

中分子ペプチド医薬品の 開発効率化に資する レギュラトリーサイエンス研究

国立医薬品食品衛生研究所

有機化学部

出水 庸介

本発表は、厚生労働省の公式な
見解ではありません。

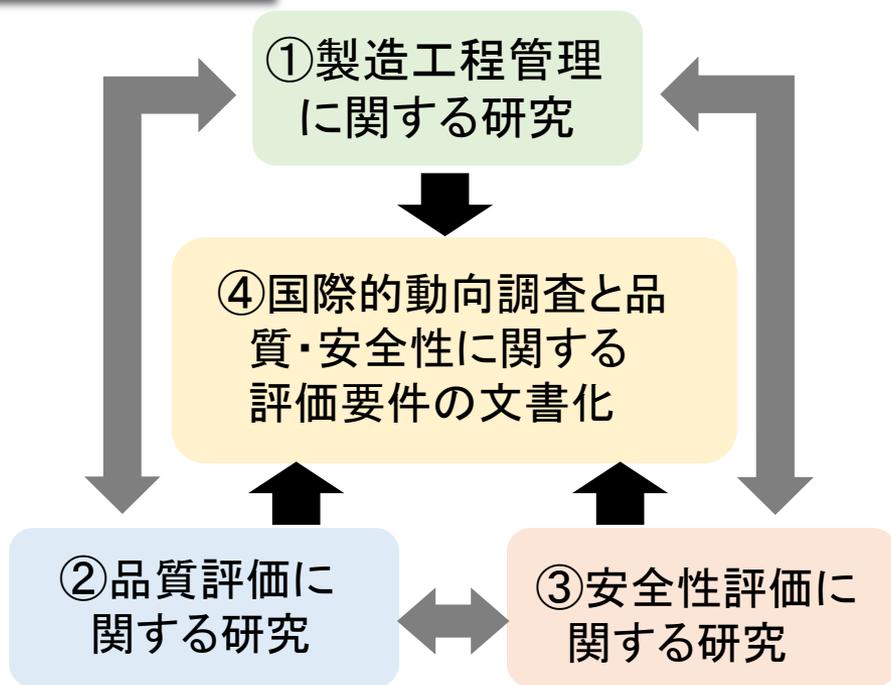
また、本研究において開示すべき
利益相反はありません。

研究の目的・戦略・成果・期待効果

研究目的

本邦発の次世代型中分子ペプチド医薬品の開発効率化に必要な、品質および安全性確保のための規制要件に関する研究(①~④)を行う。

戦略と成果



成果:①~③の研究成果に基づき
規制要件案を作成

成果の活用

- 成果を公表することで、企業が医薬品開発時に当該技術や品質安全性確保の考え方を活用できる。
- 企業が薬事戦略相談や承認申請資料で利用できる。
- ガイドラインや技術指針作成の際に利用できる。

期待効果

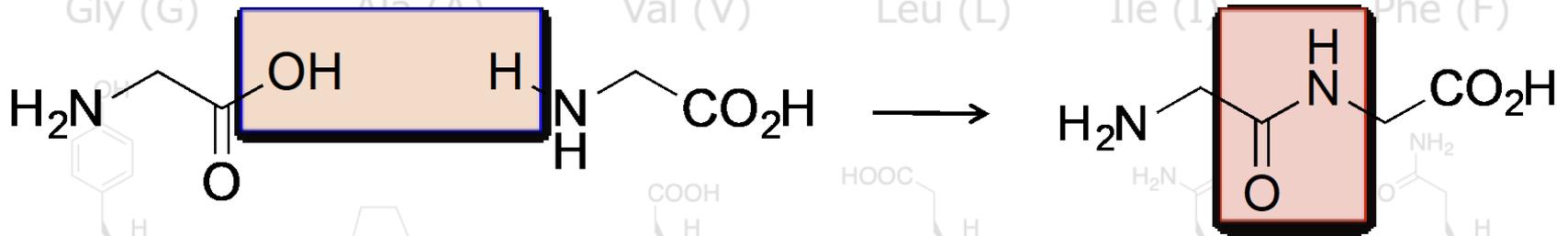
医薬品開発期間の短縮,
コスト削減, 成功確率向上

本日の話題

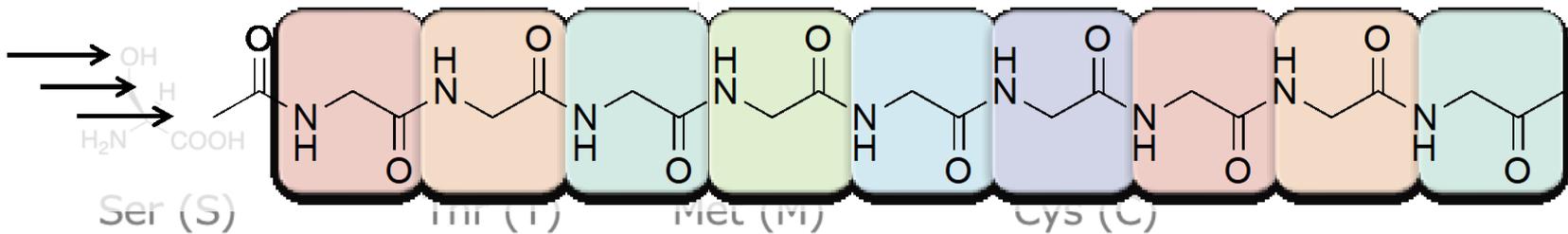
- ペプチド医薬品の定義・分類・特徴
- 中分子ペプチド医薬品開発の現状
- 中分子ペプチド医薬品の品質及び安全性評価の考え方
(現在のICHガイドライン)
- 次世代型中分子ペプチド医薬品の規制整備に関するAMED研究班の活動

