

## 《若手研究者紹介》



## 薬剤学とメカノケミストリーに纏わる Polyvalency

深 水 啓 朗\* Toshiro Fukami

日本大学薬学部薬剤学研究室

## 1. はじめに

Polyvalency は、化学的には複数の結合対、生物学的には広範な親和性を意味する“多価性”などと訳されているが、世間一般的には複数のポジションをこなすことができるサッカー選手の形容として、イビチャ・オシム前監督の時代に普及した言葉である。薬剤学は物理、生物、臨床などの接頭辞を有する多価な学問であり、最も薬学らしい分野といえるだろう。筆者は私立と国立の大学院を修了し、製薬企業勤務、ドイツにおけるインターンシップ、米国留学等を通じて、多くの恩師、上司に恵まれ、それぞれの場で様々なことを学んできた。今回このような寄稿の機会を与您にいただき、このシリーズには名立たる研究者達の専門的な研究成果が連ねられているが、本稿では筆者のいくばくか多様な（散乱したともいえる）経歴や研究内容の変遷について紹介させていただく次第である。

## 2. 研究への入門は分析化学から

筆者の研究歴は分析化学の分野からスタートした。星薬科大学の薬品分析化学教室で、内山一美先生（現、首都大学東京都市環境学部教授）が精力的に検討していた光音響法に興味をもち、電気泳動法で分離したタンパク質の超微量分析法を開発するというテーマを選択した。先輩が残してくださったデータを引き継いだことが幸いし、修士2年在学中に投稿した論文が国際誌に掲載された<sup>1)</sup>。この頃は若

\*1996年星薬科大学大学院博士前期課程修了、東京田辺製薬（現田辺三菱製薬）株式会社入社。2000年千葉大学大学院薬学研究科博士後期課程入学。2003年博士（薬学）取得、日本大学薬学部助手、2009年専任講師。好きな言葉：和を以て貴しと為す。趣味：小林ケンタロウのレシピ研究。連絡先：〒274-8555 千葉県船橋市習志野台 7-7-1  
E-mail: fukami.toshiro@nihon-u.ac.jp

さゆえの勢いと運で投稿に至ったが、今思えば最初が順調過ぎたために、些か実力を過信した点は否めないところである。内山先生からは、学際的研究の重要性と、装置を自作することの意義を伝授された。旋盤を用いた真鍮製測定セルの加工や、自作の OP アンプに電源を接続した瞬間、回路の設計ミスでコンデンサが破裂するといった、およそ薬学部の研究とは思えない貴重な経験を積むことができた。修士2年のときには国立公衆衛生院（現、国立保健医療科学院）から中澤裕之先生が教授として赴任され、博士後期課程への進学およびアカデミアの研究者として生きる選択肢を与えられた。しかしながら、筆者は既に東京田辺（現、田辺三菱）製薬株式会社から内定をいただいていたので、修了後は北赤羽にあった開発研究所で企業における分析研究員としての第一歩を踏み出した。原薬の規格及び試験方法の設定や安定性試験などを担当し、分析法バリデーションの導入時期だったこともあり、申請資料の作成に苦労した記憶が思い起こされる。当時から三菱化学医薬カンパニーとの共同研究が行われており、抗 *Helicobacter pylori* 薬のプロジェクトでチームリーダーを任された。この原薬が粉碎により非晶質化したことが、医薬品の結晶多形に関する研究を始めるきっかけとなった。

## 3. メカノケミストリーの製剤学的応用

東京田辺製薬と三菱化学の合併は、正に青天の霹靂であった。当時の研究所長すら計画を知らされていなかったようである。研究員達は皆、自身の身の振りようについて熟考し、筆者は退社および進学の道を選択した。母校を含めていくつかの研究室に伺い、結果的には研究テーマの興味を優先して、千葉大学大学院の薬学研究科に進んだ。製剤工学研究室では山本恵司教授をはじめ、小口敏夫先生（現、山

梨大学医学部教授)や森部久仁一先生(現, 同准教授), 戸塚裕一先生(現, 岐阜薬科大学准教授)に師事し, 医薬品分子の物性研究に取り組み始めた。筆者が与えられたテーマは, 混合粉碎法による複合体形成のメカニズム解明であり, 現在に至るまで, むしろライフワークともいふべき課題となっている。

