

平成21年 5月 1日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007-2008

課題番号：19590035

研究課題名（和文）テラヘルツ分光法及び量子化学計算による固体分散体中の
医薬品分子状態の解明研究課題名（英文） Evaluation of molecular states of drug in solid dispersion
by terahertz spectroscopy and computational calculation

研究代表者

氏名（ローマ字）：森部 久仁一（MORIBE KUNIKAZU）

所属機関・部局・職：千葉大学・大学院薬学研究院・准教授

研究者番号：50266350

研究成果の概要：

複合体の結晶構造が明らかになっているチオ尿素-エテンザミドのテラヘルツスペクトル測定を行い、複合形成に伴う振動状態の変化を考察した。また、テラヘルツ領域（<1.8THz）の量子化学計算による振動モード解析を行った。その結果、チオ尿素では0.2~1.2テラヘルツ（THz）にブロードな強い吸収ピークが観察され、尿素ではピークは観察されなかった。振動モードの計算に密度汎関数法を用いB3LYP及び6-31G+**レベルで実行したところ、多分子で計算を行うことにより複合体間の相互作用を考慮した結果が得られ、テラヘルツスペクトルをより精度よく予測可能であった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
19年度	3,100,000	930,000	4,030,000
20年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：テラヘルツ、計算科学、複合体、cocrystal、固体分散体、非破壊

1. 研究開始当初の背景

テラヘルツ波を用いた分光技術は、半導体技術や量子エレクトロニクス的发展により、フェムト秒レーザーを用いたテラヘルツ時間領域分光法として発展してきた。テラヘルツ時間領域分光法は、試料にテラヘルツパルス波を照射させ、透過後のテラヘルツ波の時間波形を測定し、フーリエ変換することで周波数ごとの振幅と位相情報を得ることが可能である。医療分野では、テラヘルツ波の透

過性を生かした生体の機能解析や無侵襲診断への応用が期待されている。DNA塩基に特徴的な吸収を利用した遺伝子診断や、イメージング技術を用いた正常細胞とがん細胞の識別などは今後の発展が期待される研究である。薬学分野では、テラヘルツ分光技術を用いた測定は、医薬品結晶多形や非晶質状態の評価への応用が試みられ、これまでも数多くの報告が存在する。最近では、テラヘルツを利用したイメージング技術も年々進歩を遂げており、錠剤中の主薬や添加剤の分子

状態、多層コーティングの状態評価に加え、PTP 包装中での錠剤の無侵襲・非破壊評価への応用が期待される。

代表研究者らが最近測定を始めたテラヘルツスペクトル測定では、医薬品同士や医薬品と添加剤間の分子間相互作用を反映したスペクトルが得られる。結晶多形といった結晶形の違いに関する研究は、従来から行われてきているが、いずれも医薬品単独に関する研究であり、多成分系での検討はほとんどなされていない。また、得られたスペクトルに関しても何に由来する吸収なのかかわからないまま用いられている場合が多い。テラヘルツの波数領域はいわゆる指紋領域に相当し、赤外や近赤外領域と比較して透過性が高く非侵襲・非破壊での測定が可能であるにも関わらず、その特性をいかした研究は殆ど行われていないのが現況である。代表研究者らが今回使用した予定のテラヘルツ分光装置（栃木ニコン社製）は、従来のテラヘルツ分光装置とは異なり、試料ホルダー部分を真空処理することなくきれいなスペクトルの測定が可能で装置であり、各種保存条件の違いによる医薬品製剤の分子状態の違いを反映させることができる。

テラヘルツスペクトル測定は医薬品の分野でも秘めたポテンシャルを有しているにも関わらず、スペクトルの理論的な解析が進んでいないため、今のところは結晶多形の識別といった目的で用いられているのが現状である。テラヘルツ分光技術が医薬品の分野で利用されるようになるためには、得られたスペクトルの吸収が何に由来するものかを正しく理解する必要がある。ピークを帰属する有用な手段は後述する量子化学計算である。また、テラヘルツスペクトルは温度の影響を大きく受けるため、常温での測定結果と極低温での結果は通常異なり、極低温でスペクトルを測定した方がピークがよりシャープに現れることも考慮しなければならない。