ペプチドとは

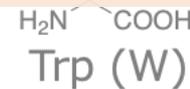
2つのアミノ酸が脱水縮合により結合した分子



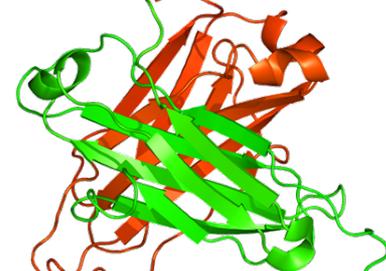
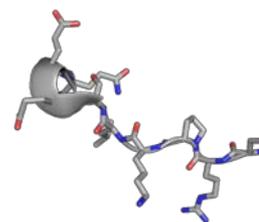
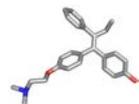
アミド結合(ペプチド結合)



20種類の天然型アミノ酸から構成される天然型ペプチド以外に、化学合成された非天然型アミノ酸を含む次世代型ペプチド医薬品開発が活発化

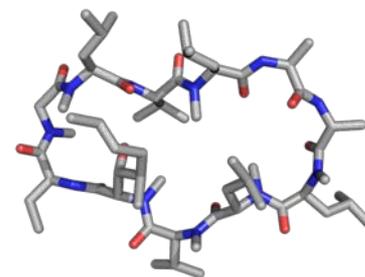
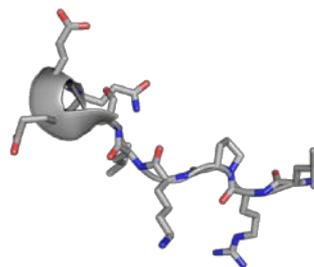


低分子, 古典的ペプチド, 抗体医薬品の特徴



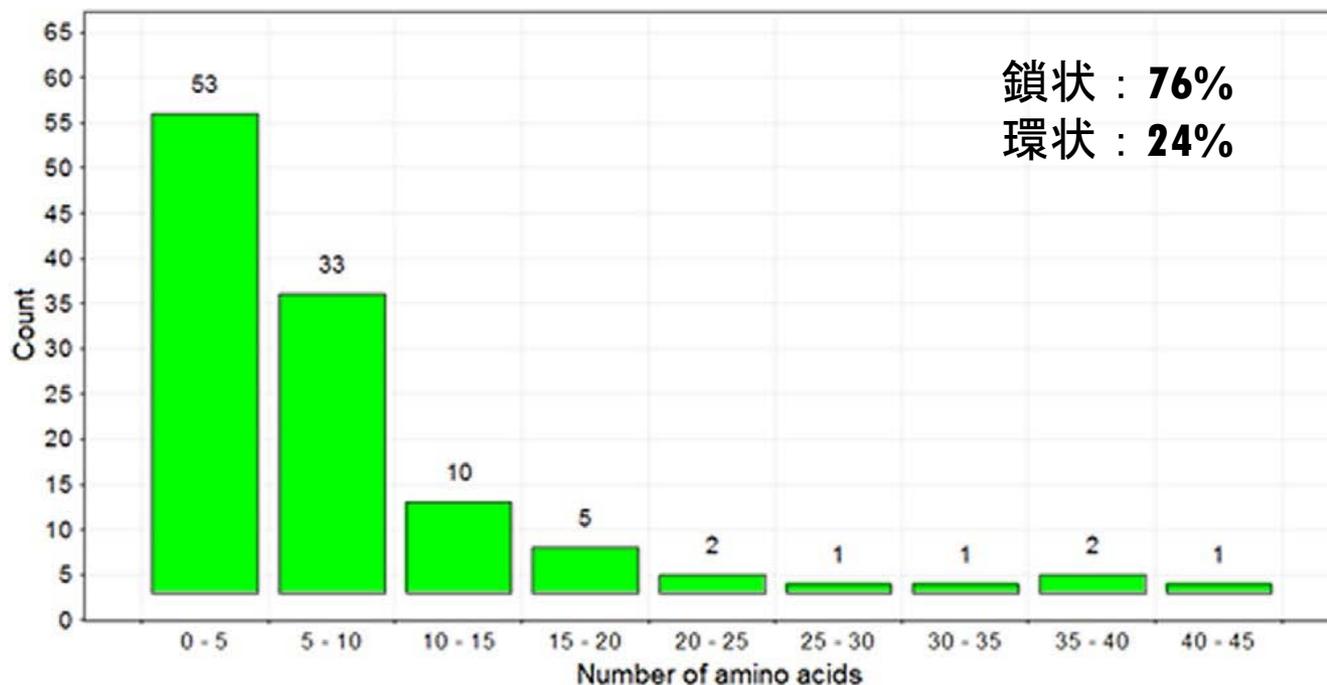
	低分子薬	古典的ペプチド薬	抗体医薬
分子量	1000以下	500~6000	15万程度
特異性	低い	高い	高い
副作用	多い	少ない	少ない
血中安定性	低い	低い	高い
細胞内標的	狙える	狙えない	狙えない
PPI阻害	狙えない	狙える	狙える
経口投与	可能	不可能	不可能
化学合成	可能	可能	不可能
製造・品質管理コスト	低い	低い	高い

古典的及び次世代型中分子ペプチド医薬品の特徴



	古典的ペプチド	次世代型中分子ペプチド
分子量	500～6000	500～3000
特異性	高い	高い
副作用	少ない	少ない
血中安定性	低い	高い
細胞内標的	狙えない	狙える
PPI阻害	狙える	狙える
経口投与	不可能	可能
化学合成	可能	可能
製造・品質管理コスト	低い	低い

上市ペプチド医薬品（化学合成） 中の構成アミノ酸数



94% (20残基以下)

Emery, F. S. et al., *ChemMedChem* 2016, 11, 2245-2251.

