



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士(ナノメディシン科学)
報告番号	甲第1536号
学位記番号	第312号
氏名	大塚 正史
授与年月日	平成 28年 3月 23日
学位論文の題名	エホニジピン塩酸エタノール付加物の物性並びにその溶解性改善に関する研究
論文審査担当者	主査： 松永 民秀 副査： 尾関 哲也, 山中 淳平, 田中 俊樹 (名古屋工業大学)

名古屋市立大学学位論文

エホニジピン塩酸塩エタノール付加物の物性
並びにその溶解性改善に関する研究

2016年3月

大学院薬学研究科・博士後期課程
共同ナノメディシン科学 専攻
学籍番号：132851 大塚 正史

本論文は、2016年3月 名古屋市立大学大学院薬学研究科において審査されたものである。

主査

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 臨床薬学分野

松永 民秀 教授

副査

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 薬学送達学分野

尾関 哲也 教授

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 コロイド・高分子物性学分野

山中 淳平 教授

名古屋工業大学 生命・物質工学科 物質工学専攻 生命機能分野

田中 俊樹 教授

本論文は、学情情報雑誌に掲載された次の報文を基礎とするものである。

Otsuka M., Maeno Y., Fukami T., Inoue M., Tagami T., Ozeki T.

Developmental considerations for ethanولات with regard to stability and physicochemical characterization of efonidipine hydrochloride ethanolate

Cryst Eng Comm, **17**, 7430-7436 (2015)

Otsuka M., Maeno Y., Fukami T., Inoue M., Tagami T., Ozeki T.

Solid dispersions of efonidipine hydrochloride ethanolate with improved physicochemical and pharmacokinetic properties prepared with microwave treatment

in submission

本論文の基礎となる研究は、名古屋市立大学 大学院薬学研究科 薬学送達学分野 尾関 哲也 教授の指導の下に名古屋市立大学大学院薬学研究科において行われた。

目次

目次.....	3
1. 諸言.....	4
2. エホニジピン塩酸塩エタノール付加物の物理化学的性質の解明に関する研究.....	9
2.1 本研究の目的.....	9
2.2 試料および実験方法.....	10
2.3 結果と考察.....	13
2.4 小括.....	24
3. 簡便な固体分散体の調製方法（マイクロウェーブ法）の確立に関する研究.....	26
3.1 本研究の目的.....	26
3.2 試料および実験方法.....	26
3.3 結果と考察.....	29
3.4 小括.....	36
4. 3成分系固体分散体の生成メカニズムの解明.....	38
4.1 本研究の目的.....	38
4.2 試料および実験方法.....	38
4.3 結果と考察.....	40
4.4 小括.....	44
5. 結語.....	46
6. 参考文献.....	47
7. 基礎となる報文.....	51
8. 謝辞.....	52
9. 参考情報.....	52
9.1 単結晶 X 線構造解析.....	53
9.2 二次元 NMR 帰属.....	67

1. 諸言

医薬品原薬の固体状態のキャラクタリゼーション（最適な原薬形態の選定やその物理化学的性質の把握）は、医薬品の開発を進める上で極めて重要な役割を果たしている¹⁾。すなわち、結晶性、熱的特性、溶解性および安定性等は、医薬品の物理化学的特性と薬学的特性(bioavailability等)を密接に結び付ける必要不可欠な情報である²⁻⁶⁾。したがって、これらを詳細に把握することは、堅牢な原薬・製剤の設計、製造、並びに、それらの恒常的な品質管理の実現に繋がる⁷⁻⁹⁾。

一般的な有機化合物の医薬品原薬は、製造条件や環境により、フリー、溶媒和物（水和物含む）、非晶質、塩、コクリスタルおよび多形等の様々な結晶の形態をとることが知られている¹⁰⁻¹³⁾（図 1）。

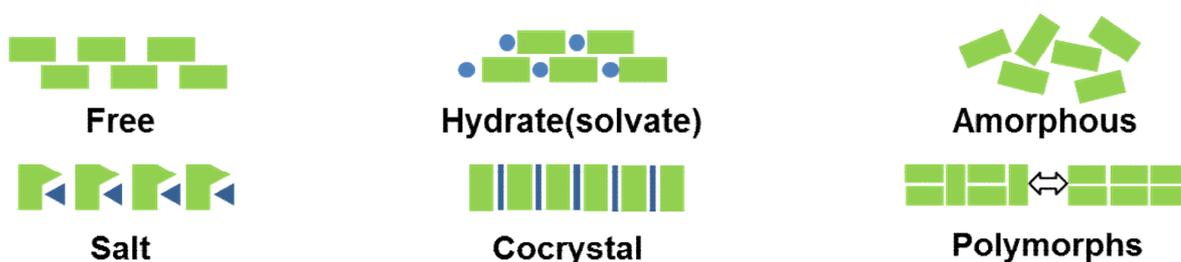


図 1 医薬品開発における原薬の結晶形態

Griesser らは、European Pharmacopeia (EP) に収載されている 806 の化合物のうち 57%に、多形、水和物、溶媒和物が存在しており、その中の溶媒和物の比率は、10%程度であると報告している。さらに和物のみに着目すると塩を伴う溶媒和物は、その他の結晶形態の和物と比較して非常に少ない¹⁴⁾（図 2）。

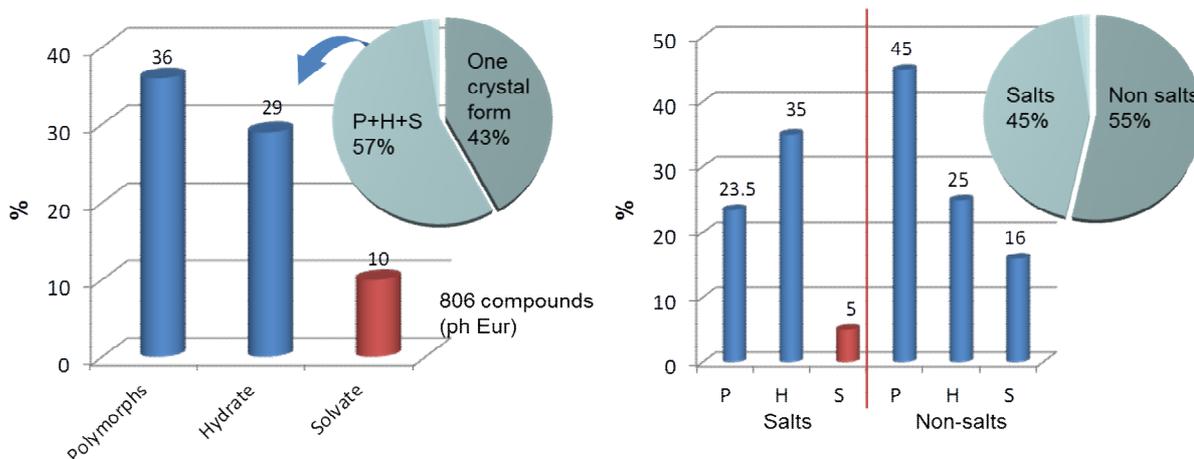


図 2 EP 収載品における原薬の結晶形態の状況

通常、和物を医薬品の原薬として開発を進める場合、安定な結晶を維持できる水和物を選択することが多い。有機溶媒を含む和物を選択しない主な理由として、(i) 温度環境や化合物近傍の分圧により付加する溶媒の量が変動し、一定品質を保つことが難しいこと、(ii) 溶媒和物を構成する溶媒の毒性リスクを考慮する必要があること等があげられる¹⁵⁾。したがって、溶媒和物の物理化学的な特性の解明は、今後の原薬の結晶形態の選択の幅を広げ、医薬品開発の進展に大きく貢献することが期待される。

また、Amidon らは、化合物の水への溶解性および消化管への膜透過性を基とする生物薬剤学分類システム (Biopharmaceutical Classification System: BCS) によって医薬品の原薬を 4 つに分類している (Class I, II, III 及び IV)^{16,17)} (図 3)。

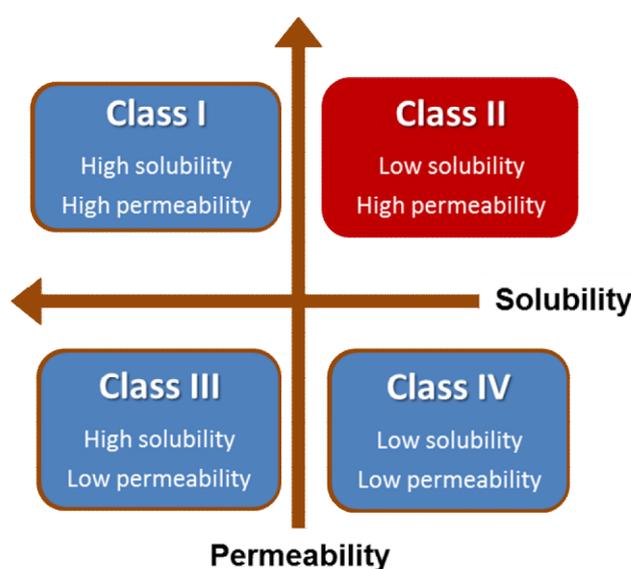


図 3 Biopharmaceutical Classification system: BCS

Class II の原薬は、相対的に低い溶解性と高い膜透過性を有しており、昨今の創薬段階における開発の候補化合物として頻繁に遭遇する^{18,19)}。一般に、溶解速度が低い薬物は、その溶出プロファイルが経口吸収に影響するため、生体への曝露量の低下やばらつきの原因となり得る。また、食事による胆汁成分の可溶化効果により、薬効および副作用発現の強弱も想定しなければならない²⁰⁾。したがって、これらの課題を解決するためには、溶解速度を向上させる製剤技術の開発が必須である。

これまでに溶解性を改善する技術として、微粒子化^{21,22)}、ナノクリスタル^{23,24)}、シクロデキストリンとの複合体^{25,26)}、様々な油脂、界面活性剤を用いた自己乳化^{27,28)}および固体分散体²⁹⁻³³⁾等が知られている。特に、固体分散体による溶解性改善は、比較的簡便に調製できることから現在も盛んに研究されており、医薬品の製剤として実用化されている例も多数知られている。その実生産においては、溶媒留去法が採用されており、必然的に多量の有機溶媒を用いることによる環境への負荷が問題視されて

いることから、新たな調製方法の開発が望まれている。

マイクロ波（以下 MW）は、一般的に 1 GHz 程度の電磁波を指している（図 4）。

波長		呼称		用途	
100	10pm	電離放射線	ガンマー線	医療・材料検査	
10	100		エックス線	医療・材料検査	
1 EHz	1nm	光	紫外線	殺菌灯・電子デバイス製造装置	
100	10		可視光線	赤外線コタツ	
10	100		赤外線		
1 PHz	1 μm		遠赤外線		
100	10	非電離放射線	サブミリ波	レーザー	
10	1mm		EHF ミリ波		マイクロ波
100	10		SHF センチ波		
10	100		UHF 極超短波	テレビ・携帯電話・電子レンジ	
1 GHz	1m		VHF 超短波	FMラジオ	
100	10		HF 短波	短波ラジオ	
10	100		MF 中波	AMラジオ	
1 MHz	1km		LF 長波	船舶 航空機用通信・IH調理器	
100	10		VLF 極長波	50/60Hz 高圧送電線 家庭電化製品 (電気コタツ・ドライヤー……)	
10	100		ELF 極超長波		
1 kHz	10 ³ km		電波	ULF	生体現象・地震震源域
100	10 ⁴ km				
10	10 ⁵ km				
1 Hz	10 ⁶ km				

図 4 電磁波の応用と分類

出典：マイクロ電子株式会社ホームページ：<http://www.microdenshi.co.jp/microwave/>

MW は、その照射によって分子内の永久双極子モーメントを振動させることにより発熱をもたらす、一般的に物質の透過性に優れ、物質を均質に加熱できる特徴を持っている³⁴⁾。近年、MW 技術を用いた加熱乾燥は、材料や食品加工分野のみならず、化学工業の分野でも幅広く利用されている³⁵⁾。実際、本技術は、従来法（例えば、赤外線を用いた加熱方法）と比較して、熱伝導、熱放射および対流が異なることから多くの利点を有している。すなわち、溶液を急速に加熱できること、浸透により内部から加熱できること、選択的な加熱ができること、均一に加熱ができること、省エネルギー

一であること, 低いランニングコストであること, その上, 有機溶剤を使わないため, 残留溶媒のリスクが低いことが挙げられる³⁶⁻³⁸⁾ (図 5) .

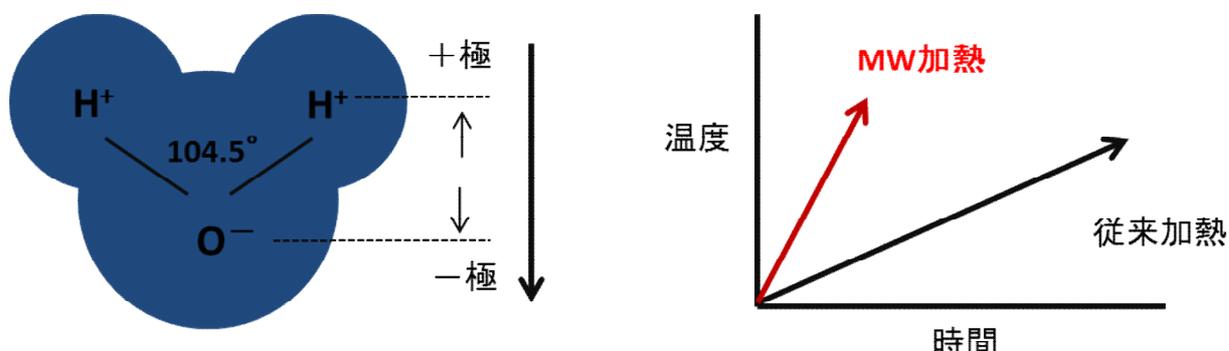


図 5 水分子の構造と永久双極子のイメージ (左) , 加熱時間の比較 (右)

エホニジピン塩酸塩エタノール付加物 : (±)-2-[Benzyl(phenyl)amino]ethyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-5-(5,5-dimethyl-2-oxo-1,3,2-dioxaphosphorinan-2-yl)-4-(3-nitrophenyl)-3-pyridine-carboxylate hydrochloride ethanol (以下 NZ-105) は, 日産化学工業株式会社で見出されたホスホン酸骨格を有するジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬である³⁹⁻⁴¹⁾. 本原薬を有効成分とする製剤は, 既に日本においてフィルムコーティング錠の「Landel®」としてゼリア新薬および塩野義製薬から販売されている. NZ-105 は, 既存の Ca 拮抗剤と比較して作用発現は緩徐で, しかも作用時間が長いという特徴を有している. その化学構造は, 特徴的で塩化物イオンとエタノール分子がエホニジピン分子と当モル付加した溶媒和物であり, 先に上述したとおり医薬品の中でも非常に数少ない事例である. また, 水への溶解度は, 液性に関係なく 0.1 mg/mL 以下であり, 難水溶性薬物に分類され, その溶解性を改善し, 経口 bioavailability の向上が必要な原薬である (図 6, 表 1) .

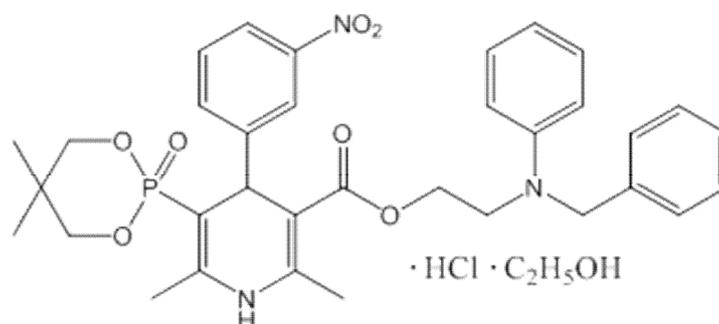


図 6 NZ-105 化学構造式

表 1 NZ-105 の物性パラメーター (NZ-105 承認申請資料書抜粋)

Molecular formula	C ₃₄ H ₃₈ N ₃ O ₇ P·HCl·C ₂ H ₅ O
Molecular weight	714.20
Melting point (°C)	151
Dissociation constant pKa	3.27
Distribution constant	≥ 1000
Solubility (mg/mL)	
Water	> 0.1
Aqueous buffer pH 1.2	> 0.1
Aqueous buffer pH 4.0	> 0.1
Aqueous buffer pH 4.0 – 12.0	> 0.1
Ethanol	4.14±0.03
Methanol	29.6±0.15
Formic acid	588.2
N,N-Dimethyl formamide	312.5

現在, Landel®錠の製造法は, NZ-105 が難水溶性のため, 溶解液に塩化メチレンを用い, それらを核粒子であるリン酸カルシウムに噴霧し造粒物を調製している. そのため, 環境への負荷や製剤の大型化 (患者の負担) が課題の一つとなっている.

そこで我々は, 医薬品開発における原薬形態として稀な溶媒和物の原薬である NZ-105 の物理化学的性質を明らかにすると共に難水溶性薬物の新たな溶解性改善方法を確認することを目指し, 以下について研究を行った.

1. NZ-105 の結晶構造と熱安定性の関係に関する研究
2. 簡便な固体分散体の調製方法 (MW 法) の確立に関する研究
3. 3 成分系固体分散体の生成及び溶解性改善のメカニズムの解明に関する研究

2. NZ-105 の結晶構造と熱安定性の関係に関する研究

2.1 本研究の目的

NZ-105 は、当初、そのアセトン溶液に塩酸水溶液を加え、得られた塩酸塩を開発候補の原薬形態として位置付けていた。しかしながら、塩酸塩の安定性は、良くなく保存中に塩化物イオンが容易に脱離することが判明したため、塩酸塩エタノール付加物に原薬の結晶形態を変えて開発を進めた⁴²⁻⁴⁵⁾。上述したように、塩酸塩を伴う溶媒和物は品質管理と毒性等のリスクから、医薬品を開発する上では避けられる傾向にあり、開発事例の報告はほとんどない。

最近の NZ-105 に関する主な研究の状況について表 2 に示す。原薬の合成法の確立については迫田らが、薬理学的研究は、増田、田中ら、薬物動態の研究は、Man-Liu らによって精力的に研究が進めている。一方、物理化学的性質については、岡部らが溶解性に関して詳細に報告しているが、その他の物性についての研究は、それほど多くはない。

表 2 Recently study for NZ-105

Categories	Title	Author
Synthesis	Synthesis of 1,4-Dihydropyridine-5-phosphomates and Their Calcium-Antagonistic and Antihypertensive Activities: Novel Calcium-Antagonist	Sakoda R., et al. 1992
	2-[Benzyl(phenyl)amino]ethyl-1,4-dihydro-2,6-dimethyl-5-(5,5-dimethyl-2-oxo-1,3,2-dioxaphosphorinan-2-yl)-4-(3-nitrophenyl)-3-pyridine-carboxylate Hydrochloride Ethanol(NZ-105) and its Crystal Structure.	Chem. Pharm. Bull. 40 2377-2381.
Pharmacology	Antihypertensive and diuretic effects, of NZ-105, a novel dihydropyridine derivative.	Masuda Y., et al. 1990 Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 304 247-264.
	Efonidipine hydrochloride: a dual blocker of L- and T-type Ca(2+) channels, Cardiovasc.	Tanaka H., et al. 2002 Drug Rev. 20 81-92
Pharmacokinetics	Determination of efonidipine in human plasma by LC-MS/MS for pharmacokinetic application	Man Liu, et al. 2015 J. Pharm. Biomed. Anal. 103 1-6
Physicochemical properties	Dissolution behavior of Efonidipine Hydrochloride	Okabe T., et al. 1995 Pharmaceutical science 1 255-258

そこで本研究では、数少ない溶媒和物の医薬品である NZ-105 について、付加物であるエタノールと塩化物イオンの熱挙動の解明および加速条件による安定性試験を検討した。また、NZ-105 およびそのフリー体（以下 NZ-105 free form）の結晶構造を決定し、熱安定性の違いについて考察した。

2.2 試料および実験方法

2.2.1 試料

NZ-105 (Lot No. EFH-001) および NZ-105free form (Lot No. SM-00126-131) は、日産化学工業株式会社で合成されたものを使用した。その他の試薬は、試薬グレードを使用した。

2.2.2 熱分析

熱重量曲線 (TG) と示差熱分析曲線 (DTA) は、Thermo plus TG-8120 (Rigaku Corporation, Tokyo, Japan) を用いて測定した。測定は、本品約 5-10 mg をアルミ製のパンに秤量し、空気雰囲気下 (50 mL/min) , 室温から 300°C 付近の範囲を昇温速度 5°C/min の条件で行った。

2.2.3 赤外吸収スペクトル : IR

赤外吸収スペクトルは、IRAffinity-1 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) を用いて、KBr 錠剤法にて測定した。測定試料は、各温度に設定したオープンに 10 分間静置し、室温付近まで放冷した後測定した。

2.2.4 発生ガス分析 : EGA-MS

装置は縦型加熱炉 (PY-2010i : FRONTIER LAB, Fukushima, Japan) をガスクロマトグラフ (GC7890A : Agilent technologies, Tokyo, Japan) に接続して行った。検出器は質量分析計 (GCT premier : Waters, Tokyo, Japan) を用いた。

本品約 100 µg を秤取した白金るつぼを加熱分解炉に入れ、80°C から 180°C まで 5°C/min で加熱した。発生したガスは不活性カラムを通過させ、リアルタイムで GC-MS に導入した。GC から MS に導入する不活性カラムは、DB-1 LTM カラム (0.18 mm × 20 m × 0.40 µm: Agilent technologies, Tokyo, Japan) を用いた。キャリアガスは、He (流速 0.5 mL/min) , スプリット比は 1/5, カラムオープンは 50°C 一定, 注入口温度は 300°C とした。MS のイオン化法は EI を用いた。

2.2.5 環境制御型 SEM : E-SEM

NZ-105 1 g をガラスシャーレに入れ、100°C または 150°C にて 10 分間加熱した後、それぞれ室温になるまで放置した。これらの検体につき、低真空環境制御型走査電子顕微鏡 (Quanta 200 : FEI, Tokyo, Japan) を用い、室温にて試料の形状および表面状態を観察した。

2.2.6 昇温粉末 X 線

昇温粉末 X 線回折パターンは、粉末 X 線回折装置 (X'pert pro Multi-Purpose Diffractometer, PANalytical, Tokyo, Japan) を用いて得た。測定条件は、Cu-K α 線源 ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$) を用い、電圧 45 kV、電流 40 mA にて、回折角 3°から 25°の範囲を測定した。試料を設置し、室温、50°C、100°C、125°C、135°C、145°C、150°C および 160°C の範囲で、それぞれの温度まで 5°C/min の速度で加熱し、各々 5 min 間、その温度を保持し、測定した。

2.2.7 安定性試験 (加速条件)

NZ-105 20 g を 50 mL の褐色ガラス瓶に入れ密栓し、40°C/75%RH の環境下に保存した。保存後、1, 3, 6 ヶ月目に、類縁物質 (HPLC) , 水分 (KF) , 塩酸 (滴定) 及びエタノール (GC) を測定し、安定性を評価した。

分析条件

Related substance: HPLC

Instrument: LC-20 series (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Detector: Ultraviolet absorption photometer (wave length 254 nm)

Column: Spherisorb ODS-2 (I.D.5 mm \times Length 25cm, P.D.5 μ m: Waters, Tokyo, Japan)

Column temperature: A constant temperature about 40°C

Mobile phase: MeOH 400 mL/Acetonitrile 300 mL/0.1 mol/L aqueous ammonium acetate solution 300 mL with Tetra-n-butylammonium bromide 1.6 g.

