

創薬における探索薬物動態スクリーニング (II)
—代謝スクリーニングにおける *in vitro* と *in vivo* の相関性の検討—

小村 弘,* 松田健一, 茂本友貴枝, 河原亥一郎,
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 (II)
—Investigation on *In vitro* and *In vivo* Correlation in Drug Metabolism Screening—

Hiroshi KOMURA,* Kenichi MATSUDA, Yukie SHIGEMOTO, Ichiro KAWAHARA,
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)

Metabolic screening using liver microsomes of rats and humans is an indispensable tool to optimize a lead structure and to select compounds for *in vivo* study. Elucidating the relationship between *in vitro* intrinsic clearance ($CL_{int, app}$) and *in vivo* clearance (CL_b) is a prerequisite for screening. We investigated the relationship between $CL_{int, app}$ in rat liver microsomes and CL_b after intravenous administration in rats in eight projects. No relationship between these two parameters was found across all of the projects examined. However, there was a certain relationship in the same core structure of six projects, but not in the other two projects. The poor correlation in the projects was improved by considering serum protein binding or microsomal binding in the estimation of *in vitro* clearances. Although the binding assay was labor intensive, unlike metabolic screening, the introduction of the equilibrium dialysis method using a 96-well format increased the throughput. Optimization of metabolic stability was conducted on the basis of the structure-metabolic stability relationship (SMR) in one of the projects, showing a good correlation without the binding factors. The replacement of the piperazine with a homopiperazine moiety improved metabolic stability in the rat and human liver microsomes. The compound also showed a desirable *in vivo* pharmacokinetic profile in rats, suggesting that the SMR study on the confirmed *in vitro* and *in vivo* correlation is essential to the optimization.

Key words—metabolic screening; *in vitro-in vivo* correlation; structure metabolism relationship; serum binding; microsomal binding; drug discovery

緒 言

肝臓での代謝安定性は経口吸収性とともに入体内利用率に影響する重要な因子であり、その最適化は多くのプロジェクトにおける最重要課題の1つである。一般に代謝試験には肝ミクロソーム系又は単離肝細胞系が用いられている。肝細胞系は phase I 及び II 代謝活性、さらに肝取り込みや胆汁排泄に関与する膜輸送系を有しており、開発候補品を初め薬物の詳細な代謝検討に使用されている。¹⁻³⁾しかし非凍結及び凍結ヒト肝細胞の場合コストが高く付くこと、またロット間の代謝活性の個体差が大きいこ

と、そしてロボットへの適応が難しいことから、創薬の初期スクリーニングには適していないものと考えられる。一方、肝ミクロソーム系では細胞質の酵素による phase I 及び硫酸抱合活性などの phase II 代謝を測定することができないが、主代謝酵素である cytochrome P450 (CYP) 活性が存在し、⁴⁾いずれの種についてもミクロソームを容易に入手できる。特にヒトではハイスループットスクリーニング用として多くのドナーから調製されたミクロソームが市販されている。さらにロボットへの適応が比較的簡単であることから自動化システムが構築され、ヒトにおいて安定な化合物を見出すため代謝スクリーニングが実施されてきている。⁵⁻⁷⁾

代謝スクリーニングを行う上で *in vitro* での代謝

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

安定性と *in vivo* での肝クリアランスとの間に何らかの相関のあることが前提となる。Obach⁸⁾ 及び Carlile ら⁹⁾ はヒト肝ミクロソームでの薬物の代謝半減期から生理学的モデルを用いて予測したクリアランス (CL) が実測値とほぼ一致することを報告している。一方、AstraZeneca¹⁰⁾ 及び GlaxoSmith-Kline¹¹⁾ の両グループは多岐に渡るプロジェクトの化合物について、ラット肝ミクロソームから求めた半減期又は *in vitro* intrinsic clearance ($CL_{int, app}$) を *in vivo* CL と比較した場合、ほとんど相関しないことを示した。そこで、われわれがこれまで実施してきたプロジェクトの中から母骨格の代謝に肝ミクロソーム酵素系が関与する 8 つのプロジェクトについて、ラット肝ミクロソームを用いて得られた $CL_{int, app}$ と静脈内投与後の血液クリアランス (CL_b) を比較し、*in vitro* と *in vivo* の相関性について検討した。相関性が確認されたプロジェクトの 1 つについて、化学構造と代謝安定性の関係性を評価し、その結果も併せて報告する。