合成技術向上により20残基以上のペプチド医薬品開発も活発化

ペプチド医薬品の構造

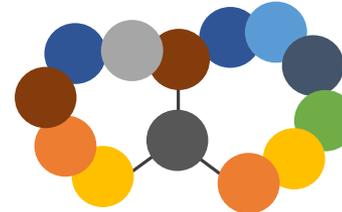
✓ 鎖状ペプチド



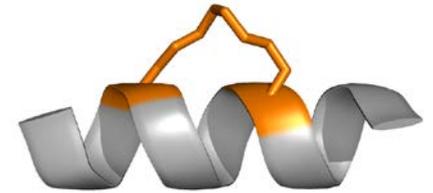
分岐鎖ペプチド

✓ 環状ペプチド

ペプチド結合, ジスルフィド,
側鎖アミド, 炭素-炭素結合,
チオエーテル等



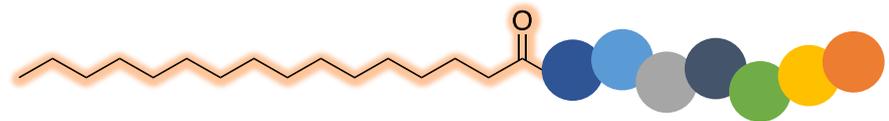
Bicycles



Stapled peptide

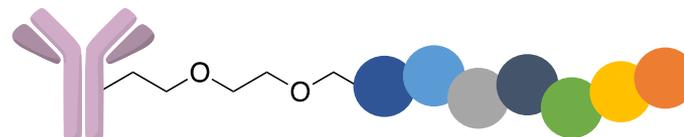
✓ リポペプチド

一部のアミノ酸に脂肪酸が結合したペプチドで, 抗菌作用を持つものが多い.



✓ コンジュゲート型ペプチド

ペプチドにリンカーを介して薬剤や抗体等を結合.



抗体, 薬剤等

次世代中分子ペプチド医薬品の疾患領域と特徴

ペプチド医薬品開発動向

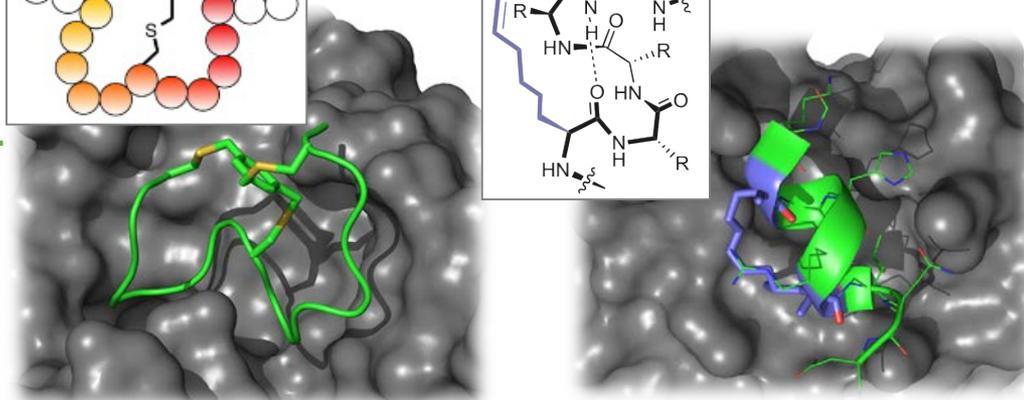
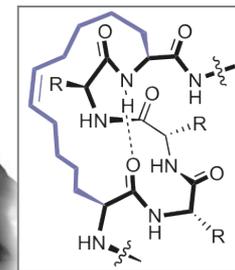
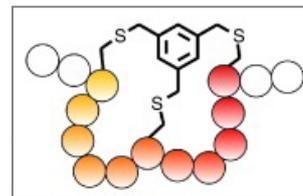
がん(脳腫瘍, 肝臓がん等), 代謝性, 遺伝性, 希少, 感染症, 自己免疫など:
172品目(承認申請:5, Phase III:13, Phase II:61, Phase I:39, 非臨床:54)

次世代中分子(特殊ペプチド):7品目(Phase II:1, Phase I:2, 非臨床:4)
(パーキンソン病、急性骨髄性白血病、固形がん、2型糖尿病、循環器疾患. 構造が明らかとなっているもの)

- 従来の医薬品では達成できなかった治療効果が期待できる。
- 化学合成による製造が可能であり製造コストの問題を回避できる。

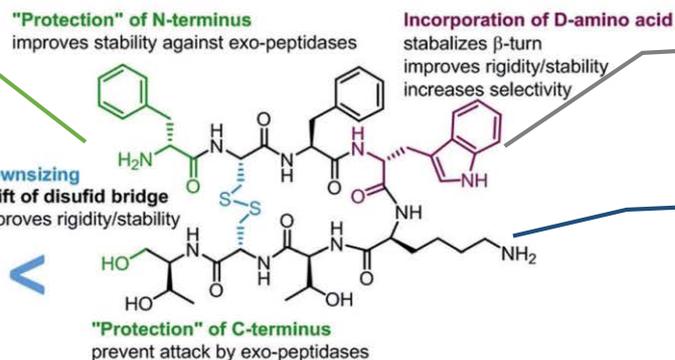
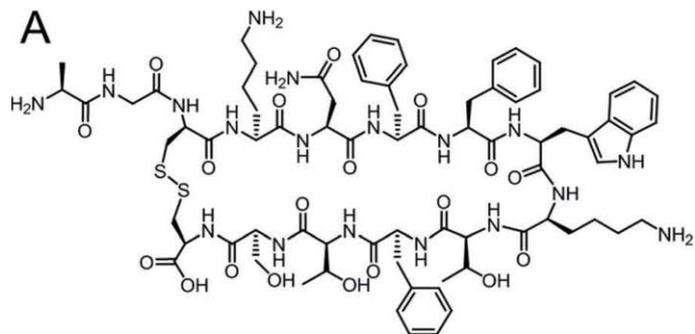
特徴

- ・ 非天然型アミノ酸を含有
- ・ 特殊な立体構造
- ・ 高い細胞膜透過性の付与が可能
- ・ 標的タンパク質に対する高い親和性
- ・ 酵素分解耐性の獲得
- ・ 化学合成による製造が可能