ところで、医薬品製剤は一般に多成分系の混合物であり、そのテラヘルツスペクトル測定結果から必要な情報を引き出すためには、各成分のスペクトル解析に加え各成分間での相互作用も把握する必要がある。逆に言えば、各成分のスペクトル情報が正確に把握されていれば、分子間の相互作用によって生じる分子状態の変化を非侵襲・非破壊で測定することが可能になる。これまで、テラヘルツスペクトル測定の対象となってきた有機化合物は数多く存在するが、いずれも単一化合物に関する測定であり、多成分系での分子状態を検討した研究はまだない。例えば医薬品と添加剤の複合体形成により分子間の相互作用状態は大きく変化するため、これがテラヘルツスペクトルにも反映されると推察されるが、実際そのような分子状態の変化を観

察する研究はなされていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究は、テラヘルツ分光法及び量子化学計算による固体分散体中の医薬品分子状態の解明をめざしたものである。多成分系である製剤中の医薬品の分子状態を非侵襲・非破壊で評価するというこれまでにない独創的な研究である。また、これまで帰属が行われてこなかった医薬品テラヘルツスペクトルのピークの帰属と予測が少しでも可能になることをめざした研究である。本研究では、医薬品単独でのスペクトル測定とピークの帰属を行うのはもちろんであるが、固体分散体、特に医薬品—医薬品あるいは医薬品—添加剤複合体形成による医薬品分子状態の変化をテラヘルツスペクトル測定により明らかにしていく。ピークの帰属に重要な役割を果たすのが量子化学計算による振動モード解析である。振動モード解析は計算精度を上げて行う必要があるが、多数の分子を配置した上での計算は困難である。分子間での相互作用を考慮しなければならないとなると、多少計算の精度を落としてでも多数の分子を配置した状態での計算が必要になると思われる。複合体形成による分子間相互作用の変化に関する研究はこれまで当研究室で行ってきており、十分な知識と経験がある。従って、従来の物性評価法で得られた結果をもとにテラヘルツスペクトル測定結果、振動モード解析の結果を評価し、吸収ピークの帰属および、複合化に伴うテラヘルツスペクトル変化が量子化学計算で得られた結果と比較して妥当であるか否かを考察する。

3. 研究の方法

(1)チオ尿素とエテンザミドの複合体のテラヘルツスペクトル測定と振動モード解析

チオ尿素とエテンザミドの等モル複合体は、代表研究者がこれまで物性評価と構造解析を行ってきたもので、物性および結晶構造に関するデータはそろっている。そこで、チオ尿素とエテンザミドの複合体のテラヘルツ測定と結晶構造データをもとに量子化学計算を行う。

①テラヘルツ時間領域分光法によるスペクトル測定

チオ尿素、エテンザミド及びその複合体のテラヘルツスペクトルを透過法で測定する。テラヘルツスペクトル測定は反射法でも測定が可能であるが、現在使用できる装置は透過型であるため、こちらでスペクトル測定を

行う。ポリエチレンに対して薬物の添加量が一定になるようにペレットを調製し、スペクトルを測定する。試料によってはこの方法でうまくスペクトルデータが得られない可能性も考えられる。その場合、希釈剤の選択や試料室部分の配置や形状を改良することで対応していく。テラヘルツスペクトル測定では、測定する試料の粉末形状がとくに高波数側のスペクトルに影響する。従って最低3回以上は測定を行い、スペクトルの再現性の悪いものに関しては試料粉末の粒度を整える、あるいは軽く粉碎する（結晶形、結晶性が変化しない程度）ことで再現性のあるスペクトルデータを得る。

②遠赤外吸収スペクトル測定

これまでの測定は3THz以下の領域に限った話であるが、3THz以上の遠赤外領域にも分子の振動状態に関する有用な情報が存在する。本研究では、上述の複合体形成に伴う分子状態の変化を遠赤外スペクトル測定でも評価を試みる。

③振動モード解析

量子化学計算では Gaussian2003 を用い、密度汎関数法で計算を実行する。まずは、チオ尿素、エテンザミドそれぞれ単独で振動モード解析を行う。結晶構造データをそのまま用いて計算結果が収束すれば問題ないが、収束しない場合については構造最適化計算をしたのち振動モード解析を行う。それでも収束しない場合は計算の精度をもっと下げる。単独での計算が終了したら、今度は複合体について同様の手順で振動モード解析を行う。テラヘルツスペクトル測定で得られた結果と量子化学計算によって得られた結果を照らし合わせ、計算結果が実測値とどの程度異なるのか、得られたスペクトルの吸収はそれぞれの相互作用に相当するののかについて考察する。これまで論文等で報告されている量子化学計算によるスペクトル予測の結果をみると、実測値との違いが0.1~0.3THz程度あるのもよくみうけられるため、値が実測値と異なるというその振動モードの帰属が間違っているとは限らない。ただ、どの程度の違いまでを許容するかは、計算の精度や温度の影響も十分考慮する必要がある。必要であればこれまで得られた構造データ、物性データをもとに可能性のある分子状態の変化について考察する。

