

《若手研究者紹介》



医薬品開発における結晶形選択の効率化を目指して

小 寫 隆 史 Takashi Kojima

武田薬品工業株式会社 探索研究センター 初期物性・探索 DMPK グループ

1. はじめに

筆者が研究者としての第一歩を踏み出したのは1995年の大学4年生の時であった。当時は大阪市立大学工学部生物応用化学科に所属しており、研究室選択の際に工学部ながらに創剤に関わりたいという気持ちがあり、DDS ツールであるリポソーム研究を実施していた生体材料工学研究室で研究を開始した。修士課程を修了後、さらに深く医薬品開発に携わるため、1997年に日本化薬株式会社に入社し、創薬本部 製剤グループに配属された。ペプチド性医薬品の物性評価および製剤開発やその他 DDS 研究に従事し充実した研究生活を送っていたが、グローバルを舞台にして研究したい思いがあり、外資系企業であるファイザー株式会社に2002年に転職した。その後、ファイザー株式会社中央研究所の閉鎖に伴い武田薬品工業株式会社に転職し、現在に至っている。本稿では、筆者が大学および企業にて経験した研究活動について紹介したい。

2. 固体科学との出会い

ファイザーに入社後、配属された製剤研究室では創薬初期段階での物性評価、塩・結晶多形選択、製剤化検討が実施されていた。筆者が担当したのが固

筆者紹介:1997年3月大阪市立大学大学院工学研究科前期博士課程を修了後、1997年4月日本化薬株式会社入社。2002年7月ファイザー製薬株式会社入社。2007年12月武田薬品工業株式会社入社、現在に至る。2007年3月神戸薬科大学大学院薬学研究科社会人選抜博士後期課程修了、博士(薬学)取得。2007年日本薬剤学会第32回製剤セミナー Postdoctoral Presentation Award 受賞。研究のモットー:あきらめず成功するまで努力し続ける。趣味:家族と時間を過ごす、スキー、映画鑑賞。

体医薬品の塩・結晶多形選択とその物性評価であり、固体科学研究の始まりであった。大学、企業においてリポソームやペプチド性医薬品の DDS 研究を行っていた筆者にとって、固体科学は全く未知の世界のため、楽しみであると同時に少しでも早く会社に貢献しなければという焦りがあった。企業での疾患領域プロジェクトにおいて化合物の開発を実際に行いながら、基礎的な知識を習得するために2004年に神戸薬科大学大学院薬学研究科に社会人学生として入学し、松田芳久教授(現特別教授・名誉教授)の御指導の下、固体医薬品の物理化学的特性に関する研究を開始した。

3. 固体物性研究の意義と医薬品開発への影響

市販製剤の原薬や開発段階にある医薬品の大多数は結晶であるが、医薬品は複雑な化学構造を有することから約70%以上で複数の結晶形(結晶多形・擬似多形)をもつことが知られている。個々の結晶形は固有の物理化学的特性を有することから、固体医薬品の開発において、最適な結晶形を選択し、さらに選択された結晶形の物性を十分に評価しておくことは、合理的な製剤設計を図り、かつ製剤工程を円滑化するために極めて重要である。例えば、医薬品の開発過程における候補化合物の塩や結晶形の種類により、薬物動態や安全性だけでなく、製造工程や品質管理面への影響等が報告されている。また、医薬品開発において選択した結晶形が不適切であったことに起因する特許訴訟や市販品の製造中止の事例もあり、企業が受けるダメージだけでなく社会に与える影響も大きい。さらに、選択された結晶形の物理化学的特性を十分に把握しておくことは、原薬、

