

医薬品分析特集③

粉末X線回折，熱分析による結晶多形の評価

生天目 由紀子^{*}，佐藤 博明^{**}

1. はじめに

同じ物質が異なる結晶構造を持つ現象，およびその構造を「結晶多形」(crystal polymorphism)と呼ぶ⁽¹⁾。医薬品原薬の多くには，この結晶多形が存在し，水和物が含まれる場合は擬似結晶多形と呼ばれる場合がある。そして，それぞれの結晶多形は「Form」や「結晶形」という呼び方で区別される。

医薬品原薬に複数の結晶多形もしくは擬似結晶多形が存在する場合，それぞれの結晶形ごとに，溶解度や体内への吸収速度が異なることから，医薬品の開発，製造においては結晶多形を区別し，管理することが求められる。また，医薬品原薬は温度，湿度，圧力，光といった外部刺激や，添加剤の影響により，異なる結晶形へと結晶相転移したり，水和・脱水したりすることがある。したがって，どのような条件で結晶相転移が起こり，どのような結晶形が現れるのかを研究の早い段階で把握することが重要である。

医薬品承認審査ハーモナイゼーション専門家会議(ICH)^{*1}におけるQuality Guidelines Q6A，および，医薬審発第568号(平成13年5月1日)における原薬及び製剤における結晶多形の判定基準の設定の必要性の検討に関するガイドラインは図1のようなフローチャートになっている⁽²⁾。

このチャートにも示されているように，粉末X線回折(以下粉末XRD)と示差走査熱量分析(以下DSC)は原薬の結晶多形を区別する最も基本的な手法である。ここではまず，粉末XRDとDSCを用いて原薬の結晶形を同定する方法を紹介し，次に，候補化合物について結晶形を検討する方法を示す。

2. 医薬品原薬の結晶形の確認

それぞれの結晶多形や擬似結晶多形は異なる結晶構造をとるため，DSC，および粉末XRDで異なるパターンを示す。ここではまず，結晶多形の存在が既知の場合に，被検試料がどの結晶形であるかを調べる方法を

紹介する。

2.1. DSCによる結晶形の同定

DSCは，試料を加熱，または冷却した時に，試料内に発生する熱エネルギーの変化を検出する手法である。同じ物質でも結晶構造が異なる結晶形では水素結合やファンデルワールス力などの相互作用力が異なるため，エネルギー状態が異なる。結晶形に違いがある場合，融点や相転移挙動およびその温度が大きく異なることが多く，DSC測定で結晶形の違いを見分けることができる。

図2にはトルブタミド(糖尿病薬)の市販原薬と再結晶品についての昇温過程のDSC曲線の比較を示した。標準となる市販原薬では41.7℃に相転移に伴う吸熱ピークが得られた。一方，被検試料では102.8℃に吸熱ピークが得られた。相転移温度が両者で大きく異

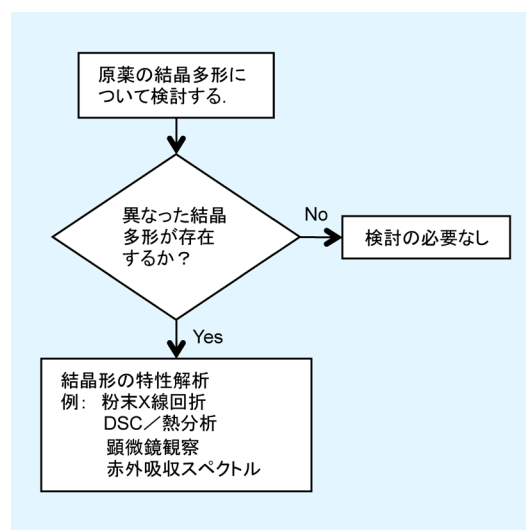


図1. 原薬および製剤における結晶多形の測定の必要性の検討。

^{*1} ICH: International Conference of Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human use グローバルな創薬の視点と国際的な調和を求める必然性から，日米欧3極による承認基準の調和，いわゆるハーモナイゼーション専門家会議が開催され，国政レベル，局方レベル，メーカーレベルで国際調和が進められている⁽³⁾。

^{*} 株式会社リガク X線機器事業部 応用技術センター

^{**} 株式会社リガク 熱分析事業部 SBU熱分析グループ

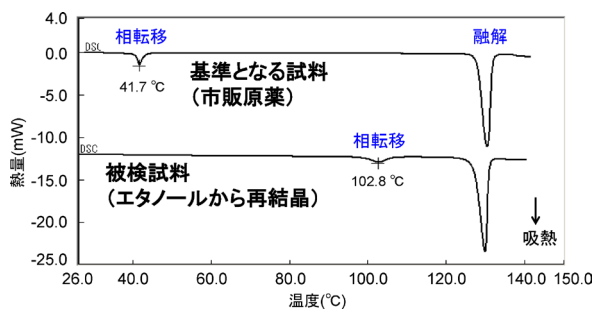


図2. トルブタミドのDSC曲線の比較.