H₂O content: Karl Fischer titration

Instrument: MKV series (Kyoto electronics manufacturing, Kyoto, Japan)

Solvent: MeOH

Sample weight: 0.2 g

HCl content: Titration (0.05 mol/L aqueous silver nitrate solution)

Instrument: AT400-win (Kyoto electronics manufacturing, Kyoto, Japan)

Solvent: 1,4-dioxane/Water = 9/1

Sample weight: 0.2 g

EtOH content: GC and Head space

GC condition

Instrument: Agilent 6890N (Agilent technologies, Tokyo, Japan)

Detector: Hydrogen flame ionization detector

Column: DB-624 (30 m \times 0.32 mm, I.D. 1.8 μ m: Agilent technologies, Tokyo, Japan)

Column temperature: Injection at a constant temperature about 40°C, maintain at 40°C for 10 min, raise the temperature to 130°C at a rate 10 °C/min, raise to 250°C at a

rate 60°C/min, and maintain at 250°C for 9 min.
Inlet temperature: A constant temperature about 250°C
Detector temperature: A constant temperature about 250°C
Carrier gas: Helium
Flow rate: 1.4 mL/min

Head space condition

Instrument: Turbo Matrix HS-40 (PerkinElmer, Kanagawa, Japan)
Vial equilibrium temperature: A constant temperature about 80°C
Vial equilibrium time: 60 min
Inlet line temperature: A constant temperature about 150°C
Pressure time: 3.0 min
Inlet time: 0.15 min

Assay: Titration (0.1 mol/L perchloric acid)

Instrument: AT400-win (Kyoto electronics manufacturing, Kyoto, Japan)

2.2.8 単結晶 X 線構造解析

NZ-105 の単結晶の調製は、NZ-105 にエタノールを加え、約 70°C から 80°C にて徐々に溶解した後、室温で 2 日間保存し、析出した結晶を用いた。得られた結晶は、黄色のプリズムの結晶であった。

NZ-105 free form の単結晶の調製は、NZ-105 free form にメタノールを加え、約 70°C から 80°C にて徐々に溶解後、室温で 2 日間保存し、析出した結晶を用いた。得られた結晶は黄色のプリズムの結晶であった。

得られた結晶をガラスファイバーに固定し、単結晶 X 回折装置 (SMART APEXII Ultra, Bruker AXS, Kanagawa, Japan) を用いて測定した。放射線は graphite-monochromated $K\alpha$ copper radiation (1.54178 Å) (HELIOS multilayer optics) を用い、50 kV, 24 mA にて 296 K で測定した。吸収の補正等は、program SADABS⁴⁶⁾を使用した。構造は、SHELXS-97⁴⁷⁾を用いて解析し、SHELXL-97⁴⁷⁾にて、 F^2 に対する Full-matrix least-squares によって導かれた。作図には、Mercury program (Cambridge Crystallographic Data Centre; CCDC)および ChemBio3D Ultra 12.0 (ambridgeSoft, PerkinElmer, Tokyo, Japan)を用いた。

2.3 結果と考察

2.3.1 NZ-105 の熱挙動と熱分解

NZ-105 の TG-DTA 曲線を図 7 に示す。TG 測定の結果、100°C 前後から徐々に減量が認められ、140°C 付近を区切りに 160°C までの範囲で 2 段階の減量（それぞれ-5.66% および-5.90%）が観測された。DTA 測定では、132°C および 156°C 付近を頂点とする特徴的な吸熱ピークが検出された後、NZ-105 の分解に由来する小さな発熱ピークが観察された。

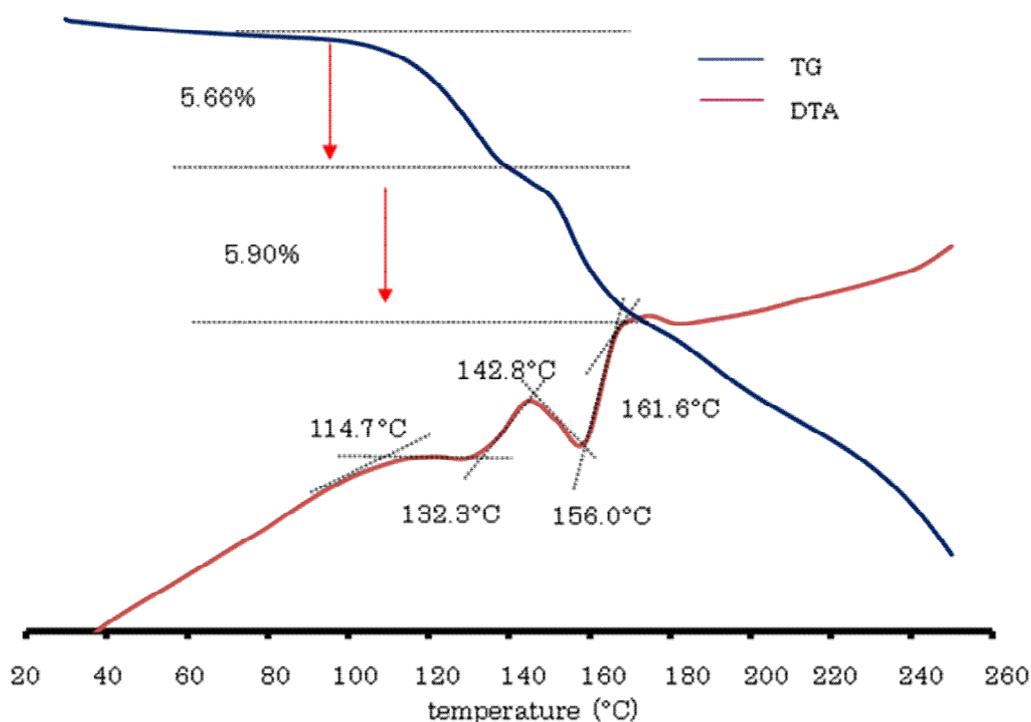


図 7 NZ-105 の TG-DTA 曲線

TG 測定で観察された 2 段階の減量における揮発性成分について、EGA-MS 測定により同定を試みた (図 8, 図 9)。本手法は、近年、素材・材料開発分野において分解物の評価方法として注目を集めており、昇温による反応生成物や脱離成分をリアルタイムに特定できる^{48,49)}。

EGA-MS 測定の結果、132°C 付近の揮発性成分は、EI-MS m/z 45.046 が検出されたことよりエタノールであると考えられた。また、156°C 以上で揮発した成分は、EI-MS m/z 35.975 が検出されたことによりクロライド由来と推察された。一方、クロライドとほぼ同時に揮発する成分の EI-MS m/z は 126.024 であり、構造解析の結果、NZ-105 の熱分解で発生するベンジルクロライドであることが判明した (図 10)。

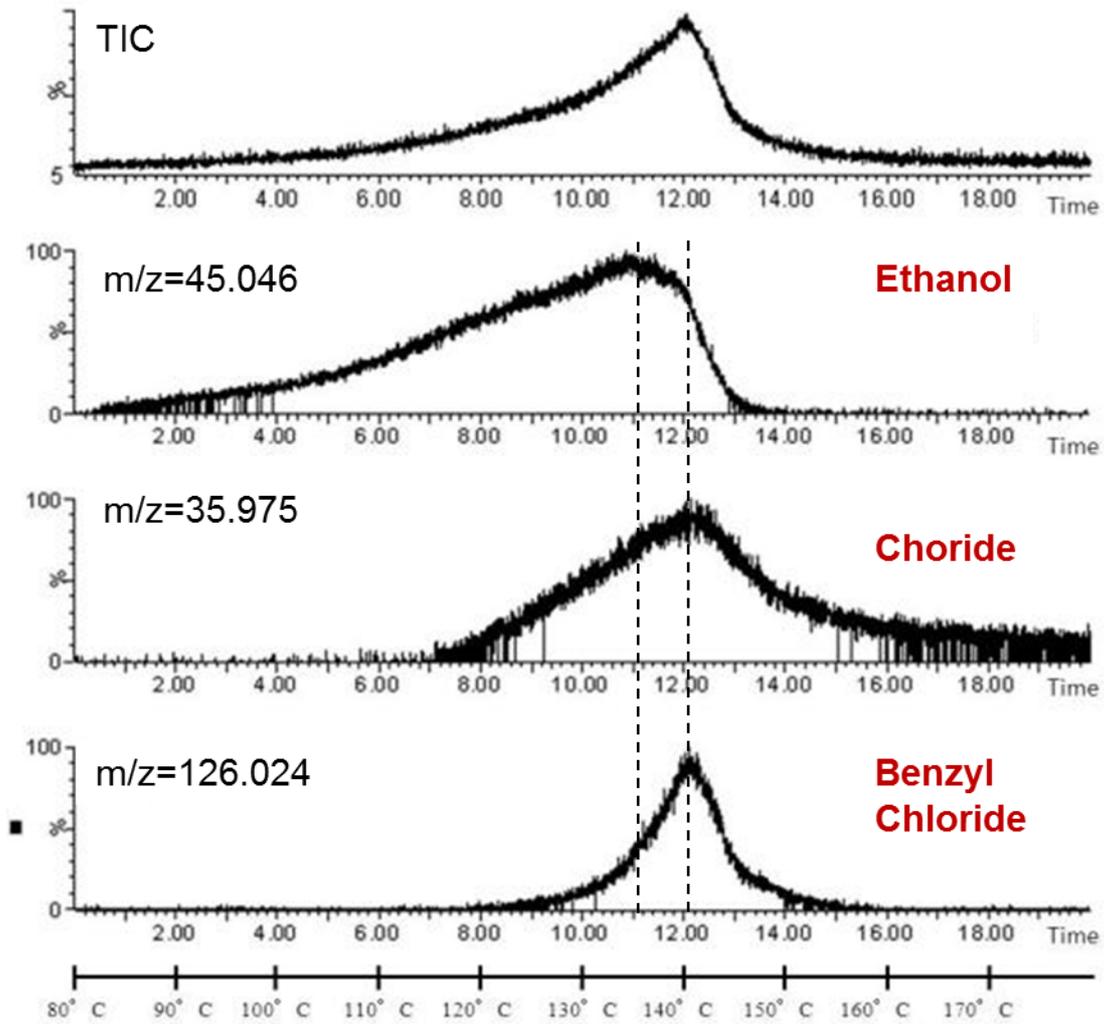


図 8 NZ-105 EGA-MS のマススペクトル

EGA, 80dC(0)-5dC/min-180dC(0), 1/20
 140516_EGA_EP-CL_23UG_001A 3577 (11.935)

TOF MS EI+
 1.33e3

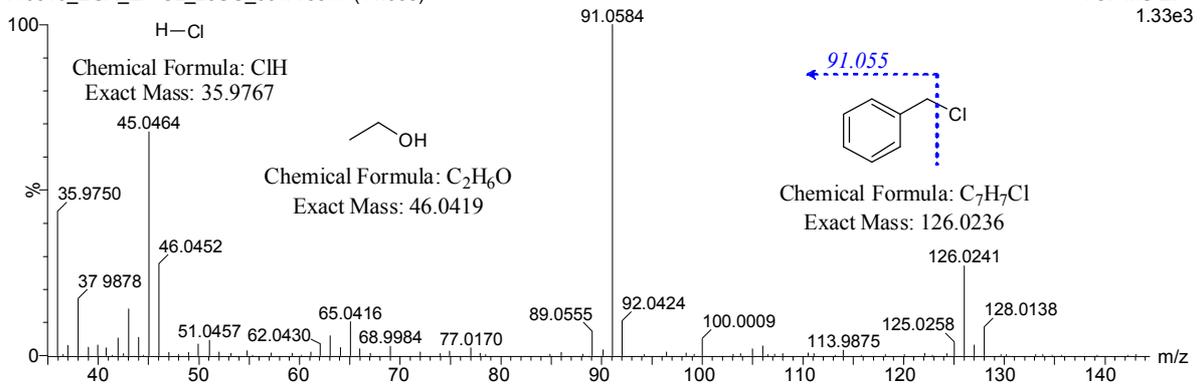


図 9 NZ-105 EGA-MS フラグメント解析

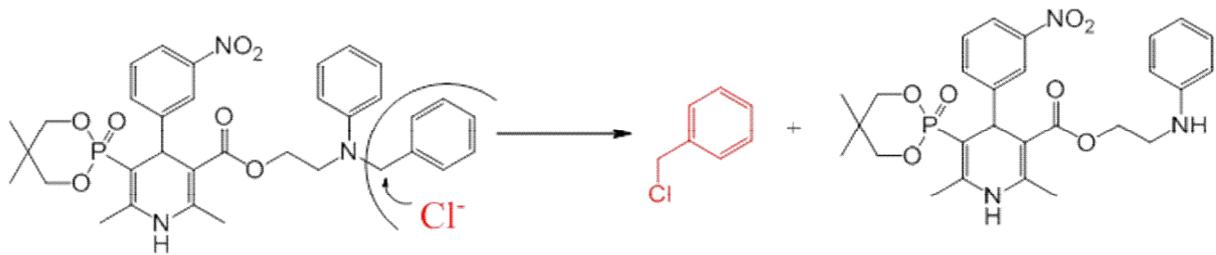


図 10 NZ-105 の分解経路

加熱にともない NZ-105 から揮発性成分が脱離したと考えられる固体試料の化学的な変化を明らかとするために、各温度で加熱処理した試料の赤外吸収スペクトルを測定した(図 12, 図 12). NZ-105 の構造に由来する特徴的なカルボニル基 (1705 cm^{-1}), ニトロ基 (1523 cm^{-1}) 及びリン酸基 (1248 cm^{-1}) に関しては、いずれの温度で加熱しても変化は認められなかったが、塩構造を形成している 4 級アンモニウムの伸縮振動 ($2324\text{-}2356\text{ cm}^{-1}$ 付近) 由来する吸収ピークは 160°C 以降で消滅した. この変化はベンジルクロライドの生成および脱離が観察された EGA-MS の結果とよく一致していた.

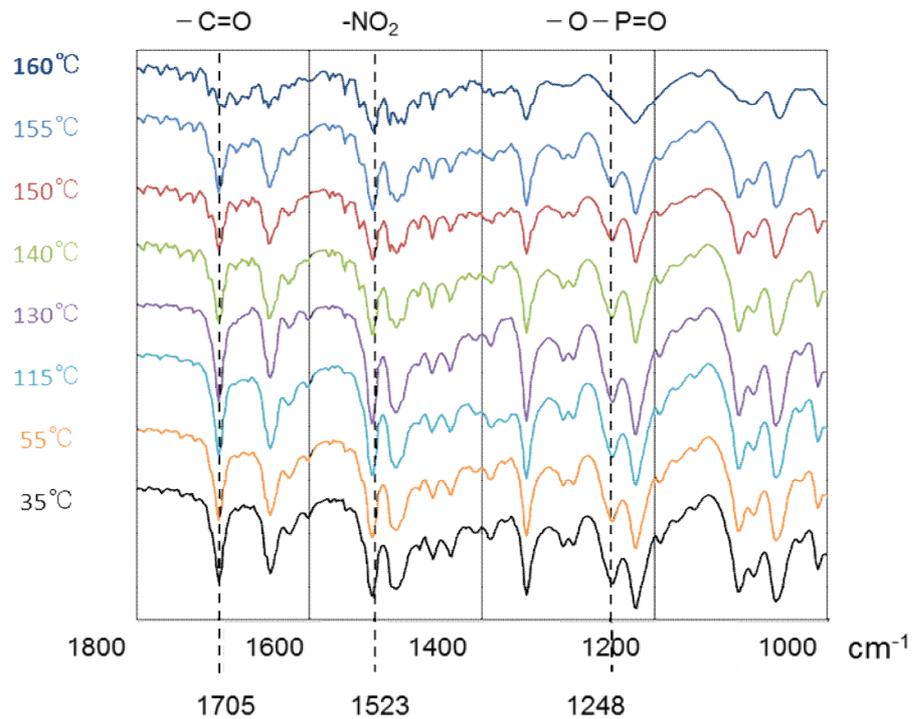


図 11 各温度における NZ-105 の赤外吸収スペクトル $1000\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$

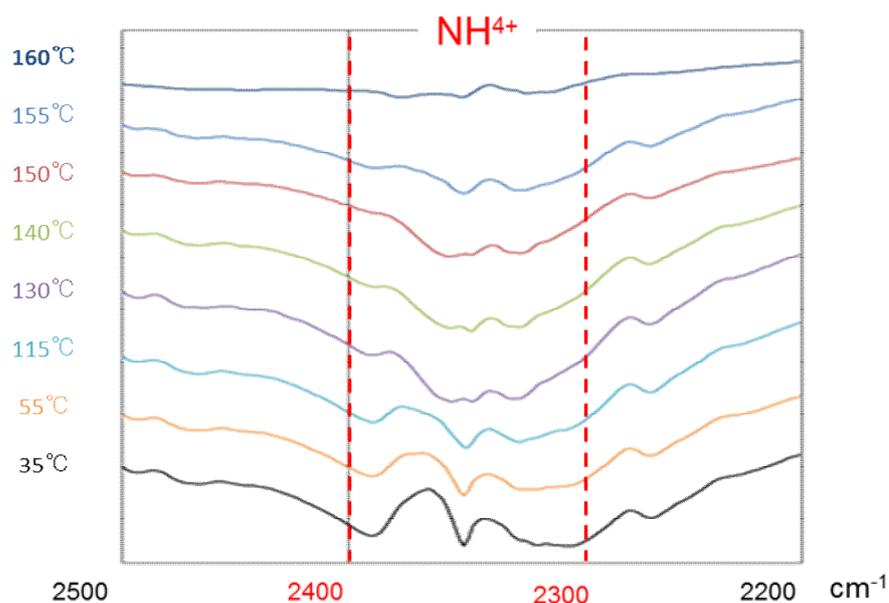


図 12 各温度における NZ-105 の赤外吸収スペクトル 2200-2500 cm^{-1}

以上の結果より, NZ-105 の構造中に含まれるエタノールおよび塩化物イオンの単体は常温で液体および気体 (塩化水素として) であるが, それらの沸点とは逆の順番で, それぞれ 130°C および 150°C 付近で揮発した. このことは, NZ-105 分子とエタノールおよび塩化物イオンの分子間相互作用あるいは結晶構造内での配置が影響を及ぼしていると推察された.

2.3.2 加熱課程における NZ-105 の性状の変化 (粒子形状および外観)

NZ-105 を加熱処理した際の粒子の外観変化を E-SEM 観察にて確認した (図 13). NZ-105 粉末の粒子径は 10 から 30 μm 付近に分布し, 平均粒子径は 23 から 30 μm であった (表 3). 室温における非加熱状態の粒子はブロック状の外観を示し, 100°C 付近まで加熱した場合は粒子の角が僅かに丸みを帯びたものの, 全体的な形状は維持していた. 前項で明らかとしたエタノールが揮発する 130°C 付近では, 粒子が融解あるいは揮発したエタノールに溶解した状態となり, 外形が失われる様子が観察された.

表 3 NZ-105 粒度分布の結果 (ロット分析)

Lot No.	D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)	平均(μm)	最頻径 (μm)
H02N01	10.049	23.614	53.359	22.538	26.230
H04N01	9.411	25.498	62.775	23.943	26.231
H08K12	10.284	28.589	70.878	24.985	32.381
H09K12	8.054	26.520	80.746	24.412	26.231
H10H09	8.145	27.418	66.339	23.865	32.381
H28C11	14.516	33.603	61.908	30.002	39.973

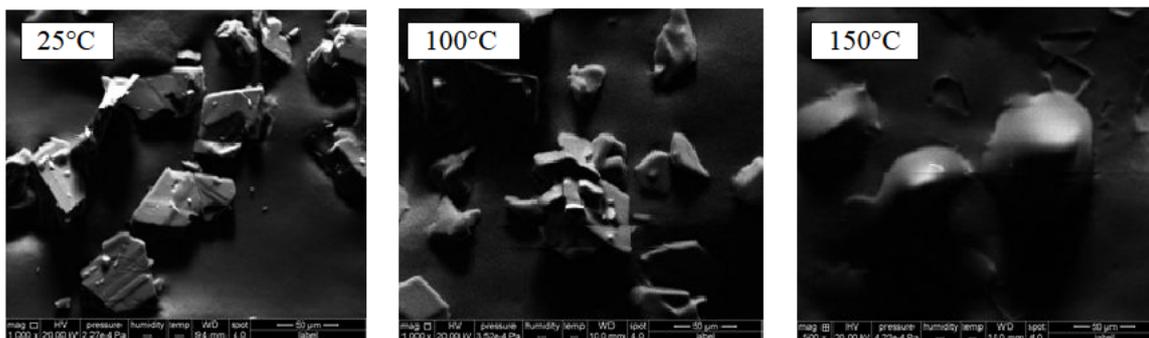


図 13 加熱した NZ-105 の E-SEM 画像

NZ-105 の昇温過程における結晶状態の変化を昇温 PXRD により測定した(図 14). NZ-105 に由来する $2\theta = 11.5, 16$ および 21° 付近の X 線回折ピークは, $130\sim 140^\circ\text{C}$ 付近で僅かながら低角側にシフトしたことから, 加熱による環境温度の上昇にともなう結晶格子の膨張が起きたことが推察された. その後 140°C 付近では回折ピークの強度が明らかに低下し, 150°C 以上ではほぼハローなパターンが観察された. ただし, 150°C の回折パターンでは, 微少な回折ピークが認められることから, NZ-105 から揮発性成分が脱離した後に収縮した結晶構造の存在が示唆された^{50,51}). 熱分析の結果によれば, 130°C から 140°C 付近でエタノールが揮発することから, エタノール分子が結晶構造を維持するために重要な役割を果たしていることが推察された.

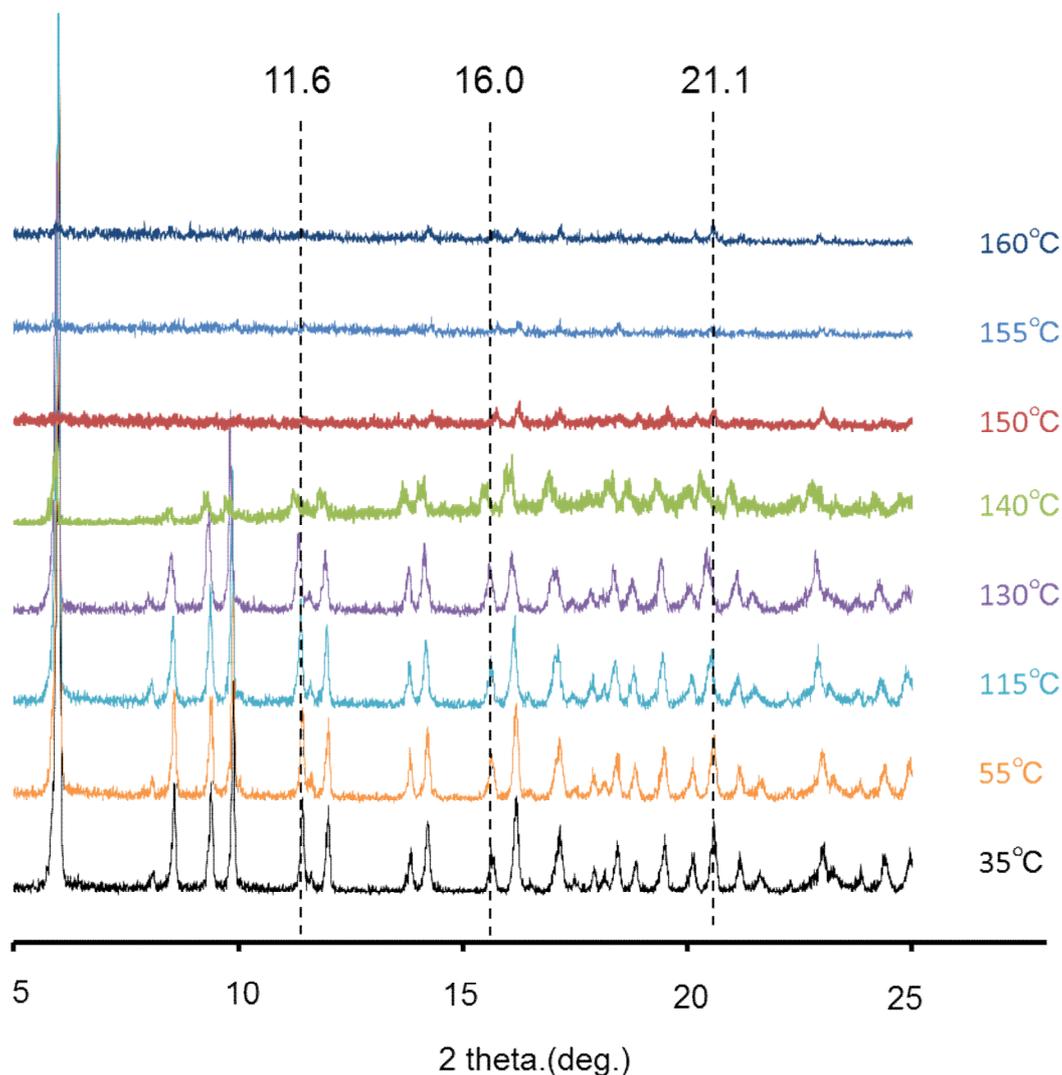


図 14 昇温過程における NZ-105 の結晶形の変化

一般的に溶媒和物は付加する溶媒の量によって、化学量論的溶媒和物 (stoichiometric solvates) と非化学量論的溶媒和物 (non-stoichiometric solvates) に大別される^{52,53)} (図 15) . 通常, stoichiometric solvates の場合, その溶媒は結晶構造の重要な部分を担っており, 他の分子と強固な相互作用ネットワークを形成している. したがって溶媒が脱離した後, 異なる結晶形あるいは非晶質状態に転移する. 一方, non-stoichiometric solvates の溶媒は, 結晶構造内に形成された channel 構造の空間を埋める様式で存在する例が多く, 溶媒とその他の分子間における相互作用は比較的弱い⁵²⁻⁵⁷⁾. NZ-105 の場合, エタノール分子はエホニジピンと等モル比で存在しており, 140°C 付近でエタノールが脱離した後, 粉末 X 線回折のピーク強度が著明に減衰しつつ, 僅かながら結晶性の回折ピークも残っていたことから, どちらかと言えば溶媒分子が相互作用ネットワークの一員として存在する stoichiometric solvates であることが示唆された.

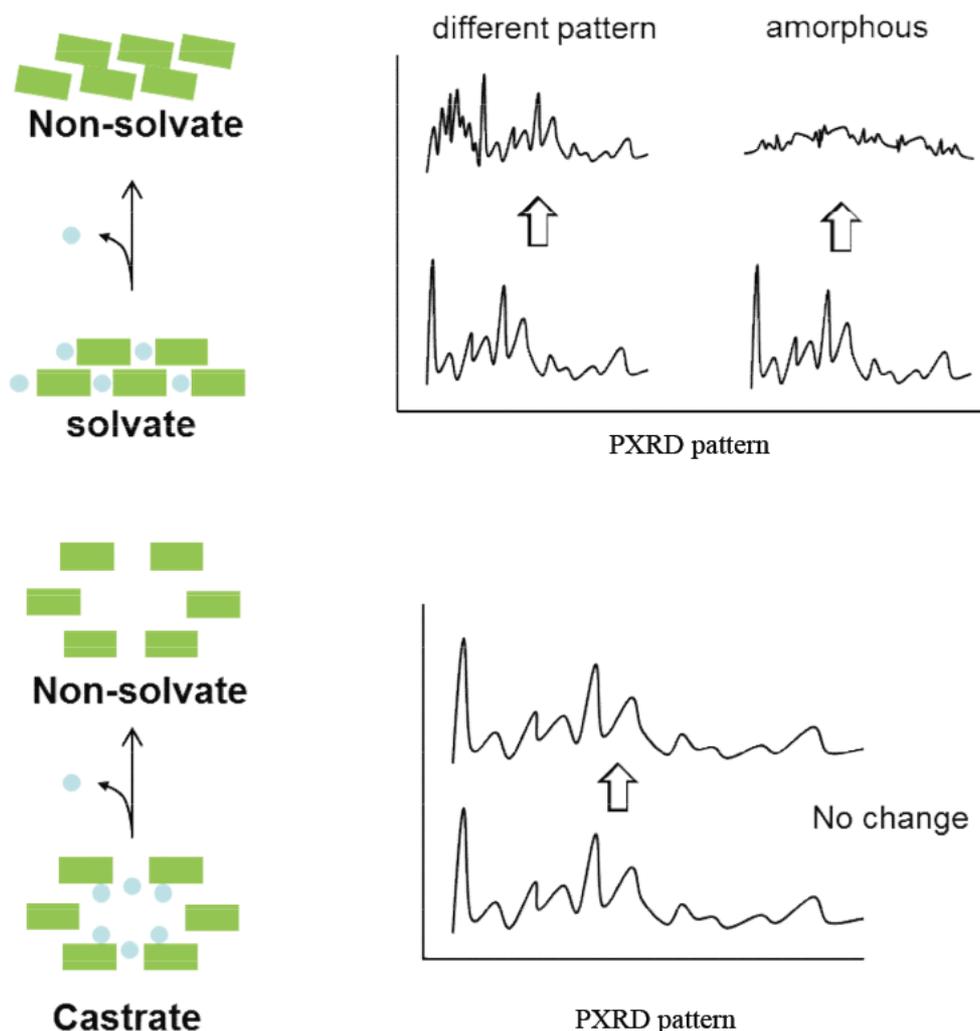


図 15 溶媒和物の分類化学量論的溶媒和物と非化学量論的溶媒和物

2.3.3 NZ-105 安定性試験（加速条件）

医薬品の開発形態としての安定性を確認するために、40°C、75%RH の加速条件下で NZ-105 の安定性試験を実施した（表 4）。その結果、最長で 6 ヶ月間、外観に変化は認められず、エタノールおよび塩化物イオン（塩化水素として）も脱離することがなく、物理的に安定であることが分かった。結晶構造が堅牢に保たれていることから予想できるように、定量値および類縁物質についても問題は認められず、医薬品の原薬として非常に安定な結晶性の粉末であることが確認された。

表 4 NZ-105 の安定性試験

	Initial	1M	3M	6M
Appearance	Powder crystal	Powder crystal	Powder crystal	Powder crystal
Related substance (%)	0.04	0.05	0.05	0.04
HCl content (%)	5.10	5.11	5.08	5.06
EtOH content (%)	6.42	6.25	6.12	6.23
Assey (%)	100.0	99.9	100.2	100.3

2.3.4 NZ-105 およびそのフリー体の単結晶構造解析

NZ-105 と NZ-105 free form の単結晶構造を示す図 16, 図 17) . NZ-105 (ラセミ体) の結晶格子は三斜晶であり, 空間群は P-1 であった. R 値は 4.61% であり, 既に報告されている値 (R 値: 8.1%) と比較して十分に低く, 計算の空間充填モデルと実際のモデルが良く一致していた⁴³⁾. 既報の通り, 本化合物の構造は, 窒素原子にプロトンが移動して 4 級アンモニウムとなっており, 塩酸塩であることが証明された. 詳細な結晶学的パラメーターを表 5 に記載する.