(2)医薬品—医薬品あるいは医薬品—添加剤複合体のスクリーニング

結晶工学的知見に基づき、医薬品と添加剤の官能基の組み合わせを考慮して、複合体の形成が起こりうる医薬品や添加剤を選択す

る。最初に、医薬品としてカルバマゼピンやインドメタシン、オフロキサシンを用い、複合体を形成する可能性のある添加剤（サッカリン、ニコチンアミド、ジカルボン酸）と粉碎による複合体を調製する。テラヘルツスペクトル測定では、医薬品の結晶形・結晶性の違いがスペクトルに現れてくる。従って、得られた結果を考察する際には、最初に用いる医薬品や添加剤の結晶形や結晶性、形成した医薬品複合体の結晶形や結晶性を把握した上でスペクトルを評価する必要がある。試料の調製は混合粉碎法により行い、主として粉末X線回折測定により複合体形成の有無を判断する。混合粉碎法は、他の晶析法と異なり短時間で複合体の調製が可能である。複合体形成の有無は結晶形の変化での判断が第一選択であり、必要に応じて熱測定やIR測定で評価する。

(3)医薬品ナノ微粒子製剤の調製とスペクトル測定

当研究室でこれまで検討してきた固体分散体やナノ微粒子製剤を調製し、それぞれの構成成分に加え、ナノ微粒子製剤の物性評価とスペクトル測定を行う。測定は、透過法に限定せず、反射法などを用いて検討を試みる。

4. 研究成果

(1)チオ尿素とエテンザミドの複合体のテラヘルツスペクトル測定と振動モード解析

①テラヘルツ時間領域分光法によるスペクトル測定

チオ尿素では0.2~1.2THzにかけてブロードな強い吸収ピークが観察された。チオ尿素で観察されたピークはチオ尿素の分子間水素結合の存在に起因するピークと推察された。一方、エテンザミドは0.85 THz付近にピークが認められた。エテンザミド-チオ尿素複合体のテラヘルツスペクトルを測定したところ、エテンザミド-チオ尿素複合体ではチオ尿素のピークは消失した。これはチオ尿素分子間水素結合の消失によるものと考えられた。

②遠赤外吸収スペクトル測定

遠赤外吸収スペクトル測定の結果、チオ尿素では 89cm^{-1} と 163cm^{-1} にブロードなピークが、エテンザミドでは 73cm^{-1} 、 99cm^{-1} 、 125cm^{-1} 、 168cm^{-1} にピークが観察された。これらエテンザミドで観察されたピークは、複合体形成により 73cm^{-1} →消失、 99cm^{-1} → 94cm^{-1} 、 125cm^{-1} → $129\sim 136\text{cm}^{-1}$ 、 168cm^{-1} → 176cm^{-1} へと変化した。このように遠赤外吸収

スペクトル測定でも複合体形成によるスペクトル変化が観察された。本測定はPE diskでの測定であるが、全反射型(ATR)の装置を用いることで粉末のままでも測定が可能である。このようにテラヘルツ時間領域分光法によるスペクトル測定と遠赤外吸収スペクトル測定を併用することでより広い振動数領域でのスペクトル測定が可能になると考えられた。

③振動モード解析

エテンズアミド-チオ尿素複合体について、1分子及び3分子の振動モード解析を行った。1分子による計算では、1.63 THz、遠赤外領域では 99cm^{-1} 、 110cm^{-1} 付近に吸収があると予測された。3分子による計算では、0.71、1.08 THz、遠赤外領域では 123cm^{-1} 、 185cm^{-1} に吸収があると予測された。振動モード計算においては、多分子で計算を行うことにより複合体間の相互作用を考慮した結果が得られ、テラヘルツスペクトルをより精度よく予測可能であった。テラヘルツ領域には結晶の格子振動に由来する吸収ピークも観察される。今回の計算科学的手法は、扱うことができる分子数に制限があり、格子振動をきちんと扱うには、量子化学計算と半経験的分子軌道法を組み合わせた計算処理(第一原理計算)が必要になると思われる。ただ、その場合には計算量が莫大になり、今ここで処理できるものではない。テラヘルツ領域の吸収振動が主に格子振動に由来する場合は、今回の評価法で正しく評価できない可能性があるが、それ以外、たとえば分子間相互作用に基づく振動が中心である場合は、今回の計算でも正しく評価可能であると考えられる。計算結果については2年間繰り返し行っており、それなりの精度のものができているが、さらに分子数を増やし精度をあげることも可能であるのでそれが終了し次第論文化する予定である。