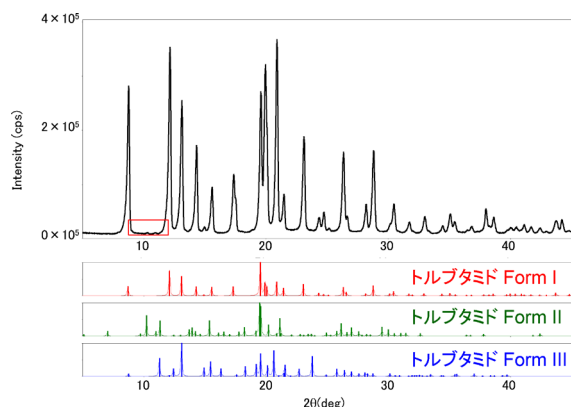


図3. トルブタミド原末の結晶相同定結果 (測定時間: 約5分).

なることから、両者は結晶構造の異なる結晶多形であると考えることができる。

2.2. 粉末XRDによる結晶形の同定

結晶多形の存在が既知の場合、粉末XRD測定の結果得られた粉末XRDプロファイルと、各結晶形の標準的な粉末XRDパターンとを比較することで、結晶形を同定することができる。標準的な粉末XRDパターンはデータベースに収録されている d - I リスト^{*2}や結晶構造からシミュレーションすることができる。このシミュレーションには、単結晶X線構造解析の結果得られたCIF^{*3}が利用される場合もある。

図3には、デスクトップX線回折装置で測定された、トルブタミド原末の、粉末XRDプロファイル (上段) と、トルブタミドのForm I, II, IIIの標準的なパターン (下3段) との比較結果を示す。測定データはForm Iの標準データとピーク位置、強度比がよく一致しており、この原末はForm Iであることがわかる。

粉末XRD測定では、試料中のそれぞれの成分に由来するピークの積分強度 (面積) 比とその濃度との間には相関関係があるため、微量成分は微小なピークと

^{*2} d - I リスト: 結晶の格子面間隔とピークの相対強度比から成るリスト。

^{*3}CIF: 結晶構造データをコンピューターで読み書きしやすいように開発されたデータファイルの形式。Acta Crystallographicaに投稿される論文の電子化を実現するために、IUCrの編集委員会、Data委員会とChester Officeの編集業務担当者が協力して制定したファイル形式である。

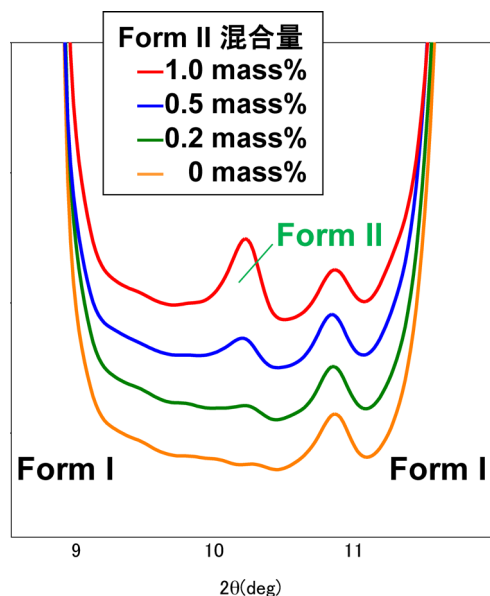


図4. トルブタミドForm I原末中の微量Form IIの検出 (測定時間: 各1分).

なって検出される。そこで、微小ピークがベースライン上に観測される統計変動^{*4}に埋もれないよう、高強度データを得ることが必要になる。

図4に、デスクトップX線回折装置 MiniFlex600 で測定したトルブタミドのForm IとForm IIの混合物のプロファイルを示す。Form IIを微量多形不純物とした場合に、混合比が1 mass%以下であっても、1分で検出が可能であることがわかる。なお、測定範囲は図3の赤枠内に相当する。

従来このような測定データを得るには、数十分にわたる測定時間を要したり、短時間で行うには回転対陰極を備えた強力X線回折装置による測定が必要だった。しかし、近年では高速一次元X線検出器の利用が可能になり、デスクトップ型の粉末XRD装置でも数分程度で結晶形の確認ができるようになっている。

