

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	医薬品原薬の物性評価における非破壊的評価法の確立
別タイトル	Establishment of non destructive methods for the evaluation of the physical properties of active pharmaceutical ingredients
作成者（著者）	伊藤, 雅隆
公開者	東邦大学
発行日	2022.10.12
掲載情報	東邦大学大学院薬学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査: 伊関峰生 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661乙2961号
学位記番号	乙第122号
学位授与年月日	2022.10.12
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD28205809">https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD28205809</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

## 「医薬品原薬の物性評価における非破壊的評価法の確立」

所 属 東邦大学薬学部 薬剤学教室  
氏 名 伊藤 雅隆



### 【背景と目的】

医薬品の品質管理において原薬（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。近年、医薬品開発は低分子から中分子または高分子へシフトしつつある。中分子とは分子量 500 から 2000 程度の分子であり、その製剤化に際し物性研究は関心を集めている。分子量の大きい API は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、同様に湿度環境に依存した水和物または無水物への転移も複雑化する恐れがある。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ため、今後、API 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考えられる。

工程管理技術の一つにプロセス解析工学（PAT）があげられる。PAT はリアルタイムに工程データを計測し管理する製造技術である。PAT は非破壊的な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観測できる可能性がある。他に X 線吸収端近傍構造（XANES）スペクトル測定を用いると固体以外の試料でも再現性良く評価可能と考えられる。

本研究の目的は低分子または中分子における、水または溶媒分子の挙動を結晶構造の観点から観測もしくは予測すること及び新たな分光法を用いて、非破壊的な評価技術を確立することである。

## 第 1 章 結晶構造に基づいた湿度に対する安定性の評価

### 【実験方法】

モデル API として吸湿性のバルプロ酸ナトリウム（VAL-Na）を選択し、薬学的に許容される化合物を用いて塩交換を実施した。粉末 X 線回折測定（PXRD）により塩交換に伴う結晶形の変化を確認した。また、得られた塩結晶は水蒸気吸脱着測定（DVS）及び単結晶構造解析により加湿環境下における安定性と結晶構造を調べた。また、各結晶構造を基に水分子の吸着シミュレーションを実施し、VAL-Na 及び得られた塩の結晶表面に対する水の挙動に相違が確認されるか検討した。

### 【結果及び考察】

バルプロ酸と L-アルギニンの新規塩結晶（VAL-Arg）を得た。X 線結晶構造解析の結果、VAL-Arg はバルプロ酸と L-アルギニンを 1：1 の比率で含有していた。VAL-Na の臨界相対湿度（CRH）は 25℃において約 40%RH であるが、VAL-Arg の CRH は約 70%RH であり吸

湿性が改善されていた。吸着シミュレーションにおいて、水分子は VAL- Na の結晶表面にある Na 原子の周辺に安定して吸着しており、VAR-Arg では Arg のグアニジノ基等の極性基周辺に吸着した。VAL- Na は表面の Na 原子周辺に水分子が安定して存在することが高い吸湿性に寄与している一方、VAL- arg の極性基周辺の吸着は VAL- Na ほど安定でないため低吸湿性に寄与したと推測された。

## 第 2 章 中分子医薬品の結晶転移挙動

### 【実験方法】

分子量 747.95 のクラリスロマイシン (CAM) をモデル API として選択した。CAM II 型結晶を出発物質として使用し、エタノール (EtOH) から再結晶することで 0 型結晶を得た。0 型結晶を減圧乾燥することで I 型結晶を調製し、加湿環境下または高温環境下で保管した後、結晶形の転移挙動を明らかにするため PXRD、DVS、示差熱量測定 (DSC)、PXRD-DSC 同時測定及び熱重量測定 (TG-DTA) を実施した。

### 【結果及び考察】

DVS 測定の結果、I 型結晶は 0-50%RH の範囲において CAM 1 分子あたり水分子 0.4 分子の質量が増加し、60%RH においては累計で水分子 2 分子相当の質量が増加した。80%RH では質量に変化がなかった。これらの質量変化はいずれも可逆的であった。しかし、0%、40%、60%、80% RH における PXRD に変化はなく、ほぼ同一の結晶構造のままであった。単結晶構造解析より I 型結晶は CAM と CAM の間に 2 分子程度の水分子が存在可能な大きさの空間が存在していたが、この空間は結晶表面まで接続していなかった。見かけ上、開口部が表面に存在しない場合でも結晶内に空間が存在すると水和物に転移する例が報告されており、I 型結晶も類似したケースではないかと推測された。すなわち、CAM 分子の熱振動により結晶表面に隙間が生じ、その隙間を水分子が通過して内部空間に到達したと考えられた。

