

日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後評価報告書

I 基本情報

研究開発課題名：創薬基盤技術の迅速化・効率化を目的とした革新的医薬品製造技術における高度測定・評価技術の開発研究

Study of development of advanced analytical techniques in innovative pharmaceutical manufacturing technology for streamline and efficient pharmaceutical development process

研究開発実施期間：令和4年4月15日～令和7年3月31日

研究開発代表者 氏名：坂本 知昭

Tomoaki Sakamoto

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立医薬品食品衛生研究所・薬品部第三室・室長

National Institute of Health Sciences・3rd Section, Division of Drugs・Section Chief

II 研究開発の概要

医薬品の安定供給体制の確保、医薬品開発の効率化を目標として、革新的製造技術である連続生産に着目して創薬基盤研究を行った。連続生産については、ICH 医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use）における品質トピック（ICH Q13；原薬及び製剤の連続生産に関するガイドライン）で調和が進められていたこともあり、国内実装化に向けたプロセス開発研究が活発化しており、製薬において重要な役割を担うものと期待されている。一方で、どのように導入すればよいか、またどのようにプロセス評価系ならびに製造物の品質評価系を構築すればよいか悩むことが多く、導入開発研究が思うように進まないことが課題として挙げられている。特に、連続的／高速的製造工程では、出荷までの工程の連続性・自動性から **Process Analytical Technology**（PAT：プロセス解析工学）の導入が不可欠であるが、現状では ICH Q13 ガイドラインをベースに導入研究が進められているものの、具体的な技術的要件（プロセス管理や規格・基準の設定に関連する技術的アプローチ）は示されていない。連続生産の開発研究は、主としてアカデミアや製薬企業を中心に進められているが、産業応用に向けては行政当局の審査及び施設等の適合性調査を受ける必要がある。このハードルを越えるためには、何が必要で、どのように品質保証体制を構築するか、アカデミアを含めた製薬企業と行政当局間での共通の理解が必要である。しかしながら、連続生産の普及を促進し、製薬企業における連続生産技術の開発から実装までの迅速な移行が達成可能とするために、企業での導入につながる連続生産技術及びプロセス評価手法の標準的導入アプローチの提示や行政支援につながる技術的要件の抽出及び取り纏めを行うことが必要と考える。行政との連携も可能で中立的な立場で研究を行う

国立医薬品食品衛生研究所 (NIHS) が中心となり研究を進めることで、これらの課題に対する解決の一助となると考えた。

本研究事業では、主に原薬の連続合成プロセスに着目した。一般的に連続攪拌槽型 (CSTR; Continuous Stirred Tank Reactor) 連続生産あるいは連続管 (フロー) 型 (PFR: Plug Flow Reactor) と大別され、小型の反応槽を連続的に組み合わる CSTR に対して、PFR は迅速に反応が進行するなどの利点があるが、例えば中和反応では塩の結晶が析出することで管が詰まる可能性があるなど、現状では適用できる反応が限定的である。しかし、PFR では、作業者の反応プロセス自体への接触が少ないため高薬理活性化合物や有害性・爆発性化合物など、作業者の労働リスクを軽減できること、またオーファンドラッグなどの生産量の少ない原薬を対象とした少量多品目生産も可能とすることなどの利点も多い。NIHS では、PFR に関する製薬業界からの要望を参考に、①PAT 評価法の開発及び②プロセス開発 (合成法開発の標準的アプローチの提案) の 2 テーマに分けて研究を行った。①PAT 評価法の開発については、研究開発代表者 (坂本) が主として担当し、医薬品の生産技術、品質管理を支えるための高度測定技術の中でも、PAT 技術またセンシング技術として高いポテンシャルをもつ近赤外分光法、ラマン分光法、テラヘルツ分光法などの分光分析、プロセス用クロマトグラフィーを中心とした応用分析技術を開発研究し、連続生産における評価技術の標準的アプローチを提案することを目的とした。②プロセス開発 (合成法開発の標準的アプローチの提案) は研究開発分担者 (正田) が主として行い、研究開発代表者・協力者らにフロー合成法に関する情報提供を行い、かつ高度化させる技術の開発を行った。具体的には (1) 非天然アミノ酸とペプチドの新規フロー合成法の開発、および (2) 気液分離装置の開発の二点を行った。また、錠剤の物性評価を目的としたテラヘルツ分光法及び X 線 CT を用いた錠剤の非破壊物性評価手法の開発を研究開発分担者 (野口) が主として担当した。テラヘルツ波は多くの有機材料に透過力が高く、錠剤にダメージを与えずに多くの情報を得られる可能性があるが、分子の結晶格子振動や水素結合などの分子間 (内) 相互作用の情報がスペクトルとして得られるため、一般に吸収線は少なく、原薬のピークが添加剤と重なる場合、原薬の情報が得られない可能性があった。そこで、医薬品製造で汎用される添加剤のテラヘルツスペクトルを取得しデータベース化した。さらに製錠工程の品質恒常性の評価を行うことを目的として、テラヘルツ分光法及び X 線 CT を用いた錠剤内部の非破壊評価手法を確立した。