2.3. 粉末XRDによる錠剤中の原薬の結晶形の同定

医薬品原薬は製剤化される過程で、熱、光、湿度、圧力などに繰り返しさらされることになり、異なる結晶形へと結晶相転移することがある。このため、最終的な製剤の状態で、どの結晶形になっているのかを確認することが求められる場合がある。粉末XRDで一般的に用いられるBragg-Brentanoの集中法光学系では、粉末状にした試料を反射配置で測定するが、錠剤を粉末状に粉砕した場合、粉砕により転移が起こることがある。この場合、本来錠剤に含まれていた結晶形

^{*4}統計変動: X線計数値が持つ統計的なゆらぎ。高強度であるほど、統計変動は小さい。測定条件が不適切な場合や、検出感度が低い場合に変動は大きくなり、微小ピークの検出を困難にする場合がある。

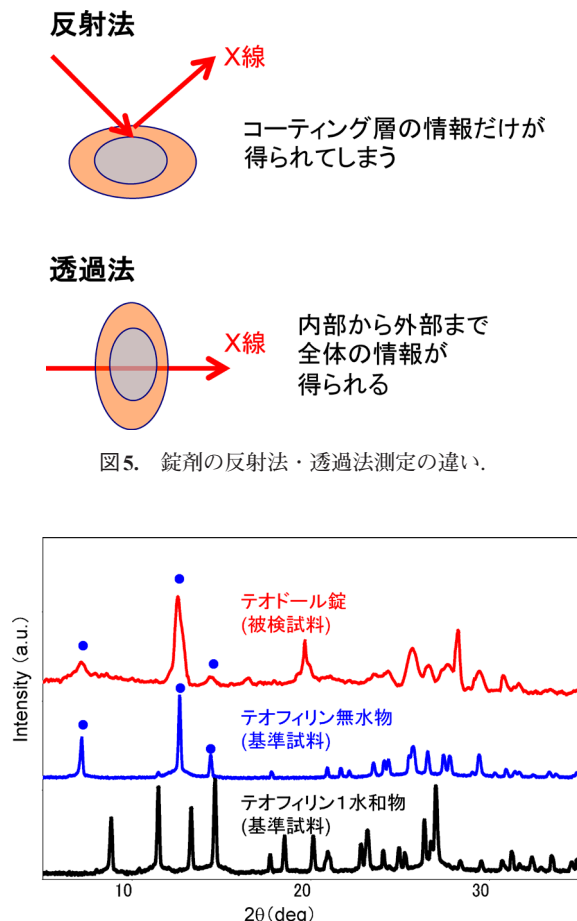


図6. テオフィリン1水和物粉末, テオフィリン無水物粉末, テオドール錠のXRDプロファイルの比較。

を評価できない。また、錠剤を粉碎せずに反射配置で測定した場合、X線が錠剤の内部に到達せず、錠剤内部の情報が得られない(図5)。このような場合には、錠剤を非破壊・透過配置で測定することが望ましい。従来、このような透過法測定には平行ビーム法光学系が用いられてきたが、近年では、分解能が高く、高強度が得られるという特長を持つ、集光光学系⁽⁴⁾の利用が増加している。

テオフィリン(気管支拡張薬)には1水和物と無水物という擬似多形が存在することが知られている。図6には基準試料であるテオフィリン1水和物粉末(下段、黒)、テオフィリン無水物粉末(中段、青)、被検試料であるテオドール錠(上段、赤)のXRDプロファイルの比較を示した。丸印をつけたピーク角度の一致から、錠剤にはテオフィリン無水物が含まれることがわかる。

3. 候補化合物の結晶形の検討

医薬品原薬は、製造プロセス中や製品化された後に、熱や湿度にさらされる。どのような条件によって異なる結晶形へと相転移するのかを把握する方法として、熱分析が用いられてきたが、熱分析の単独測定だ

