公益社団法人 日本薬剤学会

物性 FG（フォーカスグループ）セミナー 2018

基礎から最前線まで！

X 線を用いた原薬・製剤の評価

主催： 日本薬剤学会 物性 FG

協賛学会：日本化学会、日本分析化学会、日本薬学会、

粉体工学会、製剤機械技術学会、日本結晶学会

日時： 2019 年 2 月 15 日（金）10：30~16：55

場所： 星薬科大学 百年記念館（東京都品川区）

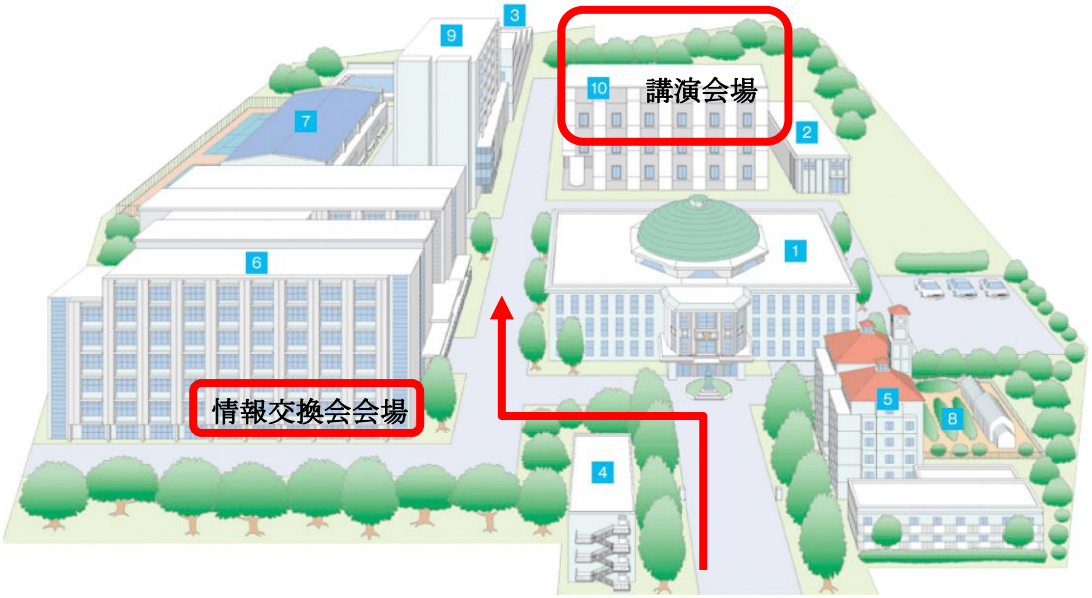
参加概要

一般参加費：セミナー（7000 円）、情報交換会（3000 円）
学生参加費：セミナー（無料）、情報交換会（3000 円）
会場：星薬科大学　百年記念館
URL：http://www.hoshi.ac.jp/site/
〒142-8501　東京都品川区荏原 2-4-41

お問い合わせ・申込み先：
事務局：日本薬剤学会 物性 FG 事務局
担当　古石 誉之まで
〒:142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41
星薬科大学薬品物理化学研究室内
電話/FAX：03-5498-5159
E-mail: apstj.fg.pp@hoshi.ac.jp
URL：http://bussei-fg.com/

キャンパスマップ

会場　　⑩ 百年記念館
講演　　3F C31 講義室
情報交換会　本館 1F　カフェテリア「ステラ」
注）キャンパス内は屋外であっても全て禁煙となります。



① 本館 ② 1号館 ③ 6号館 ④ 7号館 ⑤ 医薬研/歴史資料館
⑥ 新星館 ⑦ 体育館 ⑧ 薬用植物園 ⑨ 第2新館 ⑩ 百年記念館

主旨

X 線分析は固体試料の構造解析法として最も強力な方法の一つである。単結晶 X 線回折及び粉末 X 線回折は、すでに原薬・製剤分析において多用される分析法となっているが、その汎用性・応用性は近年益々向上している。また、X 線分析におけるハード・ソフト面での発展は著しく、創薬に応用できる新しい様々な測定・解析技術が開発されている。その結果、X 線分析の測定対象は、従来の単結晶や粉末に留まらず、懸濁液や錠剤まで広がった。今後、X 線を用いた分析は更に多種多様の展開を見せると期待できる。本会はＸ線分析の初心者から中級者を対象に「わかりやすい」をコンセプトとしている。X 線を用いた各種分析法を用いて研究されている産学の研究者からご講演頂き、X 線研究について基礎から学ぶ。