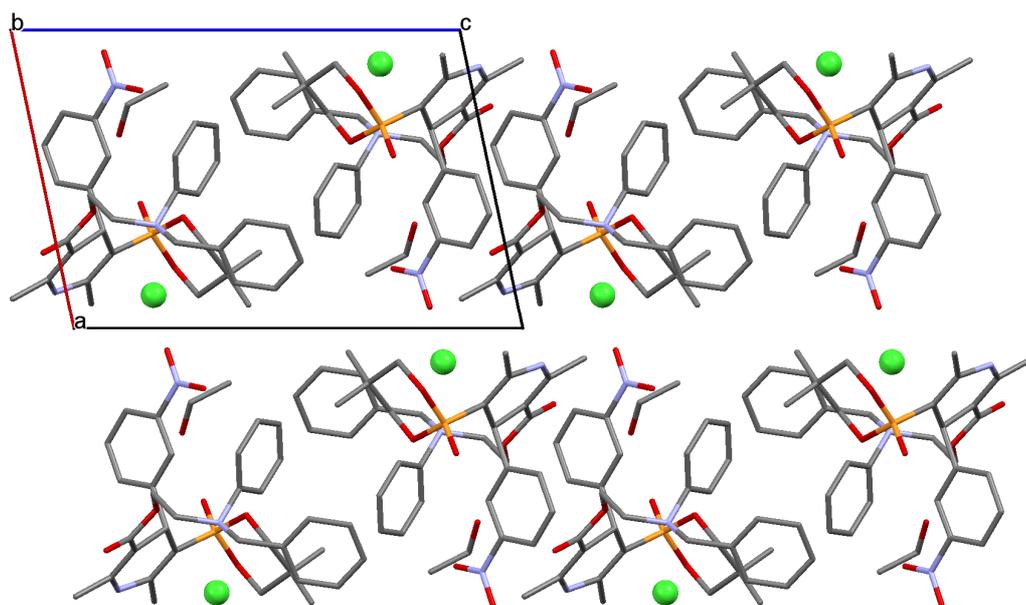


図 16 Crystal structure of NZ-105

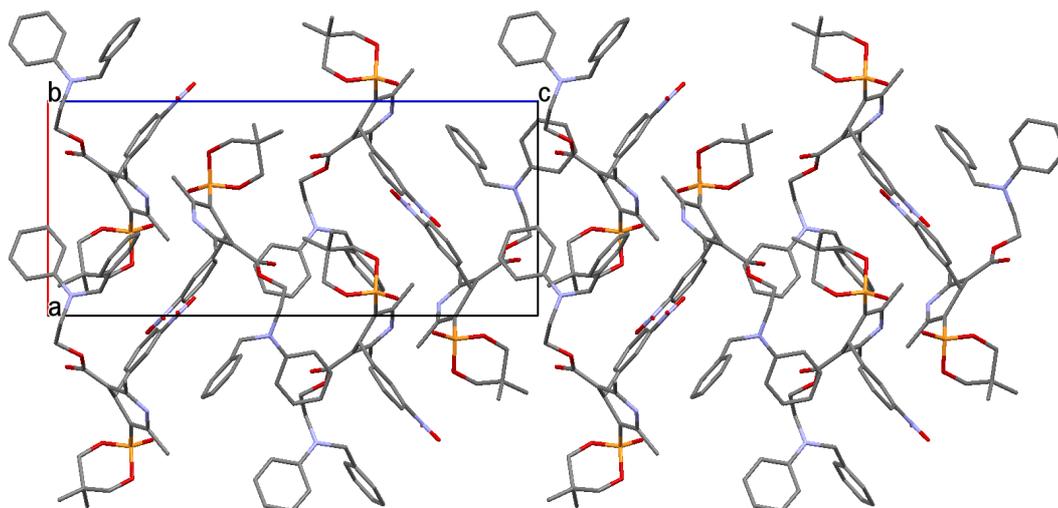


図 17 Crystal structure NZ-105 free form (raceme)

表 5 NZ-105 およびその Free 体の Crystallographic parameters

	NZ-105 Efonidipine hydrochloride ethanolate	NZ-105 free from Efonidipine
Molecular formula	$C_{34}H_{38}N_3O_7P \cdot HCl \cdot C_2H_6O$	$C_{34}H_{38}N_3O_7P$
Molecular weight	714.17	631.64
Temperature (K)	296	296
Crystal color, habit	Yellow, Prism	Yellow, Prism
Crystal system	Triclinic	Orthorhombic
Space group	$P\bar{1}$	$P2_12_12_1$
Lattice parameters (\AA , $^\circ$)		
<i>a</i> =	11.4763(11)	9.9296(5)
<i>b</i> =	11.9281(12)	13.1794(7)
<i>c</i> =	15.1054(15)	24.2673(12)
α =	87.156(5)	90.00
β =	78.155(5)	90.00
γ =	64.918(4)	90.00
Volume (\AA^3)	1831.3(3)	3175.8(3)
<i>Z</i>	2	4
D_{calcd} (Mg m^{-3})	1.295	1.321
Reflections collected	25692	46156
Independent reflections	5958	5382
R_{int}	0.0224	0.0491
Absolute structure parameter	-	0.01(3)
Goodness-of-fit on F^2	1.086	0.858
Final <i>R</i> indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1=0.0433$ $wR_2=0.1418$	$R_1=0.0418$ $wR_2=0.1066$
<i>R</i> indices (all data)	$R_1=0.0477$ $wR_2=0.1533$	$R_1=0.0615$ $wR_2=0.1349$

NZ-105 の結晶構造において， $\Phi_1[\text{C1-C2-C16-O5}]$ ， $\Phi_1[\text{C2-C3-C10-C13}]$ ， $\Phi_1[\text{C2-C3-C10-C11}]$ 及び $\Phi_1[\text{C5-C4-P1-O4}]$ のねじれ角は，それぞれ $0.1(4)^\circ$ ， $112.2(2)^\circ$ ， $-67.4(3)^\circ$ 及び $80.6(2)^\circ$ であった．したがって，カルボキシ基は，ジヒドロピリジン環（以下 DHP）の二重結合に対して，synperiplanar (SP) の環境にあり，ねじれはない．フェニル基は DHP 環を丁度 2 等分する位置にあり，この環境が 3-カルボキシ基と 5-リン酸エステル基の立体障害を最小にしていることが推察された．また，DHP 環は，NZ-105 の構造の中で舟型を形成していた．すなわち DHP 環のねじれの程度は C7 の部位で最大であり，フェニル基は C7 の部位で疑アキシアルに方向にあった（参考情報：単結晶 X 線構造解析を参照）．これらの立体構造の特徴は，ニフェジピン，ニソルジピン及びフェロジピンのような DHP-3,5-dicarboxylate 系の研究でも同様に観測されている⁶⁰⁻⁶⁵．一方，1,3,2-dioxaphosphorinane 環の P-C 結合はアキシアル方向にあるため，イス型構造をとっていた．その結果，構造中の大きな官能基であるリン酸エステル基とジフェニル基によって籠状の空間が生み出され，塩酸やエタノール分子の取込みを容易にしていると推察された（参考情報：単結晶 X 線構造解析を参照）．このような構造は，類似の DHP-3,5-dicarboxylate 系には見られず，NZ-105 に特徴的な構造である．近年，NZ-105 は DHP 系カルシウム拮抗剤にもかかわらず，その薬理効果が他の DHP 系拮抗薬とは異なり，L 型および T 型の両カルシウムチャネルを遮断することが見出され，新たな治療薬の候補として注目されている^{66,67}．おそらく，このような構造の違いも薬理作用の差に大きく関与していると推察される．

ここで NZ-105 結晶構造中の揮発性成分について着目すると，塩化物イオンは，エホニジピン分子が形成するカゴ型コンフォメーションの内側に位置し，エタノール分子は，フタの役割を演じているような構造であることが明らかとなった．このときエタノール分子の相互作用は，リン酸エステル部分との水素結合のみであることや（ $\text{O-H}\cdots\text{O}=\text{P}$ ， 2.7 \AA 程度），結晶構造解析の段階でエタノール分子の水素が帰属できなかったことから，エタノールの分子運動性が高く，エホニジピン分子との相互作用は比較的弱いことが示唆された（図 18）．また，NZ-105 free form に関しては，R 体と S 体の単結晶が得られたが，結晶構造解析で良好な結果が得られたのは S 体であった．

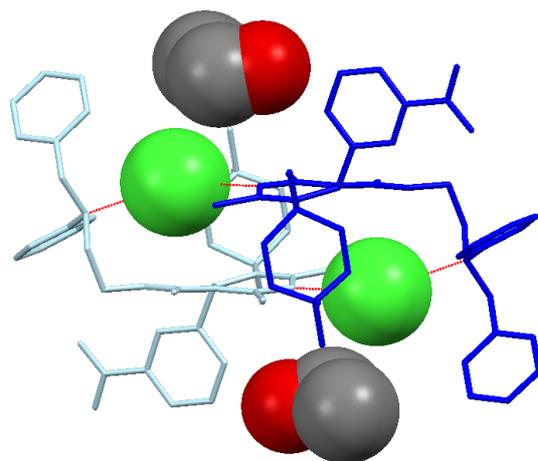


図 18 NZ-105 のイオン結合様式（赤線）

また、NZ-105 free form に関しては、R 体と S 体の単結晶が得られたが、結晶構造解析で良好な結果が得られたのは S 体であった。

NZ-105（ラセミ体）および NZ-105 free form（S 体）の結晶構造内におけるエホニジピン分子のコンフォメーションを重ね書きすると、バルキーな官能基であるジフェニル基がフリップすることで、カゴ型構造をとり、ゲスト分子を受け入れる空間が形成されていることが分かった（図 19）。当初の原薬の開発形態であった塩酸塩は、保存中に塩酸が容易に脱離するという物理的安定性の問題を抱えており、結晶構造を得ることも困難である。NZ-105 では、結晶構造中にエタノール分子が加わることで、溶媒和物の一般的なイメージとは裏腹に、塩化イオンの脱離を抑制し、物理的安定性の改善をもたらしていることが明らかとなった。また、この系の分解経路はベンジルクロライドの生成であるため、塩化物イオンの脱離抑制は、化学的な安定性をも著明に改善することが、結晶構造からも証明された。

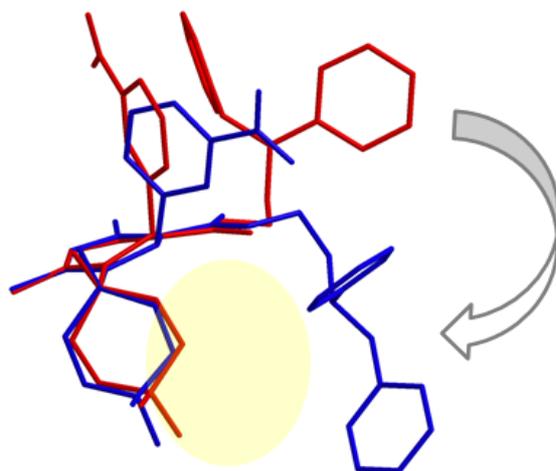


図 19 NZ-105（ラセミ体）と NZ-105 free form（S 体）のコンフォメーション比較

2.4 小括

本研究では実用化されている数少ない塩酸塩を伴う溶媒和物である NZ-105 について、熱挙動を中心としたキャラクターゼーションおよび結晶構造との関連について考察した。NZ-105 の特徴的な化学構造であるホスホン酸基は、立体障害を回避するため DHP 環に対してエクアトリアルな配座をとっていた。その結果、NZ-105 の構造中でバルキーなホスホン酸基とジフェニル基により塩酸およびエタノールを取り込める程の空間が生み出され、安定な溶媒和物を形成していることが明らかとなった。これらは類似薬の DHP 系カルシウム薬には見られない特徴的な構造であり、おそらく、この構造の違いは薬効（緩徐な血圧降下作用）の差別化にも寄与しているものと考えられた。

Ethanolate は、医薬品として情報の少ない結晶形態であるが、NZ-105 の場合は結晶構造に含まれるエタノールがその物理的安定性に大きく寄与していた。すなわち、エタノール分子は NZ-105 の結晶構造中で、水素結合を形成し、塩化物イオンの揮発・脱離を防ぐフタの役割を果たしていた。130°C 付近でエタノールが揮発するのについで、その抑圧から解放された塩化物イオンが脱離するとともに分解反応を引き起こしていた。したがって、NZ-105 の構造中におけるエタノールは、塩酸塩としての結晶構造の維持と、熱安定性の向上に必要不可欠であることが示唆された（図 20）。

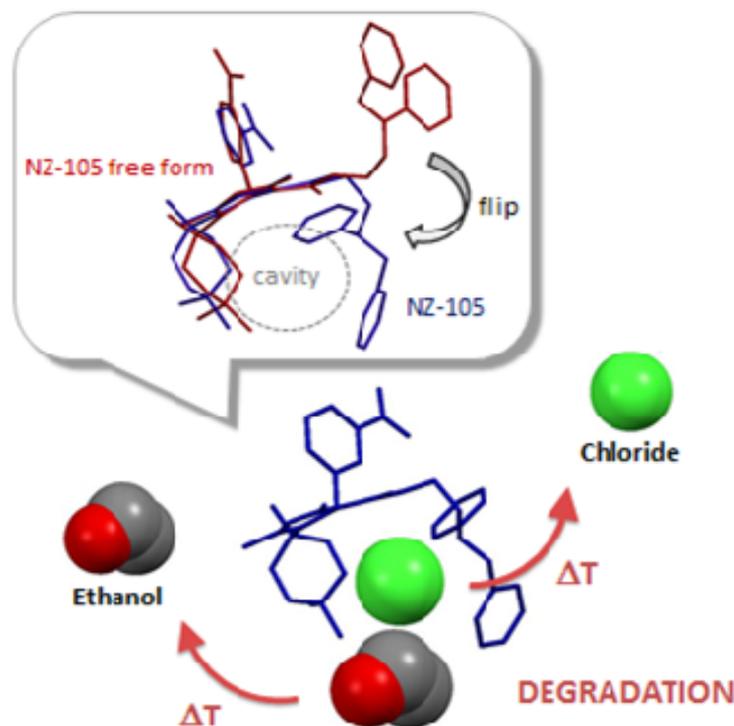


図 20 NZ-105 の熱挙動

本研究で得られた知見は、今後の医薬品開発における原薬形態の選定において多様

性をもたらすとともに、近年ますます高度化している製剤化検討においても有用な情報となることが期待される。

3. 簡便な固体分散体の調製方法（MW 法）の確立に関する研究

3.1 本研究の目的

NZ-105 は、難水溶性薬物のため、水への溶解度は非常に低い。したがって、その溶解性を改善し、経口吸収を増大させること、すなわちバイオアベイラビリティの向上が必要な原薬である。また、現在、Landel[®]錠の製造法は、NZ-105 が難水溶性のため、溶解液に塩化メチレンを用い、それらを核粒子であるリン酸カルシウムに噴霧し造粒物を調製している。そのため、環境への負荷や製剤の大型化（患者の負担）が課題の一つになっている。

本研究では、BCS で Class II に分類される NZ-105、キャリアとしてヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート（以下 HPMC-AS）及び Urea の 3 成分系に、MW を照射することにより、固体分散体を調製し、溶解性ならびに吸収性の改善について検討した。

3.2 試料および実験方法

3.2.1 試料

NZ-105（Lot No. EFH-001）は、日産化学工業株式会社にて合成されたものを使用した。HPMC-AS は、信越化学化学製を用いた。Urea は、和光純薬製を用いた。

3.2.2 MW を用いた固体分散体（SD）の調製

表 6 の処方に従って固体分散体を調製した。室温にて、NZ-105 と賦形剤を混合し、水を加え、Homodisper type 2.5（PRIMIX Corporation, Osaka, Japan）を用い 5000 rpm, 10-15min 間分散した。得られた溶液をテフロン容器に均一になるように（約 1cm 程度の厚み）移し、Micro wave batch type oven MOH-3000（Micro Denshi Co.,Ltd., Saitama, Japan）を用いて乾燥した。MW 照射時は、光ファイバー温度計 F1000-4S（Anritsu Meter Co., Ltd., Tokyo, Japan）にて、その品温をリアルタイムで計測した。得られた固形物をピンミル Picoflex UPZ40 pin type（HOSOKAWA MICRON, Osaka, Japan）を用い、30000 rpm にて粉碎し、篩過後、80 μm から 250 μm の粉末を試験に供した。

表 6 処方と MW 処理条件

No.	1	2	3	4	5	6
API/HPMC-AS/Urea ratio	1/3/0	1/0/0.5	1/3/0.5	1/3/1	1/3/3	1/3/5
Urea/API molar ratio	-	5.95	5.95	11.89	35.67	59.46
NZ-105	5 g	5 g	5 g	5 g	2.5 g	2.5 g
HPMC-AS	15 g	0 g	15 g	15 g	7.5 g	7.5 g
Urea	0 g	2.5 g	2.5 g	5 g	7.5 g	12.5 g
Water	20 mL	20 mL	20mL	20mL	20 mL	20 mL
Power	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW
Air temp.	130°C	130°C	130°C	130°C	130°C	130°C

3.2.3 熱分析

熱重量曲線 (TG), 示差熱分析曲線 (DTA) 及び示差走査熱量測定 (DSC) は, Thermo plus TG-8120 及び DSC-8230 (Rigaku Corporation, Tokyo, Japan) を用いて測定した. 試料約 5-10 mg をアルミ製のパン又は SUS 製のパンに秤量し, 空気雰囲気下 (50 mL/min) 又は窒素雰囲気下 (50 mL/min) にて, 室温から 200-300°C 付近の範囲を 5°C/min の昇温速度で加熱した.

3.2.4 粉末 X 線

粉末 X 線回折パターンは, 粉末 X 線回折装置 (X'pert pro Multi-Purpose Diffractometer, PANalytical, Tokyo, Japan) を用いて得た. 測定条件は, Cu-K α 線源 ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$) を用い, 電圧 45 kV, 電流 40 mA にて, 回折角 3°から 40°の範囲を測定した.

3.2.5 溶出試験 : *in vitro*

薬物の溶出性は, 第 16 改正日本薬局方収載の溶出試験装置 2 (NTR-6100, TOYAMA SANGYO CO., LTD., Osaka, Japan) を用い評価した. NZ-105 として 40 mg 相当量の試料を 37 \pm 0.5°C に加温した各種試験液 500 mL に投入し, 毎分 100 rpm のパドル法により試験を行った. 試験液には, HPMC-AS が腸溶性高分子のため, 溶出試験第 2 液 (pH 6.8) を用いた. 規定時間毎に溶出液 10 mL ずつ採取し, 直ちに 37 \pm 0.5°C に加温した各種試験液 10 mL を補った. 溶出液は, 直ちにメンブランフィルター (孔径 0.45 μ m) でろ過し, メタノール 3 mL を加えて試料溶液とし, 紫外可視吸光度計 UV-2400PC (SHIMADZU CORPORATION, Kyoto, Japan) を用いて NZ-105 の特徴的な波長である 330 nm の吸光度を測定し, 溶出量を算出した.

3.2.6 ビーグル犬による吸収性試験: *in vivo*

実験動物は, 生後 12-13 ヶ月齢体重 9 から 13kg の健全な雄性ビーグル犬 (Marshall BioResources Japan Inc.) を用い, 投薬前約 16 時間絶食した. ビーグル犬に 60 mg 相

当量を投与し、直後に水 50 mL を与えた。投与後、0.5, 1, 2, 4, 6 及び 8 時間後にヘパリン処理した注射筒を用いて、前腕皮静脈より血液 2.0 mL を採血した。血液を遠心分離 (4500 rpm, 4°C, 10 min) し、得られた血漿は、定量を行うまで -80°C にて保存した。1 週間の休業期間の後、同様の方法で異なる処方投与した。血漿中の NZ-105 濃度は、LC/MS/MS (LC : ACQUITY UPLC, MS : Quattro Premier XE, Waters, Tokyo, Japan) を用い、Nifedipine を内標として定量した。Cmax, Tmax 及び投与後 8 時間までの AUC は、解析ソフトウェア Phoenix WinNonlin Ver. 6.1 (Pharsight Corp. as part of Certara, Tokyo, Japan) を用い、calculation method として Linear Trapezoidal with Linear Interpolation により算出した。

尚、すべての実験的計画は、日本実験動物学会によって作成されたガイドラインに従う日産化学工業株式会社の社内倫理委員会にて承認を得た。

HPLC condition

Instrument: ACQUITY UPLC (Waters)

Column: ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 µm), 2.1 mm i.d. x 50 mm (Waters)

Gard column: ACQUITY UPLC BEH C18 VanGuard Pre-column (1.7 µm), 2.1 mm i.d. x 5 mm (Waters)

Column temperature: A constant temperature about 45°C

Mobile phase: A 0.1% formic acid, B: acetonitrile containing 0.1% formic acid

Time (min)	0	3.5	4.5	4.51	5
B%	20	95	95	20	20

Sample cooler: 4°C

Injection volume: 5 µL

MS/MS condition

Instrument: Quattro Premier XE (Waters)

Ionization : Electrospray (ESI)

Capillary : 3.2 kV

Source Temperature : 120°C

Desolvation Temperature : 400°C

Cone Gas Flow : 50 L/hr

Desolvation Gas Flow : 800 L/hr

Corrosion Gas: Ar

Detection : MRM mode

Channel	Compound	Parent (m/z)	Daughter (m/z)	Cone (V)	Collision (eV)	Dwell (msec)
1	Efonidipine	632.3	405.0	30	27	0.05
2	Nifedipin(IS)	347.1	315.0	15	10	0.05

3.3 結果と考察

3.3.1 MW 照射を用いた固体分散体 (SD) の調製

固体分散体の調製は、まず、室温にて、原薬と各賦形剤を混合し、精製水を加え、均一処理した。調製液は、2成分系 (API/HPMC-AS) は粘度が高く、気泡が多く存在するのに対して、3成分系は、非常になめらかで、クリーム (ホイップ) 状の均一なスラリーであった (但し、水分が 40-60 wt%)。尿素は、水に溶解し、高分子の可塑性を高めると共に、混合物を均一にする作用があると考えられ、3成分系は、MW の特徴である均一加熱を最大限に活用できると推察された (図 21)。

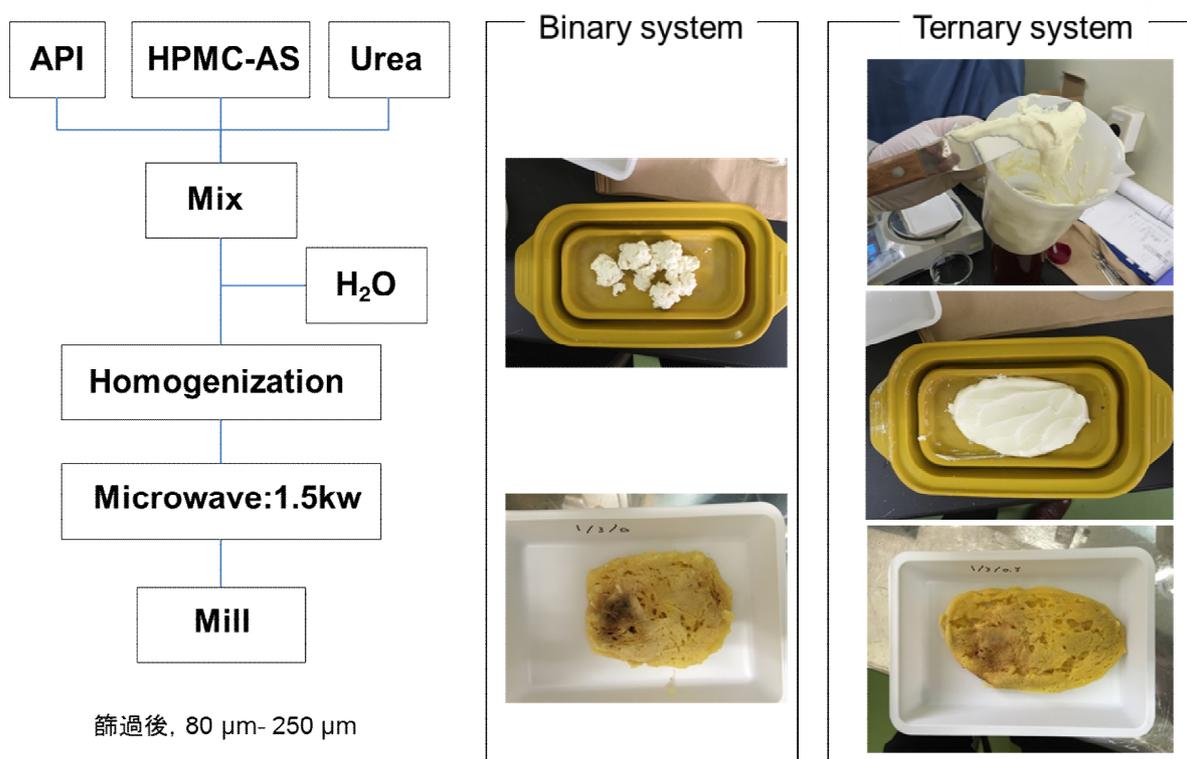


図 21 固体分散体の調製方法

調製したスラリーをシリコン容器に移し、均等に厚みを 1 cm 程度に調整し、MW を照射した。品温は、MW 照射直後から、水の沸点付近まで、一気に上昇した後、水分の蒸発が完了するまで 100°C 付近を維持し、その後、徐々に上昇した (図 22)。品温が 100°C 以下で MW 照射を終了した場合、処理品は、水分を多く含み、展延性のあるゴム状となり、その後の粉砕が難しく一定の粒子を得ることができなかった。一方、品温が 140°C 以上まで MW 照射した場合、乾燥したペレットが得られるものの、部分的に焦げがあり、且つかすかなに酢酸臭が認められ、原薬または賦形剤の分解が懸念された。これらの結果と NZ-105, Urea の融点を鑑み、MW 照射後、品温が 120-130°C 付近で終了することにより、良好なペレットを得る条件を確立した。

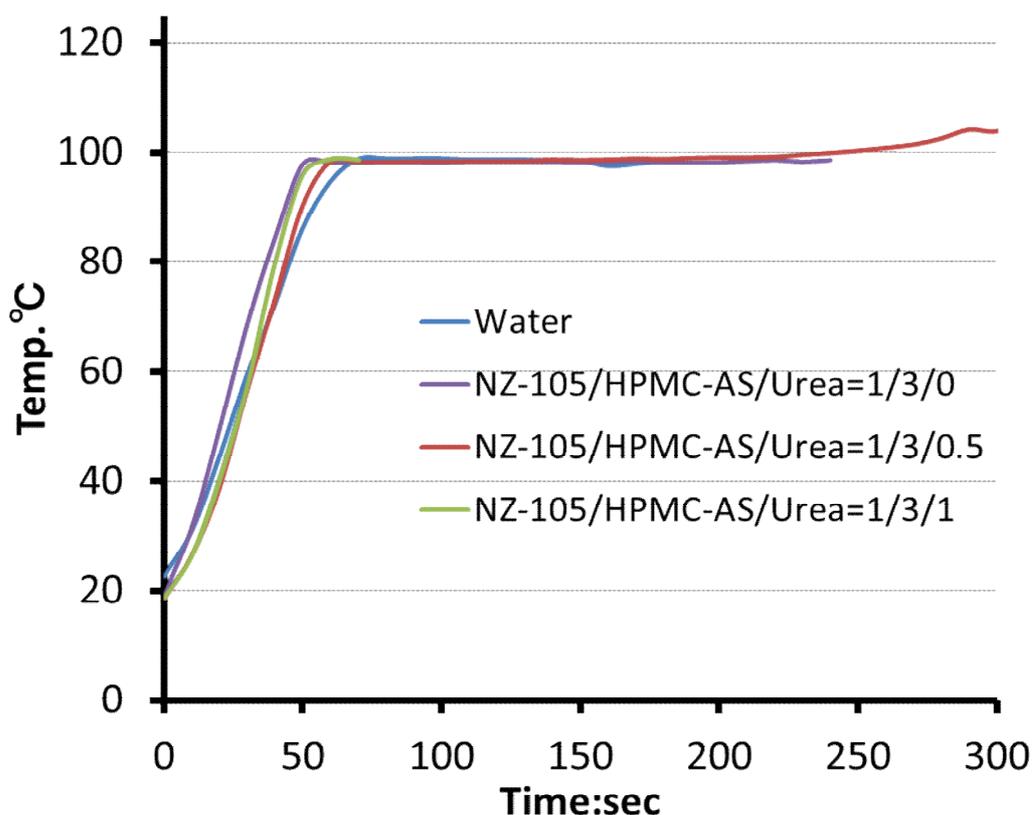


図 22 MW 処理時の品温の変化

3.3.2 2 成分系固体分散体 (HPMS-AS) の評価

図 23 に示す DSC 曲線から NZ-105 の融点 (分解) は, 160°C 付近と比較的高く, 高分子の HPMC-AS は, 130°C から 140°C 付近に比熱の変化が観測された. 一方, 2 成分系の混合物 (NZ-105/HPMC-AS=1/3) を MW 処理した場合, NZ-105 に由来する明確な吸熱ピークは認められなかった. XRD 回折測定においても, 2 成分系ではハローパターンを示したが, 僅かながら NZ-105 の結晶に由来する特徴的な回折ピークが観察された (図 24). この結果より, NZ-105 と HPMC-AS の 2 成分系 (質量比 1:3) では, NZ-105 の完全な非晶質化は困難であると考えられた.

