

博 士 学 位 論 文

東 邦 大 学

東邦大学 学位論文

医薬品原薬の物性評価における
非破壊的評価法の確立

東邦大学薬学部

伊 藤 雅 隆

目次

| | |
|----------------------------------|----|
| 1. 序論 | 1 |
| 1.1 背景 | 1 |
| 1.2 固体医薬品の分類 | 4 |
| 1.2.1 塩結晶 | 6 |
| 1.2.2 共結晶 | 8 |
| 1.2.3 溶媒和物結晶 | 9 |
| 1.3 医薬品開発及び製造における PAT と分光法 | 11 |
| 1.3.1 テラヘルツ分光法 | 13 |
| 1.3.2 ラマン分光法 | 16 |
| 1.3.3 近赤外分光法 | 17 |
| 1.3.4 X線吸収端近傍構造スペクトル測定 | 18 |
| 1.4 医薬品の安定性 | 21 |
| 1.4.1 結晶多形と転移 | 22 |
| 2. 結晶構造に基づいた湿度に対する安定性の評価 | 24 |
| 2.1 背景 | 24 |
| 2.2 実験 | 26 |
| 2.2.1 試料 | 26 |
| 2.2.2 塩結晶の調製 | 27 |
| 2.2.3 動的水分吸脱着測定 | 29 |
| 2.2.4 単結晶 X線回折測定 | 30 |
| 2.2.5 結晶形態および吸着のシミュレーション | 31 |
| 2.3 結果および考察 | 32 |
| 2.3.1 塩結晶の調製 | 32 |
| 2.3.2 動的水分吸脱着測定 | 34 |
| 2.3.3 単結晶 X線回折測定 | 36 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.3.4 | 結晶形態および吸着のシミュレーション | 40 |
| 2.4 | 小括 | 47 |
| 3. | 中分子医薬品の結晶転移挙動 | 48 |
| 3.1 | 背景 | 48 |
| 3.2 | 実験 | 51 |
| 3.2.1 | 試料 | 51 |
| 3.2.2 | 結晶の調製 | 52 |
| 3.2.3 | 粉末 X 線回折測定 | 53 |
| 3.2.4 | 単結晶 X 線回折測定 | 54 |
| 3.2.5 | 動的水分吸脱着測定 | 56 |
| 3.2.6 | 熱測定 | 57 |
| 3.2.7 | Kissinger-Akahira-Sunose 法による活性化エネルギーの算出 | 58 |
| 3.3 | 結果および考察 | 60 |
| 3.3.1 | 単結晶 X 線回折測定 | 60 |
| 3.3.2 | 熱測定と活性化エネルギー | 62 |
| 3.3.3 | 動的水分吸脱着測定 | 66 |
| 3.3.4 | Form IV および Form VII の物性評価 | 70 |
| 3.4 | 小括 | 74 |
| 4. | テラヘルツ分光法を利用した中分子医薬品からの脱溶媒の検出 | 75 |
| 4.1 | 背景 | 75 |
| 4.2 | 実験 | 77 |
| 4.2.1 | 試料 | 77 |
| 4.2.2 | 単結晶 X 線回折測定 | 79 |
| 4.2.3 | 熱分析 | 80 |
| 4.2.4 | 粉末 X 線回折測定、X 線回折-示差熱量測定 | 81 |
| 4.2.5 | テラヘルツ分光測定 | 82 |

| | | |
|-------|-----------------------------------|-----|
| 4.2.6 | 動的水分吸脱着測定と加湿下における安定性評価 | 83 |
| 4.3 | 結果及び考察 | 84 |
| 4.3.1 | 単結晶 X 線回折測定 | 84 |
| 4.3.2 | 熱分析..... | 90 |
| 4.3.3 | 粉末 X 線回折測定、X 線回折-示差熱量測定 | 95 |
| 4.3.4 | テラヘルツ分光測定..... | 97 |
| 4.3.5 | 動的水分吸脱着測定と加湿下における安定性評価 | 102 |
| 4.4 | 小括..... | 108 |
| 5. | XANES を利用した結晶形の同定と転移現象の考察 I..... | 109 |
| 5.1 | 背景..... | 109 |
| 5.2 | 実験..... | 111 |
| 5.2.1 | 試料..... | 111 |
| 5.2.2 | 結晶の調製..... | 113 |
| 5.2.3 | Cl-K XANES 測定 | 114 |
| 5.2.4 | 単結晶および粉末 X 線回折測定..... | 115 |
| 5.3 | 結果および考察..... | 116 |
| 5.3.1 | 単結晶および粉末 X 線回折測定..... | 116 |
| 5.3.2 | Cl-K XANES 測定 | 120 |
| 6. | XANES を利用した結晶形の同定と転移現象の考察 II..... | 132 |
| 6.1 | 背景..... | 132 |
| 6.2 | 実験..... | 134 |
| 6.2.1 | 試料..... | 134 |
| 6.2.2 | CAM-HCl A 型および B 型結晶の調製..... | 136 |
| 6.2.3 | 粉末 X 線回折測定..... | 137 |
| 6.2.4 | Cl-K XANES 測定 | 141 |
| 6.3 | 結果および考察..... | 142 |

| | | |
|-------|---------------------|-----|
| 6.3.1 | Cl-K XANES 測定 | 142 |
| 6.4 | 小括..... | 148 |
| 7. | 総括 | 149 |
| 8. | 引用文献..... | 150 |
| 9. | 謝辞 | 158 |

略語表

| | | |
|--------------------|---|-------------------------|
| API | Active pharmaceutical ingredient | 医薬品有効成分 |
| CAM | Clarithromycin | クラリスロマイシン |
| CAM-HCl | Clarithromycin hydrochloride | クラリスロマイシン塩酸塩 |
| DMF | <i>N, N</i> -Dimethylformamide | <i>N, N</i> -ジメチルホルムアミド |
| DSC | Differential scanning calorimetry | 示差走査熱量測定 |
| DVS | Dynamic vapor sorption | 動的水分吸脱着測定 |
| EtOH | Ethanol | エタノール |
| EXAFS | Extended X-ray fine structure | 広域 X 線吸収微細構造 |
| IND | Indinavir | インジナビル |
| IND-Sul-EtOH | Indinavir sulfate ethanolate | インジナビル硫酸塩 エタノール溶媒和物 |
| IR | Infrared spectroscopy | 赤外スペクトル分光法 |
| NIR | Near-infrared spectroscopy | 近赤外スペクトル分光法 |
| MOSA | Mosapride | モサプリド |
| MOSA-Cit-2hyd | Mosapride citrate dihydrate | モサプリドクエン酸 2 水和物 |
| MOSA-Cit- Anhyd | Mosapride citrate anhydrate | モサプリドクエン酸無水物 |
| MOSA-Cit-Bu | Mosapride citrate 1-butanolate | モサプリドクエン酸ブタノール 溶媒和物 |
| MOSA-PG | Mosapride propylene glycolate | モサプリド プロピレングリコール溶媒和物 |
| PAT | Process analytical technology | プロセス解析工学 |
| PXRD | Powder X-ray diffraction | 粉末 X 線回折測定 |
| RH | Relative humidity | 相対湿度 |
| RTRT | Real time release test | リアルタイムリリース試験 |
| SC-XRD | Single crystal X-ray diffraction | 単結晶 X 線構造解析 |
| TG-DTA | Thermogravimetry-differential thermal analysis | 熱重量-示差熱測定 |
| THz-TDS | Terahertz Time-domain Spectroscopy | テラヘルツ時間領域分光法 |
| VAL | Valproic acid | バルプロ酸 |

| | | |
|---------|---|---------------|
| VAL-Arg | L-Arginine valproate | バルプロ酸アルギニン塩 |
| VAL-Lys | L-Lysine valproate | バルプロ酸リシン塩 |
| VAL-Na | Sodium valproate | バルプロ酸ナトリウム塩 |
| XAFS | X-ray absorption fine structure | X線吸収微細構造 |
| XANES | X-ray absorption near edge structure | X線吸収端近傍構造 |
| XAS | X-ray absorption spectroscopy | X線吸収分光法 |
| XRD-DSC | X-ray diffraction- differential scanning calorimetry | X線回折-示差走査熱量測定 |

図表

- Fig. 1-1 固体 API の分類
- Fig. 1-2 テラヘルツ時間領域分光法の原理
- Fig. 1-3 XANES の吸光度-エネルギープロット
- Fig. 2-1 VAL 及び塩基の化学構造
- Fig. 2-2 VAL 塩の PXRD 測定
- Fig. 2-3 VAL-Arg、VAL-Lys、VAL-Na の DVS 測定
- Fig. 2-4 VAL-Arg の結晶構造
- Fig. 2-5 VAL-Arg の水素結合様式
- Fig. 2-6 結晶形態予測と実際の結晶形態
- Fig. 2-7 各結晶面における吸着サイト数と吸着エネルギーの範囲
- Fig. 2-8 各結晶における吸着サイトと吸着エネルギーのプロット
- Fig. 3-1 CAM の化学構造
- Fig. 3-2 単位格子中における Void A 及び Void B
- Fig. 3-3 (a) Form I の TG-DTA 測定、(b) Form I の熱重量測定結果
- Fig. 3-4 (a) 昇温速度 4、8、12、16°C/min における重量変化 (b) Kissinger-Akahira-Sunose 法によるプロット
- Fig. 3-5 CAM Form I のキャラクタライゼーション
- Fig. 3-6 (a) Form IV の TG-DTA 測定結果 (b) 各 PXRD の結果 (i) 新規結晶形と思われる Form VII (ii) Form IV (iii) Form I (iv) Form II
- Fig. 3-7 Form VII の(a) DVS 測定結果 (b) PXRD 測定結果
- Fig. 3-8 CAM の多形転移条件
- Fig. 4-1 IND-Sul-EtOH の化学構造
- Fig. 4-2 IND-Sul-EtOH の結晶構造における特徴
- Fig. 4-3 IND-Sul-EtOH の Void
- Fig. 4-4 IND-Sul-EtOH の乱れと立体障害
- Fig. 4-5 IND-Sul-EtOH の TG-DTA 測定結果
- Fig. 4-6 IND-Sul-EtOH の DSC 昇温測定時における試料の様子
- Fig. 4-7 IND-Sul-EtOH の 30°C における等温重量測定
- Fig. 4-8 IND-Sul-EtOH の PXRD-DSC 測定
- Fig. 4-9 IND-Sul-EtOH のテラヘルツスペクトル

- Fig. 4-10 D-マンニトールのテラヘルツスペクトル
- Fig. 4-11 吸光度と重量変化の比較
- Fig. 4-12 IND-Sul-EtOH の DVS 測定
- Fig. 4-13 IND-Sul-1EtOH の PXRD 測定
- Fig. 4-14 IND-Sul-EtOH の転移関係図
- Fig. 5-1 MOSA-Cit-2hyd の化学構造
- Fig. 5-2 各 MOSA 結晶の PXRD 測定結果
- Fig. 5-3 各 MOSA 結晶の Cl-XANES 測定結果
- Fig. 5-4 各 MOSA 結晶構造の重ね合わせ
- Fig. 5-5 各 MOSA 結晶構造における Cl 原子の近接原子
- Fig. 5-6 各 MOSA 結晶の水素結合角の比較
- Fig. 6-1 Cl を含む API の構造式
- Fig. 6-2 各塩酸塩の Cl-K XANES 測定結果と解析
- Fig. 6-3 各塩酸塩の結晶構造における Cl 原子周辺の状況
- Fig. 6-4 CAM 塩酸塩、塩酸水溶液、アモキサピンの Cl-K XANES 測定結果
-
- Table 2-1 VAL-Arg の単結晶 X 線回折測定の詳細
- Table 2-2 VAL 塩の結晶面が占める割合
- Table 3-1 CAM の結晶多形、溶媒和物、塩
- Table 3-2 Form I の単結晶 X 線回折測定の詳細
- Table 4-1 IND-Sul-EtOH の単結晶回折測定の詳細
- Table 5-1 各 MOSA 結晶の構造学的パラメータ
- Table 5-2 各 MOSA 結晶構造における Cl 原子と近傍原子の距離
- Table 5-3 アミノ基 (H1-N1-H2) における水素結合距離および結合のなす角と Cl 原子と N1 原子または H2 原子の距離
- Table 6-1 Cl-K XANES (2823–2860 eV) における各塩酸塩の決定係数

対象論文

1. Ito M, Nambu K, Sakon A, Uekusa H, Yonemochi E, Noguchi S, Terada K. Mechanisms for improved hygroscopicity of L-arginine valproate revealed by X-ray single crystal structure analysis. *J Pharm Sci.* 2017; 106(3): 859–65.
2. Ito M, Shiba R, Watanabe M, Iwao Y, Itai S, Noguchi S. Phase transitions of antibiotic clarithromycin forms I, IV and new form VII crystals. *Int J Pharm.* 2018; 547: 258–264
3. Ito M, Tokuda R, Suzuki H, Sakamoto T, Terada K, Noguchi S. Desolvation behavior of indinavir sulfate ethanol and follow-up by terahertz spectroscopy. *Int J Pharm.* 2019; 567: 118446
4. Ito M, Shiba R, Suzuki H, Noguchi S. Chlorine K-Edge X-ray absorption near-edge structure analysis of clarithromycin hydrochloride metastable crystal. *J Pharm Sci.* 2020; 109: 2095–2099
5. Ito M, Suzuki H, Noguchi S. Chlorine K-Edge X-ray absorption near-edge structure discrimination of crystalline solvates and salts in organic molecules. *Cryst Growth Des.* 2020; 20: 4892–4897

1. 序論

1.1 背景

医薬品の品質管理において医薬品原薬 (Active pharmaceutical ingredient: API) の物性を理解することは、製品品質を安定させ供給体制を確立する上で重要である。特に API が高温または多湿環境下に置かれた場合、結晶転移、脱溶媒、吸湿、潮解等の物性変化を起こす可能性があり、それらは溶解性の変化、凝集形成による含量均一性の悪化、分解物の増加、バイオアベイラビリティへの影響が懸念される。これらの物性変化を抑制し API の品質を安定化させる事は海外に医薬品を輸出する場合や海外の生産拠点で医薬品を製造する際、特に重要である。

近年、医薬品開発は低分子創薬から中分子創薬へターゲットを変えつつある^(1,2)。中分子とは分子量 500 から 2000 程度の分子であり、その製剤化に際し中分子の物性研究は関心を集めている。分子量の大きい分子は回転可能な sp^3 結合を多く含むため、多くの結晶多形が出現し、その転移挙動はより複雑になる可能性がある。また、同様に加湿環境における水和物への転移も複雑化する恐れがある。多様な結晶多形を示す場合、その同定および判別は困難になる可能性もある。そのため、従来の手法だけでなく新たな評価法を開発し、これまで

の手法と組み合わせることで同定や判別をより容易にする必要がある。一般に物性研究が実施されるのは試料量が制限されている段階なので、可能な限り非破壊的な方法で使用量も少ないことが望ましい。

工程管理技術の一つにプロセス解析工学 (Process analytical technology: PAT) があげられる⁽³⁾。PAT はリアルタイムに工程データを計測し工程を管理するシステムであり、その中にはクリティカルな測定データをモニターし、管理することにより恒常的な品質保証を実現するツールが含まれる。PAT は各種分光法が汎用されるが、テラヘルツ分光法は結晶の格子振動や分子間相互作用を反映するので他の方法では検出しにくい現象を測定できる可能性がある。

また、これまでの品質管理試験から一步進んだ新しい概念にリアルタイムリリース試験 (Real Time Release Test: RTRT) があり、通常の出荷試験に代わり RTRT を採用可能な場合がある。PAT は RTRT を実施する上で非常に強力なツールとなる。RTRT は API の結晶転移、脱溶媒等の物性変化や流動性や吸湿性等の粉体物性を予め把握した上で PAT 等により製造工程内のデータを収集し、その中から製品品質に影響を及ぼすクリティカルな測定データを用いて出荷判定を下す試験方法である。RTRT を採用できれば迅速な出荷が可能になり、医薬品の需要が高まった場合でも柔軟に対応可能となる。

分子間に水分子や溶媒分子が容易に侵入する結晶は、分子間の空隙が大きく

なる分子量が大きい医薬品であるほど出現する可能性が高いと考えられる。一般的に水分子を多く含む結晶であるほど溶出速度が遅くなることが知られており、今後、医薬品分子が高分子化するほど非破壊的な方法で API と水分子をモニタリングする必要性は高まると予想できる。

本研究の目的は API の結晶構造に注目し、非破壊的な新規評価技術を確立することである。第 2 章では結晶構造を基に水分子の吸着シミュレーションを行い、湿度に対する安定性予測が可能かどうか検討した。第 3 章は固体の中分子 API における水和や脱水がどのように進行するのか、結晶構造と熱分析により明らかにし、結晶構造の特徴から水和や脱水が発生するリスクがあるか推測可能か検討した。第 4 章は第 3 章と同様に固体の中分子 API の中から溶媒和物をモデル API として選択した。結晶構造変化をほとんど伴わない脱溶媒現象をテラヘルツ分光法により調べ、非破壊的な評価が可能か検討した。第 5 章および第 6 章は X 線吸収端近傍構造 (X-ray absorption near edge structure: XANES) スペクトル測定を初めて API に適用し、結晶形判別と分子状態評価を非破壊的に実施し、スペクトルの違いを結晶構造から考察した。

1.2 固体医薬品の分類

APIの固体状態に関する研究は開発候補化合物の物理化学的特性を把握し、適切な製剤設計及び処方設計へと開発を進めていく上で非常に重要である。固体状態が異なるとAPIの溶解性、安定性、粉体特性、バイオアベイラビリティが異なる。従って、医薬品として有効で安全かつ安定供給可能な形態を決定する必要がある。

固体のAPIはまず結晶と非晶質に分類可能である。結晶は薬物分子が3次元に規則正しく整列しているが、非晶質は規則的な構造を持たず乱雑に薬物分子が存在している。結晶の医薬品は単独成分であるフリー体結晶と多成分結晶に分類可能であり、多成分結晶はさらに塩結晶、共結晶、溶媒和物結晶に分けられる⁽⁴⁾(Fig. 1-1)。それらは重複する場合もあり、例えば塩結晶かつ溶媒和物である結晶も存在する。

医薬品開発において、結晶は非晶質よりも比較的安定で分解が起こりにくい等の利点があるため好まれる傾向にある。同じ理由から溶媒和物結晶も容易に脱溶媒を起こしてしまう懸念があり、避けられる場合がある。

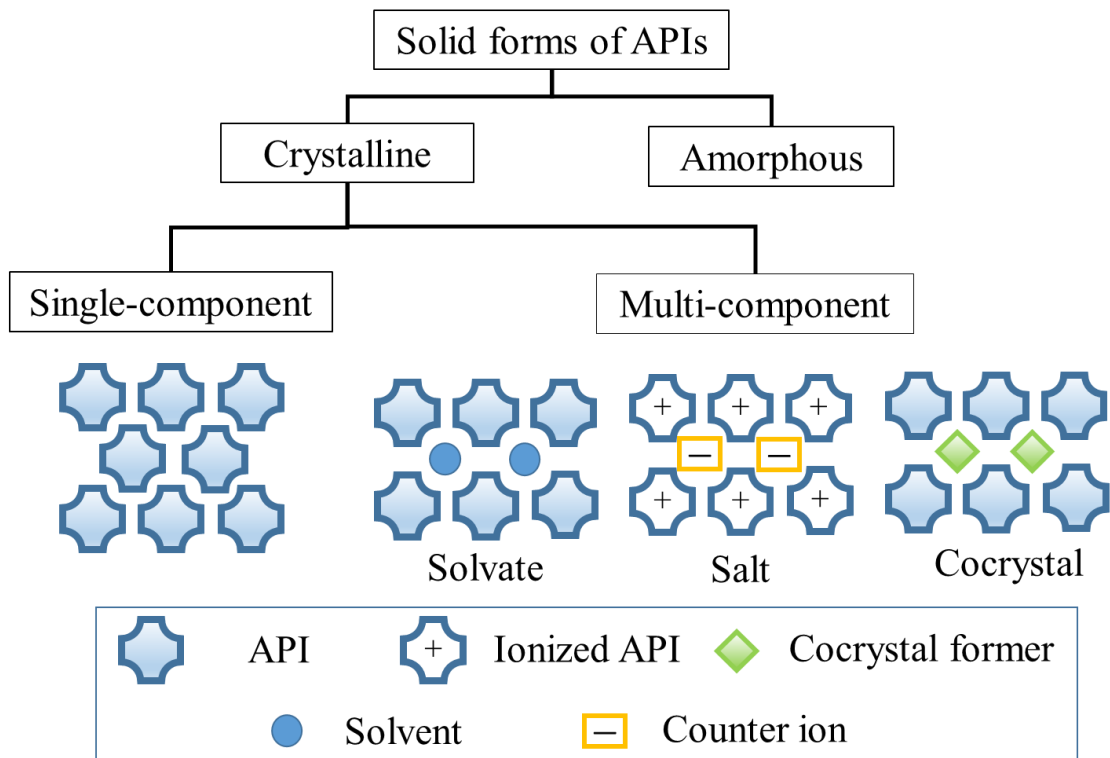


Fig. 1-1 固体 API の分類

1.2.1 塩結晶

難水溶性の改善方法として代表的なものは、プロドラック化、API 形態の最適化、製剤学的手法の 3 種がある。プロドラック化は難溶性の薬物に対して親水性の官能基を導入し、水溶性を向上させる⁽⁵⁾。API 形態の最適化は API 形態の決定と同時に行われ、塩結晶化や共結晶化といった多成分結晶化⁽⁶⁾やシクロデキストリンによる複合体化を検討する。製剤学的手法は固体分散体化⁽⁷⁾、ナノ粒子化^(8,9)などが考えられる。これらの中で最も採用されている手法が塩結晶化である。

塩結晶は古くから API の物性改善に用いられてきた手法であり、現在、数多くの API が塩結晶として上市されている。塩結晶とは塩基性 API を鉱酸や有機酸等の塩に、酸性 API を無機塩等に変換したものであり、API とカウンターイオンが化学量論的にイオン結合した化合物である。分子内の解離基が解離してプロトンの移動が起き、静電的相互作用により結晶を形成している様子が単結晶構造解析により確認できる。医薬品開発において API の塩結晶を調製する目的は溶解性改善、揮発性の低下、油状 API の固体化などである。しかしながら、分子内に解離基を持たない API は本技術を適用できない欠点がある。

FDA が発行するオレンジブックデータベースを基に 2006 年までに承認された 1356 化合物のカウンターイオンの利用頻度について調査した報告がある⁽¹⁰⁾。

全化合物のうち塩結晶として承認されたものは 697 化合物であり、ほぼ半数が塩結晶として承認されていることが明らかとなった。カウンターイオン種別の分析において陰イオン性カウンターイオンでは塩酸塩が 53.4%、硫酸塩 7.5%、臭化水素酸塩 4.6%、メシル酸塩とマレイン酸塩が共に 4.2%であった。陽イオン性カウンターイオンではナトリウム塩が 75.3%、次いでカルシウム塩 6.9%、カリウム塩 6.3%であった。剤形により必要とされる溶解度が異なっており、注射剤の方が固形剤よりも塩結晶を API として採用する傾向にあった。陰イオンでは塩酸塩、陽イオンではナトリウム塩が大半を占めていた。これらは毒性の心配がほとんどなく、調製も比較的容易であることから多くの API に採用されたと考えられる。

1.2.2 共結晶

共結晶は API の物性改善手法として 2000 年代以降、注目されている方法である。共結晶とは結晶性の固体であり、一般的に複数の固体成分を化学量論的に含む多成分結晶で、塩または溶媒和物でないものである⁽¹¹⁾。多成分結晶を形成する点においては塩結晶と同様であるが、共結晶は解離基が存在しない化合物に対しても適用可能である。これまで溶解性や吸湿性⁽¹²⁾、物理的安定性の改善⁽¹³⁾などが報告されている。

API の共結晶化に関する報告の例を挙げるとアスピリン⁽¹⁴⁾、イブプロフェン⁽¹⁴⁾、トリメトプリム⁽¹⁵⁾、イトラコナゾール⁽¹⁶⁾などがある。今日では共結晶を API として採用した医薬品が世界的に上市されている。例えば、エルツグリフロジン L-ピログルタミン酸製剤 (Steglatro[®])、リン酸 ソニデギブ製剤 (Odomzo[®]) がある。本邦においては共結晶の API を利用したイブラグリフロジン L-プロリン製剤 (Suglat[®])、バルサルタン サクビトリル Na 製剤 (Entresto[®]) が上市されている。近年では高分子のポリエチレングリコールと API の共結晶が報告されており⁽¹⁷⁾、今後も様々な展開が期待される。

1.2.3 溶媒和物結晶

溶媒和物結晶とは多成分結晶のうち、溶媒分子を結晶構造中に含有する固体である。APIによくある水和物結晶は溶媒和物結晶に含まれる。近年では水和物以外の溶媒を含有する API もいくつか上市されている。例えばダルナビル エタノール溶媒和物製剤 (Prezista[®])、カバジタキセル アセトン溶媒和物製剤 (Jevtana[®])、ホスラブコナゾール L-リシン エタノール溶媒和物 (Nailin[®]) などが存在する。溶媒和物の特徴は温度や湿度の影響により容易に溶媒分子が脱離 (または水和) することである。このような溶媒の出入りは広義の結晶転移と捉えられ、疑似多形転移と呼ばれることもあり、溶媒の有無が溶出速度等の物性に影響することが報告されている⁽¹⁸⁾。そのため、医薬品開発や製造において、溶媒和物は疑似多形転移の懸念から十分に管理される必要がある。

一方、溶媒和物結晶は医薬品中間体として有用であり、始めに溶媒和物結晶を調製した後、脱溶媒させることで新しい結晶多形を探索する、または特定の結晶多形を調製する方法が考案されている⁽¹⁹⁾。有機化合物の中には多種多様な溶媒分子と溶媒和物結晶を形成するケースも報告されており、そのような化合物は Promiscuous solvate former と呼ばれている⁽²⁰⁾。API でも報告されているものがあり、例えばアキシチニブ⁽²¹⁾、オランザピン⁽²²⁾、プラシルカスト⁽²³⁾等がある。

また、溶媒和物結晶は非化学量論的に溶媒分子を含む場合がある。このような結晶はクラスレートなどと呼ばれることがある。これらは比較的自由に溶媒分子が出入り可能であり、溶媒分子の熱振動が大きいいため結晶構造に対する溶媒分子の寄与が小さく、粉末 X 線回折測定 (Powder X-ray diffraction: PXRD) では溶媒の有無を判定できない場合がある。そのような場合は分光学的な手法か熱分析を用いて判定することになる。

1.3 医薬品開発及び製造における PAT と分光法

PAT は最終製品の品質保証を目標として、原材料や中間製品の重要な品質や性能及び工程を製造中に測定することにより、製造の設計、管理、解析を行うシステムのことである⁽²⁴⁾。これまでの製造方法では中間製品をロット或いはバッチごとにサンプリングし、各種物性（溶出性、含量、含量均一性、水分量、硬度、類縁物質等）を評価していた。しかし、PAT においてはそれら製品の性質や品質は製造プロセス中において決定づけられるものと解釈され、製造中の関連する重要なパラメータをリアルタイムに測定することで管理し、製品品質を保証することが求められている。例えば、予め造粒粒子の粒子径と溶出性の関係を明らかにしておき、実生産時は造粒中の粒子径をレーザー回折法でリアルタイムモニタリングすることで溶出性が規格内に収まるよう制御するなどの試みがなされている。固形製剤中の API 物性を非破壊的に定性及び定量する方法としてはラマン分光法、テラヘルツ分光法、赤外分光法（Infrared spectroscopy: IR）、近赤外スペクトル分光法（Near-infrared spectroscopy: NIR）及び固体 NMR 法などを用いた手法が報告されている⁽²⁵⁾。

TRT はこれまでの品質検査試験に替わる新しい概念である。通常であれば最終製品を品質規格に適合するかどうかを試験し、その結果から出荷判定を下

す。しかし、RTRTではPATをはじめとする技術を用いて製造工程の中間製品のデータを取得し、そのデータに基づいて最終製品の品質を保証可能とする。その際には予め様々な中間製品のデータを取得し工程管理上の許容幅を求めておく必要がある。RTRTのメリットは1. 迅速な出荷、2. 試験コストの大幅な削減、3. 製造拠点及び輸出入国双方のコスト削減、4. 製造量が多いほどスケールメリットが増加することなどが挙げられる。一方、デメリットはPAT手法等の開発にコスト・リソースが必要であることが挙げられる。

1.3.1 テラヘルツ分光法

テラヘルツ分光法は 0.1–10.0 THz の周波数領域の電磁波であるテラヘルツ波を利用した測定法である。テラヘルツ波の発生と検出はこれまで困難であったが、超短パルスレーザーの安定化と入手容易性の向上によりテラヘルツ時間領域分光法⁽²⁶⁾ (Terahertz time-domain spectroscopy: THz-TDS) が実現可能となった。超短パルスレーザーとはフェムト秒オーダーの非常に短い間だけレーザー発光が得られる装置である。このレーザー光を光伝導アンテナと呼ばれる半導体素子に照射することでアンテナからテラヘルツ波が発生する。発生したテラヘルツ波は試料部を通過した後、受信アンテナに到達すると時間応答が記録され、フーリエ変換されてスペクトルを得る (Fig. 1-2)。

テラヘルツの主要な用途は吸収スペクトルを用いた分光分析である。テラヘルツ領域では分子振動や分子間フォノン振動のような結晶中の分子振動を捉えるため、有機結晶の結晶多形を判別するのに有用である。試料の吸光度スペクトルを解析することにより、定性的および定量的評価が可能である。

初めにテラヘルツ分光法によって API の結晶多形を検出したのは塩酸ラニチジンであり、2つの結晶多形を検出し同定した⁽²⁷⁾。また、IR や NIR で検出不能であった結晶多形を判別した報告⁽²⁸⁾もあり、他の分光法と同様またはそれ以上

に活用できる可能性が示された。結晶多形だけでなく水和物の違いもテラヘルツスペクトルから検出されており乳糖の3つの異なる水和物の判別に成功した例も報告されている⁽²⁹⁾。