プログラム

（司会：静岡県立大学　岩尾　康範）

10：30-10：35　**はじめに**

星薬科大学　米持　悦生

（座長：第一三共株式会社　小野　誠）

10：35-11：15　**◎粉末 X 線回折の基礎　～測定原理、試料調製、測定・解析～**

ブルカージャパン株式会社　森岡 仁

11：15-12：05　**◎「特別講演」　CMC の観点から見た溶液中のナノメディシンの特性評価：X 線小角散乱を中心にして**

北九州市立大学　櫻井　和朗

12：05-13：15　**休憩**

（座長：千葉大学　東　顕二郎）

13：15-13：55　**◎医薬品分子の結晶と非晶質の構造の違いを調べる：二体分布関数を用いた解析**

物質・材料研究機構　冨中　悟史

13：55-14：35　**◎3 次元 X 線顕微鏡(X 線 CT)での製剤評価について**

東芝ナノアナリシス株式会社　照井　裕二

14：35-14：50　**休憩**

（座長：武田薬品工業株式会社　池田　幸弘）

14：50-15：30　**◎単結晶 X 線構造解析の利用**

明治薬科大学　高取　和彦

15：30-16：10　**◎粉末 X 線構造解析の現状と医薬品開発への応用**

アステラス製薬株式会社　溝口　亮

16：10-16：50　**◎企業研究における X 線の利用**

中外製薬株式会社　高田　則幸

16：50-16：55　**おわりに**

明治薬科大学　深水　啓朗

17：00-19：00　**情報交換会**

「特別講演」

CMC の観点から見た溶液中のナノメディシンの特性評価：X 線小角散乱を中心にして

櫻井和朗（北九州市立大学　国際環境工学部）

Characterizing Self-Assembled Nanoparticles in Drug Delivery in Terms of CMC Perspectives

Kazuo Sakurai (Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Kitakyushu)

近年、ナノメディシンの FDA への申請（IND を含む）が年率１０％以上で増加している。例えば、今年８月に siRNA を組み込んだ Alnylam の低分子リポゾーム製剤が FDA で承認された。また高分子ミセルのレギュラトリーサイエンスに関するガイドラインとも言うべきリフレクションペーパーが厚生労働省／欧州医薬品庁から共同で発表されている。安全性保証や薬事申請において「同等性の保証」は根幹となる大切な事項である。薬のレギュラトリーサイエンスは「同等性」と安全性の証明のためにあると言っても過言ではない。低分子化合物の化学的な「同等性の保証」は、高分解能の NMR と質量分析計が接続された高速液体クロマトグラフィーがあれば純度もふくめた化合物の構造決定でほぼ完結される。しかし、ナノメディシンになると途端に「同等性の保証」は難問となる。粒子の大きさや成分に分布があるナノメディシンの場合なにをもって「同等」と言うのかは悩ましい問題である。製剤の業界では動的光散乱（DLS）による流体力学的半径の測定が物性評価のほぼ唯一の方法として用いられてきた。しかし、DLS は混合物の測定には決定的に向かないし、そもそも求められる大きさはモデルに依存していて絶対値ではない。最近では溶液中のナノ粒子の大きさや分布を測定する様々な装置が大学からのスピンアウトしたベンチャー企業を含めた多くオン会社から提案されている。しかし、溶液中のナノメディシンに関して「客観性」「統計平均」「絶対値」の要求を最も満たす測定法は光や X 線を用いた散乱法であると筆者は考える。

本講演では、筆者らが基礎から開発を始めて、現在臨床試験を行っている多糖核酸複合体、また精密な構造解析をした高分子ミセルなどの例を用いて、溶液散乱法が明らかにできる水溶液液中のナノメディシンの構造やその分布に関して述べる。