(研究開発代表者 坂本知昭)

PFR 連続生産における PAT 評価法の開発

PFR における PAT ツールとして想定したラマン分光用レーザー及び近赤外光の波長を透過する材質を用いたセルの開発を行った。セルは複数の分光センサーを設置できるように多連式とし、台座に設置した各セルを耐薬品性チューブで直列に接続し、最初のセルの導入部に PFR の反応場から排出するチューブの先端を取付ける構造とした。また、ラマン分光器の設置については、計測時の迷光の影響を考慮して密閉型のセルを別途開発した。流路に溶媒を注入した静的条件下では溶媒由来のスペクトルを明瞭に得ることができたが、溶媒を流す動的条件下では、溶存ガスの気泡がセル内部に蓄積し、分光器の光路上に気泡があることで適切な計測が出来なくなるトラブルが発生した。そこでセル内部の形状ならびに素材を加工することでセル内に侵入した気泡が滞留することなく自動的に排出する機構をもつセルを開発し、発生したトラブルを解消することができた。気泡を自動排出する機構をもつセルの実装により、作業者の介在を極力減じた自動計測が達成できる可能性が示された。

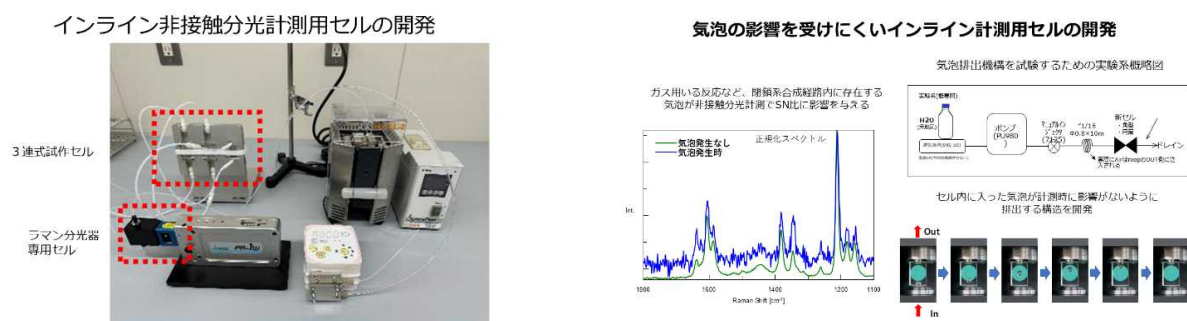


図 1-1 インライン非接触分光計測用セルを接続した PFR プロセス評価システム（左写真）と気泡自動排出機構をもつセルの開発（右図及び写真）
（気泡がセル内に滞留することでスペクトルの S/N が影響を受ける）

また、原薬合成で重要な反応のひとつであるアルドール縮合反応（図 1-2）を選定し、開発した治具を用いて PFR への導入を指向した非接触計測の実装化検討を行った。

