

固体医薬品の各種評価に対する固体 UV/vis 吸収スペクトルの有用性に関する研究

2024

木口屋 祥仁

目次

略語表	4
業績目録	6
緒言	7
第1章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた塩・共結晶の識別	9
第1節 序論	9
第2節 pKa を指標とした塩・共結晶の識別	12
第3節 固体 ^{15}N NMR を指標とした塩・共結晶の識別	14
第4節 固体 UV/vis 吸収スペクトルを指標とした塩・共結晶の識別	20
第5節 考察	23
第6節 小括	25
第2章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた Indomethacin 結晶多形の光安定性評価	26
第1節 序論	26
第2節 Indomethacin 結晶多形の光安定性	27
第3節 Indomethacin 結晶多形の固体 UV/vis 吸収スペクトル	28
第4節 考察	29
第5節 小括	31
第3章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた各種低分子化合物の光安定性評価：適用 範囲に関する検討	32
第1節 序論	32
第2節 Compound B 結晶多形の光安定性と固体 UV/vis 吸収スペクトル	33
第3節 Indomethacin 複合体の光安定性と固体 UV/vis 吸収スペクトル	34
第4節 異なる化学構造を持つ低分子化合物の光安定性と固体 UV/vis 吸収スペクトル	36
第5節 考察	38
第6節 小括	40
総括	41

謝辞	42
実験の部	43
参考文献	52

略語表

AUSC	Area under the spectrum curve
AUSC _{UVA}	Area under the spectrum curve in UVA
ARG	Arginine
AZA	Acetazolamide
BCS	Biopharmaceutics classification system
COSY	Correlation spectroscopy
CA	Citric acid
DSC	Differential scanning calorimetry
DMSO	Dimethyl sulfoxide
EMA	European medicines agency
FA	Fumaric acid
FDA	Food and drug administration
FUR	Furosemide
HMBC	Heteronuclear multiple bond coherence
HPLC	High-performance liquid chromatography
HSQC	Hetero-nuclear single quantum coherence
ICH	International council for harmonization of technical requirements for pharmaceuticals for human use
IDM	Indomethacin
IR	Infrared
LYS	Lysine
NMR	Nuclear magnetic resonance
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
PM	Physical mixture
PXRD	Powder X-ray diffraction
SAC	Saccharin
SPL	Spironolactone

TG	Thermogravimetry
TFA	Trifluoroacetic acid
THF	Tetrahydrofuran
TM	Trimebutine
TMS	Tetramethyl silane
TRIS	Tromethamine
UV/vis	Ultraviolet-visible
UVA	Ultraviolet-A
UVB	Ultraviolet-B

業績目録

対象論文

1. Kiguchiya A, Teraoka R, Sakane T, Utility of Solid-State UV/Vis Spectra on the Evaluation of Photostability of Indomethacin Crystals. *Chem. Pharm. Bull.*, **66**, 892-895 (2018).
2. Kiguchiya A, Teraoka R, Sakane T, Yonemochi E, A New Method for Classification of Salts and Cocrystals Using Solid-State UV Spectrophotometry. *Chem. Pharm. Bull.*, **67**, 945-952 (2019).
3. 木口屋祥仁、寺岡麗子、古林呂之、坂根稔康、固体 UV 吸収スペクトルによる低分子化合物の光安定性の評価、*YAKUGAKU ZASSHI*, **143**, 77-84 (2023).

緒言

医薬品の品質や化学構造を評価するために、様々な分光学的手法が用いられている。赤外 (Infrared, IR) 分光法やラマン分光法は、主に化合物の官能基に関する情報が得られ、結晶構造の相違に起因する官能基間の相互作用の相違を検出できるため、結晶多形の識別^{1,4)}、複合体における分子間相互作用部位の特定⁵⁾などに活用されている。核磁気共鳴 (Nuclear magnetic resonance, NMR) 分光法は、核スピンを有する様々な核種に適応可能であり、¹H NMR では、化学シフト、スピン多重度及び積分値から、官能基、水素核の化学的環境及び水素の原子数に関する情報が得られ、また、¹³C NMR では、化学シフトから炭素原子周辺の環境に関する情報が得られる。また、2次元 NMR には、近隣の水素原子間の相関を確認できる同種核相関分光法 (Correlation spectroscopy, COSY)、直接結合している水素-炭素原子間の相関を観測できる異種核一量子相関分光法 (Hetero-nuclear single quantum coherence, HSQC)、ある程度離れた水素原子と炭素原子等の相関を確認することができる異種核多量子相関分光法 (Heteronuclear multiple bond coherence, HMBC)、空間的に近い水素原子同士の相関を確認できる核オーバーハウザー効果分光法 (Nuclear Overhauser effect spectroscopy, NOESY) などに代表される測定手法があり、未知不純物の構造解析の強力なツールとなっている。さらに、塩や溶媒和などの複合体の構成分子の化学量論比の確認、溶媒をはじめとする不純物の定量⁶⁻¹⁰⁾、pKa の測定¹¹⁾、結晶多形の識別^{4,12-14)}、分子間の相互作用部位の特定^{15,16)}、分子内のコンフォメーション解析¹⁷⁾及び分子運動性の評価¹⁸⁾等にも活用されている。このように、IR 分光法、ラマン分光法及び NMR 分光法は幅広い用途で使用され、様々な研究がなされている。

一方で、紫外可視 (Ultraviolet-visible, UV/vis) 分光法は、化合物中の共役構造の有無に関する情報が得られるが、医薬品に用いられる有機化合物の多くは共役構造を有しているため、構造解析のツールとして、有用とはいいがたい。逆に、医薬品をはじめとする多くの化合物は UV/vis 吸収を有するため、これらの測定に用いられる高速液体クロマトグラフ (High-performance liquid chromatography, HPLC) の検出器として、UV/vis 検出器が汎用される。したがって、化合物の物理的・化学的な特性評価に対する UV/vis 分光法の応用に関する研究は十分にはなされていないのが現状である。

化学反応を通じて、化合物の構造変化が生じる場合、極大吸収波長が変化するとともに、UV/vis 吸収スペクトルの形状に変化が生じる。これは、化学構造の変化に伴う共役構

造の変化に起因する。また、化合物の化学反応は、熱、光などの外的要因により、化合物のエネルギー状態が基底状態から励起状態に遷移することで誘発される。UV/vis 分光法は、基底状態から励起状態への変化をとらえることができることから、異なる化学構造を有する化合物の識別に有用であると考えられる。

本研究は、構造変化の確認手段として、IR 分光法、ラマン分光法及び NMR 分光法などが活用される事例に対する UV/vis 分光法の活用の可能性を評価するとともに、UV/vis 分光法に特有の活用方法について検討することを目的とした。また、化合物の UV/vis 吸収に関する情報を得る方法としては、溶液状態での測定が一般的であるが、化合物が溶解すると固体構造が消失し、固体構造の相違を検出できないことから、化合物固体表面の反射光を測定対象とする固体 UV/vis 吸収スペクトル測定法を利用した。構造変化の評価への活用としては、UV/vis 分光法による塩と共結晶の識別、即ち、複合体の形成に伴い、新たな相互作用が生じる塩と共結晶に対して、塩と共結晶分子間の相互作用様式の相違を UV/vis 分光法で検出可能かどうかについて検討した。なお、近年では、共結晶に関する注目度が上がっており¹⁹⁻³⁵⁾、共結晶を医薬品原薬として用いる場合は、塩と共結晶を識別することが求められ^{36,37)}、ラマン分光法や NMR 分光法を用いる識別手法が報告されている^{5,15)}。また、エネルギー遷移の要因として光に着目し、化合物の光安定性評価のためのスクリーニング手法としての UV/vis 分光法の可能性、即ち、光の吸収により誘発される光分解の程度を UV/vis 吸収スペクトルから予測できるかどうかについて検討した。

第1章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた塩・共結晶の識別

第1節 序論

一般に、医薬品の有効成分である原薬は、種々の物理的・化学的特性に基づき、最も優れた物理的・化学的特性を有する形態が選択される。通常、活性を示すフリー体の物理的安定性、化学的安定性、溶解性、吸湿性、粉碎性などの物理的・化学的特性に問題がなければ、物理的・化学的特性の改善を図る必要性はない。フリー体の結晶多形の中から製造上コントロール可能であり、また、物理的及び化学的安定性に優れた結晶形が選択される場合が多い。しかし、近年、創出される医薬品候補化合物は分子量及び脂溶性の増大に起因する難水溶化が進んでおり、Biopharmaceutics classification system (BCS) クラス2やクラス4に分類される難水溶性化合物の医薬品候補が増加していることから、化合物の溶解性などの物理的・化学的性質を改善することが求められている^{38,39)}。

化合物の物理的・化学的特性を改善する手法としては、塩、共結晶、アモルファス及び固体分散体の形成、並びに、ナノ粒子化などがあげられる。塩は化合物とカウンター分子との複合体であり、化合物の物理的・化学的特性を改善する最もポピュラーな手法の一つであり、塩を原薬とする医薬品が数多く承認・販売されている⁴⁰⁻⁴⁵⁾。しかし、化合物が塩を形成するためには、化合物が何らかの解離基を持つことが必要であるため、解離基が存在しない中性化合物に適用することはできない⁴⁶⁾。また、医薬品の原薬として塩が選択された場合、塩を形成するカウンター分子の安全性情報や医薬品の承認実績などが考慮される。そのため、承認実績のないカウンター分子を用いた塩の使用はハードルが高く、カウンター分子の候補は少ない⁴⁷⁾。近年、塩と同様に、化合物とカウンター分子の複合体である共結晶に関して、化合物の溶解性、安定性などの物理的・化学的特性及びバイオアベイラビリティを向上させることが報告されている¹⁹⁻²⁶⁾。共結晶の形成に関しては、化合物が解離基を持つ必要がないためアミノ酸のような安全性の高いカウンター分子の候補が多数存在する⁴⁸⁻⁵¹⁾。また、医薬品原薬に、別の医薬品原薬をカウンター分子とした共結晶の例も報告されており、上記の物理的・化学的特性の改善に加えて、服薬アドヒアランスの改善が期待される⁵²⁻⁵⁴⁾。このように共結晶はカウンター分子の選択肢が多く、また、共結晶の形成に構造上の制限がないことから、適用範囲が広く、近年、最も注目されている医薬品原薬の物理的・化学的特性の改善手法の一つである。実際、共結晶を原薬として、糖尿病治療剤の

スーグラ®錠（原薬：Ipragliflozin L-proline 共結晶、アステラス製薬株式会社）が承認・販売されているほか、医薬品候補化合物でも共結晶を原薬とするものが散見される^{55,56)}。

アモルファス及び固体分散体は、規則的な分子配列を持たないため、結晶と比較して高い溶解度を示す。水分散時に原薬結晶の溶解度以上に薬物が溶解する過飽和状態を形成し、消化管吸収量を顕著に向上させるため、難水溶性薬物のバイオアベイラビリティの改善に対して有効な手法である。しかしながら、これらは保存中、あるいは製剤の製造工程における温度、湿度、打錠などの要因により、結晶化が誘発される懸念がある。また、ナノ粒子については、原薬粉末の微小化により、比表面積が増大するため、溶解性の向上が期待できる。しかし、保存中に粒子の凝集が懸念される。これらの理由から、アモルファス、固体分散体及びナノ粒子は、塩及び共結晶と比較して汎用性が低いと考えられる。

2013年に米国食品医薬品局（Food and drug administration, FDA）が共結晶に関するガイダンスを発行し⁵⁷⁾、翌2014年には欧州医薬品庁（European medicines agency, EMA）のリフレクションペーパーが発行された³⁷⁾。当初、共結晶に関する解釈は、FDAのガイダンスとEMAのリフレクションペーパーで異なっており、FDAのガイダンスでは製剤中間体、EMAのリフレクションペーパーでは原薬と定義された。2018年にFDAのガイダンスが改定され、共結晶は原薬と解釈されるようになり、共結晶を医薬品の原薬として開発できる環境が整いつつある^{36,37)}。共結晶を医薬品原薬として開発する場合には、FDAのガイダンスやEMAのリフレクションペーパーに従い、原薬が共結晶であることを確認する必要がある。特に、FDAのガイダンスは、共結晶と塩を区別することを求めている。塩と同様、共結晶は同じ結晶格子内に2種類以上の分子が存在する結晶性物質と定義される⁵⁸⁻⁶⁰⁾が、塩と共結晶では構成成分の相互作用が異なる^{61,62)}。塩では、フリー体とカウンター分子間にイオン結合が形成される⁴⁶⁾。対照的に、共結晶では、フリー体とカウンター分子間に水素結合、 π - π スタッキング及びファンデルワールス力などの比較的弱い分子間相互作用を介して、複合体が形成される⁴⁸⁻⁵¹⁾。したがって、その結合様式の相違を識別できれば、両者を区別することが可能である。

塩と共結晶を区別する手法として、様々な手法が報告されている。複合体を形成するフリー体とカウンター分子の pK_a の差（ ΔpK_a 、 pK_a [塩基] - pK_a [酸]）を指標とする手法はその一つである。一般的に、 ΔpK_a が3以上であれば塩、 ΔpK_a が1未満であれば共結晶とされている⁶³⁻⁶⁵⁾。実際に、 ΔpK_a が小さい構成成分間でプロトンの移動は確認されず、化合物が塩を形成することは困難であることが報告されている^{66,67)}。また、当該手法は、 pK_a

を計算で求めることが可能であること、実試料が不要であることなど、簡便に塩と共結晶を識別することが可能である。しかし、 ΔpK_a が 1~3 の範囲の化合物については塩と共結晶を識別することが困難であるため、本手法をすべての複合体に適用することは困難である。塩と共結晶を識別する最も有効な手法として、単結晶 X 線回折法がある⁶⁸⁾。本手法は、構成成分間の距離及び電荷移動の有無により、塩と共結晶を識別する手法であり、構成分子の相互作用位置を特定することも可能である。一方で、本手法の適用には、複合体の単結晶を取得する必要がある。単結晶を取得することが困難な場合も多く、単結晶が取得できた場合であっても、単結晶のサイズ、形状及び安定性などの物理的・化学的特性が解析データの質に大きく影響する。本法に適した単結晶を取得するために、溶媒、温度及び濃度などの結晶化条件の検討が必要となる上、良質な単結晶を取得できる保証はない。

このような状況を背景に、種々の分光学的手法が検討されている。NMR 分光法は、非イオン性相互作用の位置情報を提供するため、構成成分の相互作用位置が特定できるが、経験則に基づいている¹⁵⁾。また、ラマン分光法や IR 分光法による識別手法は、構成成分の相互作用位置のピークシフトに起因するため、構成成分の相互作用部位を特定することが可能であるが、化合物中にカルボニル基などの特有の官能基が存在することが必要である⁹⁾。このように、塩と共結晶の識別手法として、分光学的手法が広く使用されているものの、経験則であることから、識別手法によって結果が異なる懸念がある。また、複合体の化学構造に依存するため、適応可能範囲は限定的である。UV/vis 分光法は、NMR 分光法、IR 分光法及びラマン分光法等と同様に、分光学的な手法であり、化合物の励起波長や化合物の化学構造の相違に関する情報を得ることができ、イオン化に特徴的な電子のエネルギー準位の変化を検出することができる。この特徴は、化合物の塩と共結晶を識別できる可能性を示唆すると考えられる。

本章では、複合体の塩と共結晶の識別手法として、UV/vis 分光法の可能性を評価することを目的とした。モデル化合物には、複数の塩と共結晶が報告されている indomethacin (IDM) を選択した。また、本識別手法の汎用性を評価する目的で、IDM に加えて、共結晶を形成することが報告されている Compound A を用いた。評価に用いた両化合物の化学構造を Figure 1 に示した。

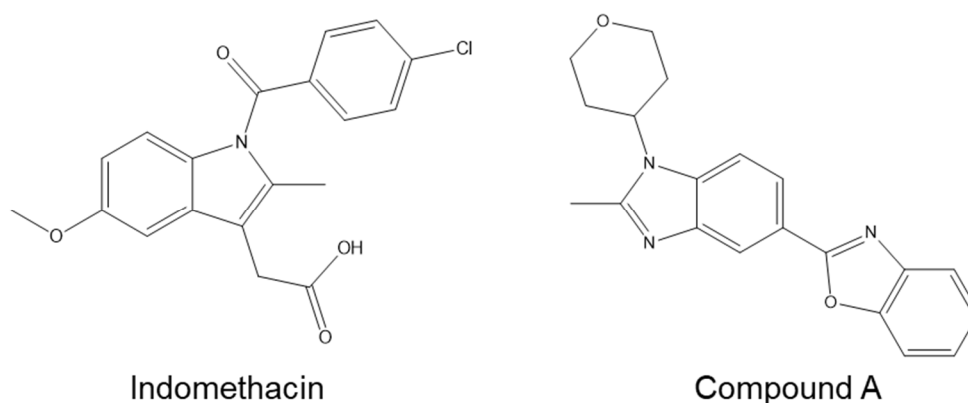


Figure 1 Chemical structures of model compounds

第 2 節 pKa を指標とした塩・共結晶の識別

塩と共結晶の識別手法として、複合体を形成するフリー体とカウンター分子の pK_a の差 (ΔpK_a , pK_a [塩基] – pK_a [酸]) を指標とする手法がある。一般的に、 ΔpK_a が 3 以上であれば塩、 ΔpK_a が 1 未満であれば共結晶とされている⁶³⁻⁶⁵。なお、本研究においては、カウンター分子の pK_a から IDM 又は Compound A の pK_a を引いて ΔpK_a を求め、 pK_a が複数存在するカウンター分子については、最も塩基性の高い、即ち、最も大きい値を用いた。

