

《若手研究者紹介》



難溶性薬物のクリスタルエンジニアリングと 製剤技術への応用

辛 島 正 俊* Masatoshi Karashima

武田薬品工業株式会社 ファーマシューティカル・サイエンス
アナリティカル・デベロップメント

1. は じ め に

筆者が初めて研究活動にふれたのは、工学部に所属していた大学4年時の研究室配属にさかのぼる。当時は先のこともあまり考えず、拘束時間が長くないことと親友と同じ研究室に入れることを優先した不純な動機で希望研究室を選択し、壮絶なじゃんけん大会の末、見事に第一希望の研究室への配属を勝ち取ることができた。配属先の研究室では、新規機能性材料の探索研究として、フッ化ビニリデンオリゴマーの結晶多形制御とその特性評価により強誘電体薄膜やセンサーへの応用を目指した研究テーマが与えられた。ここで初めて結晶工学の世界を経験し、単結晶を得るための試行錯誤と結晶の成長速度を測定する日々が始まった。自ら作る結晶が成長する姿を顕微鏡越しに眺めていると、まるで結晶が生きているような感覚にとらわれ、思いどおりに美しい結晶が調製できた際にはある種の感動を覚えたものであった。あれから18年あまりが経った現在、結晶多形に関連する研究を続けていることは想像すらできなかったが、妙な親近感と少なからず運命的なものを感じている次第である。その後、修士課程では

精密加工技術とSIMS (Secondary Ion Mass Spectrometry) による新規分析手法の開発に取り組んだ。大気中の浮遊微粒子やICチップをはじめとした電子材料の三次元組成分析に応用する目的で精密加工とSIMS測定を組み合わせた装置の開発を行った。近年では、SIMS測定は医薬品や生体試料の分析にも用いられるようになってきており、例えば錠剤の表面分析や三次元の質量イメージング等で活躍の場を広げている。現在になって半ば強引に学生時代の経験と医薬品研究を結びつけてはみたものの、当時、全くの門外漢であった筆者が製薬企業へ就職するとは考えてもみなかった。実際に所属研究室から製薬企業に就職するケースはほとんど先例を見なかったが、就職活動を通じて生命に関わる製薬企業の研究に深く興味を持ち、その熱意だけで運よく武田薬品に拾ってもらうことができた。こうして右も左も分からぬまま医薬品研究の世界に飛び込み、現在に至るまでの15年間、企業研究者として研究を続けられてきたことは、無知な自分に対して熱心にご指導いただいた先輩方のご指導あってのものとお大変感謝している。本稿では、これまでの企業研究歴、物性研究との出会いと近年の研究内容について紹介したい。

2. 武田薬品への入社と物性研究との出会い

2003年に入社した後の7年間は、^{じゅうそう}十三の研究所にて分析法開発の業務に従事し、経口固形剤や注射剤の試験法開発を担当した。当時、社内では配合剤の開発が盛んに行われ、試験法開発においては標準

*2001年3月、東京工業大学工学部卒業。2003年3月、東京大学大学院工学系研究科修士課程修了。同年4月、武田薬品工業(株)入社。2017年、明治薬科大学より博士号(薬学)取得(指導教官:深水啓朗教授)。同年、第42回製剤・創剤セミナー Postdoctoral Presentation Award 受賞。好きな言葉:一日一生。趣味:釣り, サッカー。連絡先:〒251-8555 神奈川県藤沢市村岡東2-26-1 E-mail: masatoshi.karashima@takeda.com

製剤との生物学的同等性を評価する適切な溶出試験法や複数の主薬の不純物分離とその同定を可能とする HPLC 条件の設定が開発の成否に大きく影響を及ぼすことから、様々な手法を駆使して配合剤の評価に取り組んだ。当時の研究所は大変忙しく、1日に4~5回も溶出試験を回すことが日常的であり、試験液の調製、加温をひたすら繰り返していると、帰宅の途に就く頃には風呂上りのように指先がふやけていたが、それを見て妙な達成感を覚えたものだった（そんな日のビールはまた格別に美味かった）。注射剤の試験法開発では、エマルジョン製剤やペプチド製剤などを担当する機会をいただき、広く注射剤開発の経験を積むことができた。まさに駆け出しの若手であった筆者に多くのチャンスを与えていただき、幾度と無く失敗しても辛抱強くご指導いただいた当時の上司である越後谷みどり氏、北中豊氏、三原知浩氏には深く感謝している。

