

《若手研究者紹介》



創薬と連携した原薬物性評価及び製剤開発研究への取り組み

堤 俊一郎* Shunichirou Tsutsumi

武田薬品工業株式会社 CMC 研究センター 製剤技術研究所

1. はじめに

私が医薬品原薬の物性評価及び晶析制御研究に取り組んだのは、2001年に千葉大学薬学部製剤工学研究室に所属してからとなり、この分野の研究を始めて10年以上が経過した。

修士課程では、山本恵司教授、小口敏夫助教授(現山梨大学医学部附属病院薬剤部長・教授)、森部久仁一講師(現千葉大学・准教授)、戸塚裕一助手(現岐阜薬科大学・准教授)の先生方のご指導を頂きながら、超臨界二酸化炭素発生装置(日機装(株))を用い、超臨界流体の急速膨張法による難溶性化合物の微粒化研究に取り組んでいた。難溶性化合物 phenylbutazone を超臨界二酸化炭素に溶解させた後、大気圧下へ急激に超臨界溶液を噴霧させることで、平均粒子径が数 μm の微粒子を調製することができた。

また、得られた phenylbutazone 微粒子の結晶形は initial の form δ から準安定結晶の form β へ結晶多形転移しており、化合物溶液の過飽和度及び結晶成長時間を制御することで、粒子径及び結晶形を制御できるという知見が得られた¹⁾。この研究成果により、私は医薬品の結晶形及び晶析の重要性を認識するようになり、以降、晶析研究がスタートすることになった。

2. 創薬物性研究への取り組み

大学の先輩であった堀部秀俊博士からのご紹介もあり、2003年に武田薬品工業から内定を頂けることとなった。配属された部署は、創薬初期段階の候補化合物の物性研究を担当する部署であり、上司である池田幸弘博士は創薬物性研究のパイオニアとして数々の研究業績を残されていた²⁾。また、池田博士からは入社当初から多大なるご指導を頂き、現在の私の研究スタイルを確立して頂いた恩師でもあり、頭が上がらない存在となっている。

当時、欧米メガファーマではブロックバスタービジネスモデルが確立され、創薬研究ではコンビナトリアルケミストリー、ハイスループットスクリーニング、structure-based drug design などの技術革新が起こり、短期間に大量の医薬品候補化合物が生み出されることとなり、製薬企業では各種試験系の高速度・効率化が新薬創出の鍵となった。また、創薬研究のハイスループット化に伴い、必然的に物性及び動態・代謝評価のスクリーニング系構築の重要性が高まり、学会では製薬企業から、溶解度スクリーニング、膜透過スクリーニング、代謝スクリーニングなどの各種試験系の報告がなされるようになり、薬剤学研究領域にもハイスループットスクリーニングの時代が到来した。私も各種物性評価のスクリーニング系の構築研究に従事した。特に、医薬品候補化合物の原薬物性評価において、原薬の結晶形選択及び晶析制御技術の確立は最も重要な研究課題となるため、長年にわたり、結晶多形、塩及び共結晶のスクリーニング系構築研究に注力した。現在では、堅牢性が高く満足できる結晶化スクリーニング系が

*2003年3月千葉大学大学院薬学研究科博士前期課程修了(製剤工学研究室)。同年4月武田薬品工業株式会社入社。2009年4月千葉大学大学院薬学研究院後期博士課程入学。現在、同大学院博士課程3年生。研究のモットー: 継続は力なり。趣味: ジム, 銭湯, 喫茶店めぐり。連絡先: 〒532-8686 大阪市淀川区十三本町2-17-85 E-mail: Tsutsumi_Shunichirou@takeda.co.jp

社内に構築できたと自負している。

以下では、私が医薬研究本部初期物性グループに所属していたときに外部発表した研究成果、及び大学院後期博士課程在学時の研究内容について紹介したい。

3. 創薬物性研究における原薬結晶形の重要性

医薬品原薬の大多数は結晶として存在し、様々な結晶構造をとることが可能である (Fig. 1)。

医薬品の結晶形は、単一成分から構成される結晶としてフリー体、多成分から構成される結晶として塩、共結晶、水和物、溶媒和物、クラスレート、包接化合物、分子複合体などに分類される。また、結晶構造を形成せずに分子が集合している状態は非晶質と定義される。塩は、結晶構造中で薬物の解離基と対応する酸または塩基性分子の間でプロトン移動することにより、イオン結合を形成し、結晶を形成している状態と定義される。一方、共結晶は、結晶