混合粉碎処理によって生じる固相反応は, 総じてメカノケミカル反応と呼ばれている。すなわち試料に機械的エネルギーを与えることにより, 物理的・化学的な変化を引き起こすという手法である。製剤学的な用途としては, 主薬と添加物を混合粉碎することにより, 薬物の微(ナノ)粒子, 固体分散体およびCocrystal(共結晶)の形成などが知られている。試料の組み合わせや粉碎条件によって, 引き起こされる相互作用の種類や程度が異なり, ときに化学量論的組成を有する新規なCocrystalが形成される。

筆者は佐藤貴之氏(現, 大正製薬株式会社)とともに, 粉碎時の温度制御および計測と, 温度条件が複合体形成に及ぼす影響を丹念に検討した。通常の粉碎では摩擦熱により系の温度が自然に上昇するので, 液体窒素を用いて極低温粉碎を行うことにより, メカニカルな作用と温度の影響の分離を試みた。そのための粉碎セルを設計して特注し(Fig. 1), 昼夜を問わず粉碎と粉末X線回折測定を繰り返した。研究室と液体窒素の供給所を幾度も往復し, ときに100 Lはあるかという液体窒素のタンクを転がしそうになりながら, 地道にデータを蓄積した。その結果, 混合粉碎法におけるCocrystalの形成過程は, 試料成分の非晶質化(分子レベルでの混合)と, 生じた熱による結晶成長からなることが示唆された。

博士課程2年のとき, Röhm(現, Evonik Degussa)社が主催する海外インターンシップ制度の募集があった。筆者は主として胆汁酸の1種であるウルソデオキシコール酸(UDCA)とフェナントレンの複合体形成について検討していたが, まだ結晶構造は解明されておらず手詰まり状態のときであった。混合粉碎法では確かに複合体の形成が示唆されていたものの, 溶媒法では複合体の結晶が調製できず, X線構造解析に必要な単結晶が得られていなかったからである。したがって, 筆者はまだ論文を投稿しておらず, 修了要件を満たしていなかったのだが, 山本先生をはじめ研究室の先生方は応募を快諾してくだ

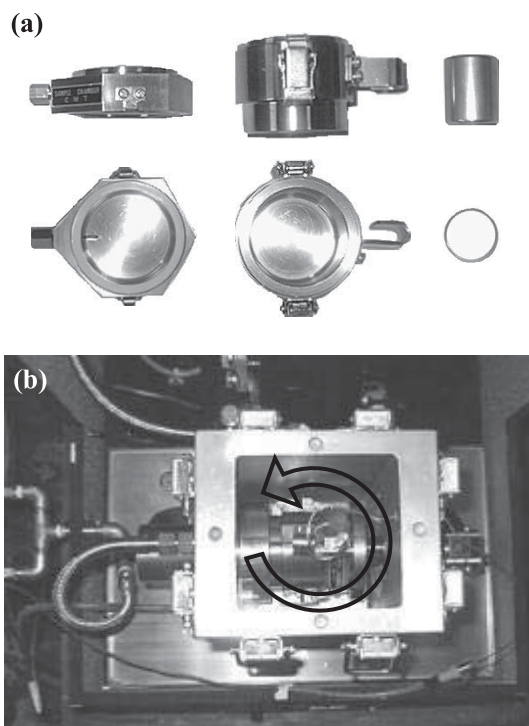


Fig. 1. Schematic photographs of the temperature-controlled grinding system; (a) grinding cell, (b) grinding cell attached in the cold box.

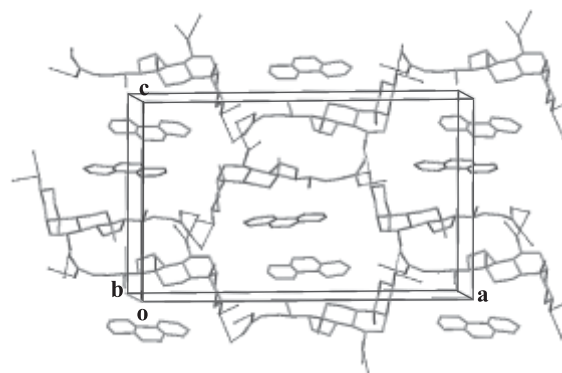


Fig. 2. Crystal structure of crystalline complex, cocrystal, consists of ursodeoxycholic acid and phenanthren at molar ratio of 1:1.