筆者が HPLC や溶出試験器と日々格闘していた頃、世間では創薬における物性研究の重要性が説かれ、社内においても現上司である池田幸弘博士が中心となって、創薬物性研究室が立ち上げられていた¹⁾。当時、社内外で精力的に物性研究を広め、まさにパイオニアとして活躍されていた池田博士は私の憧れの存在であり、その情熱的な研究マインドと豪快な生き方に強く心を引き寄せられた。社内の会議や学会で何度か声をかけていただいた機会に創薬物性研究の重要性と奥深さに感銘を受けたことを鮮明に覚えている。結晶多形・塩のスクリーニング系の構築や候補化合物の developability の評価を基軸とした創薬への貢献という大命題を掲げ、当時いわゆる「2010年問題」の最中であつた当社において「新薬創出に貢献したい！」という想いも手伝い、物性研究の門を叩くことを決意した。2011年に創薬部門と共に湘南研究所に移転したタイミングで筆者の物性研究が始まり、現在に至るまでその魅力にどっぷり浸かっている。これまでの7年間で多くの化合物を担当させていただいた中で難溶性薬物の開発における諸課題に直面し、それらの円滑な開発を可能とする技術構築に取り組んできた。次節からは、近年の研究内容について紹介する。

3. 難溶性薬物の開発における課題解決

近年、開発段階にある医薬品候補化合物の多くは

難溶性であり、これらを円滑に開発するためには物性や吸収性における諸課題を克服する技術開発が必要である。まず、原薬物性の観点では、結晶多形の制御が重要となり、スクリーニングを通じて熱力学的に安定な結晶形を開発形として選択することが必須であり、仮に安定形を見落として開発することになると、後に安定形が突如出現した際の開発に与えるインパクトは計り知れない。特に難溶性であればそのリスクおよびインパクトはより高まる。そこで難溶性薬物の安定形を確実に見出せるスクリーニング法として Slow cooling 結晶化法という手法を開発した²⁾。また、難溶性薬物の開発におけるもう1つの課題として、既存の可溶化製剤技術を凌駕する新規技術の開発が求められている。例えば、ナノクリスタルは、結晶の微細化による溶解速度の飛躍的な向上が見込まれる一方で、その溶解度については、未粉碎結晶からの大幅な改善は期待できないことが一般的な理解であり、それによりナノクリスタルによる吸収改善は他の可溶化技術に比べて限定的であることが多い³⁾。そこで、経口製剤の新規可溶化製剤技術として既存の製剤を上回る特性を示すナノ共結晶化技法の開発に取り組んだ⁴⁾。これらの研究成果をもとに、池田博士より紹介いただいた明治薬科大学分子製剤学研究室を主宰されている深水啓朗教授のご指導のもと、薬学博士を取得することができた。

4. Slow cooling 結晶化法による難溶性薬物の結晶多形探索法²⁾

本法は、様々な特性を持つ13種類の良溶媒と3種類の貧溶媒を組み合わせた合計42種類の溶媒を用いて遅い冷却速度(3°C/h)で冷却晶析を行うことで安定形を効率よく見出す手法である。高温(55°C)から遅い冷却速度で操作することにより、古典的核生成論で解釈される安定形が得られやすい条件、すなわち高温で過飽和度の低い条件からの晶出を促すことが可能となると考え、晶析実験に取り組んだ。難溶性薬物であるメベンダゾール(MBZ)を本法で晶析させたところ、特定の条件で安定形である form A が得られた(表1)。晶出温度と結晶形の相関を解析したところ、高温で晶出した場合には form A が得られやすいことが分かった。次に冷却速度の影響を調べるために様々な冷却速度(1°C/h, 3°C/h, 10°C/h および急冷)でメタノール、2-プロパノール

表1 Slow cooling 結晶化法により得られた MBZ の結晶形および晶析温度

良溶媒	溶解度, 55°C (mg/mL)	結晶形 (晶析温度 °C)					
		単一溶媒	貧溶媒 (1 : 1, v/v)				
			Water	n-Heptane		Isopropyl ether	
Methanol	1.51	A + B (52)	C*	—	A (50)		
Ethanol	0.87	A + B (50)	C (33)	A (52)	A + B (47)		
2-Propanol	0.55	C (45)	C (5)	A + C (53)	C (45)		
2-Butanol	0.72	C (47)	—	A (54)	A (51)		
Acetone	2.43	solvate (52)	C (43)	solvate*	solvate (53)		
2-Butanone	1.85	B (53)	—	C*	A + C (54)		
Ethyl acetate	0.86	B (52)	—	C*	C (54)		
Acetonitrile	0.57	B (49)	B (12)	—	B (51)		
Toluene	0.08	A (49)	—	C*	A (6)		
Formamide	0.97	solvate (9)	C*	—	—		
THF	6.50	solvate (5)	solvate*	solvate + C*	solvate + C*		
Chloroform	0.90	B (22)	—	B*	C*		
TFE	2.33	B (20)	B*	—	B*		