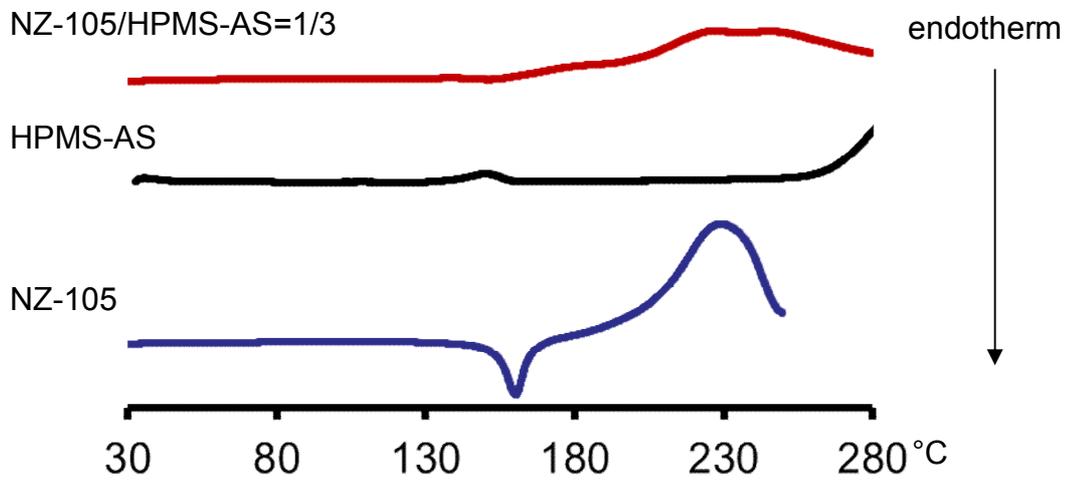


図 23 2 成分系固体分散体の DSC 曲線

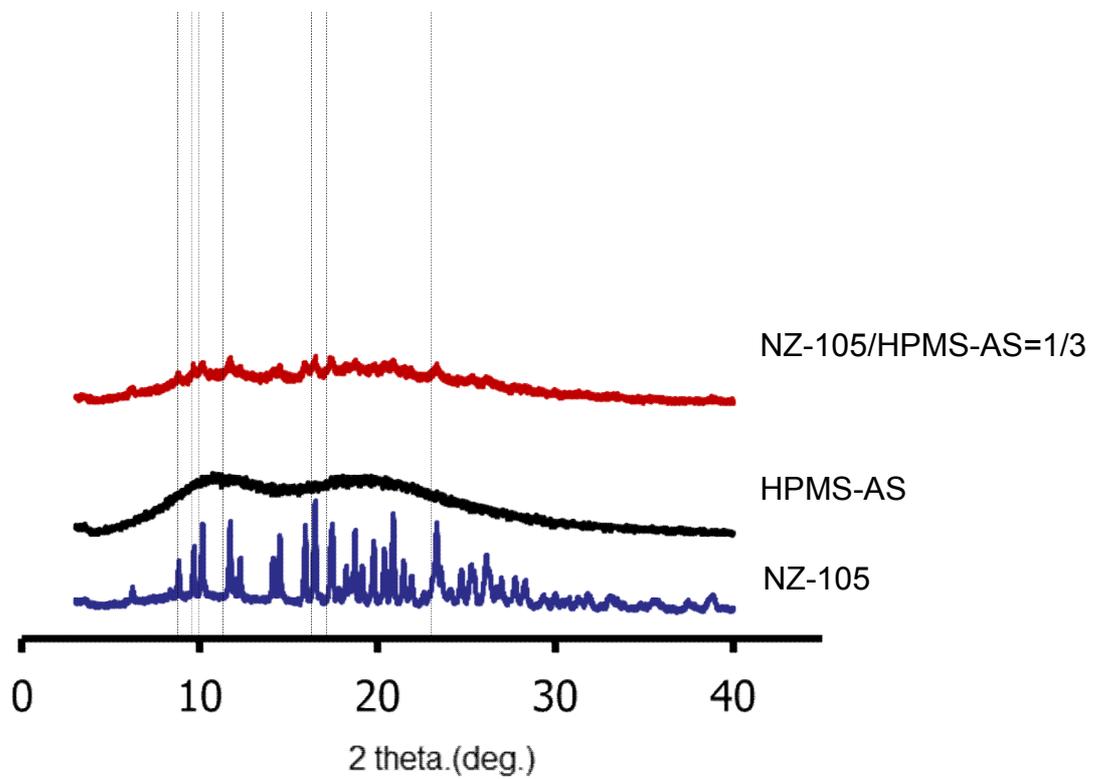


図 24 2 成分系混合物の粉末 X 線回折パターン

3.3.3 溶解促進剤のスクリーニングと最適化

一般にフラックスを添加することにより、物質の融解が促進することが知られている⁶⁸⁾。また、多成分系の方が、融点降下作用を大きくし、より物質を融けやすくする効果を有している。そこで、NZ-105 の融点を降下させる化合物をスクリーニングした結果、グリチルリチン酸、コハク酸、Urea、マルトール及びマンニトールにその効果が認められ⁶⁹⁾、特に尿素が、NZ-105 の融点を著しく降下させた。すなわち、NZ-105 と Urea を 1/0 から 0/1 で混合した試料の DTA を測定した結果、両者の固有の吸熱ピークは消滅し、新たに両者が共融したブロードな吸熱ピークが検出された。また、その共融ピークの温度は、両化合物の比率で変化し、NZ-105 に対する Urea の重量比が 0.2 から 0.5 付近 (モル比で約 2-6 mol) で最も低くなり、その温度は、90°C 付近の値を示した。この吸熱ピークの温度は、NZ-105 の DTA 吸熱ピークと比較すると約 70°C 低く、Urea の吸熱ピークよりも約 45°C 低い。しかもその温度は、水の沸点以下であることから、MW を用いて固体分散体を調製する際に、添加した水分が反応の終点まで系に維持されることにより、系の均一性が保たれ、反応を促進する可能性が示唆された。

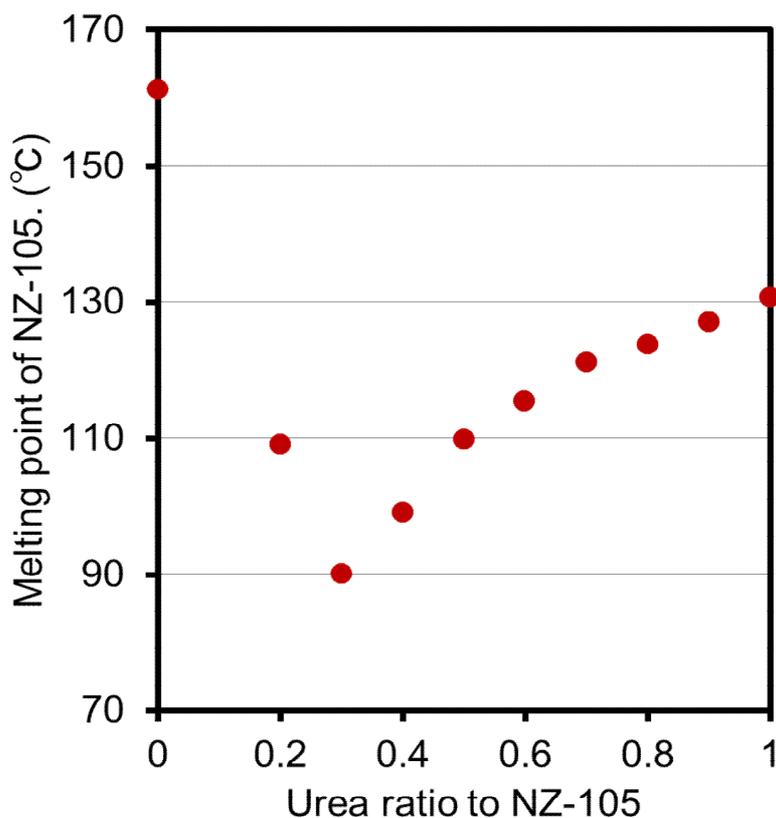


図 25 Urea 混合時の NZ-105 融点 (DTA)

3.3.4 3成分系固体分散体 (NZ-105/HPMS-AS/Urea) の評価

図 26 に示す DSC 曲線より, Urea は 135 °C 付近に吸熱ピークが認められた. 単純混合品 (NZ-105/HPMC-AS/Urea=1/3/0.5, PM) の DSC 曲線は, 100°C から 140°C 付近に幅広い発熱ピークと 150°C 付近に吸熱ピークが観測された. これらのピークは, 恐らく NZ-105 と尿素の相互作用によると推察され, 先の DTA による測定結果を反映するものであった. また, 3 成分系に MW 処理を行ったところ, NZ-105, Urea 及び HPMC-AS の各成分に由来するピークは消失した. 粉末 X 線回折測定の結果では, $2\theta = 22-23^\circ$ 付近に Urea に由来するピークが検出されるものの, 2 成分系と比較して, NZ-105 に由来する回折ピークは認められず, 明確なハローパターンを示した. 以上の結果より, Urea を添加した 3 成分系では, MW 処理によって NZ-105 結晶は完全に非晶質化され, 室温条件で分子分散の状態を維持していることが示唆された

(2 theta.(deg.)

図 27) .

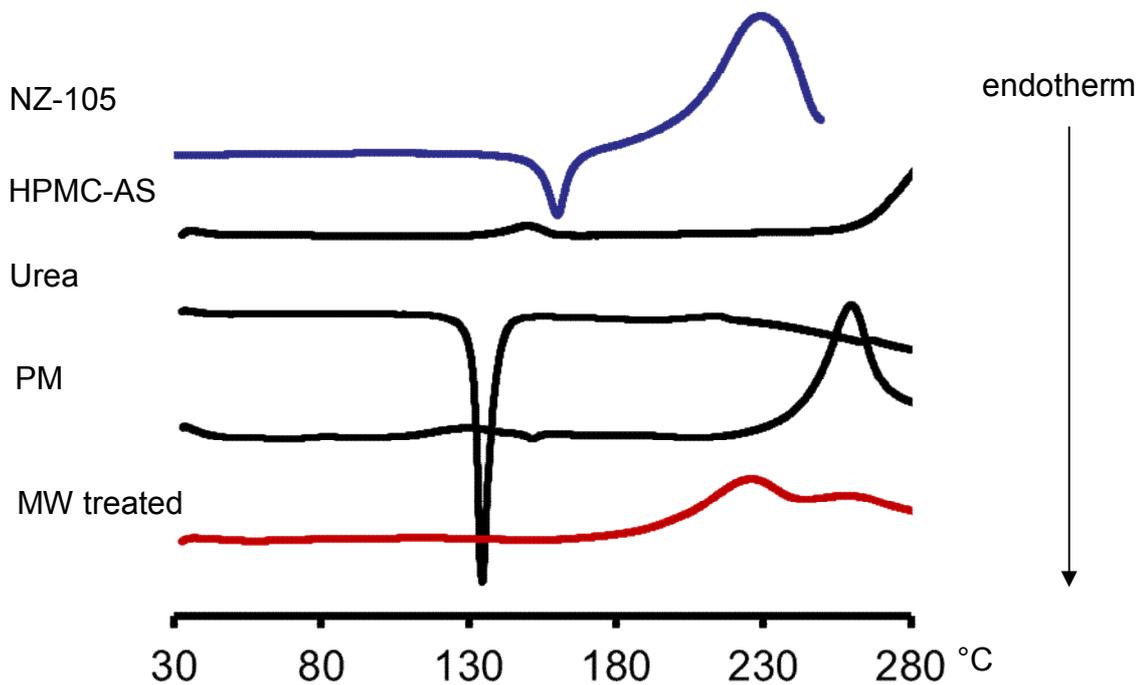


図 26 3 成分系固体分散体の DSC 曲線

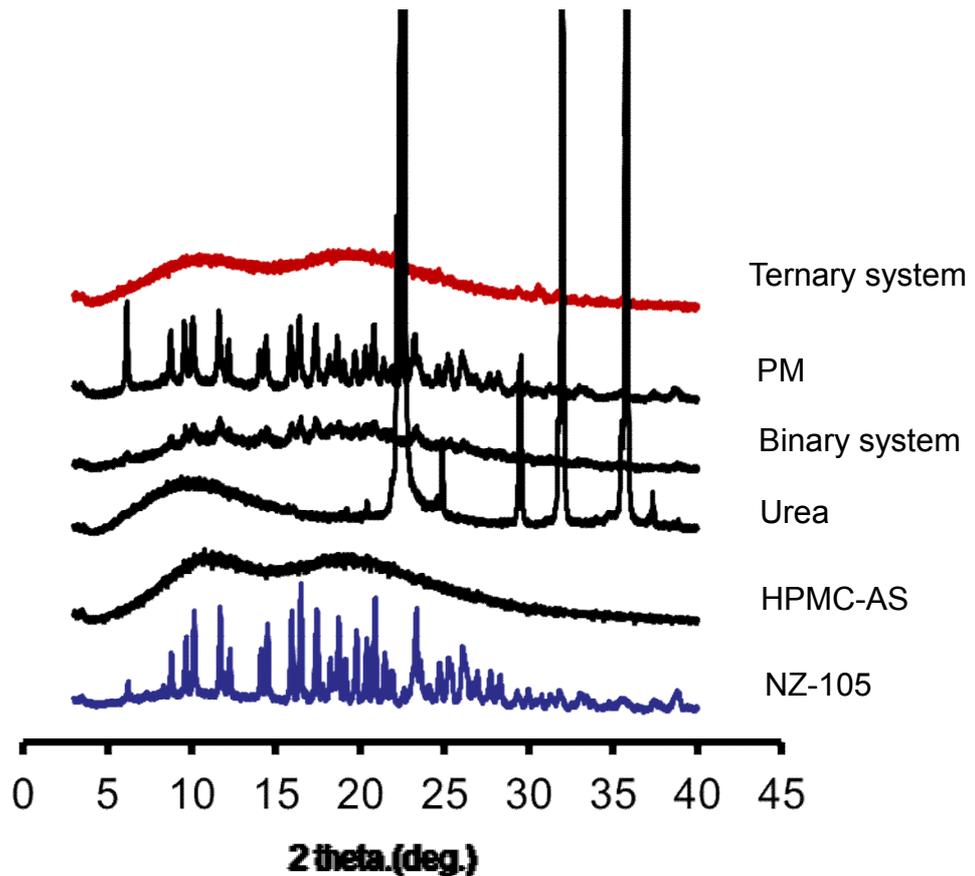


図 27 3 成分系固体分散体の粉末 X 線回折パターン

3.3.5 2 および 3 成分系の溶出プロファイル : *in vitro*

2 及び 3 成分系 MW 処理物の溶出性を日局溶出試験第 2 法（パドル法）で評価した（図 28）。NZ-105 は難水溶性薬物であり、本条件では、ほとんど溶出されなかった。2 成分系（NZ-105/HPMC-AS=1/3）の溶解性は、NZ-105 単一と比較して差はなく、溶出性は改善されなかった。2 成分系では NZ-105 の結晶が残存（非晶質化が不十分）していることが示唆された熱分析および粉末 X 線回折の結果と一致していた。一方、3 成分系の溶出プロファイルは、NZ-105 単独と比較して著明に向上した。その溶出量は、Urea の含有比率に伴い増加する傾向が認められ、30 分値で NZ-105 単独より最大 14 倍向上した。3 成分系では MW 処理により NZ-105 が非晶質化されたため、溶出試験液中で過飽和状態に移行していると考えられた。

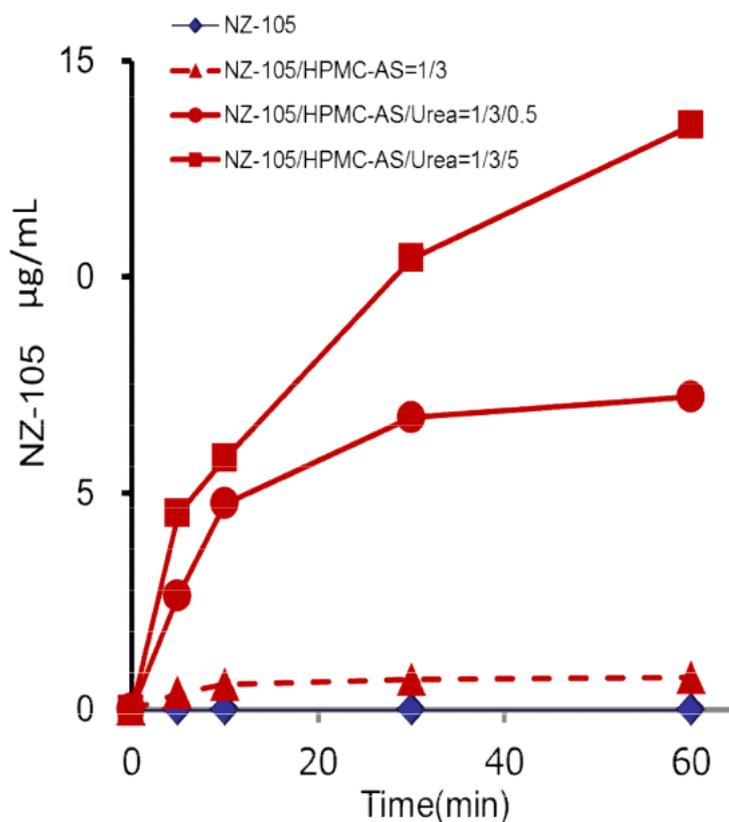


図 28 溶出試験結果：2 成分系および 3 成分系

3.3.6 Pharmacokinetics

NZ-105, 3 成分系固体分散体 (NZ-105/HPMC-AS/Urea = 1/3/0.5) の吸収性をビーグル犬で評価した. 時間に対する血漿中エホニジピン濃度の平均値をプロットした (図 29, 表 7). NZ-105 単体の T_{max} は 3.33 hr, C_{max} は 5.8 ng/mL であり, AUC は, 25.53 ng·hr/mL であった. 一方, 3 成分系固体分散体の吸収性は, T_{max} が 1.33 hr, C_{max} が 69.47 ng/mL, AUC が 206.07 ng·hr/mL であった. この結果は NZ-105 単体と比較して, C_{max} で 12 倍, AUC で 8 倍であり, *in vitro* における溶解性改善の結果を反映し, 吸収性も十分に改善されたことから, 本手法の妥当性が確認された.

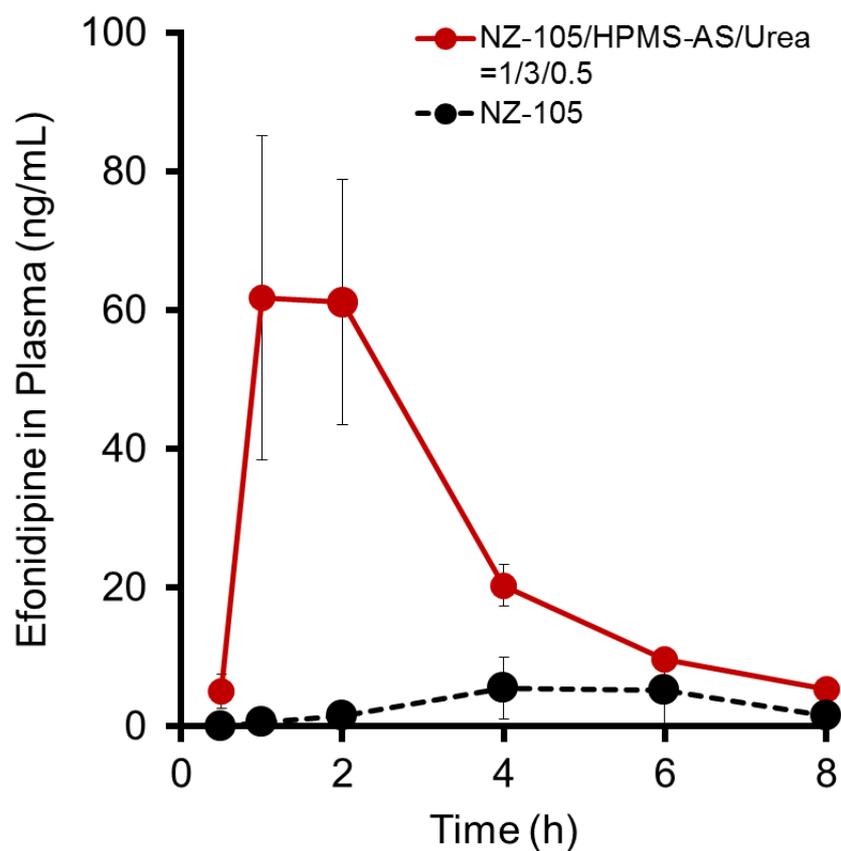


図 29 NZ-105 ビーグル犬 吸収性試験

表 7 薬物動態パラメーター

	NZ-105	3 成分系固体分散体 NZ-105/HPMC-AS/Urea=1/3/0.5
AUC ₀₋₈ :ng · h/mL	25.4	206.1
Tmax:h	3.3	1.3
Cmax:ng/mL	5.8	69.5
experimental animal		beagle dog
Number		3
Dosage		60mg/body
Administration		Oral

3.4 小括

本研究では、新たに MW 技術を用い、NZ-105 の 3 成分系固体分散体の調製法を確立した。本法は、処理時間が数分であり、且つ有機溶媒フリーであることから、環境負荷と省エネの観点から有用な方法であると考えられる。また、Landel®錠の製造（噴霧乾燥法）で用いる核粒子が不要となり、用いる噴霧乾燥法で用いる核粒子が不要と

なり，製剤のコンパクト化が可能になる点でも有用ある．それは製造コスト，ひいては薬価の削減にも繋がるが，何よりも患者の服薬しやすさが期待できることが最大の利点である．

処方検討では，一般的な高分子キャリアに融点降下作用を有する Urea を原薬に対して 0.2-0.5 程度加えることにより，非晶質化を促進させ，2 成分系固体分散体と比較して良好な結果を得た．また，これらの固体分散体は，*in vitro*（溶出試験）による溶解性改善の確認に加え，ビーグル犬を用いた *in vivo* 試験により，NZ-105 原薬より AUC (ng·hr/mL) で 8 倍吸収性が改善され，本法の有用性を示した．

上記の研究で得られた知見は，近年益々高度化している製剤化検討において有用な情報となることが期待される．

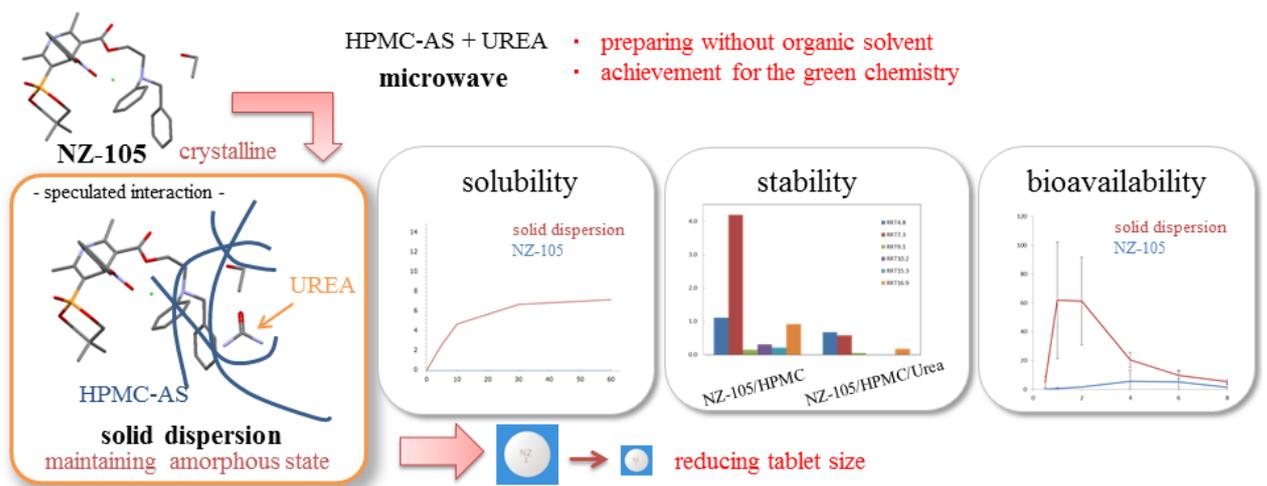


図 30 MW を用いた 3 成分系の固体分散体調製方法まとめ

4.3 成分系固体分散体の生成メカニズムの解明

4.1 本研究の目的

本研究では, NZ-105/HPMC-AS/Urea の3成分系固体分散体の生成メカニズムの解明について検討した.

