製薬 (Osaka, Japan) から、modified Hank's balanced salt solution (HBSS) はインビトロジェン (Tokyo, Japan) からそれぞれ購入した。Solutol は BASF (Ludwigshafen, Germany) から購入した。

2. 溶解性試験

2-1. 比濁分析法 等張リン酸緩衝液 (pH 7.4) 2 ml 中に化合物の DMSO 溶液 (2.5 又は 25 mg/ml) を滴加し、濃度を 5, 10, 20, 50, 100, 200 及び 500 μ g/ml とした。25°C, 15 分間放置後、spectrophotometer UV 1600 (Shimadzu, Kyoto) を用いて 800 nm における濁度を測定した。濃度と吸光度との関係から吸光度が 0.01 のときの濃度を読み取り、化合物の solubility とした。なお DMSO の濃度は 2% 以下とした。

2-2. 溶液沈殿法 等張リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 ml を含む試験管に、25 mg/ml の DMSO 溶液を 10 μ l 添加した。30 分間放置したのち、フィルター (Millex[®]-LG, Milipore Co., Billerica, MA) でろ過し、そのろ液を分析に供した。

2-3. フラスコ振とう法 試験管に試験化合物を約 0.5—1 mg を秤量し、等張緩衝液 (pH 7.4) を 1 ml 添加後、37°C, 5 時間攪拌した。その後フィルターでろ過し分析定量に供した。さらに、96 ウエルタイプの平衡透析プレート Equilibrium Dialyzer-96[™] plates (Harvard Bioscience Inc., MA) を用いた場合、試験化合物を透析膜を挟んで片側のウエルに少量 (約 0.1—0.2 mg) 取り分けたのち、両側のウエルに等張緩衝液を 0.2 ml 加えた。プレートを Plate Rotator MB74-2302 (Harvard Bioscience Inc.) に固定し、25°C, 16 時間回転攪拌後、化合物を添加していないウエル側の薬物濃度を測定した。



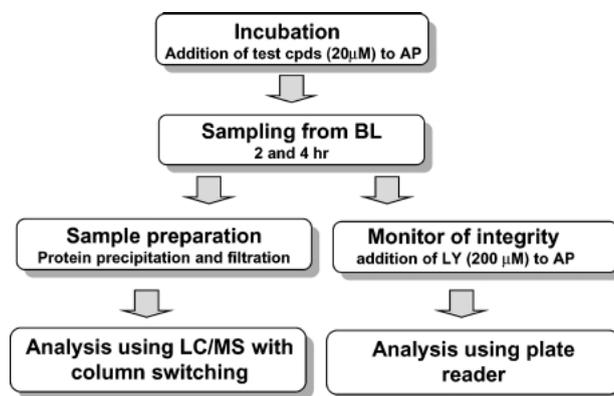
Scheme 1. Absorption Screening Cascade in Drug Discovery Phase

なお、比濁分析法、溶解沈殿法及びフラスコ振とう法から得られた溶解度を、turbidimetric, apparent 及び thermodynamic solubility とした。

3. Caco-2 膜透過性試験

3-1. 見かけの Solubility の測定 各種溶解補助剤を加えた HBSS に化合物の DMSO 溶液 (10 mM) を 1% になるように添加, 遠心分離後, その上清中濃度を測定して見かけの solubility を求めた。

3-2. Caco-2 単層膜透過性試験 Caco-2 細胞は大日本製薬から購入したものを使用し, 10% FBS 及び抗生物質を含む DMEM 中で維持した。細胞は 6.44×10^4 cells/cm² の濃度で 24 ウェル又は HTS 用 24 ウェルプレートに播種した。培地は 3 日毎に交換し, 37°C, 5% CO₂ の条件下で 14 日間培養した。その integrity は光学顕微鏡にて確認するとともに, Lucifer Yellow (LY) の透過係数により判断した ($< 5 \times 10^{-7}$ cm/s)。単層膜を HBSS にて 2 回洗浄後, HBSS を apical 側及び basolateral 側にそれぞれ加えた。試験化合物を最終濃度が 20 μ M になるように DMSO 溶液 (最終濃度 0.5% 以下) にて apical 側へ添加した。37°C にて一定時間インキュベーション後, basolateral 側の化合物濃度を HPLC 法又は脱塩カラムを用いた LC/MS 法で測定した。脂溶性が高い化合物の評価の際, apical 側には溶解補助剤を, basolateral 側には 4% bovine serum albumin (BSA) をそれぞれ添加した。LC/MS で basolateral 中濃度を測定する際に除タンパク処理を施した。すなわち basolateral 側の溶液を 96 ウェルの Precipitation Plate (Microlute™, Porvair, plc., Norfolk, VA) に負荷したのちアセトニトリル 0.5 ml を添加, 1 時間放置し, 吸引ろ過したものを分析サンプルとした。透過試験を自動化システムにて実施する場合, HTS 24 ウェルプレートを用い, 試験化合物の添加, インキュベーション, サンプリング及び除タンパク処理の一連の操作を Biomek 2000 (Beckman Coulter, CA) で行った (Scheme 2)。透過試験終了後, 単層膜の integrity を確認するため各ウェルの basolateral 側に LY を最終濃度が 200 μ M になるように添加した。Apical 側へ輸送された LY の濃度を蛍光プレートリーダー, Arvo SX FL (Perkin Elmer, Inc., Wellesley, MA) を用いて測定 (Excitation; 485 nm, Emission; 535 nm) し透過係数を算出した。