* 貧溶媒添加時に晶出, — : 良溶媒と貧溶媒が混和しない条件

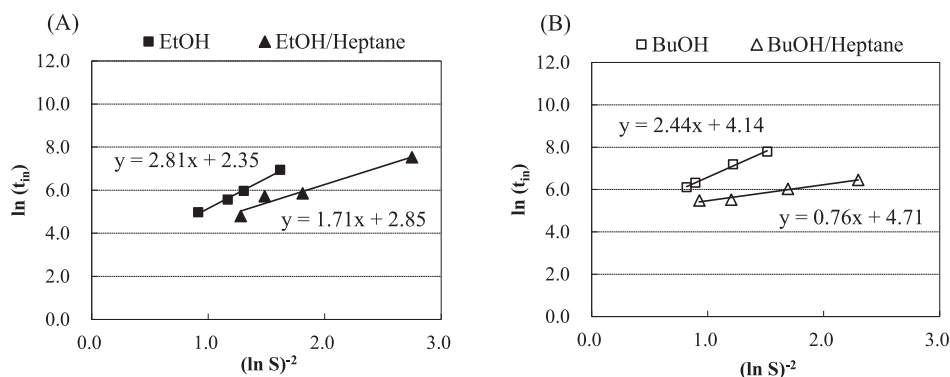


図1 MBZ の各種溶媒中での過飽和度—結晶化時間プロット
(A) EtOH および EtOH/n-Heptane, (B) 2-BuOH および 2-BuOH/n-Heptane

および酢酸エチルの飽和溶液からの晶析実験を行った。その結果、メタノールの1°C/hでのみ、form Aを単独で結晶化することができたが、その他の条件では準安定形が優先的に結晶化された。この結果より、冷却速度の低下は安定形晶析に有利に働くものの、溶媒種によってその傾向は異なることが示された。そこで、溶媒と溶質の相互作用を解釈する目的で、エタノール、2-ブタノールおよびそれぞれのn-ヘプタン混液(1:1, v/v)を用いた結晶化誘導時間の測定による界面エネルギーの算出を試みた。各溶媒に対して、4水準の過飽和度を設定し、25°Cでの結晶化時間を測定した結果をプロットした(図1)。プロットの傾きから算出した界面エネルギーは、そ

れぞれ、2.94, 2.49, 2.80 および 1.90 mJ/m²となり、エタノールおよび2-ブタノールのいずれに対してもn-ヘプタンの添加により、溶媒と溶質間における界面エネルギーが低下することが示された。この結果と、slow cooling 結晶化法の結果(表1)を照合すると、エタノール/n-ヘプタンおよび2-ブタノール/n-ヘプタンでは、それぞれの単一溶媒に対して、晶析温度が上昇し、かつform Aが単独で結晶化していることから、n-ヘプタンの添加による界面エネルギーの低下が晶析温度を上昇させ、安定形晶析に有利に働いたことが推察された。以上の結果より、本法は難溶性薬物の熱力学的安定形の晶析を可能とし、開発に適した物性を有する結晶形の探索に有用