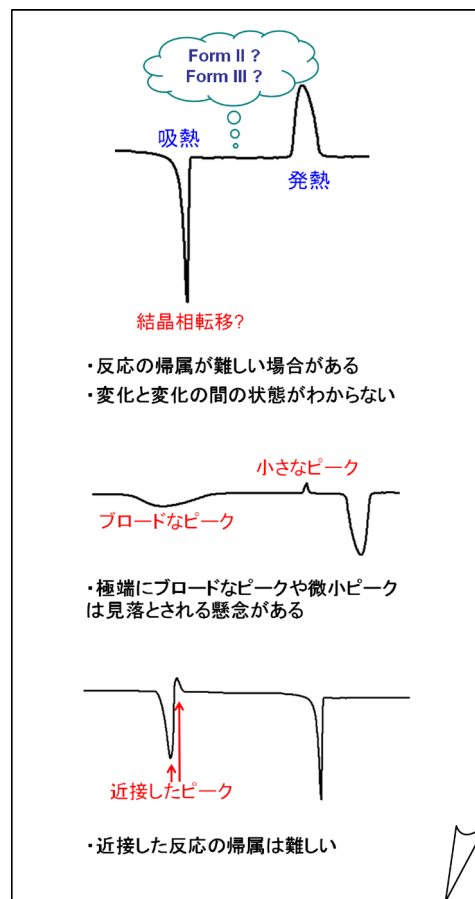


図7. DSC単独測定の問題点。

けでは結晶形の区別や、新しい結晶形の発見が困難な場合がある(図7)。たとえば、DSC測定において、複数の吸発熱ピークが得られた場合、ピークが現れた温度の直後で試料を急冷するなどして、熱的反応の解釈や結晶形の解析が行われてきたが、条件によってはピークを見落とすことや、近接したピークの解釈が困難なことがある。このような場合には、昇降温測定を繰り返す必要があり、測定条件の設定やデータの解釈に経験を要する。吸発熱反応前後の結晶構造を同時に把握できれば、このような煩雑な分析からは解放される。そこで、X線回折-示差走査熱量同時測定装置(以下、XRD-DSC同時測定装置)、製品名:X-ray DSCが開発された。さらにこの装置では、低湿度から高湿度まで測定雰囲気を変化させることができる。

3.1. XRD-DSC同時測定

図8にはトルブタミドのForm IIのXRD-DSC同時測定結果を示す。右側にDSCチャートがあり、上に向かって時間が流れている。DSCチャートに書かれた青い線は温度を表していて、30°Cから140°C、140°Cから30°Cの温度領域で測定されたデータであることがわかる。右側のもう一つの曲線はDSCチャートである。左側にはこのDSC測定と同時に測定された粉末XRDプロファイルが示されている。この測定事例

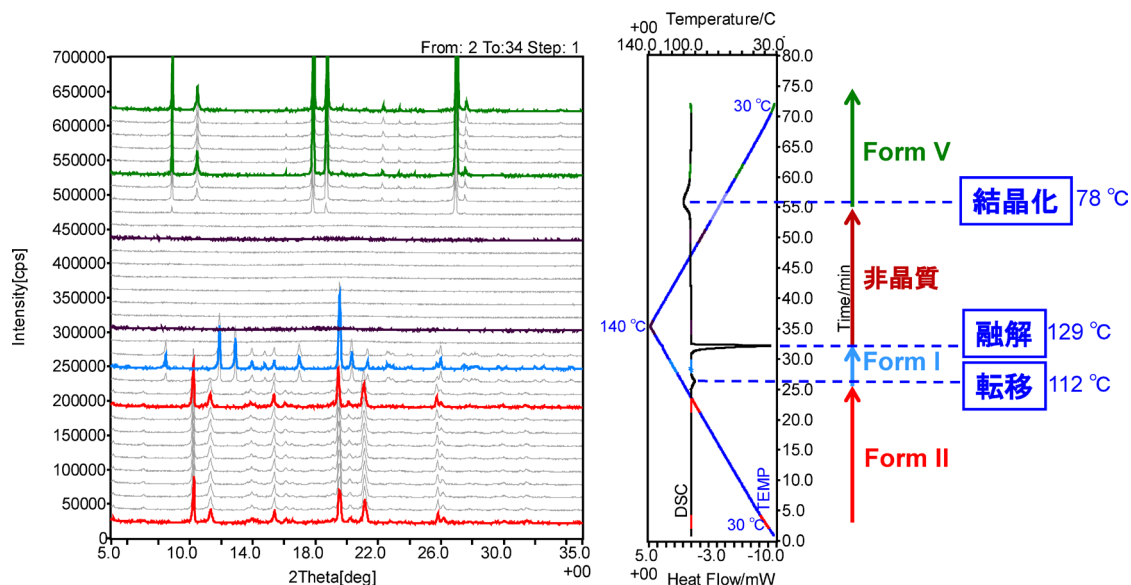


図8. トルブタミドForm IIのXRD-DSC同時測定結果.

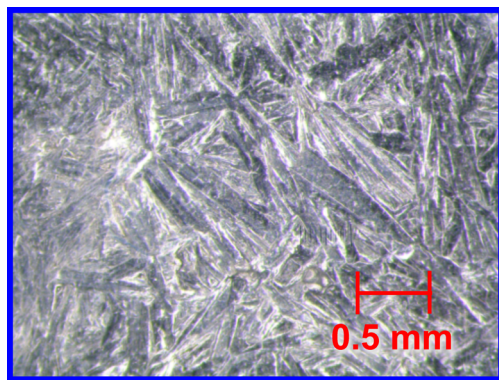


図9. XRD-DSC測定後の試料写真 (トルブタミド).