実験方法

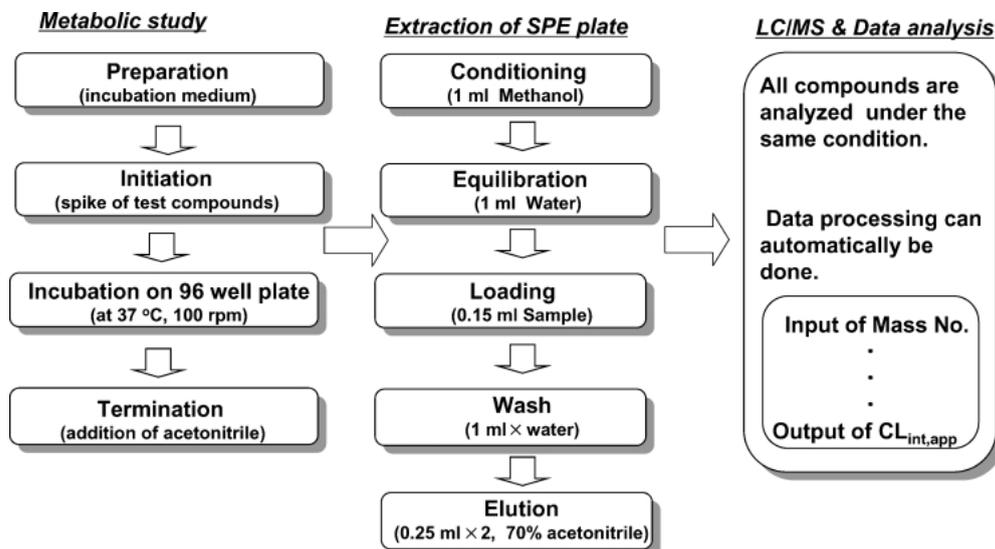
1. 試薬 試験に使用した試薬はシグマアルドリッチ (Tokyo, Japan)、和光純薬工業 (Osaka, Japan) 又はナカライ (Kyoto, Japan) から購入した。ラット及びヒト肝ミクロソーム (いずれもプールされたもの) は XenoTech 社 (Lenexa, KS) から購入した。

2. 実験動物 実験には 7–10 週齢の雄性 Wistar 系ラット (日本チャールズ・リーバ株式会社, Yokohama, Japan) を使用した。ラットには水及び固形飼料を自由に摂取させ、実験使用前一夜絶食後、実験に供した。

3. ラット及びサル肝ミクロソームの調製 エーテル麻酔下にてラット肝臓をあらかじめ冷却した生理食塩水で灌流後、摘出した。サル肝臓 (カニクイザル) は新日本科学 (Kagoshima, Japan) で単離されたものを使用した。肝臓に 4 倍量の 50 mM リン酸緩衝液 pH 7.4 を加え、4°C にてテフロンガラスホモジナイザーを用いてホモジネートを作成後、9000 × g、20 分間遠心分離により上清を得た。さらに 100000 × g、60 分間超遠心分離により得られた沈殿画分を上記緩衝液に懸濁しミクロソーム画分とした。タンパク濃度は標準物質として bovine se-

rum albumin を用いて Coomassie protein assay 法により測定した。

4. ミクロソームを用いた代謝試験 100 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) に 1 mM EDTA, 0.2 mg/ml ミクロソーム及び NADPH 生成系 (5 mM glucose-6-phosphate, 1 mM NADP⁺, 1.5 units/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase) を含むものを反応液 (2 ml) とした。37°C、3 分間プレインキュベーション後、DMSO 又はアセトニトリルに溶解させた試験化合物を 1 μM になるように添加し、反応を開始した。その際それぞれの溶媒の濃度を 0.2% 及び 1% 以下とした。経時的に反応液を 0.2 ml サンプルングし、エーテル又は酢酸エチルなどの有機溶剤中に加えることにより反応を停止した。中性又はアルカリ条件下で抽出後、濃縮乾固し、HPLC 又は LC/MS の移動相に溶解後定量分析に供した。なお、基本的なサンプルング時間は 0, 5, 10, 15, 20, 30 分とし化合物の半減期に合わせて最大 120 分まで延長した。 $CL_{int, app}$ はインキュベーション中の化合物の消失から一次消失速度定数を求め、使用したミクロソームの濃度で除去することにより算出した。また Biomek 2000 (Beckman Coulter, Tokyo, Japan) による全自動化システムを用いて代謝試験を行う場合、上記条件を一部変更した。その試験の流れを Scheme 1 に示す。先に示した同じ組成の反応溶液 (0.2 ml) を 96 ウエルプレートに加え、37°C、10 分間プレインキュベーション後、試験化合物 (DMSO) を添加することにより反応を開始し、停止は各ウエルにアセトニトリルを添加することにより行った。なおアセトニトリルの最終濃度は 16.7% とした。事前にコンディショニングした 96 ウエル固相抽出カラム Oasis[®] (Waters, Milford, MA) に負荷後、水で洗浄した。0.25 ml の 70% アセトニトリル溶液で 2 回溶出後、その溶出液を直接 LC/MS で分析定量した。なお各試験化合物の測定質量数、試験化合物名、サンプルング時間などの条件を、エクセルシートを介して LC/MS ワークステーションに転送した。同一化合物の分析が終了後、測定結果として消失プロファイル、半減期及び $CL_{int, app}$ が得られるようにプログラムした。また Biomek 2000 を用いて得られた $CL_{int, app}$ のランキングが手動で行った結果とほぼ一致することを確認した。



Scheme 1. Work Flow of Metabolic Stability Study Using a Robotic System

5. タンパク結合性試験 ラット血清及びミクロソーム溶液 (0.2 mg/ml) にそれぞれ 0.5—10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 又は 1 μM の濃度になるように試験化合物を添加し、15 分間 37°C にてインキュベーションを行った。そのサンプル 1 ml を Centrifree® (Millipore Co., Billerica, MA) に加え 3000 rpm, 20 分間遠心分離後、そのろ液を HPLC 又は LC/MS の試料とした。平衡透析法では血清又はミクロソームサンプルを片側をクリップでとめた透析膜 Spectrum® (Spectrum Laboratories Inc., Rancho Dominguez, CA) に加え、反対側をとめたのち重量を測定した。等張リン酸緩衝液 3 ml 中で 4 又は 37°C, 6 時間インキュベーション後再度重量を測定して血清中及び緩衝液中濃度を求めた。また Equilibrium Dialyzer-96™ (Harvard Bioscience, MA) を用いた場合は透析膜を挟んで片側のウエルに上記血清サンプルを、反対側のウエルには等張緩衝液 0.2 ml をそれぞれ加え、plate rotator にセットした。25°C にて 16 時間回転振とうさせたのち、両サイドの化合物濃度を測定した。