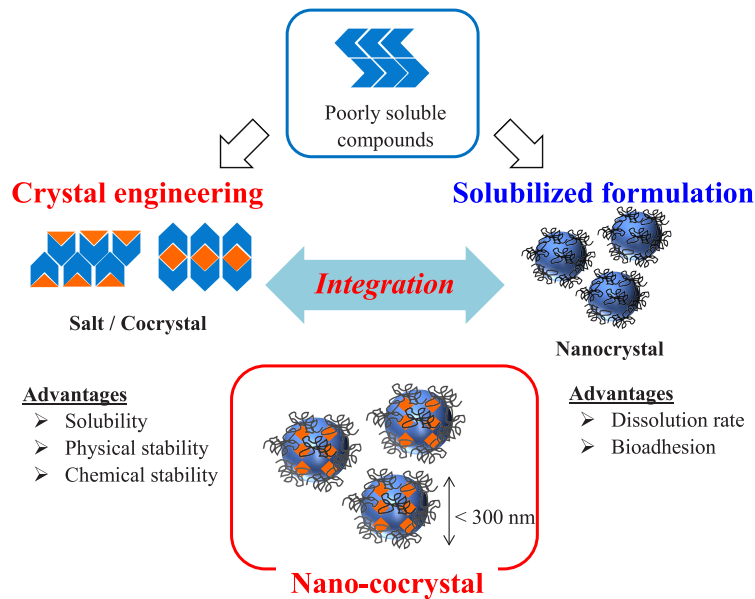


図2 ナノ共結晶 (Nano-cocrystal) の概念図

であることが示された。本研究では、数多くの晶析実験を地道に繰り返し、結晶核生成論を実験にて検証することができたことに達成感を得たのと同時に、学生時代に学んだ結晶化実験の経験と忍耐力が生かされたことを実感した。なお、本法は現在も結晶多形スクリーニングに利用されており、これまでの実績ではほぼ確実に安定形を見出すことに成功している。

5. ナノ共結晶技法による難水溶性薬物の新規可溶化技術⁴⁾

本研究においては、既存技術である薬物単体のナノクリスタルではなく、共結晶を用いてナノクリスタルを設計することにより、溶解速度と溶解度の双方を改善可能な新規可溶化技術であるナノ共結晶を考案した(図2)。共結晶とは、2種以上の成分により非イオン結合で結晶格子が構成される複合結晶であり、活性本体と共結晶形成剤(コフォーマー)から成る均質な結晶である⁵⁾。近年、医薬品原薬形態としての有用性が広く実証され、実用化の段階に至っている。これまで弊社においても広く共結晶研究を実施してきており、その実用化に向けた研究に筆者も参画させていただいた。ある日、ふとしたきっかけで共結晶を湿式粉碎することにチャレンジすることを考案し、自転・公転ナノ粉碎機を用いて実際に粉碎してみたところ、共結晶構造を維持したままで300 nm未満のナノ共結晶が調製できることを発見

した。これをはじめて確認した際、すぐに先輩である山本克彦博士に報告し、これを“nano-cocrystal”と名付け、実験室ではしゃいで盛り上がったことは今でも忘れられない楽しい瞬間であった。その後の検討で、インドメタシン(IMC)-サッカリン(SAC)、カルバマゼピン(CBZ)-サッカリン(SAC)およびフロセミド(FSD)-カフェイン(CAF)などの共結晶についても安定化剤であるヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)およびラウリル硫酸ナトリウム(SDS)水溶液中に分散し、粉碎すると共結晶の結晶構造を維持したままでナノオーダーにまで微細化できることが分かった。一般に、湿式粉碎においては、水素結合等の弱い結合力で形成された共結晶は、構成成分が解離してしまうことが予測されたが、安定化剤の組成および粉碎条件が共結晶へのメカニカルストレスを軽減し、共結晶の微細化に適することが推察された。次に調製したナノ共結晶の機能を調査するために、溶出性および安定性を評価した結果、ナノ共結晶は薬物単体のナノクリスタルに比べて、溶出速度および溶解度が顕著に改善されることが示された(図3: FSD-CAF ナノ共結晶の溶出プロファイル)。また、それぞれのナノ共結晶懸濁液は、未粉碎の共結晶粉末を分散媒水溶液(HPMC+SDS)に分散させた懸濁液に対しても、優位な溶出性を示し、既存の可溶化技術(ナノクリスタルあるいは共結晶)では到達できないレベルの溶出改善効果を達成した。安定性評価の結果から、