製剤の製造および保存条件等の設定の点からも非常に重要である。

実際に筆者の短い研究歴の中でも、原薬や製剤の製造工程中に結晶転移の可能性がある、注意を払う必要のある医薬品候補化合物の開発を経験して来た^{1,2)}。ここでは、市販化合物であるクエン酸タモキシフェンの事例について紹介する。筆者はクエン酸タモキシフェンについて結晶多形スクリーニングを実施し、既に報告されているA形及びB形結晶に加え、メタノール、エタノール溶媒和物、さらにヘミクエン酸タモキシフェン1.5水和物の存在を見出した^{3,4)}。本研究において、原薬であるクエン酸タモキシフェンA形結晶及びB形結晶はいずれも高温・高湿度条件下であっても水和物への転移の可能性は極めて低かったが、水懸濁液中では容易にヘミクエン酸タモキシフェン1.5水和物に転移することが確認された。すなわち、クエン酸タモキシフェン原薬及び製剤は保存期間中における水和物への転移の可能性は低いと考えられるが、原薬の晶析工程や製剤工程において水を使用する際には、細心の注意が必要であると考えられる。さらに、ヘミクエン酸タモキシフェン1.5水和物は脱水後に融解することから、原薬製造及び製剤製造工程のいずれにおいても乾燥の際の温度条件についても十分な注意が必要である。これらに加えてクエン酸タモキシフェンはメタノール及びエタノール溶媒和物結晶が存在することから、原薬製造の際には、メタノール、エタノール及びこれらの混合溶媒の使用についても避けるべきであると考えられる。クエン酸タモキシフェンの物性評価により、原薬及び製剤の製造工程における注意点が明らかとなった。実際の医薬品開発においても、結晶多形の探索、物性評価は製造工程だけでなく原薬の保存条件や製剤処方、さらには包装の選択に関する基礎的な情報を与えるため重要な項目である。

4. 企業における塩・結晶多形の選択

結晶形選択の重要性は多くの製薬企業で認識されており、ほぼ共通したプロセスの概念 (Fig. 1) を持っていると思われる。しかし、実際には短期間かつ低コストを可能とする効率的な結晶形の選択方法及び物性評価方法については十分体系的に議論されておらず、多くの製薬企業では結晶形の選択及び物

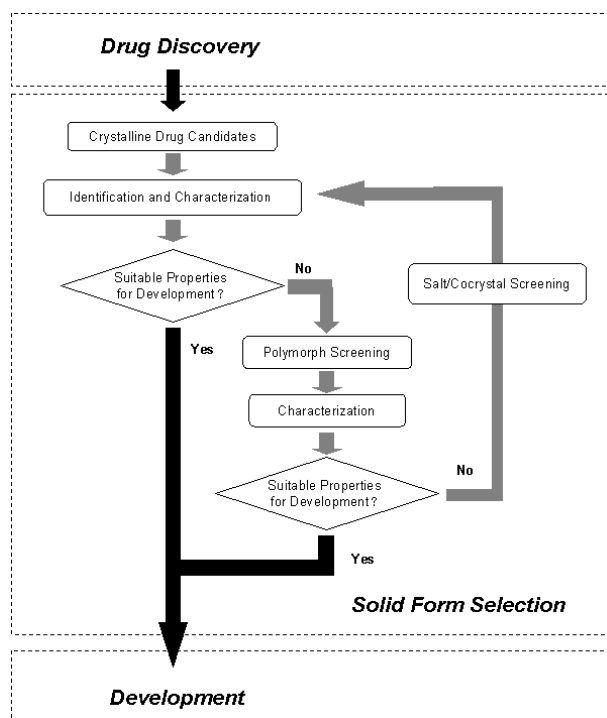


Fig. 1. Solid form selection process.

性評価は各社のノウハウに依存した独自のプロセスで行われ、時には非効率的な場合も見受けられる。このため、近年、欧米のベンチャー企業を中心として開発化合物の結晶形選択ツールの販売、受託研究、さらには結晶形選択のコンサルタント業務までがビジネスとなり、活発化している。いうまでもなく、医薬品開発における結晶形の選択を効率的に行うためには、医薬品候補化合物の物性プロファイルとその問題点だけでなく、マーケットの状況、開発コストの予想等の情報も必要であり、科学技術とビジネスに基づく戦略的観点のバランスが重要である。

実際には塩・結晶多形の選択に費やすコスト、期間や検討に用いる原薬量を考慮した上、スケジュールを調整し、開発可能な結晶形の選択を効率良く実施する。企業が社会に貢献するためには高品質な医薬品（ここでは適切な結晶形）を供給する必要があるが、健全な経営を考えると如何に効率良く実施するかが鍵になる。時間とコストを費やせば、高品質な結晶形が選択されるのは当然であるが、時間とコストは無制限でない。Fig. 2に塩・結晶多形選択とコストの関係を示す。破線で表すようにコストを費やせば結晶形のパフォーマンスは向上する。しかしながら、結晶形開発の目的を見失うとオーバース

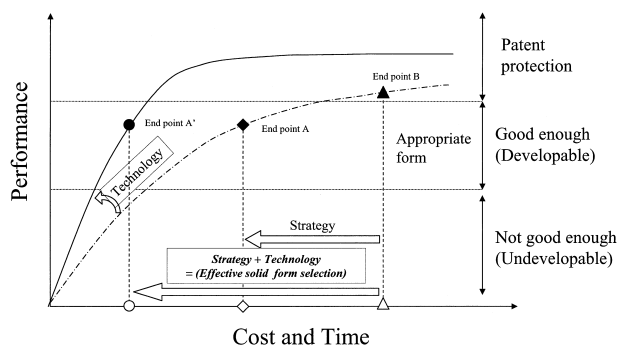


Fig. 2. Investment effect of solid form selection on the development cost and time.