構造内で複数成分の分子が水素結合やファンデルワールス力などのイオン結合とは異なる分子間相互作用により結晶を形成している状態と定義され、広義には共結晶は、水和物、溶媒和物、クラスレート、包接化合物及び分子複合体を含む結晶状態を示す。また、各結晶形については結晶多形が存在する可能性がある。医薬品原薬は多様な結晶形をとりうるものが可能であり、その結晶形に応じて溶解性、安定性、製造性及び製剤特性が変化するため、結晶形は医薬品特性を決定する重要な因子となる。また、結晶形は特許が成立するため、製薬企業では特許戦略上も重要な検討項目となる。

4. 結晶化スクリーニングシステムの構築

2000年頃より、欧米の製薬企業及び受託試験会社 (SSCI (現: Aptuit), Solvias, Avantium (現: Crystallics)) を中心として結晶化スクリーニング試験系が報告されるようになり、創薬物性研究者の注目を集めた。結晶化スクリーニング装置の中で最も代表的なものに、Symyx (現: Freeslate 社) の結晶化スクリーニングシステムが挙げられる (Fig. 2)。本システムは、Library studio 上で結晶化スクリーニング条件 (塩種、溶媒、温度、攪拌速度) を入力すると、Epoch が結晶化条件を読み込んで各種装置 (晶析ロボット、分析装置) を稼働させる。結晶化反応後の 96 well plate は粉末 X 線回折測定やラマン分光測定により、結晶形の分析が自動で実施される。各種データはサーバーで管理されており、plate ID

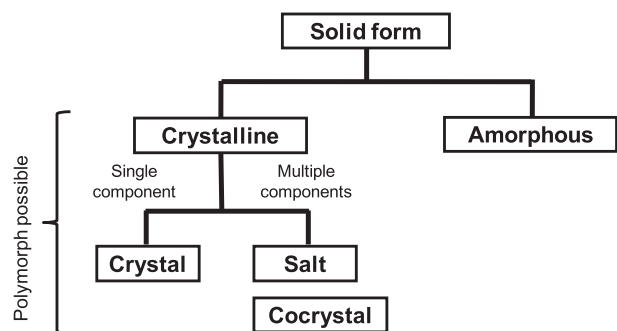


Fig. 1. Classification of pharmaceutical solids.

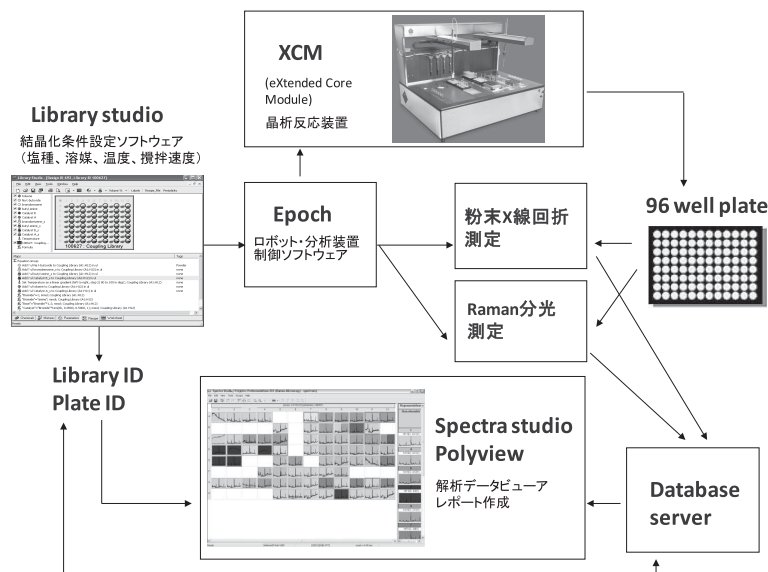


Fig. 2. Symyx (現: Freeslate 社) 結晶化スクリーニングシステム.