4.2 試料および実験方法

4.2.1 試料

NZ-105 (Lot No. EFH-001) は, 日産化学工業株式会社から支給されたものを使用した. HPMC-AS は, 信越化学化学製を用いた. Urea は, 和光純薬製を用いた.

4.2.2 MW を用いた固体分散体 (SD) の調製

表 8 の No.3 処方に従って固体分散体を調製した. 室温にて NZ-105 と賦形剤を混合し, 水を加え, Homodisper type 2.5 を用い 5000 rpm, 10-15min 間分散した. 得られた溶液をテフロン容器に均一になるように移し, Micro wave batch type oven MOH-3000 を用いて乾燥した. MW 照射時は, 光ファイバー温度計 F1000-4S にて, その品温をリアルタイムで計測した. 得られた固形物をピンミル Picoflex UPZ40 pin type を用い, 30000 rpm にて粉碎し, 篩過後, 80 μ m- 250 μ m の粉末を試験に供した.

表 8 処方と MW 処理条件

No.	1	2	3	4	5	6
API/HPMC-AS/Urea ratio	1/3/0	1/0/0.5	1/3/0.5	1/3/1	1/3/3	1/3/5
Urea/API molar ratio	-	5.95	5.95	11.89	35.67	59.46
NZ-105	5 g	5 g	5 g	5 g	2.5 g	2.5 g
HPMC-AS	15 g	0 g	15 g	15 g	7.5 g	7.5 g
Urea	0 g	2.5 g	2.5 g	5 g	7.5 g	12.5 g
Water	20 mL	20 mL	20mL	20mL	20 mL	20 mL
Power	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW	1.5 kW
Air temp.	130°C	130°C	130°C	130°C	130°C	130°C

4.2.3 真空乾燥を用いた固体分散体 (SD) の調製

表 8 の処方 No.3 について, NZ-105、HPMS-AS 及び Urea を混合し, 水を加え, Homodisper type 2.5 (PRIMIX Corporation, Osaka, Japan) を用い 5000 rpm, 10-15min で分散した. その後, テフロン容器に移し, Vacuum Drying Oven VOS 300VD (TOKYO RIKAKIKAI CO., LTD., Miyagi, Japan) を用いて乾燥した. 得られた固形物をピンミル Picoflex UPZ40 (HOSOKAWA MICRON, Osaka, Japan) を用い, 30000 rpm にて粉碎し, 篩過後, 80 μ m- 250 μ m の粉末を試験に供した.

4.2.4 環境制御型 SEM : E-SEM

低真空環境制御走査電子顕微鏡 (Quanta 200 : FEI, Tokyo, Japan) を用い、室温にて試料の形状および表面状態を観察した。

4.2.5 吸水量および吸水速度

粉末 1 g をカラムに充てんし、High Performance Surface Tensiometer DY-500 (Kyowa Interface Science Co., Ltd., Saitama, Japan) を用い、室温にて、水を浸透させ、粉体への水吸湿量を測定し、粉体の濡れ性を評価した。

4.2.6 固体分散体中の分解物評価と塩酸含量

固体分散体中の NZ-105 量及び分解物は、高速液体クロマトグラフィー (LC-20 series, Shimadzu, Kyoto, Japan)にて測定した。NZ-105 として 100 mg 相当量を、メタノール 100 mL を加え、激しく振り混ぜ、室温にて遠心分離し (10000 rpm, 30 min) , その上澄みを測定した。移動相は、MeOH 400 mL/Acetonitrile 300 mL/0.1 mol/L aqueous ammonium acetate solution 300 mL 混合液に Tetra-n-butylammonium bromide 1.6 g を加えたものを用いた。測定波長は、254 nm にて、カラムは、Spherisorb ODS-2 (I.D. 5 mm × Length 25 cm, P.D.5 μm: Waters, Tokyo, Japan) を用いた。

固体分散体中の塩化物イオンの量は、硝酸銀による銀鏡反応を用い滴定装置 AT400-win (Kyoto electronics manufacturing, Kyoto, Japan) にて測定した。NZ-105 として 0.2 g 相当量を、アセトン:水混液 80 mL を加えて溶解し、0.05 mol/L aqueous silver nitrate solution にて滴定した。

4.2.7 $^1\text{H-NMR}$ および $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトル

$^1\text{H-NMR}$ 及び $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルは、NZ-105, HPMC-AS, Urea 及び MW 処理品を d_6 -DMSO に溶かし、JNM-ECA500 (JEOL RESONANCE, Tokyo, Japan) を用い、テトラメチルシラン (TMS) を内標準物質として δ を求めた。尚、NZ-105 についてはスペクトル帰属のため、HMQC, COSY, HMBC 測定を行った。

4.3 結果と考察

4.3.1 吸水量および吸水速度の比較

3成分系と2成分系のスラリーを比較した結果、3成分系は、クリーム状で均質なスラリーであった(図21参照)。そこで、性状の違いをE-SEMおよび吸湿性にて確認した。その結果、真空乾燥処理品の粒子は、結晶と推定される粒子が観察されるのに対して、MW処理品の粒子表面は、非常になめらかであった(図31)。MW処理品の吸水量は、単純混合品の約15倍、真空乾燥処理品の約1.5倍であった。また、それらの吸収挙動は、真空乾燥処理品が吸湿初めから一気に立ち上がるのに対して、MW品は、徐々に吸収していた(図32,表9)。以上の結果より、溶解性のUreaの添加は融点降下だけではなく、高分子の可塑性の向上あるいは粒子表面の改質などにも寄与していることが推察された。MW処理は、他の乾燥法(真空乾燥等)と比較して、試料全体の均質な加熱も特徴としていることから、本法により3成分が分子レベルで均一に分散し、粒子の表面から内部に渡る濡れ性の向上も溶解性の改善に寄与していると考えられた。

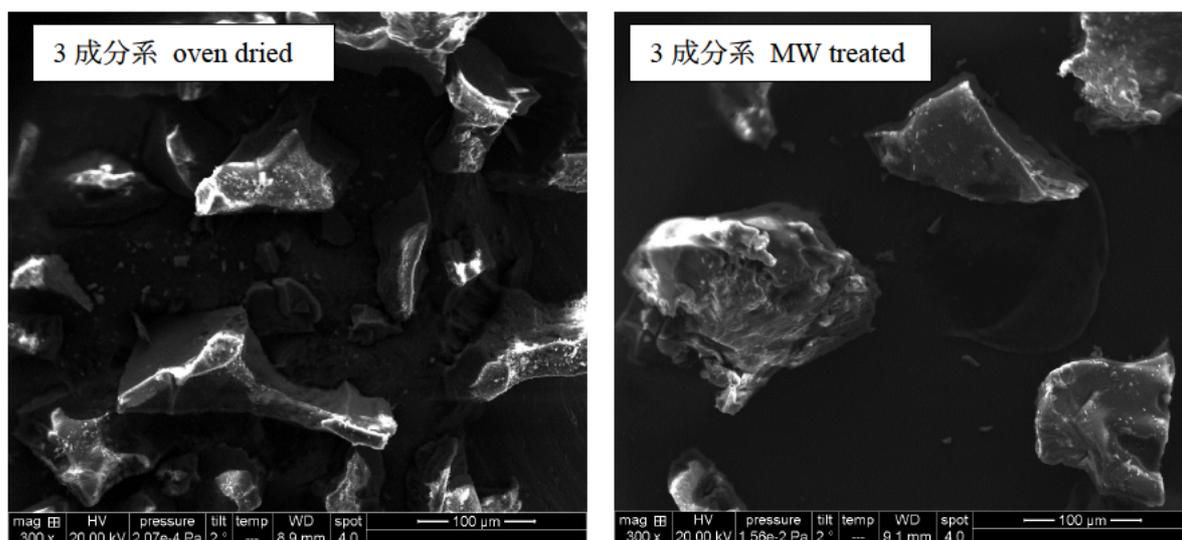


図 31 SEM 画像 左：真空乾燥処理品 右：MW 処理品

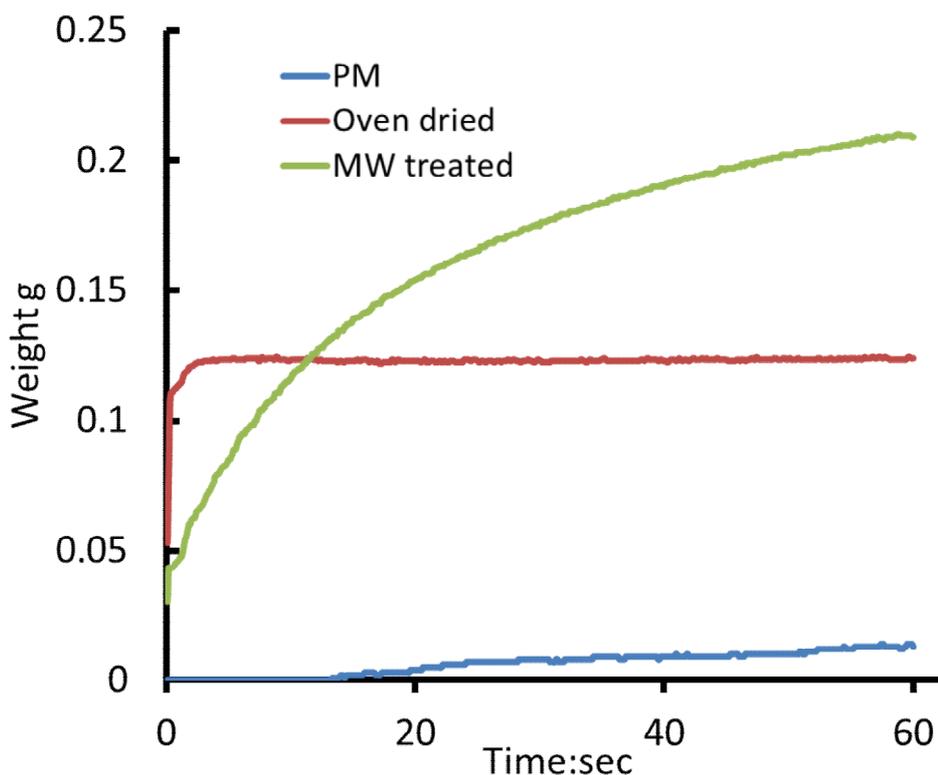


図 32 粉体の吸水曲線

表 9 粉体の吸水量と吸水速度

	PM	Oven	MW
Total amount (60 min)	0.22 g	0.12 g	0.20 g
Wet speed	0.000714 g/s	0.358 g/s	0.143 g/s

4.3.2 MW を用いた固体分散体中の原薬の分解物プロファイル

MW 法に限らず、製剤化工程における加熱操作では第一に原薬の分解が懸念されるため、HPLC 測定における不純物プロファイルの変化について検討した (図 33)。2 成分系 (NZ-105/HPMC-AS=1/3) の MW 処理後における NZ-105 の分解物総量、約 5% 程度であり、特に、RT 7.3 min のピークが著しく生成していた。一方、Urea を含む 3 成分系では、RT 7.3 min 付近のピークを含むすべての分解物が減少傾向にあり、NZ-105 に対する Urea の重量比を 0.5 以上 (6 mol 以上) にした場合、NZ-105 の含量は 97%以上を維持できることが分かった。

NZ-105 は塩酸塩エタノール付加物であるため、MW 処理後の塩化水素の量を測定した。その結果、尿素を含まない 2 成分系において、塩化水素の量は NZ-105 に対して 0.5%以下に減少しており、MW 乾燥時に揮発・脱離していることが考えられた (図

34) . 一方, 3 成分系では, NZ-105 に対する尿素の重量比が 0.5 以上 (6 mol) 以上の場合, 原薬に付加している塩化物イオンの理論値 (5%) に近い量が存在していた.

上述した RRT 7.3 min の分解物は, これまでの検討により脱ベンジル体であることが分かっている⁷⁰⁾. その分解経路は, NZ-105 から脱離した塩化物イオンが反応し, ベンジルクロライドと脱ベンジル体 (RRT 7.3 min) が生成すると推察される. したがって, Urea は何らかの相互作用により, MW 照射による塩化物イオンの脱離を抑制し, 原薬の分解を低下させる働きがあると推察された.

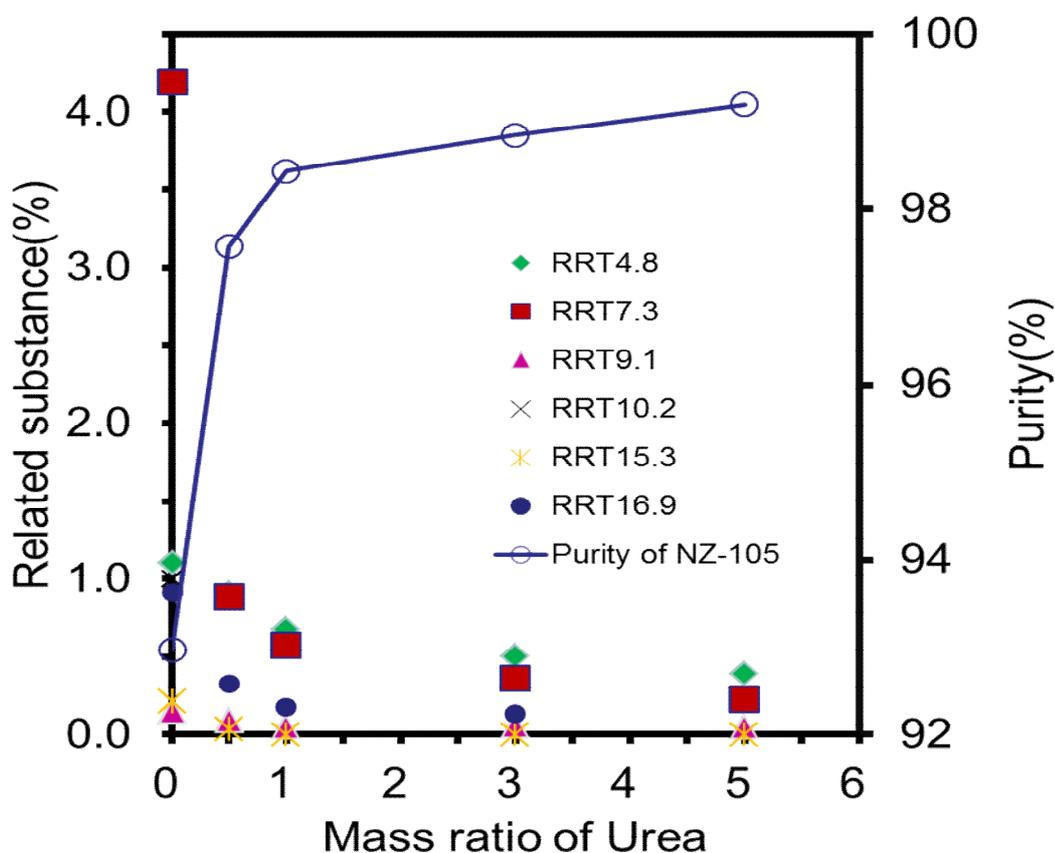


図 33 分解物プロファイル(HPLC)

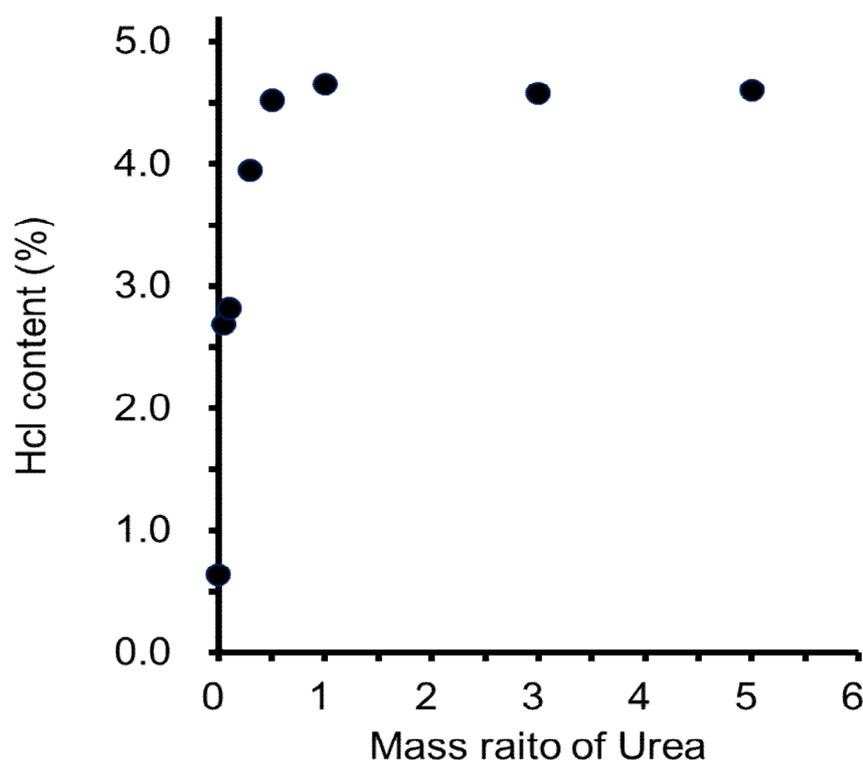


図 34 MW 処理物中の塩化水素量

4.3.3 NZ-105 と添加剤（HPMC-AS および Urea）の相互作用

NZ-105 と Urea and/or HPMC-AS の分子間に相互作用が示唆されたため、NMR 測定により解明を試みた。しかしながら、固体 2D-NMR 測定の結果はシグナルがブロードとなり、ピークの帰属が困難であった。また、本剤は経口製剤であることから、水溶液中での相互作用を推定するために水系の重水素化溶媒も検討したが、NZ-105 の溶解度が低いため、良好な S/N 比を得ることができなかった。そこで本研究では 3 成分間の相互作用について僅かでも情報を得るために、DMSO 重溶媒を使用した通常の NMR 測定を行った。NZ-105 の ^{13}C -NMR は、それぞれ、No. 11: 126.8 ppm(s), No.12: 126.6 ppm(s), No. 15: 116.0-117.0 ppm (broad), No. 16: 111.0- 113.0 ppm(broad), No. 21: 60.6-60.8 ppm(broad), No. 23: 53.6-54.4 ppm(broad), No. 24: 49.2-50.0 ppm(broad)に、特徴的なカーボンの化学シフトが検出された。また、添加剤は、159.8 ppm(s)に Urea 由来の特徴的なピークが検出され、HPMC-AS は、60.1 ppm (broad), 59.4 ppm (broad), 58.6 ppm (broad)及び 57.8 ppm (broad)に特徴的なピークが検出された。3 成分系の ^{13}C -NMR と各添加剤のピークを比較した結果、Urea に由来するピークが 0.3 ppm 程度、低磁場にシフトした。また、NZ-105 に由来するピークは、No. 11, 12, 15, 16, 23, 24 のピーク形状がシャープになるとともに高磁場シフトし、No. 21 のピークはシャープになるとともに低磁場へシフトした (図 35)。HPMC-AS のピークには MW 処理前後で特に変化が認められなかった (参考情報：NMR 帰属参照)。以上の結果より、Urea は、

NZ-105 の構造中の 3 級アミン，すなわち，HCl 塩を形成している部分の炭素原子と相互作用していることが分かった．本結果は，重 DMSO 溶液中ではあるものの，分子間相互作用が生じやすい位置を示していると考えられることから，NZ-105 の 3 成分系において，Urea が包接化合物⁷¹⁾等を形成し塩化物イオンをトラップし，または，3 級アミンを保護して脱ベンジル化反応を阻害することにより，分解抑制に寄与していることが示唆された．

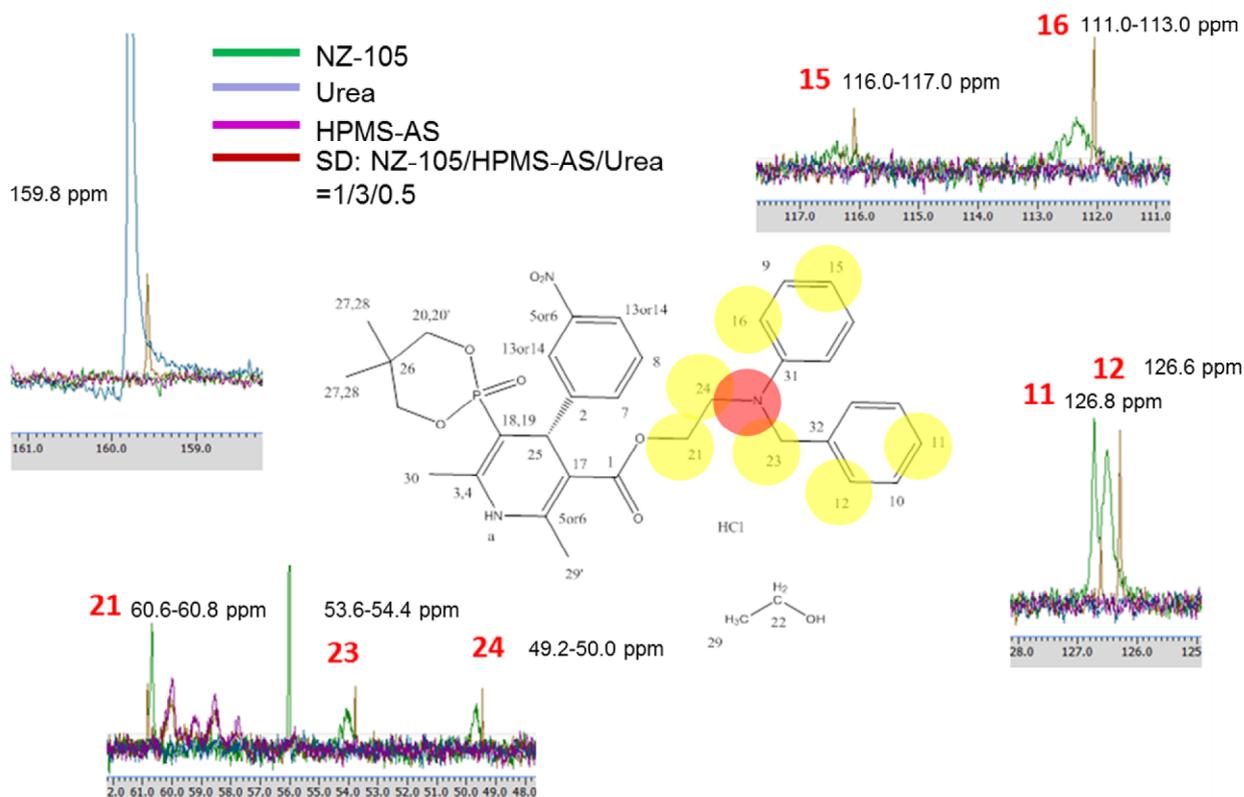


図 35 ¹³C-NMR 相関

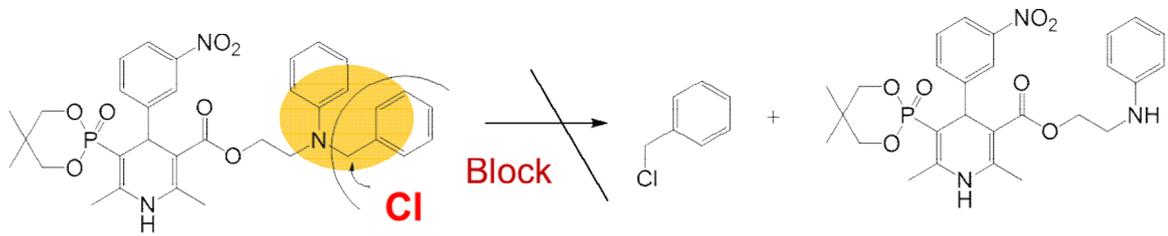
4.4 小括

本研究では，第 3 成分系の固体分散体のキャラクタリゼーションを行った．第 3 の成分である Urea は，高分子の可塑性に由来する濡れ性を向上させ溶解性の改善に寄与していることが推察された．また，Urea を添加することにより，塩化物イオンの脱離により促進される分解物を抑制する役割を持っていることを突き止めた．また，¹³C-NMR を用いて，高分子の HPMC-AS 及び Urea は，NZ-105 の構造中の 3 級アミン，すなわち，塩酸塩を形成している部分付近の炭素原子と密接に相互作用しており，それらが，塩化物イオンをトラップ，あるいは，その周辺を保護することにより脱ベンジル化の反応を妨害していると推察された．