(1) Indomethacin

IDM 及びカウンター分子の pK_a を Table 1 に、各 IDM 複合体の ΔpK_a を Table 2 に示す。IDM-saccharin (SAC) 複合体の ΔpK_a は -2.9 であり、IDM-arginine (ARG) 複合体、IDM-lysine (LYS) 複合体、IDM-meglumine (MEG) 複合体及び IDM-tromethamine (TRIS) 複合体の ΔpK_a は 3 以上であった。Table 2 に示すとおり、IDM-SAC 複合体は共結晶、その他の IDM 複合体は塩であることが明らかとなった。

Table 1 pKa of indomethacin and counter molecules

	pKa
Indomethacin	4.2 ⁶⁹⁾
Saccharin	1.3 ⁶⁹⁾
Meglumine	8.03 ⁷⁰⁾
L-Arginine	9.09, 13.2 ⁷⁰⁾
L-Lysine	9.18, 10.79 ⁷⁰⁾
Tromethamine	8.02 ⁷⁰⁾

Table 2 ΔpK_a and classification of the complexes

Complex	ΔpK_a (pKa [base] – pKa [acid])	Classification of complex
Indomethacin-Saccharin	-2.9	Cocrystal
Indomethacin-Meglumine	3.8	Salt
Indomethacin-Arginine	9.0	Salt
Indomethacin-Lysine	6.6	Salt
Indomethacin-Tromethamine	3.8	Salt

(2) Compound A

Compound A 及び各カウンター分子の pKa を Table 3 に、Compound A の各複合体の ΔpK_a を Table 4 に示す。Compound A-citric acid (CA) 複合体の ΔpK_a は 0.9 であり、共結晶であることが判明した。また、Compound A-fumaric acid (FA) 複合体の ΔpK_a は 1.0 であり、1 以上であった。しかし、 ΔpK_a を用いた塩と共結晶の識別手法では、 ΔpK_a が 1 よりも小さければ共結晶と識別されるため、Compound A-FA 複合体は共結晶である可能性が示唆された。

Table 3 pKa of Compound A and counter molecules

	pKa
Compound A	4.05 ^{a)}
Citric acid	3.13 ⁷⁰⁾
Fumaric acid	3.03 ⁷⁰⁾

a) Calculated by ADMET Predictor ver. 7.2

Table 4 ΔpK_a and classification of complexes

Complex	ΔpK_a (pKa [base] – pKa [acid])	Classification of complex
Compound A-Citric acid	0.9	Cocrystal
Compound A-Fumaric acid	1.0	Cocrystal

第 3 節 固体 ^{15}N NMR を指標とした塩・共結晶の識別

塩と共結晶の識別手法として、NMR スペクトルを用いる手法がある。複合体の形成に伴う立体圧縮効果によって、フリー体とカウンター分子の相互作用位置の電子密度が変化することで、NMR スペクトルのシグナルがシフトする。Li らは複合体形成に伴う相互作用部位のシフト値が固体 ^{15}N NMR において 60 ppm 以上である場合は塩、60 ppm 未満である場合は共結晶に分類されると報告している¹⁵⁾。本研究において、IDM 及び Compound A の複合体につき、Li らが報告する指標を用いて塩と共結晶の識別を実施した。

(1) Indomethacin

IDM、SAC 及び IDM-SAC 複合体の固体 ^{15}N NMR スペクトルを Figure 2 に示す。IDM については、-207 ppm 付近にインドール骨格の窒素原子のシグナルが観測された。SAC については、イソチアゾール骨格の窒素原子に由来するシグナルが-226 ppm 付近に観測された。IDM-SAC 複合体については、IDM のインドール骨格の窒素原子に由来するシグナルが-207 ppm 付近に、SAC のイソチアゾール骨格の窒素原子に由来するシグナルが-230 ppm 付近に観測された。IDM のインドール骨格の窒素原子のシグナルにはシフトが認められず、複合体の形成により、SAC のイソチアゾール骨格の窒素原子のシグナルがシフトしたと考えられ、両者の相互作用部位は、IDM のカルボキシ基と SAC のイソチアゾール骨格の窒素

原子であることが示唆された。Table 5 に示したとおり、複合体形成に伴う化学シフト差は 4 ppm であり、IDM-SAC 複合体は共結晶であることが示唆された。

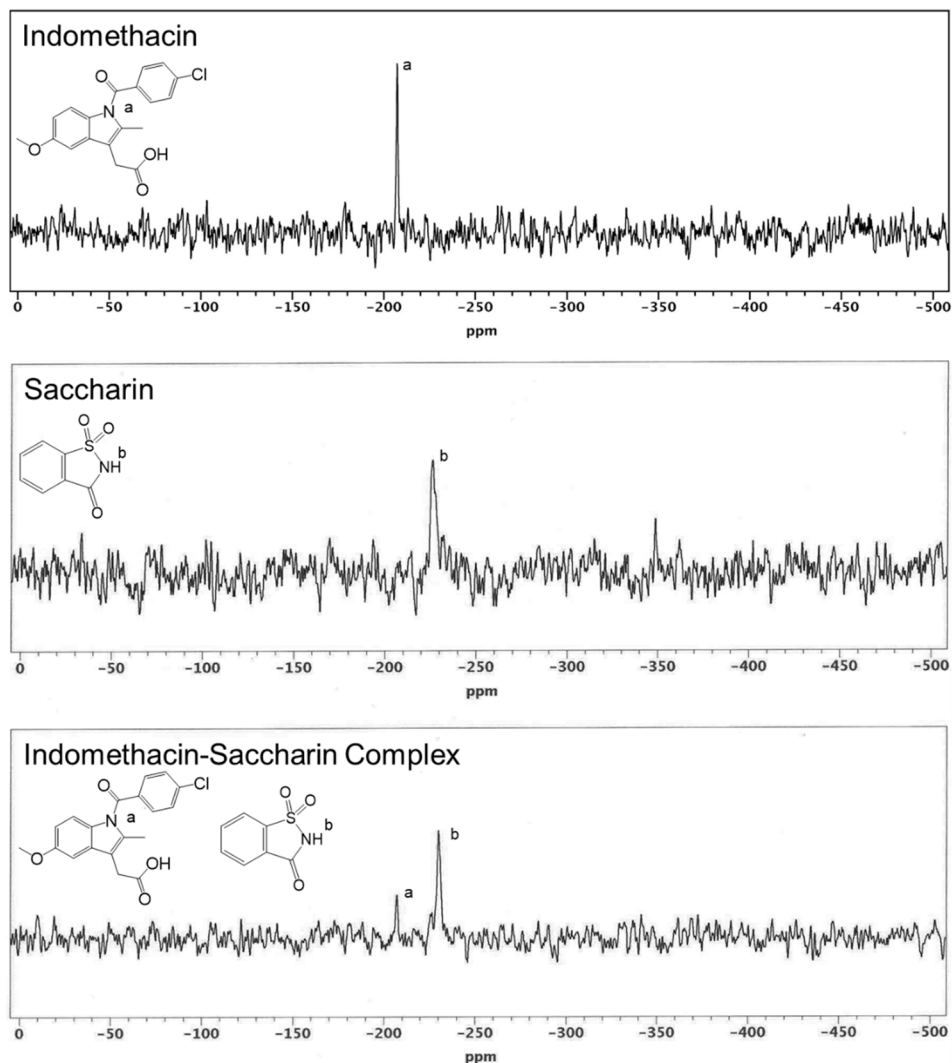


Figure 2 ^{15}N NMR spectra of indomethacin, saccharin and indomethacin-saccharin complex

IDM、MEG 及び IDM-MEG 複合体の固体 ^{15}N NMR スペクトルを Figure 3 に示す。IDM については、-207 ppm 付近にシグナルが観測され、MEG については、アミンの窒素原子に由来するシグナルが-358 ppm 付近に観測された。IDM-MEG 複合体については、IDM のインドール骨格の窒素原子に由来するシグナルが-207 ppm 付近に、MEG のアミンの窒素原子に由来するシグナルが-348 ppm 付近に観測されたことから、両者の相互作用部位は、IDM のカルボキシ基と MEG のアミンの窒素原子であることが示唆された。Table 5 に示し

たとおり、複合体形成に伴う化学シフト差は 10 ppm であり、IDM-MEG 複合体は共結晶であることが示唆された。

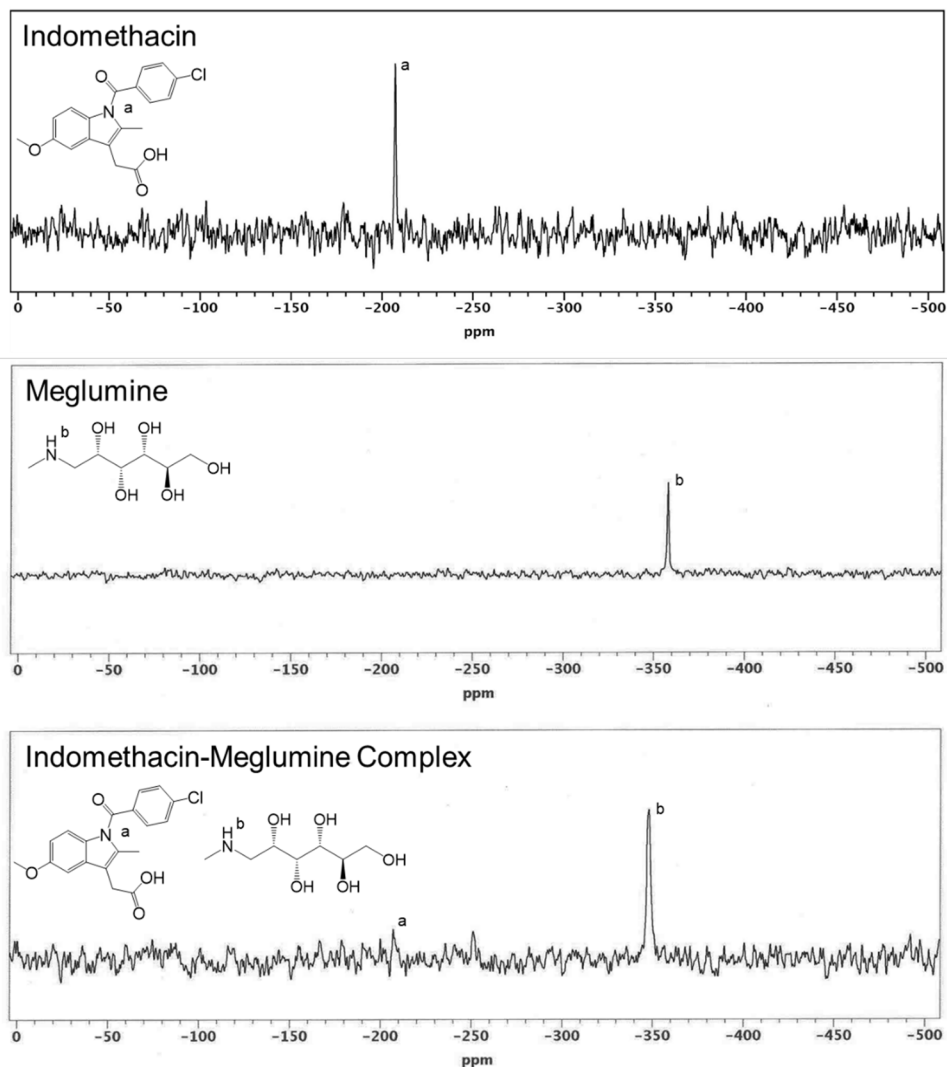


Figure 3 ^{15}N NMR spectra of indomethacin, meglumine and indomethacin-meglumine complex

IDM、ARG 及び IDM-ARG 複合体の固体 ^{15}N NMR スペクトルを Figure 4 に示す。IDM については、-207 ppm 付近にシグナルが観測された。ARG については、 α -アミノ基の窒素原子に由来するシグナルは-349 ppm 付近に、イミノ基の窒素原子に由来するシグナルは-296 ppm 付近に、その他の窒素原子に由来するシグナルは-303 ppm 付近及び-306 ppm 付近に観測された。IDM-ARG 複合体については、IDM のインドール骨格の窒素原子に由来するシグナルが-207 ppm 付近に観測され、ARG の α -アミノ基の窒素原子に由来するシグナ

ルが-341 ppm 付近に、イミノ基の窒素原子に由来するシグナルは-298 ppm 付近、その他の窒素原子に由来するシグナルは-307 ppm 付近及び-309 ppm 付近に観測された。複合体形成に伴う化学シフト差が最も大きいシグナルに由来する窒素原子が相互作用部位と考えられることから、IDM との相互作用部位は、IDM のカルボキシ基と ARG の α -アミノ基の窒素原子であることが示唆された。Table 5 に示したとおり、複合体形成に伴う化学シフト差は 8 ppm であり、IDM-ARG 複合体は共結晶であることが示唆された。

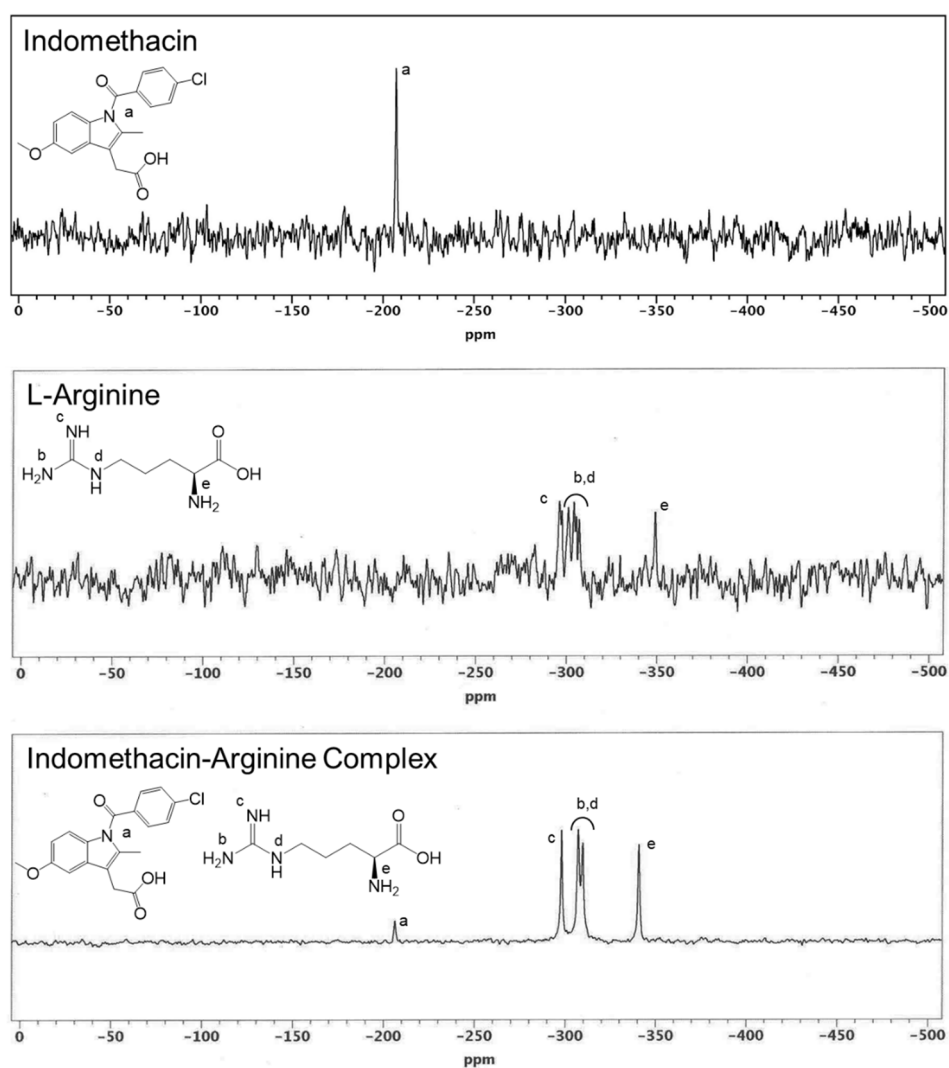


Figure 4 ^{15}N NMR spectra of indomethacin, arginine and indomethacin-arginine complex

IDM、TRIS 及び IDM-TRIS 複合体の固体 ^{15}N NMR スペクトルを Figure 5 に示す。IDM については、-207 ppm 付近にシグナルが観測され、TRIS については、-352 ppm 付近にシグナルが観測された。IDM-TRIS 複合体については、IDM のインドール骨格の窒素原子に由来するシグナルが-207 ppm 付近に観測され、TRIS のアミノ基の窒素原子に由来するシグナルが-347 ppm 付近に観測されたことから、IDM との相互作用部位は、IDM のカルボキシ基と TRIS のアミノ基の窒素原子であることが示唆された。Table 5 に示したとおり、複合体形成に伴う化学シフト差は 5 ppm であり、IDM-TRIS 複合体は共結晶であることが示唆された。