の場合, DSCに3つのピークが観測されており, 各ピークをまたいだところで粉末XRDプロファイルに変化が確認されている. 前述のとおり, 粉末XRDプロファイルの変化は結晶構造の変化に由来する. 1つ目の吸熱反応の前後で結晶構造変化が確認されたことから, この吸熱ピークは結晶相転移に由来するものであると考えられる. 2つ目の吸熱反応の後では結晶構造に由来するピークの消失が確認されていることから, こちらは融解に由来するものであると考えられる. さらに降温過程では, 発熱反応をまたいで結晶構造が確認されたことから, こちらは結晶化であると考えられる. このように, DSCピークの前後の結晶構造から熱的反応を解釈することができるのがこの装置の大きな特長である. XRD-DSC同時測定の結果現れた結晶形が, 既知の構造であれば, 2.2.に紹介した手順で結晶形の同定ができる.

一方, XRD-DSC同時測定の結果現れた結晶形が, 未知の構造であった場合には, 結晶構造を解く方法が2つある. 一つは単結晶X線構造解析を用いる方法,

もう一つは粉末未知構造解析を用いる方法である.

3.2. XRD-DSC同時測定結果と単結晶構造解析

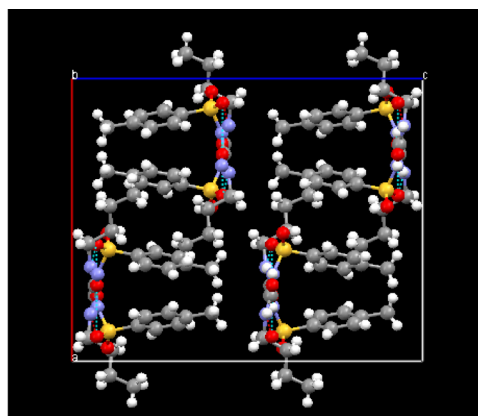
従来, 単結晶X線構造解析には大きな単結晶が必要であり, 熱分析測定後の試料から結晶構造解析を行うことなど考えられなかった. しかし, 高輝度X線発生装置や, X線集光ミラーの進化により, 高輝度微小ビームを得ることができるようになった. この結果, 近年ではわずか2~10 μm 程度の単結晶から結晶構造を解くことに成功している. 図9には, 図8のトルブタミドの測定の結果得られた試料の写真を示す. ここで得られたのは厚み10 μm 程度の結晶であったが, 単結晶X線構造解析の結果, Form Vと呼ばれる結晶形の構造が得られた (図10).

また, XRD-DSC同時測定装置で, 事前に転移温度を把握しておけば, 単結晶構造解析装置と吹き付け高温装置との組み合わせにより, 単結晶を直接加熱・冷却して温度を保持し, 構造解析に必要なデータを得ることができる.

3.3. XRD-DSC同時測定結果と粉末未知構造解析

単結晶を加熱・冷却して温度を保持し, 構造解析を行う場合, 温度変化による結晶外形の変化がないことが必要であるが, たとえば候補化合物が水和物の場合, 加熱による脱水により, その外形を保てなくなる場合がある. また, そもそも単結晶構造解析に十分なサイズの結晶が得られない場合もあるだろう. このような場合には粉末未知構造解析でアプローチする.

粉末未知構造解析では, ピークの位置と強度の情報を元に指数付けを行うため, 質の高い測定データが必要である. XRD-DSC同時測定の強度データから直接構造解析したいという声を聞くが, これが叶わないのは, この測定が反射法測定をとるため, 試料の選択配



空間群	<i>Pb</i> cn / Orthorhombic
格子定数	<i>a</i> = 15.96(2) Å <i>b</i> = 9.390(8) Å <i>c</i> = 19.90(2) Å

図10. トルブタミドForm Vの単結晶構造解析結果.

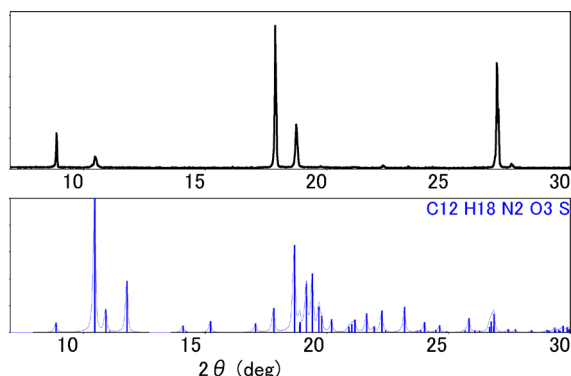


図11. 選択配向したトルブタミドForm Vの粉末X線回折プロファイル (上段) と標準的なプロファイル (下段).

