≪若手研究者紹介≫



薬剤学における多様性を追い求めて

古 石 誉 之* Takayuki Furuishi 星薬科大学 薬品物理化学教室

1. はじめに

筆者は職場に「薬剤学」が届くと、『若手研究者紹 介』を読むのを楽しみにしている. これまでの著者 の方々の研究内容は勿論であるが、その人となり、 研究バックグラウンド、研究に対する考え方は自分 にとって学ぶことが多い、それ以上に、「おお、この 先生,こんなことやっているのか!スゲー!」と, 子供の頃にアニメのヒーローがカッコイイ!と思っ たのと同じような感覚で読ませて頂いている. しか も、ここに紹介された多くの方が、現在、各方面で 活躍されているのを見ると、ますます自分の中での 「ヒーロー像」に対するイメージは大きくなってい く. そんな自分がこの執筆依頼を受けた時. 自分に ご紹介できるような話があるのか?と気が引けたの だが, 現在海外で博士研究員として過ごしている中, 一度、自分がこの世界で行ってきた仕事を整理し、 見つめ直すには良い機会と思い引き受けさせて頂い t=.

2. シクロデキストリンを用いたフラーレンの 溶解性改善

学部4年生で星薬科大学・薬品物理化学教室の卒 論生として研究を始めた当時,教室の主要なテーマ は大環状シクロデキストリン (CD) の開発およびそ

*1999 年星薬科大学大学院博士前期課程修了, 1999 年トーアエイヨー株式会社, 2004 年日本大学薬学部助手, 2010 年博士 (薬学)取得, 2011 年星薬科大学助教,現在に至る. 2015 年 6 月 よ り Julius-Maximilians-Universität Würzburg にて博士研究員として在籍. 趣味:スキー,ジョギング.連絡先:〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41 E-mail: t-furuishi@hoshi.ac.jp

の応用性の探究であった. 天然に存在する CD はグ ルコース単位が 6 から 8 個からなる α . β . γ -CD が よく知られているが、その当時、教室では環状糖の 混合物から、グルコース単位が9個以上からなる大 環状 CD の単離・精製に成功していた。教室配属後、 上田晴久先生(星薬科大学名誉教授, 現 日本薬科大 学教授) および遠藤朋宏先生 (現 東京薬科大学教 授)の指導の下、グルコース単位が9個からなる δ-CD を用い、難溶性化合物であるフラーレン (C₆₀ および C_{70}) の可溶化に取り組んだ. このテーマは 卒論だけでなく最終的には修士論文のテーマとなっ た. 当初, 実験に供する δ-CD 量が非常に少なく, 卒論から修士1年までは殆どδ-CDの単離・精製を 行っていた記憶がある. またフラーレンも当時は高 価であったために、ホスト・ゲスト共に試薬量を減 らす必要があった. たまたま見つけた文献中に、少 量のフラーレンと γ-CD とをボールミルによって混 合粉砕することで溶解性が向上することが報告され ていたことから、その手法を用いることにした、そ の結果、δ-CD を用いることによりフラーレンの溶 解性は、この参考にした論文の報告にあった γ-CD を使用した時の値よりも向上した. また, このフラ ーレンが溶解した溶液を凍結乾燥し、固体化したも のを FAB-MS で測定したところ, 2分子の δ-CD と フラーレン 1 分子を合わせた分子量に対応するピー クが検出されたことから、固体状態では、2つの δ-CD 分子がフラーレンを挟み込むような Bicapped 構造 を取ると推察された(Fig. 1)¹⁾.

その後、製薬企業の研究員時代はCDを取り扱う ことはなかったが、後述する日本大学薬学部で研究 を行うことになってからは、CDを用いた仕事を再

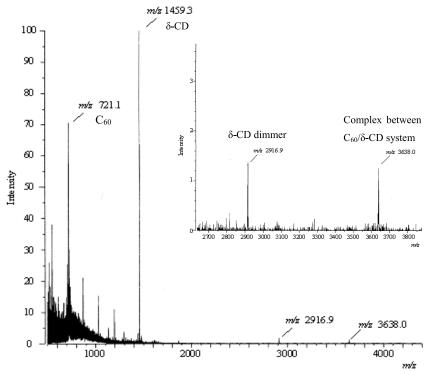


Fig. 1 FAB mass spectrum of C_{60}/δ -CD complex.

