薬 剤 学, **80** (4), 187–192 (2020)

≪若手研究者紹介≫

新たな物性を有する原薬形態を志向した Drug-Drug Co-Crystal 獲得への取り組み

篠 崎 妙 子* Taeko Shinozaki
第一三共株式会社 分析評価研究所

1. は じ め に

私は現在，第一三共株式会社分析評価研究所において原薬の物性および品質研究に従事しています．本稿では製薬企業に勤務する女性研究者の一人としてこれまでの研究生活を振り返る機会をいただきましたので，大学の学部，大学院修士課程での天然物化学研究を経て製薬企業に入社後，現在の業務や博士課程での研究に至った経緯を自身の環境変化と共に紹介させていただきます．本稿を執筆する機会をいただきましたことに心より感謝申し上げます．

2. 学生時代の研究ことはじめ

父が研究職だったこともあり，大学受験の頃から将来は化粧品業界か製薬業界で研究をしたいと思うようになっていました．高校卒業後は親元を離れてのびのびと勉学に励める北海道大学（理学部化学科）に進学しました．天然物を扱うことに魅力を感じており，3 年次には希望した全合成の研究室に配属されましたが，間もなく 4 月には同じ天然物を扱いながらも生化学の要素も強い研究室が立ち上がると聞いて手を挙げました．同大学の農学部から新しく着任された及川秀秋教授は初日に，私達学部生 5 人にテーマのイメージをそれぞれ 1 枚にまとめた紙を配ってくださり，その中から各自好きなテーマを選びました．生物が体内で作り出す化学物質は酵素タンパク質の触媒作用により多様性が生まれます．研究室ではこのような生理活性二次代謝産物の生合成に関わる遺伝子を単離・同定し，さらには遺伝子組み換え酵素を使った物質生産や反応解析を行うことを趣旨としていました．私が選んだテーマは血小板活性化因子（PAF）の拮抗阻害物質 Phomactine の生成に関与する酵素の働きと反応機構を解明すること．この Phomactine は抗がん剤タキソール（taxol®, paclitaxel）と同一のカチオン中間体を経て生成します．そこで，酵素によって生成する機構と，その後，どのような酵素の機能によってそれぞれの炭素骨格に至るのかという点を酵素反応と化学合成の両面から検討しました．その結果，カチオン中間体の転位反応を解析することにより，両酵素の働きに関する知見が得られました．Taxol の前駆体 taxadiene 生合成過程の 1,5-水素移動は，あまり例を見ない反応であるところに酵素が関わる反応の面白さを感じることができました．特に Phomactine の中間体，Phomactatriene は液体クロマトグラフィー（HPLC）では既知化合物と重なっていましたが，ガスクロマトグラフィー（GC）の条件検討により分離，同定できた時は私にとってまさに人生初の大発見の瞬間でした．その後も，NMR によりその構造が解き明かされると同時に反応機構の妥当性が計算化学により担保され，新規性の高い反応機構であることが見出されましたので，研究における喜びを感じる最初の貴重な経験となりました[1, 2]．この研究を通じて，医

*2004 年 3 月北海道大学理学部化学科卒業．2006 年 3 月北海道大学大学院薬学研究科修士課程修了．同年 4 月旧第一製薬（株）入社．以降，現在まで物性および品質研究に従事．2019 年千葉大学より博士号（薬学）取得（指導教官：森部久仁一教授）．モットー：一日一生．趣味：ピアノ，ジャズ，コーヒー．連絡先：〒140–0005 東京都品川区広町 1–2–58
E-mail: endo.taeko.xc@daiichisankyo.co.jp

薬品開発でも将来的には酵素による有用物質の有機合成が自在に行えるようになるかもしれないと天然物化学の魅力に嵌りました.