向^{*5}という問題を避けられないためである。図8のトルブタミドの測定で得られたForm Vの粉末XRDプロファイル (上段) と、Form Vの標準的なプロファイル (下段) を図11に示した。実測のプロファイルで得られたピークの強度比と異なっていることがわかる。

そこで、粉末未知構造解析を行う場合、キャピラリーに充填した粉末試料を回転しながら透過法で測定を行うことで、試料の選択配向の影響を緩和する。したがって、高温領域で得られる結晶相の構造を解きたい場合は、転移温度以上まで加熱しながら、キャピラリー透過法回転測定を行うことが必要となる。

図12にはアシクロビル (抗ウィルス薬) のXRD-DSC同時測定結果を示した。昇温測定の結果、初期の構造である2/3水和物以外に3つの結晶形が得られ

ることがわかる。2/3水和物と、最も高温で得られる無水物のForm 2については結晶構造が知られていたが、中間に現れる無水物のForm 3とForm 4は構造解析がなされていなかった。そこで、粉末X線回折装置用キャピラリー高温アタッチメントを用いて、Form 4の構造解析を試みた。図13に粉末XRDプロファイルと粉末未知構造解析の結果を示す。Form 4の結晶構造が得られた。

3.4. XRD-DSC同時測定結果とTG-DTA

先に示したアシクロビルのように候補化合物が水和物の場合、熱や湿度での脱水挙動と、現れた結晶形が何水和物であるのかも、事前に把握しておく必要がある。医薬品研究の現場では、一般的に平衡水分率測定が行われているが、この測定ではどの結晶形が得られたのか、構造の情報を得ることはできない。

図14には、ネドクロミルナトリウム (以下NS) 3水和物 (抗アレルギー薬) の示差熱天秤(TG-DTA)の測定結果と、XRD-DSC同時測定結果を示した。TG-DTAは試料と基準物質の温度を一定の速度で変化させながら、試料の重量変化(TG)と吸熱変化・発熱変化(DTA)とを同時に測定するものである。これを用いることで、減量率と減量温度から、試料中に含まれる水の種類を推測することができる。減量した水の量が、化学量論的でない場合、この水は付着水である可能性が高い。一方、減量した水の量が化学量論的である場合、この水は結晶水である可能性が高い。NS 3水和物の場合、以下の計算より、7.87%の減量は2水和物の脱水に相当する。

$$\begin{aligned} \text{NSの分子量} &: 415 \\ \text{H}_2\text{Oの分子量} &: 18 \\ \text{NS} \cdot 3\text{H}_2\text{Oの分子量} &: 469 \\ \text{であるから,} \\ 7.87\% \text{の減量は,} \\ 18 \times 469 &= 0.0787 \\ x &\approx 2 \end{aligned}$$

つまり、100～150℃の温度域では、NSは1水和物の形をとっていると考えることができる。一方、XRD-DSC同時測定結果を合わせて見ると、同温度域で、室温とは異なる粉末XRDプロファイルが得られていることが確認できる。さらに、脱水・水和の可逆性を調べるには、XRD-DSC同時測定装置に水蒸気発生装置(HUM-SL)を組み合わせることで、乾燥雰囲気から最高60℃90%RH (水蒸気分圧 17.8 kPa) の高湿度雰囲気まで、一定温度での湿度変化に伴う挙動や一定湿度雰囲気下で温度を変化させた場合の挙動を調べることができる。図15には27℃で5%RHから90%RHまで加湿、90%RHから5%RHまで除湿しながら測定したNS1水和物のXRD-DSC同時測定結果を示した。水和により、NSが3水和物に変化する様子が観察された。