開し、現在までに CD による凍結乾燥ペプチドの安定化 $^{2)}$ や、CD を用いた難溶性薬物の皮膚透過性改善、さらには薬物/CD/界面活性剤の 3 成分系による薬物溶解性改善についても取り組んでいる。また、留学先のドイツ・Julius-Maximilians-Universität Würzburg(ヴュルツブルグ大学)においても、CDを用いた鏡像異性体の分離に関わる熱力学的特性について、マイクロカロリメータを用いた測定を行っている $^{3)}$. 筆者自身、特に意識しているわけではないが、気がつくと何時も CD を用いた実験を行っている。どうやら、CD を用いた仕事は、自分のライフワークになりそうである。

3. 経皮吸収型製剤の開発と薬物皮膚透過促進 メカニズム

修士終了後、トーアエイヨー株式会社・製剤研究 所の研究員として採用された. 当初は原薬・製剤の 規格試験法の設定などの分析業務を中心に行ってい たが、入社2年目に経皮吸収型製剤の開発プロジェ クトのメンバーに選抜された. ここでは、既存薬の 皮膚透過性スクリーニングおよび製剤化、ならびに プロドラッグ型の経皮吸収製剤の開発に従事するこ とができた. 企業での5年間の研究生活で、筆者が 携わったプロジェクトでは特許化には成功したもの の、残念ながら製品化に至るものを見出すことはできなかった.しかし、この間の経験が、現在の研究に活きていることは言うまでもない.

企業での研究生活の中で、学位の取得や、最終的には留学もと考えることが多くなった。そんな時、 上田先生を通じて、日本大学薬学部薬剤学研究室で助手のポジションが空くがどうか?とのお誘いがあった。すでに30歳を目前にしていた筆者は、正社員から任期付の仕事に移ることに躊躇した部分もあったが、逆にこれが最後のチャンスであろうと思い応募したところ、先述の伴野和夫先生(日本大学薬学部教授)主宰の研究室に助手として採用されることになった。

採用後、伴野先生から非麻薬製鎮痛剤のペンタゾシン(PTZ)について、経皮吸収化のテーマを立ち上げてくれとの命を受け、大学でも企業と同様に経皮吸収のテーマを続けることとなった。当時 PTZ の皮膚透過性に関する論文は殆どなかったため、その皮膚透過性は低いと予想された。そこで経皮・外用剤の添加剤として広く使用されているミリスチン酸イソプロピル(IPM)を基剤として用い、非イオン性界面活性剤であるカプリル酸モノグリセリド(GEFA-C₈)を併用することによって、PTZ のヘアレスマウス皮膚透過性を顕著に上昇させることに成

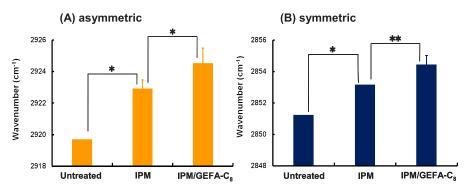


Fig. 2 Effect of IPM and IPM/GEFA-C₈ on CH₂ asymmetric (A) and symmetric (B) stretching frequencies. Bars represent the mean \pm S. D. (n = 3). The significance of differences was determined by ANOVA (*p<0.05, **p<0.01).

功した. また、臨床で多用されているマトリックス タイプの経皮吸収型製剤の製剤設計についても検討 を行った.マトリックスタイプの製剤調製は、医療 用粘着剤の中に薬物を溶解し、一定の厚さに広げる だけなのだが、こんなことをやっている大学研究者 が珍しかったのだろうか、貼付剤を作製する使用装 置や粘着剤を含めた作製法について、アカデミック の方だけでなく、企業の方からも学会等で質問され ることが多かった. こちらは当たり前に思っている ことが意外と知られていない事実に驚きながらも、 自分の常識は他人には常識でないことを常に念頭に 置いて説明する必要があることを強く認識した. こ のことは伴野先生も含め、 当時、 研究室での上司に あたる鈴木豊史先生 (現 日本大学薬学部教授) およ び深水啓朗先生 (現 明治薬科大学教授) からの教え でもあり、現在も学生の指導においては常に意識す るようにしている.