Scheme 2. Work Flow of Caco-2 Permeability Study Using a Robotic System

AP: apical site, BL: basolateral side, LY: Lucifer Yellow.

3-3. In vivo 経口投与試験 雄性 Wistar 系ラット (日本チャールズ・リーバ株式会社, Yokohama, Japan) を 7—10 週齢にて絶食下で実験に供した。試験化合物を ethanol : solutol : water (1 : 4 : 5, v/v) に 1 又は 2 mg/ml の濃度で溶解させた。10 mg/kg の用量で経口投与後, エーテル麻酔下にて門脈及び頸静脈から採血を行った。ヘパリン処理を施したのち, 遠心分離により血漿を得た。試験化合物を中性若しくはアルカリ条件下でエーテル又は酢酸エチルにより抽出後, HPLC 又は LC/MS で分析定量した。試験化合物の吸収率は経口投与後の門脈 (AUC_p) 及び静脈中 (AUC_s) の薬物濃度時間曲線下面積を以下の Eq. (1)^{12,13} に代入して算出した。

$$Fa = \frac{Q \times R_b \times (AUC_p - AUC_s)}{\text{Dose}} \quad (1)$$

なお, Q は門脈血流速度を, R_b は血液-血漿間分配率を, Dose は投与量をそれぞれ表す。 R_b 値は, 試験化合物を 0.5 又は 1 μ g/ml の濃度で血液に添加し, 15 分間, 37°C にてインキュベーション後血漿中濃度を測定し, 添加濃度と比較することにより算出した。以上の動物実験はバイエル薬品中央研究所動物倫理委員会の承認を受け実施した。

4. 定量分析

4-1. HPLC 溶解性試験では, 試験化合物を HPLC 1100 システム (Agilent technologies, Palo Alto, CA) を用いて, アセトニトリルと 10 mM リン酸緩衝液 pH 7.4 とのグラジエントにより溶出した。カラムは 3.5 μ m Symmetry® C₁₈, 4.6 × 100 mm

(Waters, Milford, MA) を用いた。各誘導体シリーズの代表的な化合物の吸収波長をフォトダイオードアレー検出器 (Agilent series 1100) で測定後、支障がない限り同じシリーズについては同一波長で測定した。カラムオープンの温度は 37°C、流速は 1.0 ml/min とした。また血漿サンプルを測定する場合は LC 10A システム (Shimadzu, Kyoto, Japan) を用いた。カラム、カラムオープン温度、測定波長及び流速は上記条件に合わせた。化合物が 5—6 分に溶出するようにアセトニトリルとリン酸緩衝液 pH 7.4 の比率を調整し移動相とした。

4-2. LC/MS LC/MS を用いて測定する場合は electrospray を装着した agilent LC/MSD 1100 システム (Agilent technologies) を用いた。分析用カラムとして 3.5 μm , Symmetry[®] C₁₈, 4.6 \times 30 mm を、移動相としてアセトニトリルと 10 mM アンモニウム酢酸 pH 6.8 からなる急速グラジエント法を用いて試験化合物を分離したのち、positive mode における擬分子イオンの質量数を用いて定量分析した。また Caco-2 サンプルの分析は、イオンサプレッションの影響を抑えるため脱塩カラムとして 3.5 μm Zorbax[®] SB-C₁₈, 2.1 \times 30 mm (Agilent technologies) を、分析用カラムとして 3.5 μm Symmetry[®] C₁₈, 4.6 \times 30 mm を用いた。

5. 脂溶性及び Polar Surface Area (PSA) の算出 脂溶性 (cLogD_{7.4}) は Pallas (CompuDrug International, Inc., South San Francisco, CA) を、PSA はバイエル社内で構築した物理化学的パラメータ計算システムを用いて算出した。なお、得られた PSA 値は SYBYL molecular modeling package (Sumisho Electronics Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて算出された dynamic PSA とほぼ 1 対 1 の相関を示した。

結果と考察

創薬における簡便な溶解性スクリーニング法として比濁分析法や溶液沈殿法が使用されている。^{1,6,7)} いずれも試験化合物の DMSO 溶液を緩衝液に滴加後、生成する濁度を測定するかフィルターでろ過後そのろ液を HPLC で分析する方法であり、処理能力が高い。一方、標準的なものとしてフラスコ振とう法があり、固体からの solubility を求めることができる。そこでまず、試験化合物をいくつかの母骨