修士課程では同大学内の薬学研究科に進学し，天然物化学研究室（主宰：小林淳一教授）に所属しました．研究室では植物や海洋天然物を扱っていましたが，前述の学部での研究の中でカビを培養して二次代謝産物を抽出していた経験から，海洋天然物のグループに配属されて新たなスタートを切ります．研究室ではこれまでに，海洋産無脊椎動物ならびに微生物に含まれる二次代謝産物の探索研究を行い，単離した新規化合物の化学構造を明らかにしてきました．私は沖縄産海綿 *Hyrtios* sp. より新規インドールアルカロイドを，海洋産渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. より新規 26 員環マクロリド Amphidinolide B6 をそれぞれ単離し，構造決定を行いました[3, 4]．前者の化合物については，インドールにピリミジンが結合した化合物は稀でしたので，構造そのものが興味深く，また，既存の 4 位の水酸基が有するプロテインキナーゼ阻害などの薬理活性について構造活性相関が期待されました．また，渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. が産生する一連のマクロライド化合物では，構造上 Amphidinolide B と類似する化合物は強力な殺細胞活性を有しているため，こちらは絶対立体配置および構造活性相関の研究も期待されました．このようにして，学部と大学院における 3 年間の研究生活では主に天然物化学という分野で分析の楽しさを存分に味わいながら，自身の研究が医薬品開発に繋がることを漠然と考えるきっかけを得ることができました.

3. 入社してからの業務と環境変化

現第一三共株式会社に入社したのは 2006 年．就職活動の最中に製薬企業の合併・再編が進み，アステラス製薬や大日本住友製薬などが発足しました．自身も旧第一製薬に内定が決まっていましたが，入社式を迎える前に旧三共との統合が発表され，入社して 1 年目は統合に向けた居室のレイアウト変更や検体整理などの大掃除に慌しい毎日でした．当時の主業務は原薬や製剤の規格試験法の開発を中心とした品質研究で，学生時代に培った HPLC や GC の分析技術，NMR や MS を用いた構造解析などが直接生かせる場でした．医薬品開発は各種ガイドラインに従った試験法開発を行った後に，バリデーション，安定性試験に加え技術移転と申請書類の作成等を行いますが，アカデミアの研究と大きく異なる点として長期間にわたり様々な部署や委託先で試験の同等性が確保されている必要があること，すなわち非常に高い再現性が求められる点にあります．この再現性を確保しつつ，剤形に応じた試験項目など業務の体系を理解し吸収することに精一杯であった時期を過ぎ，大きな変化が訪れたのはその後の 2 回の出産時でした．入社 4 年目と 9 年目に 1 男 1 女が生まれ，復帰後に時間は有限であることを強く実感しました．会議のある日は決まって帰宅時間までに測定の準備ができず，実験計画の見直しを余儀なくされました．現在は IT 化が進み居室にいながら分析をスタートさせたり結果を確認することができるのですが，その頃はまだ測定室に行かないと状況が分からないので，他の実験が終了して帰りがけに類縁物質試験用に立ち上げた HPLC の様子を見に行くと，カラムの平衡化が完了しておらず試料を翌日再調製するといったこともしばしばありました．第 1 子の認可保育園への入園が決まり生活も落ち着いた頃，固体物性や分光分析に携わりたいという以前からの希望もあり，同部署内で入社時からお世話になっていた上司の新木哲也博士の配属先である原薬形態選定を主業務とする物性グループに異動しました．医薬品開発における原薬形態の重要性は 2000 年代初頭から認識され始め，化合物候補が絞られると，よりよい物性を獲得するために塩や結晶形の検討が行われていました．塩の検討では酸や塩基性のカウンターイオンとのイオン結合による化合物の修飾が試みられ，塩化することで溶解度や安定性等の改善が見込まれます．CMC 部門では開発初期に従事する研究者はごく僅かですが，数名で社内のほぼ全ての低分子プロジェクトに携わり非臨床～臨床まで関わることができます．また，非臨床研究における毒性試験成立のための暴露向上と臨床研究以降の暴露の安定化（バッチ間ばらつきの低減）に加え，上市を見据えた品質を兼ね揃えた物性を有する候補形態を見出すことが求められますので，医薬品を作り出すというモチベーションを高く持てる良い経験をさせていただくことができました.