一方で、IPM と GEFA-C₈ の組み合わせが、なぜ PTZ の皮膚透過性を向上させるかについては不明であった。すでに薬物の皮膚透過性の増大には、角質 細胞間脂質が形成するラメラ構造の変化が関与しており、経皮吸収促進剤はその構造の変化を誘導するとされていた。しかし、それらの構造変化を分子レベルで確認することについては、世界的に見てもまだ多くはなく、また、筆者自身もメカニズムについての考察については分からないことばかりであった。そこで伴野先生を介して、高山幸三先生(星薬科大学教授)より、これらの促進剤の角質細胞間脂質に対する作用機序についてアドバイスを頂き、IPM と GEFA-C₈ の PTZ 皮膚透過促進メカニズムについて検討を始めることとした。

まず、全反射測定法を用いた赤外吸収スペクトル (ATR-FTIR)により、角質細胞間脂質に及ぼす IPM と GEFA-C₈ の併用効果について検討を行った.剥 離直後の Intact skin では、角質細胞間脂質中のア シル基に由来する 2,920 cm⁻¹ 付近の C-H 逆対称性 伸縮, および2,850 cm⁻¹付近のC-H対称性伸縮振動 が, IPM 適用後にはそれぞれ約 2~3 cm⁻¹ 高波数側 にシフトする様子が観察された. さらに, 10%GEFA-C₈ 含有 IPM 溶液を皮膚に適用した場合、両者の吸 収ピークはそれぞれ有意に高波数側へシフトした (Fig. 2). これら両者のピークは角質細胞間脂質の アルキル鎖のメチレン部位に由来している. また, これらのピークの高波数側へのシフト (Blue shift) は、脂質アルキル鎖の trans 体から gauche 体への 変化に対応することが既に報告されている. さらに, この時のBlue shift の大きさが trans から gauche 体 への変化の度合いを示しており、薬物皮膚透過性の 向上の指標となることが知られている. したがって, IPM と GEFA-C₈ の併用は、角質細胞間脂質の構造 変化を引き起こし、PTZ の皮膚透過性の向上に寄与 しているものと示唆された⁴⁾.

また小角 X 線散乱測定(SAXS)を用いた,角質 細胞間脂質に及ぼす IPM と GEFA-C₈ の併用効果に ついての検討も同様に行った.未処理の角質では周期 14 nm の回折ピークが 4 次構造まで認められたことから,角質細胞間脂質はラメラ構造を有することが確認された.この結果は,既に報告されている放射光で測定した SAXS の回折パターンとほぼ一致した.IPM を適用した角質では,未処理角質で認められたピークが消失し,5.7 nm にブロードなピークが 観察された.これは,IPM 処理により細胞間脂質の

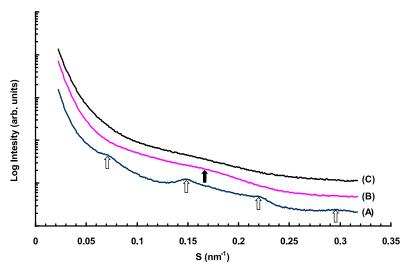


Fig. 3 Small-angle X-ray scattering of untreated hydrated (\sim 40%) stratum corneum (SC) (A), IPM-treated SC (B) and SC-treated IPM/GEFA-C₈ (C). Open arrows indicate the 1st to the 4th order diffraction peaks for the long lamellar structure of untreated SC and closed arrow indicates the diffraction peak of IPM-treated SC.