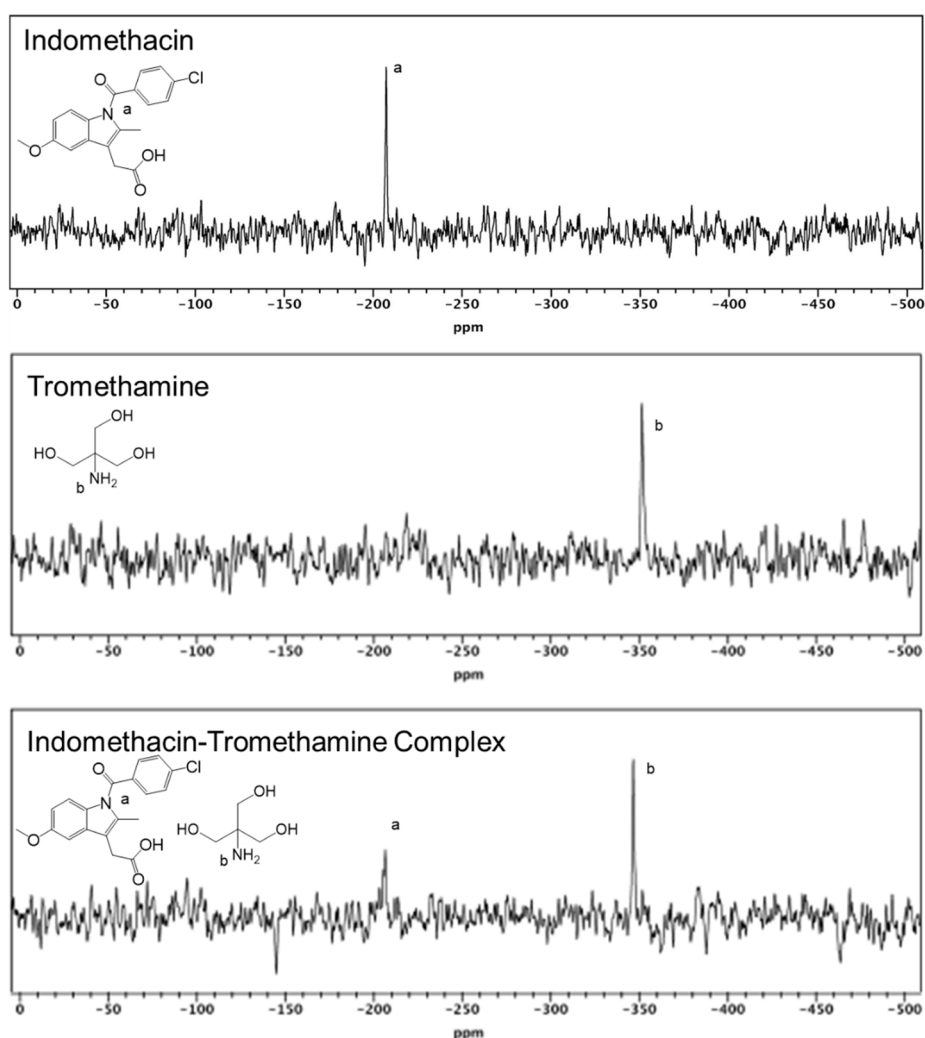


Figure 5 ^{15}N NMR spectra of indomethacin, tromethamine and indomethacin-tromethamine complex

Table 5 Differences in ^{15}N NMR chemical shift between free base and complex

Complex	Difference in chemical shift (ppm)	Classification of complex
Indomethacin-Saccharin	4	Cocrystal
Indomethacin-Meglumine	10	Cocrystal
Indomethacin-Arginine	8	Cocrystal
Indomethacin-Tromethamine	5	Cocrystal

なお、IDM-LYS 複合体については、良好な固体 ^{15}N NMR スペクトルを取得することができず、固体 ^{15}N NMR スペクトルによる塩・共結晶の識別はできなかった。

(2) Compound A

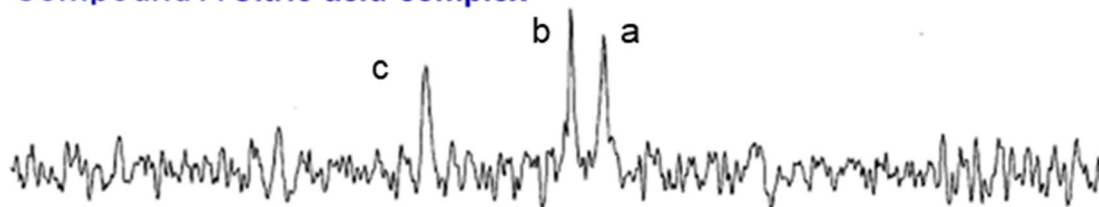
Compound A 及び Compound A-CA 複合体の固体 ^{15}N NMR スペクトルを Figure 6 に示す。Compound A のイミンに由来するシグナルは、Compound A では-132 ppm、Compound A - CA 複合体では-217 ppm に観測された。したがって、Compound A-CA 複合体における両者の相互作用部位は、Compound A のイミンの窒素と CA のカルボキシ基であることが示唆された。Table 6 に示したとおり、複合体形成に伴う化学シフト差は 85 ppm であり、Compound A-CA 複合体は塩であることが示唆された¹⁵⁾。

Compound A 及び Compound A-FA 複合体の固体 ^{15}N NMR スペクトルを Figure 6 に示す。Compound A のイミンに由来するシグナルは、Compound A では-132 ppm、Compound A-FA 複合体では-159 ppm に観測されたことから、Compound A-FA 複合体における両者の相互作用部位は、Compound A のイミンの窒素と FA のカルボキシ基であることが示唆された。Table 6 に示したとおり、複合体形成に伴う化学シフト差は 27 ppm であり、Compound A-FA 複合体は共結晶であることが示唆された¹⁵⁾。

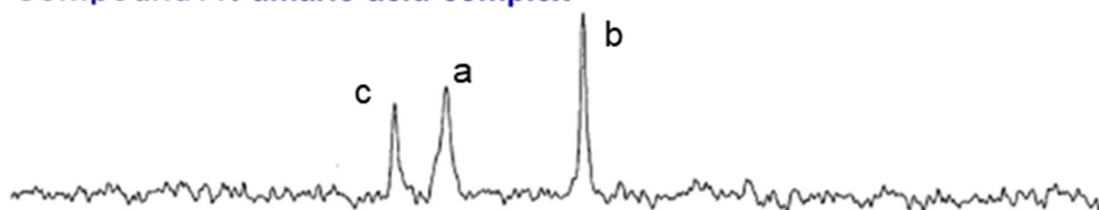
Table 6 ^{15}N NMR chemical shift difference between free base and complex

Complex	Chemical shift difference (ppm)	Classification of complex
Compound A-Citric acid	85	Salt
Compound A-Fumaric acid	27	Cocrystal

Compound A Citric acid complex



Compound A Fumaric acid complex



Compound A

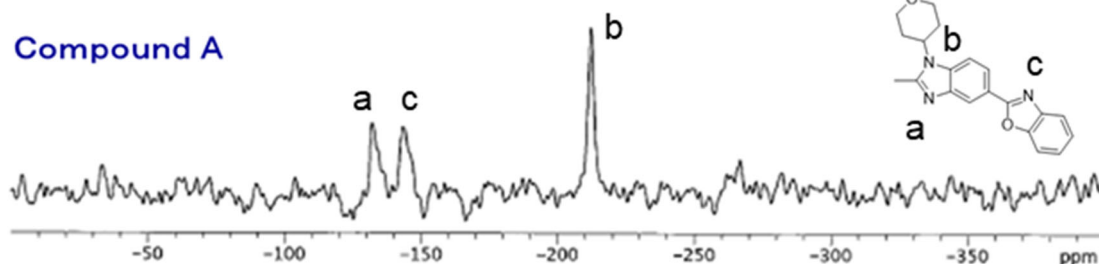


Figure 6 ^{15}N NMR spectra of compound A and its complexes

第 4 節 固体 UV/vis 吸収スペクトルを指標とした塩・共結晶の識別

(1) Indomethacin

Figure 7 に IDM の I 型結晶、カウンター分子、両者の物理混合物 (Physical mixture, PM)、IDM 複合体の固体 UV/vis 吸収スペクトルを示す。すべての IDM 複合体は、IDM、各カウンター分子、PM とは異なる固体 UV/vis 吸収スペクトルを示した。複合体と PM の固体 UV/vis 吸収スペクトルの相違は、複合体の形成に伴う IDM とカウンター分子のコンフォメーション変化、即ち、IDM とカウンター分子間の水素結合やイオン結合などに代表される分子間相互作用の新規の形成を示唆していると考えられる。したがって、固体 UV/vis 吸収スペクトルにより、複合体の形成を確認することが可能であることが示唆された。

IDM-SAC 複合体は、200～306 nm の範囲においては PM よりも小さい吸収強度を、対照的に、306 nm を超える範囲では PM よりも大きな吸収強度を示した。一方、他の IDM 複合体は、200 nm を超える範囲で PM と同程度或いはそれ以上の吸収強度を示した。各 IDM 複合体の固体 UV/vis 吸収スペクトルの曲線下面積 (Area under the spectrum curve, AUSC) を Table 7 に示す。IDM-SAC 複合体は、IDM と SAC の PM よりも小さな AUSC を示した。一方、他の IDM 複合体は、PM よりも大きな AUSC を示すことが明らかとなった。

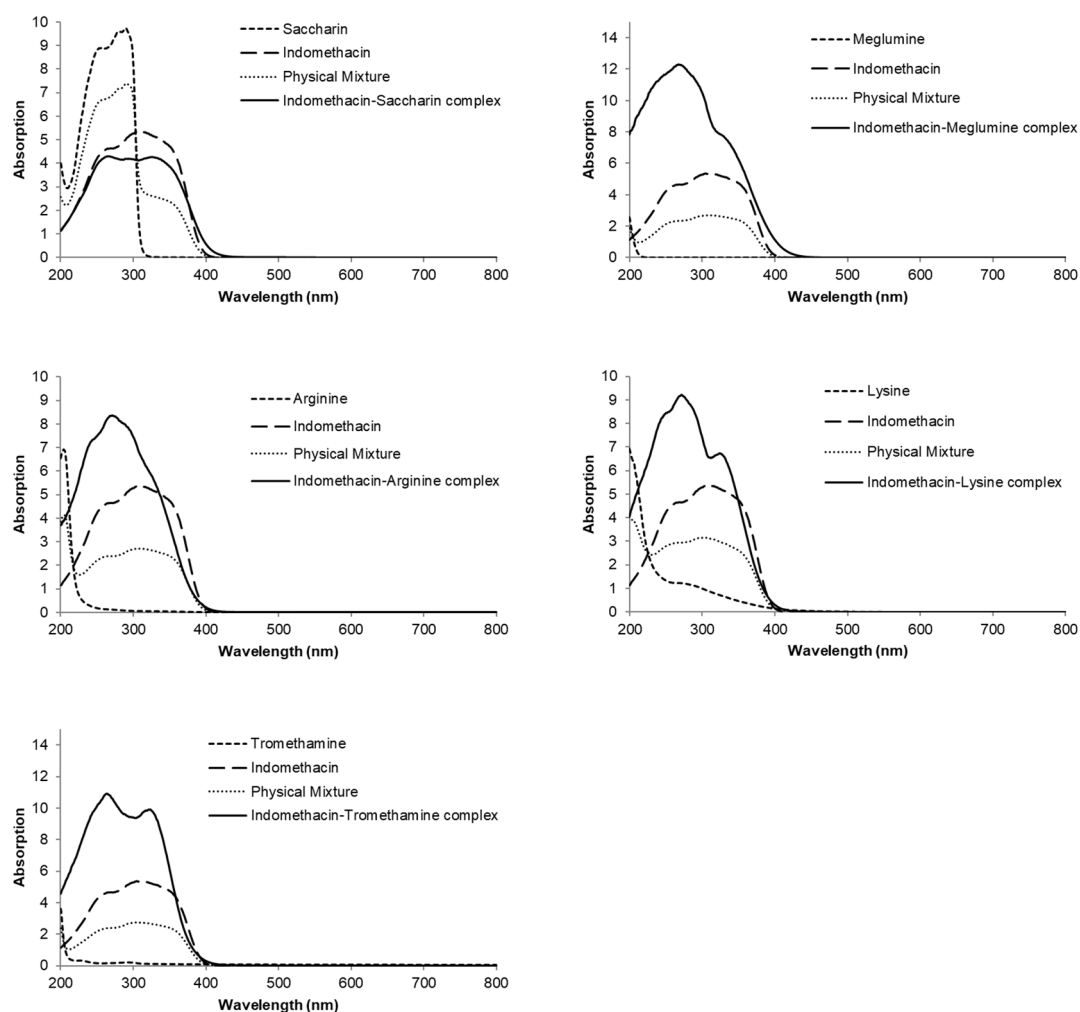


Figure 7 Solid-state UV/vis absorption spectra of indomethacin, counter molecules, their physical mixtures and complexes

Table 7 AUSC of solid-state UV/vis absorption spectra of indomethacin complexes

Complex	AUSC (200 - 800 nm)	
	Complex	Physical mixture
Indomethacin-Saccharin	1328.2	1557.6
Indomethacin-Meglumine	2098.6	899.2
Indomethacin-Arginine	3384.5	796.0
Indomethacin-Lysine	2352.2	1066.6
Indomethacin-Tromethamine	2904.0	849.1

(2) Compound A

Figure 8 に、Compound A、カウンター分子、PM 及び Compound A 複合体の固体 UV/vis 吸収スペクトルを示す。すべての Compound A 複合体は Compound A、カウンター分子、PM とは異なる固体 UV/vis 吸収スペクトルを示した。IDM と同様、Compound A に関しても、固体 UV/vis 吸収スペクトルを測定することにより、複合体の形成を確認することが可能であった。

Compound A の各複合体の AUSC を Table 8 に示す。Compound A-CA 複合体は、PM よりも大きな AUSC を示した。一方、Compound A-FA 複合体は、PM よりも小さな AUSC を示した。

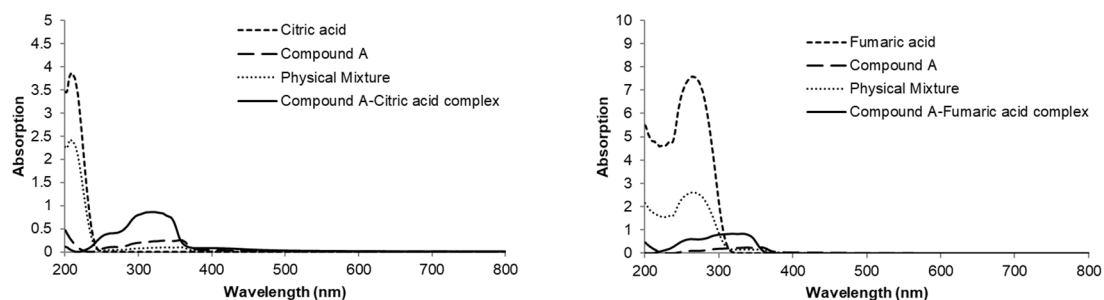


Figure 8 Solid-state UV/vis absorption spectra of Compound A, counter molecules, their physical mixtures and complexes

Table 8 AUSC of solid-state UV/vis absorption spectra of compound A complexes

Complex	AUSC (200 - 800 nm)	
	Complex	Physical mixture
Compound A-Citric acid	175.6	149.0
Compound A-Fumaric acid	163.4	430.9

第 5 節 考察

Figure 7 及び Figure 8 に示すように、IDM 及び Compound A はカウンター分子と複合体を形成することにより、固体 UV/vis 吸収スペクトルに変化が認められた。さらに、Table 7 及び Table 8 に示すように、固体 UV/vis 吸収スペクトルの AUSC (200~800 nm) も変化した。

UV/vis 領域の光吸収の程度は、振動子強度 (Oscillator strength) を意味すると考えられる。振動子強度とは、原子や分子が光を吸収することに伴う、ある量子状態から別の量子状態への遷移に関するパラメータであり、遷移が容易であるほど高値を示す。化合物が塩を形成する場合、フリー体とカウンター分子の間に電荷移動が生じ、イオン結合が形成される。振動子強度は水素結合により増大することが報告されている^{71,72)}。水素結合よりも強固なイオン結合の形成は振動子強度を大きく増大させると考えられる。一方、化合物が共結晶を形成する場合、フリー体とカウンター分子間にファンデルワールス力による分子間結合や水素結合が形成される。これらの相互作用はイオン結合よりも弱いため、振動子強度への影響はイオン結合より小さいと考えられる。つまり、顕著に振動子強度が増大する場合、複合体内にイオン結合が存在することが想定される。したがって、複合体が 2 種類成分で構成される場合、PM の AUSC を比較することにより、塩と共結晶を識別できる可能性が示唆される。具体的には、複合体が PM よりも大きい AUSC を示す場合は塩、複合体の AUSC が PM と同程度又は小さい場合は共結晶と識別可能と考えられる。

IDM-SAC 複合体、Compound A-FA 複合体については、複合体の AUSC が PM の AUSC よりも小さい値を示したため、上記の基準に基づいて判別すると、共結晶と判断される。この結果は、Table 9 に示すように、 ΔpK_a 及び固体 ^{15}N NMR スペクトルにより識別された結果、さらに既報の結果と一致した^{73,74)}。IDM-MEG 複合体、IDM-ARG 複合体、IDM-LYS

複合体、IDM-TRIS 複合体及び Compound A-CA 複合体は、PM よりも大きい AUSC を示したことから、塩に分類される。IDM-LYS 複合体は ΔpK_a 及び既報の結果と一致した⁷⁵⁾。

一方、識別方法によって異なる結果を示すものもあった。IDM-MEG 複合体、IDM-ARG 複合体及び IDM-TRIS 複合体は、固体 ^{15}N NMR スペクトルでは、共結晶と判別されたものの、 ΔpK_a 及び既報では、塩と識別されている。さらに、Compound A-CA 複合体は、 ΔpK_a では共結晶と識別されたものの、固体 ^{15}N NMR スペクトルでは塩と識別されている。

ΔpK_a による識別、固体 ^{15}N NMR スペクトルによる識別は経験的な方法であるため、得られた結果が異なる場合がある。即ち、複合体を形成する化合物、カウンター分子の物理的・化学的性質や化学構造等によって、塩と共結晶の識別に向き不向きがあるようである。そのため、化合物固体の詳細な化学構造を明らかにできる単結晶 X 線回折法以外の識別手法の場合、複数の方法により総合的に評価することが重要であると考えられる。多くの識別手法に共通する結果が正しい可能性が高い。固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いる識別手法は、多くの識別手法による結果と一致する。したがって、固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いる識別は他の経験的な方法と比較して、より有用な情報を提供する可能性が示唆された。

Table 9 Summary of classification of various complexes determined with various methods

