

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05135

研究課題名(和文) 医薬品のナノ粒子晶析における多形・形状制御に向けたフロープロセスと計算化学の協奏

研究課題名(英文) Controls of polymorph and morphology in the crystallization of pharmaceutical nanoparticles by flow process and computational chemistry

研究代表者

竹林 良浩 (Takebayashi, Yoshihiro)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・主任研究員

研究者番号：70357416

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：医薬品の多くは複数の結晶構造(多形)を有し、多形間では溶解性や熱安定性が異なるため薬効に影響する。本研究では、医薬品の結晶多形を制御しつつ流通式の装置を用いて連続的に結晶を析出させるための実験的・計算化学的基盤を構築するために、多形間の溶解性や熱安定性の違いに対して溶媒の種類が与える影響の実験的測定と予測手法開発、溶解度の溶媒依存性を分子シミュレーションにより計算する手法の検証、得られた溶解度データをもとに医薬品を晶析するマイクロミキサを用いた流通式装置の構築とプロセス条件の検討をおこなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

医薬品の結晶多形の違いは薬効に大きく影響するため、特定の多形をもつ結晶を再現性良く連続的に生産できる手法の開発は製薬プロセスを進化させるために求められている技術である。また、多形間の溶解度や熱安定性の違い、および、それらに対して溶媒の種類が与える影響を熱力学的・計算化学的に明らかにすることは、それらを支配するメカニズムを解明するとともに、より精度よく予測するための手法を開発するうえで学術的にも重要な意義をもつ。

研究成果の概要(英文)：To develop the experimental and computational basis for the development of continuous-flow anti-solvent crystallization of pharmaceutical solids with controlled polymorphs, we studied the solubility and thermal stability of the polymorphs and the microflow apparatus for the crystallization. The solubility of the polymorphs of famotidine and sulfathiazole was measured in various solvents and the solubility ratio between the polymorphs was analyzed on the basis of thermodynamic equations. To computationally study the solvent dependence of the solubility, the solvation free energy change was calculated by molecular dynamics simulation with thermodynamic integration method. The calculated solubility in protic solvents was in qualitative agreement with the experimental result. Using the solubility data, continuous-flow crystallization of famotidine was performed to clarify how the solvent affects the polymorph of the precipitate.

研究分野：化学工学

キーワード：医薬品 結晶多形 溶解度 溶媒 晶析 計算化学 フロープロセス 微粒子

## 1. 研究開始当初の背景

医薬品の多くは、複数の結晶構造(多形)をもつ。同じ医薬品でも、多形が異なると溶解性や熱安定性が変わるため、服用時の生物学的利用能も変化し薬効に影響する。例えば、抗HIV薬であるリトナビルは、開発中は形の結晶構造のみが知られていたが、上市後に安定で溶解度の低い形が出現したために、市場から回収される事態となった。そのため、こうした結晶多形を制御した医薬品粒子の製造法や、多形間の溶解性や熱安定性の違いの予測手法を確立することが望まれる。

医薬品粒子の多くは、貧溶媒晶析というプロセスにより製造される。この手法では、医薬品の溶液を、それが溶けない溶媒(貧溶媒)と混合することによって溶解度を低下させ、固体として析出させる。貧溶媒晶析において使用する溶媒の種類や混合比率などのプロセス条件を変えて析出する多形を制御しようとする試みがこれまでなされてきているが、両者の関係には未解明の点が多い。というのも、従来の槽型のバッチ式晶析装置では、液を瞬時に均一に混合することが難しく、槽内での濃度のムラや経時変化が生じやすいため、系統的に再現性の高いデータを得ることが困難だからである。