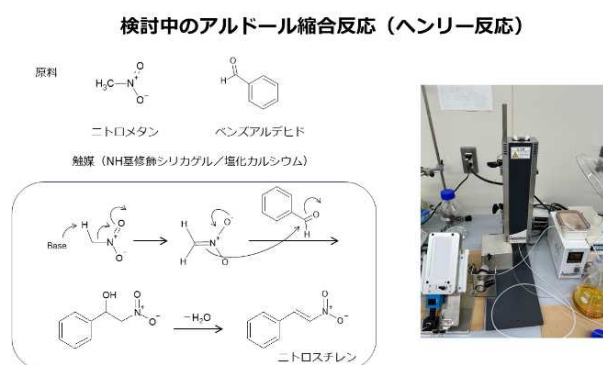


図 1-2 アルドール縮合反応の経路図とフロー合成装置

ラマン分光器を用いた計測では、原料及び生成物の標準溶液を用いてアルドール縮合反応に特徴的な官能基の変化を示すラマンシフトの取得に成功した。これらのアルドール縮合反応に特徴的なラマンシフトについて、10 分間隔でインターバル計測をおこなったところ、どのラマンシフトを用いても生成物が一定量となる定常状態への到達することを経時的にモニターすることができた。5 水準の標準溶液濃度とラマン強度は非常に良好な相関性を示し、プロセス中の生成物の半定量的評価も可能であることが示された。反応温度を重要工程パラメータとして、4 段階の反応温度における β -スチレンの生成量及び原料であるベンズアルデヒドの経時的モニターを行い、各反応温度における β -スチレンとベンズアルデヒドの工程中の経時的な濃度の変化を追跡することに成功した。これらの成果により、アルドール縮合反応を用いた PFR 連続生産を開発する上で有用な情報を提供することができ、開発段階における効率的な条件最適化が可能になると思われる。

CSTR 連続生産における PAT 評価法の開発

CSTR の評価法の開発については、フロースルー方式で CSTR 装置傍に設置したテラヘルツ分光器で計測するための治具を開発した（図 1-3；計測部分（ATR プリズム）は赤色の破線部分）。予備検討では最大流速 30 mL/min

の速度で循環しても送液に問題はなく、1 分間隔での計測で反応液のテラヘルツ吸光係数ならびに屈折率の計測が可能であった。これにより CSTR 連続生産システムにおける反応液のリアルタイム計測を行うことができた。また、実装化研究として、有機酸及び無機酸と塩基の中和反応を行い、テラヘルツ吸光係数ならびに屈折率の変化と pH の変化と比較し、反応モニターが可能であることを示した。

フロースルーインライン計測システム

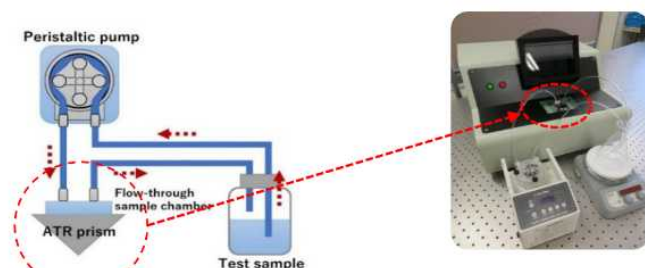


図 1-3 開発したフロースルー減衰全反射テラヘルツ波計測システム

その他、研究開発協力者らとの共同研究において、下記の研究開発を行った。

サファイアガラスを材質とした測定窓を混合・造粒機の配管に設置し、近赤外分光器の先端筒部分を測定窓に接触させて混合・造粒プロセス稼働中に管を自由落下する試料のスペクトルの取得を行い、サファイアガラス窓を通した近赤外光の光路上に流れ落ちる造粒物の量が一部纏まって落下するなど一定でないためスペクトル波形及び吸収強度に変動が生じることが確認された。このため、測定窓の取り付け位置を選定し直し、得られる近赤外スペクトルの変動の小さい位置を見出した。また、打錠プロセス中に錠剤に近赤外光を照射し、錠剤表面からの反射光を用いた定量手法の検討を行い、小さい変動幅でオンラインでの定性・定量分析が可能であることを示した。さらに打錠プロセス中の反射光を用いた錠剤の定量手法の検討を行い、オンラインでの定性・定量分析に関する PAT 評価手法を確立した。

含量を変えたモデル錠剤の数百マイクロ秒での超高速計測でも適切に含量計測が可能であることが示された。実機と同レベルの打錠速度で製した錠剤の全数含量検査を試み、13 分間で 4 万錠の連続評価を行うことに成功した（18 万錠/hr 相当）。規格外のモデル製剤を用いた排出実験を行い、実機と同レベルの打錠速度で製した錠剤の全数含量検査における規格外錠剤の系外排出に成功した。この機構の確立により、製剤連続生産における不良品の製品への混入を防ぐことが可能であることが示された。