さり, 翌年の前期に渡独するスケジュールで採択された。それから必死に単結晶の調製を試み, 様々な溶媒と条件を検討した結果, 唯一テトラヒドロフランを用いたときに単結晶が得られ, 悲願とも言える結晶構造の決定に成功した(Fig. 2)。胆汁酸類のうちコール酸やデオキシコール酸は, 水素結合ネットワークを介してChannelと呼ばれるフレキシブルな結晶構造を形成し, その筒状の空間に様々な化合物を包接する様式で複合体を形成することが知られている。しかしながら, 筆者らの検討ではUDCAがフェナントレンとアントロンのみを特異的に複合化す

るといふ結果が得られており、興味深いと同時に悩ましい現象であった。結晶構造が明らかとなったことにより、UDCA分子の特徴である7β位のエクアトリアルに配置した水酸基がChannel構造を強固(rigid)にし、ゲストとなる化合物を選別していると考えした<sup>2)</sup>。

ドイツでは、アクリルポリマーを用いたコーティング技術の習得とともに、海外の異文化と交流を深めることができた。最初の2ヶ月程は上述の論文作成もあり、慣れない暮らしの中で悶々とした日々を送っていた。渡独に際してお世話になった三井浩氏(現、Evonik Degussa Japan 株式会社)や大浜保徳社長(株式会社樋口商会)が相次いで訪独して下さった頃から元気を取り戻し、それからは瞬く間に時が過ぎていった。ドイツ人の同僚からは様々な製剤技術とともに短時間集中型の就労スタイルを学び、スペイン人の同僚には殊更に親切な手助けをいただいた。このときの研究テーマはフィルムコーティングによる苦味マスキングであったため、博士課程での研究内容とは必ずしも一致しなかったが、このときに学んだ知識と技術は後の研究で実を結ぶこととなった。

2003年の4月より、縁あって日本大学薬学部の薬剤学研究室に助手の職をいただくことができた。実は課程の修了直前まで無職同様の状態だったところを拾われたというのが真相である。このことから関係各位の先生方には足を向けて寝られない程の恩義を感じている。現在の上長である伴野和夫先生が教授に昇進し、渡邊淳先生(現、愛知学院大学教授)から研究室を引き継いだタイミングで、大環状シクロデキストリン(CD)に関する研究テーマに取り組むこととなった。CDに関しては既に広範な分野で応用が進んでおり、千葉大学の山本研でも難水溶性薬物との混合粉碎によるナノ粒子の調製に成功していたことから、筆者も薬物と大環状CDの混合粉碎を行うのは自然な流れであったと思う。既にご存じの方が多くはと思うが、CDはデンプンを原料として酵素反応により生成される環状糖である。グルコピラノース数が6、7及び8個からなるCDがよく知られているが、より大きな単位で環状化する酵素が新規に見出され、9個以上のユニットを有する大環状CD (Fig. 3) の応用研究が始まっていた。

そこで筆者らは、江崎グリコ株式会社の鷹羽武史

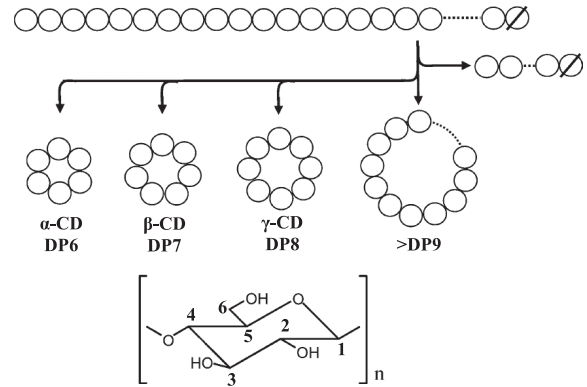


Fig. 3. Schematic diagram of the cyclization reaction of amylose with amylose; O: glucosyl residue (chemical structure also indicated), Ø: glucosyl residue with a reduction end.