マトリックス構造の秩序性が減少することを示唆するものである.一方,IPMに GEFA-C₈を併用すると,すべてのピークが消失したことから,細胞間脂質の流動化が生じ,脂質構造が破綻していることが考えられた (Fig. 3).以上の結果より,IPM は角質細胞間脂質に分配されてマトリックス構造の変化を引き起こすことに加え,GEFA-C₈の併用により角質の脂質構造の流動化を促し,最終的に脂質構造の破綻を誘導されることが示唆された 4).これらの一連のPTZ の経皮吸収化の仕事をまとめたものが学位申請時のテーマとなり,30 代も後半に迫った頃に学位を取得することができた.

この仕事と並行して、高脂溶性薬物である片頭痛 予防薬・ロメリジン塩酸塩の経皮吸収性をテルペン 類を用いて高めることができ、ここで得られた一連 のテルペン類の皮膚透過促進機構を分子レベルで解 明することにも成功した⁵⁾.

4. 非晶質複合体の薬剤学的応用

2011年に出身教室に縁あって,助教として着任することになった.着任直後は以前のように CD を用いた薬物溶解性改善の仕事を行ってきたが,やはり新たなテーマを立ち上げる必要があると考え,薬物の非晶質化による物性改善に注目した.一般的に非晶質化した薬物は,自身の溶解性が高い反面,非晶質状態を長期に維持できないという欠点も持ち合わ

せていることが多く、製剤化を考える時には薬物の 非晶質化というのは避けられることが多い.一方で 近年、イオン液体やコアモルファスといった分子複 合体形成による非晶質薬物の安定化が注目されてい たことから、薬物間で形成される非晶質分子複合体 に取り組むことにした.

筆者は、非ステロイド性鎮痛薬であるフルルビプロフェン(FLU)と局所麻酔薬であるリドカイン(LDC)との組み合わせによる非晶質分子複合体の形成に取り組み、難溶性薬物である FLU の溶解性改善と、その経皮吸収の向上に取り組んでいる。詳細は別の機会に譲るとして、これまでに、FLU の溶解性は LDC との組み合わせにより顕著に増大し、また皮膚透過性も FLU 単味と比較して向上することを明らかにした。現在、これらの相互作用について種々の機器分析を用い、それらの分子複合体の形成メカニズムについて検討を続けている。同様の手法によって、循環器系の薬物の組み合わせや、薬物医薬品添加物の組み合わせによる物性改善、さらには添加剤-添加剤同士の非晶質複合体化による新規な医薬品添加剤の開発にも取り組んでいる。

5. ドイツ・ヴュルツブルグ大学への留学

本原稿を執筆している現在,筆者はヴュルツブル グ大学の Chair for Drug Formulation and Delivery に, 2015 年 6 月より 2 年間の予定で留学させて頂

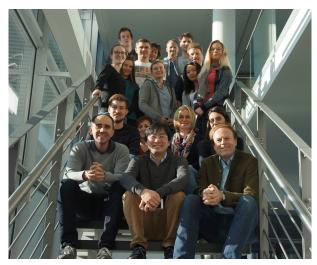


Fig. 4 Julius-Maximilians-Universität Würzburg・Chair for Drug Formulation and Delivery のメンバー. 最前列中央が筆者、筆者の右隣が Lorenz Meinel 教授.

いている. 研究室は, 主宰である Lorenz Meinel 教 授. Associate の Tessa Lühmann 博士の下. ポスド ク3人と博士課程の学生13人が日夜研究に励んで いる(Fig. 4). 研究室の各テーマの詳細は HP(http: //www.pharmaceutics.uni-wuerzburg.de/startseite/) をご覧頂くことにするが、筆者自身は、疾患時に発 現される特異的な酵素によってペプチドが切断さ れ、結合している薬物が放出されるというコンセプ トに基づき、刺激応答性ペプチドの合成とそれらを 用いた薬物送達システムの構築を行っている. 魅力 あるテーマを与えられたものの、筆者自身は今まで 全く経験のない固相ペプチド合成に四苦八苦してい るが、帰国までには何とか結果を残したいと努力し ている.しかし、この年齢になって、自身が今まで とは全く異なる研究を行えるというのは、なかなか できないことであると思う. 研究とはいつまでも新 たな出会いがあり、それが自分の仕事のモチベーシ ョンだけでなく、研究の可能性や知見が広がること を, 今回の留学により再認識した.