ペックな結晶形開発，すなわち過剰投資になる。

Fig. 2 では適切な結晶形 (Appropriate form) が開発において十分 (Good enough) であるとし (End point A)，それ以上は知的財産保護等の目的が無い限り過剰投資である (End point B) ことを示している。例えば，医薬品候補化合物が物性に大きな問題が無いフリー体である場合，フリー体の安定形結晶が適切な結晶形で塩の探索は知的財産保護の範疇となる。このような場合，プロジェクトメンバーと塩の探索の必要性や実施するタイミングについて議論がなされる。

塩・結晶多形の選択は一般に，物性評価，結晶化スクリーニング，塩スクリーニング，結晶多形スクリーニング，安定形結晶スクリーニング等の組合せから構成される。これら全てのスクリーニングについて，より早期での実施が可能な手法が開発されており，受託研究企業数社から，それぞれ特徴を有したスクリーニングが供給されている。物性評価およびこれらのスクリーニングの選択と実施の順序を間違えると非効率的な開発となり，塩・結晶多形選択を実施する前にパズルの如く様々な組合せから最良の選択と順序を決定する必要がある (Fig. 3)。最良の選択は科学技術，ビジネスに関する様々な知識と経験を必要とするため複雑なパズルとなるが，そこがまた面白く企業研究における醍醐味でもある。

以上，ビジネスに基づく戦略的観点について紹介を行ったが，さらに塩・結晶多形選択の大幅な効率化を可能とするのが，本稿の主題でもある新規技術である。企業の使命として有用な医薬品を少しでも早く患者さんに届けることがある。企業研究者は使命を達成するため日々，医薬品の開発，さらには開発をスムーズに進めるための技術開発を行って

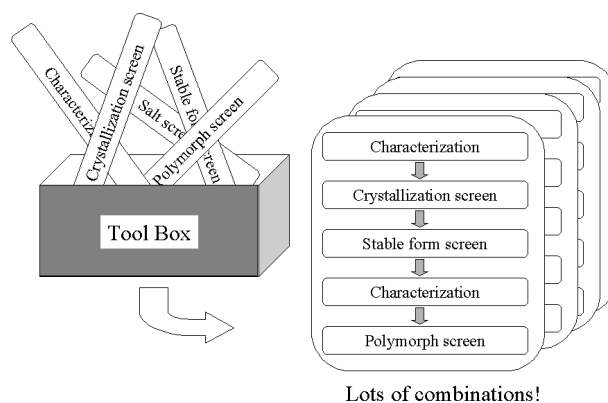


Fig. 3. Combinations of characterization and screening technologies.

り，筆者もその一人である。Fig. 2 において，新たな技術 (Technology) の適用により破線から実線曲線への移行が可能となり，同じ結晶形を開発するのに必要なコスト，時間が大幅に削減される。以下，筆者らが開発した新規技術，さらには医薬品開発への適用例について紹介する。

5. 塩・結晶多形スクリーニング法の開発

医薬品候補化合物の塩や結晶多形の中から開発に適した結晶形を効率的に選択するためには，塩や結晶多形を含めた全ての結晶形について短期間で把握する必要がある。複数の塩それぞれについての結晶多形の存在を考えると，その数は莫大であり，そのため実施されるのが塩・結晶多形のスクリーニングである。スクリーニング方法として，計算化学による予測とスクリーニング実験による手法に分けられるが，現時点での医薬品開発に取り入れられているのは実験による塩や結晶多形の探索である。スクリーニング実験による塩や結晶多形の探索は多大の労力と時間を要するため，Symyx, TransForm, Aptuit (SSCI), Avantium 等の企業においてそれぞれ特徴的なスクリーニングツールの販売や受託研究が行われている。筆者の所属したファイザーや現職である武田薬品工業においても塩や結晶多形探索の効率化が試みられている。ここ数年間でマルチウェルプレート対応の分析機器も登場し，塩・結晶多形スクリーニングにマルチウェルプレート対応の粉末X線回折装置やラマン顕微鏡が使用されるようになった。しかし，塩及び結晶多形のスクリーニング分野においては，分子レベルでの化学的情報について未だ十分に検討がなされておらず，さらなる研究が求