## 第 3 章 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

### 【実験方法】

分子量 613.8 のインジナビル硫酸塩エタノール溶媒和物 (IND) をモデル API として用いた。IND を EtOH から再結晶させ、単結晶構造解析により含有する EtOH 分子の数を明らかにした。次に非破壊的測定法を検討する目的で EtOH 分子の脱溶媒過程を等温 TG 測定及びテラヘルツ分光法を用いて質量変化と吸光度の関係を調査した。

### 【結果及び考察】

単結晶構造解析の結果、IND はインジナビル 1 分子あたり EtOH 1.7 分子を含有しており、EtOH は 2 種類存在していた。占有率はそれぞれ EtOH (1) は 1.0、EtOH (2) は 0.7 であった。EtOH (2) が脱溶媒すると残された EtOH (1) 及びインジナビル分子は連動して構造が変化し、EtOH (2) が脱離した後の空間を EtOH (1) が埋めると考えられた。しかし、PXRD パタ

ーンは EtOH (2) の脱溶媒前後で変化がなかった。これは EtOH (2) は熱振動が大きく PXRD の結果にほぼ寄与しておらず、また、EtOH (2) の脱溶媒によって結晶格子の大きさ及び周辺の原子の配置がほぼ変化していないためと考えられた。

等温 TG 測定の結果、測定開始後約 20 分までの間に急激に質量が減少し、最終的に質量が 3.35%減少した。これは EtOH 0.58 分子に相当することから EtOH (2) の脱溶媒であると推測された。テラヘルツ分光法では測定開始から 20 分付近までの間は吸光度が低下し、それ以降はほとんど変化しなかった。質量減少と吸光度低下の決定係数  $R^2$  は 0.98 であり高い相関を示した。これは EtOH (2) の脱溶媒により硫酸との水素結合が失われ結晶の格子振動が変化したためと推測された。以上からテラヘルツ分光法により PXRD では観測が困難な脱溶媒現象でも非破壊的に追跡可能であることが明らかとなった。

#### 第 4 章 XANES を利用した結晶形の同定と転移現象の考察

##### 【実験方法】

結晶形の判定を行うため共有結合性の Cl 原子を含むモサブリド (MOSA) の水和物、無水物、1-プロパノール溶媒和物、プロピレングリコール溶媒和物 (MOSA-PG) をモデルとして利用した。これらは結晶構造の決定も行った。また、Cl イオンを調べるため、CAM 塩酸塩の A 型及び B 型結晶、0.1 M 塩酸水溶液をモデルとし、XANES 測定で得たスペクトルを比較した。測定はいちシンクロトロン光センターで実施した。

##### 【結果及び考察】

各 MOSA 結晶の Cl 原子に注目するとベンゼン環のオルト位のアミノ基は全て 2 つの N-H $\cdots$ O 水素結合を形成していた。その中で MOSA-PG のみ水素結合角が 130.5°, 138.0°と小さく、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。MOSA-PG の XANES スペクトルは 2827.7 eV のピークが他と比べて顕著に高く、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 Cl 原子を含む同一の MOSA 分子で構成されているため、XANES スペクトルの違いが生じたのは、結晶中における MOSA の水素結合様式の違いが Cl 原子の電子状態に影響を与えたためと考えられた。

CAM-HCl A 型準安定形結晶は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。これは A 型結晶の Cl イオン周辺の化学的環境は塩酸中の Cl イオンに近いことを示唆している。A 型結晶には溶媒で満たされた大きな空間があるため、Cl イオンは CAM-HCl B 型安定形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、ほとんどが水和状態で存在することが示唆された。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、A 型結晶を急速に乾燥させると B 型結晶ではなく非晶質に移行するのは、この水素結合が形成されにくいためと考えられる。

## 【結 論】

結晶構造を用いたシミュレーション及び水分子が浸入する空間の形状から吸湿と水和物転移を説明可能であった。今後、この技術により医薬品分子の結晶構造が入手できれば吸湿及び結晶内への水分子の侵入を予測できることが示唆された。

また、CAM 及び IND のように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を利用できることが示唆された。今後、分子量の大きな医薬品分子の開発数が増えるほど、PAT を踏まえて非破壊的に観察あるいは定量的に評価する必要性は高まると考えられる。

さらに、Cl K 吸収端 XANES 測定法を Cl 含有 API に適用し、XANES スペクトルが結晶多形により異なることを初めて明らかにし、その違いを引き起こす要因について考察した。また、XANES 測定法により CAM-HClA 型準安定結晶中の Cl イオンの状態を明らかにしたことで A 型結晶が非晶質へと転移する要因を推測できた。このように XANES 測定法を API の評価に利用できることを明らかにした。