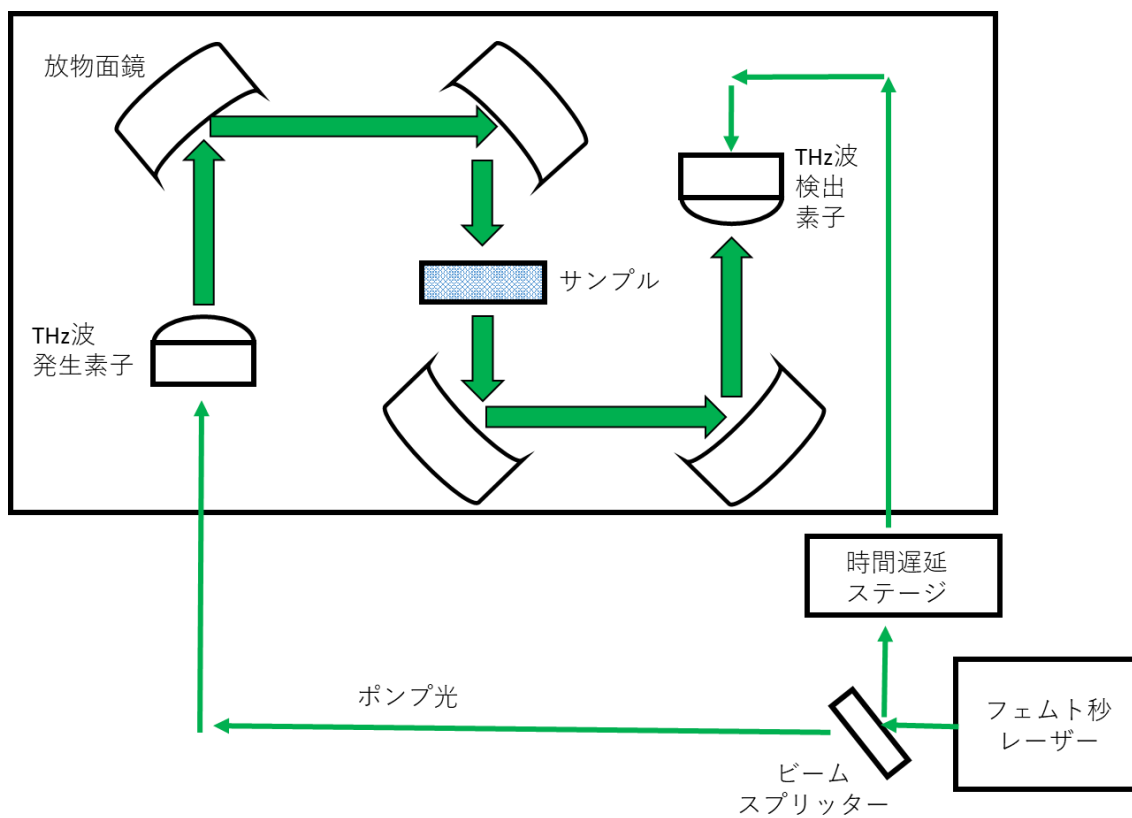


Fig. 1-2 テラヘルツ時間領域分光法の原理

1.3.2 ラマン分光法

近年注目を集めている分光法の一つがラマン分光法である。ラマン分光法は非破壊測定が可能であり、簡単に分子振動スペクトルを得られるので製薬分野で注目されている技術である。特にプローブを用いた迅速測定により原料受け入れ時の検査などの品質管理業務の簡素化または効率化に寄与し、手軽に試料の定性・定量的分析を行えるのではないかと期待されている。その他に NIR と同じく、医薬品の製造工程リアルタイムモニタリング等の製造管理における応用研究⁽³⁰⁾が進んでいる。

ラマン分光法は試料表面にレーザー光の焦点を合わせて、効率よく後方散乱光を得る分光法であり、その点が赤外分光法やテラヘルツ分光法などの吸収スペクトル測定法との大きな違いである。ラマン分光法は試料を非破壊で測定できる手軽さはあるが、適切なスペクトルを得ようとするに関連する知識と経験に基づく技術が必要となる。そのため、テラヘルツ分光法や NIR などの吸収スペクトル測定の方が煩雑な操作は必要であるが、比較的簡単に測定を行う事が可能である。

1.3.3 近赤外分光法

NIR 分光法は、第 15 改正日本薬局方第二追補から参考情報として収載されるようになり、製薬企業に認知され始めた測定法である。NIR は固体試料を迅速、非破壊的に測定できるほか、光ファイバースプロブを接続することで分光機本体から離れた場所で測定を実施可能である。品質管理や製造管理においては生産ライン等にプロブを設置すればすぐに測定できるため、比較的低いコストで導入可能である。そのため、PAT のツールとして様々な応用研究が進められている^(31, 32)。

NIR は波長がおおよそ 800–2500 nm の電磁波であり、赤外領域に位置している。NIR はこの領域における光の吸収および発光に基づく分光法である。測定試料が固体の場合は粒子径、密度などの物理的情報も含んだスペクトルが得られる⁽³³⁾。NIR スペクトルは周囲の分子環境によっても複雑化し、帰属を始めとする解析が困難になる事が多い。このような NIR の特性から NIR のスペクトル解析においては多変量解析や二次元相関分光法のような情報を引き出す手法が検討されている。NIR はスペクトルの複雑化により取り扱いが難しい反面、微細な変化を鋭敏に捉えることが可能であることから、振動分光・分子材料分野において有用な分析法のひとつである。

1.3.4 X線吸収端近傍構造スペクトル測定

XANES スペクトル測定は特定の原子種の情報を得られる測定法である。軟 X 線または硬 X 線を試料に照射すると K 殻や L 殻等の電子が励起され空軌道へ遷移する。この時に放出される電子を検出し吸光度を得る方法である。この電子そのもの、もしくはこの電子が誘起する二次電子を測定するのが電子収量法という測定法である。また、この時に電子とともに放出される蛍光 X 線を測定し、X 線吸収微細構造 (X-ray absorption fine structure: XAFS) スペクトルを得るのが蛍光収量法である。両者は原理的にほぼ同じであるが、電子と蛍光 X 線の脱出深度に違いがある。電子収量法は脱出深度が小さいため表面の状態を捉えることができ、蛍光収量法は脱出深度が μm オーダーなので試料濃度が薄く、試料自体が分厚い場合により適している。横軸にエネルギー、縦軸に吸光度をプロットすると Fig. 1-3 のようになる。吸収が急激に増大する部分が吸収端と呼ばれるスペクトル構造であり、電子殻のエネルギー状態を反映している。XANES には 1. 試料の状態に関係なく測定可能、2. 前処理不要の非破壊分析、3. 元素選択的な情報が得られるといった特徴がある。

XANES はこれまで環境、材料、地学、宇宙科学などに利用されてきた⁽³⁴⁾。

近年の研究では固体金属がプラズマへ相転移する様子を評価したものが報告さ

れている⁽³⁵⁾。他にも有機化合物であるポリチオフェンを測定した例があり、炭素原子の K 殻及び硫黄原子の L 殻電子を対象とし、原子の周辺環境を評価したものがある⁽³⁶⁾。しかしながら、医薬品への応用は未だに検討されていない。本研究では結晶形の判別を行う目的で XANES を用いて検討を行った。

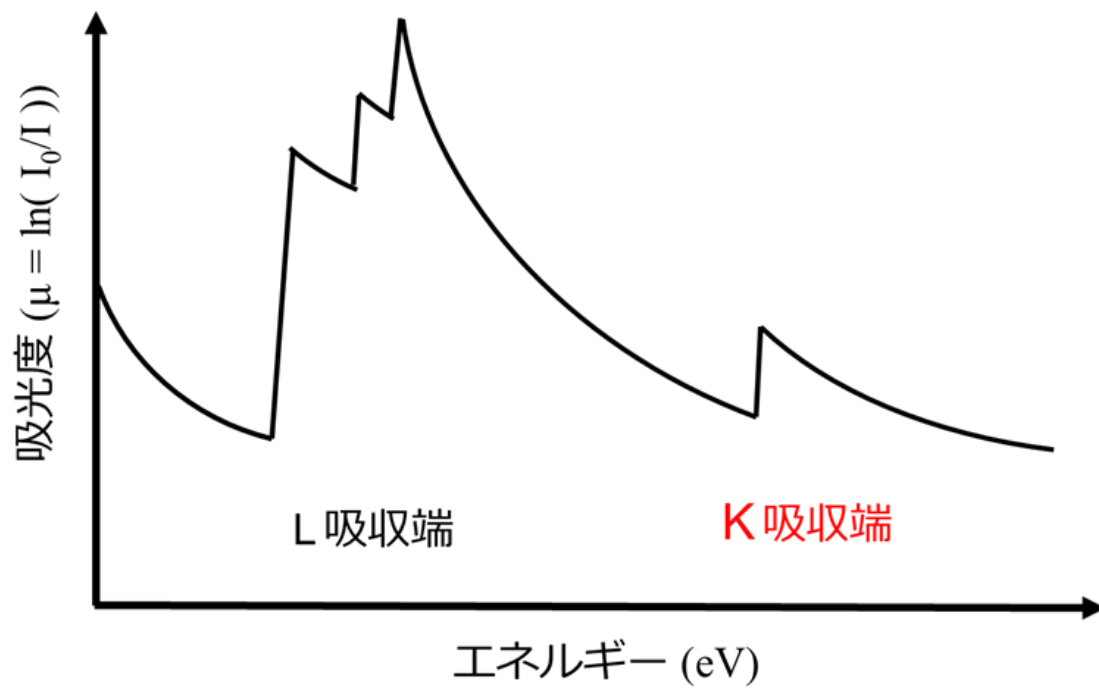


Fig. 1-3 XANES の吸光度-エネルギープロット

1.4 医薬品の安定性

医薬品開発においては API 及び製剤の安定供給が求められる。そのためには研究開発段階で現実的な製造方法の確立、原料サプライヤーの複数化、安定性のリスク評価と対策を行う必要がある。特に API における安定性のリスクは様々であり、例えば多湿環境下における加水分解⁽³⁷⁾、曝光による分解⁽³⁸⁾などがあげられる。API の化学構造に変化がない場合であっても、温度変化や多湿環境下において結晶形転移⁽³⁹⁾や水和物転移⁽³⁸⁾を起こす場合があると報告されている。結晶形転移や水和物転移は API の溶出速度を変化させる場合があり、バイオアベイラビリティに影響を及ぼす可能性がある。そのため、分解や転移のメカニズムを明らかにした上で適切な品質管理が必要となる。

1.4.1 結晶多形と転移

有機結晶の多形転移現象は医薬品分野に限らず古くから報告されており、よく知られた現象である。API も有機結晶であることから現在まで多くの結晶多形及び転移現象が報告されている。特に 1990 年代から 2000 年代は API に対して単結晶構造解析が盛んに行われるようになり、この多形転移現象を分子レベルで理解しようと試みた研究が多く報告された^(22,39-41)。API の結晶多形は溶解性に差がある場合がある。ただし、常に大きな影響を与えるとは限らず、平衡溶解度は 1 倍から数倍程度の差しかない⁽⁴²⁾場合も多いが、濡れ性の違いの影響を受けて溶解速度に差が出る場合もある。最終製品の溶出試験においては、一般的に「X 分以内に Y% の溶出率以上を示す」という形で規定されている事が多く、溶出速度の低下はこれに適合しなくなるリスクがある。

医薬品の保管や製造の際には結晶転移のリスクを考慮する必要がある。製造工程においては造粒やコーティングの工程で API は水やエタノールに曝される場合があり、乾燥工程においては高温の空気によって溶媒和または脱溶媒もしくは転移が起こる可能性がある。また、保管の際に高温多湿な環境に医薬品が置かれた場合、水和物やより安定な結晶多形に転移する可能性がある。

また、医薬品が販売されてから開発段階では全く知られていなかった新しい結晶多形が出現した事例がある。リトナビルは抗 HIV 薬として用いられ、WHO 必須医薬品モデルリスト⁽⁴³⁾にも収載されている治療上重要な医薬品である。リトナビルは I 型結晶を用いて製造販売されていたが、1998 年に溶出性の低く安定な結晶形 (II 型) が出現し、各製造サイトでは I 型結晶の製造が困難になった⁽⁴⁴⁾。II 型結晶では溶出性試験が不適となるためリトナビルの経口カプセル剤は回収されることとなった。これ以降、I 型結晶は晶析によって得られることはなく、常に II 型結晶が析出した。このような現象は Disappearing Polymorphs⁽⁴⁵⁾と呼ばれ以前から知られていたが、医薬品の供給において問題となったケースは初めてであった。

2. 結晶構造に基づいた湿度に対する安定性の評価

2.1 背景

医薬品開発において湿度管理は重要である。API は加湿環境下で大気中の水分子と接触して加水分解や、水和物への転移、水分子を吸着して凝集する、または潮解することがある。このような現象は API の含量低下、溶出性の変化、含量均一性の悪化、製造困難といった問題に繋がる。潮解が起こる過程は粉体に水分子が吸着し、一定以上の吸着が起こると粒子内部まで水が浸透し、潮解あるいは吸収が起こる。また、薬物によっては吸着の後に水和物へ転移する可能性もある。吸着と潮解はどちらも医薬品製造に悪影響を与え得るし、錠剤等の最終製品に加工されてからは湿度に対する保存安定性の懸念が生じる。そのため、医薬品開発段階の初期から湿度に対する安定性を把握することが重要となる。しかし、初期段階において使用可能な API の量は限られているため、ごく少量の使用で安定性を予測する技術が必要である。

そこで本研究は API の結晶構造を基に水分子との相互作用をシミュレーションし、実測データと比較した。結晶構造はごく微量の API からでもデータを得られる場合があり、それを基に安定性を予測できれば大変有用である。吸湿性および潮解性の API で抗てんかん薬であるバルプロ酸ナトリウム⁽⁴⁹⁾ (Sodium

valproate: VAL-Na)をモデル薬物として選択し、他にもバルプロ酸塩の調製を試み同様の検討を実施した。バルプロ酸 (Vaipiroic acid: VAL) は常温常圧下において油状液体であるため、ナトリウム塩とすることで取り扱いを容易にしている。また、VAL-Na は 8 つの結晶多形が報告されている⁽⁵⁰⁾。

2.2 実験

2.2.1 試料

VAL (Fig. 2-1 (a)), VAL-Na、その他の試薬はいずれも和光純薬工業株式会社から購入した。

2.2.2 塩結晶の調製

溶媒を滴下しグラインディングする方法で塩結晶を調製した。モル比が1:1となるように液体の VAL および塩基性コフォーマー2.1 mmol を秤量し、メノウ乳鉢を用いて混合した。塩基性コフォーマーは人体への毒性がほとんどない L-アルギニン、L-リシン、L-ヒスチジン、メグルミン (Fig. 2-1 (b)-(e)) を選択した。10 mL のエタノールを滴下しながら粉碎し、約 40 分間のグラインディングを行った。

他に単結晶測定用の試料も調製した。等モル量の VAL およびコフォーマーをメタノールに溶解し、10 日間かけて溶媒を揮発させることで単結晶を析出させた。

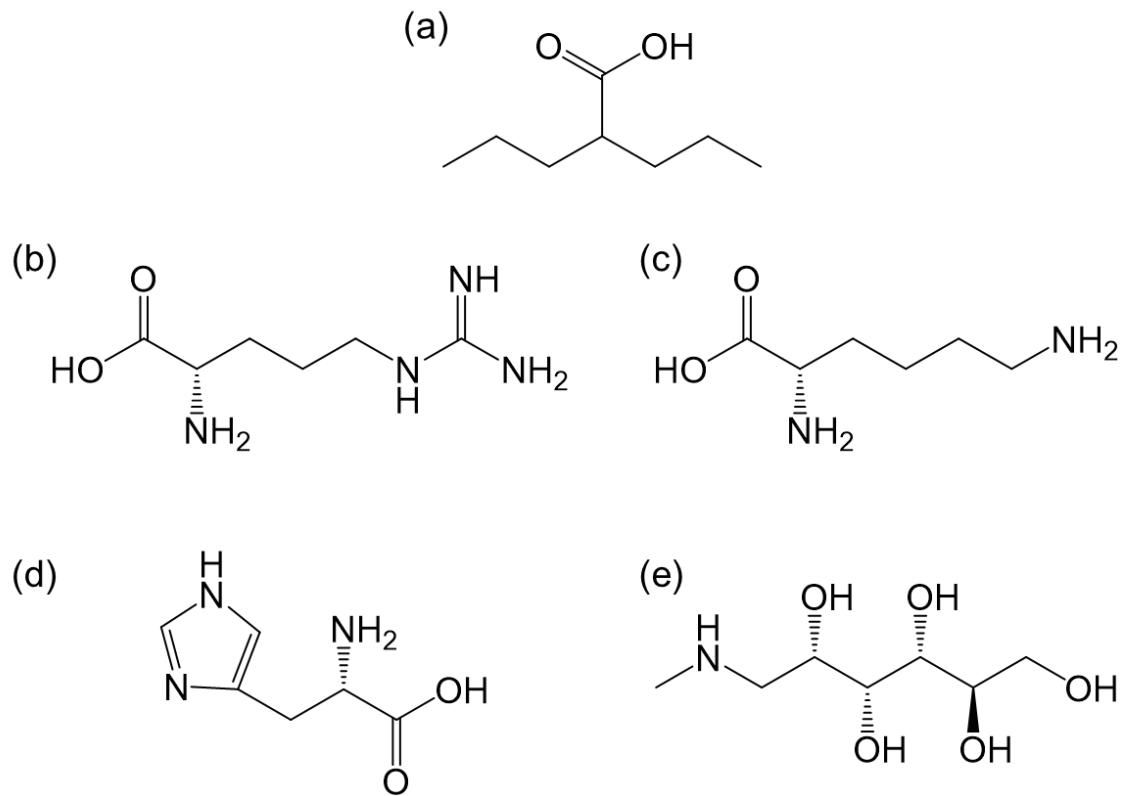


Fig. 2-1 VAL 及び塩基の化学構造

(a) バルプロ酸、(b) L-アルギニン、(c) L-リシン、
(d) L-ヒスチジン、(e) メグルミン

2.2.3 動的水分吸脱着測定

動的水分吸脱着測定 (Dynamic vapor sorption: DVS) は動的水分吸着測定装置 Dynamic Vapor Sorption Advantage instrument (SMS, Ltd., London) を利用して実施した。試料約 8 mg をアルミ製のパンに充填し、25°Cの窒素環境下で湿度を調整した。湿度の範囲は 0%RH (Relative humidity) から 90%RH であり湿度の変化幅は 5%RH とした。また各測定ステップの最大測定時間は 200 分とした。

2.2.4 単結晶 X 線回折測定

単結晶測定用の結晶はメタノール溶液から得たものを使用した。測定装置は Rigaku R-AXIS RAPID II および MicroMax-007HF micro focus X-ray generator を用いた。結晶はミネラルオイルに浸漬させた状態で 93 K の窒素気流に曝露させ吸湿を防いだ。結晶構造の決定には *SHELXL*⁽⁵¹⁾を用い、水素原子は親原子に騎乗させる形で経験的位置に発生させた。VAL-Arg の結晶構造データは The Cambridge Database に登録した (CCDC number 1504449 または HAMTOH)。

2.2.5 結晶形態および吸着のシミュレーション

The Cambridge Database から ConQuest を用いて入手した VAL-Na の結晶構造データ (SITXID)⁽⁵²⁾を用いた。まず分子のモデリングやシミュレーションを行うソフトウェア Material Studio version 8.0 (Dassault Systems BIOVIA) を用いて結晶形態の予測を行った。VAL-Na および VAL 塩の結晶構造データをそれぞれ読み込み、FORSITE モジュールで結晶構造の最適化を行い、MORPHOLOGY モジュールを用いて結晶形態予測を実施した。本シミュレーションソフトで BFDH method^(53, 54)により結晶形態を予測し、表出しやすい結晶面を調べた。また、光学偏光顕微鏡 (株式会社ニコン) を用いて実際の結晶を観察し、結晶の外形を撮影した。

吸着シミュレーションは SORPTION モジュールを用いて各結晶面に対して水分子のモデルがどのように吸着するのか確認した。具体的な方法は吸着しやすい位置である吸着サイトを求め、そのサイトに吸着した際に発生する吸着エネルギーを計算により求めた。

2.3 結果および考察

2.3.1 塩結晶の調製

粉末 X 線回折測定の結果、L-アルギニンおよび L-リシンにおいて出発物質と異なるピークが得られた (Fig. 2-2)。グラインディングにより、新規バルプロ酸塩が生成したと示唆され、バルプロ酸アルギニン塩 (L-Arginine valproate: VAL-Arg) およびバルプロ酸リシン塩 (L-Lysine valproate: VAL-Lys) とした。VAL-Arg は $2\theta = 6.54, 11.70, 13.23^\circ$ に (Fig. 2-2B)、VAL-Lys は $2\theta = 10.38, 15.38^\circ$ に特有のピーク (Fig. 2-2D) が確認された。L-ヒスチジンおよびメグルミンでは透明で一相の液体が形成され、結晶の析出は確認できなかった。

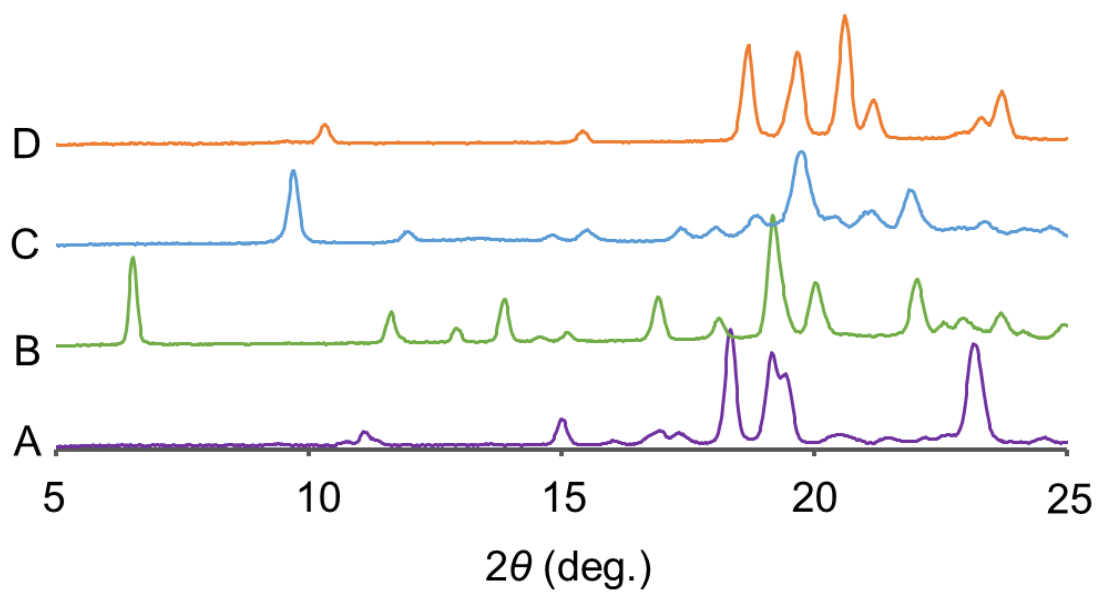


Fig. 2-2 VAL 塩の PXRD 測定

A は L-アルギニン、B は VAL-Arg、C は L-リシン、D は VAL-Lys を示す。

2.3.2 動的水分吸脱着測定

動的水分吸脱着測定の結果、各塩結晶の臨界相対湿度 (Critical relative humidity: CRH) はそれぞれ VAL-Na は 40%RH、VAL-Lys は 60%RH、VAL-Arg は 70%RH であった (Fig. 2-3)。以上からカウンターイオンの種類を変更することで VAL 塩の CRH が改善した。

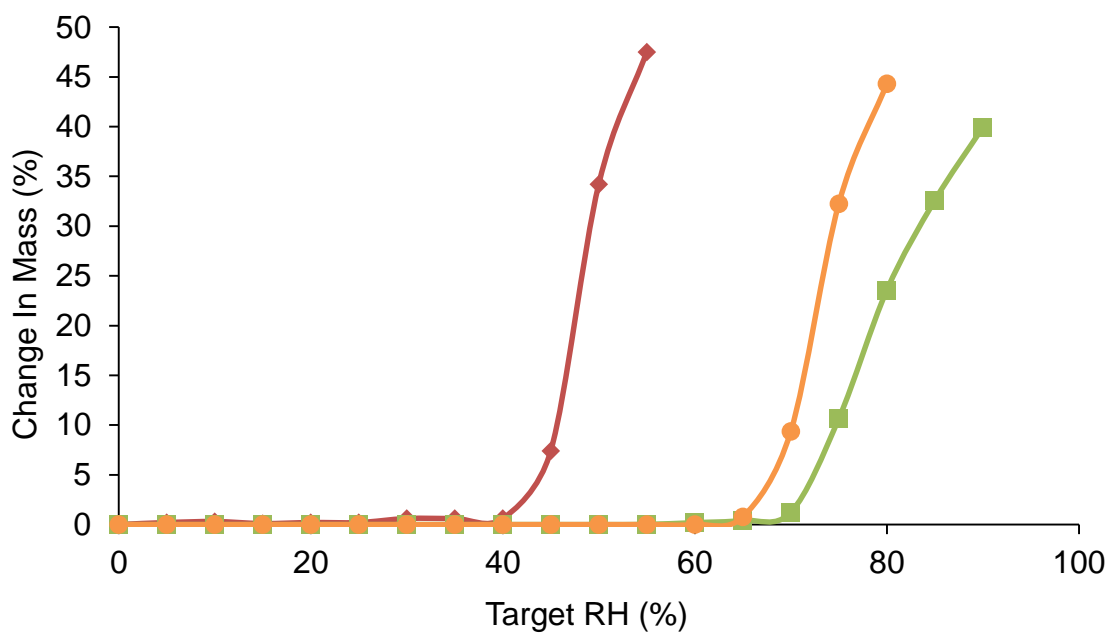


Fig. 2-3 VAL-Arg、VAL-Lys、VAL-Na の DVS 測定

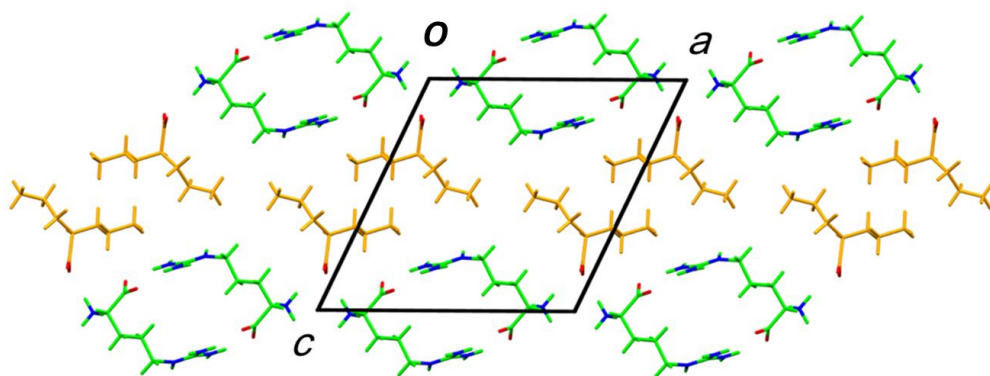
赤 (◆) は VAL-Na、オレンジ (●) は VAL-Lys、緑 (■) は VAL-Arg を示す。

2.3.3 単結晶 X 線回折測定

VAL-Arg の単結晶 X 線構造解析を実施した (Table 2-1)。VAL-Arg は空間群 C2 の単斜晶系であり、非対称単位にイオン化した VAL と Arg のペアを 1 組合んでいた (Fig. 2-4)。結晶中の VAL は脂肪族炭素鎖の部分で 2 つのコンフォメーションに乱れており、その占有率は 0.614 (17) および 0.386 (17) であった。一般的に、多成分結晶においてカルボン酸が脱プロトン化し、アミノ基がプロトン化している場合は塩が形成され、プロトンの移動を伴わない場合は共結晶が形成されていると解釈されている⁽⁵⁵⁾。VAL-Arg では VAL のカルボキシル基が解離し、Arg のアミノ基がプロトン化され塩を形成していた (Fig. 2-5 (a)、(b))。一方で、Arg のカルボキシル基も解離し、隣接する Arg のグアニジノ基がプロトン化されており Arg は双性イオンとして結晶内に存在していることが確認された (Fig. 2-5 (c))。Arg が結晶内で隣接する Arg と 2 量体を形成した例は珍しく、既に報告されている Arg を含む結晶 50 のうち該当するものは 1 種類のみであった。対照的に VAL は隣接する VAL と水素結合を形成していなかった。VAL-Arg 結晶は Arg 2 量体を含む層と VAL を含む層が *ab* 平面 (001 面) に沿うように存在しており、それぞれが水素結合を豊富に含む親水性の層と脂肪族炭素が集合した疎水性の層を形成していた (Fig. 2-4)。

Table 2-1 VAL-Arg の単結晶 X 線回折測定の詳細

| | |
|--|--|
| Chemical formula | C ₈ H ₁₅ O ₂ , C ₆ H ₁₅ N ₄ O ₂ |
| Temperature (K) | 93 (2) |
| Wavelength (Å) | 1.5419 |
| Space group | C2 |
| Cell parameters (Å, °) | |
| <i>a</i> | 14.865 (3) |
| <i>b</i> | 9.1775 (18) |
| <i>c</i> | 14.795 (3) |
| β | 115.516 (8) |
| Cell volume (Å ³) | 1821.5 (7) |
| <i>Z</i> | 4 |
| Goodness-of-fit on F^2 | 1.132 |
| $(\sin\theta/\lambda)_{\max}$ (Å ⁻¹) | 0.605 |
| Final <i>R</i> indices [$F^2 > 2\sigma(F^2)$] | 0.0988 |



(001)