参考文献：**Polymeric micelles**: *J. Am. Chem. Soc*., **135 (7)**, 2574–2582(2013). *Macromolecules*, **45**, 6150-6157, (2012). *J. Phys. Chem. B*, 8241–8250, (2012). *Polymer Journal*, **44**, 240-244 (2012). *Langmuir*, ***26*** (10), pp 7544–7551 (2010). *Journal of Controlled Release* **203**, 77–84,（2015）**Beta1,3glucan/DNA complexes**: *J. Phys. Chem. B*, ***116,*** 87–94 (2012). *Molecular Therapy (Nature)*, **20**, 1234-1241 (2012). *Journal of Controlled Release*, 155-161 (2011). *Bioconjugate Chemistry* **22** 9-15, (2011). *J. Am. Chem. Soc*. **126**, 8372-8373, (2004). *PNAS*, **111**, 3086-3091, (2014)

粉末 X 線回折の基礎　～測定原理、試料調製、測定・解析～

森岡　仁

（ブルカージャパン株式会社 X 線事業部）

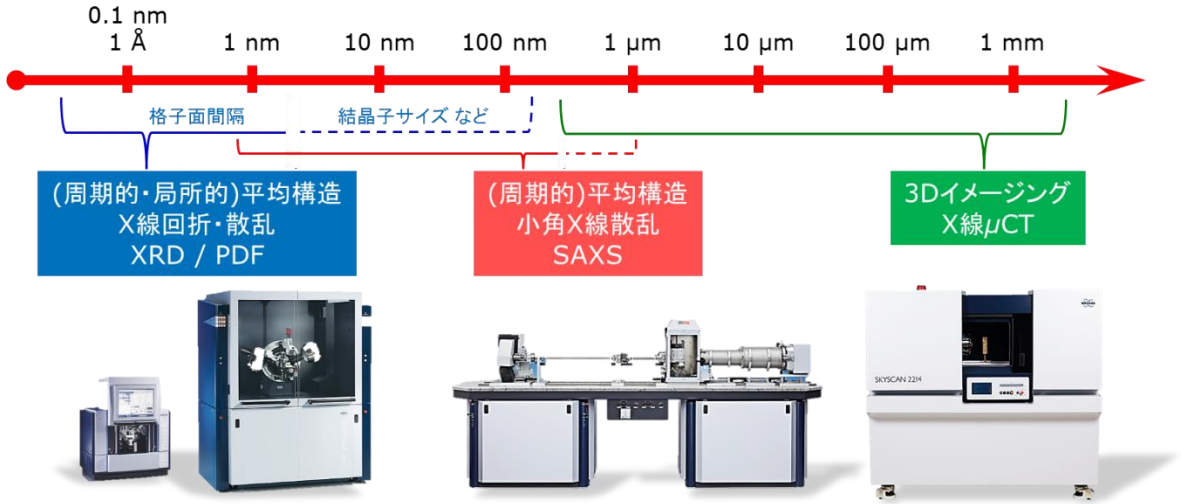
Basics of X-ray Powder Diffraction

Hitoshi Morioka

(X-ray Division, Bruker Japan K.K.)

X 線回折（X-ray diffraction: XRD）は X 線をプローブとした化学分析手法の一種で、材料内部の 3 次元的な結晶構造の評価に用いられる。X 線発生部、サンプルステージ、X 線検出部というシンプルな構成で利用でき、かつほとんどのサンプルを特別な前処理なく、大気中で測定を行うことができるため、研究開発用途から品質管理用途に至るまで幅広く活用されている。最も汎用的に利用されるケースとしては、測定結果に対してデータベースとして登録されている回折パターンに合致するものを同定検索する定性分析である。また、複数相が存在する場合には、それらの相対的な強度比を用いて存在量比を決定する定量分析としても使用される。これらの分析において、X 線回折では主に、サブ nm～1.数 nm オーダー（Å オーダー）の長さに相当する結晶中の原子間距離を対象としている。一方で、X 線回折に使用する光学系を一部変更することで、数 10 nm～100 nm を超える大きさを観察する小角 X 線散乱法（Small Angle X-ray Scattering: SAXS）や特定の原子の周辺に存在する局所的な原子の距離を観察する二体分布関数（Pair Distribution Function: PDF）解析という手法へ展開することもできる。通常、X 線回折では数 mg から数 100 mg の粉末試料やバルク体、溶液などが測定対象試料となる。一方で、完全な単結晶としてサンプルを 1 粒取り出すことができれば、結晶からのすべての回折角度と強度を記録することで、3 次元的な結晶構造を導き出す、単結晶 X 線構造解析（Single Crystal XRD: SC-XRD）に適用することができる。