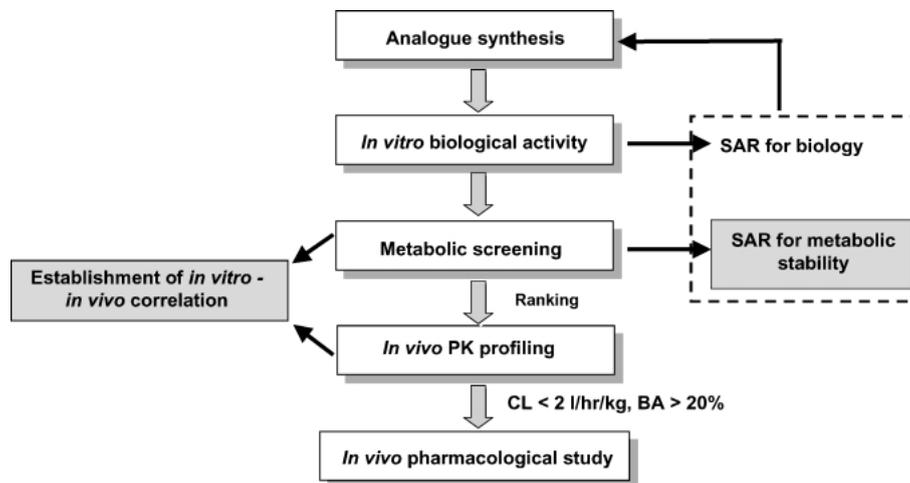
6. 脂溶性の測定 試験化合物 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む等張リン酸緩衝液 (DMSO 溶液で添加、最終濃度 1%) にオクタノールを添加し、その比を 1/100 又は 1/10 とした。30 分間、300 回/分で振とう後、その緩衝液中濃度を振とう前のサンプルとともに測定し分配率を算出した。なお脂溶性の計算値 (cLog $D_{7.4}$) は Pallas (CompuDrug International,

Inc. South San Francisco, CA) を用いて求めた。

7. ラット *In vivo* 試験 静脈内投与液は化合物を polyethylene glycol 400 : ethanol = 9 : 1 (v/v) に、経口投与液は ethanol : polyethylene glycol : water = 1 : 4 : 5 (v/v) にそれぞれ溶解させ調製した。エーテル麻酔下、1 又は 2 mg/kg の投与量で大腸静脈から投与後、経時的に頸静脈から採血した。なお経口投与はゾンデを用いて 2 mg/kg の用量で実施した。血液をヘパリン処理したのち、遠心分離により血漿を得た。試験化合物は中性若しくはアルカリ条件下にてエーテル又は酢酸エチルを用いて血漿から抽出後、移動相に溶解し HPLC 又は LC/MS で Komura らの方法¹²⁾により分析定量した。血液—血漿間分配率 (R_b) は試験化合物を 0.5 又は 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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、測定した血漿中濃度と添加濃度の比から算出した。動物試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たのち実施した。

結果と考察

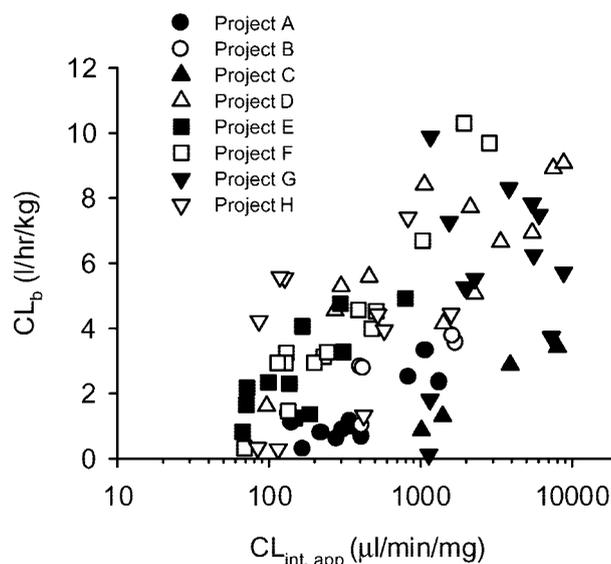
代謝安定性スクリーニングを行う上で、 $CL_{\text{int, app}}$ と血液クリアランス (CL_b) の間に相関のあることが前提となる。したがって各プロジェクトについて代謝スクリーニングを開始する前に *in vitro* と *in vivo* の相関性を確認する必要がある。一般に *in vitro* と *in vivo* の相関性を評価する場合、*in vitro*