Fig. 2-4 VAL-Arg の結晶構造

黒い線が単位格子、黄色の分子が VAL、緑の分子が Arg を表している。

紫の線は 紙面に垂直な (001) の結晶面を示している。

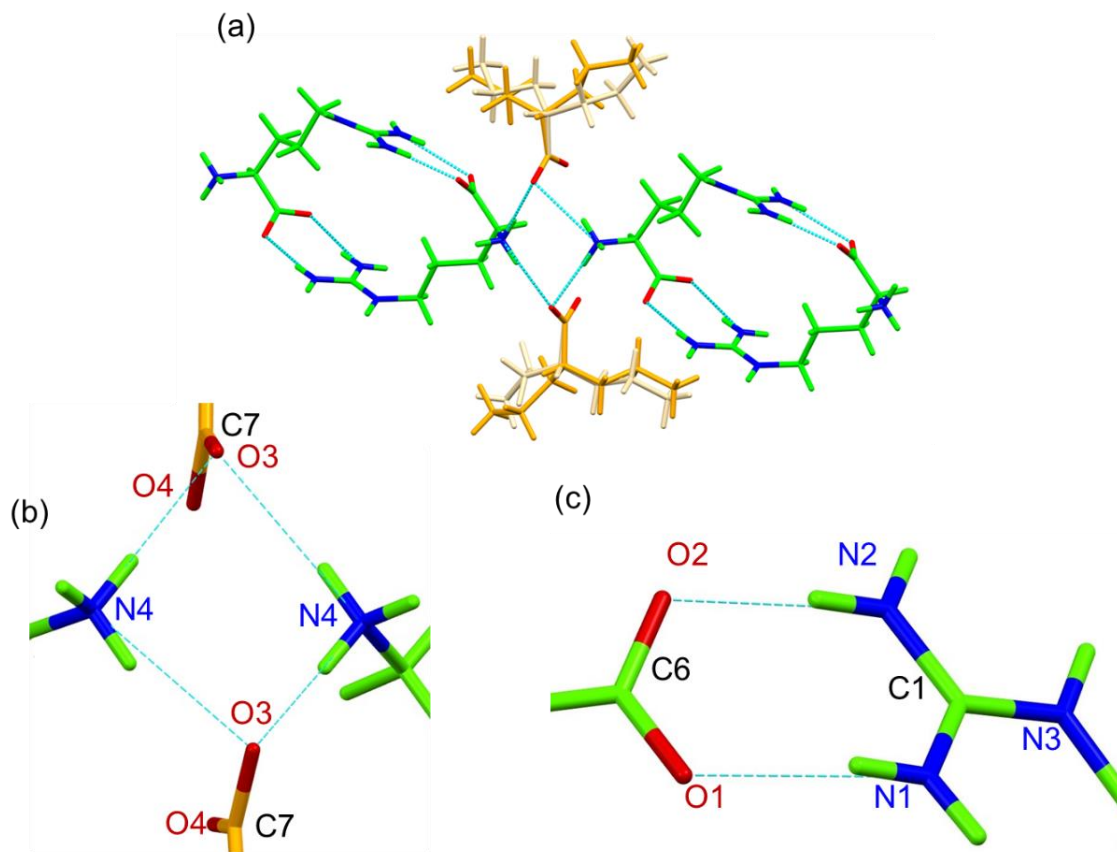


Fig. 2-5 VAL-Arg の水素結合様式

- 青の点線は水素結合を表している。(a)VAL と Arg の水素結合様式
 (b)VAL のカルボキシル基と Arg のアミノ基の水素結合
 (c)Arg 2 量体の水素結合部分であるカルボキシル基とグアニジノ基

2.3.4 結晶形態および吸着のシミュレーション

VAL-Na と VAL-Arg の吸湿性を調べるため、各結晶構造を基に結晶形態および水分子の吸着をシミュレーションで調べた。初めに VAL-Na と VAL-Arg の結晶形態を計算により求めた。結果、VAL-Arg は (001) 面に沿った板状で六角形の結晶形態となり、VAL-Na はブロック状の結晶形態となった (Fig. 2-6)。実際に得られた VAL-Arg 結晶はシミュレーションと同様の板状結晶であり、VAL-Na はシミュレーションとやや異なる形状の結晶であった。実際の結晶形態とシミュレーションの違いは用いた溶媒の違いによるものと考えられる。

計算によって求められた各結晶形態において VAL-Na の各結晶面の占める比率は 10%から 30%程度であったのに対し、VAL-Arg は (001) 面だけで約 60% を占めていた (Table 2-2)。大きな結晶形態は各結晶面の成長速度の差によって決定され、例えば結晶面と平行の方向に強い分子間結合がある場合、その結晶面は容易に成長すると考えられる。VAL-Arg 結晶は (001) 面に平行な方向に多くの水素結合が形成されているため、(001) 面は拡張しやすく、(001) 面に直交する面は成長しにくくなると考えられる。

VAL-Na 結晶は (001)、(010)、(01-1)、(100)、(10-1)の 5 つの結晶面が主な結晶面であり、VAL-Arg 結晶と対称的であった。吸着シミュレーションでは

各結晶面において水分子が吸着しやすい場所である吸着サイトと水分子が吸着した時のエネルギー変化を吸着エネルギーとして表した。吸着サイトは水分子を保持しやすい場所であり、結晶表面の親水性領域に存在する。例えば VAL-Arg の (001) 面の表面に突出したアミノ基、カルボキシル基、グアニジノ基の周辺が該当し、吸着が起りやすい吸着サイトは吸着エネルギーの減少がより大きいと考えられる。本研究においては VAL-Na の 5 つの結晶面と VAL-Arg の 7 つの結晶面に対して吸着サイトの数と各サイトの吸着エネルギーを求めた (Fig. 2-7)。VAL-Na は吸着サイトの数は少ないが、吸着エネルギーは大きい傾向があり、VAL-Arg は吸着サイトの数は多いが、吸着エネルギーは小さい傾向が確認された。両結晶の吸着サイト数と吸着エネルギーの差は結晶表面に突出した官能基が異なっていることに起因すると考えられる。

この傾向を確認するために、吸着サイトを吸着エネルギーの小さい順に並べ、プロットした (Fig. 2-8)。VAL-Na は 76 の吸着サイトを持ち、吸着エネルギーの範囲は -269.0 kJ/mol から -11.7 kJ/mol であった。対照的に VAL-Arg は 284 もの吸着サイトを持ち、吸着エネルギーの範囲は -74.8 kJ/mol から -1.7 kJ/mol であった。この結果から、VAL-Arg は多くの吸着サイトがあるものの、VAL-Na より水分子を保持しにくいと考えられる。VAL-Arg の結晶表面は Arg の存在により多くの水素結合が形成されているが、VAL-Na の結晶表面は水素結合可能

な官能基はほとんど存在していない。しかし、VAL-Na の小さな吸着エネルギーを持つ吸着サイトでは水分子の酸素原子とナトリウム原子の結合が形成されていた。ナトリウム原子は5つの結合を形成しており、その内訳はVALの酸素原子と水分子の酸素原子であった。これらは配位結合である可能性があり、結晶表面のナトリウム原子と大気中の水分子の間で形成されたと示唆するものであった。実際にVAL-Naと同じNa塩であるロキソプロフェンNaの場合、ナトリウム原子の周辺を糖類で配位結合させると水和物に転移しなくなったという報告がある⁽⁵⁶⁾。配位結合はVAL-Naの吸着エネルギーをVAL-Argのそれより低くしたと考えられる。配位結合を形成する場所の数はVAL-Naを代表する5つの結晶面にほぼ均等に存在しており、吸着エネルギーの大きさは吸着サイトの数よりもCRHの決定に寄与している可能性がある。結晶表面における吸着エネルギー計算はAPIの吸湿性の予測に利用できる可能性がある。

Table 2-2 VAL 塩の結晶面が占める割合

| VAL-Na | | VAL-Arg | |
|------------|--------------------|------------|--------------------|
| <i>hkl</i> | % Total facet area | <i>hkl</i> | % Total facet area |
| (001) | 29.0 | (001) | 59.8 |
| (010) | 23.0 | (20-1) | 15.5 |
| (01-1) | 17.4 | (110) | 6.0 |
| (100) | 14.8 | (1-10) | 6.0 |
| (10-1) | 12.1 | (11-1) | 5.0 |
| | | (1-1-1) | 5.0 |
| | | (20-2) | 2.6 |

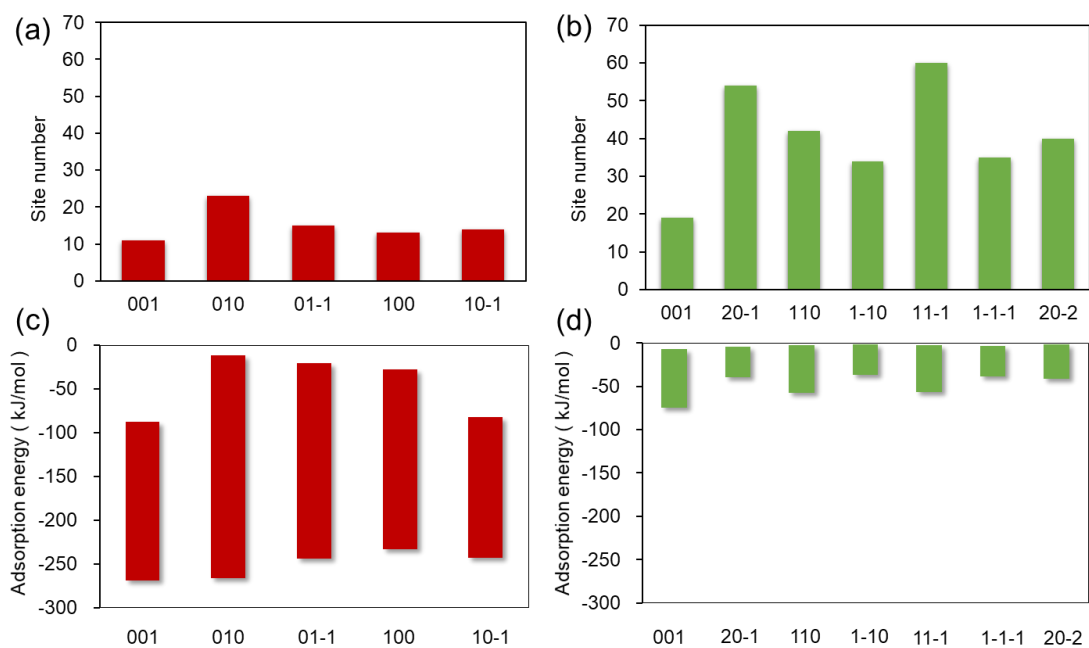


Fig. 2-7 各結晶面における吸着サイト数と吸着エネルギーの範囲

(a)VAL-Na の吸着サイト (b)VAL-Arg の吸着サイト

(c)VAL-Na の吸着エネルギー (d)VAL-Arg の吸着エネルギー

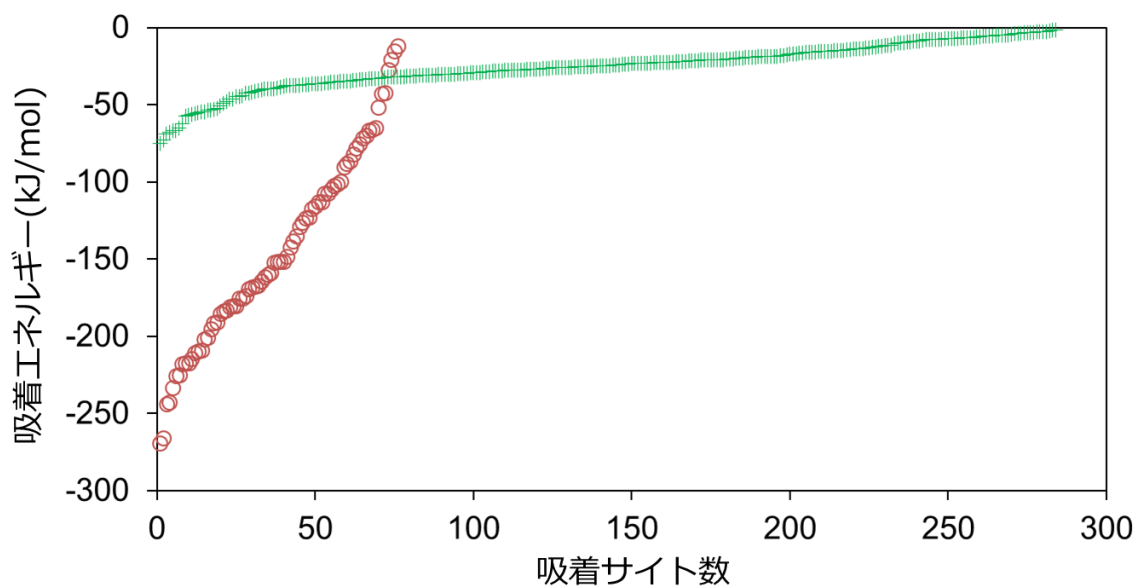


Fig. 2-8 各結晶における吸着サイトと吸着エネルギーのプロット

赤は VAL-Na、緑は VAL-Arg の各吸着サイトにおける
吸着エネルギーを示している。

2.4 小括

本研究では耐湿性の VAL 塩である VAL-Arg 及び VAL-Lys の調製に成功した。VAL-Arg の CRH は 70%RH であり VAL-Na よりも約 30%RH 高まった。SCXRD の結果、VAL-Arg は塩を形成していることが明らかとなった。VAL-Arg と VAL-Na の各結晶面に対する水分子の挙動をシミュレーションした結果、VAL-Arg は VAL-Na よりも多くの吸着サイトが存在するにも関わらず、水分子を保持できないことが示された。一方で VAL-Na は Na 原子の周辺に強力な吸着サイトが存在しており、それは配位結合に起因していると考えられた。このような表面構造の違いが湿度に対する安定性に影響を及ぼした結果、CRH の違いに寄与した可能性がある。

シミュレーションにより医薬品分子の吸湿性を予測することで製剤設計に必要な検討を減らし、開発期間を短縮可能である。医薬品開発の初期では試料量が限られた中で物性を明らかにする必要があるため、有用な方法であると考えられる。それだけではなく、製剤の製造工程における吸湿リスクを予測することで、適切な製法設計や PAT 実施計画を早期に立案可能となる。

3. 中分子医薬品の結晶転移挙動

3.1 背景

近年、医薬品分子は大型化する傾向が顕著であり、抗体医薬を始めとする分子量数千から数万のタンパク質製剤が積極的に研究開発され、市場に出回るようになった。一方、従来の分子量 500 以下の医薬品は低分子医薬品と呼ばれ区別されている。また、それらの中間の分子量を持つ医薬品の開発も進められており、中分子医薬と呼称される場合がある^(1,2)。中分子医薬は低分子医薬より分子量が大きいもののタンパク質より小さく、分子量約 500 から数千程度の化合物群である。核酸医薬や環状アミノ酸などの化合物が該当する。

今後、中分子医薬の開発が促進されるにあたり、重要になると予想されるのが、結晶内への溶媒分子の取り込みである。低分子医薬において頻出することであるが、医薬品が結晶化する際に溶液中の分子を巻き込んで溶媒和物として結晶化することがある⁽⁵⁷⁾。低分子医薬では結晶中の溶媒の有無が溶出速度に影響を与える場合があることが知られており、製剤化や製品製造の際には脱溶媒や溶媒和が起こらないように製造条件を設定する。一方でタンパク質のような大型分子の結晶においては分子間に巨大な隙間が存在するため、容易に溶媒を巻き込んだ結晶を形成する。中分子医薬においては、低分子医薬以上に溶媒和

物結晶を形成する可能性がある」と推測され、中分子医薬の物性に関する知見は益々重要になるであろう。

クラリスロマイシン (Clarithromycin: CAM) は 14 員環のマクロライド系抗生物質⁽⁵⁸⁾であり、皮膚や呼吸器、耳鼻科領域の感染症に用いられる。また、ヘリコバクター・ピロリの除菌においても他の薬剤と併用して用いられ、臨床現場での需要は大きい。分子量 747.96 の中型分子に該当する医薬品であり、本研究のモデル薬物として用いた。CAM には報告されているだけでも Form 0⁽³⁹⁻⁴²⁾, I⁽⁵⁹⁾, II^(60, 61), III⁽⁶²⁾, IV⁽⁶³⁾, V⁽⁶⁴⁾, VI⁽⁶⁵⁾, 塩酸塩水和物⁽⁶⁶⁾, メタノール溶媒和物⁽⁶⁷⁾といった複数の結晶多形が存在している (Table 3-1)。この中で注目したのは無水物で準安定形の Form I と 3 水和物結晶の Form IV である。Form I は溶媒と接触することで Form IV へ転移するため、溶出時は Form I の錠剤表面に Form IV の薄い層が形成される。この層によって錠剤内部への水の浸透が阻害され、錠剤の崩壊及び CAM の溶出遅延が発生すると報告されている⁽⁶⁸⁾。本章では Form I から IV への水和物転移を解析することを目的に粉末 X 線回折測定、熱分析などの各種物性評価を行った。その中で新たに Form VII の存在が明らかとなったので、併せて解析を実施した。

Table 3-1 CAM の結晶多形、溶媒和物、塩

| Crystal Form | Crystal Type | CSD identifier | Reference |
|------------------|--|----------------|--|
| Form 0 | Ethanol solvate | ATOFIZ | Tian <i>et al.</i> (2011) ⁽⁶⁹⁾ |
| Form I | Anhydrate | - | - |
| | Hemihydrate | VICSIM | This study |
| | Dihydrate | - | This study |
| Form II | Anhydrate | NAVSUY01 | Tian <i>et al.</i> (2009) ⁽⁷⁰⁾ |
| | Hemihydrate | LUQKEO | Tian <i>et al.</i> (2009) ⁽⁷⁰⁾ |
| Form III | Acetonitrile solvate | CIWJIC | Liang and Yao (2008) ⁽⁷¹⁾ |
| Form IV | Trihydrate | LAQSON01 | Avrutov <i>et al.</i> (2003) ⁽⁶³⁾ |
| Form V | - | - | Gruss (2008) ⁽⁶⁴⁾ |
| Form VI | Chloroform solvate | - | de Jager (2005) ⁽⁶⁵⁾ |
| Form VII | Anhydrate | - | This study |
| Form A | Hydorchloride salt, <i>n</i> -hydrate | - | Noguchi <i>et al.</i> (2014) ⁽⁷²⁾ |
| Form B | Hydorchloride salt, 3.5-hydrate | WOCFOJ | Parvez <i>et al.</i> (2000) ⁽⁶⁶⁾ |
| Citrate salt | Citrate salt, 3.16- hydrate | SAQTOW | Inukai <i>et al.</i> (2017) ⁽⁷³⁾ |
| Methanol solvate | Methanol solvate | WANNUU | Iwasaki <i>et al.</i> (1993) ⁽⁶⁷⁾ |

3.2 実験

3.2.1 試料

CAM (purity above 98%) は東京化成工業株式会社から購入したものを
用いた。CAM の構造式は Fig. 3-1 に示す通りである。その他の試薬は全て特級を用
いた。

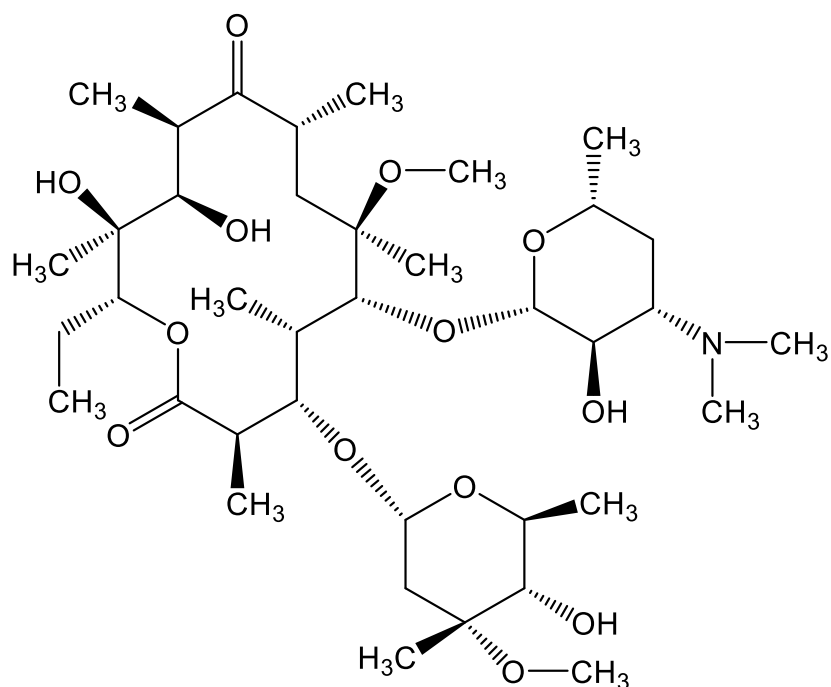


Fig. 3-1 CAM の化学構造

3.2.2 結晶の調製

購入した CAM 原末は Form II であった。Form I 結晶は Form II 結晶をエタノールにより再結晶し、エタノール溶媒和物である Form 0 を得た後、室温にて 24 時間、減圧乾燥することにより調製した⁽⁷⁴⁾。

Form IV は、硫酸カリウム飽和水溶液⁽⁷⁵⁾を用いて相対湿度 97%RH に調湿したデシケーター内に、Form I を室温で 3 日以上静置することで得た。調製後も上記のデシケーター内で保存した。

Form VII は、シリカゲルを用いて相対湿度 0%RH に調湿したデシケーター内に、Form IV を室温で 1 日以上静置することで得た。調製後も上記のデシケーター内にて保存した。

3.2.3 粉末 X 線回折測定

PXRD 測定は MiniFlex600 (株式会社リガク) を使用した。X 線源は $\text{CuK}\alpha$ 線を用い、管電圧 40 kV、管電流 15 mA、スキャンスピード $8^\circ/\text{min}$ 、回折角 $2\theta = 5\text{--}30^\circ$ の条件で測定を行った。

3.2.4 単結晶 X 線回折測定

Form I は Form 0 が脱溶媒することで生じる結晶形なので微小な結晶であり、大きな結晶が得られたとしても結晶性が著しく悪かった。測定を行っても回折点の強度が小さかったため放射光施設 (Spring-8 BL02B1) において波長を 0.7004 Å に設定して測定を行った。結晶構造の決定には *SHELXT*⁽⁷⁶⁾、*SHELXL*⁽⁵¹⁾、*ShelXle*⁽⁷⁷⁾を用いた。測定条件などの詳細は Table 3-2 に示す。

本研究では結晶構造に含まれる分子と分子の間隙を Void と称する。Void の体積は *Mercury 3.0* を用いて求めた。その際、Probe radius 1.2 Å、Grid size 0.2 Å にそれぞれ設定した。

Table 3-2 Form I の単結晶 X 線回折測定の詳細

| | |
|---|---|
| Crystal data | |
| Chemical formula | $C_{38}H_{69}NO_{13} \cdot 0.41 (H_2O)$ |
| Space group | $P2_12_12$ |
| Cell parameters (Å) | |
| a (Å) | 14.285(3) |
| b (Å) | 33.895(7) |
| c (Å) | 8.635(2) |
| Z | 4 |
| Data collection | |
| Temperature (K) | 100 |
| Wavelength (Å) | 0.7004 |
| $(\sin \theta / \lambda)_{\max}$ (Å ⁻¹) | 0.667 |
| No. of reflections | |
| Measured | 29057 |
| Independent | 10186 |
| Observed [$F^2 > 2\sigma(F^2)$] | 5799 |
| R_{int} | 0.139 |
| Refinement | |
| No. of reflections | 10186 |
| R [$F^2 > 2\sigma(F^2)$] | 0.102 |
| $wR(F^2)$ | 0.260 |
| $\Delta\rho_{\max}, \Delta\rho_{\min}$ (e Å ⁻³) | 0.41, -0.35 |

3.2.5 動的水分吸脱着測定

DVS 測定は Dynamic Vapor Sorption Advantage instrument (SMS, Ltd.) を利用した。試料は約 15 mg をアルミ製のパンに充填し、25°Cの窒素環境下で湿度を調整した。湿度の範囲は 0%RH から 100%RH であり、湿度の変化幅は 5%RH または 10%RH とした。測定中の試料は必要に応じて取り出して PXRD により結晶形の同定を行った。

3.2.6 熱測定

示差走査熱量測定 (Differential scanning calorimetry: DSC) は DSC 8500 (PerkinElmer, Ltd.) を利用し、TG-DTA 測定は TG8120 (株式会社リガク) を利用した。試料は 5–10 mg をオープンアルミパンに充填し、窒素気流はそれぞれ DSC では 100 mL/min、TG-DTA では 50 mL/min とした。

3.2.7 Kissinger-Akahira-Sunose 法による活性化エネルギーの算出

本研究では API における脱溶媒反応の活性化エネルギーを算出する際に以下の方法⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾を用いた。ここで、 ΔE 、 R 、 T は、それぞれ、活性化エネルギー、気体定数、絶対温度である。 θ は換算係数と呼ばれる値であり、一定の昇温速度 φ で温度が T_1 、 T_2 ($T_1 > T_2$) 間を変化するとき、

$$\theta = \frac{\Delta E}{\varphi R} \left\{ p \left(\frac{\Delta E}{RT_2} \right) - p \left(\frac{\Delta E}{RT_1} \right) \right\} \quad (1)$$

で与えられる。ここで、 p は p 関数と呼ばれ、Doyle により速度論解析のために導入された関数である。通常の熱分析では、反応がほとんど進行しない低温から測定が行われるので、(1) 式の $p \left(\frac{\Delta E}{RT_1} \right)$ は 0 と考えることができ、(1) 式は、

$$\theta = \frac{\Delta E}{\varphi R} \left\{ p \left(\frac{\Delta E}{RT_2} \right) \right\} \quad (2)$$

と表せる。また、 p 関数は次のように近似が可能である。

$$\log p(y) \doteq -2.315 - 0.4567y \quad (3)$$

$$p(y) \doteq \exp(-y) / y^2 \quad (4)$$

昇温速度を変えて複数回 TG 測定を行い、昇温速度 φ_1 で T_1 、 φ_2 で T_2 、...に
おいて、(2)、(4) 式から

$$\ln\left(\frac{\varphi_1}{T_1^2}\right) + \frac{\Delta E}{RT_1} = \ln\left(\frac{\varphi_2}{T_2^2}\right) + \frac{\Delta E}{RT_2} = \dots (5)$$

が得られる。この関係式は活性化エネルギーを求めるのに利用できる。つまり、 φ/T^2 の自然対数 ($\ln(\varphi/T^2)$) を縦軸に、絶対温度の逆数 ($1/T$) を横軸にプロットすれば直線が得られ、その勾配 $\Delta E/R$ より活性化エネルギーを求めることができる。

Form I の脱溶媒における活性化エネルギーの算出では昇温速度 4.0、8.0、12.0、16.0 K/min とし、式 (5) に従い φ/T_2 の自然対数 ($\ln(\varphi/T_2)$) を縦軸に、絶対温度の逆数 ($1/T$) を横軸にプロットし傾きから活性化エネルギーを算出した。

3.3 結果および考察

3.3.1 単結晶 X 線回折測定

Form I はデソサミン基および水分子に 2 つのコンフォメーションが確認された。この占有率はそれぞれ 0.59 と 0.41 であった。占有率の大きなコンフォメーションは先行研究の報告と結晶構造が一致した^(66,67,69,71)。占有率の小さなコンフォメーションはもう一方と比較してジメチルアミノ基とデソサミンの 6 員環が約 0.5 Å ずれた位置に存在していた。

また、Form I は単位格子中に Void が 2 種類存在していた。1 つは *c* 軸に平行な 2 回軸に沿った位置に存在し (Void A)、もう 1 つはデソサミン基のジメチルアミノ基とクラジノース基のヒドロキシ基の近傍に存在していた (Void B)。

Void A はチャンネル状の構造をしており、占有率の小さなコンフォメーションの場合は半径がより大きくなった。占有率の小さな結晶構造と Void A 及び Void B を Fig. 3-2 に示す。結晶構造解析において Void A の内部に水分子に由来すると考えられる電子密度が観測された。この水分子の占有率は 0.41 に収束したことから低い占有率のコンフォメーションと関連していると推測された。しかし、Form I の調製時に水を加えていないのでこの水分子は大気中から取り込まれたものであると推測される。

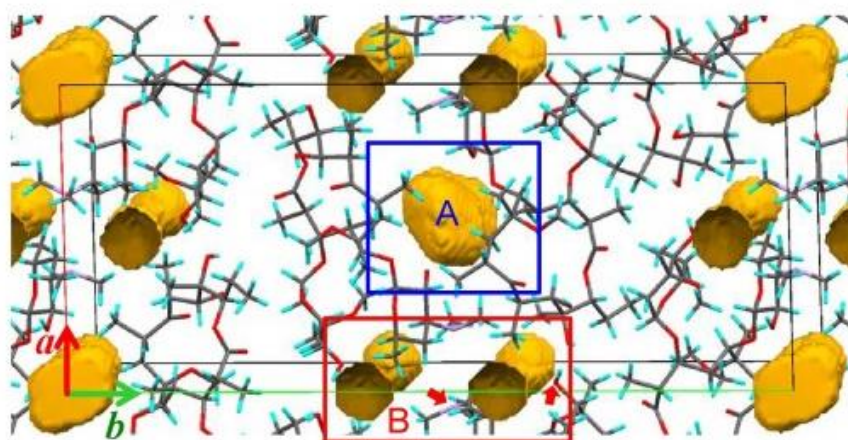


Fig. 3-2 単位格子中における Void A 及び Void B (100 K)

3.3.2 熱測定と活性化エネルギー

Form I を TG-DTA で測定した結果を Fig. 3-3 (a) に示す。TG については 25–75°C の範囲において 0.9% 程度の重量減少が確認でき、DTA では 130°C 付近に発熱ピーク、224°C 付近に吸熱ピークを認めた。これらのピークは先行研究⁽⁷⁸⁾より 130°C 付近で Form I から Form II への転移、224°C 付近で Form II の融解が観測されたと考えられる。Form II への転移は -22 ± 3 kJ/mol のエンタルピー変化を伴っていた。25–75°C 付近に見られる重量減少は水分子に換算すると約 0.4 分子に相当し、チャンネル状の空隙に 0.41 個の水分子が存在していた Form I の単結晶 X 線構造解析の結果とよく一致した。