本講演では、粉末 X 線回折の基礎として、原理や測定に用いられる光学系の役割などに触れ、併せて最新の X 線回折計の特徴を紹介するとともに、測定用試料の調整法およびその注意点を示す。次いで、測定結果の見方、および得られる試料情報について整理を行う。また、試料周りの雰囲気、特に温度や湿度などを制御し、特定の雰囲気下で結晶の変化を把握する手法や粉末 XRD 結果から 3 次元構造を解析するアプローチ、ウェルプレートホルダーに対応した高スループット解析機能についてもそれらのエッセンスを紹介する。



医薬品分子の結晶と非晶質の構造の違いを調べる：
二体分布関数を用いた解析

○冨中　悟史

（国立研究開発法人物質・材料研究機構　国際ナノアーキテクトニクス研究拠点）

Structural features of crystalline and amorphous pharmaceutical molecules: Analyses using pair distribution functions

○Satoshi Tominaka

(International Center for Materials Nanoarchitectonics (MANA), National Institute for Materials Science (NIMS))

筆者は材料科学者であり、医薬品分子の薬学的な視点では素人である。私の研究は特異な機能そのものと、それを原子配置から説明することを中心に展開している。物質・材料の構造を調べるために、単結晶構造解析から二体分布関数（pair distribution function, PDF）まで幅広く構造解析手法を用いている。本講演においては、非晶質を単に非晶質として一括りにせずに、二体分布関数を用いて何らかの情報を引き出そうという試みについて、特に医薬品の研究を例に解説を行う。

PDF は原子ペアの距離と密度の関数であり、平均密度からの差を反映した還元二体分布関数 $G(r)$ が実験データから求められるため、この関数を PDF と呼ぶことが多い [1)]。具体例としては筆者らが検討を行ったリトナビル（抗 HIV 薬）に関する測定と解析について解説を行う [2)]。リトナビルは図１に示す分子構造を有しており、主な結晶構造には I 型（単斜晶系、空間群 $P2_1$）と II 型（直方晶系、$P2_12_12_1$）がある。これらは配座異性体であり、近いエネルギーを有する。II 型の結晶を融点以上に加熱した後にクエンチした非晶質状態は、果たして II 型に近いのか、I 型に近いのか、あるいはまったく異なる状態なのか、構造の観点で非晶質が結晶と何が異なるのかが最も注目すべき点である。当然ながら X 線回折実験においてブラッグピークが失われ、ブロードな散乱データのみが観察される状態である。PDF は全散乱データから振動関数を導出して、フーリエ変換することで求めるため、ブラックピークのブロード化による制約はなく、C-C 距離などに由来するペア密度が求まる。ゆえに非晶質の分野では利用されてきた手法である。

当日は PDF の原理や測定の実際を紹介し、リトナビルを例に PDF データの利用方法について解説する。

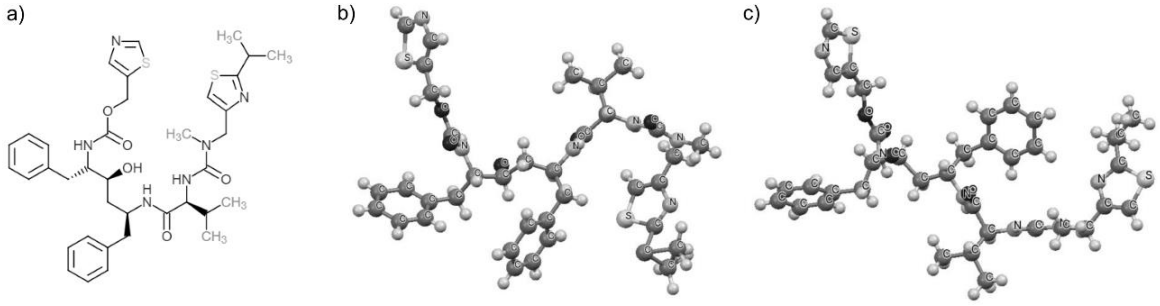


図１　(a) リトナビル分子。(b)結晶構造（I 型)。(c)結晶構造（II 型)。

参考文献

1. T. Egami, S. J. L. Billinge, *Underneath the Bragg peaks: structural analysis of complex materials*, Elsevier, Oxford, UK, (2003).
2. S. Tominaka, K. Kawakami, M. Fukushima, A. Miyazaki, *Mol Pharmaceut*, **14**, 264-273 (2017).