当時の上司だった小野誠グループ長から博士課程進学の機会をいただいたのは入社 10 年が経とうと

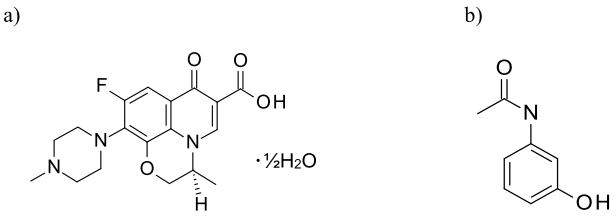

図 1　a）levofloxacin（LVFX）と b）metacetamol（AMAP）の構造

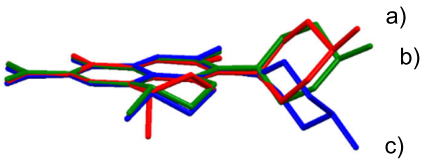

図 2　LVFX の 3 つの配座．LVFX には a）配座 A（a）と配座 B（b）が存在する．LVFX-AMAP 共結晶中の LVFX は配座 A, B とは異なる配座 C（c）であった．

していた第 2 子の育休から復帰した 2015 年のことでした．今までは，実務の中で実践的なスキルを学ぶことが推奨されてきました．しかしながら，日本の企業は独自文化が濃く，社内で通用するスキルが必ずしも社外で通用するとは限らないことも多いかと思います．会社以外の場所で学ぶ機会も持つべきと考え始めていましたので是非ということで大学院受験の準備に取り掛かりました．千葉大学薬学部製剤工学研究室 森部久仁一教授の下で研究を行うことになりましたが，はじめに驚いたのは大学院受験の面接官が現薬学研究院長・薬学部長の石橋正巳教授だったことです．不意に修士課程でお世話になった研究室の OB（しかも渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. 研究の先輩）である先生にお会いしたことで，この業界の狭さを実感したものです．

4. 博士課程での研究

薬剤物性の専門家である森部久仁一教授，東顕二郎准教授のご指導の下，原薬形態研究の応用として共結晶（co-crystal）形成による物性改善に着目した研究を行いました．共結晶は複数の分子から構成される分子複合体結晶ですが，同様の分子複合体結晶である塩とは異なり，分子間結合は非イオン性です．共結晶は塩結晶形や固体分散体とともに，医薬品開発においてしばしば問題となる溶解性や安定性などの物理化学的特性を改善する手段として注目されています．さらに近年では薬物–薬物同士の共結晶を得ることにより，物理化学的特性の改善のみならず，配合剤と同様に服薬錠数を少なし，アドヒアランス改善に寄与することも期待されています．例えばネプリライシン阻害薬であるサクビトリルとアンジオテンシン受容体拮抗薬であるバルサルタンの共結晶は慢性心不全の配合剤治療薬エントレスト（Entresto®, acubitril/valsartan）として 2015 年に上市されました．また，シクロオキシゲナーゼ 2 選択的阻害薬であるセレコキシブとオピオイド鎮痛薬であるトラマドールは共結晶化により溶解性およびバイオアベイラビリティを改善し，第 2 相臨床試験（Ph2）を成功に導いています．博士課程の研究では，当社から上市されたニューキノロン系合成抗菌薬レボフロキサシン（(cravit®, levofloxacin）LVFX, 図 1a）共結晶の検討を行いました[5]．LVFX と併用率の高い解熱鎮痛薬アセトアミノフェン（APAP）の 1 回用量が 1：1 のモル比であることに着目し，その類縁体（9 種類）についてスクリーニング検討を行い，薬物–薬物共結晶の調製を試みました．各種物性測定の結果，APAP の位置異性体で APAP と同等の薬効を有するメタセタモール（AMAP, 図 1b）を用いた場合にのみ，共結晶が形成されることを見出しました．LVFX-AMAP 共結晶の単結晶を調製し，単結晶 X 線構造解析によりその結晶構造および分子間相互作用様式を評価しました．その結果，LVFX-AMAP 共結晶では，非対称単位に LVFX 1 分子および AMAP 1 分子が存在し，予想通り化学量論比 1：1 の共結晶を形成することが示されました．そして，LVFX-AMAP 間では，LVFX 単体で形成していたカルボキシル基のヒドロキシル基の分子内水素結合を保持したまま，カルボキシル基のカルボニル炭素が AMAP のアミド基と，LVFX の *N*–メチル基が AMAP のヒドロキシル基と 2 種類の分子間水素結合を形成していました．LVFX-AMAP 共結晶中で水素結合を形成している各プロトンの結合距離から，LVFX-AMAP 間ではプロトン移動が起きていないと考えられました．また，LVFX のピペラジン部位の pK_a（8.18, base）と AMAP のヒドロキシル基の pK_a（9.88, acid）との差（ΔpK_a）は −1.7 であり，ΔpK_a が負の値を示すことからも LVFX-AMAP 複合体は塩ではなく，共結晶であることが確認されました．LVFX-