次に Form I を 105°C に加熱して水分子を完全に脱離させた後、25°C、40%RH 環境下に 90 分間静置した試料について、再度 TG-DTA 測定を実施した (Fig. 3-3 (b))。その結果、約 0.9% の重量減少が再度確認された。従って、Form I は空気中の水蒸気による水和と脱水が可逆的に起こり得る結晶であると考えられる。

活性化エネルギーは Kissinger-Akahira-Sunose 法により 86 ± 11 kJ/mol であると推定された (Fig. 3-4)。一般的な水素結合の結合エネルギーは 17–53 kJ/mol であると報告⁽⁷⁹⁾されている。従って、この測定結果は水素結合 2 つを破壊する

のに十分なエネルギーであると考えられる。さらに単結晶 X 線構造解析からも 2 つの水素結合が存在することが示唆されている。

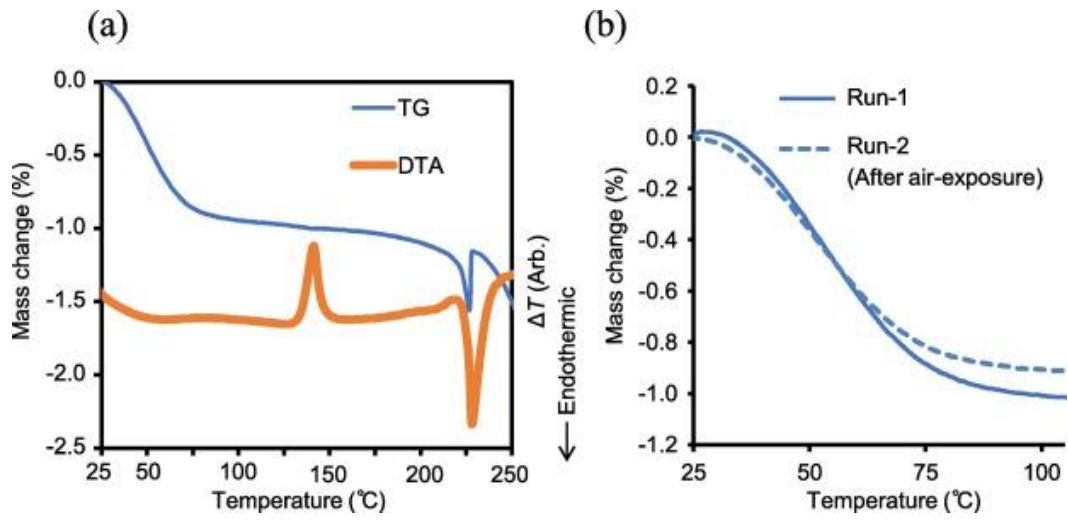


Fig. 3-3 (a) Form I の TG-DTA 測定、(b) Form I の熱重量測定結果

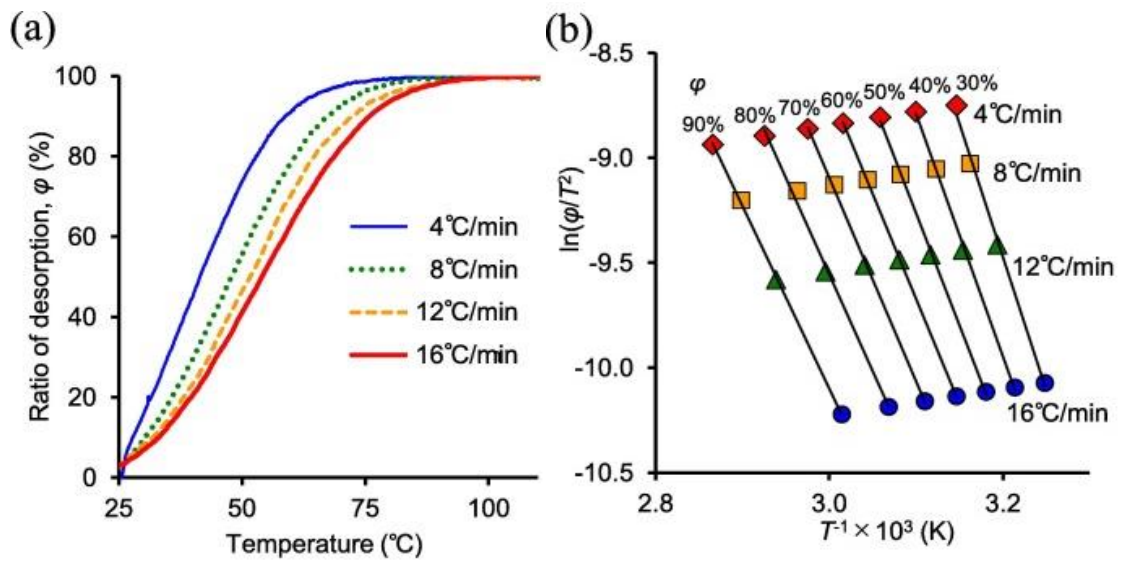


Fig. 3-4 (a) 昇温速度 4、8、12、16 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ における重量変化

(b) Kissinger-Akahira-Sunose 法によるプロット

3.3.3 動的水分吸脱着測定

Form I を 25°Cにおいて窒素気流に曝露させ、0.9%の重量減少が確認されるまで乾燥させた (Fig. 3-5 (a))。この操作により、完全に水分子を取り除いた Form I を調製し、これを用いて DVS 測定を実施した (Fig. 3-5 (b))。DVS の重量増加に注目すると 10–50%RH、60–90%RH、95%RH の 3 つの段階が確認された。10–50%RH の範囲において重量は約 1.3%増加したが、これは CAM 1 分子に対し水分子約 0.5 分子に相当する。単結晶構造解析の結果と総合すると、結晶構造解析された結晶はこの Form I 0.5 水和物ではないかと考えられる。次に 60–90%RH の範囲に注目すると、重量増加は 4.8%まで起きており、CAM 1 分子に対して 2 分子の水に相当する量であったので、Form I 2 水和物と推測できる。95%RH では 7.0%まで重量増加が見られ、CAM 1 分子に対して 3 分子の水に相当する量であった。これは 3 水和物である Form VI に転移したと考えられる。

Form I を湿度 0、40、60、80、95%RH の空気に曝した後に PXRD を測定した (Fig. 3-5 (c))。10–50%RH の段階、60–90%RH の段階ではほとんど同じ PXRD パターンが得られたが、水分子の含有量だけが異なっていた。これは結晶構造がほとんど変化せずに、結晶構造中のチャンネルを水分子が出入りして

いることを示唆している。このような水分子は運動性が高いことから PXRD にほとんど寄与していないと考えられる。

湿度 90%RH における Form I 2 水和物を取り出し、乾燥窒素に曝露させたところ 40 分間で約 4.2%の重量減少が見られた (Fig. 3-5 (d))。これは、2 分子の水分子の重量 (4.6%) に近い。また、この乾燥させた Form I とエタノール溶媒和物である Form 0 から脱溶媒させた調製直後の Form I の PXRD を比較した (Fig. 3-5 (e))。その結果、ほとんど同じ PXRD パターンが得られた。以上から、Form I、Form I 0.5 水和物、Form I 2 水和物は可逆的に転移すると考えられる。

また、Form I には Void A 及び Void B が存在しているが、吸湿時はこれらの Void に水分子が入り込むと考えられる。各 Void の体積は Void A が 97 \AA^3 、Void B が 51 \AA^3 であった。水分子 1 つの体積は少なくとも約 30 \AA^3 程度⁽⁸⁰⁾なので、Void A の体積は水分子 2 つが入り込むには十分な大きさであったが、Void A は 2 回軸上に存在するため実際には CAM 1 分子に対して 1 つの水分子を含有できることになる。一方で、2 分子の水が結晶中に含まれることが熱分析の結果から明らかになっているので、湿度が上昇すると Void B にも水分子が 1 個入り込むと考えられる。Void B はデソサミン基の窒素原子、クラジノース基のヒドロキシル基、メトキシ基で囲まれた領域であり、水分子と水素結合

を形成可能である。しかし、Void B は外部に接続したチャンネル構造ではないので水分子が Void B へ侵入するのは難しい可能性があり、Void A が満たされた後に Void B へ水分子が浸入すると推測できる。水分子は API 分子の動的な振動によって生じた一時的な空隙を通過して結晶内部まで到達する可能性があり、そのような現象は既に報告されている⁽⁷⁰⁾。この現象が Form I においても同様に発生するのではないかと考えられる。

総合すると、Form I は湿度 50%RH 未満では Void A に CAM 1 分子あたり最大 0.5 分子の水分子が入り込むことができ、湿度 50–90%RH においては Void A に追加で水分子が 0.5 分子、Void B に水分子 1 つが入り込み、Form I 2 水和物を形成すると考えられる。しかし、このような構造変化があるにも関わらず、PXRD の変化はほとんど確認できなかった。水分子の出入りがあるにも関わらず、分子の変化がほとんどない、同形結晶を介した転移はいくつか報告されている^(81, 82)。Form I においては Void の存在が水和物転移を考察する上で重要であり、加湿環境下で Void に水分子が順番に充填されていくことが明らかとなった。結晶構造に基づいて Void の分析を行う事は水和物転移のリスクを推定するために有用であると示唆された。

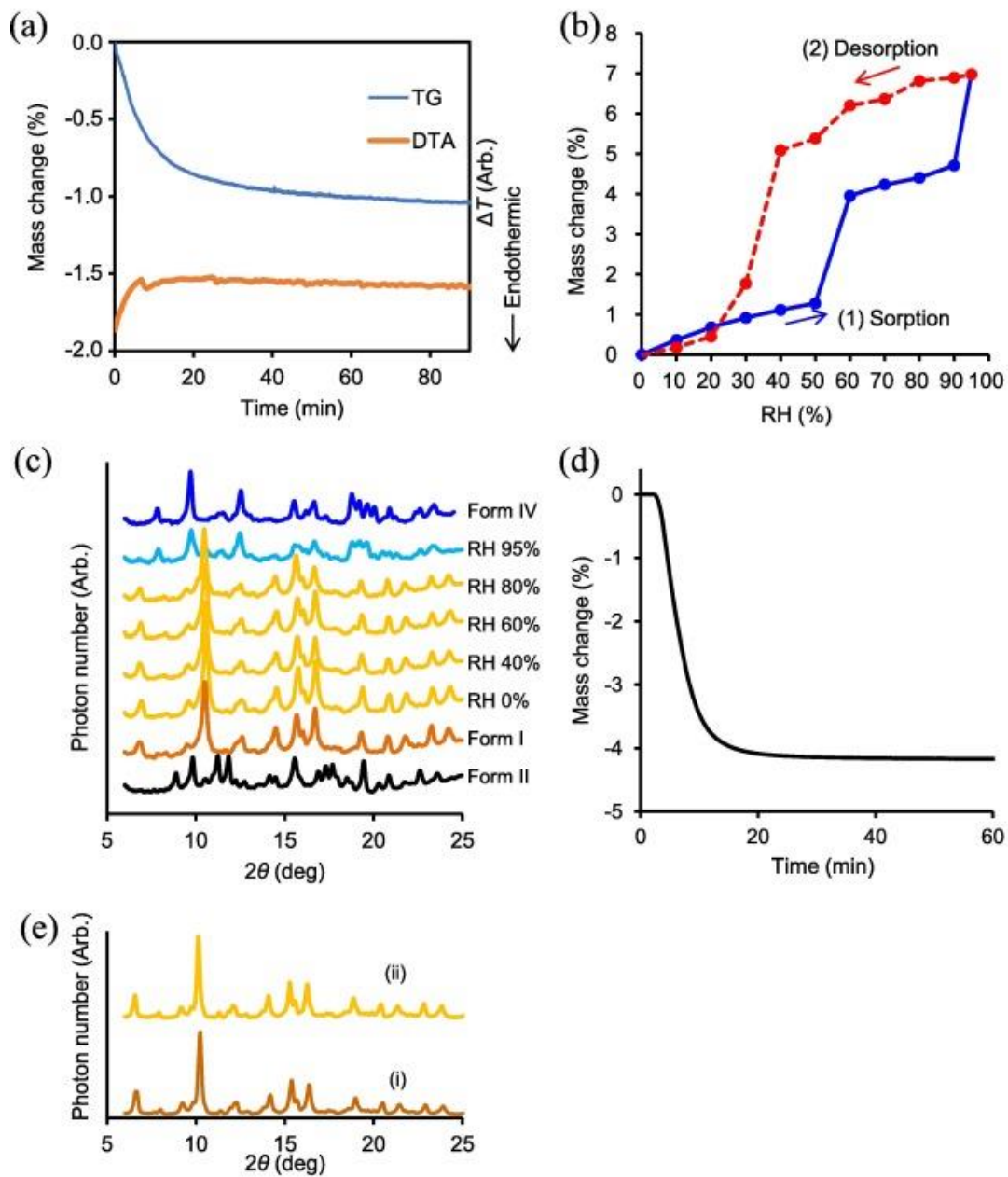


Fig. 3-5 CAM Form I のキャラクタライゼーション

(a) 25°Cの乾燥窒素に曝露させた Form I の重量変化 (b) Form Iの DVS 測定結果 (c) Form I の各湿度における PXRD (d) Form I 2 水和物を 25°Cで乾燥窒素に曝露させた際の重量変化 (e) 乾燥させた Form I (i)と調製直後の Form I (ii)

3.3.4 Form IV および Form VII の物性評価

TG-DTA 測定により、Form IVは 75°Cにおいて 6.6%の重量減少が確認できた (Fig. 3-6 (a))。これは CAM 1 分子に対して水 3 分子に相当する量であり (理論値 6.7%)、脱水後は無水物に転移したと考えられる。この無水物は 171°C付近に発熱ピーク、223°C付近に吸熱ピークが観察された (Fig. 3-6 (a))。223°Cのピークは Form II の融解ピークであると考えられる。PXRD 測定の結果、無水物は既知の無水物と異なるピークパターンを持つことが確認された (Fig. 3-6 (b))。従って、Form IV は 75°Cにおいて脱水し新規無水物結晶へ転移した後、171°C付近で Form II へ転移したと考えられる。この新規無水物結晶は Form VII とした。

Form VII を DVS 測定した結果、湿度 30%RH から 40%RH にかけて重量が増加し、95%RH において 7.3%の重量増加を記録した (Fig. 3-7 (a))。これは水 3 分子に相当する量 (理論値 7.2%) であり、Form IV への転移を示唆するものであった。各湿度における PXRD 測定の結果 (Fig. 3-7 (b)) から、Form VII は加湿によって Form IV へ可逆的に転移すると確認できた。

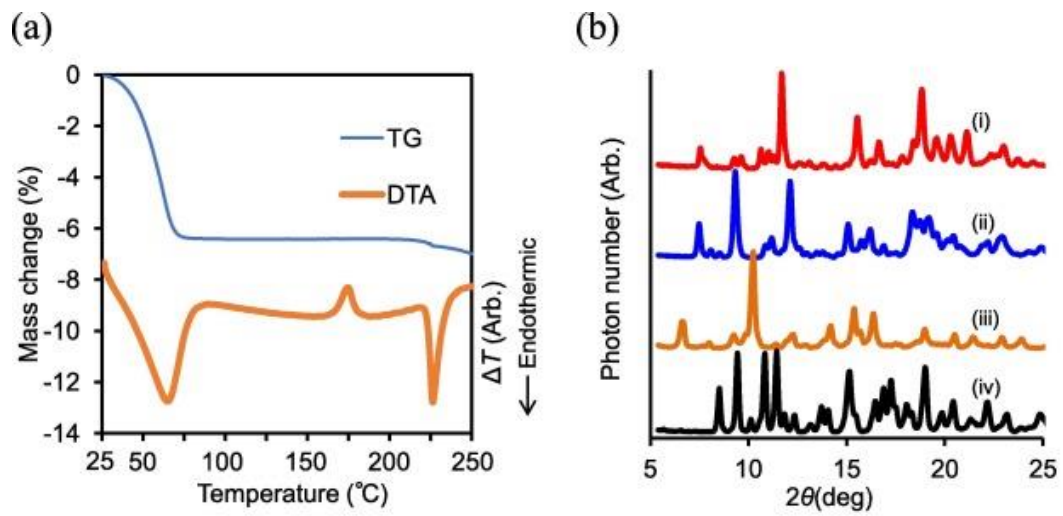


Fig. 3-6 (a) Form IVの TG-DTA 測定結果 (b) 各 PXR D の結果 (i) 新規結晶形
 と思われる Form VII (ii) Form IV (iii) Form I (iv) Form II

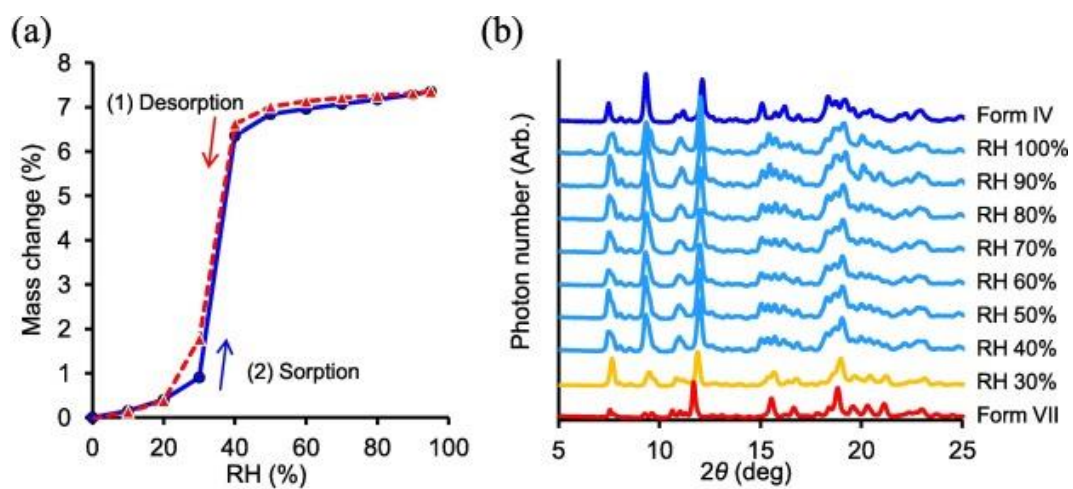


Fig. 3-7 Form VII の(a) DVS 測定結果 (b) PXRD 測定結果

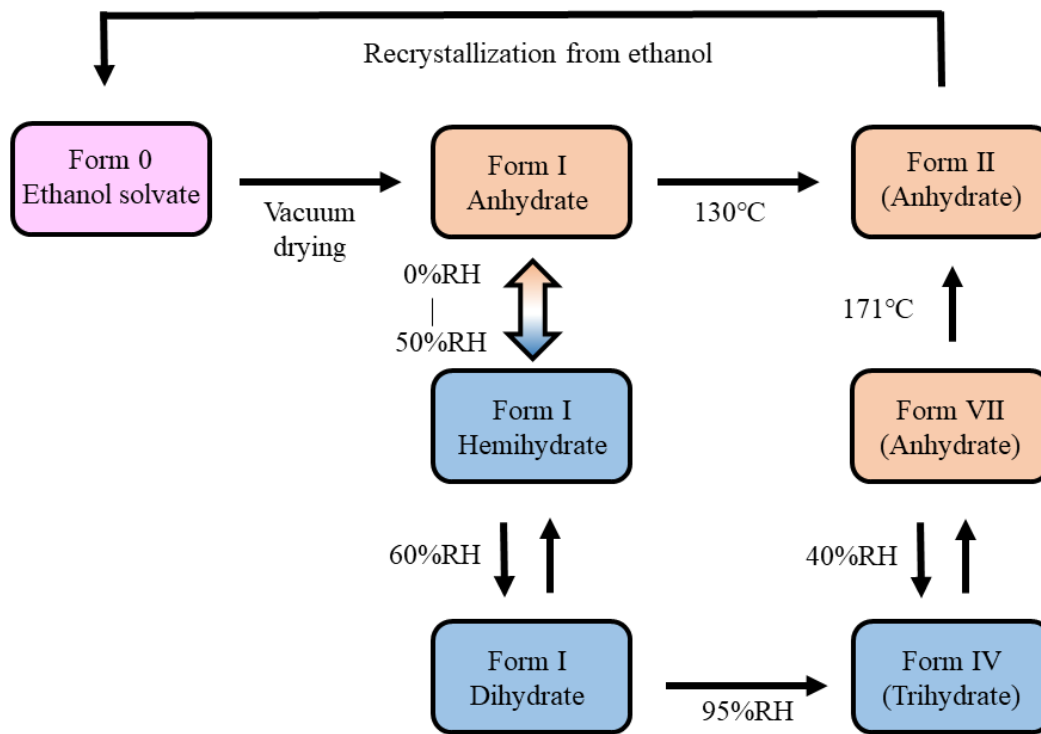


Fig. 3-8 CAM の多形転移条件

3.4 小括

CAM は複数の水和物及び無水物の結晶多形が存在し、中でも Form I は相対湿度 10%RH から 50%RH の間において水分子が結晶中の Void A へ入り込み、無水物から 0.5 水和物までの間を湿度依存的に変化することが明らかとなった。また、相対湿度 60%RH 以上においては残りの Void A 及び Void B に水分子が急激に充填され、2 水和物として存在していた。さらに、相対湿度 95%RH 付近では 3 水和物 (Form IV) へ転移し、結晶構造が大きく変化したことが PXRD から示唆された。また、3 水和物 (Form IV) は脱水により無水物の Form VII となることも判明した。この無水物はこれまで報告されていなかった結晶形である。

近年、医薬品の分子量が増加する傾向があり、分子が高高くなれば結晶中に Void が発生しやすくなると考えられる。従って、本研究の Form I のような溶媒和物転移を引き起こすケースは今後さらに報告されるようになるだろう。一般化するためには多くの結晶について結晶構造データと転移の状況を総合的に解釈する必要があるが、Void を考慮した転移の理解は益々重要性を増し、転移の有無の予測に有用となると推測される。

4. テラヘルツ分光法を利用した中分子医薬品からの脱溶媒の検出

4.1 背景

第3章で述べた通り、中分子 API の結晶転移を把握することは今後ますます重要となる。医薬品開発において API の物理化学的性質は重要であり、特に溶解性^(23, 83)、吸湿性⁽⁸⁴⁾、打錠性⁽⁸⁵⁾、苦味⁽⁸⁶⁾などの問題は開発を進める上で考えられ得る問題である。一方で塩⁽⁸⁷⁾、共結晶⁽⁸⁸⁾、溶媒和物⁽⁸⁹⁻⁹¹⁾に代表される多成分結晶は単成分結晶と各物性が異なっているのでこれらの問題を解決できる可能性がある。難溶性 API の溶解性を高めるために多成分結晶とする試みは汎用される手法である。

多成分結晶は安定性のリスクがあり、例えば相転移があげられる。特に溶媒和物結晶は溶媒分子を失い、化学的組成が変化し、非晶質や他の結晶形に転移する脱溶媒を起こす場合がある。この影響は薬物の溶出挙動を変化させる可能性があり、品質を悪化させ得る。従って、溶媒和物結晶を医薬品製造に使用する場合は相転移の発生条件を特定し、最適な条件で製造を実施する必要がある。

インジナビル (Indinavir: IND) は HIV のプロテアーゼを阻害する化合物であり、インジナビル硫酸塩エタノール溶媒和物 (Indinavir sulfate ethanolate: IND-Sul-EtOH) として抗 HIV 薬として用いられている⁽⁹²⁾。しかしながら、その重要性にも関わらず、IND-Sul-EtOH の脱溶媒機構は明らかでない。IND の分子量は 613.79 g/mol であり中分子と考えると差し支えない分子量である。従って、IND-Sul-EtOH をモデル薬物として脱溶媒機構を明らかにすれば中分子医薬品の多成分結晶の物性について有用な知見が得られると考えられる。IND-Sul-EtOH の結晶構造は先行研究^(92, 93)により解析が行われていたが含有するエタノール (EtOH) の位置決定までは至っておらず、脱溶媒と構造の関係が検討されていない不完全なものであった。一方、IND-Sul-EtOH は吸湿性がある。吸湿性医薬品は安定供給させる際には多大なコストを要し、特に高温多湿な地域であればあるほど顕著になる。しかしながら IND-Sul-EtOH の吸湿性についてもこれまでほとんど調査されていない。

本研究では、結晶中に存在する EtOH の位置決定及び脱溶媒機構を分子レベルで明らかにすることが目的である。機構を明らかにするとともに THz-TDS で脱溶媒機構を追跡可能か検証するため、PXRD、DVS、DSC、THz-TDS を用いた測定を実施した。また、合わせて IND-Sul-EtOH の吸湿性についても発生条件や程度を明らかにするため実験を行った。

4.2 実験

4.2.1 試料

メルク社のクリキシバンカプセルを購入した。クリキシバンカプセルから IND-Sul-EtOH の抽出を行った。構造式を Fig. 4-1 に示す。それ以外の試薬は購入可能な物の内、最も純度が高い物を使用した。

IND-Sul-EtOH の抽出方法は次の通りである。クリキシバンカプセル 5 個の中身を取り出し、15 mL の精製水に溶解した。溶液をフィルターろ過し、ろ液を 25°C の環境で析出物が現れるまで揮発させた。析出物を取り出し、EtOH に溶解し 25°C の環境で緩やかに揮発させたところ 2 日程度で板状結晶を得た。結晶が母液中に存在する状態で密封し、保管した。測定の際には結晶をスパーテルなどで取り出し、ろ紙の上に広げて結晶に付着した溶媒を取り除き、速やかに使用した。

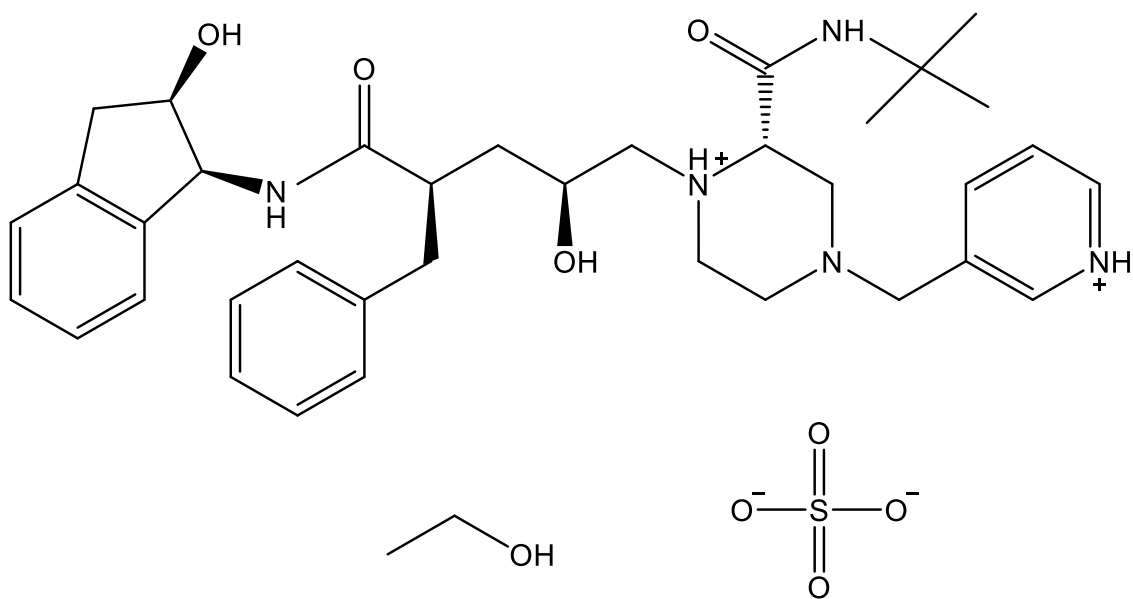


Fig. 4-1 IND-Sul-EtOH の化学構造

4.2.2 単結晶 X 線回折測定

単結晶 X 線回折測定は XtaLAB P200 (株式会社リガク) を使用した。線源は銅、電圧および電流はそれぞれ 40 kV、30 mA とした。単結晶は母液から取り出した後、ミネラルオイルに浸漬し速やかに 100 K の窒素気流に曝露させて冷却した。測定中も 100 K の窒素気流を暴露させ続け、単結晶内部の溶媒が脱溶媒するのを防いだ。構造決定と精密化は *SHELX*⁽⁷⁶⁾ 及び *ShelXL*⁽⁷⁷⁾ を用いた。*t*-Butyl 基と 1 つの EtOH は乱れた構造をしていたため、電子密度を確認しながらそれぞれ 2 種類の構造モデルを当てはめた。乱れのうちメジャーな構造と EtOH の占有率がほぼ同値であったことから、同じ占有率として解析を行った。結晶構造データは checkCIF⁽⁹⁴⁾ を使用してアラート A 及び B が無いことを確認し Cambridge Structural Database に登録した (CCDC: 1587068 (GONLED))。

4.2.3 熱分析

熱重量同時測定は Thermo plus TG-DTA system (株式会社リガク) を用いた。各試料は約 10 mg をアルミ製パンに充填し、昇温速度 10°C/min で 25–280°Cまでの範囲を測定した。等温測定では 30°Cを 60 分間維持した。

また、画像取得が可能な DSC である DSC7000X (日立テクノロジー株式会社) を用いて 30、100、150、180°Cにおける試料の様子を昇温測定しながら撮像した。

4.2.4 粉末 X 線回折測定、X 線回折-示差熱量測定

PXRD は MiniFlex600 (株式会社リガク) により測定した。試料はガラス製のプレートに乗せ、測定範囲は $2\theta = 5.0\text{--}30.0^\circ$ とした。線源は Cu-K α 線を用い、電流 15 mA、電圧 40 kV の条件で実施した。

PXRD 及び DSC の同時測定では Rigaku D/teX Ultra diffractometer 及び Thermo Plus 2 differential scanning calorimeter (いずれも株式会社リガク) を用いて実施した。昇温速度は $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 、測定範囲は $2\theta = 5.0\text{--}30.0^\circ$ とした。

4.2.5 テラヘルツ分光測定

テラヘルツ分光測定では希釈剤としてポリエチレン (MIPERON PM-200 三井化学株式会社) を使用した。IND-Sul-EtOH は同じ質量のポリエチレンと混合し、2 kN の圧力で 10 秒間加圧することで錠剤化した。錠剤の直径は 11.3 mm、厚みは 1.2 mm とした。