3 次元 X 線顕微鏡(X 線 CT)での製剤評価について

○照井 裕二、堤 雅義、鈴木 一博

（東芝ナノアナリシス株式会社）

Tablet evaluation under 3-dimensional X-rays microscope (X-rays CT)

○Yuji Terui, Masayoshi Tsutsumi, Kazuhiro Suzuki

(Toshiba Nanoanalysis Corporation)

東芝ナノアナリシス株式会社は、2002 年 8 月に株式会社東芝の中で蓄積された分析・解析に関する専門技術および知識を受け継いで設立され、半導体・液晶・金属・新素材を中心に、製造・研究・開発などをサポートしてきた。3 次元 X 線顕微鏡での分析サービスも同様に半導体・材料分野を中心に行ってきた。これらの経験より、医薬の製造・研究・開発においても、弊社をご活用頂ければと思う。

X 線は、1895 年にレントゲンによる発見から、物質を透過するという性質により、医療用を中心に X 線のイメージングは発展してきた。X 線イメージングの初期は透過のみの画像、その後、CT(Computed Tomography)手法が開発され、初期の特定断層面の画像(2 次元 CT)構築から、現在の 3 次元 CT へと進化している。これらの CT における画像再構成は、Radon 変換に基づくもので、現在、使用されている画像再構成法は、逆投影法等により処理されている場合がある。この逆投影法は、投影データに適当な関数をコンボリューションするか、または、投影データに適当なフィルタリングを行い、それらのいずれかの結果を逆投影する方式となる。

弊社所有の 3 次元X線顕微鏡を用いた製剤評価では、主に、固形製剤の観察と、そのデータ解析を行っている。その事例の 1 つとして、固形製剤にはいくつかの形状があり、製造に当たって多くのプロセスパラメータを設計する高度な技術が必要とされると言われている。そのようにして製造された固形製剤の中には、キャッピングなどのように打錠障害を有するものがあり、その原因を特定し設計に生かすことが重要となる。このキャッピングなどの原因となり得る空隙を確認し、空隙容量を数値化した。２つめに、1 つめの事例のように 3 次元 X 線顕微鏡での観察で空隙が明確に現れず、打錠状態によっては錠剤内部の 3 次元 X 線顕微鏡で空隙を確認できない場合がある。このように、観察画像では認識できない空隙が残る場合や原材料の粗密状態が部分的に変化することがある。これらの状態を 3 次元 X 線顕微鏡による非破壊かつ 3 次元の観察で、空隙や密度（粗密）の分布を評価した。

本講演では、弊社所有の 3 次元X線顕微鏡装置を中心に、X 線 CT の原理および特徴を示した後に、上記観察や評価以外にも、他の観察および数値解析事例を紹介する。これらの観察・データ解析が皆様の製造・研究・開発の一助となることを願う。

単結晶 X 線構造解析の利用

○高取和彦

（明治薬科大学薬学部　有機合成化学研究室）

Utilization of Single Crystal X-ray Structure Analysis

○Kazuhiko Takatori

(Laboratory of Synthetic Organic Chemistry, Meiji Pharmaceutical University)

単結晶 X 線構造解析は、結晶およびその中の分子の構造や配列をビジュアル化できる有用な方法である。我々の専門は有機合成化学で特に天然有機化合物の合成を研究している。そのような研究では、しばしば合成した化合物の絶対配置を含めた立体配置を決定する必要に迫られる。立体配置の決定には NMR を用いることが多いが、単結晶が得られた場合は、X 線構造解析の方が確実性に優れ有利であるため、これを利用している。

単結晶 X 線構造解析の結果からは、分子の立体配置の情報以外に、分子同士の配列の様子や分子間の水素結合などの情報がえられ、これは物性学や製剤学の分野でも有用な情報となるものと想像する。演者が X 線構造解析を利用するようになって 10 年ほどであるが、今回はユーザーとしての立場から、結晶の調製から測定の実際、データの解釈の仕方など、単結晶 X 線構造解析にあまり触れたことのない研究者向けに解説する。