*5 選択配向：結晶の中のある特定の格子面の向きが揃ってしまうこと。

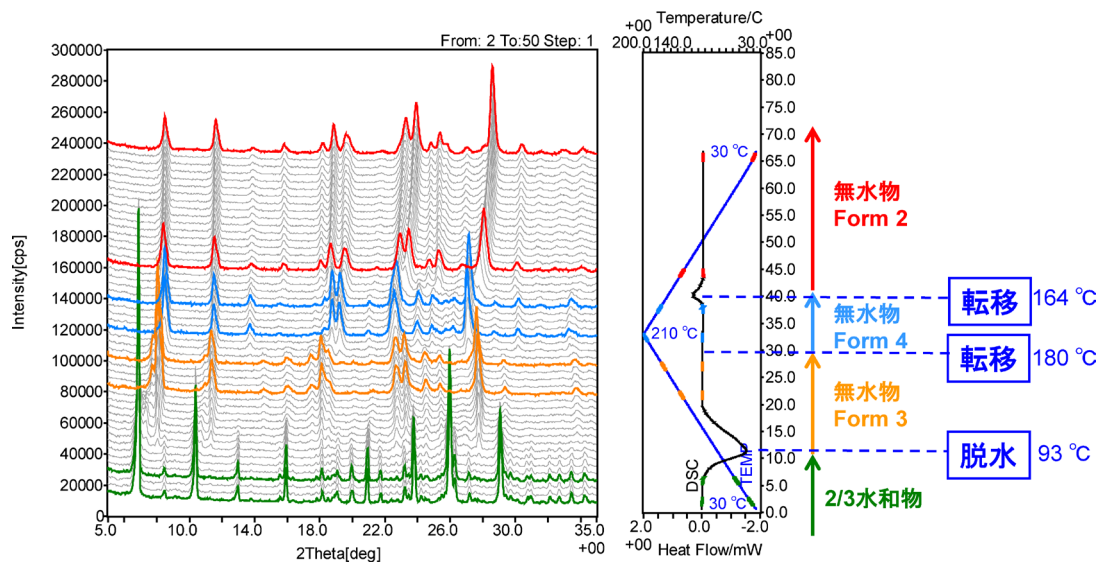
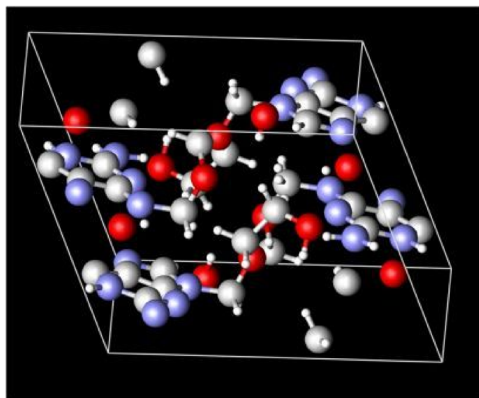
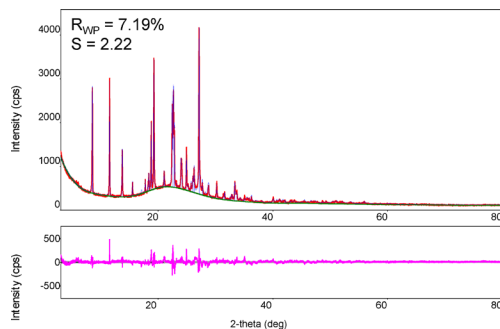


図12. アシクロビル2/3水和物のXRD-DSC同時測定結果。
試料ご提供：東邦大学 寺田勝英先生



空間群	$P2_1/c$, Monoclinic
格子定数	$a = 11.1646(8)$
	$b = 11.4001(7)$
	$c = 8.4355(5) \text{ \AA}$
	$\beta = 111.767(2) \text{ deg.}$

図13. アシクロビルForm 4の粉末未知構造解析結果 (測定温度: 210°C).

4. まとめ

粉末XRDとDSCは、原薬の結晶多形を区別する最も基本的な手法である。微量多形不純物の検出に、従来は大型の粉末XRD装置を用いていたが、高速一次元X線検出器の利用により、デスクトップ型でも十分に分析が可能になった。また、上位機種では、集光光学系の利用により、錠剤のまま短時間で結晶形の同定ができるようになり、製剤に含まれる原薬の結晶形を知ることができるようになった。

一方、候補化合物の結晶形を検討する方法としてXRD-DSC同時測定が利用されてきたが、この結果得られた新たな結晶形の構造を解いたり、水和水の数の異なる結晶形の構造を確認したりする方法として、他の分析手法をあわせて考察する機会が増えている。

謝辞

試料のご提供と考察に関し、東邦大学寺田勝英先生、米持悦生先生に多大なご協力をいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

参考文献

- (1) 日本化学会編: 標準化学用語辞典, 丸善, (2005), 209-210.
- (2) 川上恒作監修: 医薬品開発における結晶多形の制御と評価, シーエムシー出版, (2011), 15-16.
- (3) 寺田勝英 (編集代表): 固体医薬品の物性評価, じほう, (2003), 310.
- (4) リガクジャーナル, **41** (2010), No.1, 35-36.