Scheme 2. Metabolic Screening Cascade in Drug Discovery Phase

で得られた $CL_{int, app}$ から well-stirred model などの生理学的モデルを用いて算出された値と *in vivo* CL_b を比較するか、又は逆に CL_b から *in vivo* $CL_{int, app}$ を算出して比較される。^{3,13,14} その際スケーリングファクターなどを考慮して両絶対値がどの程度一致するか議論される訳であるが、代謝スクリーニングではむしろ $CL_{int, app}$ と CL_b の結果が同じ傾向を示すかどうかの方が重要である。われわれが実施してきたプロジェクトの中から母骨格が肝ミクロソーム酵素系により代謝を受ける8つのプロジェクトについて、ラット肝ミクロソームの代謝試験から得られた $CL_{int, app}$ とラット *in vivo* 試験から求めた CL_b を直接比較した。なお誘導体の中でアミノ基、水酸基及びカルボキシル基などを有するものは、phase II 代謝を受ける可能性があるため試験化合物から除いた。検討したすべての化合物のデータを用いて *in vitro* と *in vivo* の相関性を検討したところ (Fig. 1), Masimirembwa や Clarke らが^{10,11} 報告しているように相関性は乏しかった。しかしながら A から F の各プロジェクトについて評価した場合、 $CL_{int, app}$ と CL_b の間に比較的良好な相関 (相関係数が 0.77 以上) が認められた (Fig. 2)。この結果は同一の母骨格内で相関が認められた場合であっても、母骨格の構造が異なる化合物間では相関性が成立しにくいことを示唆しており、ランダムスクリーニングにおける化合物の選択は false positive 及び false negative の結果を伴い極めてリスクの高い方法であると言える。

一方、プロジェクト G 及び H において相関性は

Fig. 1. Relationship between *In vivo* CL_b in Rats and *In vitro* $CL_{int, app}$ in Rat Liver Microsomes across Projects Investigated

乏しかった (Figs. 3 及び 4)。 $CL_{int, app}$ から *in vivo* ヘスケールアップする際、化合物の物性に依存するものの血清タンパク結合性及びミクロソーム結合性を考慮する必要があることが報告されている。^{8,15,16} そこでラット血清タンパクに対する非結合率 (f_p) を用いて $f_p * CL_{int, app}$ を算出し CL_b と比較した。プロジェクト G において相関性は大きく改善したものの (Fig. 3)、プロジェクト H では改善は認められなかった (Fig. 4)。後者については、さらに $CL_{int, app}$ をミクロソームに対する非結合率 (f_m) で除去することにより CL_{int} を算出した結果、 CL_b と良好な相関性を示した。このことは同じ母骨格を有

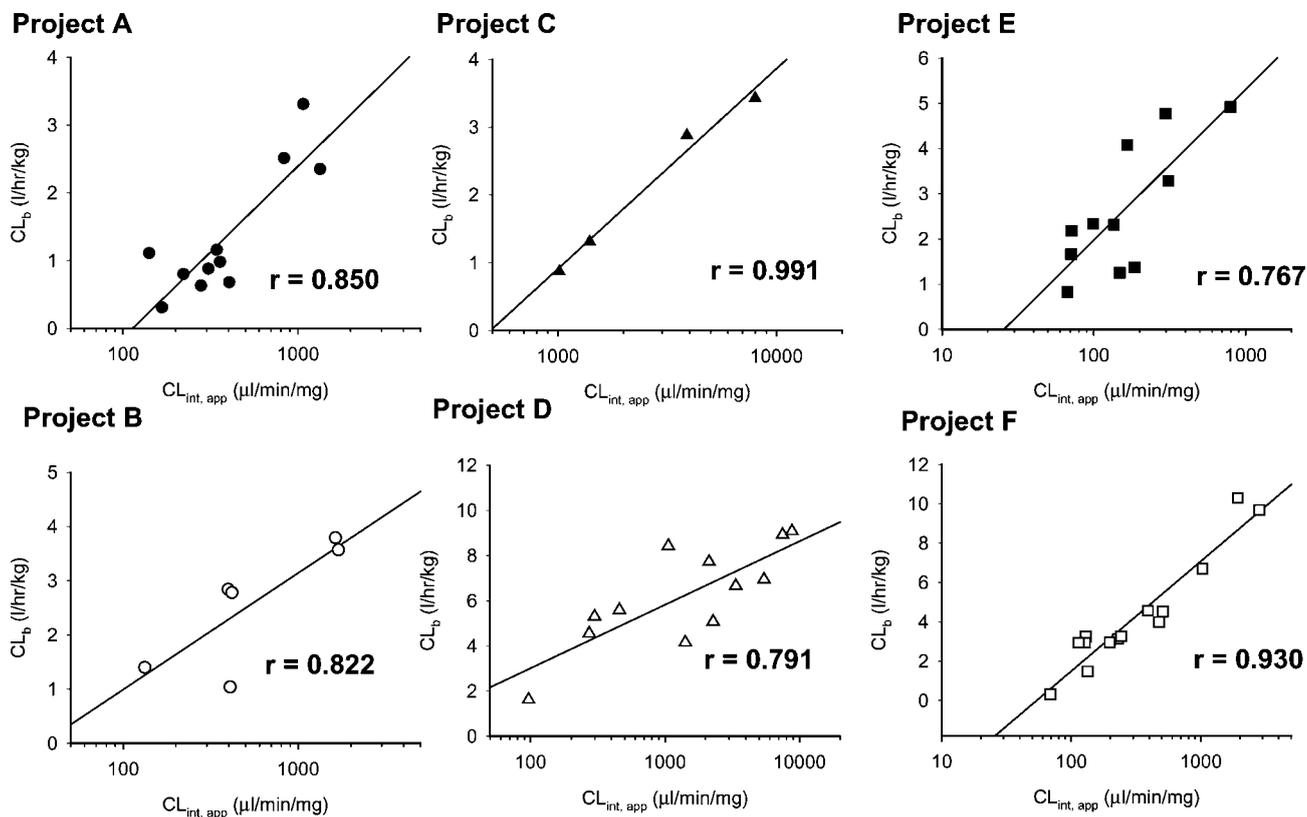


Fig. 2. Relationship between *In vivo* CL_b in Rats and *In vitro* $CL_{int,app}$ in Rat Liver Microsomes in Individual Project