格の異なるプロジェクトから選び、各方法から求めた solubility を比較した。なおフラスコ振とう法では通常 24—48 時間振とう攪拌するが、創薬におけるスクリーニング法として長時間の振とうはサンプル処理能力の面から難しく、*in vivo* での胃腸管滞留時間を考慮して攪拌時間を 5 時間とした。Figure 1 において比濁分析法及びフラスコ振とう法で求めた turbidimetric solubility と thermodynamic solubility を比較した。比濁分析法は最も処理能力が大きいものの、その得られた値は thermodynamic solubility に比して高い傾向を示し、それは solubility が低いほど顕著であった。この差は turbidimetric solubility が結晶構造の崩壊過程を含んでいないためと考えられる。また turbidimetric solubility では化合物の濃度を直接測定していないため純度が比較的低い創薬初期においては不純物の影響を無視できないこと、さらに過飽和の持続時間が誘導体により異なることから、データにバラツキが生じ易いものと考えられる。溶液沈殿法において apparent solubility は HPLC により直接測定して求められることからその精度は比較的高い。しかしながら、turbidimetric solubility と同様に、thermodynamic solubility と比較して得られた値は高くまたそのダイナミックレンジが狭かった (Fig. 2)。

フラスコ振とう法の問題点の 1 つは効率が低いこ

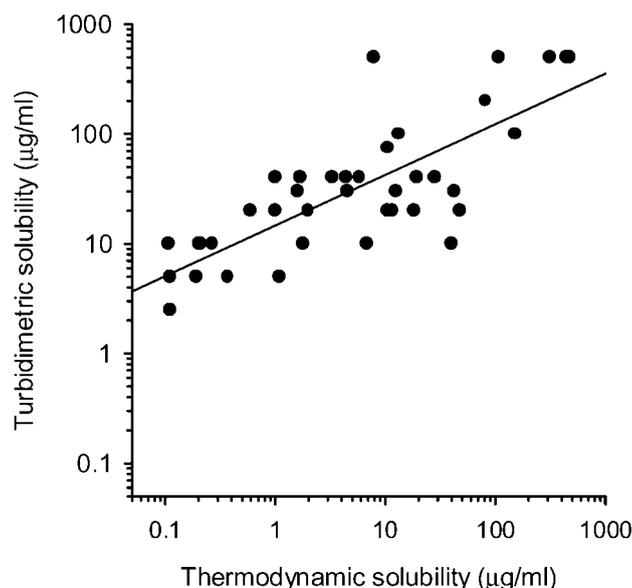


Fig. 1. Relationship between Thermodynamic and Turbidimetric Solubility in pH 7.4 Isotonic Buffer
The solid line represents the correlation curve.

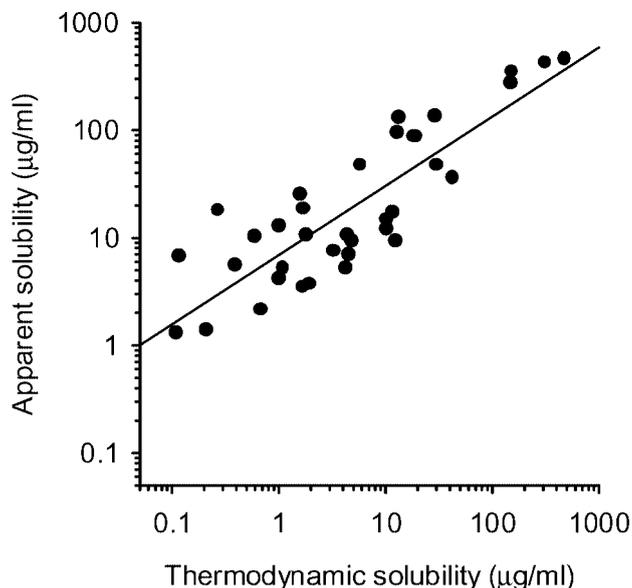


Fig. 2. Relationship between Thermodynamic and Apparent Solubility in pH 7.4 Isotonic Buffer
The solid line represents the correlation curve.

とである。最近タンパク結合の試験用に平衡透析膜を装着した 96 ウエルタイプのプレートが開発され実用化されている。¹⁴⁾ そこで今回、そのプレートを固体から thermodynamic solubility を測定する方法 (固体溶解法) へ適応した。通常のコシコ振とう法で測定した値に対して、96 ウエルプレート (Dialyzer-96TM) を用いた固体溶解法及び溶液沈殿法の値を Fig. 3 にプロットした。なお化合物の正確な秤量は時間を要することから、固体溶解法では少量をウエルに取り分けることとした。Dialyzer-96TM を用いて求めた thermodynamic solubility はコシコ振とう法の結果とほぼ 1 対 1 の相関を示した。また溶液沈殿法及び Dialyzer-96TM を用いた固体溶解法はともに 100 µg/ml 以上ではほぼ同じ値を与えるが、それ以下の濃度において溶液沈殿法では solubility を過大評価する傾向が認められた。薬物動態スクリーニングにおいて、100 µg/ml の solubility を cut-off として *in vivo* 動態試験のための化合物を選択する場合、両方法における差は大きな問題にならないものと判断される。一方、thermodynamic solubility が化合物の位置異性体など立体構造により大きく影響を受けることがある。これは thermodynamic solubility が結晶構造からの熱力学的な崩壊過程を含み、その結晶構造は化合物の立体構造によって影響されるためと考えられる。したがっ