テラヘルツ分光法による製錠プロセス中に起こり得る結晶多形転移を検出するためのモニター手法を用いて、市販製剤中の擬似結晶多形転移の識別と半定量に成功し、錠剤中の無水物と水和物の擬似結晶多形の定量が可能であることを見出した。また、テラヘルツスペクトルは成行き環境での計測では水蒸気の影響を受け、定性・定量分析時に影響を与える可能性があるため、スペクトル前処理の工夫を行うことで水蒸気の影響を排除したスペクトル処理により再現性の高い定性・定量分析が可能となる解析アプローチを見出した。さらに製錠プロセス中に起こり得る結晶多形転移を検出するためのモニター手法としてのテラヘルツ分光法による定量における変動因子を明らかにするため、錠剤形状、打錠圧、錠剤厚みを変えたモデル製剤について吸光度を測定し、それぞれの条件の範囲内での吸光度の変動が 1% 以下であることを示した。

（研究開発分担者 正田卓司：フロー合成技術の高度化に関する検討）

ペプチド医薬品開発研究の加速化のためのテーラーメイドアミノ酸の提供への連続 Flow 合成の活用

非天然型トリプトファン誘導体はペプチドやタンパク医薬品開発研究に広く用いられており、その迅速かつ効

率的な合成法の開発は合成化学の重要な課題である。グラミン 4 級塩によるキラルな Gly-Ni 錯体の連続フロー不斉アルキル化反応を利用した、より効率的な非天然型トリプトファン誘導体の新規な合成法を開発した(図 2-1)。

ペプチド原薬のフロー連続製造の合成技術の基礎研究

ジスルフィド結合を有するペプチド原薬(エテルカルセチド、ランレオチド)のフロー合成方法を開発した。ランレオチドは過酸化水素、エテルカルセチドはスルフヒドリル基の選択的活性化により LC 純度 99%以上でジスルフィド結合を得る条件を見出し、原薬製造を可能とした。しかし、ラマン分光法によるジスルフィド結合形成のリアルタイムモニターでは低分子化合物での検出には成功したが、分子構造の複雑なペプチドの検出では明瞭なスペクトルが得られず課題を残した。低分子化合物での検出には成功しているため、分子構造の複雑なペプチドの検出には測定系に改良が必要であることが分かった。(図 2-2)