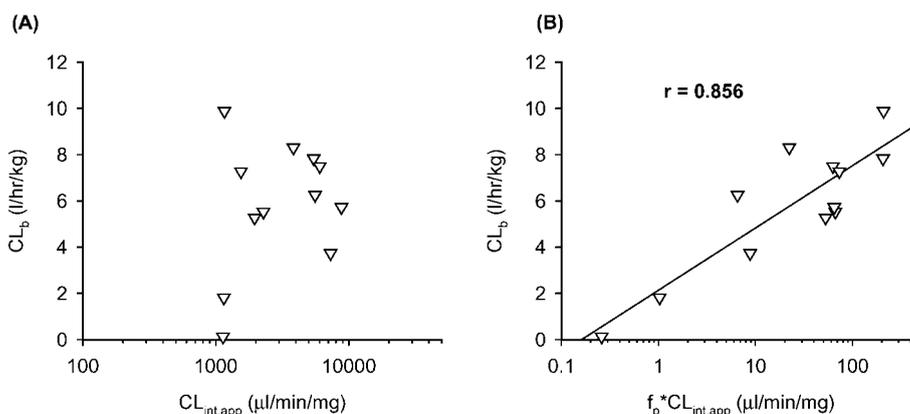


Fig. 3. *In vitro* and *In vivo* Relationship without (A) and with (B) Considering Serum Protein Binding in Project G

する誘導体間であっても血清タンパク結合性やミクロソーム結合性が影響することを示唆しており、*in vitro* と *in vivo* の相関性を検討せずに $CL_{int,app}$ を指標としてスクリーニング又は構造と代謝相関の評価を行うと、誤った化合物の選択さらに誤った方向への構造展開の可能性がある。

これらの結合性に対する物性因子として脂溶性が考えられる。¹⁷⁻¹⁹⁾ そこで今回検討した化合物の脂溶性についてプロジェクト毎に実測値又は計算値を

算出し Table 1 に示した。プロジェクト F を除いて、 $\log D_{7.4}$ 又は $\log D_{7.4}$ の平均値はほぼ 3 から 4 であった。しかしながら、その最小値と最大値の範囲をプロジェクト毎に比較すると、A から F では 2 前後であったが G 及び H ではそれぞれ 3.6 及び 6.2 であった。したがって、これらのプロジェクトでは脂溶性の範囲が広いため血清タンパク結合性又はミクロソーム結合性の化合物間の差が大きく、*in vitro* と *in vivo* のデータを比較する際、結合性を考

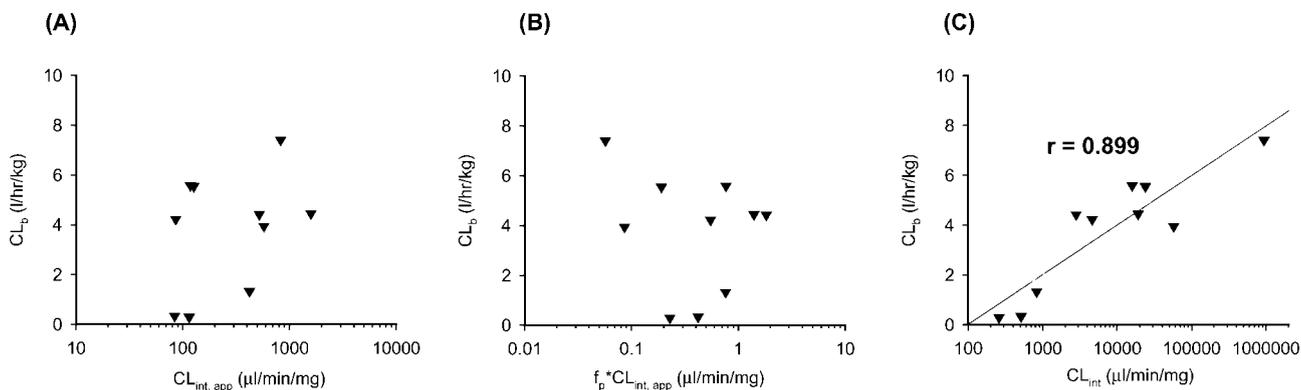


Fig. 4. *In vitro* and *In vivo* Relationship without (A) and with Considering Serum Protein Binding (B) or Microsomal Binding (C) in Project H

Table 1. Lipophilicity at pH 7.4 of Test Compounds in Individual Project

Project	Log D _{7.4}	
	Mean	Range
A ^{a)}	4.08	(3.5—4.7)
B ^{b)}	2.87	(2.4—3.7)
C ^{b)}	3.51	(2.4—4.5)
D ^{a)}	3.54	(2.7—4.22)
E ^{a)}	2.99	(1.4—3.7)
F ^{b)}	1.72	(0.88—2.65)
G ^{a)}	3.90	(1.61—5.21)
H ^{b)}	3.95	(0.25—6.48)

a) Measured by a shaking method, b) Estimated by a computational method.