以上，上記の研究で得られた尿素の効果・作用は，他の化合物の製剤化に応用が展

開できると期待される。

Debenzyl reaction block



Urea complex

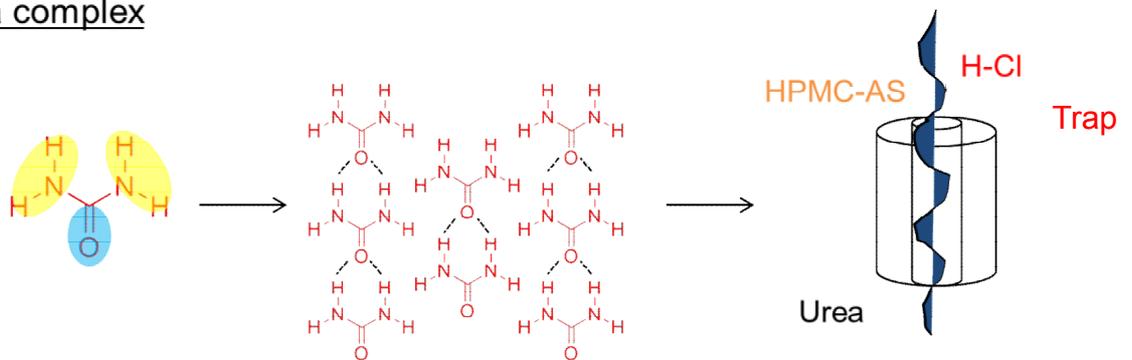


図 36 Urea の役割 (イメージ) : 分解抑制

5. 結語

今回、我々は、医薬品原薬として開発された原薬形態として非常に稀有な事例である溶媒和物の物理化学的性質を解明した。すなわち、和物を有機溶媒（エタノール）で構成する NZ-105 の結晶構造解析により、バルキーなホスホン酸基とジフェニル基が塩酸及びエタノール等を取り込める程の空間を生み出だし、安定な溶媒和物を形成していることを明らかにした。更に、付加しているエタノール分子は、NZ-105 の結晶構造中で、水素結合を形成し、自分自身が揮発するまで、あたかもフタのように振る舞い塩化物イオンの揮発・脱離を防ぐ役割を果たしていた。その結果、塩化物イオンが脱離すると進行する分解反応を抑制し、塩酸塩としての結晶構造の維持と、熱安定性の向上に大きく寄与していた。

溶解性改善法の検討は、新たに MW 技術を用い 3 成分系の固体分散体の調製法を確立した。また、BCS Class 2 原薬に分類される NZ-105 を用いて本法の妥当性を検証した。すなわち、本法は、処理時間が数分（簡便）であり、核粒子等を使わず（大型化抑制）且つ、有機溶媒フリー（環境負荷）の有用な方法である。

処方検討では、一般的な高分子キャリアに融点降下作用を有する尿素を原薬に対して 0.2-0.5 程度（重量比）加えることにより、非晶質化を促進させ、2 成分系固体分散体と比較して良好な結果を得た。また、これらの固体分散体は、*in vitro*（溶出試験）による溶解性改善に加え、ビーグル犬を用いた *in vivo* 試験により、NZ-105 原薬より AUC (hr·ng/mL) で 8-9 倍吸収性が改善され、本法の有用性が示された。

固体分散体のキャラクタリゼーションでは、第 3 成分の Urea が可塑性に由来する濡れ性の向上や塩化物イオントラップによる分解物の抑制の役割を持っていることを突き止めた。また、¹H-NMR および、¹³C-NMR を用いて、高分子の HPMC-AS 及び Urea は、NZ-105 の構造中の 3 級アミン、すなわち、塩酸塩を形成している部分付近の炭素原子と密接に相互作用していると推察した。

以上、本研究で得られた知見は、今後の医薬品開発における原薬形態の選定において多様性をもたらすと共に、近年益々高度化している製剤化検討においても有用な情報となることが期待される。

6. 参考文献

- 1) Miller S. P. F., Raw A. S., Yu L. X., “*Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry*”, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006, 385-403.
- 2) Sorrenti M., Catenacci L., Bruni, G., Luppi B., Bigucci F., Bettinetti, G., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **63**, 53-61 (2012).
- 3) Huang L. -F., Tong W.-Q., *Adv. Drug Delivery Rev.*, **56**, 321-334 (2004).
- 4) Agrawal, S., Ashokraj Y., Bharatam P. V., Pillai O., Panchagnula R., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **22**, 127-144 (2004).
- 5) Carini, J. P., Pavei, C., Silva A. P. C., Machado, G., Mexias, A. S., Pereira V. P., Fialho S. L., Mayorga P., *Int. J. Pharm.*, **372**, 17-23 (2009).
- 6) Chieng N., Rades T., Aaltonen, J., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **55**, 618-644 (2011).
- 7) International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonised Tripartite Guideline, Specifications: Test procedure and acceptance criteria for new drug substance and new drug products: chemical substance Q6A, 1999.
- 8) International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonised Tripartite Guideline, Pharmaceutical development Q8 (R2), 2009.
- 9) International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonised Tripartite Guideline, Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological / Biological Entities Q11, 2012.
- 10) Haleblan J. K., *J. Pharm. Sci.*, **64**, 1269-1288 (1975).
- 11) Peterson M. L., Hickey M. B., Zaworotko M. J., Almarsson, O., *J. pharm. pharm. sci.*, **9**, 317-326 (2006).
- 12) Tauvel, G., Sanselme M., Coste-Leconte S., Petit S., Coquerel G., *J. Mol. Struct.*, **936**, 60-66 (2009).
- 13) Schultheiss N., Smit J. P., Hanko J. A., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **38**, 498-503 (2009).
- 14) Griesser U. J., “*Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry*”, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006, 211-233.
- 15) International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonised Tripartite Guideline, Impurities: Guideline for Residual Solvents Q3C (R5), 2011.
- 16) Amidon, G.L., Lennernas, H., Shah, V.P., Crison, J.R., *Pharm. Res.*, **12**, 413-420 (1995).
- 17) Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System; Food and Drug Administration: Rockville, MD, 2000.
- 18) Ku, M.S., Dulin, W., *Pharm. Dev. Technol.* **17**, 285–302 (2012).

- 19) Takagi, T., Ramachandran, C., Bermejo, M., Yamashita, S., Yu, L.X., Amidon, G.L., *Mol. Pharm.*, **3**, 631–643 (2006).
- 20) Takagi, T., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **134**, **24**, 24-17 (2009).
- 21) Liversidge E. M., Liversidge G. G., Cooper E.R., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **18**, 113-120 (2003).
- 22) Rasenack N., Muller B.W., *Pharm. Res.* **19**, 1894-1900 (2003).
- 23) Qiang F., Jin S., Xiaoyu A., Peng Z., Mo L., Yongjun W., Xiaohong L., Yinghua S., Xiaofan S., Le S., Xiaopeng H., Meng Z., Yuyang Z., Siling W., Zhonggui H., *Int. J. Pharm.*, **448**, 290-297 (2013).
- 24) Kumar B. S., Saraswathi R., Kumar K.V., Jha S. K., Venkates D. P., Dhanaraj S. A., Development and characterization of lecithin stabilized glibenclamide nanocrystals for enhanced solubility and drug delivery, *Drug Deliv.*, **21**, 173-184 (2014).
- 25) Marta R. A., Sylvie G., Davy G, Marion P, Damien J, Elisabeth R. M., Jean L. V., Robert G., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **95**, 203-414 (2015).
- 26) Becket G., Schep L. J., Tan M. Y., *Int. J. Pharm.* **179** 65–71 (1999).
- 27) Tao Y., Jiangling W., Huibi X., Xiangliang Y., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **70** 439–444 (2008)
- 28) Lee S. C., Huh K. M., Lee J., Cho Y. E., Raymond E. G., Park K., *Biomacromolecules*, **8**, 202–208 (2007).
- 29) Sekiguchi K., Obi N., *Chem. Pharm. Bull.*, **9**, 866-872 (1961).
- 30) Chiou W. L., Riegelman S., *J. Pharm. Sci.*, 1281-1302 (1971).
- 31) Mariarosa M., Guglielmo Z., Nicola D. Z., *Powder Technology* **195**, 259-263 (2009).
- 32) Mariarosa M., Barbara B., Pietro B., Francesco P., *Int. J. Pharm.*, **361**, 125-130 (2008).
- 33) Démuth B., Nagy Z K., Balogh A., Vigh T., Marosi G, Verreck G, Assche I. V., Brewster M. E., *Int. J. Pharm.* **486**, 268–286 (2015).
- 34) Kappe C. O., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 6250-6284 (2004).
- 35) Wiesbrock F., Hoogenboom R., Schubert U. S., *Macromol. Rapid Commun.*, **25**, 1739-1764 (2004).
- 36) Horikoshi S., Shinohara N., Takizawa H., Fukushima J., “Microwave Chemistry reaction, process and application for engineering”, SANKYO SHUPPAN Co., Ltd., Tokyo, 2013.
- 37) Zhou J., Shi C., Mei B., Yuan R., Fu Z., *J. Mater. Process. Tech.*, **137**, 156-158 (2003).
- 38) Passerini N., Albertini B., Gonzáles-Rodríguez M. L , Cavalleri C., *J. Pharm. Sci.*, **15**, 71-78 (2002).
- 39) Masuda Y., Takeguchi M., Arakawa C., Sakai T., Hibi M., Tanaka S., Shigenobu K., Kasuya Y., *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **304**, 247-264 (1990).
- 40) Masuda Y., Tanaka S., *Cardiovascular Drug Reviews*, **12**, 123-135 (1994).
- 41) Yamashita T., Masuda Y., Sakai T., Tanaka S., Kasuya Y., *Jpn J Pharmacol Jan J.*

- Pharmacol.*, **57**, 337-348 (1991).
- 42) Matsumoto H., "Development of Process Chemistry", CMC Publishing Co., Ltd., Tokyo, 2007, 253-264.
- 43) Sakoda R., Kamikawaji Y., Seto K., *Chem Pharm Bull*, **40**, 2362-2369 (1992).
- 44) Sakoda R., Matsumoto H., Seto K., *Chem Pharm Bull*, **40**, 2377-2381 (1992).
- 45) Okabe T., Inoue T., Miyamoto Y., Miyajima M., Sato H., Takahashi M., Seto K., Otsuka M., Matsuda Y., *Pharm. Sci.*, **1**, 255-258 (1995).
- 46) Sheldrick G.M., Thesis, University of Göttingen, Germany, 1996.
- 47) Sheldrick G. M. , *Acta Crystallographica Section A*, 2008, **64**, 112-122.
- 48) Juhász M., Takahashi S., Fujii T., *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **91**, 114-118 (2011).
- 49) Kamruddin M., Ajikumar P. K., Dash S., Krishnan R., Tyagi A. K., Krishan, K., *Thermochim. Acta*, **287**, 13-23 (1996).
- 50) Karle J. M., Karle I. L., *Acta Crystallographica Section C*, **44**, 1605-1608 (1988).
- 51) Furuseth S., Karlsen J., Mostad A., Rømming C., Salmén R., Tønnesen H. H., *Acta Chem. Scand.*, **44**, 741-745 (1990).
- 52) Haleblian J., McCrone W., *J. Pharm. Sci.*, **58**, 911-929 (1969).
- 53) Vippagunta A. R., Brittain H. G., Grant D. J. W., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **48**, 3-26 (2001).
- 54) Görbitz C. H., *Chemistry – A European Journal*, **7**, 5153-5159 (2001).
- 55) Görbitz C. H., *Acta Crystallographica Section C*, **60**, o810-o812 (2004).
- 56) Görbitz C. H., *Acta Crystallographica Section E*, **60**, o626-o628 (2004).
- 57) Görbitz C. H., *Acta Crystallographica Section E*, **60**, o647-o650 (2004).
- 58) Ishii H., Yamaguchi K., Seki H., Sakamoto S., Tozuka T., Oguchi T., Yamamoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1022-1027 (2002).
- 59) Mimura H., Gato K., Kitamura S., Kitagawa T., Kohda S., *Chem. Pharm. Bull.* **50** 766-770 (2002).
- 60) Tamazawa K., Arima H., Kojima T., Isomura Y., Okada M., Fujita S., Furuya T., Takenaka T., Inagaki O, Terai M., *J. Med. Chem.*, **29**, 2504-2511 (1986).
- 61) Miyamae A., Koda S., Morimoto Y, *Chem Pharm Bull*, **34**, 3071-3078 (1986).
- 62) Triggle A. M., Shefter E., Triggle D. J., *J. Med. Chem.*, **23**, 1442-1445 (1980).
- 63) Fosshem R., Svarteng K., Mostad A., Røemming C., Shefter E., Triggle D. J., *J. Med. Chem.*, **25**, 126-131 (1982).
- 64) Fosshem R., Joslyn A., Solo A. J., Luchowski E., Rutledge A., Triggle D. J., *J. Med. Chem.*, **31**, 300-305 (1988).
- 65) Fosshem R., *J. Med. Chem.*, **29**, 305-307 (1986).
- 66) Tanaka H., Shigenobu K., *J. Pharmacol. Sci.*, **99**, 214-220 (2005).
- 67) Tanaka H., Namekata I., Komikado C., Kawanishi T., Shigenobu K., *Current Topics in Pharmacology*, **11**, 1-15 (2007).
- 68) Ciftci O. N., Temelli F., *J. of Supercritical Fluids*, **92**, 208-214 (2014).
- 69) Miyamoto M., Oda T, (Nissan chemical industries, Ltd. Japan), US6462093B1,

2002.

70) Otsuka M., Maeno Y., Fukami T., Inoue M., Tagami T., Ozeki T., *Cryst. Eng. Comm.* **17**, 7430-7436 (2015).

71) Smith. A. E, *Acta Crystallogr.*, **5**, 224 (1952).

7. 基礎となる報文

M. Otsuka, Y. Maeno, T. Fukami, M. Inoue, T. Tagami, T. Ozeki

Developmental considerations for ethanolates with regard to stability and physicochemical characterization of efonidipine hydrochloride ethanolate

CrystEngComm, 2015, **17**, 7430-7436

M. Otsuka, Y. Maeno, T. Fukami, M. Inoue, T. Tagami, T. Ozeki

Processing the solid dispersion of efonidipine hydrochloride ethanolate by using microwave technology for improvement of physicochemical and pharmacokinetic properties

in preparation

8. 謝辞

本研究を進めるにあたり，共同研究者である，明治薬科大学 深水啓朗教授，井上元基助教および日産化学工業株式会社 物質科学研究所 前野祐介研究員に調査のあり方や考察の方法など，細部にわたるご指導をいただきました．ここに感謝いたします．

名古屋市立大学 薬学部 薬物送達学教室並びの日産化学工業株式会社 物質科学研究所および生物科学研究所のメンバーには常に刺激的な議論を頂き，精神的にも支えられました．本当に，ありがとうございました．

最後に，体調管理や週末の家族サービスを我慢してくれた家内および3人の愛する娘達に感謝します．これからも，末永くよろしく申し上げます．

9. 参考情報

9.1 単結晶 X 線構造解析

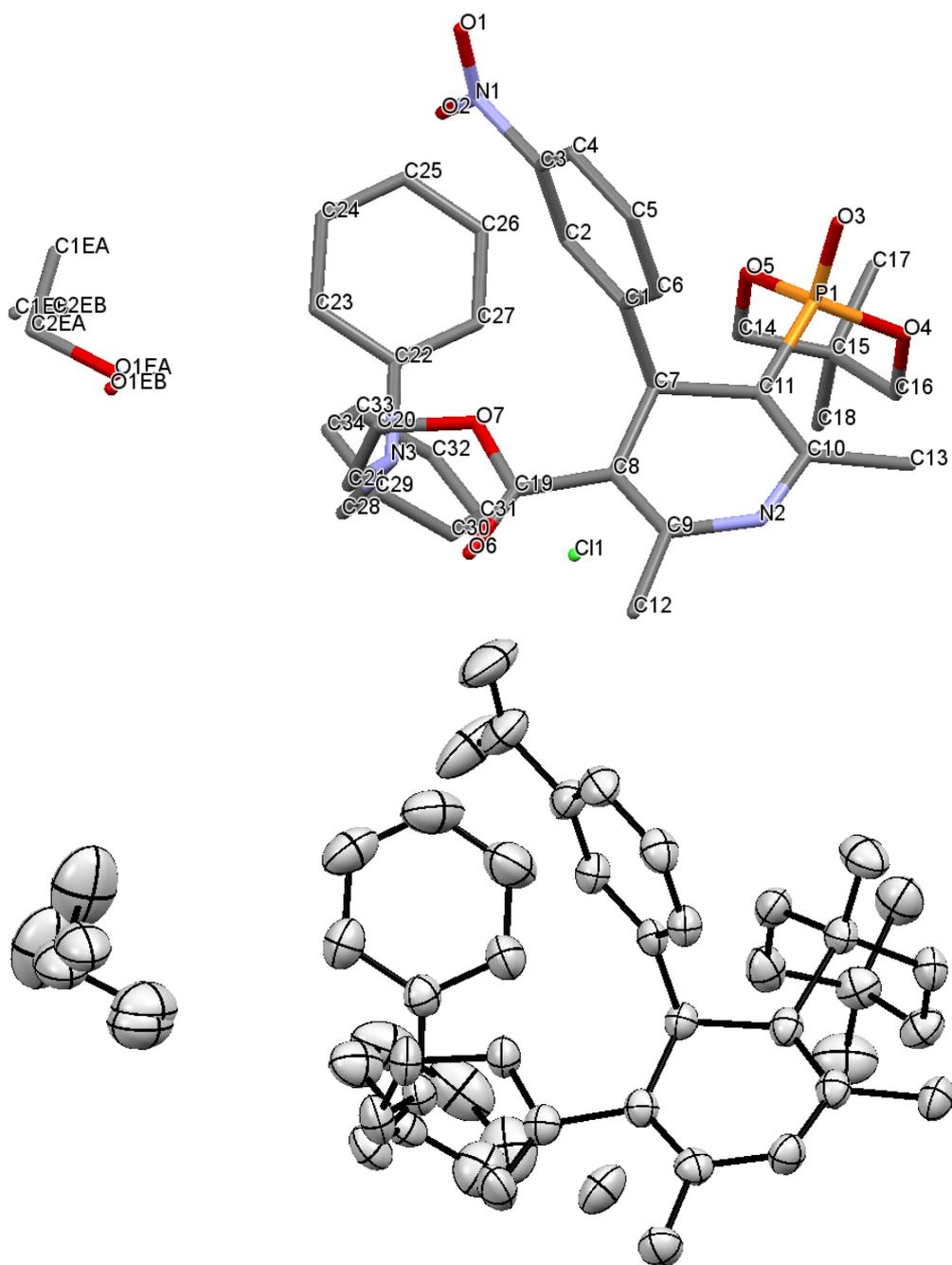


図 37 NZ-105 の立体構造・帰属番号（上），ORTEP 図

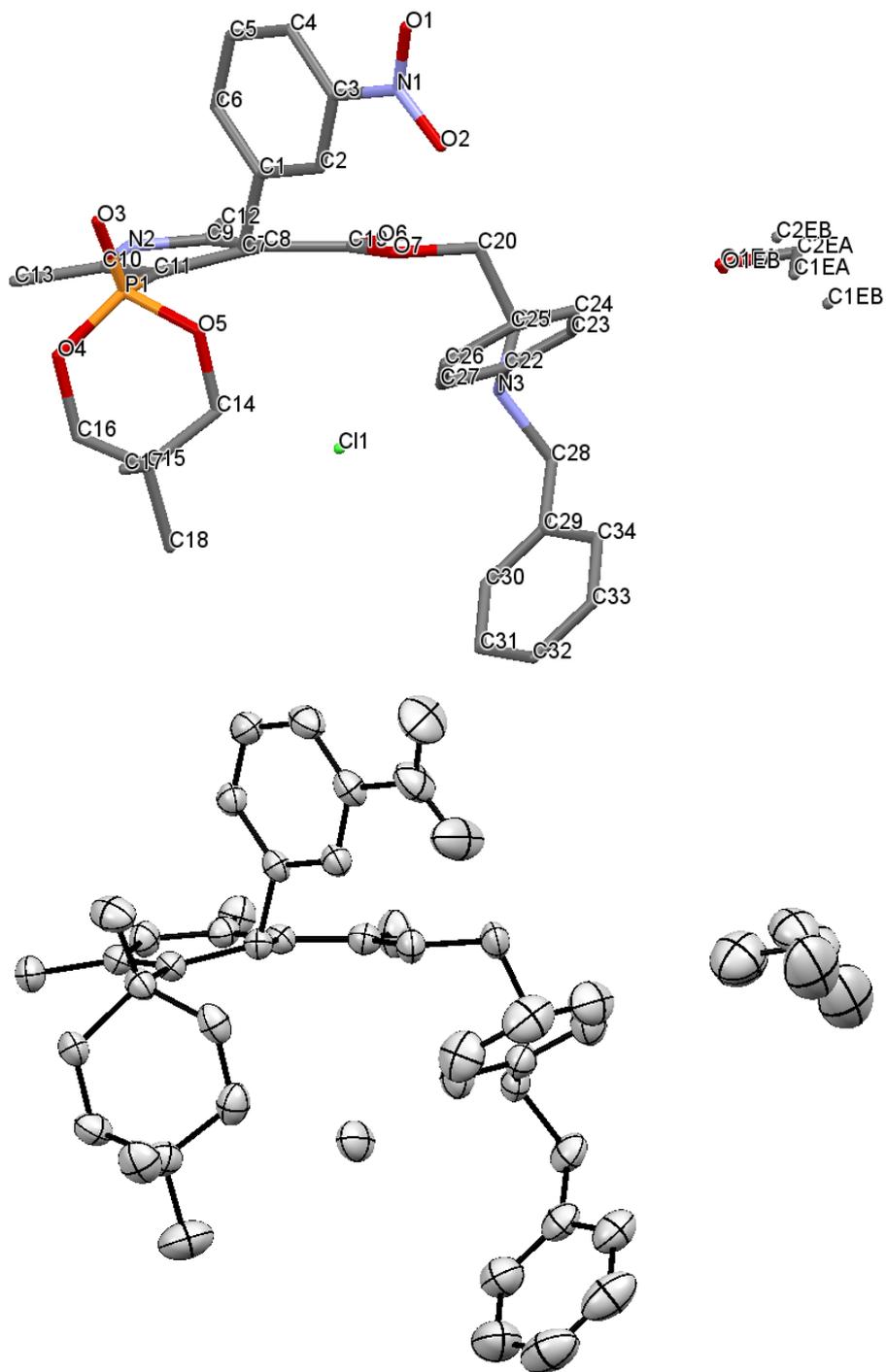


図 38 別方向から見た NZ-105 の立体構造・帰属番号（上），ORTEP 図

表 10 NZ-105 angle list

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
1	C2	C1	C6	119.2(2)
2	C2	C1	C7	120.9(2)
3	C6	C1	C7	119.9(2)
4	C1	C2	H2	120.7
5	C1	C2	C3	118.5(2)
6	H2	C2	C3	120.8
7	C2	C3	C4	123.0(2)
8	C2	C3	N1	118.4(2)
9	C4	C3	N1	118.6(2)
10	C3	C4	H4	120.9
11	C3	C4	C5	118.2(2)
12	H4	C4	C5	120.9
13	C4	C5	H5	119.9
14	C4	C5	C6	120.2(2)
15	H5	C5	C6	119.9
16	C1	C6	C5	120.9(2)
17	C1	C6	H6	119.6
18	C5	C6	H6	119.5
19	C1	C7	H7	108.3
20	C1	C7	C8	110.5(2)
21	C1	C7	C11	110.3(2)
22	H7	C7	C8	108.3
23	H7	C7	C11	108.4
24	C8	C7	C11	110.9(2)
25	C7	C8	C9	121.2(2)
26	C7	C8	C19	118.0(2)
27	C9	C8	C19	120.7(2)
28	C8	C9	C12	126.3(2)
29	C8	C9	N2	120.0(2)
30	C12	C9	N2	113.6(2)
31	C11	C10	C13	127.0(2)
32	C11	C10	N2	120.0(2)
33	C13	C10	N2	112.9(2)
34	C7	C11	C10	121.2(2)
35	C7	C11	P1	115.3(1)
36	C10	C11	P1	122.6(2)
37	C9	C12	H12A	109.4
38	C9	C12	H12B	109.4
39	C9	C12	H12C	109.5
40	H12A	C12	H12B	109.5
41	H12A	C12	H12C	109.5
42	H12B	C12	H12C	109.5
43	C10	C13	H13A	109.5
44	C10	C13	H13B	109.5
45	C10	C13	H13C	109.5
46	H13A	C13	H13B	109.4
47	H13A	C13	H13C	109.4
48	H13B	C13	H13C	109.4
49	H14A	C14	H14B	108
50	H14A	C14	C15	109.2
51	H14A	C14	O5	109.2
52	H14B	C14	C15	109.2
53	H14B	C14	O5	109.2
54	C15	C14	O5	112.0(2)
55	C14	C15	C16	108.7(2)
56	C14	C15	C17	110.6(2)
57	C14	C15	C18	108.2(2)
58	C16	C15	C17	110.5(2)
59	C16	C15	C18	108.0(2)
60	C17	C15	C18	110.8(2)
61	C15	C16	H16A	109.2
62	C15	C16	H16B	109.4
63	C15	C16	O4	111.5(2)
64	H16A	C16	H16B	108
65	H16A	C16	O4	109.3
66	H16B	C16	O4	109.3
67	C15	C17	H17A	109.4
68	C15	C17	H17B	109.5
69	C15	C17	H17C	109.5
70	H17A	C17	H17B	109.4
71	H17A	C17	H17C	109.5
72	H17B	C17	H17C	109.5
73	C15	C18	H18A	109.4
74	C15	C18	H18B	109.5
75	C15	C18	H18C	109.5
76	H18A	C18	H18B	109.6
77	H18A	C18	H18C	109.4
78	H18B	C18	H18C	109.5
79	C8	C19	O6	128.6(2)
80	C8	C19	O7	110.4(2)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
81	O6	C19	O7	121.0(2)
82	H20A	C20	H20B	107.8
83	H20A	C20	C21	109
84	H20A	C20	O7	109
85	H20B	C20	C21	109
86	H20B	C20	O7	108.9
87	C21	C20	O7	113.1(2)
88	C20	C21	H21A	108.5
89	C20	C21	H21B	108.6
90	C20	C21	N3	114.8(2)
91	H21A	C21	H21B	107.6
92	H21A	C21	N3	108.6
93	H21B	C21	N3	108.6
94	C23	C22	C27	121.2(2)
95	C23	C22	N3	120.6(2)
96	C27	C22	N3	118.2(2)
97	C22	C23	H23	120.7
98	C22	C23	C24	118.6(3)
99	H23	C23	C24	120.7
100	C23	C24	H24	119.6
101	C23	C24	C25	120.8(3)
102	H24	C24	C25	119.6
103	C24	C25	H25	120
104	C24	C25	C26	120.0(3)
105	H25	C25	C26	120
106	C25	C26	H26	119.8
107	C25	C26	C27	120.4(3)
108	H26	C26	C27	119.8
109	C22	C27	C26	119.1(2)
110	C22	C27	H27	120.5
111	C26	C27	H27	120.4
112	H28A	C28	H28B	107.7
113	H28A	C28	C29	108.7
114	H28A	C28	N3	108.8
115	H28B	C28	C29	108.9
116	H28B	C28	N3	108.8
117	C29	C28	N3	113.8(2)
118	C28	C29	C30	120.6(2)
119	C28	C29	C34	119.5(2)
120	C30	C29	C34	119.8(3)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
121	C29	C30	H30	119.9
122	C29	C30	C31	120.3(3)
123	H30	C30	C31	119.8
124	C30	C31	H31	120
125	C30	C31	C32	120.0(3)
126	H31	C31	C32	120
127	C31	C32	H32	119.7
128	C31	C32	C33	120.4(3)
129	H32	C32	C33	119.8
130	C32	C33	H33	120.2
131	C32	C33	C34	119.5(3)
132	H33	C33	C34	120.3
133	C29	C34	C33	120.0(3)
134	C29	C34	H34	120
135	C33	C34	H34	120
136	C3	N1	O1	117.8(2)
137	C3	N1	O2	118.7(2)
138	O1	N1	O2	123.4(3)
139	C9	N2	C10	123.7(2)
140	C9	N2	H2A	118.2
141	C10	N2	H2A	118.1
142	C21	N3	C22	114.5(2)
143	C21	N3	C28	108.0(2)
144	C21	N3	H3	107
145	C22	N3	C28	113.0(2)
146	C22	N3	H3	107
147	C28	N3	H3	106.9
148	C16	O4	P1	119.4(1)
149	C14	O5	P1	117.6(1)
150	C19	O7	C20	116.2(2)
151	C11	P1	O3	114.8(1)
152	C11	P1	O4	110.66(9)
153	C11	P1	O5	105.58(9)
154	O3	P1	O4	109.0(1)
155	O3	P1	O5	111.7(1)
156	O4	P1	O5	104.60(9)
157	H1E1	C1EA	H1E2	110
158	H1E1	C1EA	H1E3	109
159	H1E1	C1EA	C2EA	109
160	H1E2	C1EA	H1E3	109