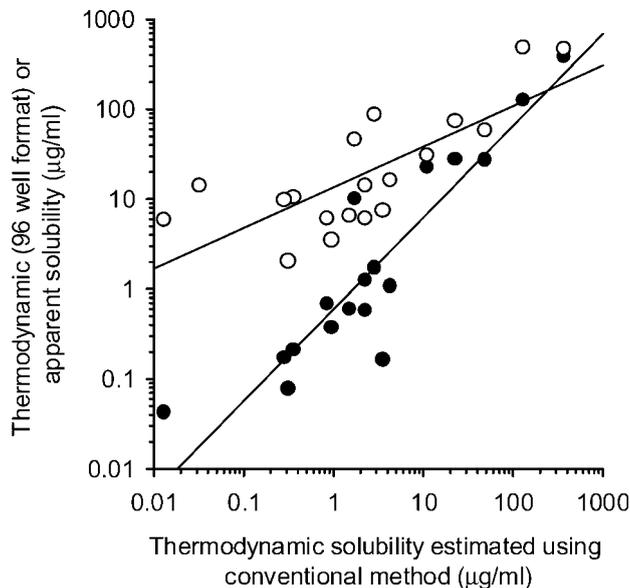


Fig. 3. Comparison of Apparent Solubility or Thermodynamic Solubility Estimated by 96 Well Format with Thermodynamic Solubility Estimated by Traditional Shake Method

○: apparent solubility, ●: thermodynamic solubility by 96 well format (dialyzer-96). The solid lines represent the correlation curve for each method.

て、化学構造と溶解性の関係に基づいて最適化を行う際には、結晶多形性の問題が無視できないにしてもコシコ振とう法や Dialyzer-96TM を用いた固体溶解法で評価すべきであろう。さらに多くのプロジェクトにおいてリード化合物の溶解性が低く thermodynamic solubility が 1 µg/ml 以下の場合もよく認められる。これらの化合物の溶液沈殿法によって求めた solubility は約 2–10 µg/ml の範囲にあり (Fig. 3)、溶液沈殿法を採用した場合、溶解性の問題点をプロジェクトチーム内で共有化するのは難しく、これが現実に直面する問題であった。したがって、化学構造と溶解性の相関性評価及び問題点の明確化において、溶解性スクリーニングは thermodynamic solubility に基づいて行うべきである。96 ウエルプレートを用いて化合物の秤量過程を簡略化するにより、固体溶解法においても溶液沈殿法と同程度の化合物数を処理することが可能となり、創薬のスクリーニングに適した方法と言える。

膜透過性スクリーニングとして parallel artificial membrane permeability (PAMPA) 法^{15,16)} immobilized artificial membrane カラム法^{17,18)} さらには Caco-2 細胞など¹⁹⁾ が用いられている。その中で最も繁用されているのは Caco-2 単層膜を用いたスク

リーニング法であり、ヒトでの吸収率と Caco-2 透過性との間に良好な相関性が報告されている。さらに P-glycoprotein などの膜輸送系が発現しており、^{20,21)} PAMPA に比して *in vivo* に近い評価系と考えられる。一般に膜透過性について見れば脂溶性が高い化合物の方が適している訳であるが、逆に低い溶解度が膜透過性の律速段階となる。これら脂溶性化合物の膜透過特性を正確に評価するには、溶解補助剤を使用して可溶化することが必要である。^{22,23)} そこで、脂溶性の比較的高い化合物 ($c\text{Log } D_{7.4} > 3$) を各プロジェクトから選択し、solubility に対する溶解補助剤の影響を検討した (Fig. 4)。0.5% Tween 80 を用いた場合、検討したすべての化合物における見かけの solubility は高かった。ついで Gelucire 44/14 が 0.1% の低い濃度から solubility を上昇させた。これらの溶解補助剤の Caco-2 単層膜に対する影響について paracellular route のマーカーである LY の透過性 (Apical から basolateral 側へ) を指標として検討した。0.5% Tween

80 は有意に LY の膜透過性を亢進させた (Fig. 5)。一方、Gelucire 44/14 は 0.5% 以上の濃度で亢進作用を示したものの、0.1% ではほとんど影響が認められなかった。Saha と Kou は Gelucire 44/14 がマニトールの Caco-2 単層膜透過性を亢進させることを報告している。²³⁾ しかし彼らが使用した濃度は高く、今回使用した濃度 (0.1%) では膜への影響が少なく solubility の改善のため最も適した溶解補助剤と判断された。