慮する必要があったのであろう。以上の結果から母骨格構造によっては血清タンパク又はミクロソーム結合性が重要なパラメータとなることが示された訳であるが、代謝試験はロボットを用いることにより効率化され、1週間に150化合物の評価が可能なのに対して、従来の結合試験の方法では多くの化合物を一度に評価するのは難しい。血清タンパク結合性試験を効率化するためいくつかの方法が報告されており、^{20,21)} まず human serum albumin 固定化カラム法を用いて検討した。その保持時間と通常の平衡透析法で求めた非結合率との関係について調べた（結果は示していない）ところ、結合性が低い場合両値は良好な相関性を示したが、結合率が高い場合では相関が著しく低下した。次に HTS 法として汎用されているフィルトレーション法の有用性を検討するため、Centrifree®を用いて非結合率を測定し平衡透析法で得られた値と比較した（Fig. 5）。平衡透析法で求めた非結合率が10%以上の化合物において

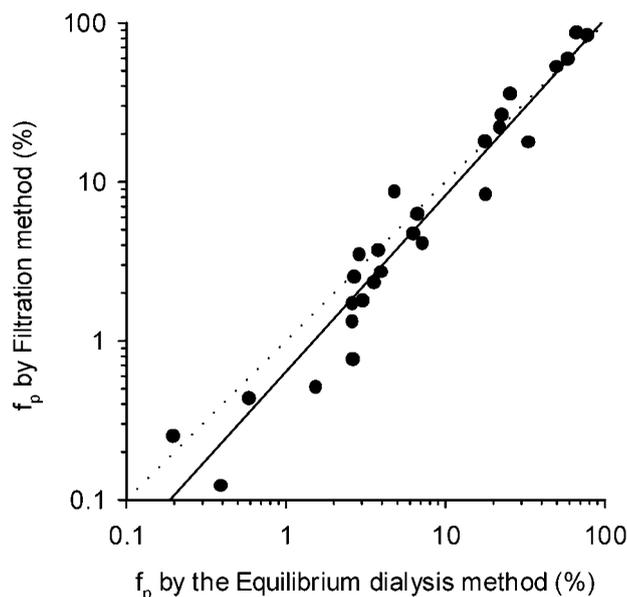


Fig. 5. Relationship of f_p Estimated in Filtration and Equilibrium Dialysis Method

The solid and dotted lines represent the correlation curve and the 1 : 1 correspondence curve, respectively.

両値は1対1の対応関係にあったが、非結合率が10%以下ではフィルトレーションの値は低い傾向を示した。これは一般に血清タンパク結合性は脂溶性と関連しており、高い結合性を示す脂溶性化合物ではフィルターへの吸着により液中濃度が低下したためと考えられた。リード化合物の脂溶性が上昇傾向にあり、実質問題となる非結合率10%以下の化合物を正確に評価するためには平衡透析法が適していると判断される。さらにその効率を上げるため、透析膜を装着した96ウエルプレート(Dialyzer-96™)の有用性について検討し、その得られた値を通常の平衡透析法と比較した（Fig. 6）。両方法

から得られた値は結合率の高い化合物においてもほぼ1対1の相関を示した。これは透析法では膜への吸着が無視できるためであろう。さらにわれわれは効率を上げるため、検量線を用いずに血清側及び緩衝液側の化合物の分析によって得られたピークの面積又は高さを直接比較することにより結合率を算出した。その結果、検量線を用いて求めた値とほぼ一致したことから、本方法の採用により測定サンプル数を減らすことができ、1日当たり48化合物を評価することが可能となった。

次にミクロソーム結合性の評価方法について、カ

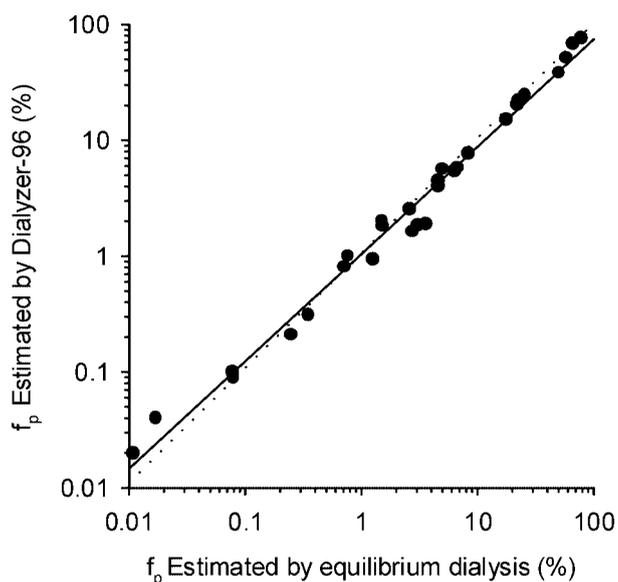
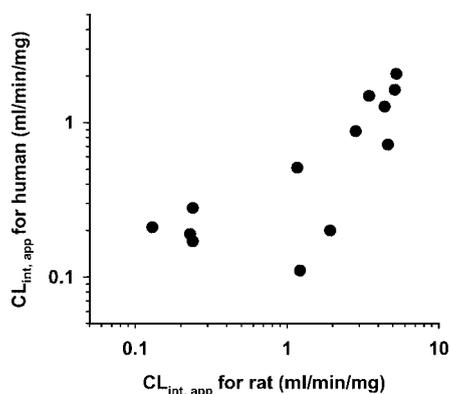


Fig. 6. Relationship of f_p Estimated in Conventional Method and 96-Well Format for Equilibrium Dialysis

The solid and dotted lines represent the correlation curve and the 1 : 1 correspondence curve, respectively.