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
161	H1E2	C1EA	C2EA	109
162	H1E3	C1EA	C2EA	110
163	C1EA	C2EA	H2E1	110
164	C1EA	C2EA	H2E2	110
165	C1EA	C2EA	O1EA	107(2)
166	H2E1	C2EA	H2E2	109
167	H2E1	C2EA	O1EA	110
168	H2E2	C2EA	O1EA	110

表 11 NZ-105 torsion list

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
1	C6	C1	C2	H2	179.8
2	C6	C1	C2	C3	-0.2(3)
3	C7	C1	C2	H2	-0.7
4	C7	C1	C2	C3	179.3(2)
5	C2	C1	C6	C5	-0.5(3)
6	C2	C1	C6	H6	179.5
7	C7	C1	C6	C5	179.9(2)
8	C7	C1	C6	H6	-0.1
9	C2	C1	C7	H7	6.3
10	C2	C1	C7	C8	-112.2(2)
11	C2	C1	C7	C11	124.8(2)
12	C6	C1	C7	H7	-174.1
13	C6	C1	C7	C8	67.4(2)
14	C6	C1	C7	C11	-55.6(3)
15	C1	C2	C3	C4	0.7(3)
16	C1	C2	C3	N1	-179.4(2)
17	H2	C2	C3	C4	-179.3
18	H2	C2	C3	N1	0.6
19	C2	C3	C4	H4	179.7
20	C2	C3	C4	C5	-0.4(4)
21	N1	C3	C4	H4	-0.3
22	N1	C3	C4	C5	179.7(2)
23	C2	C3	N1	O1	-174.8(2)
24	C2	C3	N1	O2	6.2(3)
25	C4	C3	N1	O1	5.1(3)
26	C4	C3	N1	O2	-173.9(2)
27	C3	C4	C5	H5	179.6
28	C3	C4	C5	C6	-0.4(3)
29	H4	C4	C5	H5	-0.4
30	H4	C4	C5	C6	179.6
31	C4	C5	C6	C1	0.8(3)
32	C4	C5	C6	H6	-179.2
33	H5	C5	C6	C1	-179.2
34	H5	C5	C6	H6	0.8
35	C1	C7	C8	C9	-104.6(2)
36	C1	C7	C8	C19	73.1(2)
37	H7	C7	C8	C9	136.9
38	H7	C7	C8	C19	-45.4
39	C11	C7	C8	C9	18.0(3)
40	C11	C7	C8	C19	-164.3(2)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
41	C1	C7	C11	C10	106.0(2)
42	C1	C7	C11	P1	-63.5(2)
43	H7	C7	C11	C10	-135.6
44	H7	C7	C11	P1	54.9
45	C8	C7	C11	C10	-16.8(3)
46	C8	C7	C11	P1	173.7(1)
47	C7	C8	C9	C12	171.5(2)
48	C7	C8	C9	N2	-8.0(3)
49	C19	C8	C9	C12	-6.1(3)
50	C19	C8	C9	N2	174.4(2)
51	C7	C8	C19	O6	-178.0(2)
52	C7	C8	C19	O7	1.3(3)
53	C9	C8	C19	O6	-0.3(4)
54	C9	C8	C19	O7	179.0(2)
55	C8	C9	C12	H12A	18.5
56	C8	C9	C12	H12B	-101.5
57	C8	C9	C12	H12C	138.6
58	N2	C9	C12	H12A	-162
59	N2	C9	C12	H12B	78
60	N2	C9	C12	H12C	-42
61	C8	C9	N2	C10	-5.9(3)
62	C8	C9	N2	H2A	174.2
63	C12	C9	N2	C10	174.6(2)
64	C12	C9	N2	H2A	-5.4
65	C13	C10	C11	C7	-175.7(2)
66	C13	C10	C11	P1	-7.0(3)
67	N2	C10	C11	C7	5.5(3)
68	N2	C10	C11	P1	174.2(2)
69	C11	C10	C13	H13A	-96.3
70	C11	C10	C13	H13B	143.7
71	C11	C10	C13	H13C	23.7
72	N2	C10	C13	H13A	82.6
73	N2	C10	C13	H13B	-37.4
74	N2	C10	C13	H13C	-157.4
75	C11	C10	N2	C9	7.1(3)
76	C11	C10	N2	H2A	-172.9
77	C13	C10	N2	C9	-171.9(2)
78	C13	C10	N2	H2A	8.1
79	C7	C11	P1	O3	88.7(2)
80	C7	C11	P1	O4	-147.4(1)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
81	C7	C11	P1	O5	-34.8(2)
82	C10	C11	P1	O3	-80.7(2)
83	C10	C11	P1	O4	43.2(2)
84	C10	C11	P1	O5	155.9(2)
85	H14A	C14	C15	C16	179.1
86	H14A	C14	C15	C17	57.7
87	H14A	C14	C15	C18	-63.8
88	H14B	C14	C15	C16	-63
89	H14B	C14	C15	C17	175.5
90	H14B	C14	C15	C18	54
91	O5	C14	C15	C16	58.0(2)
92	O5	C14	C15	C17	-63.4(3)
93	O5	C14	C15	C18	175.1(2)
94	H14A	C14	O5	P1	-176.7
95	H14B	C14	O5	P1	65.5
96	C15	C14	O5	P1	-55.6(2)
97	C14	C15	C16	H16A	64.6
98	C14	C15	C16	H16B	-177.4
99	C14	C15	C16	O4	-56.3(2)
100	C17	C15	C16	H16A	-173.9
101	C17	C15	C16	H16B	-55.8
102	C17	C15	C16	O4	65.2(2)
103	C18	C15	C16	H16A	-52.6
104	C18	C15	C16	H16B	65.5
105	C18	C15	C16	O4	-173.5(2)
106	C14	C15	C17	H17A	57.4
107	C14	C15	C17	H17B	-62.6
108	C14	C15	C17	H17C	177.4
109	C16	C15	C17	H17A	-63
110	C16	C15	C17	H17B	177
111	C16	C15	C17	H17C	57
112	C18	C15	C17	H17A	177.4
113	C18	C15	C17	H17B	57.4
114	C18	C15	C17	H17C	-62.6
115	C14	C15	C18	H18A	-179.3
116	C14	C15	C18	H18B	60.6
117	C14	C15	C18	H18C	-59.4
118	C16	C15	C18	H18A	-61.9
119	C16	C15	C18	H18B	178.1
120	C16	C15	C18	H18C	58.1

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
121	C17	C15	C18	H18A	59.3
122	C17	C15	C18	H18B	-60.8
123	C17	C15	C18	H18C	179.2
124	C15	C16	O4	P1	53.4(2)
125	H16A	C16	O4	P1	-67.5
126	H16B	C16	O4	P1	174.5
127	C8	C19	O7	C20	-175.6(2)
128	O6	C19	O7	C20	3.8(3)
129	H20A	C20	C21	H21A	-54.9
130	H20A	C20	C21	H21B	-171.6
131	H20A	C20	C21	N3	66.7
132	H20B	C20	C21	H21A	62.5
133	H20B	C20	C21	H21B	-54.2
134	H20B	C20	C21	N3	-175.9
135	O7	C20	C21	H21A	-176.3
136	O7	C20	C21	H21B	67.1
137	O7	C20	C21	N3	-54.6(3)
138	H20A	C20	O7	C19	152.7
139	H20B	C20	O7	C19	35.3
140	C21	C20	O7	C19	-86.0(2)
141	C20	C21	N3	C22	-43.0(3)
142	C20	C21	N3	C28	-169.9(2)
143	C20	C21	N3	H3	75.3
144	H21A	C21	N3	C22	78.6
145	H21A	C21	N3	C28	-48.3
146	H21A	C21	N3	H3	-163.1
147	H21B	C21	N3	C22	-164.7
148	H21B	C21	N3	C28	68.4
149	H21B	C21	N3	H3	-46.4
150	C27	C22	C23	H23	178.8
151	C27	C22	C23	C24	-1.1(4)
152	N3	C22	C23	H23	-0.4
153	N3	C22	C23	C24	179.6(2)
154	C23	C22	C27	C26	0.5(4)
155	C23	C22	C27	H27	-179.4
156	N3	C22	C27	C26	179.8(2)
157	N3	C22	C27	H27	-0.1
158	C23	C22	N3	C21	-53.2(3)
159	C23	C22	N3	C28	71.1(3)
160	C23	C22	N3	H3	-171.5

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
161	C27	C22	N3	C21	127.5(2)
162	C27	C22	N3	C28	-108.2(2)
163	C27	C22	N3	H3	9.2
164	C22	C23	C24	H24	-179.3
165	C22	C23	C24	C25	0.8(5)
166	H23	C23	C24	H24	0.7
167	H23	C23	C24	C25	-179.1
168	C23	C24	C25	H25	-179.9
169	C23	C24	C25	C26	0.0(5)
170	H24	C24	C25	H25	0.3
171	H24	C24	C25	C26	-179.8
172	C24	C25	C26	H26	179.4
173	C24	C25	C26	C27	-0.6(5)
174	H25	C25	C26	H26	-0.7
175	H25	C25	C26	C27	179.3
176	C25	C26	C27	C22	0.4(4)
177	C25	C26	C27	H27	-179.7
178	H26	C26	C27	C22	-179.6
179	H26	C26	C27	H27	0.3
180	H28A	C28	C29	C30	-36.2
181	H28A	C28	C29	C34	141
182	H28B	C28	C29	C30	-153.3
183	H28B	C28	C29	C34	23.8
184	N3	C28	C29	C30	85.2(3)
185	N3	C28	C29	C34	-97.6(3)
186	H28A	C28	N3	C21	-61
187	H28A	C28	N3	C22	171.2
188	H28A	C28	N3	H3	53.9
189	H28B	C28	N3	C21	56.1
190	H28B	C28	N3	C22	-71.7
191	H28B	C28	N3	H3	171
192	C29	C28	N3	C21	177.6(2)
193	C29	C28	N3	C22	49.9(3)
194	C29	C28	N3	H3	-67.5
195	C28	C29	C30	H30	-1.9
196	C28	C29	C30	C31	178.2(3)
197	C34	C29	C30	H30	-179
198	C34	C29	C30	C31	1.1(5)
199	C28	C29	C34	C33	-178.0(3)
200	C28	C29	C34	H34	2.1

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
201	C30	C29	C34	C33	-0.8(4)
202	C30	C29	C34	H34	179.2
203	C29	C30	C31	H31	179
204	C29	C30	C31	C32	-1.0(5)
205	H30	C30	C31	H31	-1
206	H30	C30	C31	C32	179.1
207	C30	C31	C32	H32	-179.3
208	C30	C31	C32	C33	0.7(6)
209	H31	C31	C32	H32	0.7
210	H31	C31	C32	C33	-179.3
211	C31	C32	C33	H33	179.5
212	C31	C32	C33	C34	-0.5(6)
213	H32	C32	C33	H33	-0.5
214	H32	C32	C33	C34	179.5
215	C32	C33	C34	C29	0.5(5)
216	C32	C33	C34	H34	-179.5
217	H33	C33	C34	C29	-179.4
218	H33	C33	C34	H34	0.5
219	C16	O4	P1	C11	69.4(2)
220	C16	O4	P1	O3	-163.4(2)
221	C16	O4	P1	O5	-43.8(2)
222	C14	O5	P1	C11	-72.5(2)
223	C14	O5	P1	O3	162.0(2)
224	C14	O5	P1	O4	44.3(2)
225	H1E1	C1EA	C2EA	H2E1	33
226	H1E1	C1EA	C2EA	H2E2	153
227	H1E1	C1EA	C2EA	O1EA	-87
228	H1E2	C1EA	C2EA	H2E1	-88
229	H1E2	C1EA	C2EA	H2E2	32
230	H1E2	C1EA	C2EA	O1EA	152
231	H1E3	C1EA	C2EA	H2E1	152
232	H1E3	C1EA	C2EA	H2E2	-87
233	H1E3	C1EA	C2EA	O1EA	33

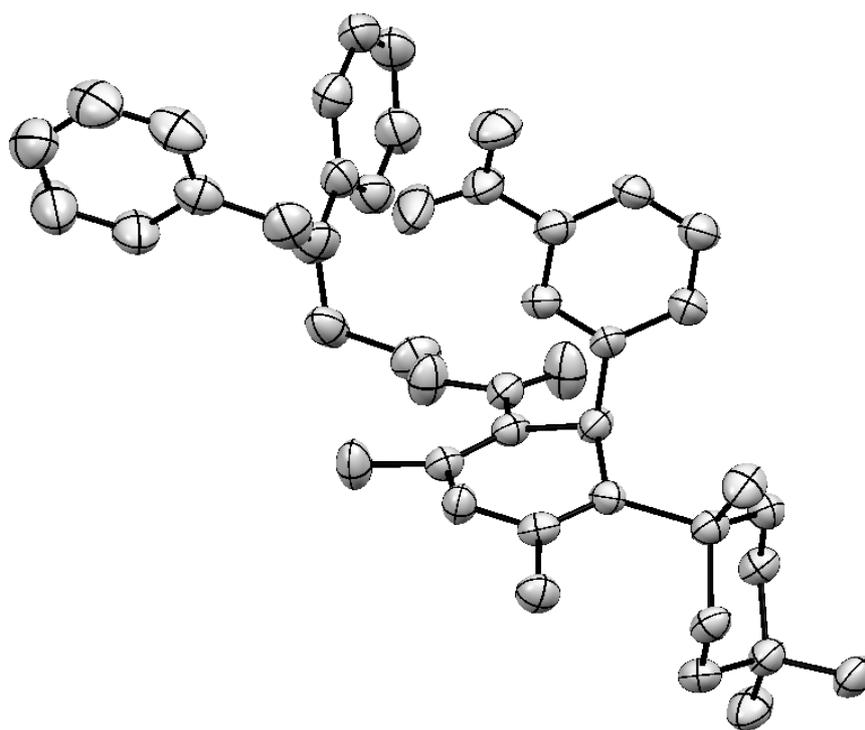
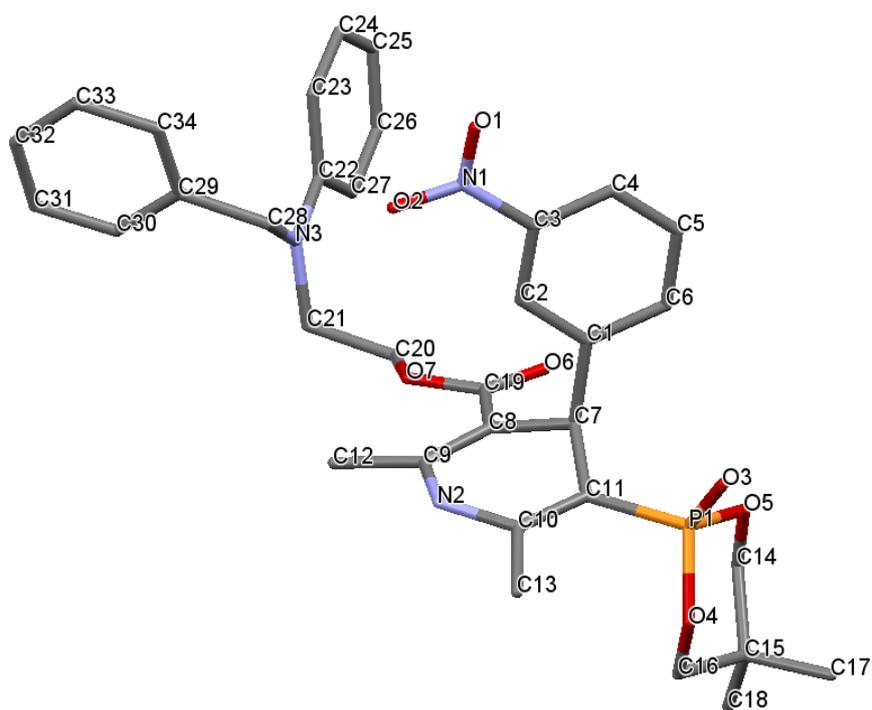


図 39 NZ-105 free form の立体構造・帰属番号（上），ORTEP 図

表 12 NZ-105 free form angle list

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
1	C2	C1	C6	118.3(3)
2	C2	C1	C7	121.0(3)
3	C6	C1	C7	120.7(3)
4	C1	C2	H2	120.1
5	C1	C2	C3	119.9(3)
6	H2	C2	C3	120
7	C2	C3	C4	122.4(3)
8	C2	C3	N1	118.6(3)
9	C4	C3	N1	119.0(3)
10	C3	C4	H4	121.2
11	C3	C4	C5	117.6(3)
12	H4	C4	C5	121.2
13	C4	C5	H5	119.4
14	C4	C5	C6	121.2(3)
15	H5	C5	C6	119.5
16	C1	C6	C5	120.6(3)
17	C1	C6	H6	119.7
18	C5	C6	H6	119.7
19	C1	C7	H7	108
20	C1	C7	C8	111.1(2)
21	C1	C7	C11	111.1(2)
22	H7	C7	C8	108.1
23	H7	C7	C11	108
24	C8	C7	C11	110.4(2)
25	C7	C8	C9	120.5(3)
26	C7	C8	C19	114.6(2)
27	C9	C8	C19	124.8(3)
28	C8	C9	C12	128.4(3)
29	C8	C9	N2	118.4(3)
30	C12	C9	N2	113.2(3)
31	C11	C10	C13	126.4(3)
32	C11	C10	N2	120.5(3)
33	C13	C10	N2	113.0(3)
34	C7	C11	C10	117.9(3)
35	C7	C11	P1	118.9(2)
36	C10	C11	P1	122.7(2)
37	C9	C12	H12A	109.4
38	C9	C12	H12B	109.5
39	C9	C12	H12C	109.4
40	H12A	C12	H12B	109.5

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
41	H12A	C12	H12C	109.5
42	H12B	C12	H12C	109.5
43	C10	C13	H13A	109.4
44	C10	C13	H13B	109.4
45	C10	C13	H13C	109.4
46	H13A	C13	H13B	109.5
47	H13A	C13	H13C	109.5
48	H13B	C13	H13C	109.5
49	H14A	C14	H14B	107.8
50	H14A	C14	C15	109
51	H14A	C14	O5	109
52	H14B	C14	C15	109
53	H14B	C14	O5	109
54	C15	C14	O5	112.9(2)
55	C14	C15	C16	107.5(2)
56	C14	C15	C17	111.2(3)
57	C14	C15	C18	108.6(3)
58	C16	C15	C17	109.7(3)
59	C16	C15	C18	109.6(3)
60	C17	C15	C18	110.1(3)
61	C15	C16	H16A	109.4
62	C15	C16	H16B	109.4
63	C15	C16	O4	111.4(2)
64	H16A	C16	H16B	108
65	H16A	C16	O4	109.3
66	H16B	C16	O4	109.3
67	C15	C17	H17A	109.5
68	C15	C17	H17B	109.4
69	C15	C17	H17C	109.5
70	H17A	C17	H17B	109.4
71	H17A	C17	H17C	109.5
72	H17B	C17	H17C	109.4
73	C15	C18	H18A	109.5
74	C15	C18	H18B	109.5
75	C15	C18	H18C	109.4
76	H18A	C18	H18B	109.4
77	H18A	C18	H18C	109.5
78	H18B	C18	H18C	109.4
79	C8	C19	O6	124.1(3)
80	C8	C19	O7	114.5(3)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
81	O6	C19	O7	121.4(3)
82	H20A	C20	H20B	108.4
83	H20A	C20	C21	110.3
84	H20A	C20	O7	110.3
85	H20B	C20	C21	110.2
86	H20B	C20	O7	110.3
87	C21	C20	O7	107.3(3)
88	C20	C21	H21A	108.7
89	C20	C21	H21B	108.7
90	C20	C21	N3	114.0(3)
91	H21A	C21	H21B	107.6
92	H21A	C21	N3	108.8
93	H21B	C21	N3	108.8
94	C23	C22	C27	117.4(3)
95	C23	C22	N3	121.9(3)
96	C27	C22	N3	120.7(3)
97	C22	C23	H23	119.8
98	C22	C23	C24	120.4(4)
99	H23	C23	C24	119.8
100	C23	C24	H24	119.1
101	C23	C24	C25	121.7(4)
102	H24	C24	C25	119.2
103	C24	C25	H25	121
104	C24	C25	C26	118.1(4)
105	H25	C25	C26	120.9
106	C25	C26	H26	119.2
107	C25	C26	C27	121.5(4)
108	H26	C26	C27	119.3
109	C22	C27	C26	120.9(3)
110	C22	C27	H27	119.6
111	C26	C27	H27	119.5
112	H28A	C28	H28B	107.6
113	H28A	C28	C29	108.7
114	H28A	C28	N3	108.7
115	H28B	C28	C29	108.7
116	H28B	C28	N3	108.7
117	C29	C28	N3	114.3(3)
118	C28	C29	C30	121.0(3)
119	C28	C29	C34	121.7(3)
120	C30	C29	C34	117.3(4)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Angle
121	C29	C30	H30	119.3
122	C29	C30	C31	121.4(4)
123	H30	C30	C31	119.3
124	C30	C31	H31	119.8
125	C30	C31	C32	120.4(4)
126	H31	C31	C32	119.8
127	C31	C32	H32	120
128	C31	C32	C33	119.9(5)
129	H32	C32	C33	120.1
130	C32	C33	H33	120.3
131	C32	C33	C34	119.5(4)
132	H33	C33	C34	120.3
133	C29	C34	C33	121.5(4)
134	C29	C34	H34	119.3
135	C33	C34	H34	119.2
136	C3	N1	O1	119.2(3)
137	C3	N1	O2	117.8(3)
138	O1	N1	O2	123.0(3)
139	C9	N2	C10	122.6(3)
140	C9	N2	H2A	118.8
141	C10	N2	H2A	118.6
142	C21	N3	C22	120.5(3)
143	C21	N3	C28	119.2(3)
144	C22	N3	C28	120.0(3)
145	C16	O4	P1	118.0(2)
146	C14	O5	P1	119.7(2)
147	C19	O7	C20	118.7(3)
148	C11	P1	O3	114.8(1)
149	C11	P1	O4	107.9(1)
150	C11	P1	O5	106.8(1)
151	O3	P1	O4	110.9(1)
152	O3	P1	O5	111.1(1)
153	O4	P1	O5	104.8(1)