Complex	Classification			
	ΔpK_a	^{15}N NMR	UV/vis	Report
Indomethacin-Saccharin	Cocrystal	Cocrystal	Cocrystal	Cocrystal ⁷³⁾
Indomethacin-Meglumine	Salt	Cocrystal	Salt	Salt ^{5,75)}
Indomethacin-Arginine	Salt	Cocrystal	Salt	Salt ⁷⁵⁾
Indomethacin-Lysine	Salt	-	Salt	Salt ⁷⁵⁾
Indomethacin-Tromethamine	Salt	Cocrystal	Salt	Salt ^{5,75)}
Compound A-Citric acid	Cocrystal	Salt	Salt	-
Compound A-Fumaric acid	Cocrystal	Cocrystal	Cocrystal	Cocrystal ⁷⁴⁾

第 6 節 小括

IDM 及び Compound A の固体 UV/vis 吸収スペクトルには、塩や共結晶の形成に伴って変化が認められた。本知見より、固体 UV/vis 吸収スペクトルを測定することで、複合体の形成を確認できることが示唆された。

IDM 複合体では、固体 UV/vis 吸収スペクトルにおいて、塩と共結晶の相違が観察された。また、Compound A 複合体においても、同様の傾向が認められた。本手法による塩と共結晶の識別結果は、単結晶 X 線回折法などの既報の結果と一致した。固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた塩と共結晶の識別は、フリー体、カウンター分子、複合体が固体であることが必要であるが、複合体の単結晶は必要ではない。また、本手法は、化学構造に関係なく、様々な化合物に適用することが可能である。したがって、単結晶の取得が困難な場合、塩と共結晶を区別するための重要な情報を提供できる可能性を秘めていると考えられる。

第2章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた Indomethacin 結晶多形の

光安定性評価

第1節 序論

医薬品の安定性試験の目的は、温度、湿度及び光照射などの様々な環境条件下で、医薬品の物理的・化学的性質の経時的な変化を評価し、最適な保存条件を決定するとともに、その条件下での有効期間を設定することである⁷⁶⁾。医薬品ごとに物理的・化学的性質や化学構造が大きく異なるため、安定性を適切に評価するためには、クロマトグラフィー法に代表される個々の化合物に適した分析方法の確立が必要となる⁷⁷⁻⁷⁹⁾。また、様々な条件下で保存された試料の準備には少なくとも数ヶ月が必要であるため、化合物の安定性評価の進捗により、臨床試験の開始が遅延するリスクも考えられる。このような状況を背景に、医薬品の安定性を短期間で、簡便に予測できる手法が求められている。

近年、光感受性薬剤が増加しており、医薬品原薬及び製剤について、光分解物の毒性及び光安定性を評価することは重要と考えられる。光毒性の評価に関しては、UV/vis 吸収スペクトルがスクリーニングの指標として利用されており、290～700 nm の範囲に吸収を示さない化合物、又は、290～700 nm の範囲に吸収を示す化合物であっても、モル吸光係数が 1000 L/mol・cm 以下の化合物では不要とされている⁸⁰⁾。一方で、光安定性の評価については、スクリーニング手法が存在せず、総照度 120 万 lux・hr 以上かつ近紫外総放射エネルギーとして 200 W・h/m² 以上の光に曝された試料を用いる必要があり⁷⁹⁾、サンプルの準備に長い時間が必要である。

結晶多形間の物理的・化学的特性の相違は、経口投与後の吸収性、安定性、製剤特性及び製造性の他に、光感受性にも影響を及ぼすことが報告されている⁸¹⁻⁸⁴⁾。医薬品の原薬形態は、物理的・化学的特性が優れているものが望ましいが、仮に原薬が光に不安定な場合であっても、包装材料や製剤処方工夫により、許容可能な場合が多い。このために、溶解性や製造性などと比較して、光安定性の優先順位は高くないのが現状である。しかしながら、原薬形態候補となる結晶形が複数あり、それらの物理的・化学的性質が類似している場合、光安定性が原薬形態の選定の決定因子となる可能性も考えられる。したがって、結晶多形間の光感受性を比較・検討することは重要であると考えられる。

光化学反応の発端は、光吸収に伴う化合物分子の励起であることから、化合物による光の吸収の程度を指標に、光感受性を評価することが可能と仮定し、研究を開始した。本研究では、化合物の光吸収に伴う化合物分子の基底状態から励起状態への遷移に着目し、本遷移に関する情報を取得できる UV/vis 吸収スペクトルを指標に評価した。結晶多形間の光感受性を比較検討するためには、結晶形の状態を維持する固体状態での評価が可能な固体 UV/vis 吸収スペクトル法が適切であり、実際に tamoxifen citrate の結晶多形及び furosemide (FUR) の共結晶の光安定性評価の指標に UV/vis 吸収の極大吸収波長のシフトが用いられている^{82,85)}。

第 2 節 Indomethacin 結晶多形の光安定性

IDM の溶媒和物を含む結晶多形に光照射した結果、すべての結晶形は白色またはオフホワイトから黄色に変化した。しかし、粉末 X 線回折 (Powder X-ray diffraction, PXRD) の結果によると、すべての IDM 結晶形において、光曝露による変化は観察されなかった。各 IDM 結晶形の曝光試料と対照試料を HPLC で分析し、光分解の程度を評価した結果を Table 10 に示す。曝光試料と対照試料の含有量を比較すると、すべての IDM 結晶形で光照射の影響により含有量が低下していることが明らかとなった。また、IDM 結晶形により、光分解の程度に相違が観察された。

Table 10 Comparison of degradation of indomethacin polymorphs under light exposure or protection against light

Sample	Indomethacin content (%)		Photodegradation (%)
	No exposure	Exposure	
Indomethacin (I)	99.65	98.75	0.90
Indomethacin (II)	97.18	95.41	1.77
Indomethacin (III)	99.80	94.69	5.11
Indomethacin (IV)	99.69	97.17	2.52

第 3 節 Indomethacin 結晶多形の固体 UV/vis 吸収スペクトル

IDM の結晶多形の固体 UV/vis 吸収スペクトルを Figure 9 に、極大吸収波長における吸光度を Table 11 に示す。IDM 結晶多形はそれぞれ異なる固体 UV/vis 吸収スペクトルを示した。本知見は、固体 UV/vis 吸収スペクトルを指標として、結晶形を識別できる可能性を示唆すると考えられた。また、IDM I 型結晶は極大吸収波長が短く、吸光度が小さかった。一方で、溶媒和物である IDM III 型結晶及び IDM IV 型結晶では、極大吸収波長が長波長側にシフトし、吸光度は高値を示した。

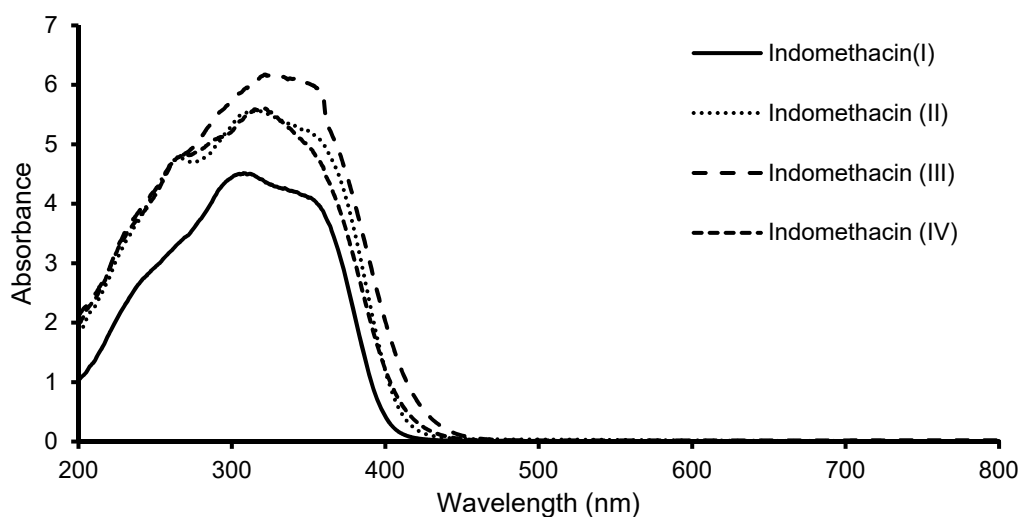


Figure 9 Solid-state UV/vis absorption spectra of indomethacin polymorphs

Table 11 Maximum absorbance and wavelength of indomethacin polymorphs

	Maximum absorbance	Maximum wavelength (nm)
Indomethacin (I)	4.5	308
Indomethacin (II)	5.8	316
Indomethacin (III)	6.2	322
Indomethacin (IV)	5.6	322

第 4 節 考察

化合物の光分解は、光の吸収によって誘発される。したがって、光吸収量が多い化合物ほど光感受性が高いことが示唆される。すべての IDM 結晶形は、300～500 nm に特徴的な吸収を示した。光照射試験装置の光源である D65 ランプは、300 nm 以上の光を放射する。また、医薬品の光安定性評価に関する国際調和ガイドラインである International council for harmonization of technical requirements for pharmaceuticals for human use (ICH) Q1B ガイドラインにおいても、320～400 nm の紫外線 A 波 (Ultraviolet-A, UVA) 領域の光吸収の重要性が強調されている⁷⁹⁾。これらの情報から、化合物の光安定性に対して、UVA 領域の光が重要な役割を果たしていることが示唆される。そこで、IDM が光吸収を示す 300～500 nm 及び 320～400 nm (UVA 領域) における UV/vis 吸収スペクトルの積分値 (AUSC) を計算し、比較・検討を行った。AUSC を Table 12 に示す。光感受性の高い IDM 結晶形は、両波長領域の AUSC が大きい傾向があり、IDM の結晶多形については、固体 UV/vis 吸収スペクトルの AUSC が光分解の程度と密接に関連していることが示唆された。両波長領域の AUSC と光分解率 (対数表記) との関係をプロットしたところ、Figure 10 に示すように、両者には有意な相関関係 ($P<0.05$) が観察された。本結果から、固体 UV/vis 吸収スペクトルの AUSC を比較することで、溶媒和物を含む IDM の結晶多形における光分解率を定量的に評価可能であると考えられた。

Table 12 Area under UV/vis absorption spectrum curve of indomethacin polymorphs

Sample	AUSC	
	300–500 nm	320–400 nm
Indomethacin (I)	727.8	532.8
Indomethacin (II)	941.9	694.1
Indomethacin (III)	1088.4	784.7
Indomethacin (IV)	877.8	634.7

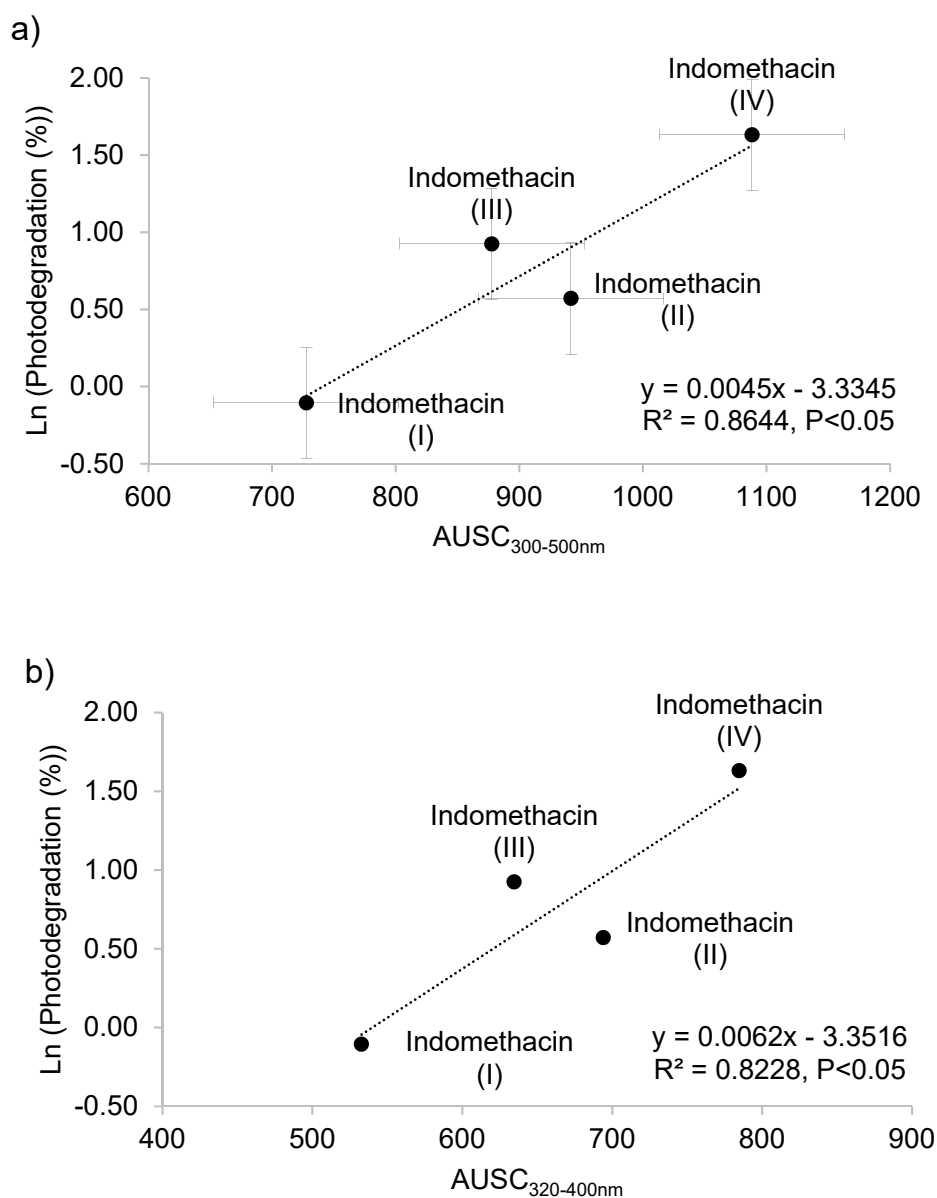


Figure 10 Relationship between photodegradation and AUSC of solid-state UV/vis absorption spectrum of indomethacin polymorphs

Keys, a: 300 - 500 nm, b: 320 - 400 nm (UVA range)

第 5 節 小括

固体 UV/vis 吸収スペクトルを測定することにより、そのスペクトルから結晶形の識別が可能であることが示唆された。

IDM の結晶多形において、光分解率と固体 UV/vis 吸収スペクトルの 300～500 nm 及び 320～400 nm（UVA 領域）の波長範囲における AUSC に良好な相関が認められ、両範囲の AUSC を指標として結晶多形間の光安定性を比較することが可能であった。また、今回評価に用いた結晶多形以外の結晶形についても、HPLC による光分解に関するデータを追加することなく、IDM の I～IV 型結晶の光分解率及び AUSC から作成した回帰直線を用いて、光分解率を推定することが可能と考えられる。本評価方法は、無水物や溶媒和物を含む IDM の結晶形に適用可能であることが示唆された。

第 3 章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた各種低分子化合物の光安定性評価：適用範囲に関する検討

第 1 節 序論

医薬品開発の初期スクリーニング段階で、簡便な光安定性の評価法が必要と考えられる状況を背景に、第 2 章では、IDM の結晶多形に関して、AUSC と光分解率との間に正の相関関係が観察されることを明らかにした。さらに、IDM の結晶多形に関しては、IDM が吸収を示す波長領域（300～500 nm）の AUSC、または UVA 領域の AUSC（Area under the spectrum curve in UVA, $AUSC_{UVA}$ ）から、光分解率を定量的に予測可能であることを見出した。

一般に、医薬品原薬に用いられる化合物の化学構造は様々である。医薬品の原薬はフリー体の物理的・化学的性質に問題がない場合、フリー体の結晶多形の中から最適な結晶形が選択される。一方で、難溶性の医薬品候補化合物の場合、溶解性等の物理的・化学的性質を改善した塩や共結晶などの複合体が原薬として選択される。すなわち、医薬品候補化合物の固体の構造も多種多様である。そこで、本章では IDM の結晶多形で認められた $AUSC_{UVA}$ と光分解率との関係の一般性の確認、即ち医薬品原薬の結晶多形、塩や共結晶等の複合体に対する本方法の応用の可否、並びに、本方法が化合物一般に適用可能か否かを確認する検討を行った。 $AUSC_{UVA}$ を指標として、(1) 結晶多形を有する Compound B、(2) IDM の複合体、(3) 化学構造の異なる低分子化合物を用いて、化合物の光安定性の比較評価の可能性を検証した。なお、化学構造が異なる低分子化合物としては、既に医薬品として利用された実績がある化合物の中で、試薬として入手可能な化合物 5 種に加え、光安定性が良好な Compound C 及び Compound D を用いた。本章で使用した化合物の構造を Figure 11 に示した。