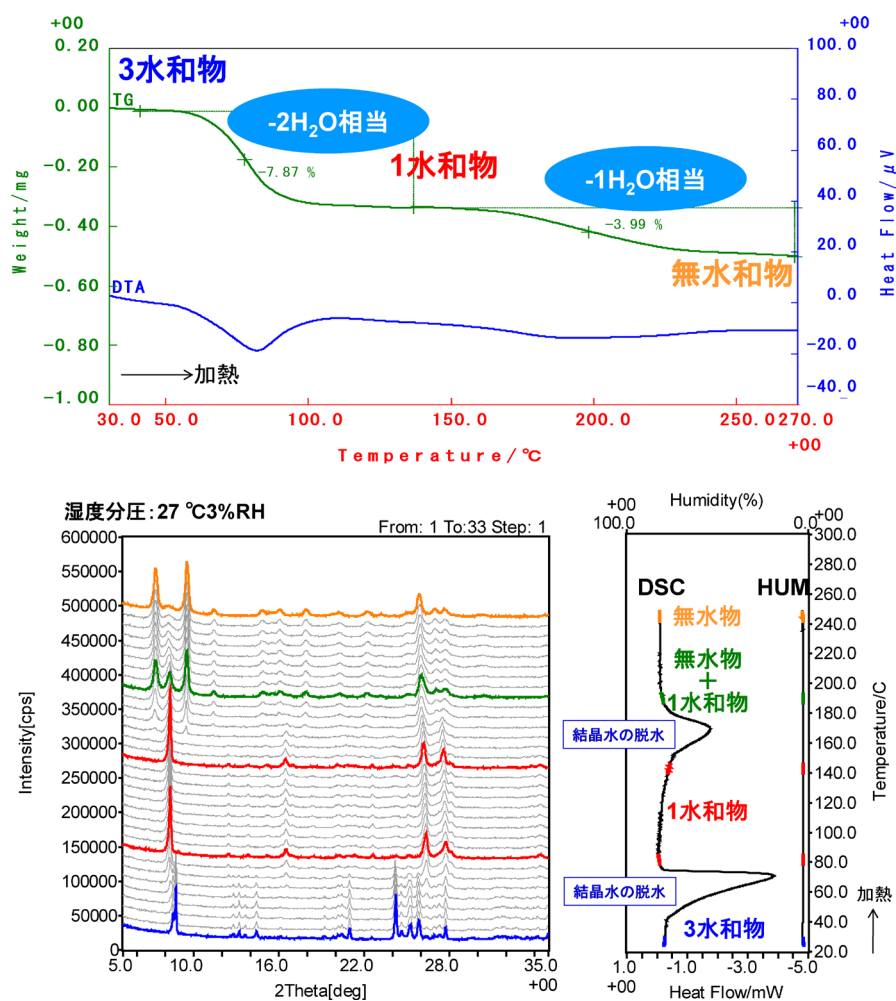


図14. NS 3水和物の示差熱天秤測定結果 (上図), および XRD-DSC 同時測定結果 (下図)
試料ご提供: 東邦大学 寺田勝英先生

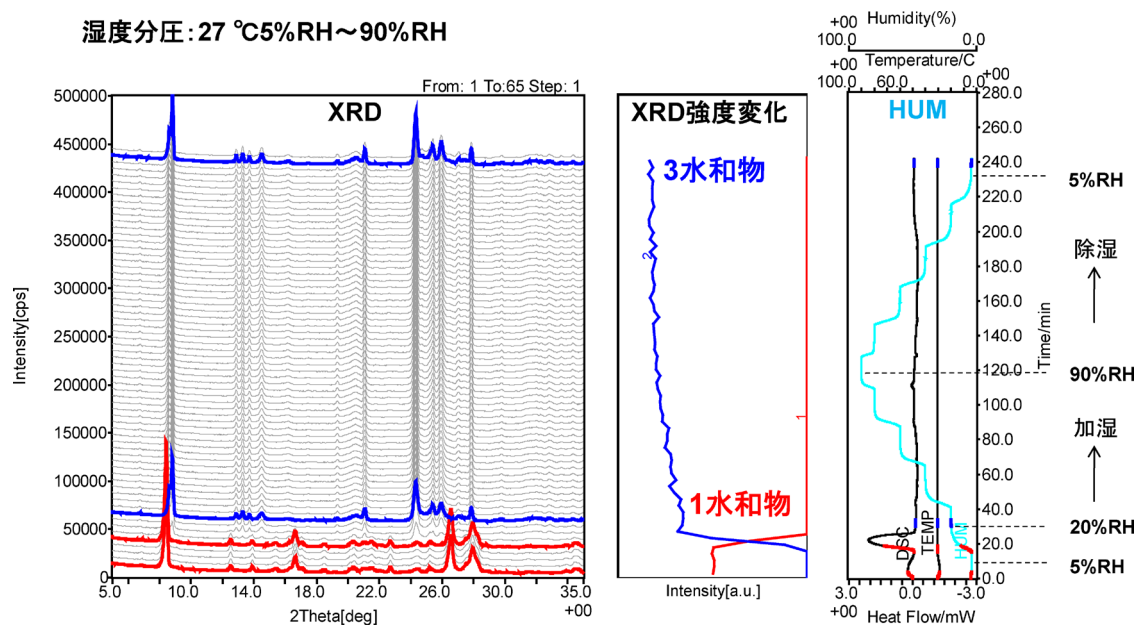


図15. NS 1水和物のXRD-DSC同時測定結果 (水蒸気発生装置による温度一定湿度変化).
試料ご提供: 東邦大学 寺田勝英先生