表 13 NZ-105 free form angle list

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
1	C6	C1	C2	H2	179.8
2	C6	C1	C2	C3	-0.2(4)
3	C7	C1	C2	H2	-1.6
4	C7	C1	C2	C3	178.4(3)
5	C2	C1	C6	C5	-0.2(5)
6	C2	C1	C6	H6	179.8
7	C7	C1	C6	C5	-178.8(3)
8	C7	C1	C6	H6	1.2
9	C2	C1	C7	H7	151
10	C2	C1	C7	C8	32.7(4)
11	C2	C1	C7	C11	-90.7(3)
12	C6	C1	C7	H7	-30.4
13	C6	C1	C7	C8	-148.7(3)
14	C6	C1	C7	C11	87.9(3)
15	C1	C2	C3	C4	0.1(5)
16	C1	C2	C3	N1	-179.6(3)
17	H2	C2	C3	C4	-179.9
18	H2	C2	C3	N1	0.3
19	C2	C3	C4	H4	-179.6
20	C2	C3	C4	C5	0.4(5)
21	N1	C3	C4	H4	0.2
22	N1	C3	C4	C5	-179.8(3)
23	C2	C3	N1	O1	167.8(3)
24	C2	C3	N1	O2	-13.9(5)
25	C4	C3	N1	O1	-12.0(5)
26	C4	C3	N1	O2	166.3(3)
27	C3	C4	C5	H5	179.1
28	C3	C4	C5	C6	-0.9(5)
29	H4	C4	C5	H5	-0.8
30	H4	C4	C5	C6	179.1
31	C4	C5	C6	C1	0.8(5)
32	C4	C5	C6	H6	-179.2
33	H5	C5	C6	C1	-179.2
34	H5	C5	C6	H6	0.7
35	C1	C7	C8	C9	-93.2(3)
36	C1	C7	C8	C19	83.0(3)
37	H7	C7	C8	C9	148.5
38	H7	C7	C8	C19	-35.3
39	C11	C7	C8	C9	30.6(4)
40	C11	C7	C8	C19	-153.2(2)
41	C1	C7	C11	C10	93.9(3)
42	C1	C7	C11	P1	-78.1(3)
43	H7	C7	C11	C10	-147.8
44	H7	C7	C11	P1	40.1
45	C8	C7	C11	C10	-29.9(4)
46	C8	C7	C11	P1	158.1(2)
47	C7	C8	C9	C12	171.8(3)
48	C7	C8	C9	N2	-9.4(4)
49	C19	C8	C9	C12	-4.1(5)
50	C19	C8	C9	N2	174.8(3)
51	C7	C8	C19	O6	13.6(4)
52	C7	C8	C19	O7	-166.5(2)
53	C9	C8	C19	O6	-170.4(3)
54	C9	C8	C19	O7	9.5(4)
55	C8	C9	C12	H12A	-54.9
56	C8	C9	C12	H12B	-174.9
57	C8	C9	C12	H12C	65.1
58	N2	C9	C12	H12A	126.2
59	N2	C9	C12	H12B	6.3
60	N2	C9	C12	H12C	-113.7
61	C8	C9	N2	C10	-15.8(4)
62	C8	C9	N2	H2A	164.2
63	C12	C9	N2	C10	163.2(3)
64	C12	C9	N2	H2A	-16.8
65	C13	C10	C11	C7	-173.5(3)
66	C13	C10	C11	P1	-1.8(4)
67	N2	C10	C11	C7	9.0(4)
68	N2	C10	C11	P1	-179.3(2)
69	C11	C10	C13	H13A	-85.3
70	C11	C10	C13	H13B	154.7
71	C11	C10	C13	H13C	34.7
72	N2	C10	C13	H13A	92.4
73	N2	C10	C13	H13B	-27.6
74	N2	C10	C13	H13C	-147.6
75	C11	C10	N2	C9	15.9(4)
76	C11	C10	N2	H2A	-164.1
77	C13	C10	N2	C9	-162.0(3)
78	C13	C10	N2	H2A	18.1
79	C7	C11	P1	O3	90.5(2)
80	C7	C11	P1	O4	-145.3(2)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
81	C7	C11	P1	O5	-33.0(2)
82	C10	C11	P1	O3	-81.1(3)
83	C10	C11	P1	O4	43.1(3)
84	C10	C11	P1	O5	155.3(2)
85	H14A	C14	C15	C16	177
86	H14A	C14	C15	C17	56.9
87	H14A	C14	C15	C18	-64.5
88	H14B	C14	C15	C16	-65.5
89	H14B	C14	C15	C17	174.3
90	H14B	C14	C15	C18	53
91	O5	C14	C15	C16	55.8(3)
92	O5	C14	C15	C17	-64.4(3)
93	O5	C14	C15	C18	174.3(3)
94	H14A	C14	O5	P1	-172.5
95	H14B	C14	O5	P1	70
96	C15	C14	O5	P1	-51.3(3)
97	C14	C15	C16	H16A	62.1
98	C14	C15	C16	H16B	-179.9
99	C14	C15	C16	O4	-58.9(3)
100	C17	C15	C16	H16A	-176.9
101	C17	C15	C16	H16B	-58.8
102	C17	C15	C16	O4	62.1(3)
103	C18	C15	C16	H16A	-55.8
104	C18	C15	C16	H16B	62.3
105	C18	C15	C16	O4	-176.8(3)
106	C14	C15	C17	H17A	-60.1
107	C14	C15	C17	H17B	179.9
108	C14	C15	C17	H17C	60
109	C16	C15	C17	H17A	-178.9
110	C16	C15	C17	H17B	61.1
111	C16	C15	C17	H17C	-58.9
112	C18	C15	C17	H17A	60.4
113	C18	C15	C17	H17B	-59.6
114	C18	C15	C17	H17C	-179.6
115	C14	C15	C18	H18A	-57.7
116	C14	C15	C18	H18B	-177.6
117	C14	C15	C18	H18C	62.4
118	C16	C15	C18	H18A	59.5
119	C16	C15	C18	H18B	-60.5
120	C16	C15	C18	H18C	179.6

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
121	C17	C15	C18	H18A	-179.7
122	C17	C15	C18	H18B	60.4
123	C17	C15	C18	H18C	-59.6
124	C15	C16	O4	P1	57.3(3)
125	H16A	C16	O4	P1	-63.7
126	H16B	C16	O4	P1	178.3
127	C8	C19	O7	C20	-167.6(3)
128	O6	C19	O7	C20	12.3(4)
129	H20A	C20	C21	H21A	-37.7
130	H20A	C20	C21	H21B	79.2
131	H20A	C20	C21	N3	-159.3
132	H20B	C20	C21	H21A	82
133	H20B	C20	C21	H21B	-161.1
134	H20B	C20	C21	N3	-39.6
135	O7	C20	C21	H21A	-157.9
136	O7	C20	C21	H21B	-41
137	O7	C20	C21	N3	80.5(4)
138	H20A	C20	O7	C19	74.4
139	H20B	C20	O7	C19	-45.3
140	C21	C20	O7	C19	-165.4(3)
141	C20	C21	N3	C22	78.6(4)
142	C20	C21	N3	C28	-94.6(4)
143	H21A	C21	N3	C22	-42.9
144	H21A	C21	N3	C28	143.9
145	H21B	C21	N3	C22	-159.9
146	H21B	C21	N3	C28	26.9
147	C27	C22	C23	H23	178.4
148	C27	C22	C23	C24	-1.6(5)
149	N3	C22	C23	H23	-2.4
150	N3	C22	C23	C24	177.6(3)
151	C23	C22	C27	C26	0.9(5)
152	C23	C22	C27	H27	-179.2
153	N3	C22	C27	C26	-178.3(3)
154	N3	C22	C27	H27	1.6
155	C23	C22	N3	C21	-177.0(3)
156	C23	C22	N3	C28	-3.8(5)
157	C27	C22	N3	C21	2.2(5)
158	C27	C22	N3	C28	175.3(3)
159	C22	C23	C24	H24	-179.6
160	C22	C23	C24	C25	0.4(6)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
161	H23	C23	C24	H24	0.4
162	H23	C23	C24	C25	-179.6
163	C23	C24	C25	H25	-178.4
164	C23	C24	C25	C26	1.5(6)
165	H24	C24	C25	H25	1.6
166	H24	C24	C25	C26	-178.5
167	C24	C25	C26	H26	177.8
168	C24	C25	C26	C27	-2.1(6)
169	H25	C25	C26	H26	-2.3
170	H25	C25	C26	C27	177.8
171	C25	C26	C27	C22	0.9(6)
172	C25	C26	C27	H27	-178.9
173	H26	C26	C27	C22	-179
174	H26	C26	C27	H27	1.2
175	H28A	C28	C29	C30	166.9
176	H28A	C28	C29	C34	-15.1
177	H28B	C28	C29	C30	-76.3
178	H28B	C28	C29	C34	101.7
179	N3	C28	C29	C30	45.3(5)
180	N3	C28	C29	C34	-136.7(4)
181	H28A	C28	N3	C21	130.1
182	H28A	C28	N3	C22	-43.2
183	H28B	C28	N3	C21	13.3
184	H28B	C28	N3	C22	-159.9
185	C29	C28	N3	C21	-108.3(4)
186	C29	C28	N3	C22	78.5(4)
187	C28	C29	C30	H30	-2.9
188	C28	C29	C30	C31	177.2(4)
189	C34	C29	C30	H30	179.1
190	C34	C29	C30	C31	-0.9(6)
191	C28	C29	C34	C33	-177.7(4)
192	C28	C29	C34	H34	2.3
193	C30	C29	C34	C33	0.4(6)
194	C30	C29	C34	H34	-179.7
195	C29	C30	C31	H31	-178.8
196	C29	C30	C31	C32	1.1(7)
197	H30	C30	C31	H31	1.2
198	H30	C30	C31	C32	-178.8
199	C30	C31	C32	H32	179.1
200	C30	C31	C32	C33	-0.8(7)

No	Atom1	Atom2	Atom3	Atom4	Torsion
201	H31	C31	C32	H32	-0.9
202	H31	C31	C32	C33	179.2
203	C31	C32	C33	H33	-179.7
204	C31	C32	C33	C34	0.3(7)
205	H32	C32	C33	H33	0.4
206	H32	C32	C33	C34	-179.6
207	C32	C33	C34	C29	-0.1(7)
208	C32	C33	C34	H34	180
209	H33	C33	C34	C29	179.9
210	H33	C33	C34	H34	0
211	C16	O4	P1	C11	69.2(2)
212	C16	O4	P1	O3	-164.3(2)
213	C16	O4	P1	O5	-44.3(2)
214	C14	O5	P1	C11	-73.2(2)
215	C14	O5	P1	O3	160.9(2)
216	C14	O5	P1	O4	41.1(2)

9.2 二次元 NMR 帰属

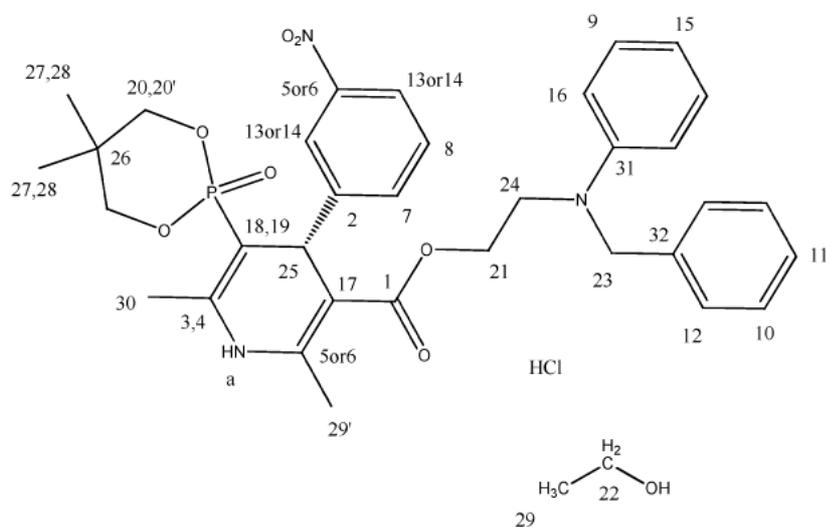


図 40 NZ-105 の化学構造式と NMR 帰属番号

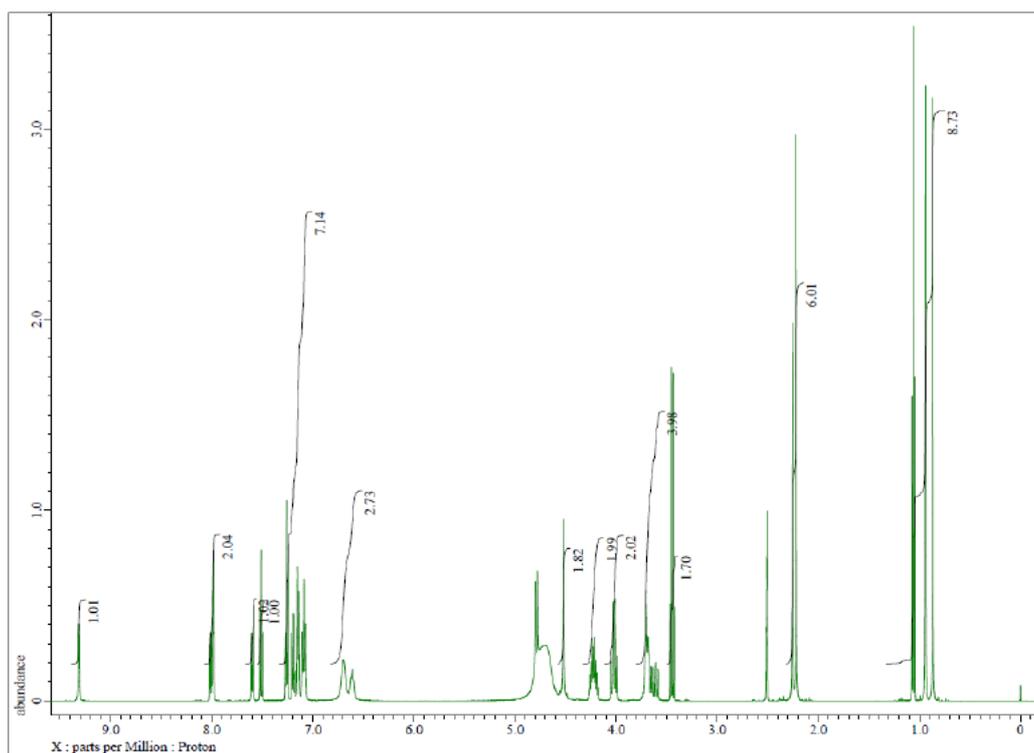


図 41 ¹H-NMR スペクトル全体図

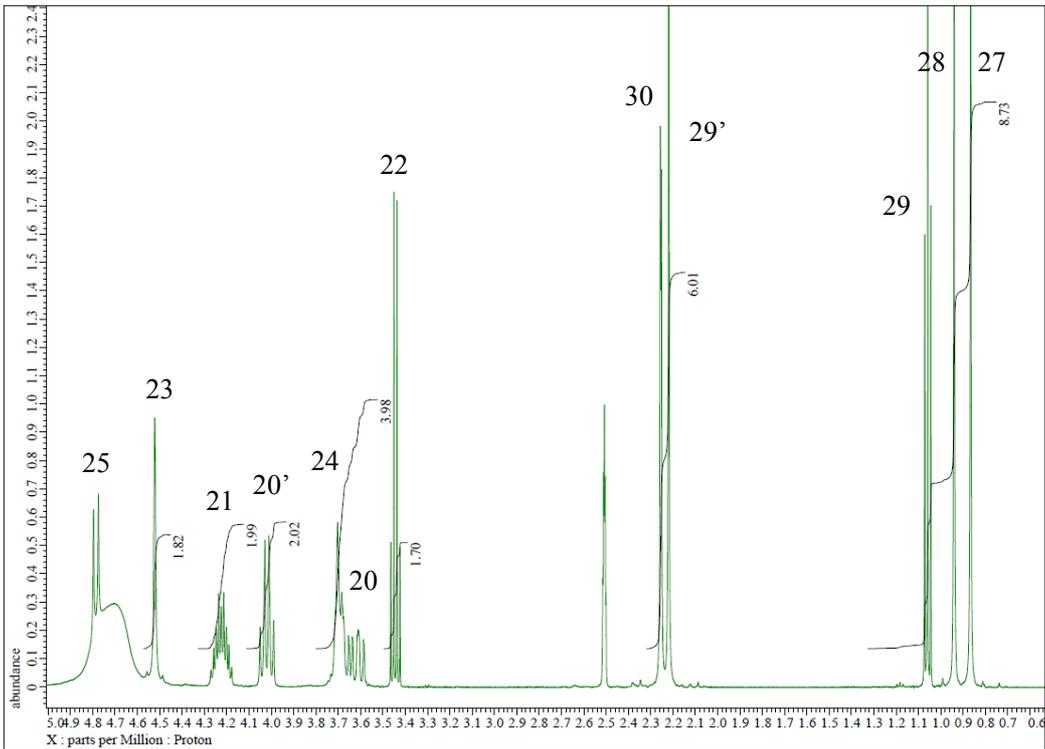
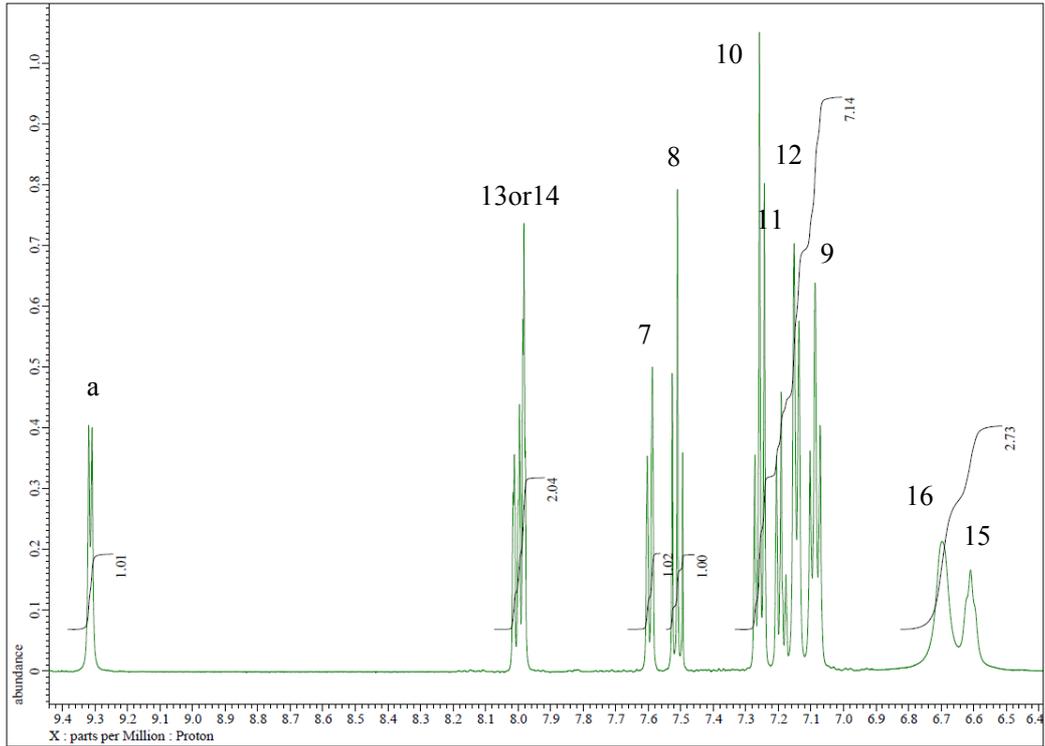


図 42 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル拡大図と帰属番号

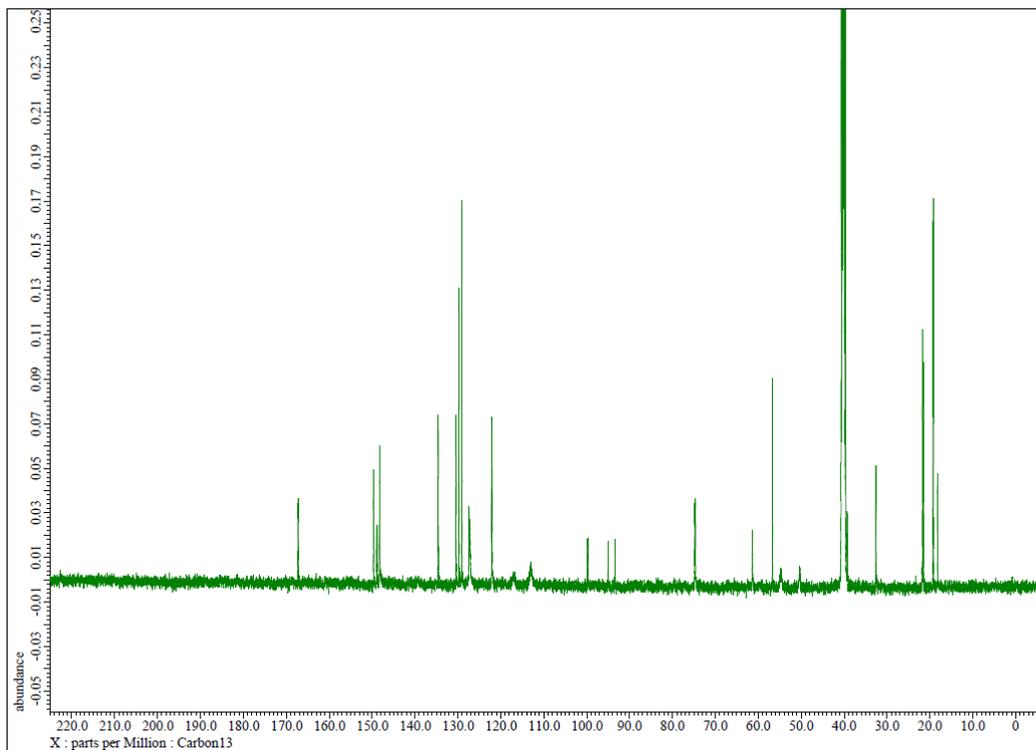


図 43 ^{13}C -NMR スペクトル

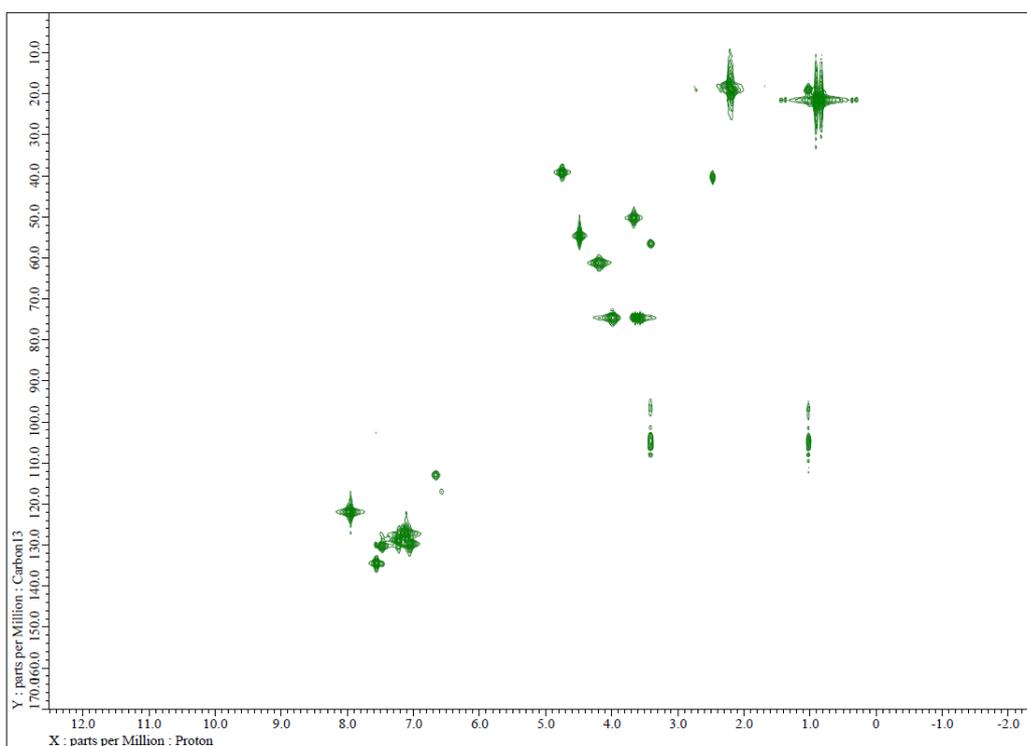


図 44 HMQC スペクトル

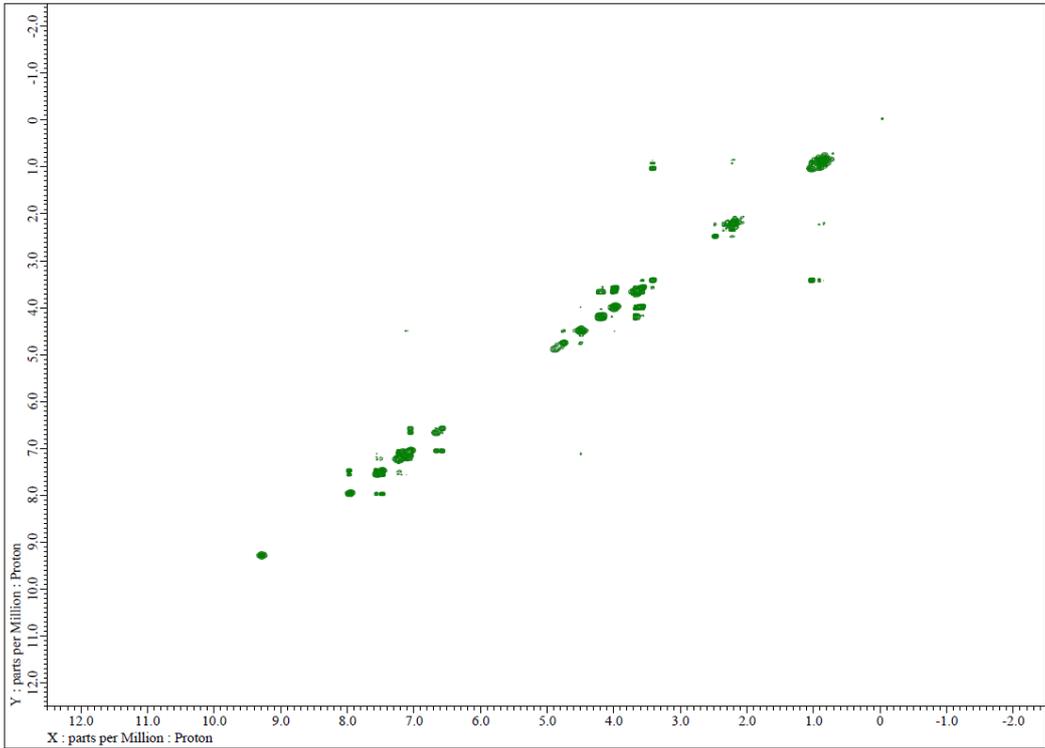


図 45 COSY スペクトル

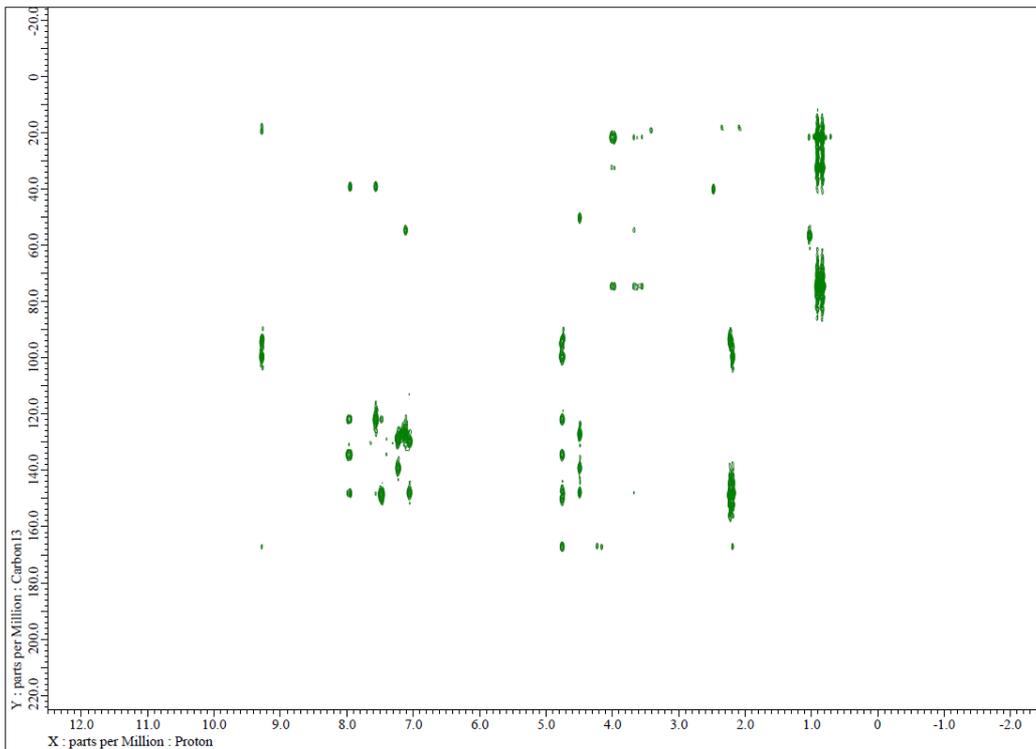


図 46 HMBC スペクトル