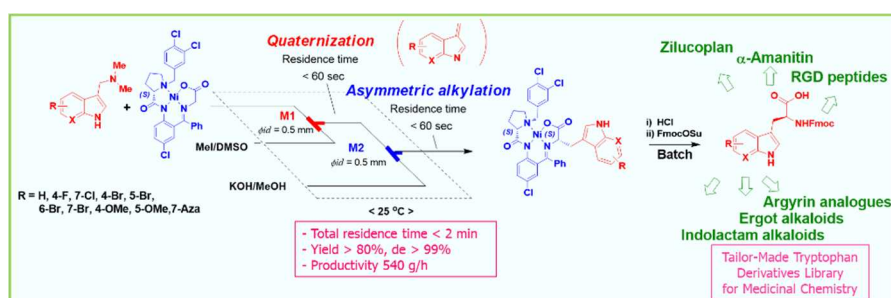


図 2-1 グラミンの連続フロー4 級化と不斉アルキル化を利用する非天然型トリプトファン誘導体の合成

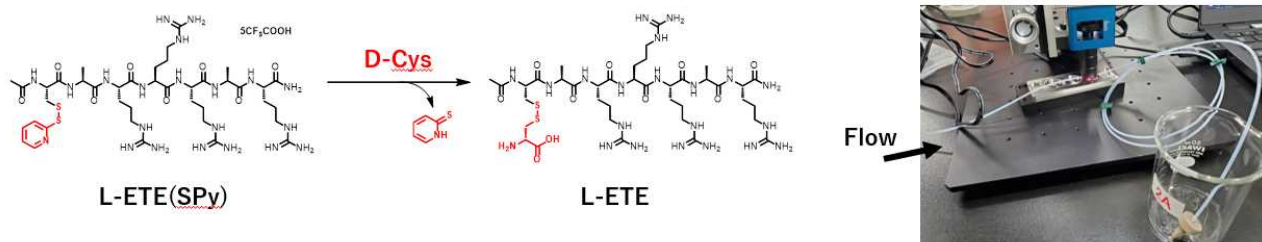


図 2-2 ラマン分光法によるジスルフィド結合形成のモニタリング

気液反応におけるフローバイアルの評価

フローバイアルはフロー合成中のリアルタイム HPLC 分析を可能にするサンプリングデバイスで、流路内の溶液をサンプリングし、自動希釈・スケジュール化を実現する(図 2-3)。本研究では、気液反応への適用可能性を検証し、気液分離装置(デガッサ)の有無による性能の違いを評価した。モデル反応としてケイ皮酸エチルの水素化還元を採用し、水素ガス導入量とサンプリングの正確性を比較した。デガッサを使用しない条件では、多量の水素ガスが存在する場合、サンプリング精度が低下した。一方、デガッサを使用すると、残存水素ガス量が多くても安定したサンプリングが可能で、RSD 値も大幅に改善された。以上のことから、気液反応でのフローバイアル利用時の最適条件が明らかになり、今後の分析精度向上が期待される。

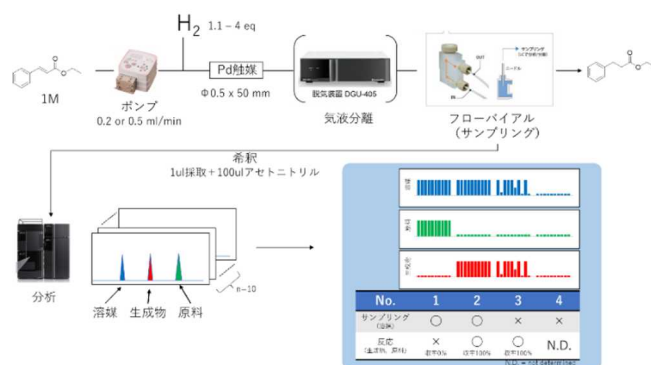


図 2-3 フローバイアルによる気液反応のリアルタイムサンプリング
セットアップ図と結果

気液分離装置のスケールアップ検討

本実験では、フロー合成における生成物中の水素ガスを効率的に除去するため、東京理化器械製のシリンダー方式気液分離装置と島津製作所製の減圧脱気方式気液分離装置を組み合わせた評価システムを構築した(図 2-4)。エタノール、アセトン、トルエンの3種類の有機溶媒を用い、溶媒流量と溶存水素ガス量の関係を調査した。実験結果では、溶存水素ガス量は溶媒流量に比例して増加し、エタノールでは 30 mL/min まで安定した気液分離が可能であったが、アセトンやトルエンでは同条件下で限界が確認された。しかし、背圧制御用の BPR (Back Pressure Regulator) を追加することで、これらの溶媒でも安定した気液分離が実現し、最大 40 mL/min の脱気が可能であることが示唆された。

以上のことから、溶存水素ガス量が 20 mL/min 以下となるように流量を調整することで、安全率を確保した上で、スケールアップしたフロー合成プロセスに本システムを適用できる可能性が確認された。分析用モニタリングに特化した分離方法として、効率的な応用が期待される。

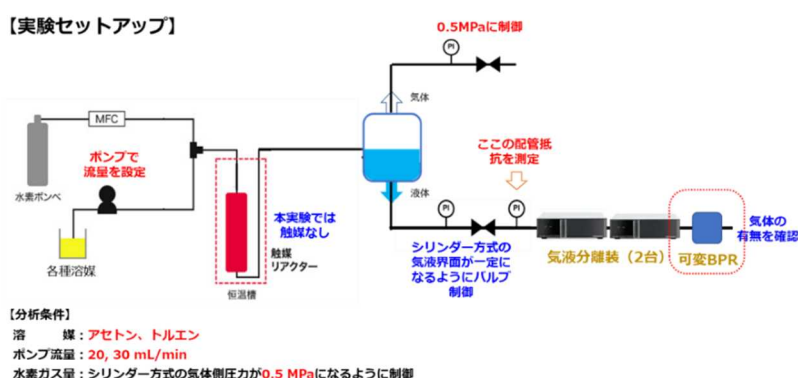


図 2-4 気液分離評価実験のセットアップ図および分析条件

(研究開発分担者 野口修治：テラヘルツ分光法及び X 線 CT による医薬品の物性評価)