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、製剤開発や工業生産において有用であることを明らかにした。API を評価した。この成果は開発段階における迅速な評価や製剤の安定供給に寄与すると期待できる。

## 【対 象 論 文】

- 1) **Masataka Ito**, Kaori Nambu, Aya Sakon, Hidehiro Uekusa, Etsuo Yonemochi, Shuji Noguchi, Katsuhide Terada. Mechanisms for improved hygroscopicity of l-arginine valproate revealed by X-ray single crystal structure analysis. *J Pharm Sci.* 106, 859–865. 2017.
- 2) **Masataka Ito**, Rika Shiba, Miteki Watanabe, Yasunori Iwao, Shigeru Itai, Shuji Noguchi. Phase transitions of antibiotic clarithromycin forms I, IV and new form VII crystals. *Int J Pharm.* 547, 258–264. 2018.
- 3) **Masataka Ito**, Reiko Tokuda, Hironori Suzuki, Tomoaki Sakamoto, Katsuhide Terada, Shuji Noguchi. Desolvation behavior of indinavir sulfate ethanol and follow-up by terahertz spectroscopy. *Int J Pharm.* 567, 118446. 2019.
- 4) **Masataka Ito**, Rika Shiba, Hironori Suzuki, Shuji Noguchi. Chlorine K-Edge X-ray absorption near-edge structure analysis of clarithromycin hydrochloride metastable crystal. *J Pharm Sci.* 109, 2095–2099. 2020
- 5) **Masataka Ito**, Hironori Suzuki, Shuji Noguchi. Chlorine K-Edge X-ray absorption near-edge structure discrimination of crystalline solvates and salts in organic molecules. *Cryst Growth Des.* 20, 4892–4897. 2020

# 学位論文審査報告書

報告書記載：2022年 9月 9日

学位申請者名	伊藤 雅隆
論文題目	医薬品原薬の物性評価における非破壊的評価法の確立
審査委員名	主査 伊関 峰生 副査 宮内 正二 副査 坂田 健
<p>学位論文の審査結果の要旨：</p> <p>医薬品の品質管理において、医薬品原薬（API）の物性を理解することはきわめて重要である。本論文はAPIの結晶構造に注目して非破壊的な新規評価技術を確立することを目的として掲げており、低分子または中分子医薬品における結晶多形転移および溶媒分子の挙動をさまざまな物理化学的手法を用いて検討し、これら医薬品結晶の安定性、溶解性のメカニズムを解明したものである。論文は序論に相当する第1章以下6つの章立てで構成されており、第2章においてはバルプロ酸塩をモデルAPIとし、結晶構造に基づいて水分子の挙動をシミュレーションすることで、医薬品分子の吸湿性を予測可能であることを示した。第3章ではクラリスロマイシンの複数の水和物および無水物の結晶多形について、水分子の挙動と多形転移を動的水分吸脱着測定および熱測定により追跡し、結晶構造と湿度依存的転移の関係を明らかにした。第4章ではインジナビル硫酸塩の脱溶媒過程を熱分析で追跡すると同時にテラヘルツ分光測定を行い、粉末X線回折測定では観測できない脱溶媒過程をテラヘルツ時間領域分光法で観測可能であることを示した。第5章と第6章ではモサプリドおよびクラリスロマイシン等をモデルとしてX線吸収端近傍構造（XANES）スペクトル法を初めてAPIの物性評価に適用し、結晶形の違いに起因する分子間相互作用の違いがXANESの変化をもたらすことを明らかにした。これによりXANESスペクトル法が新しい結晶形の評価法として有用であることが示された。以上、本論文は頑健性の高いデータに基づいて議論が展開され、論旨も明確で一貫性が保たれている。また、得られた結果は新規性に富んでおり、薬剤学分野における独創性も高く、当該分野の発展に大きく寄与するものと期待される。</p> <p>各審査委員との面談においては、申請者の研究に対する姿勢、当該分野に関する学識についても審査が行われた。伊藤氏は東邦大学薬学部助教として勤務する7年間において、学生指導に携わりつつ本研究を遂行し、その成果を5報の原著論文として発表している。その真摯な研究姿勢には審査委員全員が高い評価を与えており、本研究における実験手法の基盤となる物理化学的知識および学問的背景となる薬剤学全般に対する見識も十分と判断された。</p> <p>以上、本審査において、伊藤雅隆氏の審査論文は、博士（薬学）論文として質、量ともに十分値するものであると評価する。</p>	