ペプチド構造修飾による安定性・選択性の向上

N,C末端修飾

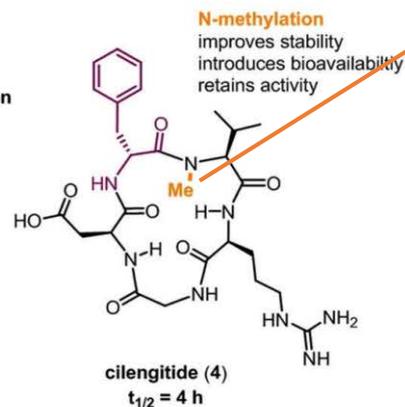
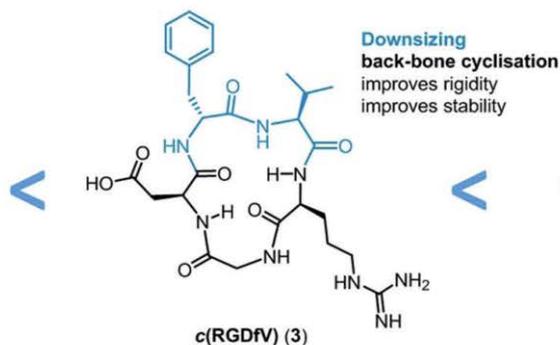
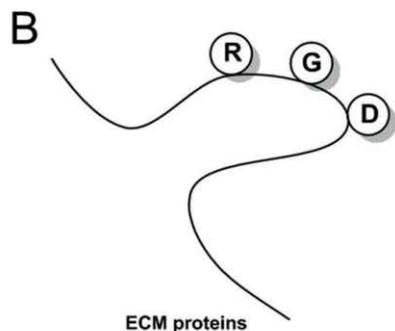


D-アミノ酸

ダウンサイズ化

Peptide modification

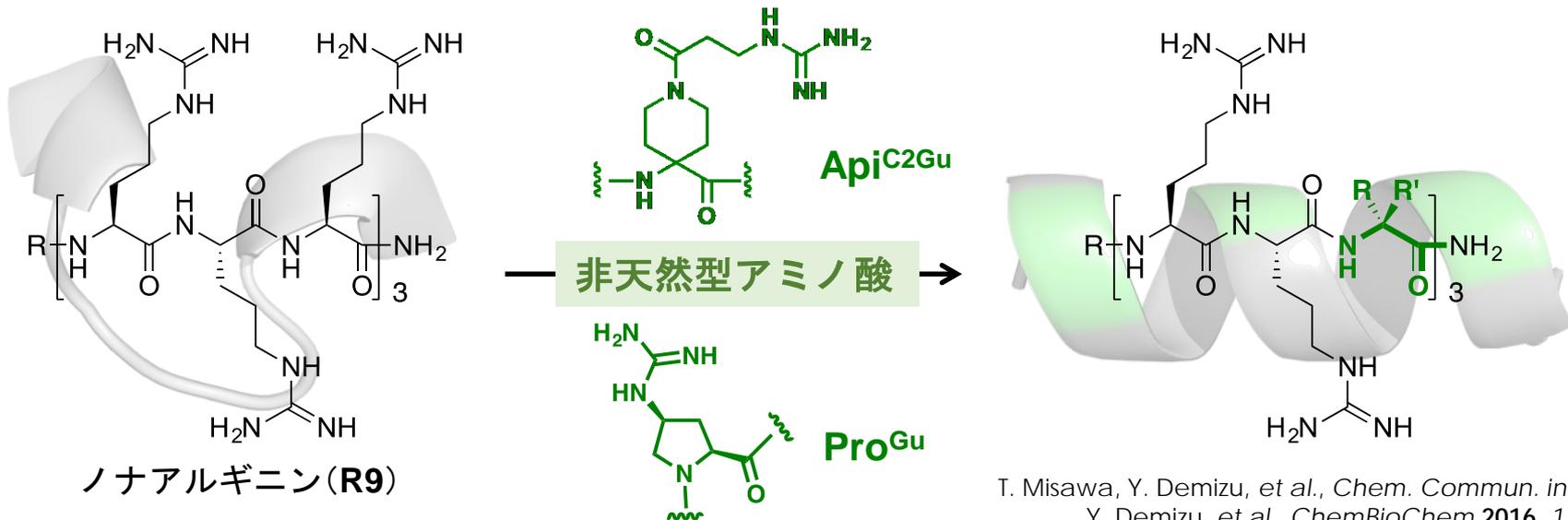
- Improves selectivity
- Improves stability



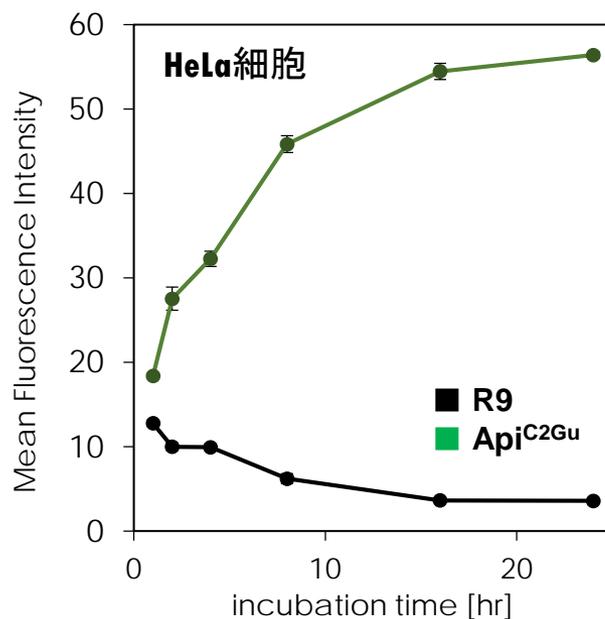
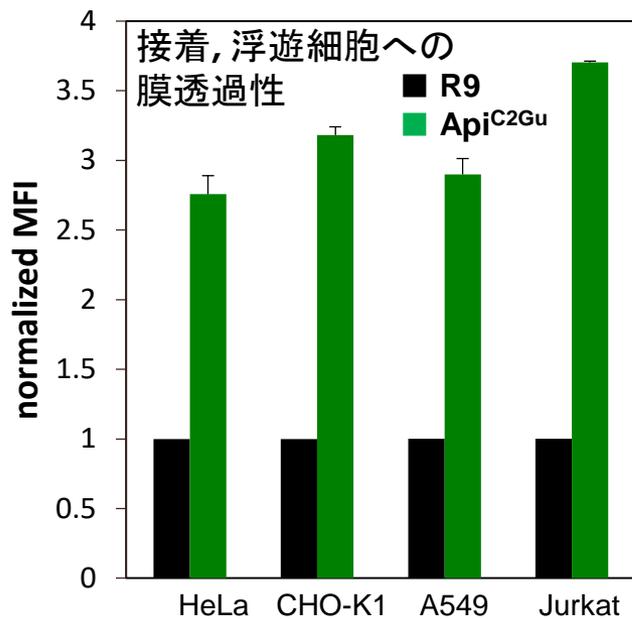
N-メチル化