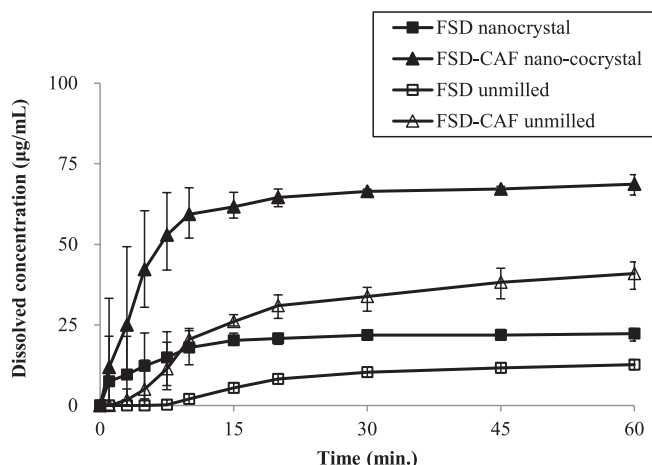


図3 FSD-CAF ナノ共結晶, FSD ナノクリスタル, FSD-CAF 共結晶 (未粉碎) および FSD 結晶 (未粉碎) の溶出プロファイル

ナノ共結晶懸濁液は 5°C および 25°C の保存条件下において、物理的および化学的に安定であり、少なくとも 3 カ月間は粒子径、ゼータ電位、化学的純度および結晶形に変化は認められず、医薬品開発において利用可能であることが示唆された。さらに、スプレードライヤーで IMC-SAC ナノ共結晶懸濁液を凝集防止剤である D-マンニトール (2%, w/v) を添加して噴霧乾燥させた粉末の再分散性を確認したところ、良好な再分散性を示し、ナノオーダーの粒子径が維持された。以上の結果より、新たに開発したナノ共結晶化技法は溶出性の観点から既存の可溶性製剤を上回るパフォーマンスを示し、医薬品開発に適用可能な安定性を有することが明らかとなった。これら一連の研究により、本技法が難溶性薬物の物性を最適化するために、非常に有用な選択肢の 1 つとなり得ることを示した。

6. クリスタルエンジニアリングと製剤技術

本稿のタイトルにも採用したクリスタルエンジニアリングとは、分子間の相互作用を制御することにより望ましい物性を有する結晶を設計する技術であり、医薬品研究においては、原薬の晶析操作による結晶形、結晶化度および晶癖の制御が該当する。より広義に捉えると、ナノクリスタルやアモルファス固体分散体等、製剤中の結晶状態を制御する技術もクリスタルエンジニアリングの範疇であると筆者は考えている。本稿で紹介したナノ共結晶はまさにクリスタルエンジニアリングと製剤技術を融合して生

み出した技術の一例であり、この融合により製剤のパフォーマンスを最大化することに成功した。今後ますます多様化する医薬品のモダリティと医療現場および患者様からのニーズを踏まえると、物性研究により最適化した結晶を用いて製剤化する従来のバトンパスモデルで無く、物性研究と製剤研究を組み合わせるインテグレーションモデルが重要であると筆者は考えている。イノベーションと呼ばれる数多の発明も既存の技術やアイデアの組み合わせから生まれたものが大半であり、技術の融合により古くはラジオ+カセット=ラジカセや最近の事例では時計+携帯電話=Apple Watch など、多くの革新的なヒット商品を生み出している。日本人は和魂洋才と言われるように異なる技術や文化を上手く和合し、新しい価値を創出することに長けている。この特性を十分に生かし、薬剤学分野における物性研究と製剤研究の融合により、本邦発の革新的な薬剤の創出に寄与することを期待している。本稿が今後益々の物性研究者と製剤研究者の連携を促す一助となれば、筆者としてこの上ない喜びである。

7. おわりに

本稿の執筆にあたり、筆者の研究人生を振り返る良い機会をいただくことができた。何も知らずに飛び込んだ医薬品研究の世界で今日までがむしゃらに取り組んできたが、その過程では魅力あふれる先輩方や同僚、大学の先生方や他社の研究者との出会い

に助けていただいたと感謝している。これまで出会った多くの方々から影響を受け、医薬品の創出に貢献したいという情熱を一貫して持ち続けることができています。先述のとおり、筆者はまだまだ駆け出しの研究者であるが、今後も引き続き研鑽を積み、既存の技術を凌駕する革新的な薬剤の創出に貢献していきたいと考えています。

最後に、本研究を遂行するにあたり、熱心にご指導いただいた明治薬科大学の深水啓朗教授、武田薬品工業 Analytical Development の Steven Glenn 所長、池田幸弘リサーチマネージャー、山本克彦主席研究員、小嶋隆史アソシエイトサイエンティフィックフェロー、そして多大なるご協力をいただいた Analytical Development および Formulation Development の同僚の皆さまに深く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 池田幸弘, 創薬における物性研究, *ファルマシア*, **39**, 203–213 (2003).
- 2) M. Karashima, K. Kimoto, T. Kojima, Y. Ikeda, Rational polymorph screening based on slow cooling crystallization of poorly soluble mebendazole, *J. Cryst. Growth*, **390**, 30–37 (2014).
- 3) G. Kaptay, On the size and shape dependence of the solubility of nano-particles in solutions, *Int. J. Pharm.*, **430**, 253–257 (2012).
- 4) M. Karashima, K. Kimoto, K. Yamamoto, T. Kojima, Y. Ikeda, A novel solubilization technique for poorly soluble drugs through the integration of nano-crystal and cocrystal technologies, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **107**, 142–150 (2016).
- 5) K. Izutsu, T. Koide, N. Takata, Y. Ikeda, M. Ono, M. Inoue, T. Fukami, E. Yonemochi, Characterization and quality control of pharmaceutical cocrystals, *Chem. Pharm. Bull.*, **64**, 1421–1430 (2016).