単結晶 X 線構造解析の測定において、最も重要な点は測定に用いる結晶の善し悪しである。良好な単結晶を得るためには、結晶をたくさん取ろうとしない方がよい。一粒の結晶でも測定はできるのだが、我々は得られた結晶を次の反応の原料として使うことが常なので、どうしても早くたくさんの結晶を得たいと思ってしまう。しかし、たくさんの結晶を得ようとすると良好な単結晶が得られないことが多い。結晶をたくさん得ることよりも結晶同士が接着しないように、少量析出した段階で溶媒に浸かったまま測定に出した方が良い。また、得られた結晶が主な生成物であるかを吟味する必要がある。不純物の方が先に結晶することもあり得るので、それを考慮する必要がある。

測定の流れは概ね以下のようになる。1，結晶の選別とマウント。多くの場合、結晶は X 線ビームに完浴するようにカットする。2，装置へのセット。X 線ビームに完浴するようにセンタリングを行なう。3，仮測定。この結果でできるだけ多くの反射を収集できるような測定条件を決定する。4，本測定。5，単位格子と空間群の決定。6，データの解析。構造モデルを作成し、モデルから予想される反射データと実測値を最小二乗法で比較しながら、モデル構造を最適化する。予想値と実測値が十分に一致し、化学的に妥当な構造になったと判断したところで終了となる。

論文に公開された X 線結晶解析の結果は、The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) が収集しているので、請求すれば CIF 形式という書式で記述されたテキストデータで供される。しかし、CCDC から供されたデータは必ずしも良好な結果とは限らないので注意が必要である。CCDC はデータを収集しているだけで、データを吟味してはいない。データの質の善し悪しは利用者が判断しなければならない。したがって、データの利用のためには、多少の CIF についての理解と、データの見方を知る必要がある。CIF コマンドはインターネットで検索すれば直ぐに手に入るが、そのパラメータの意味がなかなか分かりにくい。このセミナーでは、データの質を判断するためのパラメータの見方なども解説したい。

粉末 X 線構造解析の現状と医薬品開発への応用

○溝口 亮

（アステラス製薬製薬技術本部物性研究所）

Crystal structure analysis with powder X-ray diffraction pattern – Application for Drug Discovery –

○Ryo Mizoguchi

(Analytical Research Labs., Pharmaceutical Technology, Astellas Pharma Inc.)

粉末 X 線回折測定法は，結晶相の同定や定量の際に汎用される手法である。また SPring-8や高エネルギー研究所に代表される大型放射光施設の利用，実験室装置の高質化，コンピュータの処理速度の発展などの要因から，粉末 X 線回折パターンを用いた結晶構造解析がより身近な技術となってきている。粉末 X 線回折からの結晶構造解析は，単結晶構造解析と比較すると，単結晶自身の調製が不要という特長の他，熱や湿度による結晶相転移をトレースしやすく，例えば室温での準安定結晶の構造解析が可能という特長がある。

医薬品の開発において，固体状態の早期見極め，即ち結晶多形の存在，水和物の転移などを創薬段階の初期段階で見極めることは重要である。特に周辺環境によって物理状態の変化が起こり易い水和物の転移メカニズムの検討は医薬品開発の可能性を見極めるために重要であり，結晶構造を用いて考察することの意義は大きい。本発表では，粉末 X 線回折からの結晶構造解析の結晶多形間の構造比較への利用，また脱水和のメカニズム検証に応用した事例を中心に紹介する。

事例①：Compound A に認められていた4つの結晶多形について，精密粉末 X 線回折によって得られたパターンより，結晶構造解析に成功した。4つのうち，融点が極めて近く，製造上の制御が困難である β 形および γ 形については，分子構造およびパッキング状態が極めて類似したものであり，エネルギー状態が極めて近いことを反映する結果となった。一方，α 形と δ 形については，β, γ 形とは結晶格子中の分子構造が明確に異なっていることが確認された。