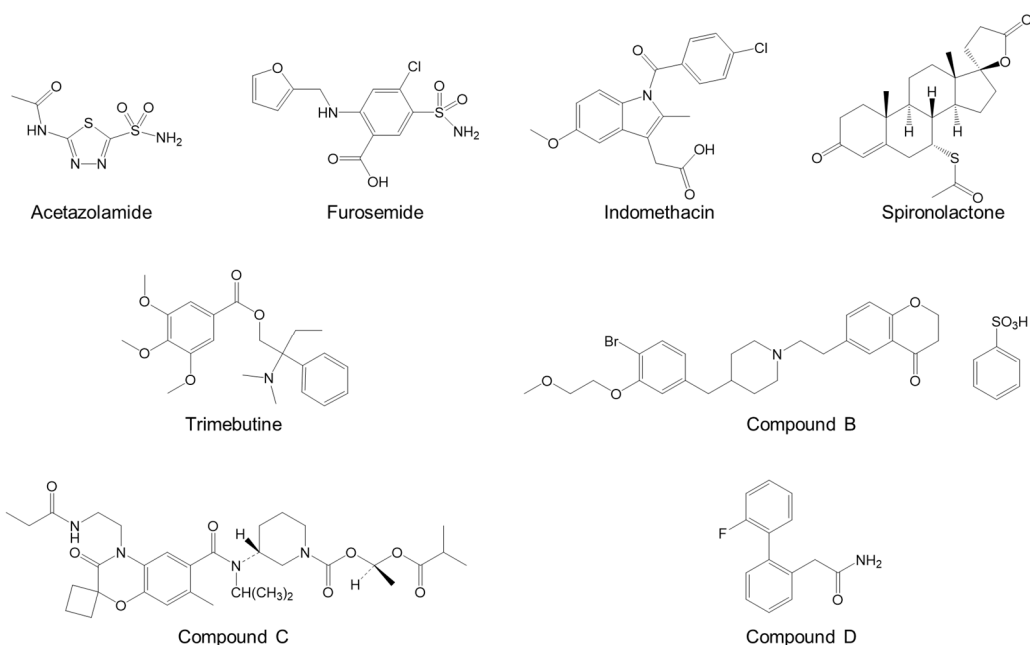


Figure 11 Chemical structures of model chemicals

第 2 節 Compound B 結晶多形の光安定性と固体 UV/vis 吸収スペクトル

Compound B の固体 UV/vis 吸収スペクトルを Figure 12 に、光分解率及び $AUSC_{UVA}$ を Table 13 に示す。いずれの結晶形においても、光照射による含量低下が観察され、光により分解することが明らかとなった。Compound B の I 型結晶の粉体の色は光照射により白色から黄色に変化し、また、I 型結晶は II 型結晶よりも大きい分解率を示した。これらの知見から、結晶形の相違により、光分解性が異なることが明らかとなった。固体 UV/vis 吸収スペクトルによると、I 型結晶と II 型結晶は共に UVA 領域 (320~400 nm) に吸収を示したが、結晶形によって極大吸収波長が異なり、I 型結晶は 332.0 nm、II 型結晶は 327.5 nm に吸収極大を示し、II 型結晶が小さい $AUSC_{UVA}$ を示した。

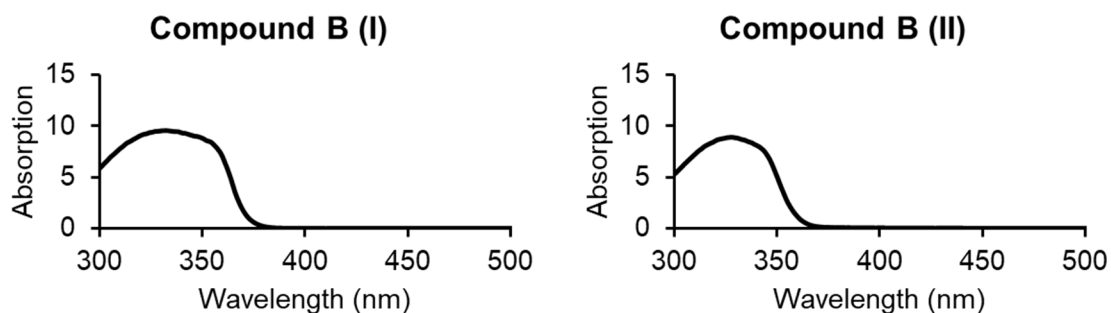


Figure 12 Solid state UV/vis absorption spectra of Compound B polymorphs

Table 13 Photodegradation and AUSC_{UVA} of Compound B polymorphs

	Photodegradation (%)	AUSC _{UVA}
Compound B (I)	4.8	825.6
Compound B (II)	3.0	562.9

第3節 Indomethacin 複合体の光安定性と固体 UV/vis 吸収スペクトル

IDM 複合体の固体 UV/vis 吸収スペクトルを Figure 13 に、光分解率及び AUSC_{UVA} を Table 14 に示す。Table 14 に示すとおり、いずれの複合体も光により分解することが明らかとなった。粉体の色は光照射により白色から黄色に変化し、カウンター分子によって光分解率が異なることが明らかとなった。すべての IDM 複合体は、UVA 領域（320～400 nm）に吸収を示したが、吸収スペクトルと AUSC_{UVA} には複合体間で相違が認められた。

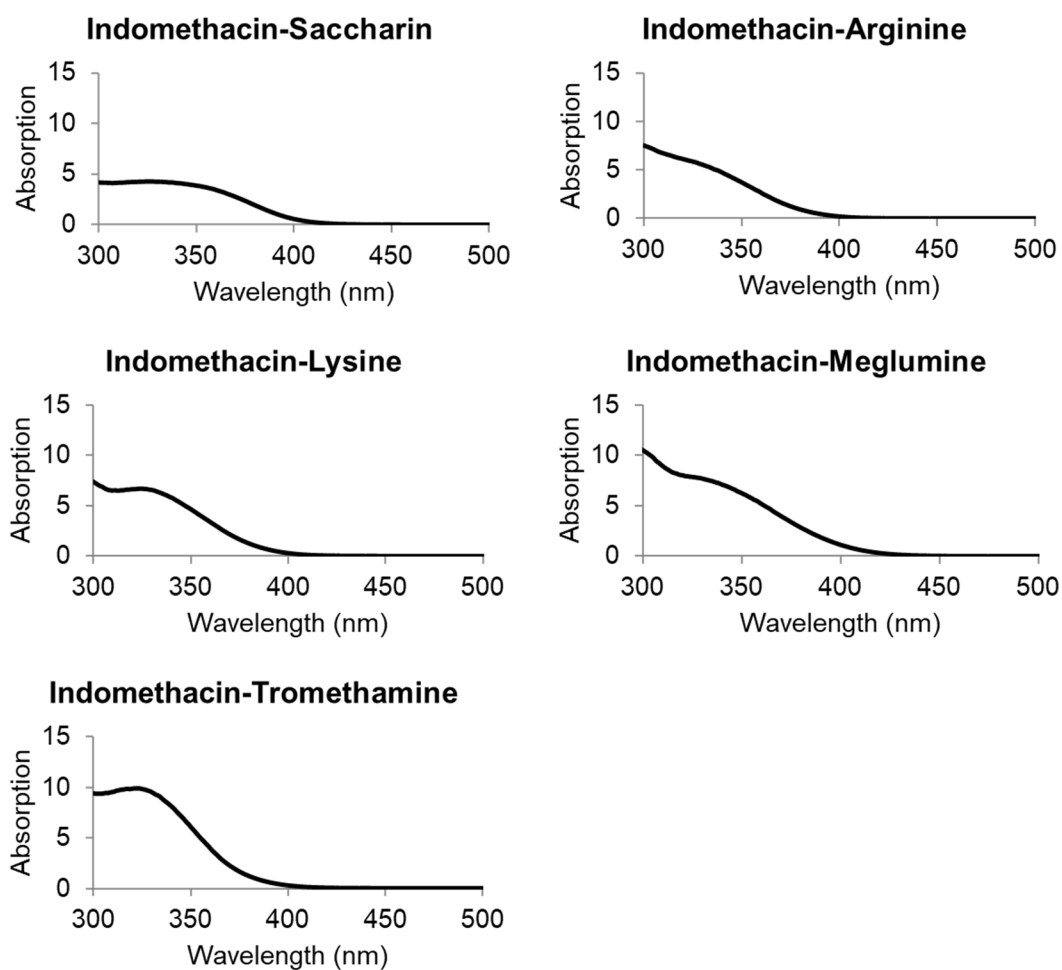


Figure 13 Solid state UV/vis absorption spectra of indomethacin complexes

Table 14 Photodegradation and AUSC_{UVA} of indomethacin complexes

Complex	Photodegradation (%)	AUSC _{UVA}
Indomethacin-Saccharin	1.4	481.3
Indomethacin-Meglumine	2.6	796.8
Indomethacin-Arginine	2.4	456.8
Indomethacin-Lysine	3.1	567.1
Indomethacin-Tromethamine	2.0	747.1

第 4 節 異なる化学構造を持つ低分子化合物の光安定性と固体 UV/vis 吸収スペクトル

各化合物の固体 UV/vis 吸収スペクトルを Figure 14 に、光分解率及び $AUSC_{UVA}$ を Table 15 に示す。Acetazolamide (AZA)、FUR、spironolactone (SPL) 及び trimebutine (TM) は、光により分解することが明らかとなった。光分解が確認された FUR 及び TM の粉体の色は、光照射により白色から黄色に変化した。対照的に、Compound C 及び Compound D では、含量低下は認められなかった。光安定性試験の結果、光による分解が観察された AZA、FUR、SPL 及び TM は、UVA 領域 (320~400 nm) に吸収を示し、Compound C 及び Compound D は UVA 領域に吸収を示さなかった。光に安定な化合物については、 $AUSC_{UVA}$ が極めて小さく、対照的に、光に不安定な化合物については、化合物間で相違はあるものの、比較的大きな $AUSC_{UVA}$ を示した。これらの結果から、 $AUSC_{UVA}$ を指標に化合物の光安定性を評価できる可能性が示唆された。

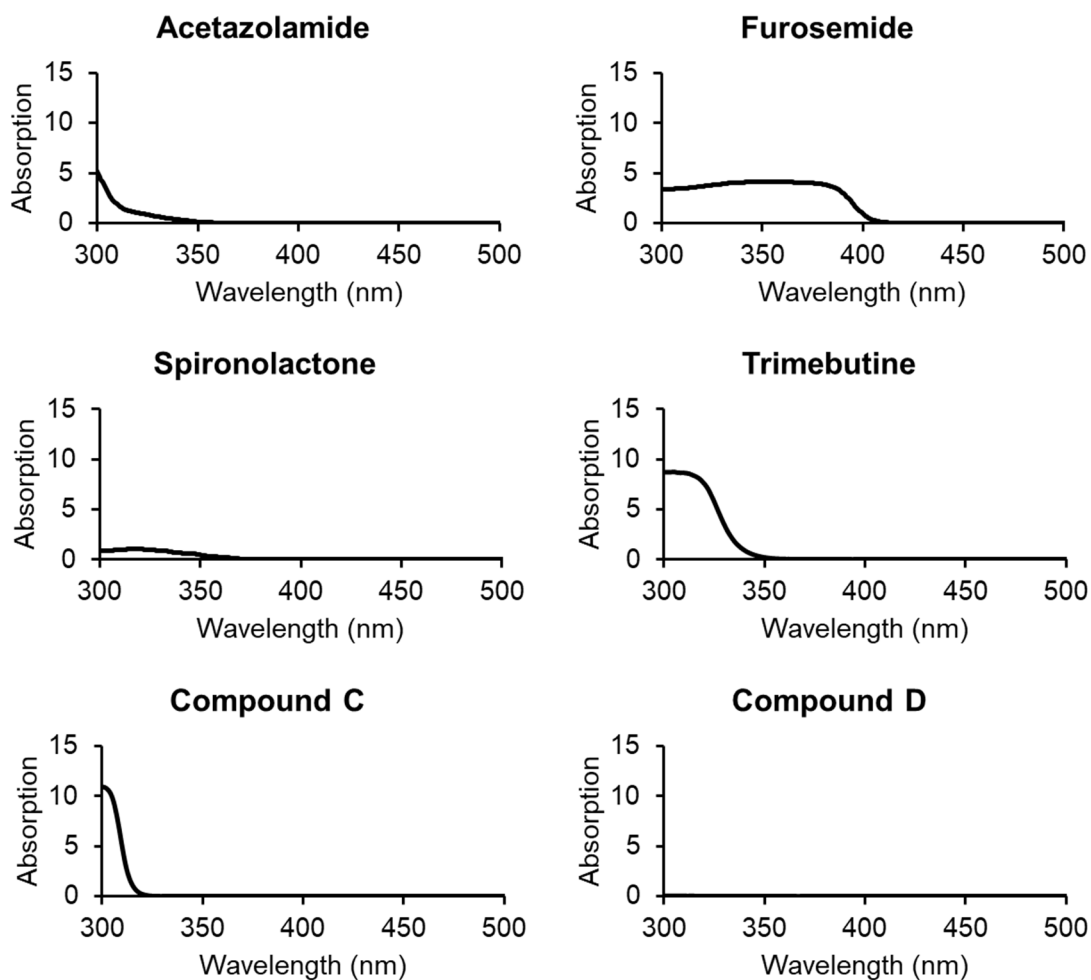


Figure 14 Solid state UV/vis absorption spectra of small molecule compounds

Table 15 Photodegradation and AUSC_{UVA} for small molecule compounds

	Photodegradation (%)	AUSC _{UVA}
Acetazolamide	1.9	34.5
Furosemide	2.1	596.1
Spironolactone	1.6	57.2
Trimebutine	13.7	166.8
Compound C	0.0	1.2
Compound D	0.0	3.7

第5節 考察

結晶形の違いにより、バイオアベイラビリティ⁸¹⁾、化学的安定性⁸²⁾、製造性^{83,84)}等に相違があることが知られており、光安定性についても、異なることが報告されている^{86,87)}。Compound B については、Table 13 に示す通り、I 型結晶よりも II 型結晶が光に対して安定であり、II 型結晶が小さい $AUSC_{UVA}$ 値を示した。第 2 章における検討の結果、IDM の個々の結晶形の $AUSC_{UVA}$ と光分解率には正の相関関係が存在すること、Compound B についても、 $AUSC_{UVA}$ が小さい II 型結晶の光分解率が小さかったことから、 $AUSC_{UVA}$ から、同一化合物の結晶多形の光安定性を比較可能であることが示唆された。

第 2 章において、IDM の結晶多形に関して、 $AUSC_{UVA}$ と光分解率との間に正の相関が観察されることを示し、その回帰式に基づいて、 $AUSC_{UVA}$ から IDM の各結晶多形の光分解率の予測の可能性を示唆した。そこで、IDM の結晶多形で得た回帰式 ($\ln(\text{光分解率}(\%)) = 0.0062 AUSC_{UVA} - 3.3516$) が結晶多形のみでなく、IDM 複合体にも適用可能か否かを確認するため、本回帰式を用いて、IDM 複合体の $AUSC_{UVA}$ より、光分解率を推定した。Table 16 に推定値を示す。残念ながら、これらの予測値と実測値との間には光分解率として 0.7 ～2.3%の乖離が認められた。また、IDM 複合体については、Figure 15 に示すとおり、 $AUSC_{UVA}$ と光分解率との間には相関が認められなかった。これは、塩や共結晶のような複合体の場合、カウンターイオンやカウンター分子が存在するため、結晶多形と比較すると固体表面に露出する薬物分子の数が相対的に少なく、受光した薬物分子数や受光量が異なることが一因であると考えられた。

Table 16 Comparison of observed photodegradations with those predicted

Sample	Photodegradation (%)	
	Observed	Predicted
Indomethacin-Saccharin	1.4	0.7
Indomethacin-Meglumine	2.6	4.9
Indomethacin-Arginine	2.4	0.6
Indomethacin-Lysine	3.1	1.2
Indomethacin-Tromethamine	2.0	3.6

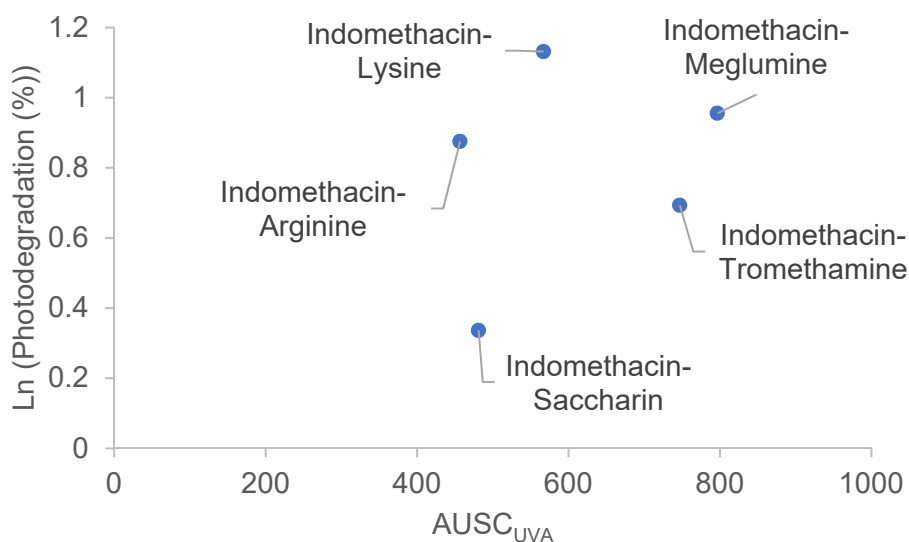


Figure 15 Relation of photodegradation of indomethacin complexes with AUSC_{UVA}

化学構造が異なる低分子化合物に関しては、Figure 16 に示すとおり、AUSC_{UVA} と光分解率との間に相関は観察されなかった。これは、光分解のメカニズムが多様であることが理由と考えられる。実際、nifedipine、reserpine や nicardipine のように、デヒドロ体が生成する場合⁸⁸⁻⁹²⁾、nimodipine のようにニトロ基が転移したデヒドロ体が生成する場合⁹³⁾、tiaprofenic acid のようにカルボニル基に酸化される場合⁹⁴⁾、chlordiazepoxide のように環構造が再構成される場合⁹⁵⁾、FUR や mefloquine のように加水分解が誘発される場合^{96,97)}、meclofenamic acid のようにハロゲン化水素が脱離する場合等が報告されている⁹⁸⁾。また、chloroquine や primaquine のように複数の分解物を生成する事例も報告されている^{99,100)}。各化合物は、化学構造に起因する特有のメカニズムで光分解し、光分解に必要なエネルギーが異なるため、化学構造が異なる化合物の光安定性を固体 UV/vis 吸収スペクトルにより比較することは困難であると考えられた。