6.終わりに

2015年に米持悦生先生が薬品物理化学教室の教授として着任され、原薬物性の改善を中心とし、より患者さんの役に立つ製剤化開発をスローガンに研究を行っているが、その中身といえばリポソーム、イオン液体、コクリスタル、経皮吸収型製剤、口腔内速崩壊錠と多彩である。またドイツの研究室でも、低分子化合物のチームとペプチド医薬のチームが両

輪となり研究を行っている.

本稿で示したように、筆者自身の研究テーマは「多様性」といえば言葉の響きはいいが、悪く言えば「雑多」である。しかし、筆者自身はこの「雑多」であることは決して悪いことではなく、むしろ色々な研究テーマに携われたことに感謝している。今まで多くの恩師の下で研究をさせて頂いたが、どの先生もある程度の方向性は提示して頂いたものの、その方略については好きなようにやっていいよ、と言って頂け、研究自体の不自由さを感じたことは一度もない。また、多くの研究スタイルを身につけることが将来的な自分の糧となると信じている。現在の日・独と国は異なるものの、多彩なテーマを持つ研究室の下で、筆者自身は多くの知識・技術を得る機会を楽しみながら日々過ごしている。

さて、最後に筆者自身は研究者としての「ヒーロ ー」であろうか? 無論, 全くそんなことは思っては ないが、身近に筆者を「ヒーロー」扱いしてくれた 人物がいる. 筆者には小学生の娘がいるが、彼女が 幼稚園児の時, 実験の都合上, どうしても日曜日に 大学に行く用時があった. 筆者は彼女を仕事場に連 れて行き、その際、お手伝いと称してプラスチック チューブの中に精製水を入れて、ボルテックスミキ サーを用いて攪拌の真似事をさせたことがある.本 人も普段見慣れない実験装置を興味深そうに見てい たが、それ以上に自分が持った実験道具で何かが起 きていることに驚いていた. 次の日. 妻から娘が幼 稚園の登園時に、先生や周りの友達に「昨日、パパ のお仕事場で実験をしたよー!」と興奮気味に話を していたと聞いた. 小学生となった彼女はさすがに このような話をすることはないが、自分の父親の仕 事は実験室で研究をしているという印象は未だに持 ち合わせており、また、本音かどうかは分からない が将来の夢の一つとして研究者と答えることもあ る. 研究者が憧れのヒーローとなる対象となり、自 分の娘だけでなく学生も含めて若い方々が、将来を 支える研究者を目指してくれることが、筆者の研究 者としての夢の一つである.

引 用 文 献

1) T. Furuishi, Y. Ohmachi, T. Fukami, H. Nagase, T. Suzuki, T. Endo, H. Ueda, K. Tomono, Enhanced solubility of fullerene (C_{60}) in water by inclusion complexation with cyclomaltononaose (δ -CD) using

- a cogrinding method, J. Incl. Phenom. Macrocyc. Chem., **67**, 233–239 (2010).
- T. Furuishi, T. Ishigami, T. Endo, H. Nagase, M. Okada, I. Nishiyama, A. Jo, K. Terao, H. Ueda, Effect of γ-cyclodextrin as a lyoprotectant for freezedried actinidin, *Pharmazie*, 70, 296–299 (2015).
- 3) J. Wahl, T. Furuishi, E. Yonemochi, L. Meinel, U. Holzgrabe, Determination of complex formation constants between phenethylamine enantiomers and β-cyclodextrin derivatives by affinity capillary
- electrophoresis, Electrophoresis, in press (2017).
- 4) T. Furuishi, T. Fukami, T. Suzuki, K. Takayama, K. Tomono, Synergistic effect of isopropyl myristate and glyceryl monocaprylate on the skin permeation of pentazocine, *Biol. Pharm. Bull.*, **33**, 294–300 (2010).
- 5) T. Furuishi, Y. Kato, T. Fukami, T. Suzuki, T. Endo, H. Nagase, H. Ueda, K. Tomono, Effect of terpenes on the skin permeation of lomerizine dihydrochloride, *J. Pharm. Pharm. Sci.*, **16**, 551–563 (2013).