stability and selectivity

ヘリカル構造を安定化した細胞膜透過性ペプチド



T. Misawa, Y. Demizu, *et al.*, *Chem. Commun.* in press.
 Y. Demizu, *et al.*, *ChemBioChem* 2016, 17, 137.
 Y. Demizu, *et al.*, *Sci. Rep.* 2016, 6, 33003.



特徴

- ✓ 安定なヘリカル構造
- ✓ 接着細胞, 浮遊細胞に対して高い透過性
- ✓ 高い化学的安定性
- ✓ 効率的なpDNAの細胞内輸送

ペプチド医薬品の製造法

- 遺伝子組換え

ex. リラグルチド, グルカゴン

- 化学合成

- 液相合成法

ex. リュープロレリン

- 固相合成法 (Fmoc法, Boc法)

ex. テリパラチド, エキセナチド

- タグ合成法 (AJIPHASE, Molecular Hiving)

ペプチド医薬品の製造比率

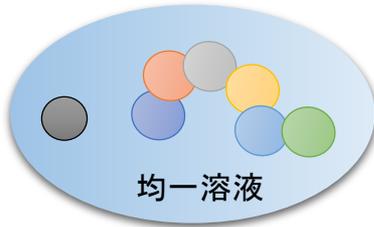
上市品

遺伝子組換え : 17%
化学合成 : 83%

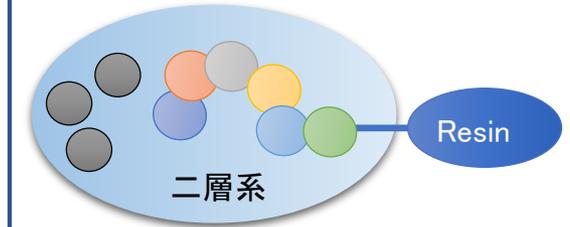
開発中

遺伝子組換え : 7%
化学合成 : 93%

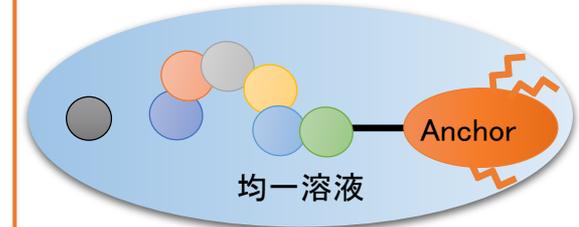
液相合成法



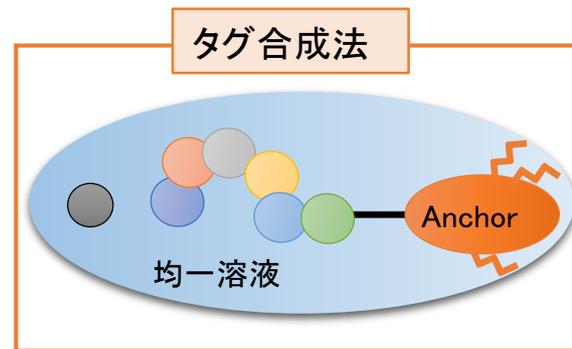
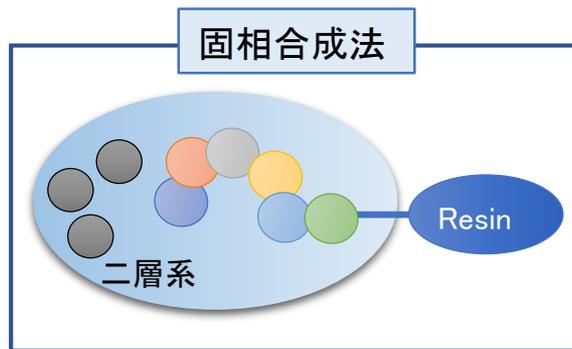
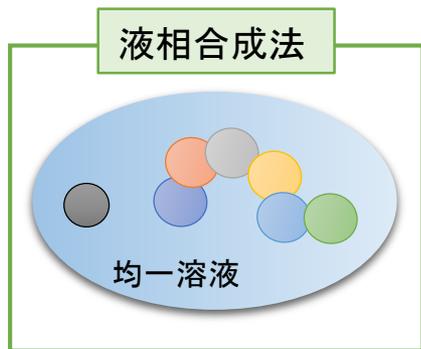
固相合成法