一方、研究代表者らはこれまで、マイクロミキサと呼ばれる1mm以下の細い流路をもつ混合器に溶液と貧溶媒を流通させることで迅速かつ均一に混合するフロー式の晶析法を用いることにより、NPBなど種々の有機半導体のナノ粒子が析出した分散液を連続的に製造できることを示してきた。また、これらのナノ粒子は非常に薄い板状となるが、その理由を計算化学により有機半導体の分子構造と結晶構造に基づいて明らかにしてきた。さらに有機半導体の溶解度の溶媒依存性を、ハンセンの溶解度パラメータと呼ばれる指標を用いて熱力学的に相関する手法の開発を進めてきた。こうした実験的手法と計算化学的手法を応用することによって、医薬品の連続フロー晶析プロセスの設計や溶解度の予測に資する知見が得られると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、医薬品の結晶多形を制御しつつ連続フロー晶析するための、実験的・理論的基盤を構築することを目的とした。具体的には、以下の3つの項目について検討した。

(1) 医薬品の微粒子を貧溶媒晶析する際の溶媒の選定や混合比率の設定に必須となる溶解度の溶媒依存性を各多形に対して測定しデータベース化する。また、多形間の溶解度の比に着目し、熱力学的に予測される値と比較考察する。

(2) 医薬品溶液の計算機シミュレーションをおこない、分子間相互作用に基づいて様々な溶媒中での医薬品の溶媒和にともなう自由エネルギー変化を求める。計算結果を実験的に得られた溶解度の溶媒依存性と比較し、シミュレーションの妥当性を検証する。

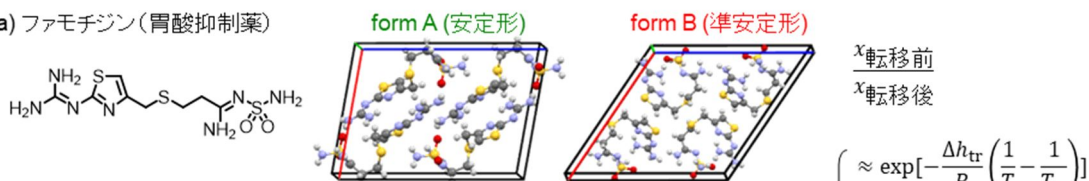
(3) 上記により得られた溶解度データをもとに医薬品の貧溶媒晶析の条件を設定し、マイクロミキサを用いた連続フロー晶析をおこなう。析出する医薬品微粒子の結晶多形に対して溶媒の種類が与える影響を明らかにする。

## 3. 研究の方法

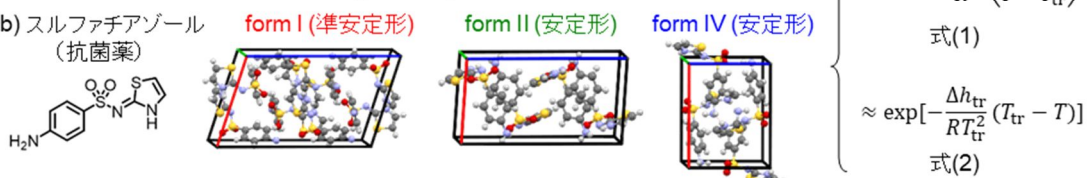
### (1) 医薬品の溶解度の多形・溶媒依存性の測定と熱力学的解析

医薬品として、ファモチジンの多形2種(A・B)とスルファチアゾールの多形3種(・・・)を対象として溶解度を測定した。各医薬品の分子構造と多形結晶構造を図に示す。これらの溶解度を8種類の溶媒(水、メタノール、エタノール、n-プロパノール、i-プロパノール、アセトン、アセトニトリル、酢酸エチル)中で測定して比較した。溶解度を測定するため、飽和溶液を調製し、その濃度を高速液体クロマトグラフィ(HPLC)で分離定量した。飽和溶液は、溶媒に過剰量の医薬品固体を加えて25℃で攪拌し、分散液を孔径0.2µmのPTFEメンブレンフィルタで濾過して得た。濾別された固体を粉末X線回折(XRD)で分析し、溶媒処理の前後で多形間の相転移が生じていないかどうかを調べた。ファモチジンの市販品はB形であり、A形はアセトニトリルから再結晶して得た。スルファチアゾールの形と形は、それぞれエタノールと水から再結晶して得た。I形は180℃で熱的に相転移させることにより得た。

(a) ファモチジン(胃酸抑制薬)



(b) スルファチアゾール(抗菌薬)