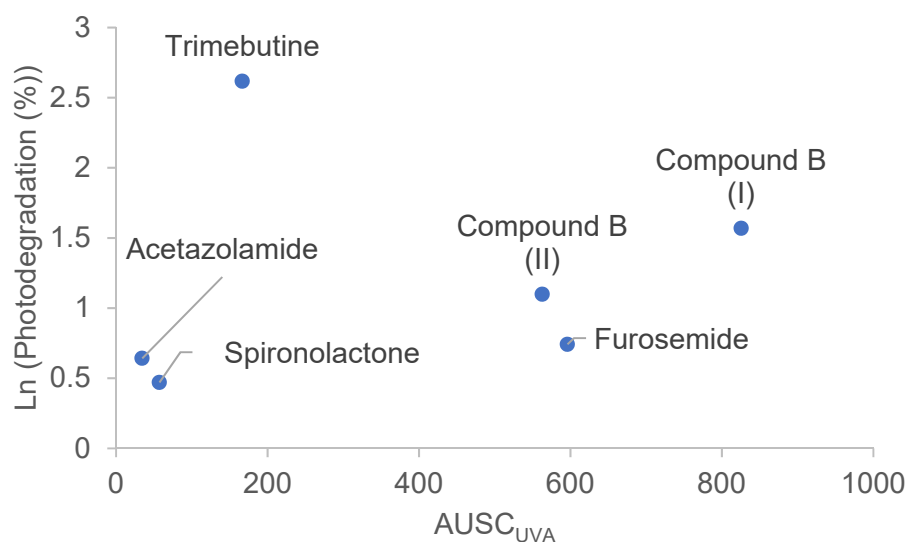


Figure 16 Relation of photodegradation of small molecule compounds with AUSC_{UVA}

第 6 節 小括

Compound B の結晶多形においては、IDM の結晶多形と同様に、AUSC_{UVA} の増大に伴い、光分解率が増加した。したがって、本手法は、結晶多形などの同一化合物に対する光安定性の比較に適用可能であると考えられる。光に不安定な化合物は UVA 領域に光吸収を示し、対照的に、光に安定な化合物は UVA 領域に吸収を示さず、固体 UV/vis 吸収スペクトルに明確な相違が認められた。UVA 領域の吸収を指標に、フリー体とその複合体の光安定性を比較することはできないものの、固体 UV/vis 吸収スペクトルは、低分子化合物の光安定性評価の初期スクリーニング法に応用可能であると考えられる。

総括

本研究では、UV/vis 分光法に着目し、化合物の物理的・化学的特性に関する新たな評価方法を確立することを目的に種々の検討を行った。

第 1 章では、固体 UV/vis 吸収スペクトルの形状の変化により、複合体の形成を確認できることを見出したほか、複合体が 2 成分で構成される場合、複合体の固体 UV/vis 吸収スペクトルの塩と共結晶による差異から、塩と共結晶の識別手法を確立した。本方法による識別結果は、既報の単結晶 X 線回折法の結果と同一であり、特に単結晶の取得が困難な場合に、塩と共結晶の識別手法として、有用であることを明らかにした。

第 2 章及び第 3 章では、固体 UV/vis 吸収スペクトルの UVA 領域に吸収を有する化合物の光感受性が高いことを示した。また、化学構造が異なる化合物間においては、光分解機構が異なること、また、同一化合物の塩や共結晶では、分子間相互作用による影響等のため、化合物間及び複合体間の光安定性の比較には適用できないものの、同一化合物の結晶多形間であれば、 $AUSC_{UVA}$ から光感受性を定性的に比較することが可能であり、また、2 種の結晶多形の光分解率が既知である場合、別の結晶形の光分解率を $AUSC_{UVA}$ から定量的に推定できることを示した。当該手法は、光曝露サンプルの調製及び HPLC などの化合物に応じた適切な評価方法を必要としないため、短期間での評価が可能であり、化合物の光安定性のスクリーニング手法として活用可能と考える。

謝辞

本研究を遂行するにあたり終始懇切なる御指導と御鞭撻を賜りました神戸薬科大学 製剤学研究室 坂根稔康教授に深く感謝の意を表します。

常に親身に相談に乗ってくださり、また多くの御指導及び御助言を承りました姫路獨協大学 薬学部 製剤学研究室 寺岡麗子教授に厚く御礼申し上げます。

本研究を行う機会並びに常に的確な御指導と御助言を賜りました住友ファーマ製薬株式会社 技術研究本部 分析研究所 植西祐子博士（現、株式会社住化分析センター）に深く感謝の意を表します。

本研究に対して深い御理解と御激励を賜りました住友ファーマ株式会社 技術研究本部 分析研究所 西原豊氏に厚く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり種々の御協力を頂きました住友ファーマ株式会社 技術研究本部 分析研究所 植田知彦氏、並びに、本研究に多大なる御協力と御助言頂きました住友ファーマ株式会社 分析研究所内の諸氏に厚く御礼申し上げます。

最後に、これまで筆者を支えてくれた両親に感謝すると共に、筆者が本研究を纏めるにあたり常に協力を惜しまず、そして、支えてくれた妻・奈央子に心から感謝します。また、遊びたいのを我慢して毎日元気に笑顔で送り出してくれた娘・瑠奈にも感謝します。

実験の部

第1章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた塩・共結晶の識別

1-1. 試料

IDM、SAC、MEG、ARG、CA、FA 及び barium sulfate は富士フイルム和光純薬工業株式会社（大阪）、LYS 及び TRIS は東京化成工業株式会社（東京）、methanol 及び toluene はナカライテスク株式会社（京都）、並びに、deuterized dimethyl sulfoxide (DMSO- d_6) (0.03% Tetramethyl silane (TMS) 含有) は Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (MA, USA) より購入した。Compound A^{a)} 及び Compound A の複合体は住友ファーマ株式会社で合成したものを使用した。その他の溶媒及び試薬は富士フイルム和光純薬工業株式会社（大阪）より購入した。試験には、Milli-Q 製造装置 (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) により製造した精製水を使用した。

a) 2-[2-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-1H-benzimidazol-5-yl]-1,3-benzoxazole hemifumarate

1-2. Indomethacin 複合体の調製

IDM とカウンター分子をモル比 1:1 で混合し、溶媒を添加して 80°C で 10～30 分間攪拌した。25°C で 24 時間振とうした後、溶媒を除去することにより調製した。なお、IDM-SAC 複合体及び IDM-LYS 複合体には ethanol、IDM-ARG 複合体には 2-propanol/water (9:1) 混液、IDM-MEG 複合体には toluene、並びに、IDM-TRIS 複合体には acetonitrile を溶媒として使用した。

IDM 複合体の PXRD パターンを Figure 17 に示す。各 IDM 複合体の PXRD パターンは、IDM I 型結晶や各カウンター分子とは異なるものであり、また、残留する IDM 及び各カウンター分子に由来する回折ピークは観察されなかった。また、これらの PXRD パターンは、IDM II 型結晶の PXRD パターンとも異なるものであった。以上の結果から、IDM が各カウンター分子と複合体を形成したと判断した。IDM-SAC 複合体の PXRD パターンは、既報で共結晶と報告されている PXRD パターンと同一であった⁷³⁾。

IDM 複合体の ¹H NMR スペクトルには、複合体の調製に使用した溶媒のシグナルは検出されなかったことから、これらの複合体は溶媒和物ではないことを確認した。これらの IDM 複合体の IDM と各カウンター分子の化学量論比は Table 17 に示すとおり、すべて 1:1 であった。

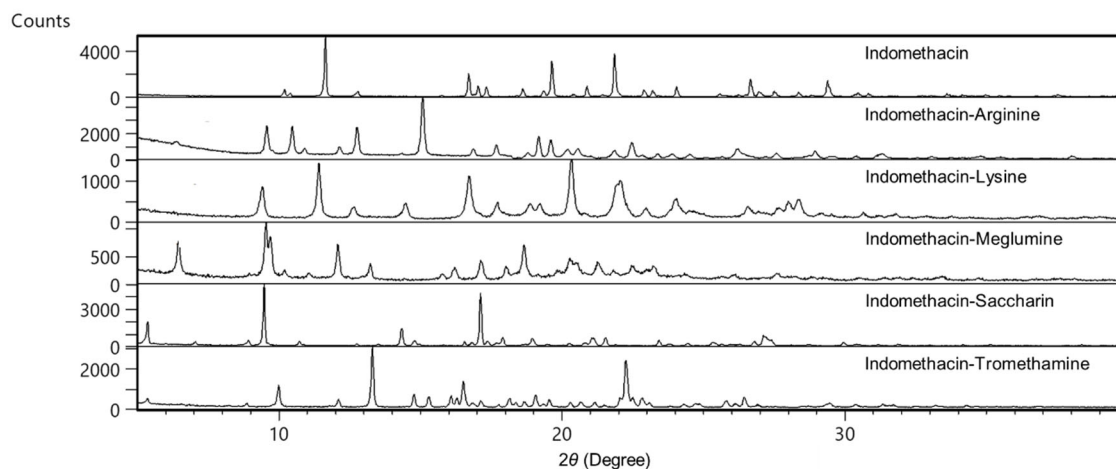


Figure 17 PXRD patterns of indomethacin complexes

Table 17 Stoichiometry of indomethacin complexes

Complex	Stoichiometry (Free base : Counter molecule)
Indomethacin-Saccharin	1:1
Indomethacin-Meglumine	1:1
Indomethacin-Arginine	1:1
Indomethacin-Lysine	1:1
Indomethacin-Tromethamine	1:1

1-3. Compound A 複合体の調製

Compound A とカウンター分子をモル比 1:1 で混合し、ethyl acetate を添加して攪拌した。40°C で 4 時間攪拌した後、溶媒を除去することにより調製した。

Compound A の PXRD パターンを Figure 18 に示す。各複合体の PXRD パターンは、Compound A とは異なるものであったことから、各カウンター分子と複合体を形成していると判断した。

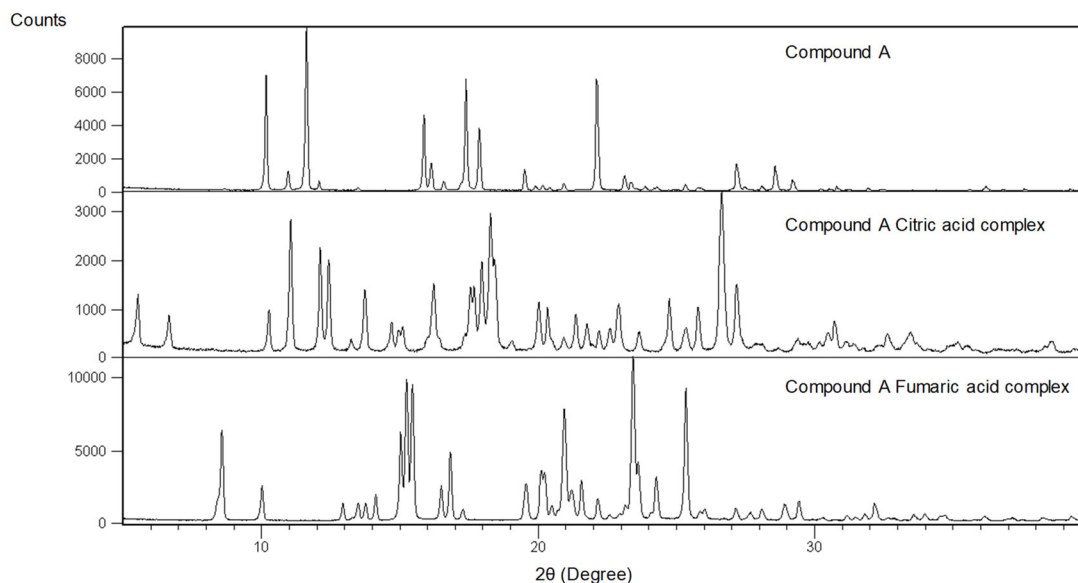


Figure 18 PXRD patterns of Compound A complexes

Compound A の複合体の ^1H NMR の結果から確認した複合体の Compound A と各カウンター分子の化学量論比を Table 18 に示す。Compound A-CA 複合体は、Compound A の 2 分子に対して CA 3 分子が、また、Compound A-FA 複合体は、Compound A の 2 分子に対して、FA 1 分子が相互作用していることが明らかとなった⁷⁴⁾。

Table 18 Stoichiometry of Compound A complexes

Complex	Stoichiometry (Free base : Counter molecule)
Compound A-Citric acid	2:3
Compound A-Fumaric acid	2:1

1-4. 粉末 X 線回折測定

粉末 X 線回折装置には、D8 ADVANCE（ブルカー・ジャパン株式会社、横浜）を使用した。測定条件は、X 線源：CuK α 、電圧 40 kV、電流：40 mA、走査速度：3.6°/min、測定角度範囲（ 2θ ）：5～40°である。

1-5. 核磁気共鳴スペクトル (^1H) 測定

核磁気共鳴スペクトル測定装置には、AV400M NMR System (ブルカー・ジャパン株式会社、横浜) を使用した。サンプル約 1~5 mg を 0.75 mL の $\text{DMSO-}d_6$ (0.03%TMS 含有) 又は $\text{methanol-}d_4$ に溶解し、外径 5 mm の測定管中、室温で測定した。測定条件は、積算回数 16~256 回、位相補正はマニュアル、ベースライン補正は全測定範囲で実施し、ケミカルシフトは内部基準として TMS を 0 ppm 又は methanol を 3.3 ppm とし、 δ 値 (ppm) で示した。

1-6. 固体核磁気共鳴スペクトル (^{15}N) の測定

核磁気共鳴スペクトル測定装置には、4 mm のスピナーを装着した 400 MR DD2 system (Agilent、CA、USA) を使用した。サンプルチューブをサンプルで満たし、室温で測定した。測定条件は、マジックアングル角試料回転速度 12 kHz、接触時間 10 msec、遅延時間 5 sec 又は 10 sec、測定時間 46 hr 又は 92 hr、位相補正はマニュアル、ベースライン補正は全測定範囲で実施し、ケミカルシフトは内部基準として $\text{glycine-}^{15}\text{N}$ を -347.5 ppm とし、 δ 値 (ppm) で示した。

1-7. 固体 UV/vis 吸収スペクトルの測定

積分球 ISR-240 (株式会社島津製作所、京都) を搭載した紫外可視分光光度計 (UV-2450、株式会社島津製作所、京都) を使用し、測定範囲 200~800 nm にて拡散反射スペクトルを測定した。吸収スペクトルは反射率を Kubelka-Munk 変換することにより得た。測定条件は barium sulfate を reference として用い、サンプリングピッチ 0.5 nm、室温で測定した。

なお、PM の固体 UV/vis 吸収スペクトルは、Table 17 に示す IDM とカウンター分子の化学量論比、並びに、Table 18 に示す Compound A とカウンター分子の化学量論比に基づき、IDM 又は Compound A と各カウンター分子の UV/vis 吸収スペクトルを加重平均することで作成した。正確なスペクトルを測定するためには、UV/vis 光が照射されるサンプル表面が均一である必要があるが、均一な物理混合物の試料面を作成することが困難であったためである。

第 2 章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた Indomethacin 結晶多形の光安定性評価

2-1. 試料

IDM、acetonitrile、trifluoroacetic acid (TFA)、tetrahydrofuran (THF)、ethanol 及び barium

sulfate は富士フイルム和光純薬工業株式会社（大阪）、並びに、toluene はナカライテスク株式会社（京都）より購入した。試験には、Milli-Q 製造装置（Merck Millipore、Darmstadt、Germany）により製造した精製水を使用した。その他の試薬・試液は特級規格のものをを使用した。

2-2. Indomethacin 結晶多形の調製

IDM II 型結晶は IDM I 型結晶を ethanol に溶かして 80°C に加温した後、水を添加して室温で静置することにより調製した。IDM III 型結晶及び IDM IV 型結晶は、IDM I 型結晶を toluene 又は THF に溶解し、80°C に加温した後、ゆっくりと室温まで温度を下げることににより調製した。

IDM 結晶多形の PXRD パターンを Figure 19 に示す。各 PXRD パターンはそれぞれ異なるものであった。IDM I 型結晶は IDM γ 結晶として報告されているものである。IDM II 型結晶は、PXRD パターンと熱分析の結果から IDM α 型結晶であることを確認した¹⁰¹⁾。

IDM III 型結晶及び IV 型結晶は、Figure 20 に示すとおり、熱分析データにおいて、調製に用いた各溶媒の除去を意味する重量減少が観察された。したがって、IDM III 型結晶及び IV 型結晶は調製に用いた各溶媒との溶媒和物であることが示唆された。熱分析の結果から、IDM III 型結晶及び IV 型結晶は IDM と各溶媒の化学量論はそれぞれおよそ 3:1 であることが明らかとなった。