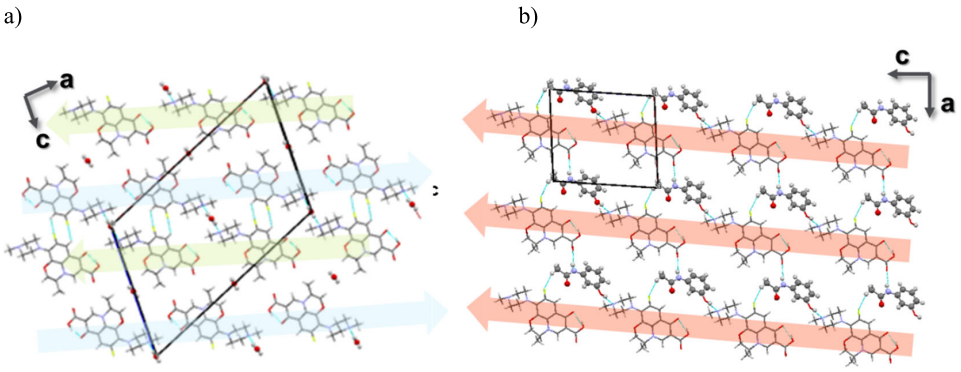

図 3　a）LVFX と b）LVFX-AMAP 共結晶の結晶構造の比較

AMAP 共結晶においては，上記の 2 種の水素結合により形成された 2 次元構造が，H…F ハロゲン結合および *b* 軸方向で隣接する LVFX 分子同士の π…π 相互作用により安定化され，強固な結晶パッキングを形成していると考えられました（図 2，3）．メタ位にヒドロキシル基を有する AMAP は，水素結合を介して同じ直線上に一次元鎖状構造を形成していました．一方 APAP は，分子の歪みまたはヒドロキシル基の立体障害により，直線状に水素結合ネットワークを形成することができず，共結晶を形成しなかったと考えられます．この考察を確認するために，AMAP-LVFX 共結晶の結晶構造を基に，AMAP のヒドロキシル基の位置をオルト位に置き換え共結晶の初期構造として構造最適化を行った後，密度汎関数理論（density functional theory：DFT）計算を行いました．その結果，LVFX-APAP synton エネルギーは－18074.9374 eV であるのに対して，LVFX-AMAP synton のエネルギーは－18075.4915 eV と有意な差ではないものの 0.5 eV 程度安定であるという計算結果を得ました．以上より，APAP も LVFX との synton 形成の可能性はあるものの，結晶構造全体では π…π 相互作用などの寄与により LVFX-AMAP のみが共結晶を形成したと推察しました．各種物性評価を行った結果，本共結晶は全湿度範囲において水和物への転換は認められませんでした（図 4）．固体，溶液，および懸濁液について光安定性を評価した結果，固体状態（粉末）の LVFX および LVFX-AMAP 共結晶の保存開始時と保存後の色差 ΔE^*ab の変化量は，120 万 lx･h 時点でそれぞれ 15.9 および 7.6 であり，経時的に着色傾向が認められたものの，LVFX-AMAP 共結晶は LVFX と比較して変

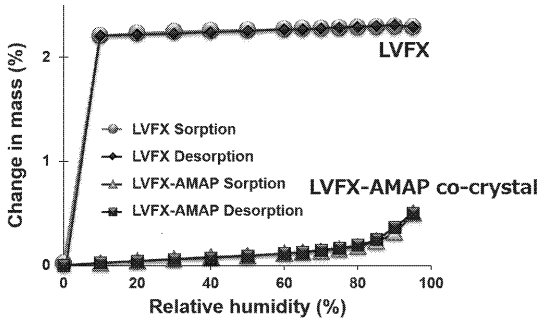

図 4　LVFX と LVFX-AMAP 共結晶の水分吸脱湿挙動の比較．LVFX-AMAP 共結晶は全湿度範囲において吸湿せず，水和物への転換も認められなかった．