放射光 X 線 CT 測定を用いた乾式球形粒子の形成機構の評価

背景と目的

製剤工学において、薬剤粒子の形状制御や流動性の改善は重要な課題である。特に球形粒子は流動性向上や付着性低下に寄与することが知られている。本研究では、生体適合性および高親水性を有するキチンナノファイバー (Chitin) を用い、短時間かつ低コストで乾式球形粒子を調製する技術の検討を行った。その手法として、ホソカワミクロン社製ノビルタミニ (NOB-mini) を用いた乾式コーティング法を採用し、原薬との混合比や処理条件が粒子形状および物性に与える影響を評価した。

材料と方法

本研究では、ブロムヘキシン塩酸塩 (BH)、アセトアミノフェン (APAP)、ジクロフェナクナトリウム (DCFS) を原薬として使用し、Chitin との物理混合比 (BH:Chitin = 100:1~100:10) を変化させて、ノビルタミニで処理を行った。Chitin は凍結乾燥後、32 mesh でふるいにかけ、粒径を均一化したものを使用した。粒子の評価には、走査型電子顕微鏡 (SEM)、粒度分布測定 (レーザー回折法)、粉末 X 線回折 (PXRD)、さらに放射光 X 線 CT による構造解析を用いた。溶出試験は酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.0) を用いたパドル法で実施した。

結果と考察

SEM 観察では、ノビルタ処理によって原薬が Chitin により覆われ、球形またはそれに近い形状に変化していた。(図 3-1) 粒度分布の結果では、Chitin の添加量が増えることで、粒子径の中央値 (d_{50}) はやや低下し、特に 100:10 の配合では 20 μm 前後の微細粒子の割合が増加した。PXRD 測定により、ノビルタ処理後の BH は I 型結晶構造を示し、振動ミル処理した BH と同様の結晶転移が観察された。放射光 X 線 CT では、X 線反応性の高い BH と低い Chitin とのコントラストを利用することで、粒子内部構造やコーティング状態の視認が可能であった。

溶出試験では、全てのマスキング粒子が後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインに準拠し、原薬に対して類似した溶出挙動を示した。特に、100:1、100:2、100:5 は 10 分以内に 85%以上溶出し、100:3、100:10 も 15 分以内に同様の溶出率を達成した。(図 3-2)