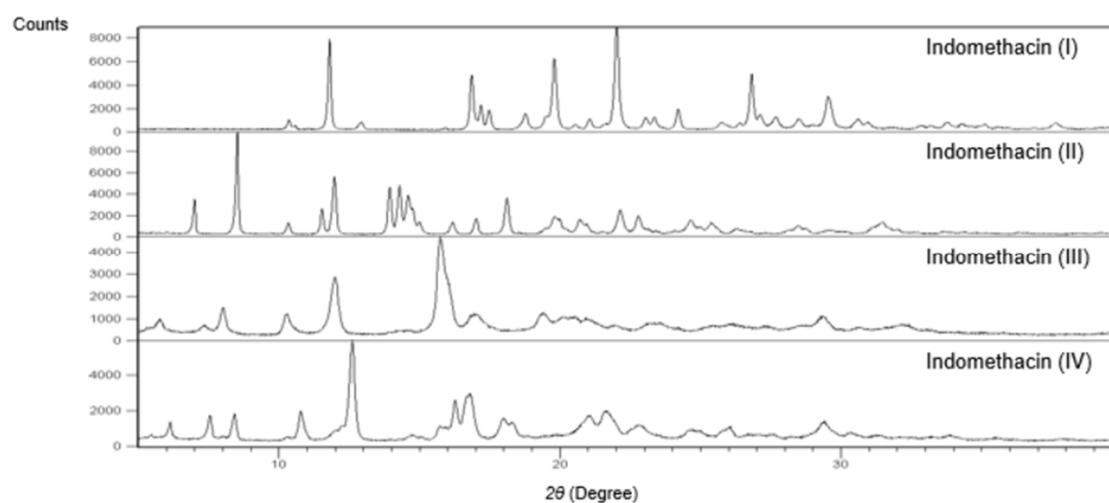


Figure 19 PXRD patterns of indomethacin crystals

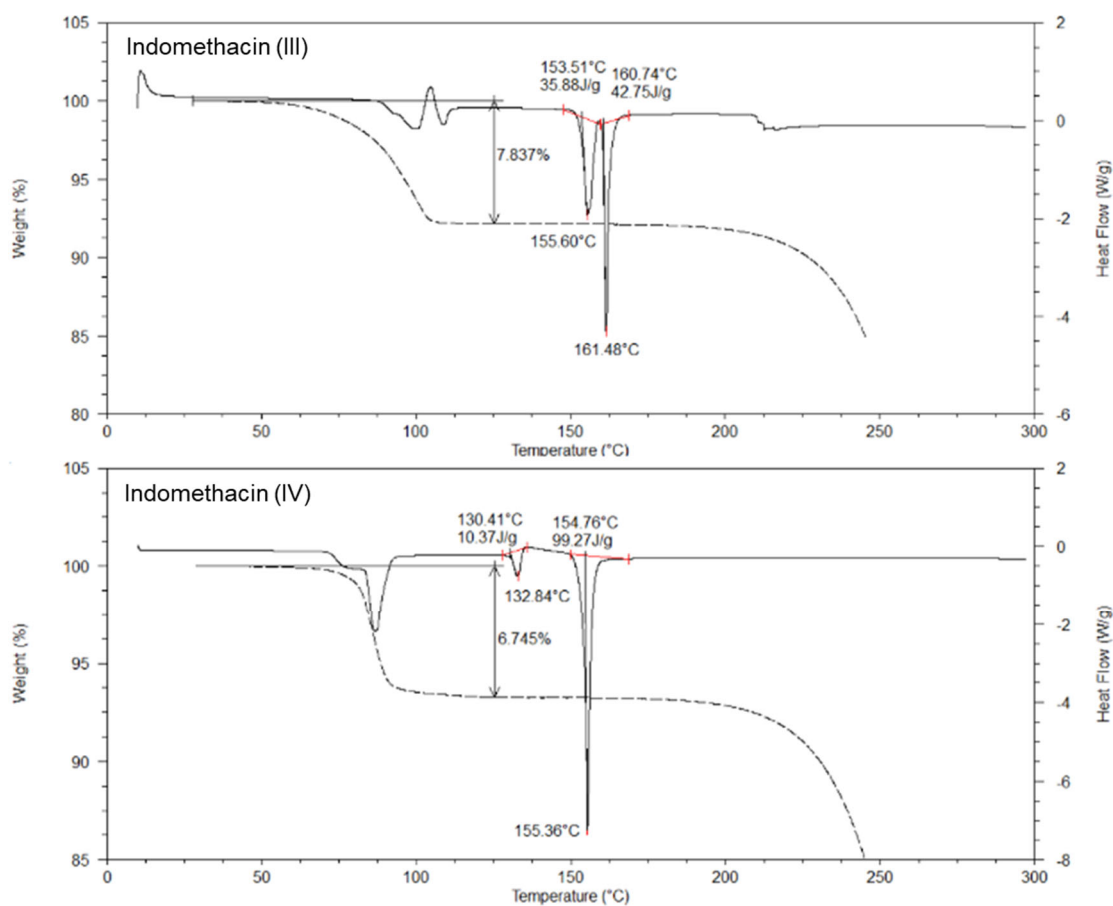


Figure 20 Thermal analysis of indomethacin (III) and indomethacin (IV)

The solid line and dash line represent heat flow (w/g) and weight (%), respectively.

2-3. 粉末 X 線回折測定

「1-4 粉末 X 線回折測定」と同様の方法で測定した。

2-4. 示差走査熱量測定

示差走査熱量測定 (Differential scanning calorimetry, DSC) には、DSC Q1000 (ティー・エイ・インスツルメント・ジャパン株式会社、東京) を使用し、昇温範囲 10~300°C、昇温速度 10°C/分にて、窒素雰囲気下で測定した。

2-5. 熱重量測定

熱重量測定 (Thermogravimetry, TG) には、TGA Q500 (ティー・エイ・インスツルメント・ジャパン株式会社、東京) を使用した。昇温範囲 室温~300°C、昇温速度 10°C/min にて、窒素雰囲気下で測定した。

2-6. 光安定性の評価

光照射装置として、D65 ランプを搭載した LT-120A-WCD（ナガノサイエンス株式会社、豊中）を用いた。シャーレ内の各化合物を 25°C で総照度が 120 万 lux・hr に達するまで光照射装置内で保存した。なお、この場合の近紫外総放射エネルギーは 200 W・h/m² 以上であった。化合物を含むシャーレ表面をアルミホイルで覆って、遮光した状態で、光照射装置内で同様の条件で保存して得た試料を比較対照とした。なお、D65 ランプは波長 300 nm 以上の光のみを放射する。波長が短く、エネルギーが高い紫外線 B 波（Ultraviolet-B, UVB、波長：280～320 nm）の光をほとんど含まないため、本検討では UVB の影響を考慮する必要はない。

2-7. 分解率の推定

高速液体クロマトグラフとして、LC-20A シリーズ（株式会社島津製作所、京都）、分析カラムとして SunFire C18（4.6 mm i.d.×75 mm, 2.5 μm、日本ウォーターズ株式会社、東京）を使用した。HPLC の条件として、カラム温度 30°C、流速 1 mL/min、注入量 5 μL、検出波長を各化合物の極大吸収波長に設定した。移動相として、(A) 0.05% TFA 水溶液及び (B) 0.05% TFA を含む acetonitrile を用いて、以下の条件でグラジエント分析を行った。それぞれの化合物の光分解率は面積百分率法で算出した。

溶媒 (B) : 10% → 70% (30 分の linear gradient)

2-8. 固体 UV/vis 吸収スペクトルの測定

「1-7 固体 UV/vis 吸収スペクトルの測定」と同様の方法で測定した。

第 3 章 固体 UV/vis 吸収スペクトルを用いた各種低分子化合物の光安定性評価：適用範囲に関する検討

3-1. 試料

AZA はメルク株式会社（東京）、TM は LKT Laboratory (St. Paul, MN, USA)、IDM、SAC、MEG、ARG、acetonitrile、TFA、THF、ethanol 及び barium sulfate は富士フイルム和光純薬工業株式会社（大阪）、LYS、FUR、SPL 及び TRIS は東京化成工業株式会社（東京）、並びに、methanol 及び toluene はナカライテスク株式会社（京都）より購入した。Compound B^{a)}、Compound C^{b)}及び Compound D^{c)}は住友ファーマ株式会社で合成したものを使用した。試験には、Milli-Q 製造装置（Merck Millipore, Darmstadt, Germany）により製造した精製水を使用した。その他の試薬・試液は特級規格のものを使用した。

- a) 6-(2-{4-[4-Bromo-3-(2-methoxyethoxy)benzyl]piperidin-1-yl}ethyl-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-one benzenesulfonate
- b) (1*R*)-1-[(2-methylpropanoyl)oxy]ethyl (3*R*)-3-[(7-methyl-3-oxo-4-[2-(propanoylamino)ethyl]-3,4-dihydrospiro[1,4-benzoxazine-2,1'-cyclobutan]-6-yl}carbonyl)(propan-2-yl)amino]piperidine-1-carboxylate
- c) 2-(2'-fluorobiphenyl-2-yl)acetamide

3-2. Indomethacin 複合体の調製

「1-2. Indomethacin 複合体の調製」と同様の方法で調製した。

3-3. Compound B の結晶多形の調製

Compound B の I 型結晶及び II 型結晶は、それぞれ acetone 及び 2-propanol 溶液から再結晶することにより調製した。

Compound B の結晶の PXRD パターンを Figure 21 に示す。それぞれの結晶は、異なる PXRD パターンを示し、結晶多形であることを確認した。熱分析の結果を Figure 22 に示す。I 型結晶は 138°C 付近に発熱ピーク及び 130°C と 144°C に吸熱ピークを、II 型結晶は 144°C 付近に吸熱ピークを示した。I 型結晶の 138°C 付近の発熱ピークは、II 型結晶への転移であると考えられた。したがって、I 型結晶が準安定形結晶、II 型結晶が安定形結晶であることが示唆された。

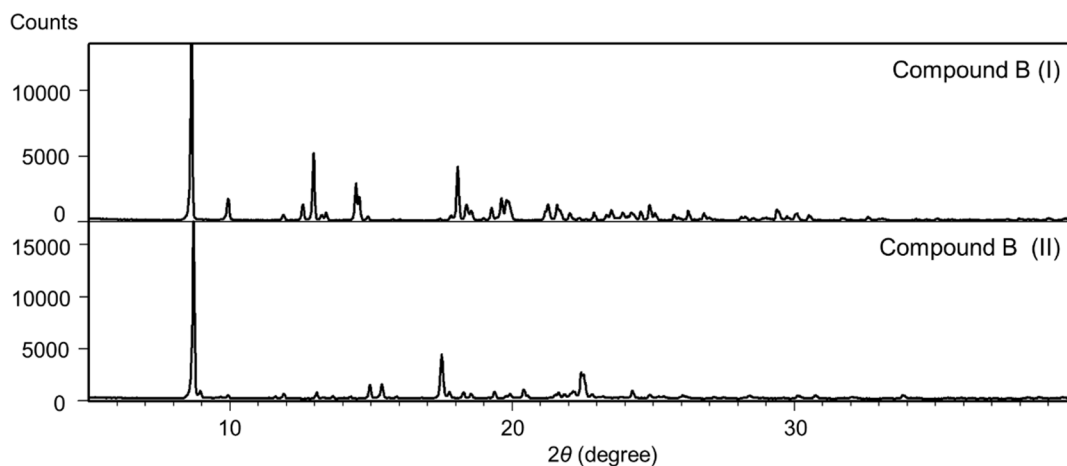


Figure 21 PXRD patterns of Compound B polymorphs

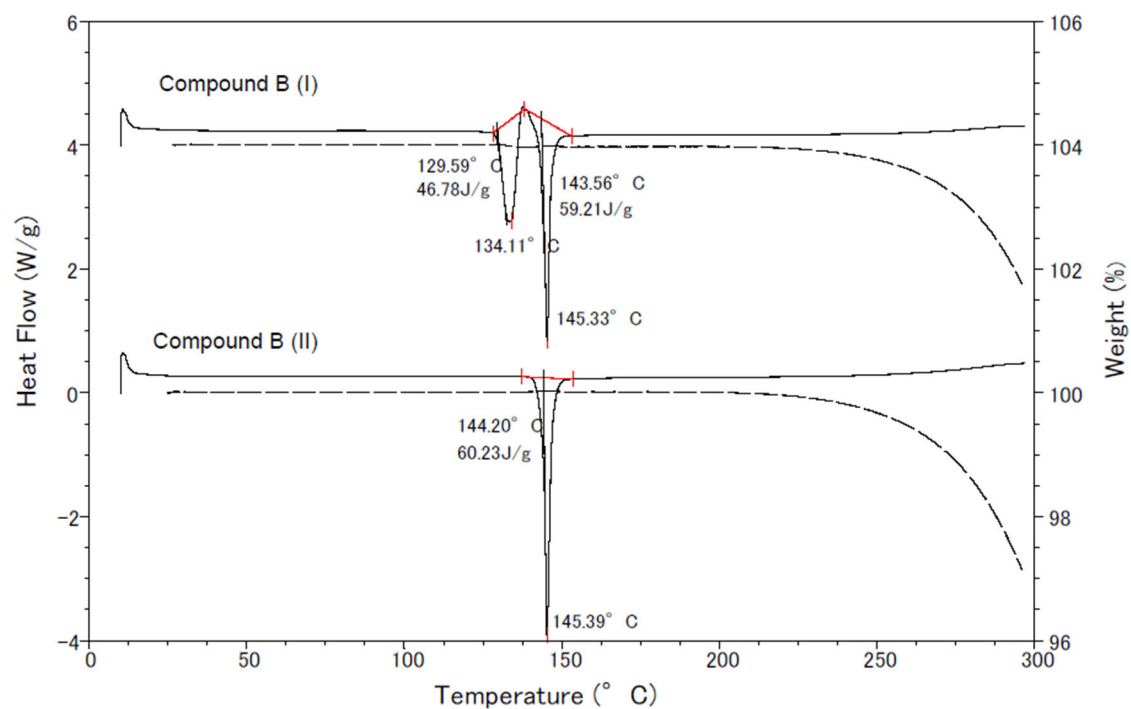


Figure 22 Thermal analysis of Compound B polymorphs

The solid line and dash line represent heat flow (w/g) and weight (%), respectively.

3-4. 粉末 X 線回折測定

「1-4 粉末 X 線回折測定」と同様の方法で測定した。

3-5. 示差走査熱量測定

「2-4 示差走査熱量測定」と同様の方法で測定した。

3-6. 熱重量測定

「2-5 熱重量測定」と同様の方法で測定した。

3-7. 光安定性の評価

「2-6 光安定性の評価」と同様の方法で測定した。

3-8. 分解率の推定

「2-7. 分解率の推定」と同様の方法で測定した。

3-9. 固体 UV/vis 吸収スペクトルの測定

「1-7 固体 UV/vis 吸収スペクトルの測定」と同様の方法で測定した。

参考文献

- 1) Gu XJ, Jiang W, Characterization of polymorphic forms of fluconazole using Fourier transform Raman-spectroscopy. *J. Pharm. Sci.*, **84**, 1438–1441 (1995).
- 2) van Hoof P, Lammers R, Puijenbroek RV, v/d Schans M, Carlier P, Kellenbach E, Polymorphism of the CNS active drug Org 13011: the application of high temperature analysis to detect new polymorphs. *Int. J. Pharm.*, **238**, 215-228 (2002).
- 3) Inoue M, Hisada H, Koide T, Carriere J, Heyler R, Fukami T, In Situ Monitoring of Crystal line Transformation of Carbamazepine Using Probe-Type Low-Frequency Raman Spectroscopy, *Org. Process Res. Dev.*, **21**, 262-265 (2017).
- 4) Helmy R, Zhou GX, ChenYW, Crocker L, Wang T, Wenslow RM, Vailaya A, Characterization and quantitation of Aprepitant drug substance polymorphs by attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Anal. Chem.*, **75**, 605-611 (2003).
- 5) Kojima T, Tsutsumi S, Yamamoto K, Ikeda Y, Moriwaki T, High-throughput cocrystal slurry screening by use of in situ Raman microscopy and multi-well plate. *Int. J. Pharm.*, **399**, 52–59 (2010).
- 6) Pauli FG, Chen S, Simmler C, Lankin CD, Gödecke T, Jaki UB, Friesen BJ, McAlpine BJ, Napolitano GJ, Importance of Purity Evaluation and the Potential of Quantitative ¹H NMR as a Purity Assay. *J. Med. Chem.*, **57**, 9220-9231 (2014).
- 7) Koike R, Jo S, Azuma M, Wakisaka T, Precise and rapid determination of amphoteric and nonionic surfactants by ¹H nuclear magnetic resonance using an internal standard. *Bunseki Kagaku*, **53**, 1133-1138 (2004).
- 8) Yamazaki T, Ohtsuki T, Miura T, Suematsu T, Horinouchi T, Murakami M, Saito T, Ihara T, Tada A, Tahara M, Goda Y, Akiyama H, Nakao S, Yamada Y, Koike R, Sugimoto N, Study if sample preparation method using internal standard solution to accurate quantitative analysis with ¹H NMR spectroscopy. *Bunseki Kagaku*, **63**, 323-329 (2014).
- 9) Schoenberger T, Determination of standard sample purity using the high-precision ¹H-NMR process. *Anal. Bioanal. Chem.*, **403**, 247-254 (2012).
- 10) Watanabe R, Sugai C, Yamazaki T, Matsushima R, Uchida H, Matsumiya M, Takatsu A, Suzuki T, Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Based on PULCON Methodology:

- Application to Quantification of Invaluable Marine Toxin, Okadaic Acid. *Toxins*, **8**, 294 (2016).
- 11) Bezençon J, Wittwer MB, Cutting B, Smieško M, Wagner B, Kansy M, Ernst B, pKa determination by ^1H NMR spectroscopy—An old methodology revisited, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **93**, 147–155 (2014).
 - 12) Vickery RD, Nemeth GA, Maurin MB, Solid-state carbon NMR characterization of the polymorphs of roxifiban. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30**, 125-129 (2002).
 - 13) Tozuka Y, Ito A, Seki H, Oguchi T, Yamamoto K, Characterization and quantitation of clarithromycin polymorphs by powder X-ray diffractometry and solid-state NMR spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1128-1130 (2002).
 - 14) Masuda K, Tabata S, Kono H, Sakata Y, Hayase T, Yonemochi E, Terada K, Solid-state ^{13}C NMR study of indomethacin polymorphism. *Int. J. Pharm.*, **318**, 146-153 (2006).
 - 15) Li ZJ, Abramov Y, Bordner J, Leonard J, Medek A, Trask AV, Solid-State Acid–Base Interactions in Complexes of Heterocyclic Bases with Dicarboxylic Acids: Crystallography, Hydrogen Bond Analysis, and ^{15}N NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 8199-8210 (2006).
 - 16) Terakita A, Matsunaga H, Ueda T, Eguchi T, Echigoya M, Uemoto K, Godo M, Investigation of intermolecular interaction in molecular complex of tryptamine and benzoic acid by solid-state 2D NMR. *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 546-551 (2004).
 - 17) Schneider H, Hacker F, Rüdiger V, Ikeda H, NMR Studies of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. *Chem. Rev.*, **98**, 1755-1786 (1998).
 - 18) Ueda H, Wakabayashi S, Kikuchi J, Ida Y, Kadota K, Tozuka Y, Anomalous role change of tertiary amino and ester groups as hydrogen acceptors in eudragit E based solid dispersion depending on the concentration of naproxen. *Mol. Pharm.*, **12**, 1050-1061 (2015).
 - 19) Aakeroy CB, Forbes S, Desper J, Using Cocrystals To Systematically Modulate Aqueous Solubility and Melting Behavior of an Anticancer Drug. *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 17048-17049 (2009).
 - 20) Remenar JF, Morissette SL, Peterson ML, Moulton B, MacPhee JM, Guzman HR, Almarsson O., Crystal Engineering of Novel Cocrystals of a Triazole Drug with 1,4-Dicarboxylic Acids. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 8456–8457 (2003).
 - 21) Good DJ, Rodriguez-Hornedo N, Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals. *Cryst.*