められた。筆者らは、マルチウェルプレートとラマン顕微鏡を用いた塩及び結晶多形のスクリーニングから得られる情報の整理及び更なる効率化を目的として、タモキシフェンをモデル化合物として使用し、その塩及び結晶多形のスクリーニングを行った⁵⁾。さらに、得られたいくつかの塩結晶のスケールアップ晶析操作を行うことにより、マルチウェルプレート法から得られた結果と比較した。

ラマンスペクトル測定の結果から、タモキシフェン（フリー体）及びコハク酸塩の場合には単一の結晶形が、またメタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、フマル酸塩及びクエン酸塩についてはいずれも2種類の結晶多形及び擬似多形の可能性が、さらにL-酒石酸塩については3種類の結晶多形及び擬似多形の存在の可能性がスクリーニングにより示唆された。これらの結晶多形及び擬似多形の可能性に関する物理的情報に加えて、ウェルプレート上の結晶形を精査することにより、多塩基酸塩についてはモル比1:1（タモキシフェン：多塩基酸）からなる塩が優先的に生成することが推測された。

そこで、フマル酸タモキシフェン及びクエン酸タモキシフェンをいずれも300 mgスケールでモル比1:1及び2:1（タモキシフェン：有機酸）の塩を調製した後、96ウェルプレートによる塩の調製で使った12種類の溶媒から再結晶した。得られた結晶については、粉末X線回折及び熱分析測定により結晶形の確認を、またイオンクロマトグラフィーによりモル比（タモキシフェン：有機酸）の確認を行った。その結果、無水物結晶については調製時モル比1:1（タモキシフェン：多塩基酸）及びモル比2:1の条件下で得られた結晶は、いずれもモル比1:1の組成であった。この結果は96ウェルプレート法から得られた情報であるモル比1:1の塩がモル比2:1の塩と比較して優先的に生成する知見と一致した。以上の結果から、96ウェルプレートを使用した有機酸塩のスクリーニングにおいて、既知の結晶多形に関する物理的情報だけでなく、生成する塩の化学量論に関する化学的情報も得られることが新たに確認された。

本研究で実施した有機酸塩のスクリーニングは、候補化合物について100 mg以下のスケールで実施することが可能であり、マルチウェル中で得られた結晶を候補化合物及び有機酸や塩の単独結晶のラマ

ンスペクトルと比較・同定することにより、化学量論に関する情報も容易に得られることが初めて明らかとなった。多塩基酸や多酸塩基から構成される塩は複数の組合せが可能であり、組合せの異なる塩は物性プロファイルが異なることから、従来の塩及び結晶多形選択の過程では全てを合成し評価する必要がある。それゆえ、多塩基酸塩や多酸塩基塩の化学量論に関する情報は非常に重要であり、本スクリーニング法を実施することにより、結晶形選択に必要な化合物量や実験期間が大幅に短縮されることが期待される。

次に、筆者らが開発した本スクリーニング方法はファイザーでの医薬品開発に応用したので、その一例を紹介する²⁾。化合物Aは結晶性の両性イオン化合物であり、開発初期段階において合成された原薬結晶ZW-Iは25°C/60% RHにおいて6ヵ月間で、25°C/75% RHでは数日間で吸湿後、水和物ZW-IVに転移することが確認されている。さらに、ZW-IVは含水率が約21%であることから、原薬ZW-Iの保存期間中に水和化に伴う重量増加が生じ、秤量値設定が困難となることが予想される。原薬結晶の吸湿性の問題を解決するため、ラマン顕微鏡を用いた塩・結晶多形のスクリーニングを実施した。