脂溶性の高い化合物の場合、ウエルプレートに対する非特異的な結合・吸着、又は Caco-2 細胞内での滞留により、receptor 側へ輸送されないケースがある。事実、Fig. 6 に示すように、脂溶性化合物の場合 Caco-2 単層膜のあるなしに係わらず basolateral 側に緩衝液のみを加えた場合では化合物の basolateral 側への輸送がほとんど認められなかった。そこで脂溶性化合物がアルブミンに対して強い結合性を示すことから、4% BSA を basolateral 側へ添加しその効果を検討した。Krishna らが報告し

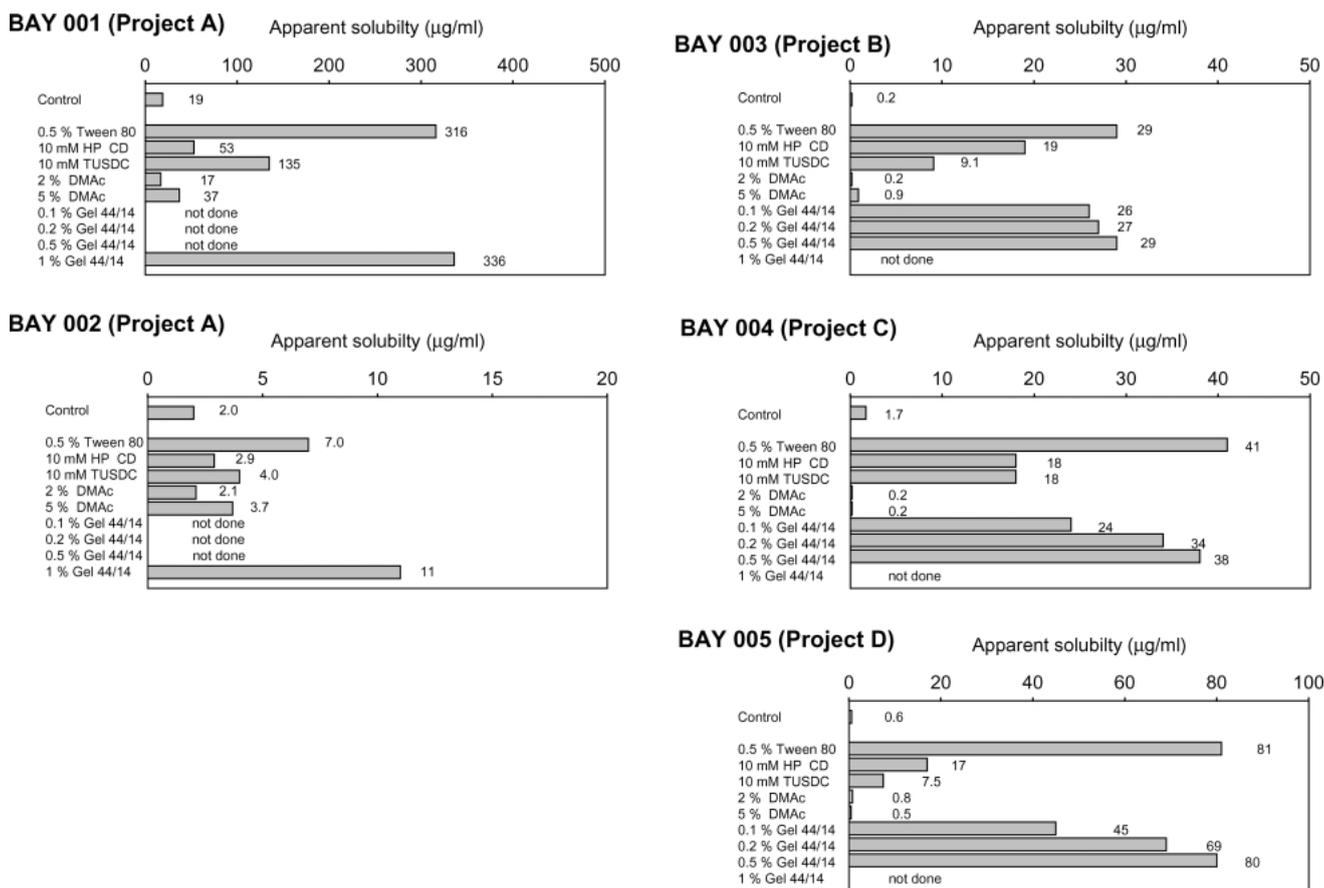


Fig. 4. Effect of Various Solubilizers on Apparent Solubility of Compounds in Several Projects

HP/CD: hydroxypropyl β -cyclodextrin, TUSDC: tauroursodeoxycholic acid, DMAc: dimethylacetamide, Gel 44/14: gelucire 44/14.