を入力することによりデータ解析ソフト (Spectra studio, Polyview) 上にデータを表示させることができる。

当社では、長年にわたる調査及び検討を重ねた結果, Symyx 結晶化スクリーニングシステムを導入することにし, 私はそのシステムの立ち上げ及び試験系構築の業務を担当することとなった。

ハイスループットスクリーニング装置の類はどれもそうなのであるが, 装置を導入して運転ボタンを押せばデータが自動で出てくるという便利なものではない。個々のユーザーのニーズを満たすよう試験目的を適切に設定し, 試験系構築のために十分な量のバリデーション試験が必要となる。また, 種々の実験パラメータを独自に設定していく必要がある。Symyx システムは国内に数台の導入実績があるが, 同じ装置を所有していながら, 各社で異なる実験条件を設定して運用されており, 各社で全く異なる試験結果が得られているのは興味深い状況である。

私は装置導入から丸3年間, 朝から晩まで一日中装置の稼働, 実験条件の設定及び変更を繰り返し, 試行錯誤の日々を繰り返していた。

また, CTC ラボラトリーシステムズ (株) の浜頭恭氏及び對馬正浩氏には, 装置導入及びメンテナンスで大変お世話になり, 彼らと Freeslate 研究者との共同作業を継続しながら装置の最適化を行っていた。長年の努力の甲斐もあり, 現在では, 結晶化スクリーニングシステムは順調に稼働し, 結晶多形, 塩, 共結晶を得るためのスクリーニング系としてフル稼働している。

また, 初期物性グループでは2007年よりヒューマンサイエンス官民共同研究 (阿曾グループ) に参画し, 当社では共結晶を研究テーマとして取り組むことになり, 結晶化スクリーニング装置を用いた共結晶調製の研究を開始した。Caffeine 及び theophylline は共結晶を形成するモデル化合物として多数の報告がなされており, これらの化合物を用いた共結晶スクリーニングの系を構築し, その研究成果を2009年の薬剤学会及び創剤若手フォーラムで紹介することができた³⁾。

5. Miconazole の物性改善を目的とした塩及び共結晶の研究

部署の先輩であった小寫隆史博士の勧めと上司で

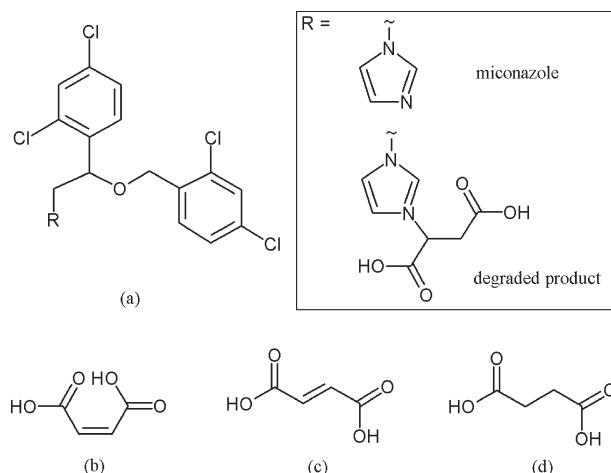


Fig. 3. Chemical structures of (a) miconazole and the degraded product, and dicarboxylic acids, (b) maleic acid, (c) fumaric acid, and (d) succinic acid.

ある池田幸弘博士及び森脇俊哉博士の許可をいただき, 2009年に千葉大学大学院医学薬学府博士後期課程に入学させて頂くことになった。再び製剤工学研究室に籍をおき, 山本恵司教授, 森部久仁一准教授及び東顕二郎助教の先生方にお世話になることとなった。

大学の研究テーマとして, 「miconazole の共結晶を用いた物性改善研究及び溶解度相図を用いた分子間相互作用メカニズムの解析」を設定した。共結晶は, 古くはシクロデキストリンを用いた複合体結晶を包含した結晶として定義され, 製剤工学研究室でも長い研究の歴史を有していたが, 複合体結晶から cocrystal (共結晶) と名前を変えることで, 近年, 欧米の研究機関及び受託試験会社を中心とした晶析研究の重要性の高まりとともに, 多数の研究報告がなされるようになった。