ルシウム拮抗剤であるジヒドロピリジン誘導体を用いてフィルトレーション法と平衡透析法を比較した(データを示していない)が、前者では過少評価する傾向が認められた。詳細な検討が必要であるがミクロソーム結合性もタンパク結合性試験と同様に96ウエルプレートを用いた平衡透析法が利用できるものと考えられる。*In vitro* と *in vivo* の相関性の検討を行った結果、相関が成立しない場合には薬物動態スクリーニングカスケードを変更する必要がある。すなわち、phase II 代謝及び肝臓以外での代謝さらに膜輸送系を介した胆汁排泄などの他の因子を考慮すべきである。この場合ミクロソームに代わり肝細胞系又は *in vivo* 試験を中心にスクリーニングを実施することになる。一方、相関性が確立された場合には、化学構造と代謝相関を検討することになる訳であるが、この際ラットに加えヒト肝ミクロソームを用いてスクリーニングを実施することになる。このような状況の中で効率的にプロジェクトを進めるためには構造と代謝相関の種差を理解することが重要と考えられる。さらに *in vivo* 薬理試験に供する化合物を選択するため、同じ種のミクロソームを用いて検討すべきである。そこで *in vitro* と *in vivo* の相関が確認されたプロジェクト F について、ラット、ヒト及びそのプロジェクトのモデル動物であるサルの肝ミクロソームを用いて代謝安定性を検討し、その種差について Fig. 7 に示した。ラットと比べてサルはヒトに対して良好な相関性を示した。これはサルの CYP isoform のホモロジーがヒトに類似していること²²⁾に加え、CYP の活

A. Rat vs Human



B. Monkey vs Human

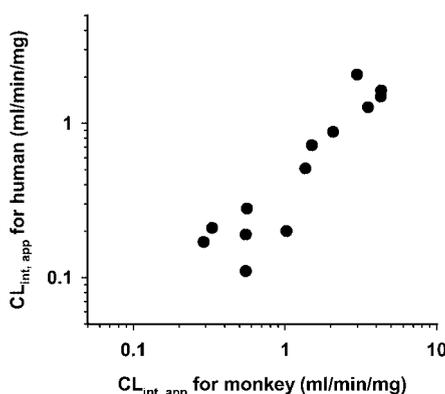
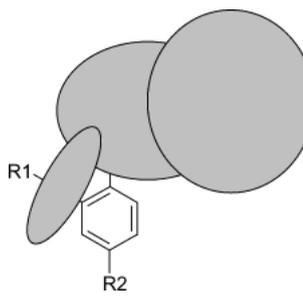


Fig. 7. Species Difference in *In vitro* Intrinsic Clearance Estimated in Liver Microsomes in Project F

性^{23,24)}及び組成比も近いと推察された。以上の結果から本プロジェクトにおいて少なくともラットで代謝的に安定な化合物はサル及びヒトで安定であると判断される。Table 2 にラット、サル及びヒト肝ミクロソームでの代謝安定性と構造との関係について示した。R₁ 及び R₂ は薬理活性に影響しないアクセサリ部位と考えられ、この部位の化学構造を修飾することにより、薬理活性が強く代謝的に安定な化合物を見出すことができるものと考えられる。両部位の誘導体について代謝安定性を評価した結果、piperazine 環の窒素へのアルキル基の導入は代謝を受け易くするものの、homopiperazine 環への置換は代謝を安定化させた。構造代謝相関の妥当性を検

証するため、この化合物をラットに静脈内及び経口投与し動態特性を検討した。静脈内投与後得られた CL_b は 0.581 l/hr/kg と比較的 low であり、経口投与後の生体内利用率は約 53% と良好であった (Table 3)。本化合物については物理化学的特性から小腸粘膜の透過性が良好であること、ヒト肝ミクロソームでの CL_{int, app} が Kato らによって示された小腸代謝に関する判断基準値²⁵⁾を下回っており、CYP3A4 により代謝されると仮定してもヒトにおける小腸初回通過代謝の比較的小さいことが予測された。さらに、ラットにおいて *in vitro* と *in vivo* が相関していること、構造代謝相関に種差がないことから、本化合物がヒトにおいて良好な動態プロファイルを示すも

Table 2. Structure and Metabolic Stability Relationship



	R1	R2	Metabolic stability ^{a)}		
			Rat	Monkey	Human
1	<chem>C1CCNCC1</chem>	-CN	0.24	0.29	0.17
2	<chem>C1CCNCC1</chem>	-Cl	0.23	0.55	0.19
3	<chem>C1CCNCC1</chem>	-NO ₂	0.24	0.56	0.28
4	<chem>C1CCNCC1</chem>	-NO ₂	1.17	1.36	0.51
5	<chem>CCN1CCNCC1</chem>	-NO ₂	2.84	2.07	0.88
6	<chem>CC(C)N1CCNCC1</chem>	-NO ₂	3.48	4.28	1.49
7	<chem>CCC(C)N1CCNCC1</chem>	-NO ₂	4.40	3.52	1.27
8	<chem>C1CCNCC1C2CCNCC2</chem>	-NO ₂	5.14	4.30	1.63
9	<chem>C1CCNCC1C2CCNCC2</chem>	-NO ₂	1.93	1.02	0.2
10	<chem>CN1CCNCC1</chem>	-NO ₂	4.63	1.45	0.72
11	<chem>C1CCNCC1C2CCNCC2</chem>	-NO ₂	0.11	0.164	0.045
12	<chem>C1CCNCC1</chem>	-NO ₂	0.070	0.082	0.031
13	<chem>CCN1CCNCC1</chem>	-NO ₂	5.27	2.98	2.07
14	<chem>CC(C)N1CCNCC1</chem>	-NO ₂	1.22	0.55	0.11

a) CL_{int, app} (ml/min/mg).