タグ合成法



各化学合成法の特徴

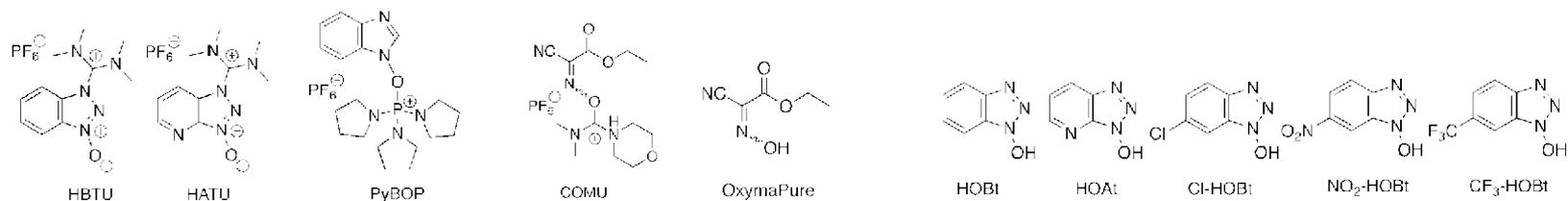


	液相法	固相法	タグ合成法
品質	○		○
製造コスト	○		○
工程内管理	○		○
製造時間（短さ）		○	○
分取しやすさ		○	○
長い配列		○	○

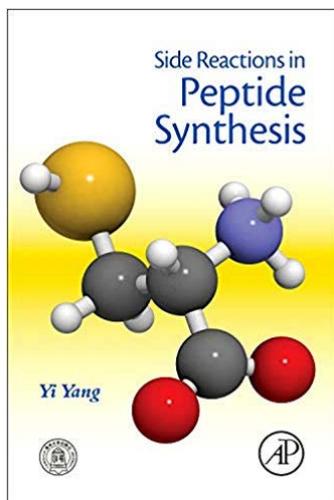
✓ ペプチド合成において使用する縮合剤, 添加剤に関する総説

Choosing the Right Coupling Reagent for Peptides: A Twenty-Five-Year Journey

Albericio, F.; El-Faham, A. *Org. Process Res. Dev.* **2018**, *22*, 760–772.



✓ ペプチド合成において生成する不純物等に関する書籍



ISBN: 978-0-12-801009-9

- Peptide Fragmentation/Deletion Side Reactions
- β -Elimination of Side Reactions
- Peptide Global Deprotection/Scavenger-Induced Side Reactions
- Peptide Rearrangement Side Reactions
- Side Reactions Upon Amino Acid/Peptide Carboxyl Activation
- Intramolecular Cyclization Side Reactions
- Side Reactions on Amino Groups in Peptide Synthesis

⋮

ICHガイドラインの適用対象（ペプチド）

ICHガイドライン		合成	組換え
Q1A(R2)	安定性試験ガイドライン	○	×
Q1B	新原薬及び新製剤の光安定性試験ガイドライン	○	○
Q1C	新投与経路医薬品等の安定性試験成績の取扱いに関するガイドライン	○	○
Q1D	原薬及び製剤の安定性試験へのブラケットティング法及びマトリキシング法の適用について	○	○
Q1E	安定性データの評価に関するガイドライン	○	○
Q3A(R2)	新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン	×	×
Q3B(R2)	新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン 新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定	×	×
Q3C(R3)	医薬品の残留溶媒ガイドライン 医薬品残留溶媒の限度値について	○	○
Q3D	医薬品の金属不純物ガイドライン	○	○
Q4B Annex15	ICHQ4Bガイドラインに基づく事項別付属文書（エンドトキシン試験法）	×	○
Q5A(R1)	「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価	×	○
Q5B	組換えDNA技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析	×	○
Q5C	生物薬品（バイオテクノロジー応用製品／生物起源由来製品）の安定性試験	×	○
Q5D	生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析	×	○
Q5E	生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の製造工程の変更にもなう同等性／同質性評価	×	○
Q6A	新医薬品の規格及び試験方法の設定	△	×
Q6B	生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び試験方法の設定	×	○
Q7A	原薬GMPのガイドライン	○	○
Q8(R2)	製剤開発に関するガイドライン 製剤開発に関するガイドラインの改定	○ ○	○ ○
Q9	品質リスクマネジメントに関するガイドライン	○	○
Q10	医薬品品質システムに関するガイドライン	○	○
Q11	原薬の開発と製造（化学薬品及びバイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）ガイドライン Q&A出発物質	△	△
M7	潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA反応性（変異原性）不純物の評価及び管理	×	×

Q3A 新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン

1.はじめに

本ガイドラインは、新有効成分含有医薬品のうち、化学的合成法で製造される原薬（以下、「新原薬」という。）中の不純物の量及びその安全性の確認に関する承認申請に際しての指針を示している。本ガイドラインは、臨床試験段階で使用する新原薬に適用することを意図したものではない。

次に掲げるタイプの原薬は本ガイドラインの**対象としない**：

生物学的製剤/バイオテクノロジー応用医薬品、**ペプチド**、オリゴヌクレオチド、放射性医薬品、醗酵生成物、醗酵生成物を原料とした半合成医薬品、生薬（herbal products）及び動植物由来の医薬品。

Q3Aガイドラインを参考にしたペプチド原薬の不純物

- 有機不純物（出発原料，副生成物，中間体，分解生成物，試薬，配位子及び触媒）
 - 出発原料：Fmoc-保護アミノ酸（光学純度等）
 - 副生成物：欠損体，ジアステレオマー，Cys, Met残基の酸化，N末端Gln, Gluのピログルタミン酸化，Ser, Thr, Tyr, Lys, N末端アミノ基などのアシル化，Asp, AsnのSuccinimide化
 - 試薬：縮合剤，添加剤，塩基，脱保護剤，溶媒，ペプチド切出し試薬，キャッピング剤
 - 触媒：ルテニウム触媒（ステープル化）
- 無機不純物（試薬，配位子及び触媒，重金属，他の残留金属，無機塩類，ろ過助剤，活性炭など）
- 残留溶媒

Q6A 新医薬品の規格及び試験方法の設定について

1.3. 本ガイドラインの適用範囲

(前略) 本ガイドラインは、新製剤（配合剤を含む）及び、適用が必要な地域では、新原薬の製造承認を対象としたものであり、医薬品開発の臨床試験段階にある原薬及び製剤は対象としない。本ガイドラインは、合成ならびに半合成の抗生物質及び低分子量の合成ペプチドにも適用可能である。