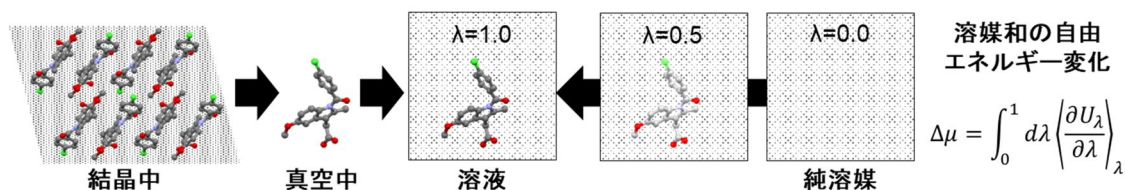
得られた溶解度を熱力学的に解析するために、多形間の熱的な相転移が起こる温度 $T_{\text{tr}}$ とそれにとりまう相転移熱の大きさ $\Delta h_{\text{tr}}$ を示差走査熱量計(DSC)により測定した。これら

の熱力学量を用いると、モル分率で表した溶解度  $x$  の多形間の比は、図中の式(1)または(2)のように近似的に表される(引用文献:  $R$ は気体定数、 $T$ は絶対温度)。これらの熱力学式によれば、多形間の溶解度の比の値は、溶媒の種類によらず一定であると予測される。

### (2)溶解度の溶媒依存性の計算機シミュレーション

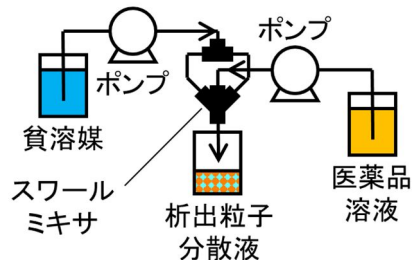
溶媒による溶解度の違いを計算化学的に考察するため、分子動力学(MD)シミュレーションをおこなった。固体の溶解は、分子を結晶中から真空中に取り出す過程と、その孤立分子を溶液中に溶媒和させる過程に分けることができる。このうち前者は溶媒の種類によらないため、後者の過程にともなう溶媒和の自由エネルギー変化  $\mu$  を計算した。熱力学的積分法によれば、溶質-溶媒分子間の相互作用の強度を摂動パラメータ  $\lambda = 0 \sim 1$  を介して変化させつつ加えたとき、 $\mu$  は各状態での相互作用エネルギー  $U$  を用いて下図の式で表される。ここでは、 $\mu$  を 20 分割して積分を計算した。

溶質はスルファチアゾールとした。Lennard-Jones相互作用には、生体分子等によく利用される一般化Amber力場(GAFF)を使用した。静電相互作用を計算するために必要な溶質および溶媒分子の各原子上の電荷量は、密度汎用関法(B3LYP)もしくはHartree-Hock(HF)法による量子化学計算で得られた静電ポテンシャルを最も良く再現するよう配置した(RESP電荷)。ただし、水に対しては一般的に使用されているTIP3Pモデルを用いた。シミュレーションにはソフトウェアGromacs 5.1.4を使用し、温度が25℃、圧力が1気圧で一定になるように制御した。