化は小さくなりました．また，溶液状態（0.1% 溶液）では，60 万 lx・h 時点での LVFX 含量は 2.6% まで低下したのに対して，LVFX-AMAP 共結晶溶液中では 24.4% まで抑制されました．さらに懸濁状態（20% 懸濁液）では，120 万 lx・h 時点での LVFX 含量は 65.0% であったのに対して，LVFX-AMAP 共結晶懸濁液中の LVFX 含量は 84.7% でした．上記の結果より，固体，溶液および懸濁液状態のいずれの場合でも AMAP との共結晶形成（溶液については AMAP の共存）により LVFX の光安定性が改善することが明らかとなりました（図 5）．以上より，本共結晶は LVFX の高い溶解性および化学的安定性を維持したまま，光に対する安定性が向上した好ましい性質を有していることが明らかとなりました．

本共結晶は先に述べた通り，配合剤としての機能とその薬効が期待されますが，その調製法については別の利点も考えられます．医薬品の多くに存在する水和物結晶は物性が良好であれば水和物を開発形態として選択できますが，製剤化工程や保存時には

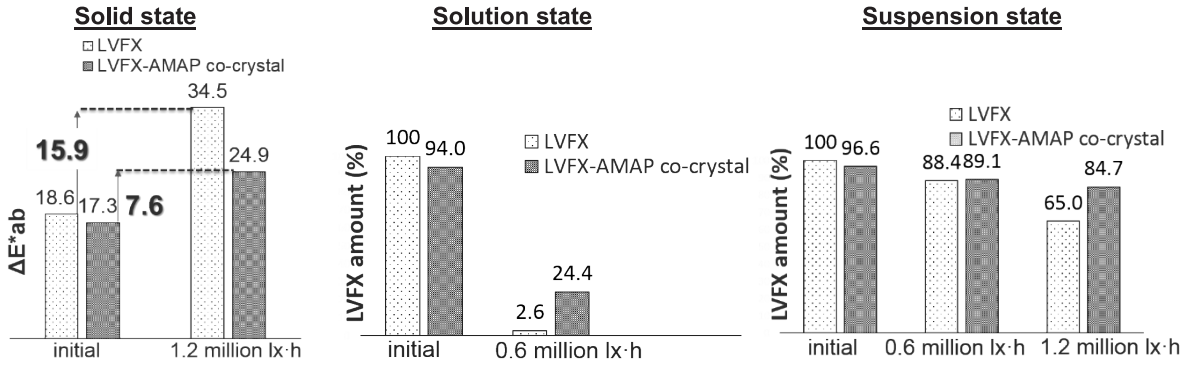

図 5　固体，溶液，懸濁状態における LVFX と LVFX-AMAP 共結晶の光安定性の比較．固体，溶液および懸濁液状態のいずれにおいても AMAP との共結晶形成により LVFX の光安定性が改善した．

水和物と無水物の相互転移に留意する必要があります．LVFX も水和物結晶として存在しており，無水和物相は実験室環境下で速やかに元の水和物に戻ることが知られています．本研究では，共結晶の調製に加熱法を選択することにより，室温環境下では速やかに水和する LVFX についても無水物の共結晶を調製できることを見出しました．本手法は他の物理的に不安定な水和物にも適用可能と考えています．

共結晶は原薬形態として注目され研究も多く行われてきましたが，実生産スケールでは原薬および製剤製造のいずれにおいても粉砕・混合・造粒・乾燥などの各工程において小スケールの研究では予期できない解離や反応の課題も残っており，本分野におけるさらなる研究の発展を期待しています．