博士や寺田喜信博士、日本食品加工株式会社の小川浩一博士、また星薬科大学の上田晴久教授や遠藤朋宏先生(現、同准教授)からもご指導とご協力をいただきながら、フラーレン(C<sub>60</sub>)の可溶化に関する研究を始めた。C<sub>60</sub>はその発見以来、サッカーボール型の特徴的な分子構造から非常に注目され、様々な応用研究が試みられていたが、炭素のみからなる分子は類い希な難水溶性、というよりむしろ不溶であり、生命化学分野における研究の妨げとなっていた。筆者らはボールミルを用いて大環状CDとC<sub>60</sub>の混合粉碎について条件検討を行い、約560 µg/mLのC<sub>60</sub>を精製水中に可溶化(分散)することに成功した<sup>3)</sup>。

混合粉碎法は必然的に複数の成分を系に含むが、物性評価の容易さ等から主に2成分系(原薬+1種類の添加剤)で検討されてきた。千葉大学に在学中、研究生として在籍していた伊藤弘一博士(現、杏林製薬株式会社)が、難水溶性薬物、ポリマーおよび界面活性剤の3成分を混合粉碎することにより、高収率で薬物ナノ粒子を調製する技術を開発した。そこで筆者らは、ポリマーにコーティング基剤であるメタクリル酸コポリマーを用い、ナノ粒子化とともにポリマーの機能性を付与した粒子設計を試みた。難水溶性のモデル薬物としてプロブコールを用いたところ、薬物/ポリマー/界面活性剤の質量比1:5:1において、約70%の収率で薬物ナノ粒子が得られた。粉碎混合物を水に分散したところ、動的光散乱法によって約70 nmの薬物に由来するナノ粒子が観察され、Caco-2細胞の単層膜を用いた試験において薬物の透過が亢進した。また、粉碎混合物の水分散

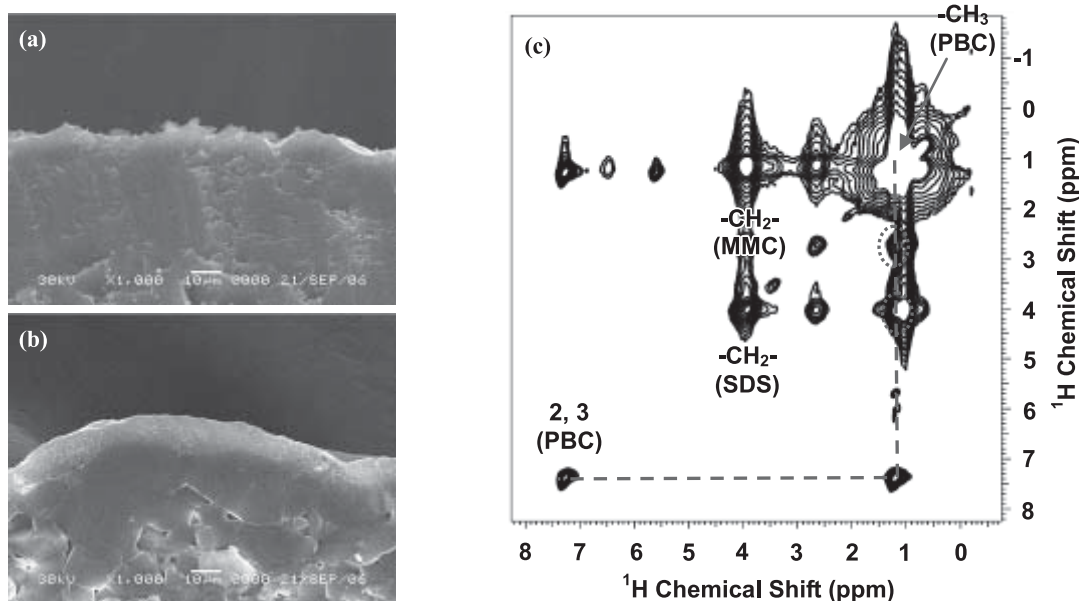


Fig. 4. Cross-sectional SEM photographs of (a) intact and (b) coated carrier particles; magnification:  $\times 1,000$ , and (c)  $2D^1H/^1H$  NOESY spectrum of a mixture of MMC, SDS and PBC prepared with cogrinding and spray drying.