- Growth Des.*, **9**, 2252–2264 (2009).
- 22) Trask AV, Motherwell WD, Jones W, Physical stability enhancement of theophylline via cocrystallization. *Int. J. Pharm.*, **320**, 114–123 (2006).
 - 23) Trask AV, Motherwell WD, Jones W, Pharmaceutical Cocrystallization: Engineering a Remedy for Caffeine Hydration. *Cryst. Growth Des.*, **5**, 1013–1021 (2005).
 - 24) Karki S, Friscic T, Fabian L, Laity PR, Day GM, Jones W, Improving Mechanical Properties of Crystalline Solids by Cocrystal Formation: New Compressible Forms of Paracetamol. *Adv. Mater.*, **21**, 3905–3909 (2009).
 - 25) Sun CC, Hou H, Improving Mechanical Properties of Caffeine and Methyl Gallate Crystals by Cocrystallization. *Cryst. Growth Des.*, **8**, 1575–1579 (2008).
 - 26) McNamara DP, Childs SL, Giordano J, Iarriccio A, Cassidy J, Shet MS, Mannion R, O'Donnell E, Park A, Use of a Glutaric Acid Cocrystal to Improve Oral Bioavailability of a Low Solubility API. *Pharm. Res.*, **23**, 1888–1897 (2006).
 - 27) Hickey MB, Peterson ML, Scoppettuolo LA, Morrisette SL, Vetter A, Guzmán H, Remenar JF, Zhang Z, Tawa MD, Haley S, Zaworotko MJ, Almarsson Ö, Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **67**, 112–119 (2007).
 - 28) Sekhon BS, Pharmaceutical co-crystals - a review. *Ars Pharm.*, **50**, 99–117 (2009).
 - 29) Yamashita H, Sun CC, Improving Dissolution Rate of Carbamazepine-Glutaric Acid Cocrystal Through Solubilization by Excess Coformer. *Pharm. Res.*, **35**: 4 (2018).
 - 30) Yoshimura M, Miyake M, Kawato T, Bando M, Toda M, Kato Y, Fukami T, Ozeki T, Impact of the Dissolution Profile of the Cilostazol Cocrystal with Supersaturation on the Oral Bioavailability. *Cryst. Growth Des.*, **17**, 550–557 (2017).
 - 31) Du JJ, Lai F, Váradi L, Williams PA, Groundwater PW, Platts JA, Hibbs DE, Overgaard J, Monoclinic Paracetamol vs. Paracetamol-4,4'-Bipyridine Co-Crystal; What Is the Difference? A Charge Density Study. *Crystals*, **8**, 46 (2018).
 - 32) Ranjan S, Devarapalli R, Kundu S, Vangala VR, Ghosh A, Reddy CM, Three new hydrochlorothiazide cocrystals: Structural analyses and solubility studies. *J. Mol. Struct.*, **1133**, 405–410 (2017).
 - 33) Thakuria R, Delori A, Jones W, Lipert MP, Roy L, Rodriguez-Hornedo N, Pharmaceutical

- cocrystals and poorly soluble drugs. *Int. J. Pharm.*, **453**, 101-125 (2013).
- 34) Bavishi DD, Borkhataria CH, Spring and parachute: How cocrystals enhance solubility. *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.*, **62**, 1-8 (2016).
 - 35) Wang ZZ, Chen JM, Lu TB, Enhancing the Hygroscopic Stability of *S*-Oxiracetam via Pharmaceutical Cocrystals. *Cryst. Growth Des.*, **12**, 4562-4566 (2012).
 - 36) Guidance for industry: Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals, Food and Drug Administration, February 2018.
<https://www.fda.gov/files/drugs/published/Regulatory-Classification-of-Pharmaceutical-Co-Crystals.pdf>
 - 37) Reflection paper on the use of cocrystals and other solid-state forms of active substances in medicinal products, European Medicines Agency, February 2015.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-use-cocrystals-active-substances-medicinal-products_en.pdf
 - 38) Benet LZ, Broccatelli F, Oprea TI, BDDCS Applied to Over 900 Drugs. *The AAPS Journal*, **13**, 519-547 (2011).
 - 39) Faller B, Ottaviani G, Ertl P, Berellini G, Collis A, Evolution of the physicochemical properties of marketed drugs : can history foretell the future?, *Drug Discov. Today*, **16**, 976-984 (2011).
 - 40) Kumer L, Amin A, Bansal AK, Salt selection in drug development. *Pharmaceutical Technology* March 2, 2008
 - 41) Rocheleau MJ, Analytical Methods for Determination of Counter-ions in Pharmaceutical Salts. *Curr. Pharm. Anal.*, **4**, 25-32 (2008).
 - 42) Stahl PH, Wermuth CG ed., “Handbook of pharmaceutical salts: properties, selection, and use,” International Union of Pure and Applied Chemistry, VHCA; Wiley-VCH, New York, 2002.
 - 43) Bighley LD, Berge SM, Monkhouse DC, “Salt forms of drugs and absorption. In Encyclopedia of Pharmaceutical Technology,” Vol. 13; ed. By Swarbrick J, Boylan JC, Marcel Dekker Inc., New York, 1996, pp. 453-499.
 - 44) Gu CH, Grant DJW, “Handbook of Experimental Pharmacology: Stereochemical Aspects of Drug Action and Disposition, ed. By Eichelbaum M, Testa B, Somogyi A, Springer, Berlin, 2003.
 - 45) Putra OD, Yonemochi E, Uekusa H, Isostructural Multicomponent Gliclazide Crystals with

- Improved Solubility. *Cryst. Growth Des.*, **16**, 6568–6573 (2016).
- 46) Aakeröy CB, Fasulo ME, Desper J, Cocrystal or Salt: Does It Really Matter? *Mol. Pharm.*, **4**, 317-322 (2007).
 - 47) Molecules from the “generally regarded as safe” GRAS list, pharmaceutical excipients, amino acids, food additives.
 - 48) Vishweshwar P, McMahon JA, Bis JA, Zaworotko MJ, Pharmaceutical Co-Crystals. *J. Pharm. Sci.*, **95**, 499-516 (2006).
 - 49) Meanwell NA, Chapter 22 - The Emerging Utility of Co-Crystals in Drug Discovery and Development. *Annu. Rep. Med. Chem.*, **43**, 373-404 (2008).
 - 50) Schultheiss N, Newman A, Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. *Cryst. Growth Des.*, **9**, 2950–2967 (2009).
 - 51) Duggirala NK, Perry ML, Almarsson Ö, Zaworotko MJ, Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. *Chem. Comm.*, **52**, 640–655 (2016).
 - 52) Évora AOL, Castro RAE, Maria TMR, Rosado MTS, Silva MR, Beja AM, Canotilho J, Eusébio MES, Pyrazinamide-diflunisal: a new dual-drug co-crystal. *Cryst. Growth Des.*, **11**, 4780–4788 (2011).
 - 53) Jiang L, Huang Y, Zhang Q, He H, Xu Y, Mei X, Preparation and solid-state characterization of dapsone drug-drug co-crystals. *Cryst. Growth Des.*, **14**, 4562–4573 (2014).
 - 54) Grobelny P, Mukherjee A, Desiraju GR, Drug-drug co-crystals: temperature-dependent proton mobility in the molecular complex of isoniazid with 4-aminosalicylic acid. *Cryst. Eng. Comm.*, **13**, 4358–4364 (2011).
 - 55) Tahara A, Kurosaki E, Yokono M, Yamajuku D, Kihara R, Hayashizaki Y, Takasu T, Imamura M, Qun L, Tomiyama H, Kobayashi Y, Noda A, Sasamata M, Shibasaki M, Pharmacological profile of ipragliflozin (ASP1941), a novel selective SGLT2 inhibitor, in vitro and in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **385**, 423-436 (2012).
 - 56) Malamataris M, Ross SA, Douroumis D, Velaga SP, Experimental cocrystal screening and solution based scale-up cocrystallization methods. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **117**, 162-177 (2017).
 - 57) Guidance for industry: Regulatory classification of pharmaceutical co-crystals, Food and Drug Administration, April 2013.

<https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2013-04-26/pdf/2013-09872.pdf>

- 58) Desiraju GR, Crystal and co-crystal. *Cryst. Eng. Comm.*, **5**, 466–467 (2003).
- 59) Dunitz JD, Crystal and co-crystal: a second opinion. *Cryst. Eng. Comm.*, **5**, 506 (2003).
- 60) Aakeröy CB, Salmon DJ, Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility. *Cryst. Eng. Comm.*, **7**, 439–448 (2005).
- 61) Jones W, Motherwell S, Trask AV, Diversity in Single- and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals. *Mrs. Bull.*, **31**, 875-879 (2006).
- 62) Stahly GP, Diversity in Single- and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals. *Cryst. Growth. Des.*, **7**, 1007-1026 (2007).
- 63) Huang KS, Britton D, Etter MC, Byrn SR, A novel class of phenol–pyridine co-crystals for second harmonic generation. *J. Mater. Chem.*, **7**, 713-720 (1997).
- 64) Smith M, March J, March J, “March’s advanced organic chemistry: reactions mechanisms and structure,” 5th ed., J. Wiley, New York, 2001.
- 65) Bhogala BR, Basavoju S, Nangia A, Tape and layer structures in cocrystals of some di- and tricarboxylic acids with 4,4’-bipyridines and isonicotinamide. From binary to ternary cocrystals. *Cryst. Eng. Comm.*, **7**, 551-562(2005).
- 66) Putra OD, Yoshida T, Umeda D, Higashi K, Uekusa H, Yonemochi E, Crystal Structure Determination of Dimenhydrinate after More than 60 Years: Solving Salt–Cocrystal Ambiguity via Solid-State Characterizations and Solubility Study. *Cryst. Growth Des.*, **16**, 5223–5229 (2016).
- 67) Putra OD, Yoshida T, Umeda D, Gunji M, Uekusa H, Yonemochi E, Crystallographic Analysis of Phase Dissociation Related to Anomalous Solubility of Irsogladine Maleate. *Cryst. Growth Des.*, **16**, 6714–6718 (2016).
- 68) Umeda Y, Fukami T, Furuishi T, Suzuki T, Tanjoh K, Tomono K, Characterization of multicomponent crystal formed between indomethacin and lidocaine. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **35**, 843-851 (2009).
- 69) Alhalaweh A, Roy L, Rodriguez-Homedeo N, Velaga SP, pH-dependent solubility of indomethacin-saccharin and carbamazepine-saccharin cocrystals in aqueous media. *Mol. Pharmaceutics*, **9**, 2605–2612 (2012).
- 70) Handbook of Pharmaceutical Salts, 334 and 342.
- 71) Auer BM, Skinner JL, IR and Raman spectra of liquid water: Theory and interpretation. *J.*

- Chem. Phys.*, **128**, 224511 (2008).
- 72) Gruenbaum SM, Tainter CJ, Shi L, Ni Y, Skinner JL, Robustness of Frequency, Transition Dipole, and Coupling Maps for Water Vibrational Spectroscopy. *J. Chem. Theory Comput.*, **9**, 3109-3117 (2013).
 - 73) Basavoju S, Bostrom D, Velaga SP, Indomethacin–Saccharin Cocrystal: Design, Synthesis and Preliminary Pharmaceutical Characterization. *Pharm. Res.*, **25**, 530-541 (2008).
 - 74) 片岡直美、石川淳一、新規ベンズイミダゾール化合物、特開 2016-94367、2016.5.26
 - 75) Yamashita H, Hirakura Y, Yuda M, Terada K, Coformer Screening Using Thermal Analysis Based on Binary Phase Diagrams. *Pharm. Res.*, **31**, 1946–1957 (2014).
 - 76) ICH Harmonised tripartite guideline Q1A (R2), “Stability testing of new drug substance and products”, February, 2003.
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf>
 - 77) ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1E, “Evaluation for Stability Data”, February, 2003.
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q1E%20Guideline.pdf>
 - 78) Waterman KC, The application of the Accelerated Stability Assessment Program (ASAP) to quality by design (QbD) for drug product stability. *AAPS PharmSciTech.*, **12**, 932-937 (2011).
 - 79) ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1B, “Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products”, November, 1996.
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q1B%20Guideline.pdf>
 - 80) ICH Harmonised tripartite guideline S10, “Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals”, November 2013.
https://database.ich.org/sites/default/files/S10_Guideline.pdf
 - 81) Gwak HS, Choi JS, Choi HK, Enhanced bioavailability of piroxicam via salt formation with ethanolamines. *Int. J. Pharm.*, **297**, 156-161 (2005).
 - 82) Kojima T, Onoue S, Katoh F, Teraoka R, Matsuda Y, Kitagawa S, Tsuhako M, Effect of spectroscopic properties on photostability of tamoxifen citrate polymorphs. *Int. J. Pharm.*, **336**, 346-351 (2007).
 - 83) Otsuka M, Hasegawa H, Matsuda Y, Effect of Polymorphic Transformation During the Extrusion-Granulation Process on the Pharmaceutical Properties of Carbamazepine Granules. *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 894-898 (1997).

- 84) Kitamura M, Strategy for control of crystallization of polymorphs. *Cryst. Eng. Comm.*, **11**, 949-964 (2009).
- 85) Teraoka R, Fukami T, Furuishi T, Nagase H, Ueda H, Tode C, Yutani R, Kitagawa S, Sakane T, Improving the Solid-State Photostability of Furosemide by Its Cocrystal Formation. *Chem. Pharm. Bull.*, **67**, 940-944 (2019).
- 86) Yutani R, Haku R, Teraoka R, Tode C, Koide T, Kitagawa S, Sakane T, Fukami T, Comparative Evaluation of the Photostability of Carbamazepine Polymorphs and Cocrystals. *Crystals*, **9**, 553 (2019).
- 87) Matsuda Y, Akazawa R, Teraoka R, Otsuka M, Pharmaceutical Evaluation of Carbamazepine Modifications: Comparative Study for Photostability of Carbamazepine Polymorphs by using Fourier-transformed Reflection-absorption Infrared Spectroscopy and Colorimetric Measurement. *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**, 162-167 (1994).
- 88) Majeed IA, Murray WJ, Newton DW, Othman S, Al-Turk WA, Spectrophotometric study of the photodecomposition kinetics of nifedipine. *J. Pharm. Pharmacol.*, **39**, 1044-1046 (1987).
- 89) Thoma K, Klimek R, Untersuchungen zur Photoin-stabilität von Nifedipin. 2. Mitt. Einfluss von Milieubedingungen. *Pharm. Ind.*, **47**, 319-327 (1985).
- 90) Sadana GS, Ghogare AB, Mechanistic studies on photolytic degradation of nifedipine by use of ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectroscopy. *Int. J. Pharm.*, **70**, 195-199 (1991).
- 91) Wright GE, Tang TY, Photooxidation of reserpine. *J. Pharm. Sci.*, **61**, 299-300 (1972).
- 92) Bonferoni MC, Mellerio G, Giunchedi P, Caramella C, Conte U, Photostability evaluation of nifedipine · HCl solutions. *Int. J. Pharm.*, **80**, 109-117 (1992).
- 93) Zanolli AL, Diaz L, Lopez M, Nunez-Vergara LJ, Squella JA, Polarographic Study of the Photodecomposition of Nimodipine. *J. Pharm. Sci.*, **81**, 920-924 (1992).
- 94) Bosca F, Miranda MA, Vargas F, Photochemistry of tiaprofenic acid. A nonsteroidal anti inflammatory drug with phototoxic side effects, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 181-182 (1992)
- 95) Cornelissen PJG, Henegouwen GMJB, Photochemical decomposition of 1,4-benzodiazepines. *Pharm. Weekbl. Sci.*, **2**, 547-556 (1980).
- 96) Yagi N, Kenmotsu H, Sekikawa H, Takada M, Studies on the photolysis and hydrolysis of furosemide in aqueous solution. *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 454-457 (1991).
- 97) Tonnesen HH, Moore DE, Photochemical stability of biologically active compounds. III

- Mefloquine as a photosensitizer. *Int. J. Pharm.*, **70**, 95-101 (1995).
- 98) Philip J, Szulczewski DH, Photolytic decomposition of *N*-(2,6-dichloro-*m*-tolyl)anthranilic acid. (meclofenamic acid) *J. Pharm. Sci.*, **62**, 1479-1482 (1973).
- 99) Nord K, Karlsen J, Tønnesen HH, Photochemical stability of biologically active compounds. IV. Photochemical degradation of chloroquine. *Int. J. Pharm.*, **72**, 11-18 (1991).
- 100) Kristensen S, Grislingaas A, Greenhill JV, Skjetne T, Karlsen J, Tønnesen HH, Photochemical stability of biologically active compounds: V. Photochemical degradation of primaquine in an aqueous medium. *Int. J. Pharm.*, **100**, 15-23 (1993).
- 101) Kaneniwa N, Otsuka M, Hayashi T, Physicochemical Characterization of Indomethacin Polymorphs and the Transformation Kinetics in Ethanol. *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3447-3455 (1985).