### (3)医薬品の連続フロー晶析プロセスの検討

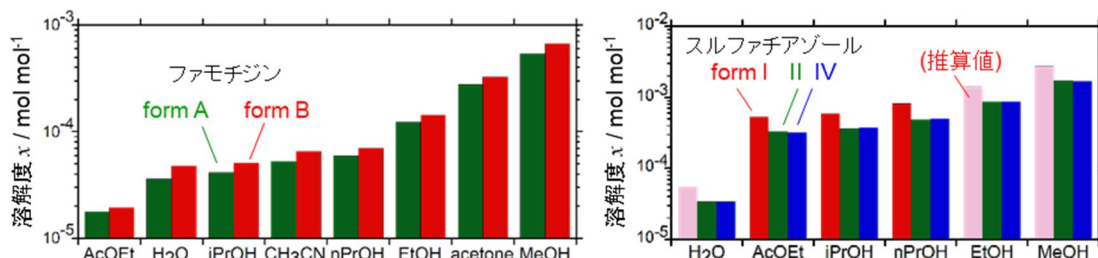
連続フロー式の貧溶媒晶析に用いた装置の構成を下図に示す。医薬品の溶液と貧溶媒をそれぞれHPLCポンプ(日本分光PU-2080i)で送液し、旋回渦流を形成するスワール型のマイクロミキサ(杉山商事、主流内径0.8mm、側流内径0.5mm)を用いて急速混合した。これにより過飽和状態を作り出して粒子を析出させ、その分散液を連続的に回収した。医薬品としては、後述の結果から溶媒中で放置しても多形間の転移を起こさないことが明らかになっているファモチジンを用いた。ファモチジンの溶媒としては、高い溶解度が得られたメタノール・アセトン・エタノールを試した。貧溶媒としては、溶解度が低すぎるために測定ができなかったヘキサンを用いた。ただし、メタノールとヘキサンは組成により相分離するために、メタノールリッチ側の均一相(メタノールの体積分率が60%以上)となる流量比で混合した。それ以外の系では溶液側の体積分率が20~60%となる流量比で混合し、総流量が10~15mL/分となるように設定した。この条件で、析出した粒子による流路の閉塞を起こさずに10分間にわたって回収ができた。析出した粒子を濾別して乾燥し、XRDを用いて多形の種類を判別した。



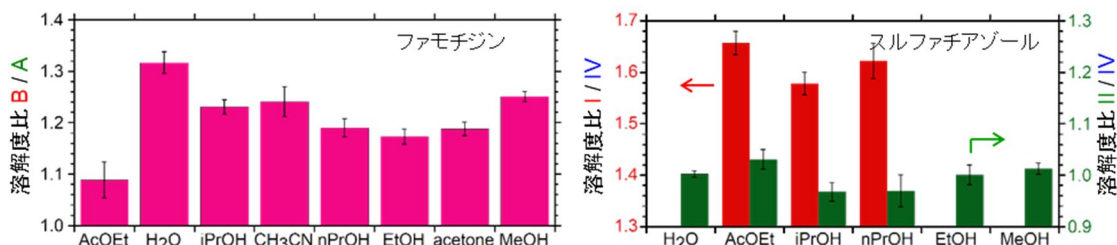
## 4. 研究成果

### (1)医薬品の溶解度の多形・溶媒依存性の測定と熱力学的解析

ファモチジンとスルファチアゾールの各多形の溶解度の溶媒依存性を下図に示す。ファモチジンの溶解度の溶媒依存性は、A・B形ともに酢酸エチル<水<i>i</i>-プロパノール<アセトニトリル<n</n>-プロパノール<エタノール<アセトン<メタノールの順に大きくなり、1ケタ半にわたって変化した。どの溶媒中でも溶解度はA<Bであり、これはB形が準安定形であることに対応する。一方、スルファチアゾールの溶解度の溶媒依存性は、水<酢酸エチル<i>i</i>-プロパノール<n</n>-プロパノール<エタノール<メタノールとなり、2ケタにわたって大きく変化した。ただし、水・エタノール・メタノール溶媒中では、A形からB形またはC形への溶媒媒介転移が起こったため、B形の溶解度が測定できなかった。それ以外の溶媒中では準安定形であるC形の溶解度が最も大きく、安定形であるA形とB形の溶解度はほぼ同じであった。



次に、多形間の溶解度の比を下図に示す。スルファチアゾールの場合は、溶媒の種類によらず溶解度の比が  $\gamma / \beta = 1.62 \pm 0.04$ 、 $\delta / \beta = 1.00 \pm 0.03$  となった。この結果を利用すると、溶媒媒介転移のために測定できなかった  $\beta$  形の水などへの溶解度を、 $\delta$  形の溶解度の値から推算することができる（上図に記載）。一方ファモチジンの場合は、溶解度の比  $B/A$  が溶媒の種類により 1.09 から 1.32 まで有意に変化した。この原因については特定できていないが、溶解度の比の値が溶媒の誘電率とともに大きくなることから、4つのアミノ基の電離の影響や、ファモチジンの長い分子鎖の屈直状態の変化、結晶表面での溶媒との相互作用などが関係していると考えられる。