液を核粒子の周囲に噴霧コーティングすることにより、流動性に優れた顆粒を調製することができた (Fig. 4a, b). このコーティング顆粒は腸溶性も併せ持つことから、今後の製剤設計に活用されることを期待している<sup>4)</sup>. この研究は、ドイツで学んだコーティング技術を活用できたこと、後述するミシガン大学の研究チームに固体 NMR 測定を行ってもらえたこと、さらには現在、直属の上司 (というよりは先輩) である鈴木豊史先生 (現、同准教授) に Caco-2 細胞を用いた評価を行っていただいたことから、それまでの総決算的な研究を公表できたことに満足感と安堵を覚えている。

2007 年 9 月から 1 年間の Sabbatical をいただき、米国ミシガン大学薬学部の Dr Naír Rodríguez-Hornedo 先生のラボに留学した。先生は Reaction crystallization 法という技術を開発し、溶媒法による Cocrystal 調製では世界的な権威である。筆者はそれまで固相における Cocrystal 形成を主に検討していたので、溶液系に関しても理解を深めたいことが主な動機であった。詳細な内容については、実は今頃ようやく投稿している段階なので、また機会を改めて紹介できれば幸いである。ミシガン州は北米の中心部に位置することから厳冬で知られている。筆者が渡航した 9 月頃から厳しくなる一方の気候とともに、研究の進展も滞っていた。しかしながら、

韓国人と日本人の留学生を介して、Ayalusammy Ramammorthy 教授と知り合い、上述した 3 成分系の粉碎混合物について固体 NMR 測定を行ってもらえる運びとなった。その結果、3 成分間の分子間相互作用についても明らかとすることができた (Fig. 4c)<sup>4)</sup>。ミシガンでは研究成果だけでなく、思わぬ 2 人の Supervisor を見いだせたことが、この上もない幸運であった。

#### 4. 臨床現場における製剤学的事象の解明

今年度は薬学 6 年制の学生が初めて卒業し、国家試験に挑む年である。近い将来に 6 年制改革に対する社会の評価がなされるであろうが、少なくとも現状では臨床に向けて大きく舵を切っている。実は筆者は学部生時代に病院薬剤師を志望していたので、この改革はある程度、社会の要望と時代がマッチした結果と理解している。しかしながら、私大薬学部における研究活動の推進にとっては、今まさに著しい逆風を実感している。6 年制を志望する学生の就職進路が臨床分野に傾くのは自明であり、おのずと興味やニーズも臨床思考となる。筆者は企業時代の先輩で、現在は調剤薬局に勤務している山本佳久氏から相談を受けたことに端を発し、臨床現場での問題にも取り組むべく、軟膏剤に関する研究をスタートした。

従来から皮膚科領域では、アトピー性皮膚炎に対して、ステロイド剤の併用療法が頻繁に行われてきた。皮膚科医師の約85%は、作用を緩和にすることによる副作用の回避を主な目的として、ステロイド外用剤と他外用剤を混合している。しかしながら、ステロイド軟膏剤の希釈または他剤との混合によって基剤の粘度や展延性などの物理化学的特性が変化すると、主薬の安定性に影響を与える可能性がある。そこで、調剤薬局で汎用されているキンダベート®軟膏を白色ワセリンで希釈する処方を一例として、その品質評価を試みた結果、薬剤師による研和法、あるいは自転・公転式の機械式ミキサーによって希釈混合した軟膏の主薬含量は正確かつ均一に調製されていた<sup>5)</sup>。スプレッドメーターを用いた降伏値の測定、および見かけの絶対粘度の測定結果より、試料の希釈率の増大とともに、軟膏の硬度は低下する傾向が認められ、プロベト®での希釈は展延性、すなわち皮膚に塗布する際の簡便性に適していることが示唆された。また、偏光顕微鏡での観察により、キンダベート軟膏とその希釈した軟膏中には液晶状の構造が認められた (Fig. 5)。現在、国立食品医薬品研究所の小出達夫博士にも協力を仰ぎ、顕微スペクトル測定による内部組成の解明に取り組んでいるところである。