しかしながら、**高分子量のペプチド**、ポリペプチド及びバイオテクノロジー応用医薬品／生物学的製剤の**規格を適切に取り扱うのには十分とは言えない**。バイオテクノロジー応用医薬品／生物学的製剤の規格については、ICHガイドラインで取り扱われている。放射性医薬品、醗酵製品、オリゴヌクレオチド、植物製剤（herbal products）及び動植物由来の生薬製剤も対象としない。

Q6Aガイドラインを参考にしたペプチド原薬の特性解析

- アミノ酸配列及び組成、ペプチドマップ等の構造
- 分子量、クロマトグラフィーパターン、等電点、電気泳動パターン等の物理化学的性質
- CD, NMR, UV, 蛍光スペクトル, X線結晶構造等の分光学的性質
- 溶解性
- 吸湿性
- 生物学的性質
- 結晶形
- ジアステレオマー, 脱アミド化, アセチル化, 酸化・還元化ペプチド, アミノ酸欠損, β 脱離等の類縁物質
- 分解生成物

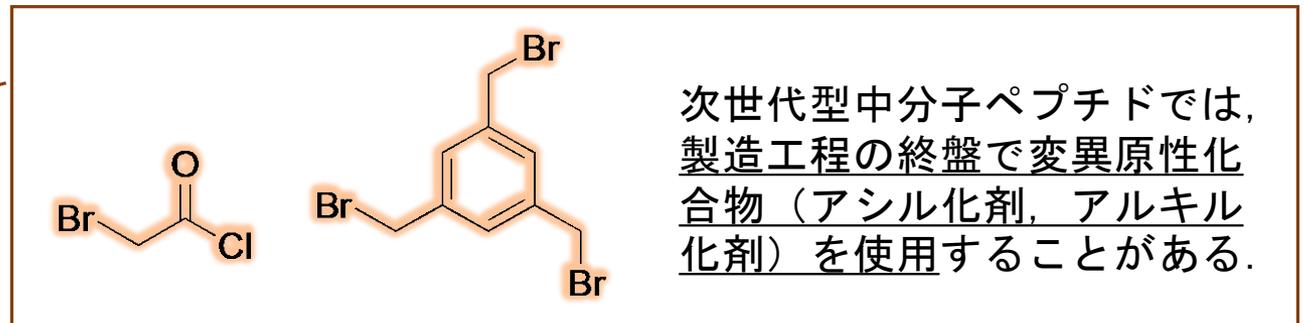
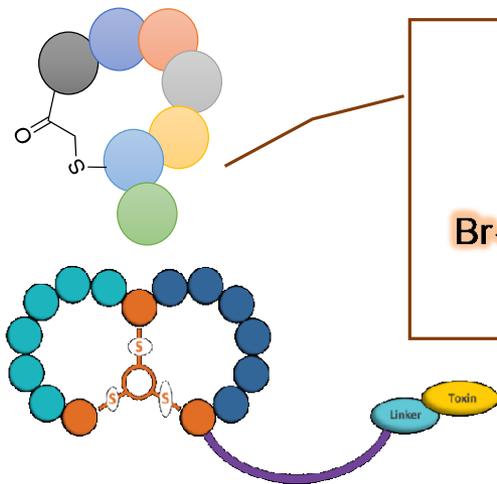
M7 (DNA反応性不純物)

M7ガイドラインは、潜在的発がんリスクを制限するために、変異原性不純物の構造決定、分類、安全性確認及び管理に適用される実用的な枠組みを示すことを目的としている。

- 現行ガイドラインでは、ペプチドは適用外

本ガイドラインに示される不純物の変異原性の評価は、次に掲げる種類の原薬及び製剤、すなわち生物学的製剤／バイオテクノロジー応用医薬品、ペプチド、オリゴヌクレオチド、放射性医薬品、醗酵生成物、生薬及び動植物由来の医薬品を対象としていない。

- 次世代型中分子ペプチド医薬品においては、M7を適用すべきか？



次世代型中分子ペプチドでは、製造工程の終盤で変異原性化合物（アシル化剤、アルキル化剤）を使用することがある。

その他

- 縮合剤、添加剤、溶媒、有機試薬

品質に関する課題

- 想定される目標製品品質プロファイルの整理（剤形，容器，貯法，投与経路，細胞膜透過性，作用機序等）
- 原薬及び製剤の特性解析において必要となる評価項目・評価手法の提示
- 重要品質特性特定のためのリスクアセスメント手法の提案
- 各剤形において製剤機能に影響する原薬品質特性の特定
- 有効成分の不均一性の許容可否
- 不純物評価に関する考え方の提示（類縁物質，有機不純物，無機不純物，残留溶媒などについて同定・整理，構造決定が必要とされる閾値等，ICHガイドラインの適用可能部分の整理）
- 原薬製造工程における出発物質の設定とその品質確保に関する考え方の提示
- 重要工程パラメータの特定に関する考え方の提示
- 規格及び試験方法の設定に関する考え方の提示（生物活性試験の要否，ICH Q6A/Bガイドラインの適用可能分の整理）
- 安定性評価に関する考え方の提示（安定性に影響するストレス要因等の整理，ICH Q1，Q5Cガイドラインの適用可能部分の整理）