ているように,²⁴⁾ 4% BSA の添加は脂溶性化合物の輸送を大きく改善させ、BSA が非特異的な結合と吸着を抑制したものと考えられる。

われわれは 0.1% Gelucire 44/14 と 4% BSA を用いた Caco-2 評価系の有用性を確認するため、ラットから得られた *in vivo* での吸収率と Caco-2 での見かけの膜透過係数との関係を検討した。試験化合物は母骨格の異なる複数のプロジェクトから選択し、小腸初回通過代謝を受けないものと仮定した。

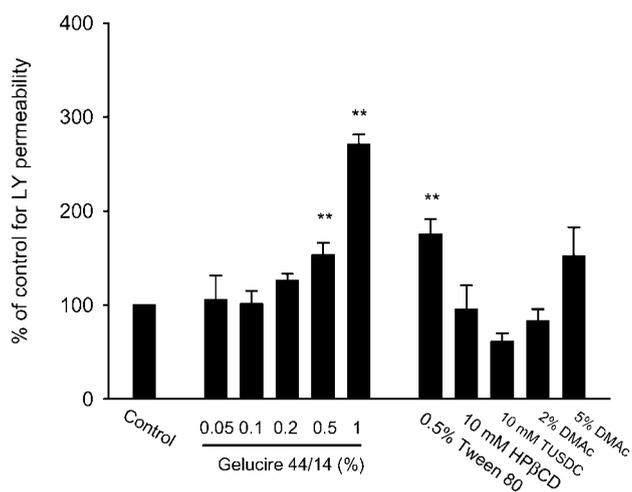


Fig. 5. Effect of Various Solubilizers on Lucifer Yellow Permeability across Caco-2 Cells

Various solubilizers were added into the apical site. The data represent the mean \pm S.D. ($n=3$). **Significant difference from control study ($p < 0.01$).

ラットに経口投与後、経時的に門脈及び静脈中薬物濃度を測定しその濃度差から吸収率を算出した。通常の方法で膜透過性を評価した場合、吸収率と膜透過性との間に良好な関係が得られなかった (Fig. 7)。一方、apical 側に 0.1% Gelucire 44/14 を、basolateral 側に 4% BSA を添加することにより、透過性は *in vivo* の吸収率と良好な関係を示した (シグモイドの曲線)。これは溶解性及び吸着の改善に加え、*in vivo* で認められるようなシンク状態が形成されている可能性が考えられる。これまでいくつかの文献で溶解補助剤又は BSA を用いた報告がなされているが、*in vivo* での吸収率との関係は示されていない。今回報告された良好な相関性は、本方法が創薬における幅広い物性を有する化合物の構造と膜透過性の評価、さらに *in vivo* 吸収率を予測する上で最も適した方法であることを示唆している。

溶解性と膜透過性に問題のあるプロジェクトについて、化学構造に対する溶解性及び膜透過性との関係を検討し、Table 1 にまとめた。モルフォリン基を導入することにより溶解性は数十から数百 $\mu\text{g}/\text{ml}$ レベルへ改善され、さらにカルボキシル基の導入は溶解性を上昇させた。一方ジメトキシ基やモルフォリン基を導入した場合、良好な膜透過性を示したが、カルボンキシル基の導入により透過性は大きく低下した。さらに Caco-2 単層膜における透過性が脂溶性や PSA などの物理化学的パラメータ値と相

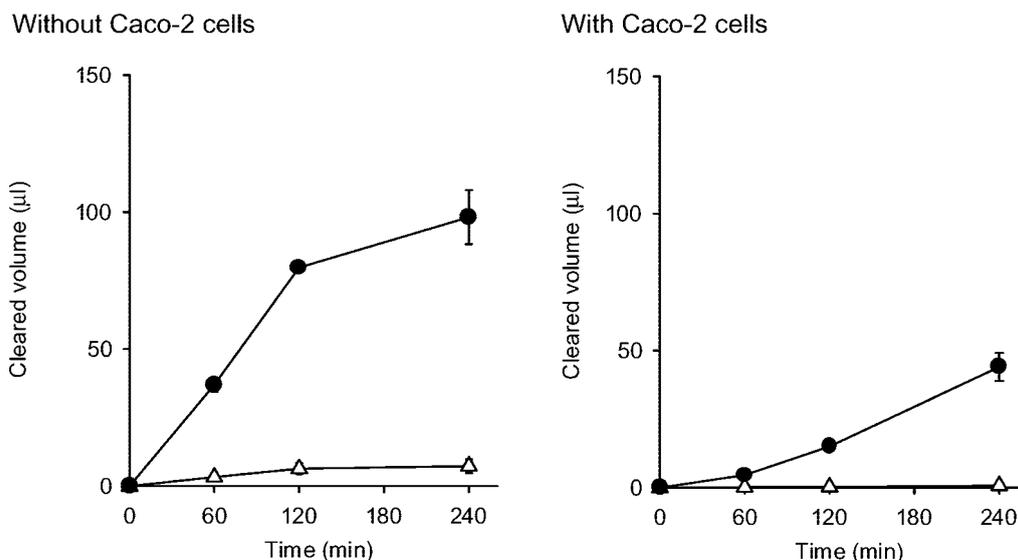


Fig. 6. Effect of 4% Bovine Serum Albumin in the Basolateral Compartments on Permeability of Compounds in the Transwell with and without Caco-2 Cells

●: 4% bovine serum albumin, Δ : HBSS.