両性イオン化合物Aに対して15種類の酸、12種類の結晶化溶媒を使用して96ウェルプレート上で塩の調製を行い、偏光顕微鏡で確認された結晶について、ラマン顕微鏡による分析を行った。さらに、ラマン顕微鏡を用いたスクリーニングの結果に基づき、ベンゼンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩、モノ硫酸塩、ヘミエタンジスルホン酸塩、ヘミフマル酸塩、モノクエン酸塩のスケールアップ調製を行い、物性評価を行った。結晶多形スクリーニング、温度・湿度に対する安定性試験及び水蒸気自動吸脱着測定の結果からベンゼンスルホン酸塩のBSA-I結晶が選択された。さらに詳細な検討の結果、ベンゼンスルホン酸塩のBSA-I結晶は25°C/60% RH条件下においては1年間以上、25°C/84% RH条件下1ヵ月間においても水和物への転移が認められず、ZW-Iと比較して物理的安定性の向上が確認された。本研究では先述したラマン顕微鏡を用いた塩・結晶多形スクリーニングにより化合物Aの物性が効率的に改善された。結晶形選択において塩・結晶多形スクリーニングは候補結晶の可能性を

広げる役割を担っているため、今後もスピードだけでなく確度の高いスクリーニング系の開発が期待される。

6. 新規な固体物性評価法の開発

効率的な結晶形の選択には、スクリーニング法だけでなく物性評価方法にも効率化が求められる。本項では幾つかある物性評価方法の中でも分光学的手法について紹介する。筆者は学生時代から分光学的に興味を抱いていたので、企業においても分光学的手法を用いた分析方法の開発を積極的に行った。一見、大学時代と全く異なる研究テーマであっても根底にある科学と技術には共通点があり、学生時代に培われた研究への興味や情熱は後の研究スタイルにも影響を与えることが再認識される。ファイザーにおいては固体物性の分野ではあまり実績のなかったハイスループット対応のラマン顕微鏡を購入でき、当時の上司や仲間には非常に感謝している。ラマン顕微鏡は先述した塩・結晶多形スクリーニング法の開発ツールとして利用したが、本稿では筆者が従事したその他の分光分析に関わる研究を紹介する。

分析機器やスクリーニング技術の進歩、さらには医薬品開発における結晶形選択の重要性が認識され、結晶形の選択は化合物量が少量の早期の段階で実施される傾向にある。結晶形選択は溶解性、安定性、製造性等の複数の観点から実施される。安定性は化学的安定性、物理的安定性に分けることができるが、共に温度・湿度一定の条件下で長期間保存することにより実施される。スクリーニングの手法として、加速条件における安定性や水蒸気自動吸脱着等による試験が実施されるがスループットの高い評価方法や予測技術が存在しないのが現状である。しかし、塩・結晶多形の選択においては多面的な物性評価を実施する必要があることから、安定性についても複数の候補結晶を短期間で評価する必要が生じる。筆者も塩・結晶多形選択において安定性試験の結果待ちという経験が多い。このような背景を元に、短期間かつ少量の化合物によるスクリーニング手法の開発を目的とした化学的安定性、物理的安定性に関する研究を実施したので、それぞれについて紹介する。

クエン酸タモキシフェンは結晶多形としてA形、B形結晶の2種類が存在する。インタビューフォー

ムにおいてクエン酸タモキシフェンの光感受性について記載されているが、詳細な研究はなされていなかった。筆者らは表面積、空隙率を同等に調製したA形結晶、B形結晶の光安定性試験を実施したところ、A形結晶は光に不安定な結晶であるのに対して、B形結晶は光に対して安定な結晶であるという結果を得た⁶⁾。実施した安定性試験では結晶多形間における結晶構造以外の因子を同等にした結果であったため、結晶構造により吸収スペクトルが異なるのではないかと考えた。そこで、積分球を用いた固体UVスペクトル測定を実施したところ、B形結晶の極大吸収波長はUVB領域に観測されたのに対して、A形結晶の長波長側の極大吸収波長はUVA領域に観察され、B形結晶と比較して長波長側にシフトしていた。A形及びB形結晶の光安定性実験の結果と合わせて考察すると、A形結晶の吸収波長はB形結晶の吸収波長と比較して光安定性実験で光源として使用したキセノンランプの分光放射波長領域と密接に関係しており、このことから、A形結晶はより多量の光エネルギーを吸収することによって、光分解が生じたと考えられる。また、結晶形間での光吸収スペクトルの差違は、結晶中のクロモフォアの配列が異なることに起因すると推測された。本結果から、光に不安定かつ結晶多形を有する化合物を開発する際、個々の結晶の固体UVスペクトルを測定することにより、安定性の予測や安定性試験条件の絞込みの可能性が示された。