Miconazole (Fig. 3) は難溶性のモデル化合物として可溶性処方研究に用いられているが, 塩及び共結晶を用いた溶解改善に関する研究報告は少なかった。また, 「塩及び共結晶を識別する分析法」, 「塩と共結晶の物性の違い」や「共結晶の薬剂的意義」に関する報告は少なく, 研究テーマとしてこれらの課題に取り組むことにした。

研究の結果, miconazole はマレイン酸, フマル酸及びコハク酸と塩及び共結晶を形成することを明らかにした。単結晶構造解析により, maleate は miconazole のイミダゾール窒素がプロトン化されていることから塩, hemifumarate 及び hemisuccinate

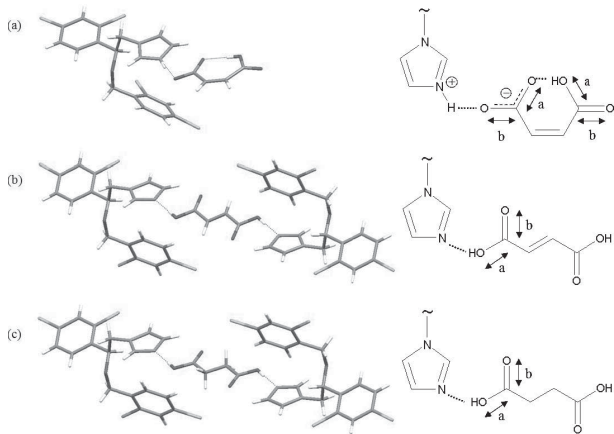


Fig. 4. Packing diagrams of miconazole crystal forms, and the interaction between the imidazole group of miconazole and dicarboxylic acids; (a) maleate, (b) hemifumarate, and (c) hemisuccinate.

は miconazole のイミダゾール窒素と酸が水素結合を形成し、共結晶であると考えられた。Miconazole とカルボン酸との相互作用がイオン結合なのか水素結合なのかを精査するため、カルボン酸の炭素—酸素の結合距離の比 (a/b ratio) を調べた。カルボン酸がイオン結合に関与している場合、炭素—酸素結合距離は等価な状態となり a/b ratio の値はほぼ 1 に近い値となるが、カルボン酸が水素結合に関与する場合、炭素—酸素結合距離は非等価な状態となり a/b ratio の値は 1 よりも大きくなる。マレイン酸のイミダゾール窒素と相互作用しているカルボニル基の a/b ratio の値は 1.012 となり、等価な状態であると考えられた (Fig. 4 (a))。コハク酸及びフマル酸ではカルボン酸の a/b ratio の値は、それぞれ 1.062, 1.075 の値を示し、非等価であることから水素結合を形成していると判断した (Fig. 4 (b), (c))。

Miconazole の塩及び共結晶の溶解速度を評価した結果、フリー体と比較していずれの塩及び共結晶も溶解速度が向上することを明らかとした。また、安定性試験を行った結果、maleate 及び hemifumarate は miconazole と 1,4-マイケル付加体を生成し、不安定な塩種であることを明らかとした。原薬物性評価の結果、hemisuccinate は共結晶であり、miconazole の物性改善に有用な共結晶であることを明らかにした⁴⁾。

この研究では、単結晶構造解析による塩及び共結晶の分類方法、回転ディスク法による溶解速度の評価、低含量配合試料を用いた安定性試験により、合

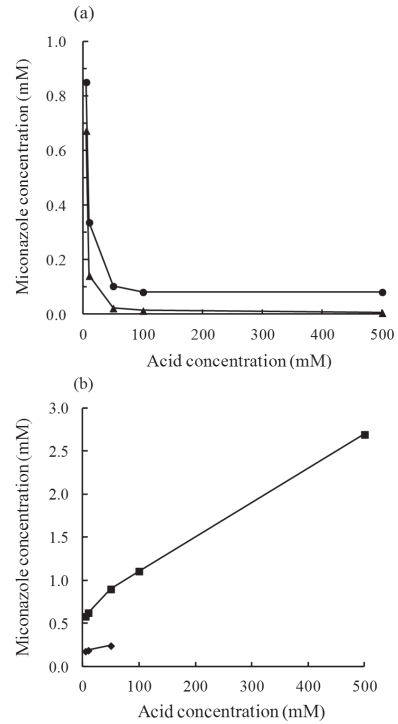


Fig. 5. Phase solubility diagrams of the miconazole-acid system at 37°C; (a) miconazole solubility in maleic acid and nitric acid; (b) miconazole solubility in succinic acid and fumaric acid. The symbols are solubility values in (●) maleic acid, (▲) nitric acid, (■) succinic acid and (◆) fumaric acid.