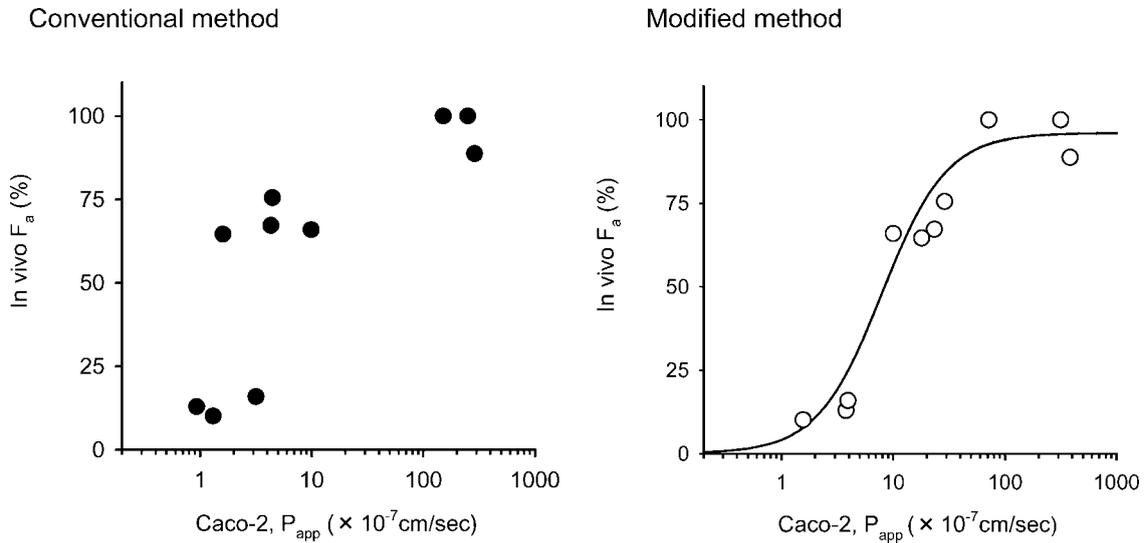


Fig. 7. Relationship between *In vivo* F_a Value in Rats and Caco-2 Permeability Estimated in Conventional and Modified Methods
 ●: apical and basolateral sites included HBSS alone in the conventional method, ○: apical and basolateral site included 0.1% Gelucire 44/14 in HBSS and 4% bovine serum albumin in HBSS, respectively, in the modified method. The relationship in the modified method can be described by an equation of $F_a = 94.3 \times P_{app}^{1.60} / (8.09 \times 10^{-9} + P_{app}^{1.60})$.

Table 1. Structure-Solubility and Permeability Relationship

R1	R2	R3	Solubility ($\mu\text{g/ml}$)	Caco-2, P_{app} ($\times 10^{-7}$ cm/s)
-H	-H	-H	0.94	114
-OCH ₃	-OCH ₃	-H	4.2	122
-H		-H	>450	2.5
-H		-OCH ₃	38.3	6.4
-H		-OCH ₃	>400	2.1
-H		-OCH ₃	24.4	76.6
-H		-OCH ₃	44.1	95.0
-H		-OCH ₃	>400	76.7
-H	-OCH ₃		>450	114
-H	-H		396	142

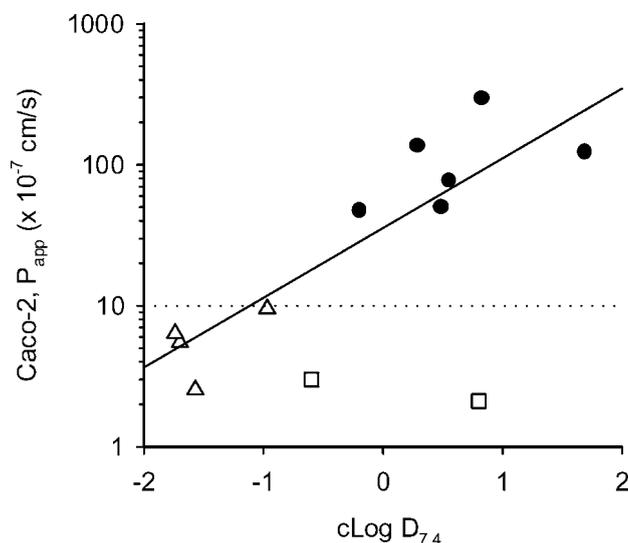


Fig. 8. Relationship between Caco-2 Permeability and $c\text{Log } D_{7.4}$ with Consideration of PSA Value in Project E

△: carboxylic acid derivatives ($\text{PSA} < 130 \text{ \AA}^2$), ●: other series ($\text{PSA} < 130 \text{ \AA}^2$), □: high PSA series ($\text{PSA} > 130 \text{ \AA}^2$). The solid line represents the correlation curve for $c\text{log } D_{7.4}$ vs permeability of derivatives with a PSA of $< 130 \text{ \AA}^2$, and the dotted line represents a threshold of the permeability.