テラヘルツ分光測定は THz-TDS system TAS7500 (株式会社アドバンテスト) を用いて実施し、継時的なスペクトル変化を測定するため、乾燥空気下で 3 分ごとに 60 分まで合計 20 回スペクトルを取得した。試料の錠剤は打錠後 1 分以内に測定を開始した。

4.2.6 動的水分吸脱着測定と加湿下における安定性評価

DVS 測定は動的水分吸着測定装置を利用した。試料は約 15 mg をアルミ製のパンに充填し、25°Cの窒素環境下で湿度を調整した。湿度の範囲は 0%RH から 90%RH であり、0-90-0-90%RH のように湿度の上げ下げを行った。湿度の変化幅は 5%RH とした。

また、各湿度下における IND-Sul-EtOH の状態を評価するため、次の検討を行った。IND-Sul の 1.7 エタノール溶媒和物 (IND-Sul-1.7 EtOH) を 25°C、15%RH のデシケータに入れて 60 分乾燥させ IND-Sul の 1.0 エタノール溶媒和物 (IND-Sul-1.0 EtOH) を調製した。IND-Sul-1.0 EtOH を 15、52、75、93%RH の湿度環境下に静置し、1 日経過後に PXRD を測定した。

4.3 結果及び考察

4.3.1 単結晶 X 線回折測定

単結晶 X 線回折測定の結果、非対称単位にはインジナビル 1 分子、硫酸イオン 1 分子、エタノール 2 分子 (EtOH (i)、(ii)) が含まれていた (Table 4-1)。非対称単位および単位格子を Fig. 4-2 (a)、(b) に示す。インジナビルのピリジン環およびピペラジン環の窒素原子 N2 および N4 はフーリエマップからプロトン化されていることを確認した。

EtOH (i) と EtOH (ii) は占有率が異なり、それぞれ 1.00 および 0.66 であった。2 つの EtOH 分子は硫酸イオンおよびインジナビルの N2 原子と水素結合していた (Fig. 4-2 (c))。これらの EtOH は *b* 軸に沿ったカラム状の Void 内に存在していた (Fig. 4-3)。

EtOH (i) はエチル基部分に乱れた構造を持っており、占有率はそれぞれ 0.67 および 0.33 であった (Fig. 4-2 (c))。また、EtOH (i) のヒドロキシ基は 2 つの水素結合を形成しており、インジナビルのピペラジン N2 原子から水素を受容、硫酸イオンの O7 に水素を供与している。一方で EtOH (ii) はカラム状の Void の中央付近に位置しており、硫酸イオンの O7 と 1 つだけ水素結合を形成

し、ヒドロキシ基から水素を供与している。以上から EtOH (ii) の方が脱溶媒を起こしやすいと推測される。

インジナビルの *t*-Butyl 基は位置に乱れがあり、少なくとも 2 つのコンフォメーションが占有率 0.66、0.34 の比率で存在した (Fig. 4-4)。EtOH (ii) が存在する場合、EtOH (ii) C39 と EtOH (i) C38B 間及び EtOH (ii) C38A と *t*-Butyl 基 C34B 間の立体障害を考慮すると EtOH (i) 及び *t*-Butyl 基はいずれもメジャーなコンフォメーションでしか存在しえない (Fig. 4-4)。これらに基づいて考察すると EtOH (i) と *t*-Butyl 基は EtOH (ii) が脱溶媒するとメジャーからマイナーなコンフォメーションへ連動して変化すると推測できる。EtOH (ii) は単結晶測定をする際、部分的に脱溶媒してしまい、本来はメジャーなコンフォメーションのみからなる可能性もある。

Table 4-1 IND-Sul-EtOH の単結晶回折測定の詳細

| | |
|---|--|
| Crystal data | |
| Chemical formula | $C_{36}H_{47}N_5O_4 \cdot H_2SO_4 \cdot 1.7 (C_2H_6O)$ |
| Space group | $P2_1$ |
| Cell parameters (Å) | |
| a (Å) | 14.328(4) |
| b (Å) | 9.965(3) |
| c (Å) | 15.122(4) |
| β (Å) | 96.400(11) |
| Z | 2 |
| Data collection | |
| Temperature (K) | 100 |
| Wavelength (Å) | CuK α |
| $(\sin \theta / \lambda)_{\max}$ (Å ⁻¹) | 0.6 |
| Measured | 6094 |
| Observed [$F^2 > 2\sigma(F^2)$] | 2670 |
| R_{int} | 0.311 |
| Refinement | |
| No. of reflections | 6094 |
| R [$F^2 > 2\sigma(F^2)$] | 0.089 |
| $wR(F^2)$ | 0.198 |
| $\Delta\rho_{\max}, \Delta\rho_{\min}$ (e Å ⁻³) | 0.41, -0.35 |

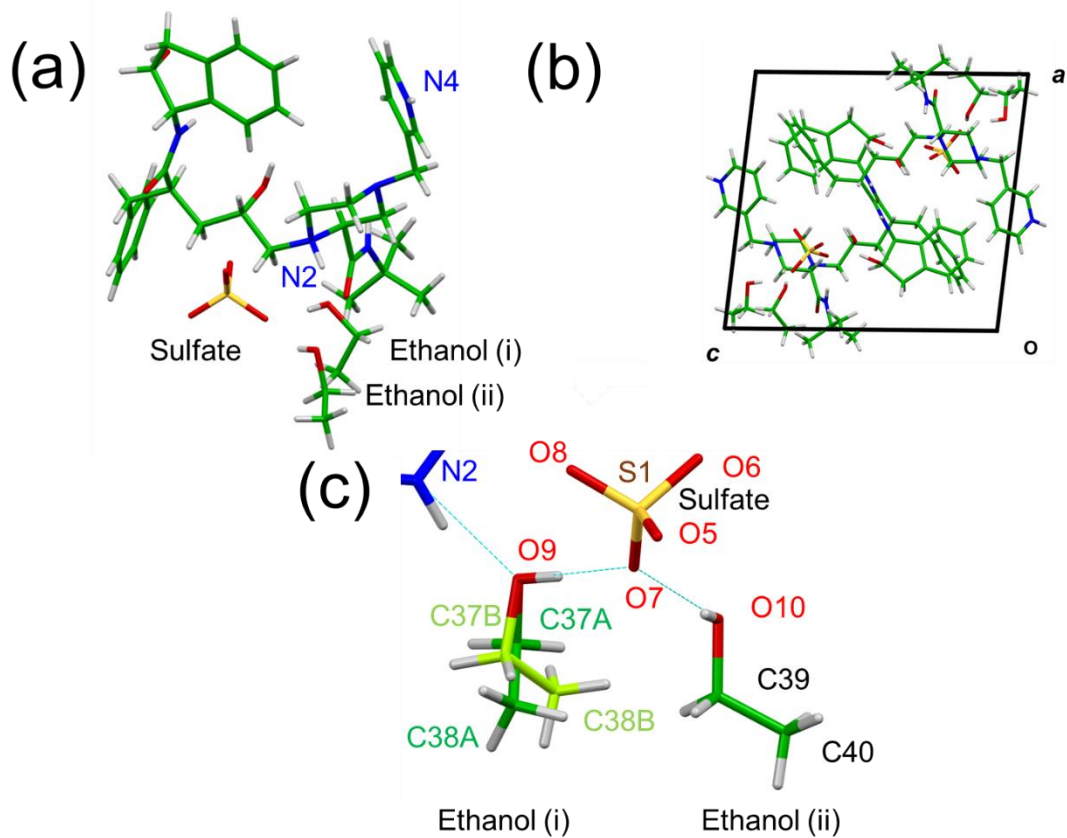


Fig. 4-2 IND-Sul-EtOH の結晶構造における特徴

- (a) IND-Sul-EtOH のメジャーなコンフォメーションからなる結晶構造
 (b) *b* 軸方向から見た単位格子。メジャーなコンフォメーションのみを表示。
 (c) EtOH (i)、(ii)の水素結合および乱れの様子。緑はメジャー、黄緑はマイナーなコンフォメーションを表している。

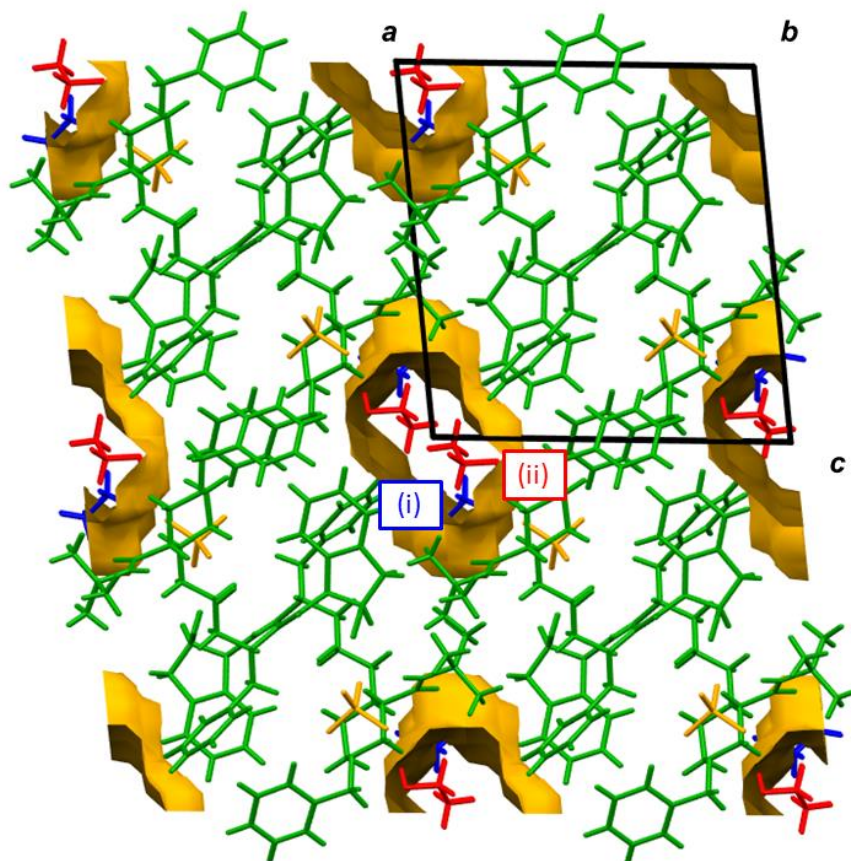


Fig. 4-3 IND-Sul-EtOH の Void

青は EtOH (i)、赤は EtOH (ii)を表している。
EtOH (ii)の方が Void の中心付近に存在していた。

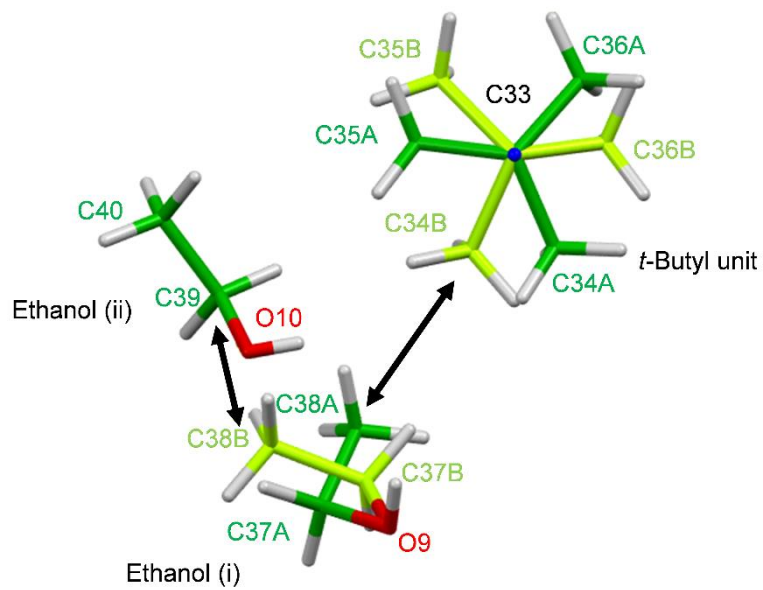


Fig. 4-4 IND-Sul-EtOH の乱れと立体障害

緑がメジャーな構造、黄緑がマイナーな構造、
黒い矢印が立体障害を示している。

4.3.2 熱分析

TG-DTA の結果、100°C付近に 4.3%の緩やかな重量減少を伴う吸熱ピーク、140°Cから 180°C付近に 5.1%の重量減少を伴う鋭い吸熱ピークが観察された (Fig. 4-5)。これらの重量減少はそれぞれ 0.73 および 0.87 分子の EtOH 分子に相当する。これらの値は EtOH (ii)及び EtOH (i)の脱溶媒に対応しており、100°Cで EtOH (ii)、180°Cで EtOH (i)が脱溶媒すると推測できる。IND-Sul-EtOH は 150°Cで融解したことが試料の映像から明らかになったので (Fig. 4-6) TG-DTA の 140°C付近の吸熱ピークは融解と EtOH (i)の脱溶媒に起因するものと考えられる。

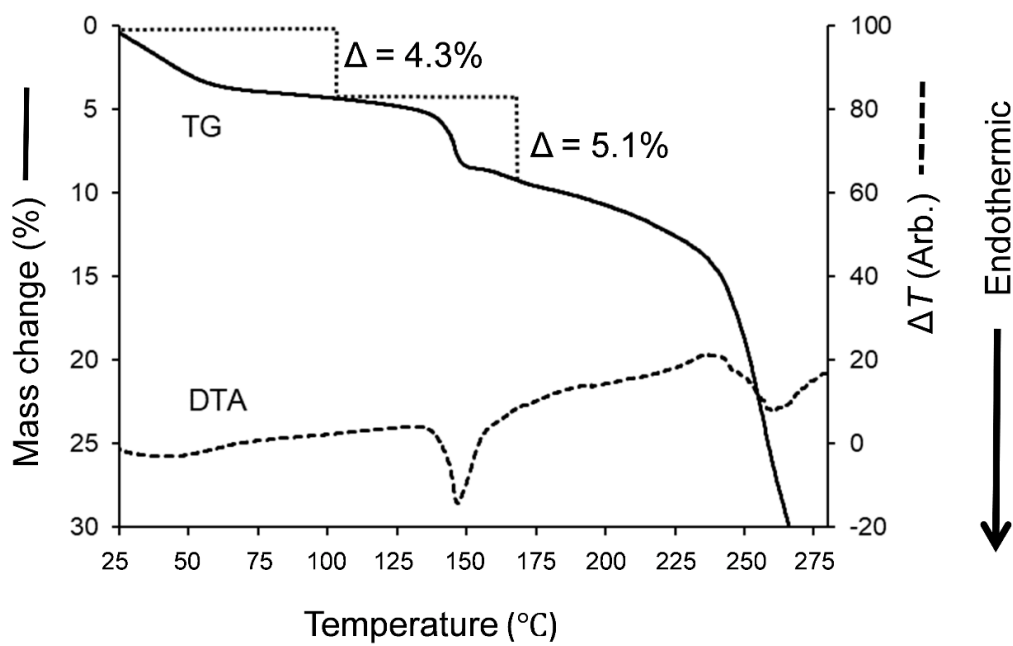


Fig. 4-5 IND-Sul-EtOH の TG-DTA 測定結果

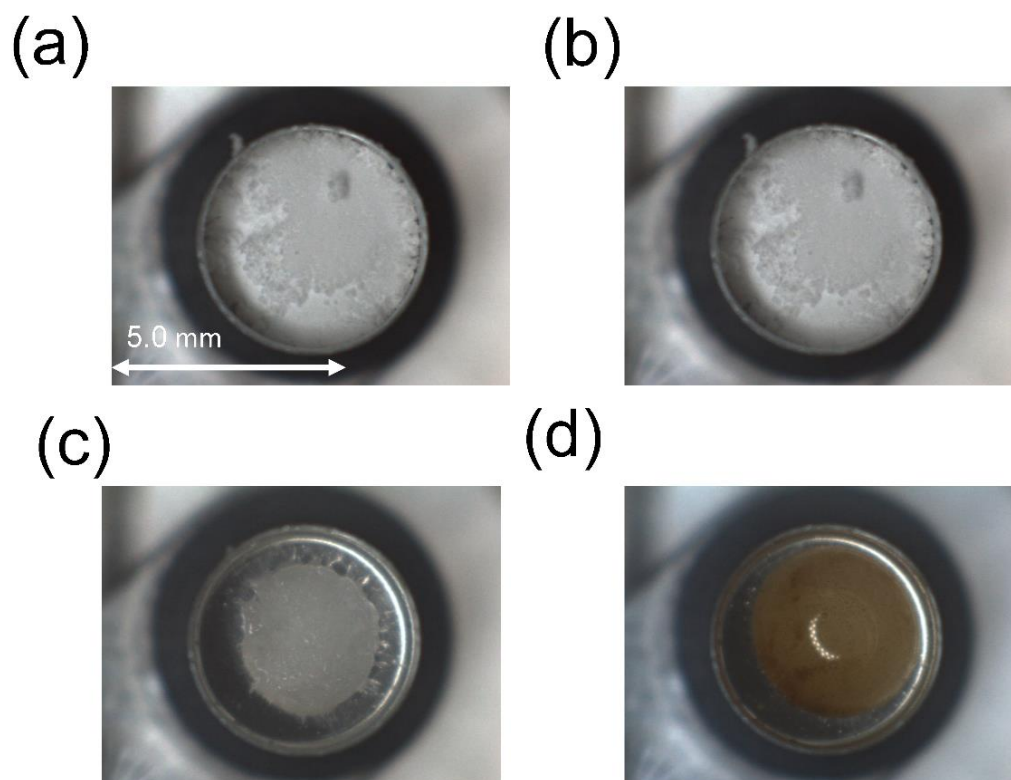


Fig. 4-6 IND-Sul-EtOH の DSC 昇温測定時における試料の様子

(a) 30°C、(b) 100°C、(c) 150°C、(d) 180°C

室温における脱溶媒の挙動を明らかにするため、TG-DTA を用いて 30°C を維持したまま重量変化を記録した。重量減少は測定開始後すぐに起こり始め、60 分後まで続いた (Fig. 4-7)。減少量の合計は 3.4% であり、0.58 分子のエタノールに対応していた。この値は結晶構造中で水素結合の形成数が 1 個と少ない EtOH (ii) の占有率と同等であった。これらの結果は EtOH (ii) が優先的かつ自然に脱溶媒することを示唆しており EtOH (i) は結晶内に残っていた。すなわち、密閉されていない環境下では EtOH を 1 分子だけ含む結晶構造が支配的であると考えられる。

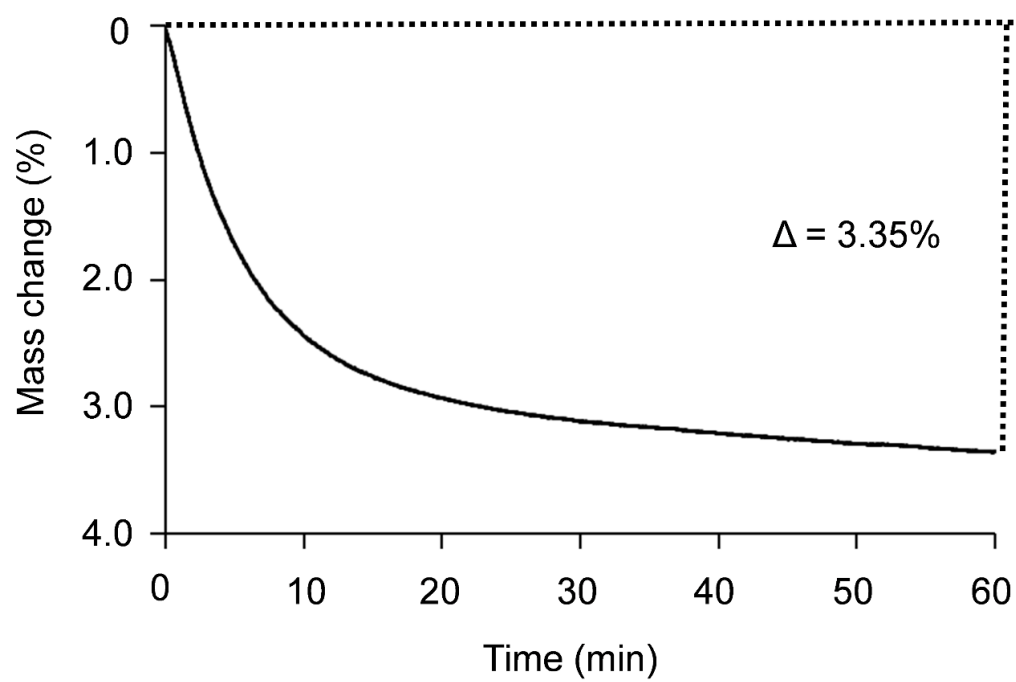


Fig. 4-7 IND-Sul-EtOH の 30°Cにおける等温重量測定

4.3.3 粉末 X 線回折測定、X 線回折-示差熱量測定

PXRD-DSC では、融点 (140°C) 以下の PXRD パターンはほぼ同じであった (Fig. 4-8)。しかし、TG-DTA で示されたように測定中に EtOH (ii) が脱溶媒したと考えられる。これは脱溶媒が起こったとしても結晶全体の変化はごく僅かであると示唆している。占有率の低い EtOH (ii) の 100 K における温度因子は約 0.10 \AA^2 と大きく、そのため X 線回折強度にほとんど寄与しなかったと考えられる。温度因子の大きいまたは乱れた構造の溶媒分子は X 線回折強度にほとんど寄与しないことが既に報告されている⁽⁹⁵⁾。従って、脱溶媒を PXRD で観測するのは非常に困難であり、重量測定や分光法のような別の測定法を採用する必要がある。テラヘルツ分光法は結晶の格子振動の変化を観測可能である。結晶からの脱溶媒は格子振動に影響を与える。すなわち、テラヘルツ分光法は常温において結晶表面から EtOH が揮発する場合ではなく、結晶内部から脱溶媒する過程を確認可能と考えられる。

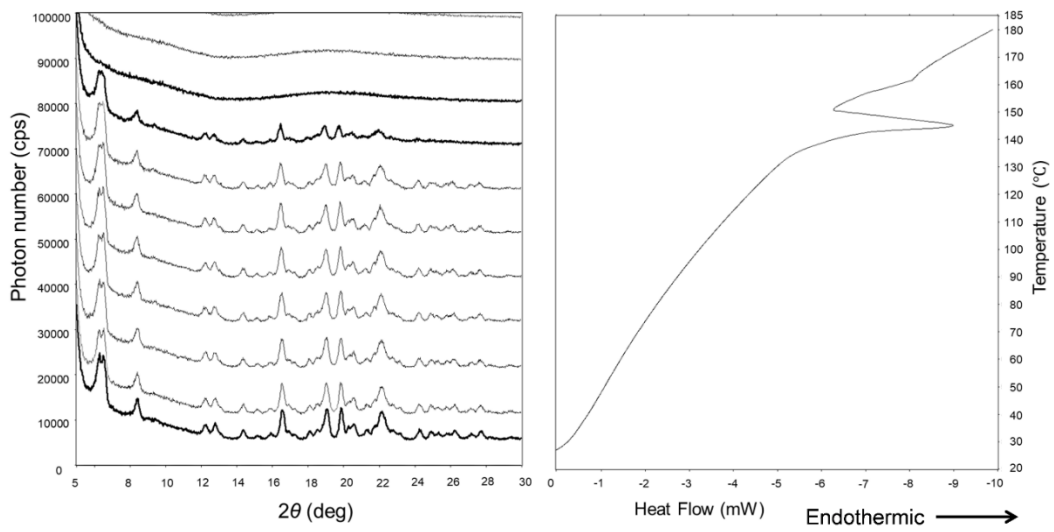


Fig. 4-8 IND-Sul-EtOH の PXR-DSC 測定

4.3.4 テラヘルツ分光測定

IND-Sul-EtOH のテラヘルツスペクトルを 25°C で経時的に測定し、EtOH (ii) の脱溶媒をテラヘルツ分光法で測定できるかどうか明らかにした。0–2.0 THz の吸光スペクトルには明確なピークは見られないが、時間の経過とともに吸光度は減少した (Fig. 4-9)。この減少はガス流量の変化によるものではないことは、対照実験として D-マンニトールを 60 分間連続して測定したときの吸光度が一定 (Fig. 4-10) であったことから判断できる。結晶格子の振動モードは、硫酸イオンの周りに水素結合が多く形成されていること、EtOH (ii) と *t*-Butyl 基が乱れていること、各単結晶が EtOH (ii) を含む結晶セルと含まない結晶セルの混合物で構成されていることなどから、エネルギーが変化し、テラヘルツのエネルギー領域で重なっていたと考えられる。明確なピークが観測されなかったのもこのためと思われる。Fig. 4-11 (a) は、1.0 THz における吸光度の時間変化を示している。測定周波数を 1.0 THz としたのは、この周波数付近では、吸光度と EtOH (ii) 脱溶媒の比率に強い相関関係が見られたからである (Fig. 4-11 (b))。次に 1.0 THz における重量変化を横軸、吸光度の変化を縦軸にプロットした (Fig. 4-11 (c))。等温重量測定では重量は減少し、約 20 分で一定になったが、そこから算出した EtOH (ii) の脱溶媒の比率は、吸光度値と強い相関があっ

た。母液から結晶試料を取り出してから分析を開始するまでの時間は、THz-TDS と TG-DTA でほぼ同じであり、母液には EtOH が含まれているため試料調製時の脱溶媒は制限されていた。

これは THz-TDS と等温重量測定 of いずれにおいても、EtOH (ii) の脱溶媒が同様に起こり、EtOH (ii) の脱溶媒が進むにつれて、1.0 THz での吸光度が低下したことを示している。EtOH (ii) の脱溶媒の律速段階は、カラム状の Void を介した EtOH の拡散であると考えられ、質量や形状の異なる試料を用いた等温重量測定と THz-TDS 分析法で、脱溶媒が同様に進行した理由である。Fig. 4-11 (c) の近似直線からのずれは、テラヘルツ分析では圧縮された錠剤、熱重量測定では粉体という試料形状の違いによるものと考えられる。THz 領域での吸光度の変化と溶媒和結晶の脱溶媒率との間に強い相関関係が見られたことから、THz-TDS によって脱溶媒プロセスを定量的に追跡可能であることが初めて示された。

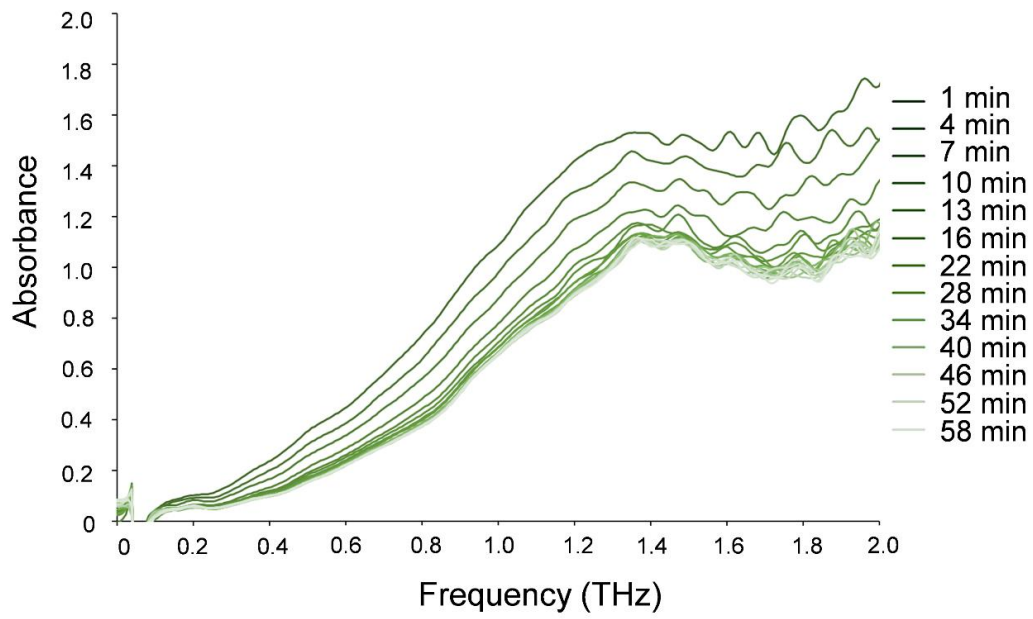


Fig. 4-9 IND-Sul-EtOH のテラヘルツスペクトル

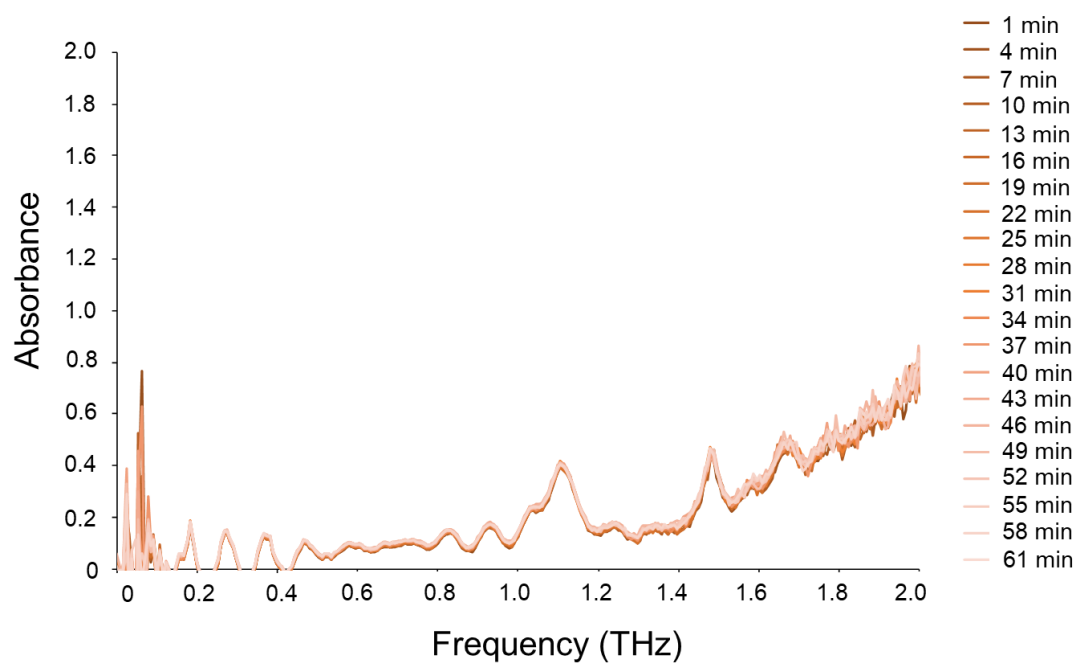


Fig. 4-10 D-マンニトールのテラヘルツスペクトル

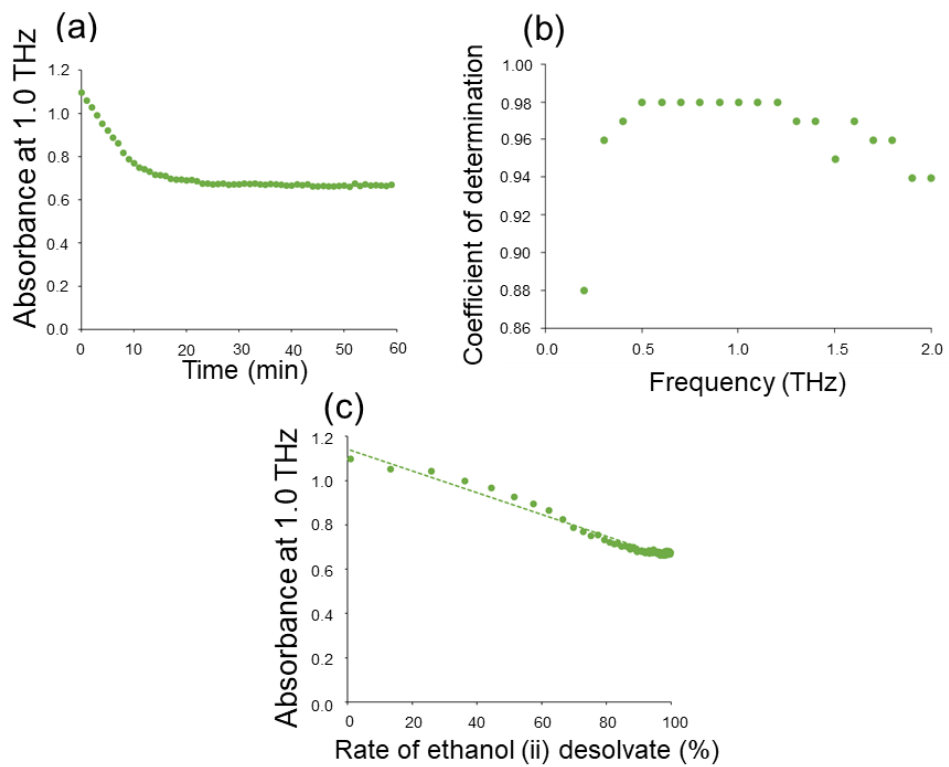


Fig. 4-11 吸光度と重量変化の比較

- (a) 1.0 THz における吸光度の時間変化
- (b) 各周波数における等温重量測定と吸光度の決定係数のプロット
- (c) 等温重量測定の結果と 1.0 THz における吸光度のプロット