(2)医薬品-医薬品あるいは医薬品-添加剤複体のスクリーニング

各種医薬品-添加剤の組み合わせで粉末X線回折測定による複体のスクリーニングを行った結果、オフロキサシンとジカルボン酸(シュウ酸、マロン酸、コハク酸)との組み合わせで複合体形成が確認された。複体の構造次第では、共結晶(cocrystal)の可能性も考えられる。しかし、水素結合に由来する相互作用は、IRや固体NMR測定で観察されなかったことから、得られた複合体はもっと弱い相互作用で構造を形成しているものと推察された。詳細についての検討も終了し2009年5月中に論文投稿の予定である。

他の医薬品-医薬品、医薬品-添加剤の組

み合わせでも複合体形成が確認できたものは多く存在するが、テラヘルツスペクトル測定であきらかにピーク変化が観察される場合はそれほど多くない。精度の高い測定をするための条件設定が精密な測定のためには必要になると考えられた。

(3)医薬品ナノ微粒子製剤の調製とスペクトル測定

当研究室でこれまで検討してきた固体分散体(アスコルビン酸誘導体とクラリスロマイシンの複合体・ナノ微粒子)やナノ微粒子製剤(プロブコール・ポリビニルピロリドン・ラウリル硫酸ナトリウムの混合粉砕物)を調製し、ナノ微粒子製剤の物性評価とスペクトル測定を行った。物性評価は固体及び液中での状態がうまく測定できた。一方、テラヘルツ測定(透過法、反射法)、遠赤外スペクトル測定では、明確なスペクトル変化が観察できなかった。これは各成分に由来するピークが明確に出ていなかったのに加え、成分が多くなり、それぞれのピークの判別が困難なことが原因と考えられた。とくに、ナノ微粒子製剤は、薬物と添加剤が実際に相互作用している部分がそれほど多くないことが推察される。そういう意味では、固体分散体や微粒子の評価は相互作用を評価するという目的では不向きだが、結晶状態の把握という意味では有用ではないかと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1件)

1. K. Moribe, C. Wanawongthai, J. Shudo, K. Higashi, K. Yamamoto, Morphology and surface states of colloidal probucol nanoparticles evaluated by atomic force microscopy. Chem. Pharm. Bull., 査読有, 56, 2008, 878-880.

[学会発表] (計 5件)

1. Limwikrant Watee、東頭二郎、森部久仁二、山本恵司、テラヘルツスペクトル分光法によるオフロキサシン-シュウ酸複合体形成の評価、日本薬学会第129年会、2009年3月26日、京都国際会議場

2. 森部久仁二、Limwikrant Watee、東頭二郎、山本恵司、畑晶之、笹倉大督、テラヘルツ・遠赤外吸収スペクトル測定によるエテン

ザミド-チオ尿素複合体形成の評価、第 25 回
製剤と粒子設計シンポジウム、2008 年 11 月
13 日、琵琶湖ホテル

3. Limwikrant Waree、森部久仁一、田中耕
一郎、東顕二郎、山本恵司、テラヘルツスペ
クトル測定によるテオフィリンとジカルボ
ン酸類のcocrystal形成の評価、日本薬学会
第 128 年会、2008 年 3 月 28 日、パシフィコ
横浜

4. Limwikrant Waree、森部久仁一、安藤茂、
東顕二郎、山本恵司、畑晶之、医薬品と尿素
化合物との複合体形成：テラヘルツ分光法に
よる評価、第 24 回製剤と粒子設計シンポジ
ウム、2007 年 11 月 14 日、浜松アクトシテイ
ー

5. 森部久仁一、安藤茂、畑晶之、戸塚裕一、
山本恵司、テラヘルツ分光法による尿素及び
チオ尿素と医薬品との複合体形成の評価、日
本薬剤学会第 22 年会、2007 年 5 月 23 日、大
宮ソニックホール

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森部 久仁一 (MORIBE KUNIKAZU)
千葉大学・大学院薬学研究院・准教授
研究者番号：50266350

(2) 研究分担者

山本 恵司 (YAMAMOTO KEIJI)
千葉大学・大学院薬学研究院・教授
研究者番号：50110341

畑 晶之
松山大学・薬学部・准教授
研究者番号：50241972

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

東 顕二郎
千葉大学・大学院薬学研究院・助教

Limwikrant Waree
千葉大学・医学薬学府・大学院生

Wanawongthai Chalermphon
千葉大学・医学薬学府・大学院生

丸山 直
千葉大学・医学薬学府・大学院生