事例②：オンダンセトロン塩酸塩二水和物は室温付近から脱水和する水和物であり，昇温による転移挙動およびそのメカニズムを結晶構造から考察した。昇温 X 線測定を実施したところ，75℃以上で無水物と考えられる X 線パターンが得られることが明らかとなった。さらに無水物への転移の前に，異なる X 線パターンを示す温度領域が認められ，中間相の存在が示唆された。両相ともに粉末 X 線回折からの結晶構造解析に成功し，脱水和のメカニズムが詳細に理解可能であった。

発表では粉末 X 線構造解析の現状と合わせて報告する。

企業研究におけるＸ線の利用

○高田　則幸

（中外製薬株式会社　研究本部）

Application of X-ray in corporate research

○Noriyuki Takata

(Chugai Pharmaceutical Co. Ltd., Research Division)

X 線を用いた分析法は、医薬品の固体状態の評価に必須であり、創薬研究から、CMC 開発研究、品質保証まで広く利用されている。単結晶 X 線回折、粉末 X 線回折に加え、エネルギー分散型 X 線分析、X 線 CT なども固体状態の評価に有用な方法であるが、本発表では前者 2 つの分析法に焦点を当てる。

単結晶 X 線回折は、結晶構造を解析する分析法であり、その応用目的として、結晶構造に基づく物理化学的性質の理解が挙げられる。特に、水和および脱水和挙動に関しては結晶構造が関与することが多い。加えて、結晶の組成に関する情報も得ることができることから、原薬形態スクリーニングなどで見いだされた新規な結晶の塩比、Cocrystal の Coformer 比、水和数、溶媒和の有無などの結晶の組成の決定にも利用される。また、絶対配置を含む化学構造も決定できることから、合成された化合物の構造確認だけでなく、天然物、不純物、代謝物の構造決定にも用いられる。さらには、結晶構造から粉末 X 線回折パターンを計算できることから、計算した回折パターンを標準として、原薬の混晶の有無の判断にも用いられる。

粉末 X 線回折は、結晶形の相違を判別できる分析法であり、スクリーニングから原薬の合成までスケールの大小に関わらず、得られた固体の結晶形の評価に汎用される。原薬形態スクリーニングなどでは、多数のサンプルを測定することから、サンプル処理の工夫や、クラスタリングなどによるデータ処理の効率化が必要となる。結晶多形が存在する場合は、原薬が規格の結晶形であることの確認などに用いられ、規格の結晶形以外の多形の含量を定量することも可能である。加えて、結晶形の変化を捉えることができるため、結晶転移の評価にも利用される。溶解度測定では、非水和結晶から水和結晶への転移のように溶解過程での転移が起こる可能性があり、どの固体と平衡にある溶解度であるかを明確にするため､残差固体の測定が必須である｡同様に Non-sink 条件の溶出試験でも、溶出プロファイルを考察するため、残差固体の評価が不可欠である。熱や湿度による結晶転移の評価には、温度・湿度コントロールユニットを用い、得られた各温度・湿度条件下の回折パターンは、熱分析や水分吸脱着等温線測定の結果と共に考察される。さらには、非晶質は回折パターンにハローとして現れることから、結晶化度の算出にも用いられる。結晶化度は溶出性や化学的安定性へ影響し、粉砕による結晶化度の低下などが評価の対象となる。また、結晶の組成と化学構造が既知である場合、粉末 X 回折パターンから結晶構造の解析が可能であり、単結晶 X 線回折と同様に、結晶構造に基づき物理化学的性質へ考察を加えることができる。結晶構造の決定に至らない場合でも、矛盾なく指数付けまで行うことができれば、標準となる回折パターンを得ることができる。

このように X 線を用いた分析法の企業研究での利用は多岐にわたる。本発表では、これらの利用方法について、実際の事例を交え紹介する。

協賛一覧

・(株) アントンパール・ジャパン
・スペクトリス (株)
・ブルカージャパン (株)
・(株) リガク
・(一社) 化学情報協会

(順不同)

協賛企業 5 社に厚く御礼申し上げます。

日本薬剤学会　物性 FG セミナー2018
『基礎から最前線まで！X 線を用いた原薬・製剤の評価』
講演プログラム集
2019/02/15　発行

発行・編集
日本薬剤学会　物性 FG
星薬科大学　薬品物理化学研究室
東京都品川区荏原２−４−４１
http://bussei-fg.com/