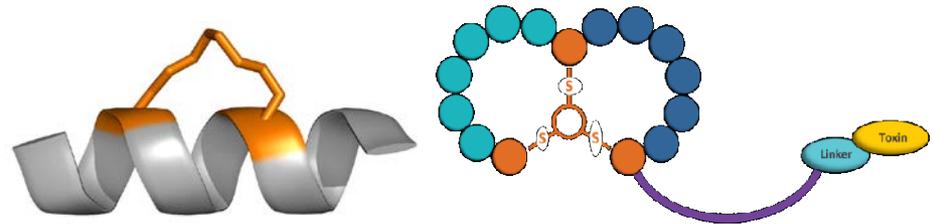
⇒中分子ペプチドの品質評価・管理の考え方の提案

ペプチド製造に関する研究

モデルペプチド

次世代型中分子ペプチド

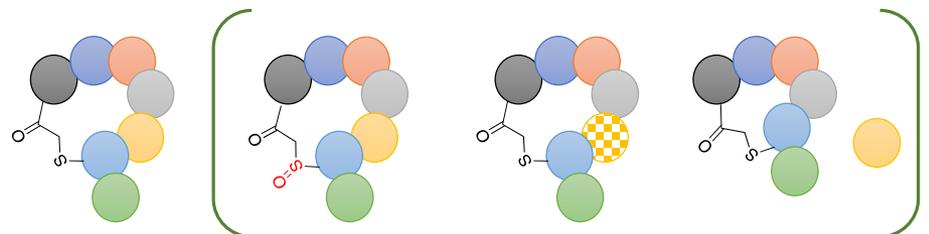
- β -Peptides
- Bicycles
- Stapled peptides



製造法の検討(液相法, 固相法, タグ合成, マイクロ波合成)

重要品質特性になり得る不純物, 及び重要工程パラメーターの特定

類縁物質, 有機不純物(出発原料, 副生成物, 中間体, 分解生成物, 試薬, 配位子, 触媒), 無機不純物, 残留溶媒などについて同定・整理する.



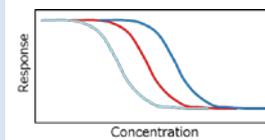
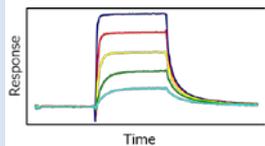
目的ペプチド 側鎖の化学変化 立体異性体 アミノ酸欠損

品質特性評価

バイオ医薬品の品質管理戦略を例に，生物活性・PK・PD・安全性・免疫原性への影響を考慮した，ペプチド医薬品の品質管理戦略構築手法の確立を目指す。

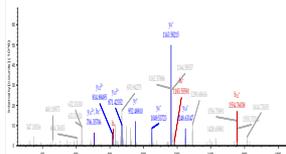
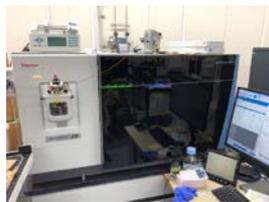
- ・ペプチド医薬品
- ・不純物
- ・劣化試料
- ・代謝物

生物活性



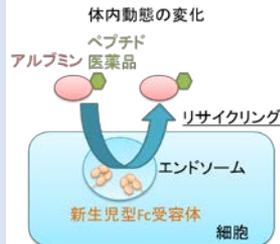
標的分子との結合や標的分子の活性阻害評価

構造解析



精密質量分析装置による構造決定

体内動態関連



体内動態の変化を引き起こすアルブミン結合性等の評価

ペプチド医薬品の品質評価要件等について整理

現行の非臨床試験ガイドラインの 適応範囲におけるペプチドの扱い

化学合成，組換え共に対象：S3A、S3B（TK, PK試験）
S4（単回・反復投与毒性試験）
S5案（生殖発生毒性試験）
S7A（安全性薬理試験）
S7B（QT延長試験）
S9（抗悪性腫瘍薬）

組換えのみ言及：S1C(R1)（がん原性試験．バイオ医薬品は必ずしも必要ない）
S2(R1)（遺伝毒性試験．生物学的製剤は適用外．AMES試験はペプチドの
試験には適さない）
S6(R1)（バイオ医薬品の非臨床安全性試験．組換えを対象とし，原則は化学
合成ペプチドも適用可能）
S8（免疫毒性試験．バイオ医薬品は適用外）

ペプチドは適用外：S10（光安全性試験）
M7（DNA反応性不純物）

安全性に関する課題

- 天然型と非天然型ペプチドとの切り分けとそれぞれにおける各毒性試験の必要性
- 適切な動物種の選択（必要な動物種の数など）
- 試験期間，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，免疫毒性試験，光安全性試験，局所刺激性試験
- 不純物（分解物を含む）を含めた原薬・製剤を用いた毒性試験の必要性について
- 苛酷条件下で保存したロットの毒性試験の必要性
- オフターゲット効果の動物やヒト細胞における評価
- ヒト組織パネルを用いた組織交叉性（TCR）試験の利用可能性と意義
- 現時点で有用と考えられるin vitro試験
- 抗薬物抗体評価の必要性
- 非天然型ペプチドの有効成分・代謝物（活性代謝物で親化合物の10%以上で必要？）の体内動態（排泄、組織分布）の検討の必要性，標的親和性と前記の%との関係，シトクロムP450やトランスポーターの基質，阻害，誘導の評価，薬物相互作用評価）
- 生体試料中薬物濃度分析法ガイドラインの適用
- FIH（First in Human）試験までに実施しておくべき非臨床安全性試験（M3との関連）
- ヒト初回投与量設定の考え方

非臨床安全性評価

動物試験におけるペプチドトランスポーター
や代謝酵素等の種差の違い



非臨床試験では予期できない毒性が現れる可能性

特殊構造及び非天然型アミノ酸由来代謝物の
細胞毒性評価

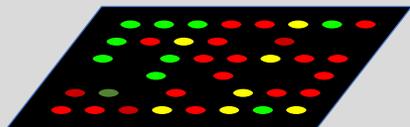


ヒト肝細胞 (HepaRG),
ラット初代培養肝細胞

天然型アミノ酸に置き換えたペプチドと比較

オフターゲット予測 (細胞毒性がみられた場合)

遺伝子発現変動解析



ヒト細胞内外の
結合タンパク質同定



毒性や注意すべきオフターゲット作用が検出された場合には、ペプチドトランスポーター発現と細胞毒性との相関等について調査。

まとめ

- 海外の規制動向調査，研究者及び規制関係者との情報交換・議論
- 品質及び安全性確保や開発効率化において問題となっている課題の抽出・整理
- ウェット研究に加え，規制側及び企業側との議論を通じ，推奨事項に関するコンセンサス獲得
- 品質及び安全性確保のための規制要件の提案