4.3.5 動的水分吸脱着測定と加湿下における安定性評価

インジナビル硫酸塩 1 エタノール溶媒和物 (IND-Sul-1EtOH) の加湿下における安定性を評価した。DVS 測定の前に試料を窒素ガスに暴露させ EtOH (ii) を脱溶媒させた。DVS 測定では、1 サイクル目に相対湿度を 45%RH から 60%RH に上げると、質量が緩やかに増加し、その後 60%RH 前後で急激に増加した (Fig. 4-12)。IND-Sul-1EtOH の PXRD パターンは、15%RH および 52%RH で保存した場合は変化がなかったが、75%RH および 93%RH で保存した場合は潮解によるハローパターンが見られた (Fig. 4-13(a)–(d))。従って、CRH は 60%RH であり、CRH 以下では結晶が同形のままであることが判明した。相対湿度を 90%RH から 0%RH に下げたところ、潮解した試料は透明なまま乾固し、質量は 3.9%減少した。潮解した試料を 15%RH で 1 日乾燥したところ白い粉末状となり、PXRD ではハローパターンを示したので、潮解した試料を乾燥するとアモルファスとなることが確認された (Fig. 4-13(e))。3.9%の質量減少は 1 分子の EtOH の質量減少 (計算値 5.6%) に近いこと、結晶構造中の EtOH (i) は DVS 測定の 1 サイクル目で結晶から脱離し、結晶内の Void は部分的に水和した可能性がある。EtOH (i) は 2 つの水素結合により結晶中で強固に結合しているため、結晶格子が失われる 60%RH 付近で脱溶媒すると推定された。1 サイ

クル目と2サイクル目のDVS測定の結果が一致したのは結晶の状態では水溶性がかなり高く、測定中にアモルファスとなっても水溶性があまり変化しなかったためだと考えられる。

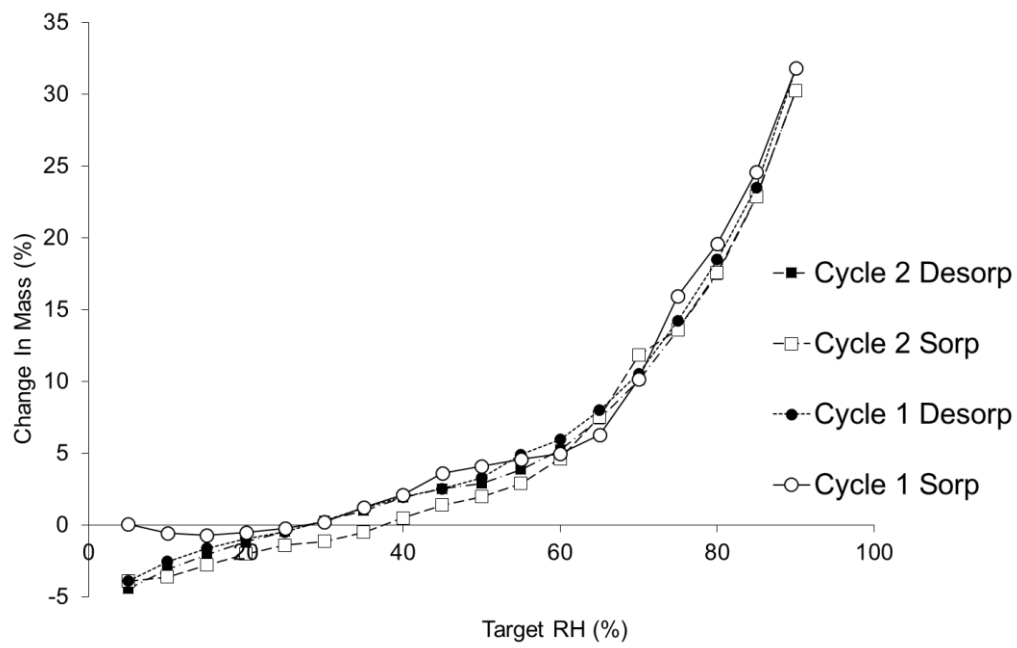


Fig. 4-12 IND-Sul-EtOH の DVS 測定

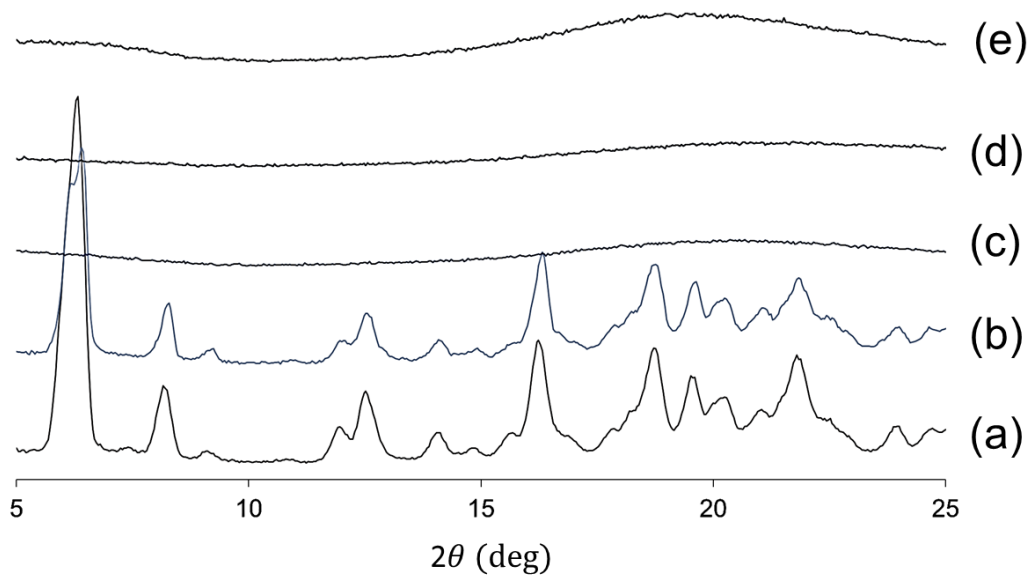


Fig. 4-13 IND-Sul-1EtOH の PXR D 測定

IND-Sul-1EtOH を 25°C かつ (a) 15%RH (b) 52%RH (c) 75%RH (d) 93%RH に調湿したデシケーターに 1 日保存した後に測定した。

(e) は 93%RH に調湿したデシケーターに 1 日保存した後、さらに 15%RH のデシケーターで 1 日保存して測定した。

IND-Sul-EtOH の脱溶媒とその転移関係は次のように表される (Fig. 4-14)。

IND-Sul-1EtOH は 140°Cにおいて EtOH を失って融解した。IND-Sul-EtOH は本来 2 分子の EtOH を含む結晶として析出し、常温で大気に曝されると 1 分子の EtOH、すなわち EtOH (ii)を失うと考えられる。単結晶構造解析で 1.7 分子の EtOH の存在が観測されたのはこのためである。しかしながら、EtOH (ii)を失う変化は結晶構造に対する寄与が小さいため、PXRD では変化が無いように見えた。その脱溶媒のプロセスはテラヘルツ分光法により観測可能であった。IND-Sul-EtOH は加湿環境下において 25°C60%RH で潮解したが、それを乾燥させても元の結晶に戻らなかったため EtOH の脱溶媒だと示唆された。

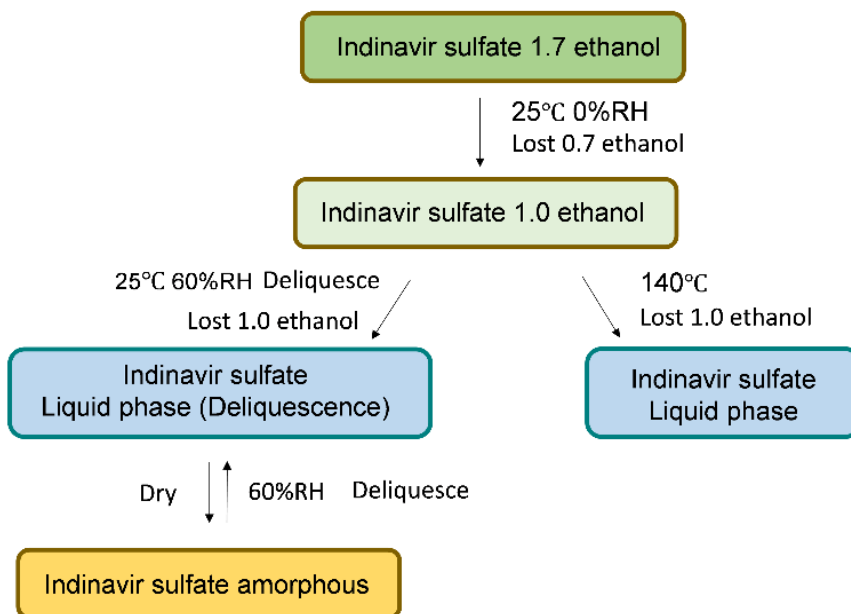


Fig. 4-14 IND-Sul-EtOH の転移関係図

4.4 小括

本研究は、PXRD では観察できない API からの脱溶媒を THz-TDS を用いて初めて観測したものである。すなわち、THz-TDS は医薬品の品質評価や PAT において新しく、有用な技術となる可能性がある。また、モデル薬物の IND-Sul-EtOH は常温で脱溶媒が進行する。さらに、25°C60%RH では潮解が起こる。これを防ぐためには処方設計や外気を遮断する包装が必要となる。

5. XANES を利用した結晶形の同定と転移現象の考察 I

5.1 背景

API の物理化学的評価が重要であることはこれまでに述べた通りであり、API の製造や保管において結晶形を確認することは欠かせない事項である。また、産業界で結晶形の評価は特許取得や特許上のトラブルを回避または解決するためにも汎用されている。結晶形の評価は一般的に PXRD、熱分析の他、固体 NMR、ラマン分光法、FT-IR などが用いられているが、これらには一長一短があるので試料ごとに適切な方法を選択する必要がある。一つの評価法で判断が困難な場合は複数の方法を組み合わせて総合的に判定を下すため、評価法の選択肢は多い方が望ましい。本研究は、API の新規評価法として、内殻電子励起の分光法である X 線吸収分光法 (X-ray absorption spectroscopy: XAS)⁽⁹⁶⁾に着目した。物質を透過した X 線の強度は物質内の電子の励起や電子による散乱により減少する。X 線の吸収スペクトルは電子の励起確率と対応しており、X 線を吸収する原子の電子的性質を知ることができる。スペクトルは特定のエネルギーにおいて鋭く立ち上がり、これは吸収端と呼ばれ、エネルギーとともに次第に減衰していく。この吸収端周辺の領域は XANES と呼ばれ、徐々に減衰する領域は広域 X 線吸収微細構造 (Extended X-ray fine structure: EXAFS) と呼ば

れている。これら2つの領域は合わせて XAFS とされている。XANES スペクトルの形状は X 線を吸収する原子の価数や形成している結合等の影響を受ける。また、XANES 測定は数十 mg 以下の試料量で実施可能であり、量が限られた API の結晶形を評価するのに適している。XANES 測定は試料の状態によらず適用可能であり、結晶、非晶質、液体、気体の測定が可能である。XANES 測定は元素に特異的な測定であり、X 線吸収の対象となる元素を含まなければ、添加剤などの共存物質による影響を受けない。

1.3.4 に記載した通り、XANES はこれまで様々な分野で用いられてきた。しかし、API に用いられた例は報告されていない。多くの医薬品は共有結合をしたハロゲン原子を含んでおり、XANES によってそれらの化学的な情報を得ることができると考えられる。本研究では Cl-K XANES スペクトルが溶媒和物や塩の形成によって異なるものになるかどうか同一の API を用いて検討した。腸管運動改善薬であるモサプリド (Mosapride: MOSA) をモデル薬物とした。MOSA はベンゼン環に共有結合した非イオン性の塩素原子を一つだけ含んでいるためである。

5.2 実験

5.2.1 試料

モサプリドクエン酸2水和物 (Mosapride citrate dihydrate: MOSA-Cit-2hyd) は株式会社陽進堂製のものを使用した (Fig. 5-1)。その他の試薬は全て特級を用いた。

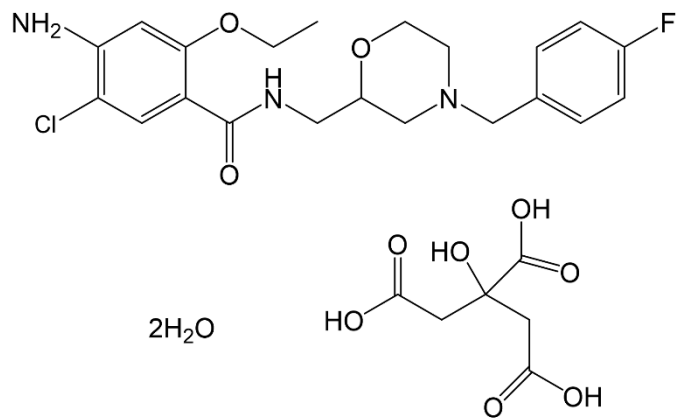


Fig. 5-1 MOSA-Cit-2hyd の化学構造

5.2.2 結晶の調製

MOSA-Cit-2hyd を 0.2 g 秤量し、2 mL の *N,N*-dimethylformamide (DMF) に溶解し、精製水 2 mL を貧溶媒として加えた。ふたをして 1 日静置することで MOSA-Cit-2hyd の単結晶を得た。

MOSA-Cit-2hyd を 0.2 g 秤量し、15 mL の 1-ブタノールに溶解した。ふたをせずに 7 日静置することでモサプリドクエン酸ブタノール溶媒和物 (Mosapride citrate 1-butanolate: MOSA-Cit-Bu) の単結晶を得た。

MOSA-Cit-2hyd を 0.2 g 秤量し、10 mL のメタノールに溶解した。ふたをせずに 7 日静置することでモサプリドクエン酸無水物 (Mosapride citrate anhydrate: MOSA-Cit-Anhyd) の単結晶を得た。

MOSA-Cit-2hyd を 0.2 g 秤量し、50°C に加温した 10 mL のプロピレングリコールに溶解した。常温で 7 日静置することでモサプリドプロピレングリコール溶媒和物 (Mosapride propylene glycolate: MOSA-PG) の単結晶を得た。

5.2.3 Cl-K XANES 測定

Cl-K XANES 測定はあいちシンクロトロン光センター（愛知県瀬戸市）のビームライン BL6N1 で実施した。MOSA の粉末試料はカーボンテープに付着させ、チャンバーに設置した。測定は 25°C のヘリウム曝露下で行われ、X 線のエネルギーの校正には K_2SO_4 の S-K 吸収端を用いた。測定は全電子収量法で行い、スペクトル解析は解析ソフトウェア *Athena*⁽⁹⁷⁾ を用いた。解析においてはスペクトルを規格化し、吸収端の前後で吸光度の差が 1 となるように行った。

5.2.4 単結晶および粉末 X 線回折測定

MOSA-PG、MOSA-Cit-Bu、MOSA-Cit-2hyd の単結晶 X 線回折測定は Spring-8 (兵庫県、日本) の BL02B1 にて実施した。MOSA-Cit-anhyd は Rigaku Xta-LAB P200 を用いて実施した。全ての単結晶は溶媒から引き揚げた後、直ちにポリイミド製のループにグリスを用いて取り付け、脱溶媒を防ぐため即座に 93 K の窒素ガスに曝露させ、そのまま測定を行った。初期構造は *SHELEXT*⁽⁷⁶⁾ によって求め、精密化に *SHELEXL*⁽⁵¹⁾ 及び *shelXle*⁽⁷⁷⁾ を用いた。水素原子は親原子に紐づけた位置に束縛して処理した。結晶構造データはいずれも CheckCIF⁽⁹⁴⁾ を利用し、Alert level A 及び B が無いことを確認して The Cambridge Structure Database に投稿した。

PXRD は MiniFlex600 (株式会社リガク) により測定した。試料はガラス製のプレートに乗せ、測定範囲は $2\theta = 5.0\text{--}25.0^\circ$ とした。線源は Cu-K α 線を用い、電流 15 mA、電圧 40 kV の条件で実施した。

5.3 結果および考察

5.3.1 単結晶および粉末 X 線回折測定

メタノール、プロピレングリコール、1-ブタノールから析出した結晶は PXRD において、MOSA-Cit-2hyd と異なるピークパターンを示した (Fig. 5-2)。4 種類の MOSA 結晶を SC-XRD により化学的な比率の決定および構造決定をした (Table 5-1)。4 種類の結晶の内、3 つはクエン酸を含んでおり、それぞれは MOSA-Cit-2hyd、MOSA-Cit-Anhyd、MOSA-Cit-Bu を含んでいた。1-ブタノールの占有率は 0.43 であった。プロピレングリコールから得られた結晶は MOSA とプロピレングリコールを 1:1 の割合で含んでいた (MOSA-PG)。MOSA-PG は斜方晶系であったが、他の 3 つの MOSA 結晶は全て単斜晶系であった。

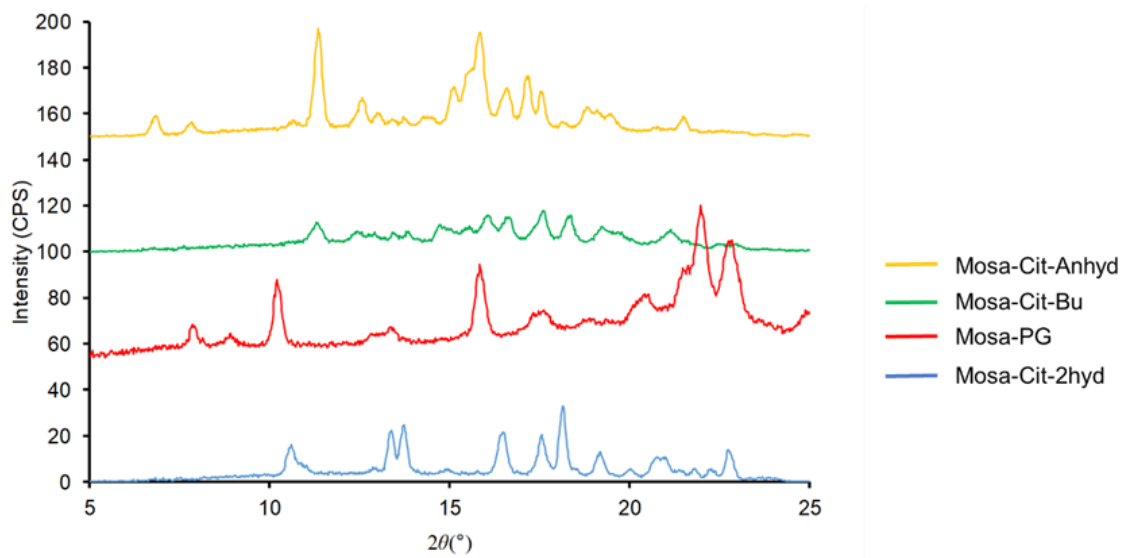


Fig. 5-2 各 MOSA 結晶の PXRD 測定結果

Table 5-1 各 MOSA 結晶の構造学的パラメータ

| Crystal data | | | | |
|--|---|---|---|--|
| Name | Mosapride citrate hydrate (MOSA-Cit-2hyd) | Mosapride citrate 1-butanolate (MOSA-Cit-Bu) | Mosapride citrate anhydrate (MOSA-Cit-Anhyd) | Mosapride propylene glycolate (MOSA-PG) |
| Chemical formula | $C_{21}H_{26}ClFN_3O_3^+$, $C_6H_7O_7^-$, 2 (H ₂ O) | $C_{21}H_{26}ClFN_3O_3^+$, $C_6H_7O_7^-$, 0.43 (C ₄ H ₁₀ O) | $C_{21}H_{26}ClFN_3O_3^+$, $C_6H_7O_7^-$ | $C_{21}H_{25}ClFN_3O_3$, $C_3H_8O_2$ |
| Space group | $P2_1/c$ | $P2_1/n$ | $P2_1/c$ | $P\bar{1}$ |
| Cell parameters (Å, °) | | | | |
| <i>a</i> | 18.4823 (19) | 7.7667 (9) | 7.9527 (4) | 10.0778 (18) |
| <i>b</i> | 9.4435 (10) | 17.222 (2) | 16.7599 (7) | 10.8763 (19) |
| <i>c</i> | 18.0819 (18) | 23.810 (3) | 23.5347 (13) | 12.237 (2) |
| <i>α</i> | - | - | - | 99.450 (7) |
| <i>β</i> | 114.381 (8) | 90.175 (6) | 90.359 (4) | 100.594 (7) |
| <i>γ</i> | - | - | - | 99.321 (7) |
| Cell volume (Å ³) | 2874.5 (5) | 3184.7 (7) | 3136.8 (3) | 1274.8 (4) |
| <i>Z</i> | 4 | 4 | 4 | 2 |
| Data collection | | | | |
| Temperature (K) | 93 (2) | 93 (2) | 93 (2) | 93 (2) |
| Wavelength (Å) | 0.7006 | 0.7006 | 0.7107 | 0.6999 |
| ($\sin\theta/\lambda$) _{max} (Å ⁻¹) | 0.600 | 0.600 | 0.600 | 0.600 |

Table 5-1 各 MOSA 結晶の構造学的パラメータ (続き)

| | | | | |
|-----------------------------|---------|---------|---------|---------|
| No. of reflections | | | | |
| Measured | 27343 | 41781 | 53672 | 9417 |
| Observed | | | | |
| [$F^2 > 2\sigma(F^2)$] | 6516 | 7300 | 8246 | 5468 |
| R_{int} | 0.0599 | 0.1181 | 0.1006 | 0.0529 |
| Refinement | | | | |
| No. of reflections | 6516 | 7300 | 8246 | 5468 |
| $R [F^2 > 2\sigma (F^2)]$ | 0.0488 | 0.0994 | 0.0628 | 0.0582 |
| $wR (F^2)$ | 0.1499 | 0.2413 | 0.1502 | 0.1512 |
| Goodness-of-fit on F^2 | 1.161 | 1.511 | 0.995 | 1.041 |
| CCDC number | 1995115 | 1995117 | 1995118 | 1995116 |

5.3.2 Cl-K XANES 測定

Cl-K XANES 測定の結果、吸光度が急激に増加する部分の変曲点 (E_0) はいずれのスペクトルも 2822.8 eV であった⁽⁹⁸⁾ (Fig. 5-3)。全てのスペクトルにおいて 2823.6、2827.4–2827.7、2829.8–2830.0 eV 付近に 3 つの主要なピークが確認された。これらのスペクトルの特徴から MOSA-PG とそれ以外の 2 グループに大別可能であった。MOSA-PG は 2827.7 eV のピークが他と比べて明らかに高く、続く 2830.0 eV のピークは肩のような形状であった。これらの結晶は測定された Cl 原子を含む同じ MOSA 分子で構成されているため、XANES スペクトルの違いは結晶中における MOSA 分子の構造の違いに起因すると考えられた。続いて、これらの結晶構造を詳細に比較した。

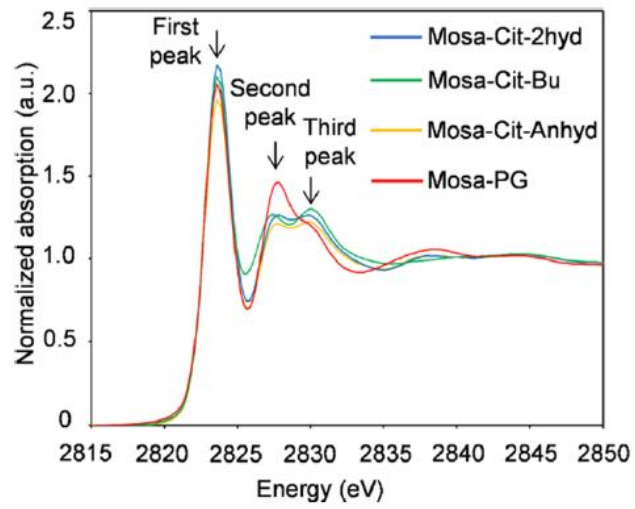


Fig. 5-3 各 MOSA 結晶の Cl-XANES 測定結果

MOSA 分子の N3 原子周辺の水素原子の状況に注目したところ、結晶により違いがあった。MOSA 分子の 3 級アミンである窒素原子 (N3) はクエン酸塩である MOSA-Cit-2hyd、MOSA-Cit-Anhyd、MOSA-Cit-Bu においてプロトン化されていた。一方、MOSA-PG の N3 はプロトン化されておらず、代わりにプロピレングリコールとの水素結合のアクセプターとなっていた。N3 と Cl 原子は 5 Å 以上離れた場所に位置し、 π 電子の介在しない 9 つの共有結合が間に存在していたため、N3 のプロトン化の有無は Cl の XANES スペクトルに影響していないと考えられた。

MOSA 結晶に含まれる分子の 4-fluorophenyl 基付近におけるコンフォメーションの違いを確認するため構造を重ね合わせた (Fig. 5-4)。4-Fluorophenyl 基付近 (C12-N3-C15-C16) のねじれ角は MOSA-Cit-Anhyd 52.4–69.4°、MOSA-Cit-Bu 71.0°、MOSA-PG 177.1°、MOSA-Cit-2hyd 175.5°であり、結晶によって 100°以上の差が確認された。MOSA-Cit-Anhyd の 4-fluorophenyl 基付近には直径 3.77 Å、長さ 5.51 Å の Void が存在しており、4-fluorophenyl 基は 44%、42%、14%の占有率でそれぞれ 3 つの位置に存在していた。MOSA-Cit-Anhyd 及び MOSA-Cit-Bu はほとんど同型結晶であり、1-ブタノールは Void に対応する位置に存在していた。コンフォメーションにこのような違いがあるにも関わらず、

XANES スペクトルが MOSA-PG だけ異なっている理由は、コンフォメーションの違いのある分子内の領域が Cl 原子よりも離れているためである。従って、これらの構造的な違いでは MOSA-PG の XANES スペクトルを説明できないと考えられる。