理的な塩及び共結晶選定のワークフローを提示することができた。

6. Miconazole の溶解度相図を用いた分子間相互作用の解析

塩及び共結晶の晶析研究において、晶析メカニズムを解析するために、ミシガン大学のロドリゲスらを中心として溶解度相図の研究報告が多数なされており注目を集めている。溶解度相図は、薬物と塩または共結晶を形成する酸の溶液を調製し、各種の酸濃度溶液中での薬物濃度を測定することにより、溶解度曲線を調べる方法である。研究手法自体は古く、シクロデキストリンと薬物との包接化合物の安定度定数を評価する方法として用いられており、分子間の相互作用の強さを評価する手法として用いられている。

我々は、miconazole の各種酸に対する溶解度相図を調べた結果、塩を形成する硝酸及びマレイン酸では、酸濃度の増加に伴い miconazole の溶解度は低

下し、共結晶を形成するフマル酸及びコハク酸では酸の濃度増加に伴い miconazole の溶解度も増加することを明らかにした (Fig. 5)。Miconazole の溶解度相図は、塩及び共結晶で異なる溶解挙動を示すことを明らかとし、溶解度相図作成により塩及び共結晶を分類できる可能性が示唆された。現在、溶解度相図データを用いることにより、miconazole 塩及び共結晶の晶析制御や溶解改善製剤設計に有用であることを明らかとしており、別の機会でご報告させていただく予定である。

このように、miconazole の研究では、塩及び共結晶の物性の違いを明らかにする上で有用な知見が得られた。共結晶は現在も未解明な部分が多く残されている新規な結晶であると考えられ、今後の研究の進展及び創薬及び製剤設計への積極的な利用が望まれる。

7. 今後の展望

今の時代はグローバル化が急激に進み、あらゆる業種で国際的な分業化が今後もますます加速すると予想されている。製薬企業では、疾患ターゲットのアイデアと資金さえあれば、化合物の合成、薬効評価、物性・動態評価、製剤設計などが、全て委託でできてしまう時代となっている。このような状況下で、製薬企業の研究開発部門がグローバルな競争力を維持し続けるためには、個々の部署が単独で研究機能を強化するだけでは不十分であり、部門間の経験や

情報の交流が今まで以上に重要となることが報告されている⁵⁾。

私は創薬部門に所属して9年間が経ち、創薬化学者や薬理研究者との対話を経て貴重な情報ネットワークを構築することができた。一方、CMC 部門や開発部門との連携は十分ではないとの思いから、2011年10月に当社のCMC研究センター製剤技術研究所へ異動し、drug delivery system (DDS) 技術を学びながら製剤研究に従事することにした。今後は、今までに構築した情報ネットワーク及び経験を生かしつつ、創薬物性研究と創剤研究の融合を試みながら、製品開発に携わっていきたいと考えている。

引用文献

- 1) K. Moribe, S. Tsutsumi, S. Morishita, H. Shinozaki, Y. Tozuka, T. Oguchi, K. Yamamoto, Micronization of Phenylbutazone by Rapid Expansion of Supercritical CO₂ Solution, *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 1025–1028 (2005).
- 2) 池田幸弘, 創薬における物性研究, *ファルマシア*, **39**, 203–213 (2003).
- 3) 堤俊一郎, 中嶋祥子, 池田幸弘, 森脇俊哉, 日本薬剤学会第25年会要旨集, 165 (2010).
- 4) S. Tsutsumi, M. Iida, N. Tada, T. Kojima, Y. Ikeda, T. Moriwaki, K. Higashi, K. Moribe, K. Yamamoto, *Int. J. Pharm.*, **421**, 230–236 (2011).
- 5) Y. L. Bennani, Drug discovery in the next decade: innovation needed ASAP, *Drug Disc. Today*, **16**, 779–792 (2011).