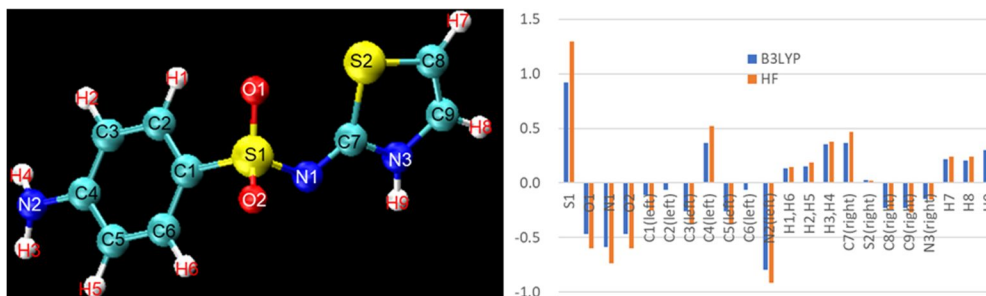


さらに、実験的に得られた溶解度の比を、転移熱物性から計算された値と比較した。従来良く使われている式(1)は溶解度の比を大幅に過大評価するのに対し、Hoffmannらが提唱した経験式(2)は実測値により近い推算ができることが分かった。

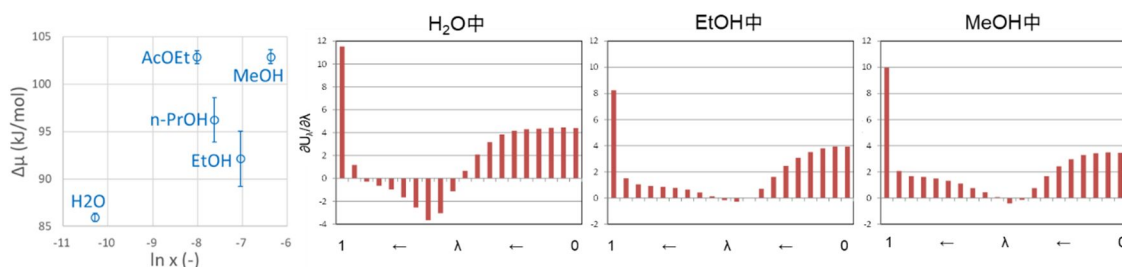
	ファモチジン B/A	スルファチアゾール I/IV	スルファチアゾール II/IV
式(1)	1.61	2.45	1.10
式(2)	1.31	1.86	1.03
実測値	1.09~1.32	1.58~1.66	0.97~1.03

## (2)溶解度の溶媒依存性の計算機シミュレーション

スルファチアゾールの各原子上の電荷をB3LYPとHFで計算した結果を下図に比較して示す。S=O基とNH<sub>2</sub>基が大きく分極しており、それぞれに隣接するN1が負に、C4が正に帯電していることが分かる。B3LYPに比べHFでは電荷を大きく見積もったが、計算された溶媒和の自由エネルギー変化を含めて、溶媒依存性の定性的な傾向は同じであった。以下では、HF法による計算結果を示す。