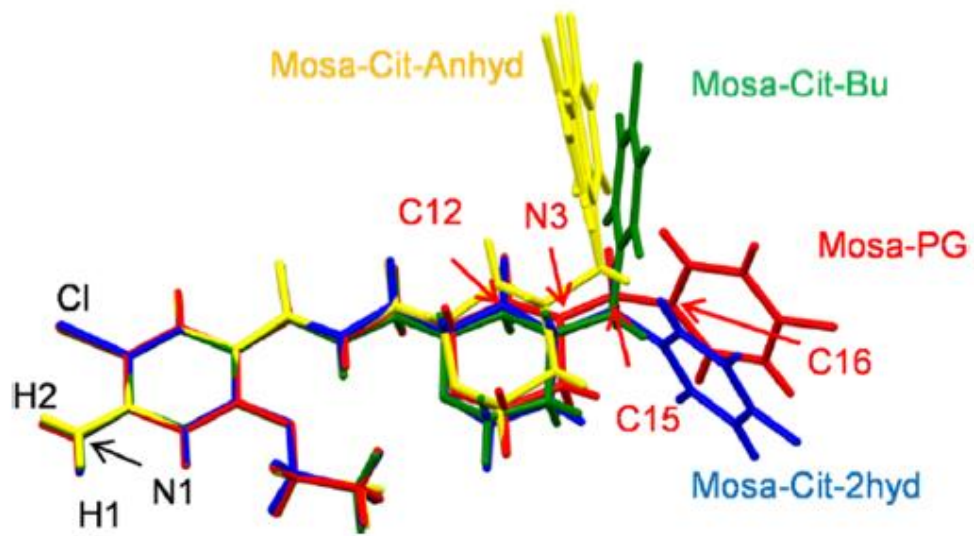


Fig. 5-4 各 MOSA 結晶構造の重ね合わせ

次に各 MOSA 分子の Cl 原子周辺の相互作用に注目した。3.6 Å 以下の分子内の原子を Table 2-2 に示す。Cl 原子に近接するほとんどの原子は C 原子に結合した H 原子であるが、可能性として MOSA-Cit-Anhyd の 4-fluorophenyl 基に含まれる F 原子 (F1C) の影響もあるかもしれない。MOSA-Cit-Anhyd の F1C 原子と Cl 原子の距離は 3.17 Å であり、ファンデルワールス半径⁽⁹⁹⁾の合計よりも小さい。しかし、F1C 原子の占有率はわずか 14%なので XANES スペクトルに対する寄与は無視できる程度だと考えられる。MOSA-Cit-Anhyd に含まれる占有率の高い F 原子 (F1A 原子および F1B) は Cl 原子から十分に離れた位置 (3.82 Å、3.54 Å) に存在していた。他に注目すべきは MOSA-PG の Cl 原子と H 原子の相互作用である。MOSA-PG の Cl 原子の近くに存在する H 原子 (H25) は芳香族炭素に結合しており、その距離は 2.94 Å でファンデルワールス半径の和よりも小さい (Fig. 5-5)。対照的に Cl 原子の近くに存在する H 原子は MOSA-PG 以外の結晶ではほとんど脂肪族炭素に結合しており、ファンデルワールス半径の和よりも大きな距離であった。これは MOSA-PG の XANES の特徴を説明する一つの仮説となるかもしれない。

Table 5-2 各 MOSA 結晶構造における C1 原子と近傍原子の距離

塩素、水素、フッ素のファンデルワールス半径はそれぞれ 1.75、1.20、1.47 Å であり、アスタリスクは原子間距離がファンデルワールス距離より短いものである。

| Crystals | Distance (Å) | Atom name | Hydrogen type |
|----------------|--------------|-----------|-----------------------|
| MOSA-PG | 2.62* | H2 | Amino moiety |
| | 2.94* | H25 | Aromatic |
| | 3.00 | H7 | Aliphatic (methyl) |
| | 3.11 | H4 | Aromatic |
| | 3.17 | H18 | Aliphatic (methylene) |
| MOSA-Cit-Bu | 2.57* | H2 | Amino moiety |
| | 2.99 | H9 | Aliphatic (methyl) |
| | 3.04 | H31 | Aliphatic (methylene) |
| | 3.31 | H37 | Aliphatic (methylene) |
| | 3.50 | H7 | Aliphatic (methyl) |
| MOSA-Cit-Anhyd | 3.17* | F1C | |
| | 2.61* | H2 | Amino moiety |
| | 3.02 | H9 | Aliphatic (methyl) |
| | 3.03 | H6 | Aliphatic (methylene) |
| | 3.07 | H31 | Aliphatic (methylene) |
| MOSA-Cit-2hyd | 3.13 | H18 | Aliphatic (methylene) |
| | 2.65* | H2 | Amino moiety |
| | 3.00 | H18 | Aliphatic (methylene) |
| | 3.05 | H7 | Aliphatic (methyl) |
| | 3.17 | H35 | Hydroxyl |
| | 3.34 | H19 | Aliphatic (methylene) |

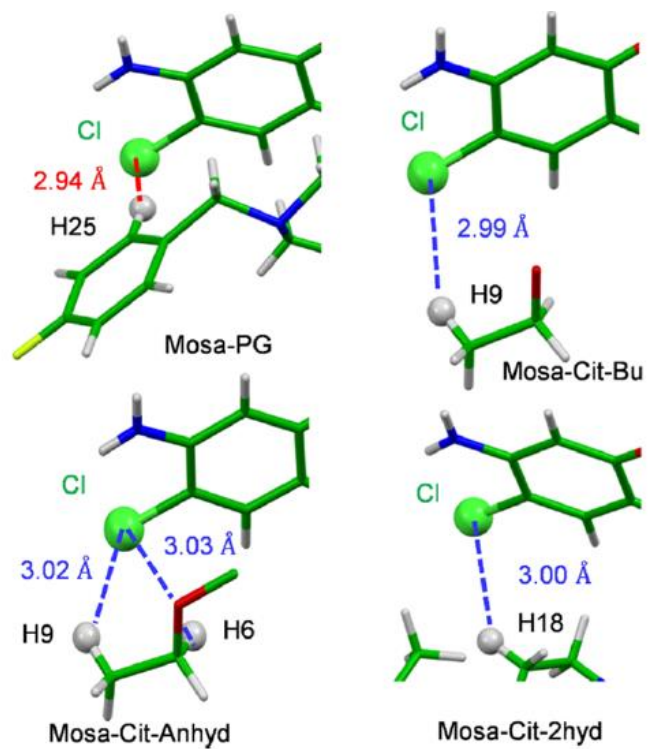


Fig. 5-5 各 MOSA 結晶構造における Cl 原子の近接原子

Cl原子もまた分子内で近接するアミノ基 (H1、N1、H2 を含む) と相互作用をしており、MOSA-PGはこの点においても特徴的な構造を有している。Cl原子とN1原子の距離はMOSA-Cit-Anhyd、MOSA-Cit-Bu、MOSA-Cit-2hydにおいて2.979–3.003 Åであり、平均値は2.993 Å、標準偏差は0.012 Åであった。MOSA-PGにおいてこの距離は3.022 Åと他の結晶よりも0.029 Å (2.4 σ)長かった。これはアミノ基における分子間水素結合の違いに起因するものだと考えられる。アミノ基周辺の分子構造を重ね合わせるといずれも2つの水素結合を形成しており、その相手は水分子、クエン酸分子、プロピレングリコールの酸素原子であった。水素結合のなす角に注目するとMOSA-PG (N1-H1 \cdots O 及びN1-H2 \cdots O) が特に異なっていた (Fig. 5-6、Table 5-3)。MOSA-PGのN1-H1 \cdots O 及びN1-H2 \cdots Oのなす角は130.5°、138.0°であり他の3つの結晶よりも小さく、他の結晶ではそれぞれ164.6–171.2°および146.1–156.0°であった。直線に近いN-H \cdots O結合角の水素結合は垂直に近い角度のものより統計的に安定であると報告されている⁽¹⁰⁰⁾ので、MOSA-PGのアミノ基における分子間水素結合は他の結晶の水素結合よりも脆弱であると考えられる。MOSA-PGのN1-H \cdots O水素結合はヒドロキシ基の酸素が水素受容体となっており、これは他の結晶に見られるカルボキシル基の酸素や水分子の酸素よりも水素受容体としては弱いことが角度の違いから推測できる (Table 5-3)。この違いはCl原子の電子殻にCl

原子と H2 原子の間の共役系または直接的に影響を与え、その結果、XANES スペクトルの 2827.4–2827.7 eV 付近に影響を与えたと考えられる。しかし、XANES スペクトルの特徴が出現した主な要因が van der Waals 接触またはアミノ基の水素結合の位置の違いによるものかどうかは明確ではないものの、Cl-K XANES はこのような弱い分子間相互作用に敏感であった。結晶形の違いに起因する分子間相互作用の違いにより XANES が変化することが初めて確認された。

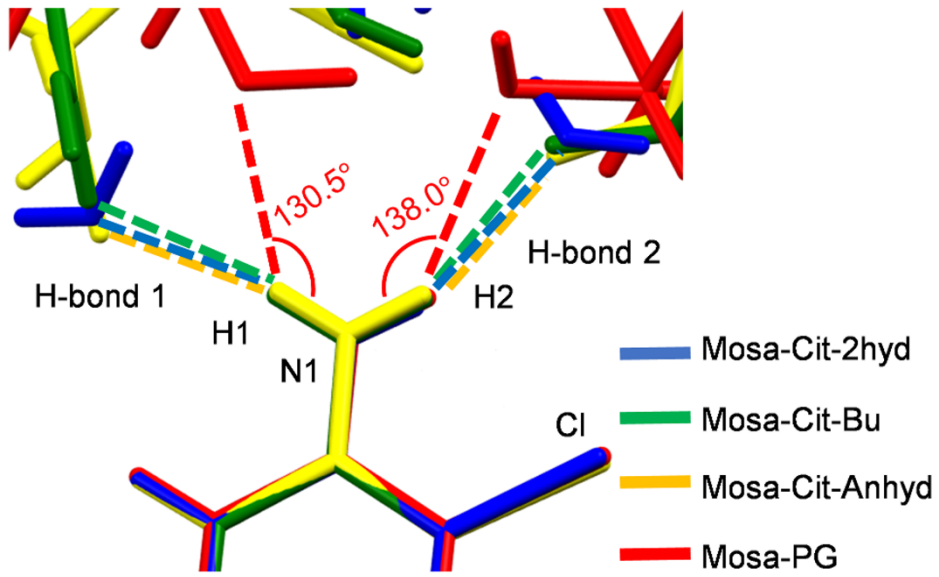


Fig. 5-6 各 MOSA 結晶の水素結合角の比較

Table 5-3 アミノ基 (H1-N1-H2) における水素結合距離および結合のなす角と
Cl 原子と N1 原子または H2 原子の距離

| H-bond 1 (N1-H1···O) | | | | |
|----------------------|--|--------------|----------------|-----------|
| Crystals | H acceptor | Distance (Å) | | Angle (°) |
| | | N1···O* | H1···O | N1-H1···O |
| MOSA-Cit-2hyd | water molecule | 3.006 (2) | 2.134 | 171.2 |
| MOSA-Cit-Bu | citrate carboxylate =O | 3.062 (5) | 2.193 | 169.5 |
| MOSA-Cit- Anhyd | citrate carboxylate =O | 2.986 (3) | 2.148 | 164.6 |
| MOSA-PG | PG hydroxy O | 2.907 (3) | 2.258 | 130.5 |
| H-bond 2 (N1-H2···O) | | | | |
| | H acceptor | Distance (Å) | | Angle (°) |
| | | N1···O* | H2···O | N1-H2···O |
| MOSA-Cit-2hyd | water molecule | 3.074 (2) | 2.249 | 156.0 |
| MOSA-Cit-Bu | citrate carboxylate -O ^{-1/2} | 3.010 (5) | 2.218 | 149.5 |
| MOSA-Cit- Anhyd | citrate carboxylate -O ^{-1/2} | 2.972 (3) | 2.220 | 146.1 |
| MOSA-PG | PG hydroxyl O | 3.019 (2) | 2.307 | 138.0 |
| Cl-N1H2 | | | | |
| | Distance (Å) | Distance (Å) | Angle (°) | |
| | Cl-N1* | Cl-H2 | N1-H2··· Cl | |
| MOSA-Cit-2hyd | 2.997 (1) | 2.599 | 108.6 | |
| MOSA-Cit-Bu | 2.979 (4) | 2.574 | 109.0 | |
| MOSA-Cit- Anhyd | 3.003 (2) | 2.609 | 109.2 | |
| MOSA-PG | 3.022 (2) | 2.617 | 109.2 | |

6. XANES を利用した結晶形の同定と転移現象の考察 II

6.1 背景

前章で述べた通り、API の物理化学的を評価することは研究開発や工業生産において重要な示唆を与え、吸湿や結晶転移、溶出性の変化といったトラブルを回避するために役立つ。XANES は各種評価法の中でも特定の原子種に特化したスペクトル取得が可能であり、夾雑物の影響をほとんど受けない。さらに、試料の状態は固体、液体でも測定可能であり、非晶質であっても同様に測定できる。

API の結晶転移が起こる時は医薬品の製造時や保管時だけではなく経口投与後に起こる場合がある。例えば CAM の最安定形である II 型は塩酸酸性条件下でゲル状⁽⁷⁴⁾となり CAM 塩酸塩 (Clarithromycin hydrochloride: CAM-HCl) の準安定形である A 型を経て安定形である B 型へ転移する⁽⁷²⁾。この結果は最終的に経口投与後の溶出挙動に変化をもたらす。固体の API がゲル状に変化することで CAM 錠の崩壊が遅延したという報告もある^(73, 101)。

本研究では CAM-HCl の A 型の XANES スペクトルを分析した。A 型の結晶は不安定であり、単結晶の調製が困難であるため結晶構造解析が行われていない。A 型の Cl イオンの周辺環境を XANES スペクトル測定により調査し、共有

結合の Cl を含む API、CAM と同様に塩酸塩であり 3 級アミンを含む API、塩酸塩で 2 級アミンを含む API、塩酸の溶液と比較を行った。

6.2 実験

6.2.1 試料

CAM の II 型結晶は東京化成工業から購入した。その他の試薬は全て特級を用いた (Fig. 6-1)。

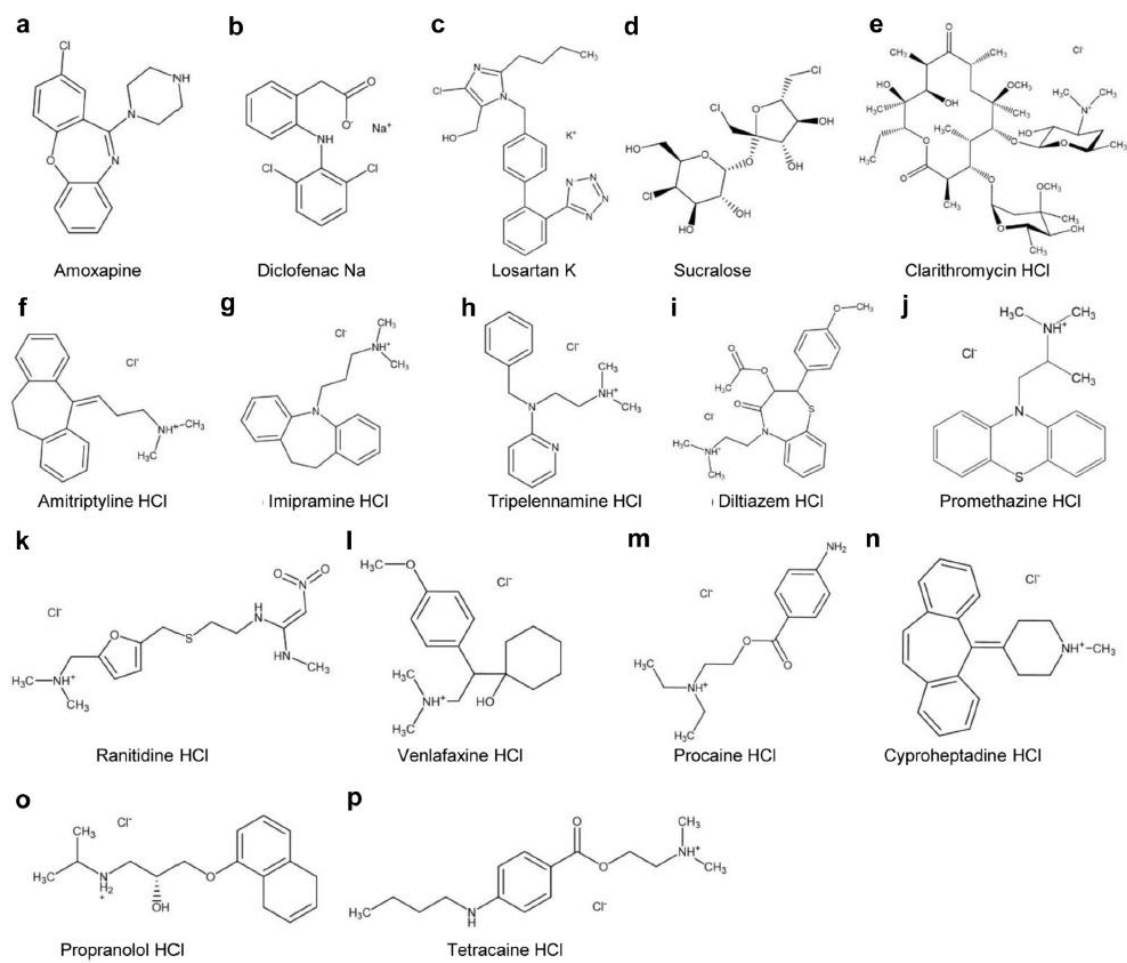


Fig. 6-1 Cl を含む API の構造式

6.2.2 CAM-HCl A 型および B 型結晶の調製

CAM-HCl 準安定形の A 型結晶は先行研究⁽⁷²⁾を基に調製した。具体的には 1.8 g の CAM II 型結晶と 25 mL の 0.1 M 塩酸溶液を乳棒と乳鉢により混合し粘性のゲルとした。同時にゲル内部に光沢のある針状の CAM-HCl A 型結晶が析出し、懸濁液となった。次に 4°C 下、7000×g、5 分間の遠心分離によって CAM-HCl A 型結晶を沈殿させた。上清を捨て沈殿した CAM-HCl A 型結晶を 2 mL の冷却した精製水に静かに分散させ再び遠心分離を行った。この洗浄プロセスを洗浄水の pH が 3.4 以上になるまで繰り返した。洗浄した CAM-HCl A 型結晶は乾燥させ 4°C 下に保管した。

安定な CAM-HCl B 型結晶の水和物は CAM-HCl A 型結晶を 37°C の加湿環境下に 4 時間以上置くことで調製した。調製された CAM-HCl B 型結晶は 37°C で一晩乾燥させ、室温下で保管した。

CAM-HCl A 型結晶は急激に乾燥させることで非晶質に変化した。

6.2.3 粉末 X 線回折測定

PXRD は室温で MiniFlex600 および RINT-2000 (いずれも株式会社リガク) により測定した。測定範囲は $2\theta = 5.0\text{--}30.0^\circ$ とした。線源は Cu-K α 線を用い、電流 15 mA、電圧 40 kV の条件で実施した。PXRD パターンはデータベースに存在する結晶構造から計算されたパターンと比較して結晶形の同定を行った (Fig. 6-2 (a))。全ての塩酸塩の塩素イオンはプロトン化されたアミノ基と水素結合を形成していた (Fig. 6-3)。

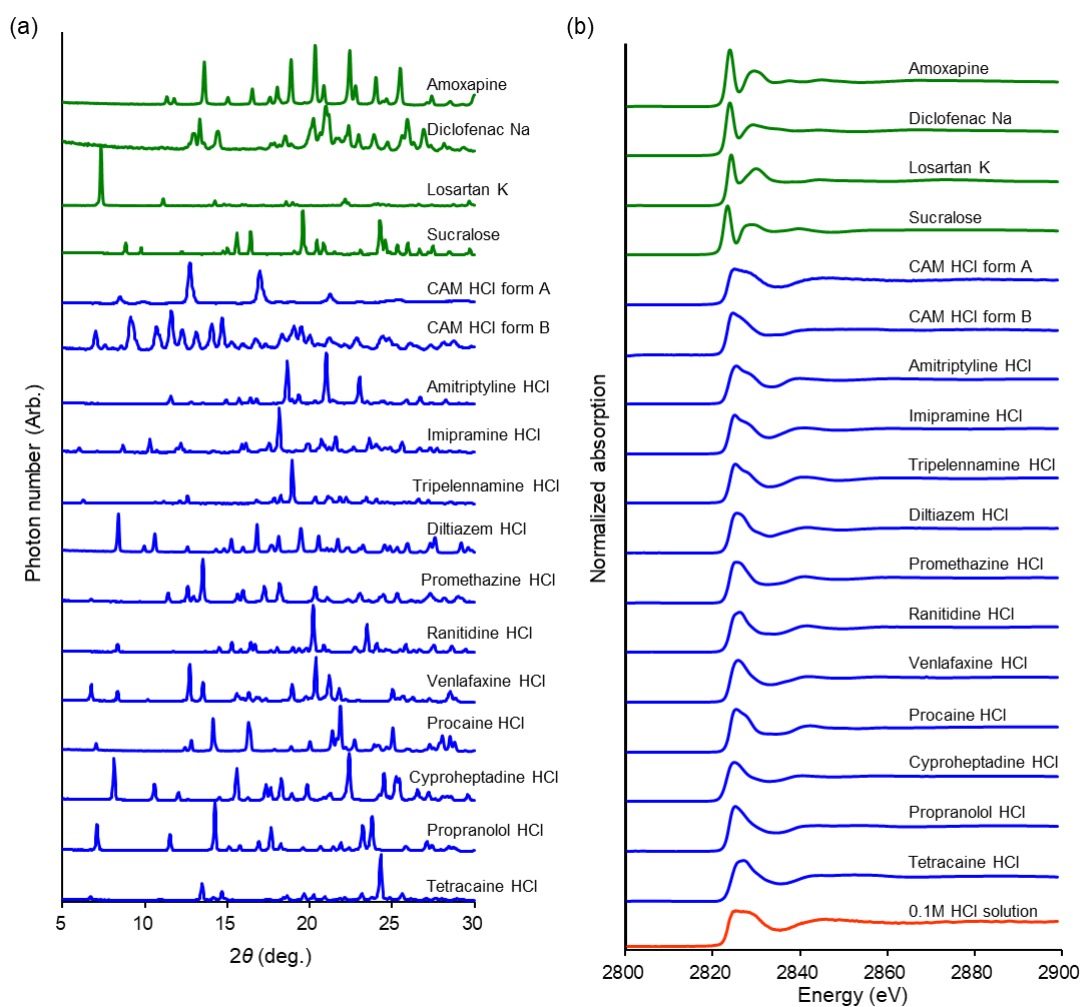


Fig. 6-2 (a, b) 各塩酸塩の Cl-K XANES 測定結果と解析

(a) 各塩酸塩 (青) および共有結合性の Cl 原子 (緑) を含む試料の PXRD パターン (b) 同 Cl-K XANES スペクトル (配色は(a)と同様) また、塩酸水溶液は赤で示している。強度は規格化されており、スペクトルの右端が 1 となるよう調整されている。

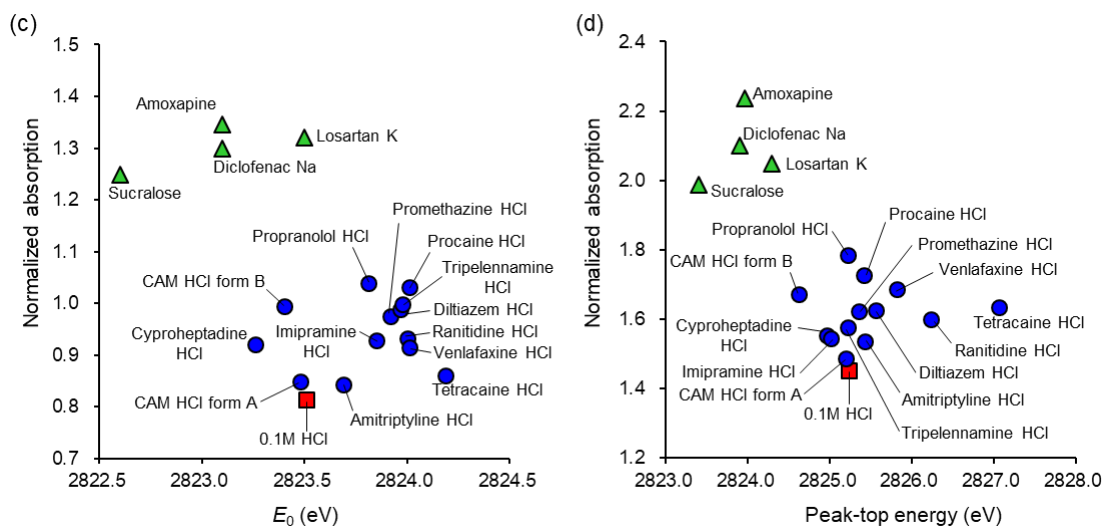


Fig. 6-2 (c, d) 各塩酸塩の Cl-K XANES 測定結果と解析

(c) 各スペクトルの E_0 における規格化された吸光度をプロットした。共有結合性の Cl 原子を含む試料は緑の三角形、塩酸塩は青の丸、塩酸水溶液は赤の四角形で示されている。(d) ピークトップにおける規格化された吸光度をプロットした。

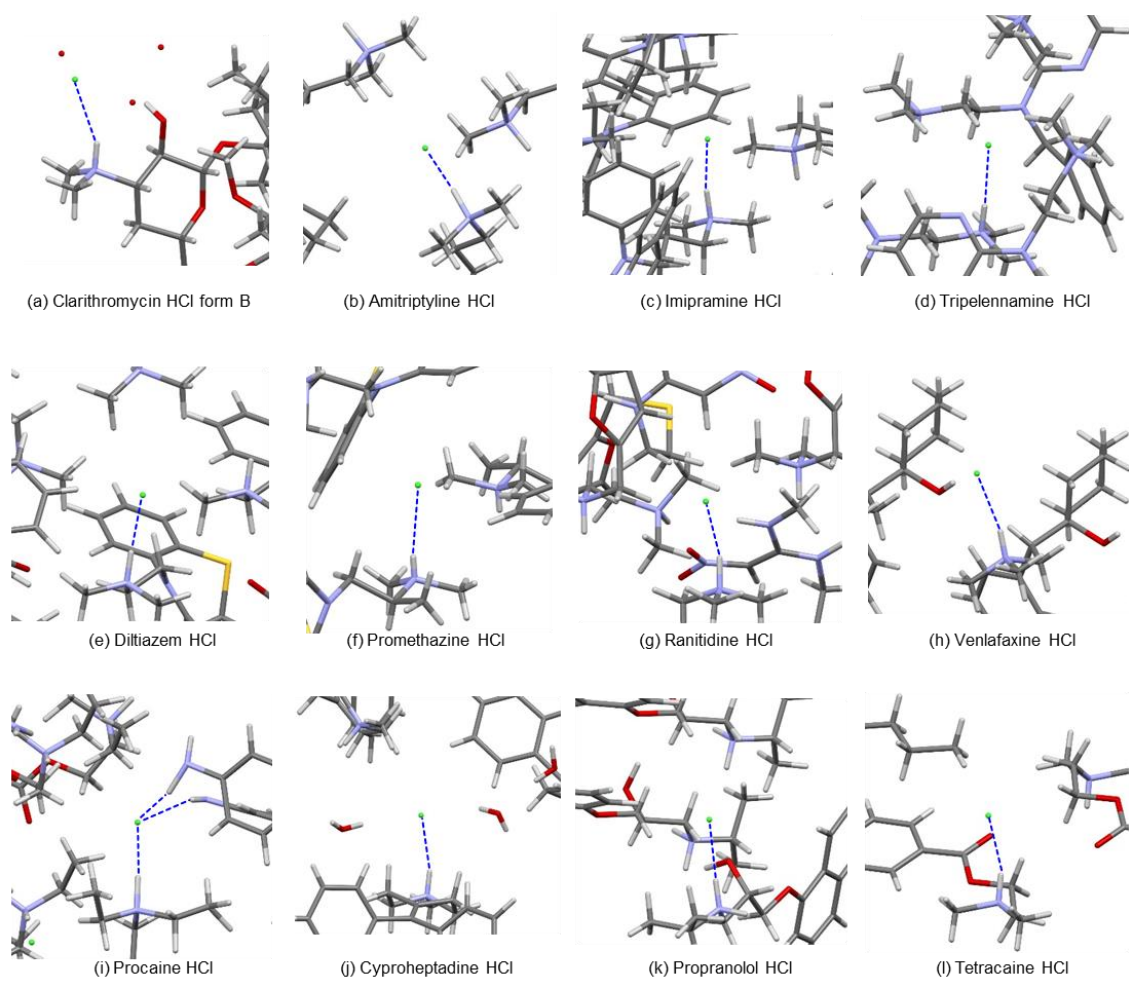


Fig. 6-3 各塩酸塩の結晶構造における Cl 原子周辺の状況

6.2.4 Cl-K XANES 測定

Cl-K XANES 測定はあいちシンクロトロン光センター（愛知県瀬戸市）のビームライン BL6N1 で実施した。乾燥した粉末試料はカーボンテープに付着させ、チャンバーに設置した。CAM-HClA 型結晶の湿った結晶と 0.1 M 塩酸溶液はポリエチレン製のバッグに封入した。測定は 25°C、大気圧のヘリウム曝露下で行われ、X 線のエネルギーの校正には K_2SO_4 の S-K 吸収端を用いた。乾燥した粉末試料は全電子収量法で測定を行い、ポリエチレン製のバッグに封入した試料は蛍光収量法で実施した。スペクトル解析は解析ソフトウェア *Athena*⁽⁹⁷⁾ を用いた。解析においてはスペクトルを規格化し、吸収端の前後で吸光度の差が 1 となるように行った。また、 E_0 は各スペクトルにおいてスペクトルの二次微分値が 0 となるエネルギー値と定義した。

6.3 結果および考察

6.3.1 Cl-K XANES 測定

Cl-K XANES スペクトルは試料ごとに特徴的であった (Fig.6-2 (b))。各 HCl 塩の最も大きなピーク形状は Cl 原子が共有結合した API (Amoxapine、Diclofenac Na、Losartan K、Sucralose) と比較してよりブロードに広がっていた。結晶中における Cl イオンの相互作用はイオン結合または水素結合であり、また、Cl 原子または Cl イオンと相互作用する原子の熱振動によって、その結合長や結合角度が共有結合とは異なるため Cl イオンの軌道のエネルギーレベルが変動することになる。HCl 塩の XANES スペクトルにおいて最も高いピークがブロードである理由は以上から説明できる。

E_0 において規格化された吸光度を縦軸、 E_0 またはピークトップのエネルギー値を横軸としてプロットしたとき、HCl 塩の最大のエネルギー値と最小のエネルギー値は一部に集まり、それは共有結合をしている Cl 原子のエネルギー値の幅と離れていた (Fig.6-2 (c) (d))。これらのプロットは XAFS を用いて同定を行う際に有用であり、Cl 原子がイオンなのか共有結合をしているのかの判別に役立つと考えられる。