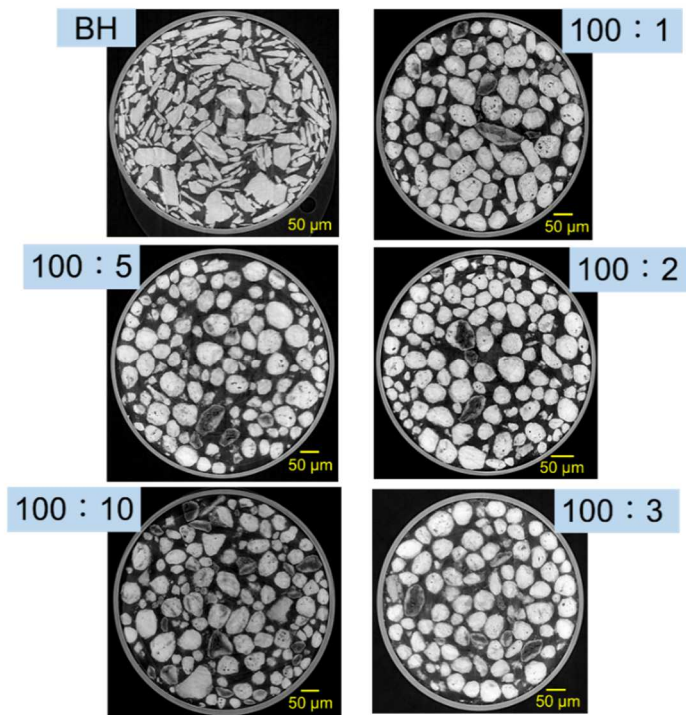


図 3-1 X 線 CT 撮像した BH 粒子の画像

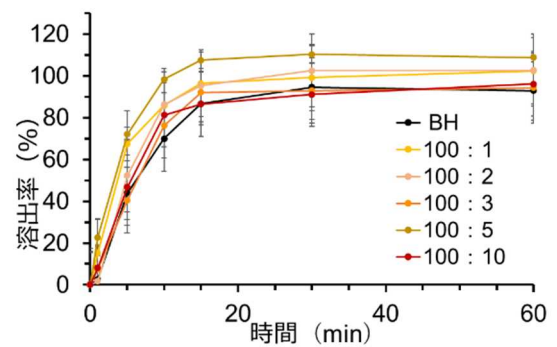


図 3-2 BH 粒子の溶出率

結論

本研究により、ノビルタミニを用いた乾式処理により、Chitin による原薬粒子の効率的な球形化およびコーティングが可能であることが示された。SEM や X 線 CT による形状および内部構造の解析により、球形粒子の形成機構やコーティング効果を視覚的に確認することができた。また、PXRD による結晶性評価では、処理後も安定な結晶構造が保持されることが確認され、溶出試験では製剤としての品質を十分に満たす結果が得られた。これらの結果は、Chitin とノビルタミニを組み合わせた乾式球形粒子製造法が、新たな製剤設計において有用な手法であることを示唆している。

以上

With the goal of ensuring a stable supply system for pharmaceuticals and streamlining pharmaceutical development, continuous manufacturing (CM) which is an innovative manufacturing technology was focused on. Process Analytical Technology (PAT) for a continuous stirred tank reactor (CSTR) and a plug flow reactor (PFR) system and improvement of PFR technology, for the CM of active pharmaceutical ingredients (API), have been studied. Moreover, evaluation of the physical properties of pharmaceuticals during a manufacturing process using terahertz spectroscopy and X-ray CT, and investigation of the formation mechanism of dry spherical particles using synchrotron radiation X-ray CT measurement with the aim of introducing it into the CM of pharmaceuticals, were performed.

A cell using a material that transmits the laser excitation wavelength of Raman spectroscopy and near-infrared light was developed. Each cell was connected in series with a chemical-resistant tube, and the tip of the tube that discharges from the PFR reaction field was attached to the inlet of the first cell. In addition, a separate sealed cell was developed to install the Raman spectrometer, considering the effects of stray light during measurements. Under static conditions, when the solvent was injected into the flow path, a clear spectrum originating from the solvent was obtained. Under dynamic conditions, when the solvent was flowing, bubbles of dissolved gas in the solvent accumulated inside the cell, causing problems that made it difficult to perform proper measurements. A cell with a mechanism to automatically expel air bubbles that have entered the cell was developed, and that problem was able to resolve. By implementing a cell with a mechanism to automatically expel air bubbles, it has been demonstrated that it is possible to achieve automatic measurement with minimal operator intervention. Regarding the development of a PAT system for the CSTR, a jig was developed for measuring with a terahertz spectrometer installed next to the CSTR device using the flow-through method. In preliminary studies, there were no problems with the liquid flow even when circulating at a maximum flow rate of 30 mL/min, and it was possible to measure the terahertz absorption coefficient and refractive index of the reaction solution. This enabled real-time analysis of the reaction solution in a CSTR CM system. In addition, as part of practical application research, neutralization reactions of organic and inorganic acids with bases were performed, and the changes in the terahertz absorption coefficient and refractive index were compared with the changes in pH, demonstrating the feasibility of reaction monitoring.

To advance PFR technology, a new, rapid and efficient synthesis method using unnatural tryptophan derivatives which are widely used in the development and research of peptide and protein drugs, by utilizing a continuous flow asymmetric alkylation reaction of chiral Gly-Ni complexes with gramin quaternary salts was developed. The conditions for obtaining disulfide bonds with LC purity of 99% or more were found by selectively activating hydrogen peroxide for lanreotide and sulfhydryl groups for etelcalcetide, making it possible to manufacture API. Although real-time monitoring of disulfide bond formation using Raman spectroscopy was successful in detecting low molecular weight compounds. A challenge which as clear spectra could not be obtained remains in detecting peptides with complex molecular structures. The applicability of flow vials, which enable real-time HPLC analysis during PFR, to gas-liquid reactions was examined by using the hydrogenation reduction of ethyl cinnamate as a model process, and the difference in performance (amount of hydrogen gas introduced and sampling accuracy) depending on whether a gas-liquid separator (degasser) was used was evaluated.