実はこの博士課程に身をおいた期間と重複して当社の製剤技術研究所初期製剤グループで 2 年間にわたり製剤化研究の経験を積む機会をいただきました．異動前に自身が担当して原薬形態を選定した化合物について，製剤技術研究所にて引き続き担当し，Ph1 用臨床製剤とさらには Ph2 用の錠剤開発を行いました．国外の臨床施設での GCP 基準を考慮し FIH（First in Human）試験の情報を得ながら臨床薬理部門と協業して製剤を開発したり，FIH の臨床プロトコールの作成サポートなどを行ったりすることにより，臨床開発の中で関係部門がどのように考えて医薬品を開発していくのか肌で感じられる大変貴重な経験となりました．加えて，博士課程の研究の方向性を考える際にも，剤形を考慮した光安定性評価や色差の理解など，これまでになかった知識をいただくことができました．結果として，この時期に博士課程に進んだことで家族のみならず異動前後の部署のメンバーにも負担をかけてしまった面も多々ありますが，テーマと期限の決まっているものを業務とやりくりしながら進めるという経験はインプットの精度を高め，やり抜く力を身につけることができて非常に有意義でした．多くの方に感謝しつつ，今後同様に後輩が両立に悩むことがあったらサポートを申し出たいと決意しております．

5. お　わ　り　に

仕事で得たノウハウや勉強など，仕事を続ける上で助けとなるスキルを「キャリア資本」というそうです．もし決まった経験しかつめない仕事についている場合は興味に応じて継続して勉強することでその幅を増やしていくことになるのですが，こうして振り返ると，幸いにも自身または周囲の環境は 2〜3 年毎に変わっており，関連性を持ちながら多様なキャリア資本を増やしていくことができていると実感しています．

この数年グローバル化と叫ばれていましたが，製薬企業の多くでグローバル化が急激に進みこれからは一歩先の世界を俯瞰できる力も求められています．さらに低分子の退潮とモダリティの躍進という医薬品のパラダイムシフトを今まさに迎えています．分業化が今後も加速し，既存の業務はすべて委託でできてしまう時代となっています．このような状況下で，製薬企業の研究開発・CMC 部門が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ります．この 13 年間，まだまだ業務を行う上でも足りない知識の方が多いですが，本稿に記したように，幸運にも開発

プロジェクトの分析担当としての初期から臨床試験に向けた物性研究・品質研究・製剤化研究に関する知識や情報ネットワークと，博士号の取得をきっかけにアカデミアとの関係性を構築することができました．これからも変化の激しい時代にキャリア資本を増やしながら製品開発に携わっていきたいと考えています．

最後に，研究を遂行するにあたり熱心にご指導いただいた千葉大学の森部久仁一教授ならびに東顕二郎准教授，様々な機会を与えて下さった大原求所長および小野誠博士，製剤技術研究所在籍時に学業と業務の両立が困難な際も熱心にご指導いただいた藤井祐三子グループ長，基礎研究の面白さや進め方を傍で教えて下さった小林克弘博士，鈴木徹也博士，浜田義人博士，そして多大なるご協力をいただいた分析評価研究所および製剤技術研究所の同僚の皆さまに深く感謝申し上げます．さらに同時期に博士課程に進みながらも全面的に協力してくれた夫と，いつも前向きな助言をしてくれる息子と娘，生活面でのサポートをお願いしている両親にこの場をお借りして感謝の気持ちを記させていただきます．

引　用　文　献

1) T. Tokiwano, E. Fukushi, T. Endo, H. Oikawa, Biosynthesis of phomactins: common intermediate phomactatriene and taxadiene, *Chem. Commun*., **11**, 1324–1325 (2004).
2) T. Tokiwano, T. Endo, T. Tsukagoshi, H. Goto, E. Fukushi, H. Oikawa, Proposed mechanism for diterpene synthases in the formation of phomactatriene and taxadiene, *Org. Biomol. Chem*., **3**, 2713–2722 (2005).
3) K. Oguchi, M. Tsuda, R. Iwamoto, Y. Okamoto, T. Endo, J Kobayashi, T. Ozawa, A. Masuda, Amphidinolides B6 and B7, cytotoxic macrolides from a symbiotic dinoflagellate Amphidinium species, *J. Nat. Prod*., **70**, 1676–1679 (2007).
4) T. Endo, M. Tsuda, J. Fromont, J. Kobayashi, Hyrtinadine A, a bis-indole alkaloid from a marine sponge, *J. Nat. Prod*., **70**, 423–424 (2007).
5) T. Shinozaki, M. Ono, K. Higashi, K. Moribe, A novel drug-drug cocrystal of levofloxacin and metacetamol: Reduced hygroscopicity and improved photostability of levofloxacin, *J. Pharm. Sci*., **108**, 2383–2390 (2019).