Table 3. Pharmacokinetic Parameters of Homopiperazine Compound after Intravenous and Oral Administration at 2 mg/kg to Rats

		Estimated values
iv	$t_{1/2}$ (hr)	1.43
	V_{ss} (l/kg)	0.843
	CL_b (l/hr/kg)	0.581
po	$C_{max\ norm}$ (ng/ml)	81.3
	T_{max} (hr)	6.0
	$t_{1/2}$ (hr)	4.35
	AUC_{norm} (ng*hr/ml)	995
	BA (%)	52.6

のと判断された。

以上示したように、母骨格構造が代謝安定性に問題がある場合、*in vitro* と *in vivo* の相関関係を確立した上で構造代謝相関を明らかにすることにより、プロジェクト内で構造活性相関のデータとともに議論することができるようになる。そして構造展開の方向性が明確になるとともに効率的な最適化が可能となり、探索薬物動態部門が開発候補品の選定に加えその初期段階から中心的役割を果たすようになるであろう。

REFERENCES

- 1) Ansede J. H., Thakker D. R., *J. Pharm. Sci.*, **93**, 239–255 (2004).
- 2) Ito K., Iwatsubo T., Kanamitsu S., Nakajima Y., Sugiyama Y., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **38**, 461–499 (1998).
- 3) Shibata Y., Takahashi H., Chiba M., Ishii Y., *Drug Metab. Dispos.*, **30**, 892–896 (2002).
- 4) Shimada T., Yamazaki H., Miura M., Inui Y., Guengerich F. P., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **270**, 414–423 (1994).
- 5) Korfmacher W. A., Palmer C. A., Nardo C., Dunn-Meynell K., Grotz D., Cox K., Lin C. C., Elicone C., Liu C., Duchoslav E., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 901–907 (1999).
- 6) Eddershaw P. J., Dickins M., *Pharm. Sci. Technol. Today*, **2**, 13–19 (1999).
- 7) Linget J. M., du Vignaud P., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **19**, 893–901 (1999).
- 8) Obach R. S., *Drug Metab. Dispos.*, **27**, 1350–1359 (1999).
- 9) Carlile D. J., Stevens A. J., Ashforth E. I., Waghela D., Houston J. B., *Drug Metab. Dispos.*, **26**, 216–221 (1998).
- 10) Masimirembwa C. M., Bredberg U., Andersson T. B., *Clin. Pharmacokinet.*, **42**, 515–528 (2003).
- 11) Clarke S. E., Jeffrey P., *Xenobiotica*, **31**, 591–598 (2001).
- 12) Komura H., Kawahara I., Shigemoto Y., Matsuda K., Ano R., Murayama Y., Moriwaki T., Yoshida N. H., *Yakugaku Zasshi* **125**, 121–130 (2005).
- 13) Kumar S., Samuel K., Subramanian R., Braun M. P., Stearns R. A., Chiu S. H., Evans D. C., Baillie T. A., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **303**, 969–978 (2002).
- 14) Carlile D. J., Zomorodi K., Houston J. B., *Drug Metab. Dispos.*, **25**, 903–911 (1997).
- 15) Obach R. S., *Drug Metab. Dispos.*, **25**, 1359–1369 (1997).
- 16) Venkatakrisnan K., von Moltke L. L., Obach R. S., Greenblatt D. J., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **293**, 343–350 (2000).
- 17) Pehourcq F. D., Radouane A., Labat L., Bannwarth B., *Pharm. Res.*, **12**, 1535–1538 (1995).
- 18) Terasaki T., Nonda H., Tsuji A., *J. Pharmacobiodyn.*, **15**, 99–106 (1992).
- 19) Austin R. P., Barton P., Cockroft S. L., Wenlock M. C., Riley R. J., *Drug Metab. Dispos.*, **30**, 1497–1503 (2002).
- 20) Kariv I., Cao H., Oldenburg K. R., *J. Pharm. Sci.*, **90**, 580–587 (2001).
- 21) Ashton D. S., Beddell C., Ray A. D., Valko R. K., *J. Chromatogr.*, **707**, 367–372 (1995).
- 22) Komori M., Kikuchi O., Sakuma T., Funaki J., Kitada M., Kamataki T., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1171**, 141–146 (1992).
- 23) Prueksaritanont T., Gorham L. M., Hochman J. H., Tran L. O., Vyas K. P., *Drug Metab. Dispos.*, **24**, 634–642 (1996).
- 24) Komura H., Yasuda M., Yoshida N. H., Sugiyama Y., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **17**, 427–436 (2002).
- 25) Kato M., Chiba K., Hisaka A., Ishigami M., Kayama M., Mizuno N., Nagata Y., Takakuwa S., Tsukamoto Y., Ueda K., Kusuhara H., Ito K., Sugiyama Y., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **18**, 365–372 (2003).