関することが報告されている。²⁵⁻²⁷⁾ 本プロジェクトについて検討した結果, PSA が 130 \AA^2 以上の化合物では脂溶性の大きさに関わらず膜透過性が低く, 130 \AA^2 以下の化合物では脂溶性と良好な相関を示した (Fig. 8). これらの結果は薬物動態の問題点を個々のパラメータのレベルまで掘り下げることにより, それぞれの値を改善するための構造展開の方向性を明らかにできることを示唆している. それによりリード化合物から優れた *in vivo* 吸収性を有する化合物への構造展開が効率化され, 創薬に要する時間の短縮が可能となるであろう.

REFERENCES

- Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **46**, 3-26 (2001).
- Lipinski C. A., *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **44**, 235-249 (2000).
- Kerns E. H., Di L., *Drug Discov. Today*, **8**, 316-323 (2003).
- Kariv I., Rourck R. A., Kassel D. B., Chung T. D., *Combi. Chem. High Throughput Screen*, **5**, 459-472 (2002).
- Panchagnula R., Thomas N. S., *Int. J. Pharm.*, **201**, 131-150 (2000).
- Bevan C. D., Lloyd R. S., *Anal. Chem.*, **72**, 1781-1787 (2000).
- Sugaya Y., Yoshiba T., Kajima T., Ishihama Y., *Yakugaku Zasshi*, **122**, 237-246 (2002).
- Alsens J., Haenel E., *Pharm. Res.*, **20**, 1961-1969 (2003).
- Yamashita S., Konishi K., Yamazaki Y., Taki Y., Sakane T., Sezaki H., Furuyama Y., *J. Pharm. Sci.*, **91**, 669-679 (2002).
- Laitinem L., Kangas H., Kankonen A. M., Hakala K., Kotiaho T., Kostainen R., Hirvonen J., *Pharm. Res.*, **20**, 187-197 (2003).
- Bu H. Z., Poglod M., Micetich R. G., Khan J. K., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **14**, 523-528 (2000).
- Moriwaki T., Yasui H., Shigemoto Y., Yoshida N. H., *J. Pharm. Sci.*, **91**, 196-205 (2002).
- Tabata K., Yamaoka K., Fukuyama T., Nakagawa T., *Pharm. Res.*, **12**, 880-883 (1995).
- Fung E. N., Chen Y. H., Lau Y. Y., *J. Chromator.*, **795**, 187-194 (2003).
- Liu H., Sabus C., Carter G. T., Du C., Avdeef A., Tischler M., *Pharm. Res.*, **20**, 1820-1826 (2003).
- Kansy M., Senner F., Gubernator K. J., *J. Med. Chem.*, **41**, 1007-1010 (1998).
- Genty M., Gonzalez G., Clere C., Desangle-Gouty V., Legendre J. Y., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **12**, 223-229 (2001).
- Luco J. M., Salinas A. P., Torriero A. A., Vazquez R. N., Raba J., Marchevsky E., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **43**, 2129-2136 (2003).
- Yamashita S., Tanaka Y., Endoh Y., Taki Y., Sakane T., Nadai T., Sezaki H., *Pharm. Res.*, **14**, 486-491 (1997).
- Faassen F., Vogel G., Spanings H., Vromans H., *Int. J. Pharm.*, **263**, 113-122 (2003).
- Zhang Y., Benet L. Z., *Pharm. Res.*, **15**, 1520-1524 (1998).
- Saha P., Kou J. H., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 403-411 (2000).
- Takahashi Y., Kondo H., Yasuda T., Watanabe T., Kobayashi S., Yokohama S., *Int. J. Pharm.*, **246**, 85-94 (2002).
- Krishna G., Chen K. J., Lin C., Nomeir A. A., *Int. J. Pharm.*, **222**, 77-89 (2001).
- Komura H., Shigemoto Y., Kawahara I.,

-
- Matsuda K., Ano R., Murayama Y., Moriwaki T., Yoshida N. H., *Yakugaku Zasshi*, **125**, 141–147 (2005).
- 26) Kelder J., Grootenhuis P. D., Bayada D. M., Delbressine L. P., Ploemen J. P., *Pharm. Res.*, **16**, 1514–1519 (1999).
- 27) Stenberg P., Norinder U., Luthman K., Artusson P., *J. Med. Chem.*, **44**, 1927–1937 (2001).