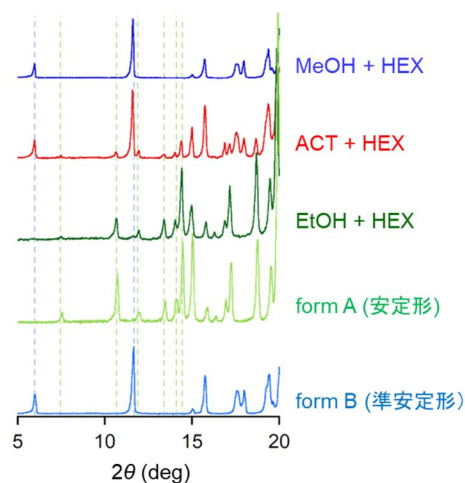


各溶媒中で計算された溶媒和の自由エネルギー変化  $\mu$  を、実測された溶解度の対数  $\ln x$  に対してプロットしたものを下図に示す。また、各  $\mu$  における被積分値  $U/\lambda$  もあわせて示す。水素結合性溶媒中での  $\mu$  は、水<エタノール<プロパノール<メタノールの順に大きくなった。これは、実測の溶解度が大きくなる順番と定性的に一致する。アルコール類の中では、極性の高いメタノールで最も溶解度が高くなるが、さらに極性の高い水の場合は逆に溶解度が大きく低下する点が興味深い（これは巨視的には、スルファチアゾールの溶解度パラメータが、メタノールに近い値をもつと解釈できる）。 $\mu$  を  $\lambda$  ごとに分けて見ると、エタノールに対してメタノールでは、 $\lambda$  の大きい領域で値が大きくなっており、これが溶解度の増大に寄与していると考えられる。一方、水では  $\lambda$  が1に近い部分で値がさらに大きくなっているものの、 $\mu$  が  $0.9 \sim 0.5$  の領域で負の値をとっており、これが溶解度を低下させている。どのような相互作用や溶媒和構造が効いているのか今後の検討が望まれる。一方、酢酸エチルについては、溶解度に比べて大きすぎる  $\mu$  が得られており、計算手法の改善が必要である。



### (3) 医薬品の連続フロー晶析プロセスの検討

ヘキサンを貧溶媒としたファモチジンの連続フロー晶析により得られた固体のXRDスペクトルを右図に示す。メタノール溶液から晶析した場合は、純粋なB形が得られ、わずかに黄色を帯びた針状の結晶であった。一方、アセトン溶液から晶析した場合には、B形が主であるものの少量のA形が混在し、エタノール溶液から晶析した場合は、純粋なA形が得られた。これらの結晶は、白色で粉末状であった。以上の結果から、使用する良溶媒の種類により得られる多形や形状を制御できることが示された。その機構については今後検討が必要であるが、熱溶液からの冷却による再結晶の場合にも、メタノールからは純粋なB形の結晶が得られた（水やアセトニトリルなど他の溶媒からはA形が得られた）ことから、良溶媒中での溶液構造が晶析される多形に反映されていることや、メタノール中での高い溶解度が準安定形の析出に影響していることが考えられる。



#### < 引用文献 >

- J.M. Prausnitz, R.N. Lichtenthaler, E.G. de Azevedo, *Molecular Thermodynamics of Fluid-Phase Equilibria*, 3rd ed., Prentice Hall, 1999.
- J.D. Hoffman, *Thermodynamic Driving Force in Nucleation and Growth Processes*, *J. Chem. Phys.* 1958, 29, 1192–1193.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takebayashi Yoshihiro, Sue Kiwamu, Furuya Takeshi, Yoda Satoshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Polymorphic Solubility Ratio of Famotidine and Sulfathiazole in Various Solvents	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Crystal Growth & Design	6. 最初と最後の頁 2868-2875
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.cgd.1c00064	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 竹林 良浩・陶 究・古屋 武・依田 智
2. 発表標題 医薬品の多形溶解度比に対する溶媒の影響
3. 学会等名 分離技術会年会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹林 良浩・陶 究・古屋 武・依田 智
2. 発表標題 Polymorphic Solubility Ratio of Pharmaceutical Drugs in Various Solvents
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Process Chemistry (ISPC2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹林 良浩・陶 究・古屋 武・依田 智
2. 発表標題 Polymorphic Solubility Ratio of Pharmaceutical Drugs in Various Solvents
3. 学会等名 18th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering (APCChE 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹林 良浩・陶 究・古屋 武・依田 智
2. 発表標題 医薬品の多形間の溶解度比の溶媒依存性
3. 学会等名 第28回有機結晶シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 下位 幸弘・三浦 俊明・竹林 良浩
2. 発表標題 医薬品スルファチアゾールの結晶多形に関する分子シミュレーション
3. 学会等名 第28回有機結晶シンポジウム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	三浦 俊明  (Miura Toshiaki)  (20358071)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・主任研究員    (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------