When a degasser was not used, sampling accuracy decreased when a large amount of hydrogen gas was present, but when a degasser was used, stable sampling was possible even when there was a large amount of residual hydrogen gas, and the RSD value was also significantly improved. From the above, the optimal conditions for using flow vials in gas-liquid reactions were clarified, and future improvement in analytical accuracy are expected. As part of a study into the scale-up of gas-liquid separation equipment, an evaluation system was constructed that combined a cylinder-type gas-liquid separation equipment with a vacuum degassing type gas-liquid separation equipment in order to efficiently remove hydrogen gas from the product in flow synthesis. The flow rate and amount of dissolved hydrogen gas for the three organic solvents, ethanol, acetone, and

toluene, increased in proportion to the solvent flow rate. Stable gas-liquid separation was possible up to 30 mL/min for ethanol, but limits were confirmed under the same conditions for acetone and toluene.

However, it was suggested that by adding a back pressure regulator (BPR) to control the back pressure, stable gas-liquid separation could be achieved even with these solvents, and degassing at a maximum of 40 mL/min was possible.

It was confirmed that this system can be applied to a scaled-up PFR while ensuring a safety margin by adjusting the flow rate so that the amount of dissolved hydrogen gas is 20 mL/min or less. It is expected to be efficiently applied as a separation method specializing in PAT.

In evaluating the physical properties of pharmaceuticals using terahertz spectroscopy and X-ray CT, the formation mechanism of dry spherical particles was evaluated using synchrotron X-ray CT measurement, a technology for preparing dry spherical particles in a short time and at low cost using chitin nanofiber (Chitin), which is biocompatible and highly hydrophilic, was evaluated, and the effect of the mixing ratio with the active pharmaceutical ingredient and processing conditions on particle shape and physical properties was evaluated using a dry coating method. Bromhexine hydrochloride (BH), acetaminophen (APAP), and diclofenac sodium (DCFS) were used as APIs, and the physical mixing ratio with chitin (BH:chitin = 100:1 to 100:10) was changed and processed by dry coating. Chitin was freeze-dried and sieved through a 32-mesh sieve to make the particle size uniform. The particles were evaluated using scanning electron microscopy (SEM), particle size distribution measurement (laser diffraction method), powder X-ray diffraction (PXRD), and structural analysis using synchrotron radiation X-ray CT. Dissolution tests were performed using the paddle method with acetic acid and sodium acetate buffer (pH 4.0). SEM observation showed that the dry coating method covered the drug substance with Chitin, changing it into a spherical or nearly spherical shape. The particle size distribution showed that the median particle size (d_{50}) decreased slightly with increasing amounts of Chitin added, and the proportion of fine particles around 20 μm increased, especially in the 100:10 blend. PXRD measurements showed that the BH after dry coating showed a type I crystal structure, and a crystal transition similar to that of the BH treated with a vibration mill was observed. By using synchrotron radiation X-ray CT, the contrast between the highly X-ray reactive BH and the less reactive Chitin made it possible to visually confirm the internal structure of the particles and the state of the coating. In the dissolution test, all masking particles conformed to the guidelines for bioequivalence testing of generic drugs and showed similar dissolution behavior to the drug substance. In particular, 100:1, 100:2, and 100:5 were dissolved at 85% or more within 10 minutes, and 100:3 and 100:10 also achieved similar dissolution rates within 15 minutes. This study demonstrated that dry processing using Nobiltamini enables efficient spheronization and coating of drug substance particles with Chitin. Analysis of the shape and internal structure using SEM and X-ray CT allowed visual confirmation of the mechanism of spherical particle formation and the coating effect. In addition, crystallinity evaluation using PXRD confirmed that a stable crystal structure was maintained even after processing, and dissolution tests showed results that fully satisfied the quality requirements for a pharmaceutical formulation. These results suggest that the dry spherical particle manufacturing method combining Chitin and Nobiltamini is a useful method for new formulation design.