HCl 塩の XANES スペクトルの定量的な比較を行うため、2823.0 から 2860.0 eV の領域を用いて規格化された吸光度の決定係数 (R^2) を求めた結果、各スペクトルの特徴が顕著に表れた (Table 6-1)。全ての決定係数は 0.47 以上であり、決定係数の高さによってグループに分けが可能である。アミトリプチリン塩酸塩、イミプラミン塩酸塩、トリペレナミン塩酸塩の決定係数は 0.974–0.989 であった。このような結晶に含まれている Cl イオンはプロトン化された 3 級アミンと水素結合を一つ形成している場合やアルキル鎖や芳香族水素と van der Waals 接触または水素結合を形成していた⁽¹⁰²⁾。高い決定係数は Cl イオンの周辺環境の特徴をよく反映していると考えられる。CAM-HCl B 型結晶とシプロヘプタジン塩酸塩のように決定係数が高く、構造が関連している試料も確認された。CAM-HCl B 型結晶とシプロヘプタジン塩酸塩の XANES スペクトルの決定係数を比較すると 0.943 であるが、CAM-HCl B 型結晶とそれ以外の HCl 塩の決定係数は 0.477–0.918 の間であった。加えて、プロトン化された 3 級アミン、CAM-HCl B 型結晶とシプロヘプタジン塩酸塩の Cl イオンはそれぞれ水分子と 2 つと 3 つの水素結合を形成していた。CAM-HCl B 型結晶とシプロヘプタジン塩酸塩はそれぞれ 3.5 水和物と 1.5 水和物であり、結晶構造中に水分子を含んでいる。一方でそれ以外の結晶では水分子が関与する水素結合は確認できなかった。

ジルチアゼム塩酸塩、プロメタジン塩酸塩、ラニチジン塩酸塩、ベンラファキシン塩酸塩の XANES スペクトルの決定係数はいずれも同様に 0.97 よりも大きかった。プロメタジン塩酸塩とラニチジン塩酸塩は構造に乱れが確認されていたが、それらの結晶において Cl イオンによく見られる相互作用はプロトン化された三級アミンとの水素結合以外に無かった。プロメタジン塩酸塩の 3 級アミンと Cl イオン間の水素結合は乱れの存在が確認された。構造に乱れがある場合、XANES スペクトルはそれぞれの平均になると考えられ、偶然にもこれらのケースで観測されたのと同様に高い決定係数を示すかもしれない。

プロトン化されたアミン、Cl イオン間の水素結合距離や結合角 (Cl と H の距離、Cl と N の距離、Cl \cdots H-N の結合角) と決定係数の関連性を調査したが、相関性はなかった。これは 3 級アミンとの水素結合の位置は本研究では各塩酸塩の XANES スペクトルを決定する重要な要因ではないことを示している。

CAM-HClA 型結晶の XANES は CAM-HClB 型結晶を含む塩酸塩 ($R^2 = 0.629\text{--}0.827$) と Cl 原子の状況が異なっていることが決定係数から示唆された。しかし、CAM-HClA 型結晶は 0.1 M 塩酸水溶液との比較で高い決定係数 ($R^2 = 0.977$) が確認された (Fig. 6-4)。これは CAM-HClA 型結晶の Cl 原子周辺の化学的環境は溶液の塩酸に近く、Cl 原子は主に水分子と相互作用しており完全に

水和していると考えられた。完全な水和は CAM-HCl A 型結晶だから可能であり、その理由は CAM-HCl A 型結晶は 1 分子の CAM に対して 10 分子以上の水を含有し、結晶中における水分子の体積は 34.7% と高いためである⁽⁷²⁾。塩結晶に含まれる陰イオンは常に陽イオンと相互作用しているとは限らないが、水分子と相互作用し、水和によって安定化される。CAM のクエン酸塩水和物の場合は負の電荷を持ったクエン酸イオンは CAM のプロトン化した 3 級アミンではなく水分子と相互作用していた⁽⁷³⁾。CAM-HCl A 型結晶では、水分子で満たされた大きな空間があり、CAM-HCl B 型結晶で観察されるように CAM のプロトン化した 3 級アミンと水素結合するのではなく、ほとんどの Cl イオンが水和状態でその空間に存在すると考えられる。CAM-HCl B 型結晶を形成するには、Cl イオンと CAM のプロトン化した 3 級アミンの間に水素結合を形成することが必要であり、CAM-HCl A 型結晶を急速に乾燥させると CAM-HCl B 型結晶にならず、非晶質状態に移行するのは、この水素結合がないためではないかと思われる。

Table 6-1 Cl-K XANES (2823–2860 eV) における各塩酸塩の決定係数

| | CSD ID | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. |
|------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| 1. CAM-HCl form A | - | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. CAM-HCl form B | WOCFOJ | 0.786 | | | | | | | | | | | | | |
| 3. Amitriptyline HCl | YOVZEO | 0.827 | 0.799 | | | | | | | | | | | | |
| 4. Imipramine HCl | IMIPRC | 0.768 | 0.787 | 0.974 | | | | | | | | | | | |
| 5. Tripeleennamine HCl | FIMNIY | 0.780 | 0.759 | 0.977 | 0.989 | | | | | | | | | | |
| 6. Diltiazem HCl | CEYHUJ 01 | 0.741 | 0.763 | 0.933 | 0.940 | 0.959 | | | | | | | | | |
| 7. Promethazine HCl | EAPTZC 02 | 0.747 | 0.831 | 0.931 | 0.942 | 0.953 | 0.986 | | | | | | | | |
| 8. Ranitidine HCl | TADZAZ 02 | 0.745 | 0.724 | 0.914 | 0.915 | 0.947 | 0.989 | 0.974 | | | | | | | |
| 9. Venlafaxine HCl | WOBMU V01 | 0.774 | 0.725 | 0.926 | 0.911 | 0.943 | 0.985 | 0.962 | 0.990 | | | | | | |
| 10. Procaine HCl | PROCHC 01 | 0.843 | 0.805 | 0.933 | 0.918 | 0.944 | 0.960 | 0.964 | 0.962 | 0.968 | | | | | |
| 11. Cyproheptadine HCl | CYPHEP 01 | 0.629 | 0.943 | 0.757 | 0.774 | 0.743 | 0.752 | 0.820 | 0.701 | 0.684 | 0.730 | | | | |
| 12. Propranolol HCl | PROPDD | 0.873 | 0.918 | 0.912 | 0.889 | 0.897 | 0.915 | 0.941 | 0.894 | 0.906 | 0.858 | 0.947 | | | |
| 13. Tetracaine HCl | XISVOK 01 | 0.801 | 0.477 | 0.708 | 0.623 | 0.679 | 0.702 | 0.655 | 0.743 | 0.791 | 0.330 | 0.785 | 0.685 | | |
| 14. 0.1M HCl solution | - | 0.977 | 0.689 | 0.750 | 0.666 | 0.688 | 0.647 | 0.644 | 0.659 | 0.697 | 0.512 | 0.768 | 0.788 | 0.826 | |

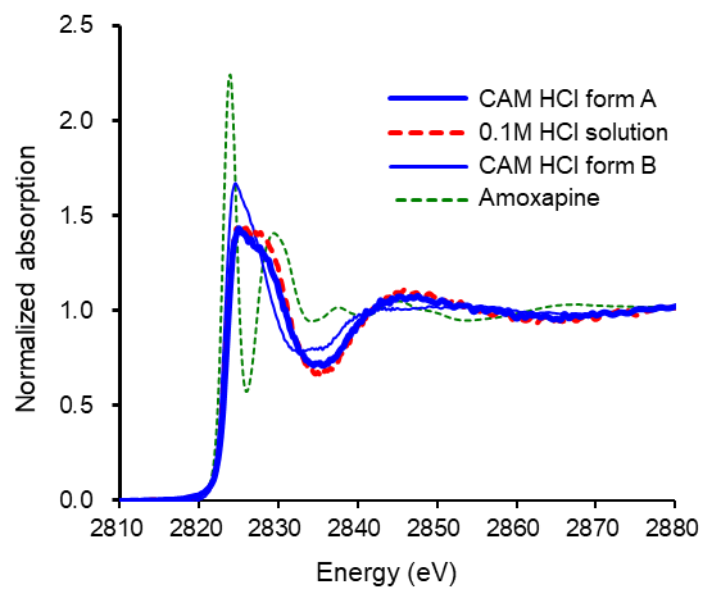


Fig. 6-4 CAM 塩酸塩、塩酸水溶液、アモキサピンの Cl-K XANES 測定結果

6.4 小括

5章と6章では Cl-K XANES に注目し、初めて API の物性評価に使用した。これまで XANES が用いられてきた対象原子の酸化数、配位数、共有結合の違いの観測ではなく、化学的に同一の化合物における水素結合の差異のような弱い分子間相互作用に起因する結晶構造の違いを観測する手法として、初めて用いた研究である。本研究の試料は API の結晶性の多形や疑似多形を含んでいる。XANES スペクトルは固体 NMR や赤外分光法、ラマンスペクトルなどに替わる新しい結晶形の評価法となる可能性があり、製剤開発初期の物性解析、医薬品製造時や特許取得、特許係争時における新しい評価法として有用だと考えられる。

7. 総括

本研究は API の新規評価方法を検討し、次の知見を得た。①結晶構造を基にしたシミュレーション及び Void 構造を精査することで吸湿性や水和物転移を予測できる可能性がある。②結晶構造の大きな変化を伴わない水和及び脱溶媒を非破壊的に観察する方法として、テラヘルツ分光法の有用性を明らかにした。③ XANES スペクトル測定が結晶多形により異なることを初めて明らかにし、製剤研究において有用な測定法であると判明した。モデル薬物による検討であったが、今後、様々な化合物で測定実績を増やすことでより一般性のある知見が得られると考えられる。このように本研究では非破壊的または微量の API で実施可能な手法を検討し、これらは製剤開発や工業生産において有用であると期待できる。

8. 引用文献

1. Valeur E, Gueret SM, Adihou H, Gopalakrishnan R, Lemurell M, Waldmann H, et al. New Modalities for Challenging Targets in Drug Discovery. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2017;56(35):10294–323.
2. 佐々木茂貴. 中分子医薬品. *化学と教育.* 2020;68(7).
3. Simon LL, Pataki H, Marosi G, Meemken F, Hungerbühler K, Baiker A, et al. Assessment of recent process analytical technology (PAT) trends: a multiauthor review. *Org Process Res Dev.* 2015;19(1):3–62.
4. Aitipamula S, Banerjee R, Bansal AK, Biradha K, Cheney ML, Choudhury AR, et al. Polymorphs, salts, and cocrystals: what's in a name? *Cryst Growth Des.* 2012;12(5):2147–52.
5. Stella VJ, Nti-Addae KW. Prodrug strategies to overcome poor water solubility. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59(7):677–94.
6. Elder DP, Holm R, Diego HL. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *Int J Pharm.* 2013;453(1):88–100.
7. Modi A, Tayade P. Enhancement of dissolution profile by solid dispersion (kneading) technique. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2006;7:E87:E2–E6.
8. Merisko-Liversidge E, Liversidge GG, Cooper ER. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *Eur J Pharm Sci.* 2003;18(2):113–20.
9. Al-Kassas R, Bansal M, Shaw J. Nanosizing techniques for improving bioavailability of drugs. *J Control Release.* 2017;260:202–12.
10. Paulekuhn GS, Dressman JB, Saal C. Trends in active pharmaceutical ingredient salt selection based on analysis of the orange book database. *J Med Chem.* 2007;50(26):6665–72.
11. Kavanagh ON, Croker DM, Walker GM, Zaworotko MJ. Pharmaceutical cocrystals: from serendipity to design to application. *Drug Discov Today.* 2019;24(3):796–804.
12. Wang Z-Z, Chen J-M, Lu T-B. Enhancing the hygroscopic stability of S-oxiracetam via pharmaceutical cocrystals. *Cryst Growth Des.* 2012;12(9):4562–6.
13. Karki S, Frišćić T, Fábian L, Laity PR, Day GM, Jones W. Improving mechanical properties of crystalline solids by cocrystal formation: new compressible forms of paracetamol. *Adv Mater.* 2009;21:3905–9.

14. Walsh RD, Bradner MW, Fleischman S, Morales LA, Moulton B, Rodriguez-Hornedo N, et al. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. *Chem Commun (Camb)*. 2003(2):186–7.
15. Bettinetti G, Caira MR, Callegari A, Merli M, Sorrenti M, Tadini C. Structure and solid-state chemistry of anhydrous and hydrated crystal forms of the trimethoprim-sulfamethoxypyridazine 1:1 molecular complex. *J Pharm Sci*. 2000;89(4):478–89.
16. Julius F. R, Sherry L. M, Matthew L. P, Brian M, J. Michael M, Héctor R. G, et al. Crystal engineering of novel cocrystals of a triazole drug with 1,4-dicarboxylic acids. *J Am Chem Soc*. 2003;125:8456–7.
17. Chappa P, Maruthapillai A, Voguri R, Dey A, Ghosal S, Basha MA. Drug–polymer co-crystals of dapsone and polyethylene glycol: an emerging subset in pharmaceutical co-crystals. *Cryst Growth Des*. 2018;18(12):7590–8.
18. Kristl A, Srčić S, Vrečer F, Šuštar B, Vojnovic D. Polymorphism and pseudopolymorphism: Influencing the dissolution properties of the guanine derivative acyclovir. *Int J Pharm*. 1996;139:231–5.
19. Minkov VS, Beloborodova AA, Drebushchak VA, Boldyreva EV. Furosemide solvates: can they serve as precursors to different polymorphs of furosemide? *Cryst Growth Des*. 2014;14(2):513–22.
20. Price CP, Glick GD, Matzger AJ. Dissecting the behavior of a promiscuous solvate former. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2006;45(13):2062–6.
21. Samas B, Seadeek C, Campeta AM, Chekal BP. A thermodynamic-based approach to analyzing a highly solvating polymorphic system: the desolvation window method. *J Pharm Sci*. 2011;100(1):186–94.
22. Wawrzycka-Gorczyca I, Borowski P, Osypiuk-Tomasik J, Mazur L, Koziol AE. Crystal structure of olanzapine and its solvates. Part 3. Two and three-component solvates with water, ethanol, butan-2-ol and dichloromethane. *J Mol Struct*. 2007;830(1–3):188–97.
23. Furuta H, Mori S, Yoshihashi Y, Yonemochi E, Uekusa H, Sugano K, et al. Physicochemical and crystal structure analysis of pranlukast pseudo-polymorphs II: Solvate and cocrystal. *J Pharm Biomed Anal*. 2015;111:44–50.
24. ICH guideline Q8 (R2) pharmaceutical development. 2009.
25. Newman AW, Byrn SR. Solid-state analysis of the active pharmaceutical ingredient in drug products. *Drug Discov Today*. 2003;8(19):898–905.
26. Auston DH, Cheung KP, Smith PR. Picosecond photoconducting Hertzian dipoles. *Appl Phys Lett*. 1984;45(3):284–6.
27. Taday PF, Bradley IV, Arnone DD, Pepper M. Using terahertz pulse spectroscopy

- to study the crystalline structure of a drug: a case study of the polymorphs of ranitidine hydrochloride. *J Pharm Sci.* 2003;92(4):831–8.
28. Zeitler JA, Newnham DA, Taday PF, Threlfall TL, Lancaster RW, Berg RW, et al. Characterization of temperature-induced phase transitions in five polymorphic forms of sulfathiazole by terahertz pulsed spectroscopy and differential scanning calorimetry. *J Pharm Sci.* 2006;95(11):2486–98.
 29. Zeitler JA, Kogermann K, Rantanen J, Rades T, Taday PF, Pepper M, et al. Drug hydrate systems and dehydration processes studied by terahertz pulsed spectroscopy. *Int J Pharm.* 2007;334(1–2):78–84.
 30. Burggraef A, Monteyne T, Vervaeke C, Remon JP, De Beer T. Process analytical tools for monitoring, understanding, and control of pharmaceutical fluidized bed granulation: A review. *Eur J Pharm Biopharm.* 2013;83(1):2–15.
 31. Luypaert J, Massart DL, Vander Heyden Y. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. *Talanta.* 2007;72(3):865–83.
 32. Hetrick EM, Shi Z, Barnes LE, Garrett AW, Rupard RG, Kramer TT, et al. Development of near infrared spectroscopy-based process monitoring methodology for pharmaceutical continuous manufacturing using an offline calibration approach. *Anal Chem.* 2017;89(17):9175–83.
 33. Ely DR, Thommes M, Carvajal MT. Analysis of the effects of particle size and densification on NIR spectra. *Collid Surf A-Physicochem Eng Asp.* 2008;331(1–2):63–7.
 34. Calas G, Brown GEJ, Waychunas GA, Petiau J. X-ray absorption spectroscopic studies of silicate glasses and minerals. *Phys Chem Minerals.* 1987;15:19–29.
 35. Dorchie F, Recoules V. Non-equilibrium solid-to-plasma transition dynamics using XANES diagnostic. *Phys Rep.* 2016;657:1–26.
 36. Johnson AS, Miseikis L, Wood DA, Austin DR, Brahms C, Jarosch S, et al. Measurement of sulfur L_{2,3} and carbon K edge XANES in a polythiophene film using a high harmonic supercontinuum. *Struct Dyn.* 2016;3(6):062603.
 37. Alberto ME, Lucas MFA, Pavelka M, Russo N. The second-generation anticancer drug nedaplatin: a theoretical investigation on the hydrolysis mechanism. *J Phys Chem B.* 2009;113(43):14473–9.
 38. Shinozaki T, Ono M, Higashi K, Moribe K. A novel drug-drug cocrystal of levofloxacin and metacetamol: reduced hygroscopicity and improved photostability of levofloxacin. *J Pharm Sci.* 2019;108(7):2383–90.
 39. Terada K, Kurobe H, Ito M, Yoshihashi Y, Yonemochi E, Fujii K, et al. Polymorphic and pseudomorphic transformation behavior of acyclovir based on thermodynamics

- and crystallography. *J Therm Anal Calorim.* 2013;113(3):1261–7.
40. Reutzel-Edens SM, Bush JK, Magee PA, Stephenson GA, Byrn SR. Anhydrates and hydrates of olanzapine crystallization, solid-state characterization, and structural relationships. *Cryst Growth Des.* 2003;3(6):897–907.
 41. Mahapatra S, Thakur TS, Joseph S, Varughese S, Desiraju GR. New solid state forms of the anti-HIV drug efavirenz. conformational flexibility and high Z' Issues. *Cryst Growth Des.* 2010;10(7):3191–202.
 42. Pudipeddi M, Serajuddin AT. Trends in solubility of polymorphs. *J Pharm Sci.* 2005;94(5):929–39.
 43. 20th WHO model list of essential medicines. 2017.
 44. Bauer J, Spanton S, Henry R, Quick J, Dziki W, Porter W, et al. Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharm Res.* 2001;18(6):859–66.
 45. Dunitz JD, Bernstein J. Disappearing polymorph. *Acc Chem Res.* 1995;28(193–200).
 46. Long GT, Vyazovkin S, Gamble N, Wight CA. Hard to swallow dry: kinetics and mechanism of the anhydrous thermal decomposition of acetylsalicylic acid. *J Pharm Sci.* 2002;91(3):800–9.
 47. Vyazovkin S. Modification of the integral isoconversional method to account for variation in the activation energy. *J Computational Chem.* 2000;22(2):178–83.
 48. Kissinger HE. Reaction kinetics in differential thermal analysis. *Anal Chem.* 1957;29(11):1702–6.
 49. Meunier H. Propriétés pharmacodynamiques de l'acide n-dipropylacétique le memoire : propriétés antiepileptiques. *Therapie.* 1963;18:435–38.
 50. Petrushevski G, Naumov P, Jovanovski G, Bogoeva-Gaceva G, Ng SW. Solid-state forms of sodium valproate, active component of the anticonvulsant drug epilim. *Chem Med Chem.* 2008;3(9):1377–86.
 51. Sheldrick GM. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr C Struct Chem.* 2015;71(Pt 1):3–8.
 52. Petruševski G, Naumov P, Jovanovski G, Ng SW. Unprecedented sodium–oxygen clusters in the solid-state structure of trisodium hydrogentetraalproate monohydrate: A model for the physiological activity of the anticonvulsant drug Epilim®. *Inorg Chem Commun.* 2008;11(1):81–4.
 53. Donnay JDH, Harker D. A new law of crystal morphology extending the Law of Bravais. *Am Min.* 1937;22(5):446–67.
 54. Docherty R, Clydesdale G, Roberts KJ, Bennema P. Application of Bravais-Friedel-Donnay-Harker, attachment energy and Ising models to predicting and

- understanding the morphology of molecular crystals. *J Phys D Appl Phys.* 1991;24(2):89–99.
55. Childs SL, Stahly GP, Park A. The salt–cocrystal continuum: the influence of crystal structure on ionization state. *Mol Pharm.* 2007;4(3):323–38.
 56. Fujito T, Oshima T, Higashi K, Ueda K, Ito M, Masu H, et al. Salt Cocrystallization of Loxoprofen Sodium with Sugar: Reduction of the Propensity for Hydrate Formation by Forming a Continuous One-Dimensional Chain Structure of Sodium and Sugar. *Cryst Growth Des.* 2022;22(2):1094–103.
 57. Morissette SL, Almarsson O, Peterson ML, Remenar JF, Read MJ, Lemmo AV, et al. High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004;56(3):275–300.
 58. Rodvold KA. Clinical pharmacokinetics of clarithromycin. *Clin Pharmacokinet.* 1999;37(5).
 59. Liu J-H, Riley DA, Spanton SG. Crystal form I of clarithromycin. US Patent No 5858986. 1999.
 60. Liu J-H, Riley DA. Preparation of crystal form II of clarithromycin. US Patent No 5844105. 1998.
 61. Sohn Y-T, Rhee J-K, Im W-B. Polymorphism of clarithromycin. *Arch Pharm Res.* 2000;23(381–384).
 62. Liu J-H, Henry RF, Spanton SG, Riley DA. 6-O-methylerythromycin A crystal form III. US Patent No 6627743. 2003.
 63. Avrutov I, Lifshitz I, Borochovit R, Masarwa B, Schwartz E. Processes for preparing clarithromycin polymorphs and novel polymorph IV. US Patent No 6599884. 2003.
 64. Gruss M. Polymorph of clarithromycin (form V). US Patent No 20080249035. 2008.
 65. De Jager M. Polymorphism and pseudopolymorphism of clarithromycin. North-West Univ. 2005.
 66. Parvez M, Arayne MS, Sabri R, Sultana N. Clarithromycin hydrochloride 3.5-hydrate. *Acta Crystallogr C.* 2000;56:398–9.
 67. Iwasaki H, Sugawara Y, Adachi T, Morimoto S, Watanabe Y. Structure of 6-O-methylerythromycin A (clarithromycin). *Acta Crystallogr C.* 1993;49:1227–30.
 68. Fujiki S, Watanabe N, Iwao Y, Noguchi S, Mizoguchi M, Iwamura T, et al. Suppressed release of clarithromycin from tablets by crystalline phase transition of metastable polymorph form I. *J Pharm Sci.* 2015;104(8):2641–4.
 69. Tian J, Dalgarno SJ, Atwood JL. A new strategy of transforming pharmaceutical

- crystal forms. *J Am Chem Soc.* 2011;133(5):1399–404.
70. Tian J, Thallapally PK, Dalgarno SJ, Atwood JL. Free transport of water and CO₂ in nonporous hydrophobic clarithromycin form II crystals. *J Am Chem Soc.* 2009;131:13216–7.
 71. Liang J-H, Yao G-W. A new crystal structure of clarithromycin. *J Chem Crystallogr.* 2007;38(1):61–4.
 72. Noguchi S, Takiyama K, Fujiki S, Iwao Y, Miura K, Itai S. Polymorphic transformation of antibiotic clarithromycin under acidic condition. *J Pharm Sci.* 2014;103(2):580–6.
 73. Inukai K, Takiyama K, Noguchi S, Iwao Y, Itai S. Effect of gel formation on the dissolution behavior of clarithromycin tablets. *Int J Pharm.* 2017;521(1–2):33–9.
 74. Fujiki S, Iwao Y, Kobayashi M, Miyagishima A, Itai S. Stabilization mechanism of clarithromycin tablets under gastric pH condition. *Chem Pharm Bull.* 2011;59(5):553–8.
 75. Rockland LB. Saturated salt solutions for static control of relative humidity between 5° and 40°C. *Anal Chem.* 1960;32(10):1375–6.
 76. Sheldrick GM. SHELXT - integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallogr A Found Adv.* 2015;71(Pt 1):3–8.
 77. Hubschle CB, Sheldrick GM, Dittrich B. ShelXle: a qt graphical user interface for SHELXL. *J Appl Crystallogr.* 2011;44(Pt 6):1281–4.
 78. Watanabe M, Mizoguchi M, Aoki H, Iwao Y, Noguchi S, Itai S. Saturated fatty acids and fatty acid esters promote the polymorphic transition of clarithromycin metastable form I crystal. *Int J Pharm.* 2016;512(1):108–17.
 79. Grabowski SJ. Hydrogen bonding strength—measures based on geometric and topological parameters. *J Phys Org Chem.* 2004;17(1):18–31.
 80. Edward JT. Molecular volumes and the Stokes-Einstein equation. *J Chem Educ.* 1970;47(4):261.
 81. Carvalho PS, C. de Melo C, Ayala AP, da Silva CCP, Ellena J. Reversible solid-state hydration/dehydration of paroxetine HBr hemihydrate: structural and thermochemical studies. *Cryst Growth Des.* 2016;16(3):1543–9.
 82. Braun DE, Griesser UJ. Stoichiometric and non-stoichiometric hydrates of brucine. *Cryst Growth Des.* 2016;16(10):6111–21.
 83. Gao Y, Zu H, Zhang J. Enhanced dissolution and stability of adefovir dipivoxil by cocrystal formation. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(4):483–90.
 84. Luan FD, Paulo SC Jr., Cristiane CM, Javier E. Reducing the hygroscopicity of the anti-tuberculosis drug (*S,S*)-ethambutol using multicomponent crystal forms. *Cryst*

- Growth Des. 2017;17(5):2622–30.
85. Sun CC, Hou H. Improving mechanical properties of caffeine and methyl gallate crystals by cocrystallization. *Cryst Growth Des.* 2008;8(5):1575–9.
 86. Wang C, Perumalla SR, Lu R, Fang J, Sun CC. Sweet berberine. *Cryst Growth Des.* 2016;16(2):933–9.
 87. Serajuddin AT. Salt formation to improve drug solubility. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59(7):603–16.
 88. Yoshimura M, Miyake M, Kawato T, Bando M, Toda M, Kato Y, et al. Impact of the dissolution profile of the cilostazol cocrystal with supersaturation on the oral bioavailability. *Cryst Growth Des.* 2017;17(2):550–7.
 89. Van Gysegheem E, Stokbroekx S, de Armas HN, Dickens J, Vanstockem M, Baert L, et al. Solid state characterization of the anti-HIV drug TMC114: interconversion of amorphous TMC114, TMC114 ethanolate and hydrate. *Eur J Pharm Sci.* 2009;38(5):489–97.
 90. Xiong X, Du Q, Zeng X, He J, Yang H, Li H. Solvates and polymorphs of rebamipide: preparation, characterization, and physicochemical analysis. *RSC Adv.* 2017;7(38):23279–86.
 91. Ahuja D, Bannigan P, Rasmuson ÅC. Study of three solvates of sulfamethazine. *Cryst Eng Comm.* 2017;19(43):6481–8.
 92. Johnson BD, Howard A, Varsolona R, McCauley J, Ellison DK. Indinavir sulfate. *Anal Profiles Drug Subst.* 1999;26:319–57.
 93. Zhang C, Kersten KM, Kampf JW, Matzger AJ. Solid-State insight into the action of a pharmaceutical solvate: structural, thermal, and dissolution analysis of indinavir sulfate ethanolate. *J Pharm Sci.* 2018;107(10):2731–4.
 94. Spek AL. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2009;65(Pt 2):148–55.
 95. Ito M, Shiba R, Watanabe M, Iwao Y, Itai S, Noguchi S. Phase transitions of antibiotic clarithromycin forms I, IV and new form VII crystals. *Int J Pharm.* 2018;547(1–2):258–64.
 96. Soldatov MA, Martini A, Bugaev AL, Pankin I, Medvedev PV, Guda AA, et al. The insights from X-ray absorption spectroscopy into the local atomic structure and chemical bonding of Metal–organic frameworks. *Polyhedron.* 2018;155:232–53.
 97. Ravel B, Newville M. ATHENA, ARTEMIS, HEPHAESTUS: data analysis for X-ray absorption spectroscopy using IFEFFIT. *J Synchrotron Radiat.* 2005;12(Pt 4):537–41.
 98. Leri AC, Marcus MA, Myneni SCB. X-ray spectromicroscopic investigation of

- natural organochlorine distribution in weathering plant material. *Geochim Cosmochim Acta*. 2007;71(23):5834–46.
99. Bondi A. Van der Waals volumes and radii. *J Phys Chem* 1964;68(3):441–51.
 100. Steiner T. The hydrogen bond in the solid state. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2002;41:48–76.
 101. Inukai K, Noguchi S, Kimura SI, Itai S, Iwao Y. Stabilization mechanism of roxithromycin tablets under gastric pH conditions. *J Pharm Sci*. 2018;107(9):2514–8.
 102. Aakeröy CB, Evans TA, Seddon KR, Pálinkó I. The C–H···Cl hydrogen bond: does it exist? *New J Chem*. 1999;23:145–52.

9. 謝辞

本研究を遂行に際し、ご指導、ご鞭撻を賜りました 東邦大学薬学部薬剤学教室 野口 修治 教授に謹んで感謝いたします。

また、データ解析やその解釈についてご指導、ご助言を頂きました高崎健康福祉大学薬学部長 寺田 勝英 教授、星薬科大学薬学部薬品物理化学研究室 米持悦生 教授、東京工業大学理学院化学系 植草 秀裕 准教授、国立医薬品食品衛生研究所 薬品部室長 坂本 知昭 様、東邦大学薬学部薬剤学教室 鈴木 浩典 講師、元東邦大学薬学部薬剤学教室 吉橋 泰生 助教に深く敬意を表し、御礼申し上げます。

最後に勉学・研究を行うにあたり不自由なく育ててくれた両親、研究活動を多大なる援助と寛大な理解をもって暖かく見守り、支えてくれた妻ひとみと息子 暖人に感謝いたします。