## 5. おわりに

「A rolling stone has no moss (転石苔を生ぜず)」とは、受け取り方によって意味が異なる諺の代表例であるが、我が身に適用して考えると、少なくとも悪い結果にはなっていないと思われる。千葉大学にいたとき、恩師から「和を以て貴しと為す」を学び、以後の信条とした。意見の異なる人と和を保つには、相手の立場や人となりを理解するためにも、広く知識を身につけることが1つの手段と考えられる。大学では(ゆとり世代ゆえか?) 様々な個性を持った学生を指導する義務がある。近年叫ばれる生物の多様性確保は、人間にも適用すべきと考えられ、俗に言う「引出しを増やす」ことは益々重要となることだろう。自分自身、不惑を迎えながら未だに戸惑う現状であるが、Polyvalentに成長しつつ、周囲によ

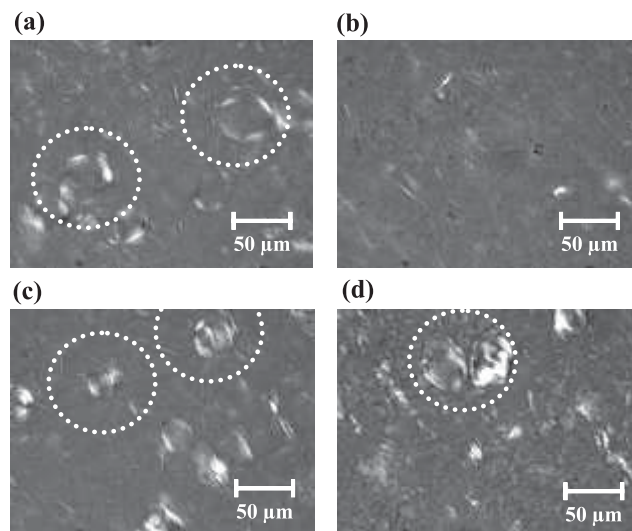


Fig. 5. Polarized microscopic observation of commercial product of steroidal ointment; (a) intact commercial product, (b) white petrolatum, (c) the ointment diluted with white petrolatum by pharmacist, or (d) by automatic mixer.

い影響を与えられれば、などと考えている。本稿が皆様に何かしらの価値を見出されれば幸いである。

## 引用文献

- 1) T. Fukami, K. Uchiyama, Y. Yoshimura, T. Watanabe, H. Nakazawa, Ultramicro-analysis by use of light-scanning photoacoustic densitometry for electrophoresed protein in human hair, *Anal. Biochem.*, **238**, 60–64 (1996).
- 2) T. Fukami, K. Yamaguchi, Y. Tozuka, K. Moribe, T. Oguchi, K. Yamamoto, Novel channel structure of bile acid-guest inclusion complex formed between ursodeoxycholic acid and phenanthrene, *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 227–229 (2003).
- 3) T. Fukami, A. Mugishima, T. Suzuki, S. Hidaka, T. Endo, H. Ueda, K. Tomono, Enhancement of water solubility of fullerene by cogrinding with mixture of cycloamyloses, novel cyclic  $\alpha$ -1,4-glucans, via solid-solid mechanochemical reaction, *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 961–964 (2004).
- 4) T. Fukami, T. Ishii, T. Io, N. Suzuki, T. Suzuki, K. Yamamoto, J. Xu, A. Ramamoorthy, K. Tomono, A nanoparticle processing in solid state dramatically increases the cell membrane permeation of a pharmaceutical drug Probuocol, *Mol. Pharmaceutics*, **6**, 1029–1035 (2009).
- 5) 深水啓朗, 山本佳久, 中村裕美子, 鎌野衛, 梅田由紀子, 牧村瑞恵, 古石誉之, 鈴木豊史, 伴野和夫, 白色ワセリンと混合したステロイド軟膏剤の品質評価—レオロジー特性および安定性—, *医療薬学*, **32**, 964–969 (2006).