次に物理的安定性の例として、筆者らが実施した赤外拡散反射法(DRIFTS)を用いた水和物結晶の微量検出についての研究を紹介する。創薬初期段階の塩・結晶多形選択において複数の候補塩結晶の物性評価を実施する際、各塩の水和物の存在に関する情報は不十分なことが多い。水和物スクリーニングにより水和物の存在の有無が明らかになれば良いが、多くは化合物量や時間の制約のため水蒸気自動吸脱着試験後にスクリーニング的な安定性試験を実施することになる。そのような状況下においては水和物の標品がないため、水和物への僅かな転移を検出するのは困難である。筆者らは、結晶表面上の僅かな水和形成をDRIFTSを用いた結晶水特有のスペクトルから検出し、水和物の標品がなくサンプル量が少量の探索初期段階においても安定性試験の予測が可能であることを見出した⁷⁾。本項では固

体医薬品の物性評価の中でも分光学的手法を用いた化学的安定性、物理的安定性の予測について紹介した。医薬品開発に必要な物性評価項目やその他の分析手法を考慮すると、結晶形選択の今後の更なる効率化が期待される。

7. お わ り に

医薬品開発において塩・結晶形の選択は、科学技術と戦略的観点の両者のバランスが重要である。特に科学技術の進歩は固体物性の分野においても目覚しく、数年前には新規であった分析方法やスクリーニング技術は現在当たり前のように実施され、新たな効率化を目指した技術が求められている。筆者は現在、武田薬品工業株式会社において新規医薬品候補化合物の塩・結晶多形の選択、新規分析方法、スクリーニング技術の開発に携わっている。有用な医薬品を早く患者さんに届けるという企業の使命に少しでも貢献できるよう、今後も努力を続けたい。

本稿における研究は神戸薬科大学およびファイザー株式会社において実施されたものである。本研究を遂行するにあたり御指導と御鞭撻を賜りました神戸薬科大学 松田芳久特別教授・名誉教授に深く感謝いたします。さらに、本研究において終始熱心な御指導と御助言を賜りましたファイザー株式会社中央研究所 真野高司室長（現ファイザー株式会社サンドウィッチ研究所）、中央研究所の諸氏に心より感謝いたします。本稿を作成するにあたり、有益

な御指導、御助言を賜りました武田薬品工業株式会社 森脇俊哉リサーチマネージャー、池田幸弘主席研究員に感謝いたします。

引 用 文 献

- 1) T. Kojima, M. Sato, A. Omura, M. Kawai, M. Sakai, Y. Matsuoka, Y. Murata, K. Hattori, S. Sakemi, J. Bordner, I. Samardjiev, T. Mano, Solid-state characterization of an NR2B selective N-methyl D-Aspartate (NMDA) antagonist polymorphs, *Int. J. Pharm.*, **355**, 337–340 (2008).
- 2) T. Kojima, K. Sugano, S. Onoue, N. Murase, M. Sato, Y. Kawabata, T. Mano, Solid form selection of zwitterionic 5-HT₄ receptor agonist, *Int. J. Pharm.*, **350**, 35–42 (2008).
- 3) T. Kojima, F. Kato, R. Teraoka, Y. Matsuda, S. Kitagawa, M. Tsuhako, Physicochemical characterization of tamoxifen citrate pseudopolymorphs, ethanolate and methanolate, *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 407–411 (2007).
- 4) T. Kojima, F. Kato, Y. Matsuda, R. Teraoka, S. Kitagawa, Physicochemical properties of tamoxifen hemicitrate sesquihydrate, *Int. J. Pharm.*, **352**, 146–151 (2008).
- 5) T. Kojima, S. Onoue, N. Murase, F. Katoh, T. Mano, Y. Matsuda, Crystalline form information from multi-well plate salt screening by use of Raman microscopy, *Pharm. Res.*, **23**, 806–812 (2006).
- 6) T. Kojima, S. Onoue, F. Katoh, R. Teraoka, Y. Matsuda, S. Kitagawa, M. Tsuhako, Effect of spectroscopic properties on photostability of tamoxifen citrate polymorphs, *Int. J. Pharm.*, **336**, 346–351 (2007).
- 7) T. Kojima, Y. Yamauchi, S. Onoue, Y. Tsuda, Evaluation of hydrate formation of a pharmaceutical solid by using diffuse reflectance infrared Fourier-transform spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **46**, 788–791 (2008).