



放射光粉末X線回折法による医薬品原薬の結晶学的研究

野口修治, 瀧山圭, 岡本真司, 岩尾康範, 板井茂
静岡県立大学薬学部・薬学研究院

1. 測定実施日

2014年4月25日 14時30分 – 18時30分 (1シフト), BL5S2

2014年9月9日 14時30分 – 18時30分 (1シフト), BL5S2

2. 概要

医薬品原薬であるクラリスロマイシンの新規カルボン酸塩結晶、および天然物由来生理活性フラボノイドのビテキシンについて、X線回折測定を行うことにより結晶学的特徴付けを行った。

3. 背景と研究目的

結晶多形、塩形成、あるいは結晶形間の相転移現象は、天然物由来生理活性物質を含む医薬品原薬である、有機化合物結晶に広く見られる現象である。溶解速度や溶解度、安定性、バイオアベイラビリティなど、医薬品としての特性は原薬の結晶形により大きく異なることがあるため、粉末状態にある医薬品原薬の結晶多形の同定、あるいは混在を詳細に解析することは、新規医薬品製剤の開発、製造、および医薬品製剤の品質管理を行うために極めて重要である。我々は、発がん作用のあるピロリ菌の除菌にも用いられる、14員環マクロライド系抗生物質クラリスロマイシン (CAM, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, 分子量 748.0, Fig 1 (a)) の胃内滞留製剤の開発をこれまで進めてきた。そして強酸性下の胃内に滞留する際の CAM の結晶多形相転移¹⁾について検討を行う過程で、カルボン酸が共存すると、たとえ食品に含まれる程度の濃度であっても、再安定型である CAM II 型結晶を含む錠剤からの CAM の放出が抑制される現象を見いだしている。この現象には CAM とカルボン酸との塩の形成が関与する可能性が考えられた。また、我々は、抗酸化作用、抗炎症作用、および抗癌作用をもつと報告されているフラボン C 配糖体ビテキシン (VIT, $C_{21}H_{20}O_{10}$, 分子量 432.4, Fig 1(b)) の固体分散体制剤化も試みているが、VIT の結晶学的特徴付けは未

だ行われていない。CAM カルボン酸塩および VIT は、これまでのところ微細な粉末状結晶試料しか得ることができず、単結晶 X 線結晶構造解析法による性状解析を行うのは困難である。そこで、CAM カルボン酸塩結晶粉末および VIT 結晶粉末試料について、粉末 X 線解析法による結晶学的特徴付けを行った。

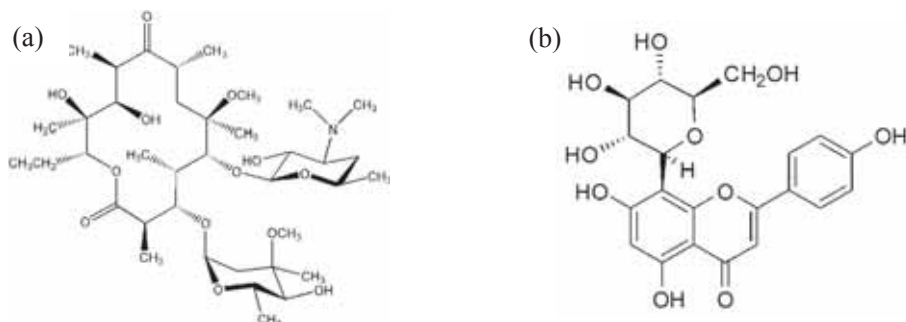


Fig.1 (a) CAM および (b) VIT の化学構造

4. 実験内容

CAM のカルボン酸塩結晶は、CAM の無機酸濃厚水溶液にカルボン酸の水溶液を添加して沈殿析出させ、汙取・洗浄・乾燥する事で得た。カルボン酸は、食品に高濃度で含まれることのある酢酸，クエン酸，リンゴ酸，シュウ酸，酒石酸を用いた。VIT 結晶試料は、定法によりウーロン茶葉より精製した²⁾。各結晶粉末試料は、直径 0.3 mm のリンデマンガラス試料に封入し、BL5S2 での粉末 X 線回折測定に供した。測定温度は 25℃，X 線の波長は 1.0Å に設定し、検出器はイメージングプレートを用いた。まず、露光時間 5 分で測定を行い、単一の結晶相からなるものとして指数付けが可能かを検討し、指数付け可能な試料については露光時間を 30 分とした測定も行った。測定した回折強度データの解析には *Expo2014* を使用した。

5. 結果および考察

CAM のカルボン酸塩結晶試料のうち、リンゴ酸塩，シュウ酸塩，酒石酸塩は、観測されたすべての回折ピークの指数付けを単一の格子定数で行うことができず、複数の結晶相の混合物であると推定された。一方、酢酸塩とクエン酸塩は、表 1 に示す格子定数の単純格子と仮定した場合、観測された回折ピークすべてが指数付け可能であった。求められた格子定数からそれらは新規 CAM 結

晶であることが明らかとなり、また不純物結晶も含まれていないことを確認した。CAM の酢酸塩とクエン酸塩は、どちらも単斜晶系に属し、消滅則から空間群は $P2_1$ と推定しており、その場合は非対称単位には CAM が 1 分子含まれると考えられる。現在、結晶構造の決定と精密化を進めている。酢酸塩とクエン酸塩の高純度試料を用いて、溶解速度を静止円盤法により測定したところ、どちらも II 型結晶の溶解速度より 10 倍以上速いことが明らかとなり、カルボン酸共存時に、錠剤からの CAM の放出が抑制されるのは、難溶性塩の形成のためではないことが明らかとなった。更に、II 型結晶はカルボン酸と接触するとゲルを形成することが明らかとなったため、カルボン酸共存による CAM の放出が抑制されるのは、錠剤表面近傍においてゲルの被膜が形成されたためという可能性が考えられる。CAM カルボン酸塩の結晶構造が明らかになり、CAM とカルボン酸の相互作用についての三次元構造知見が得られれば、ゲル形成の分子機構についての示唆が得られるものと期待できる。

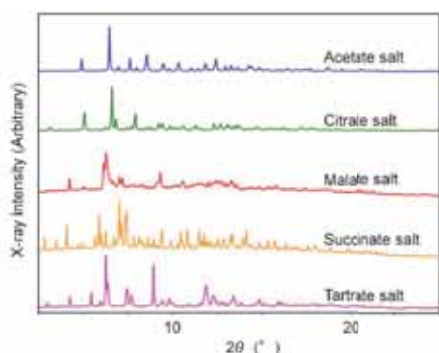


Fig.2 CAM カルボン酸塩の粉末X線回折プロファイル

表 1 結晶学的パラメーター

Drug	CAM-acetate	CAM-citrate	Vitexin
Space group	$P2_1$	$P2_1$	$C2$
Cell parameters			
a (Å)	18.5	20.6	15.7
b (Å)	14.5	14.4	17.0
c (Å)	8.8	9.1	7.1
α (°)	90.0	90.0	90
β (°)	99.7	102.5	97.0
γ (°)	90.0	90.0	90
Z^*	2	2	4

* Number of drug molecules in unit cell.

VIT 結晶の粉末X線回折強度データについても、表 1 に示す格子定数と底心格子を仮定すると、すべての回折X線ピークの指数付けを行うことができた。さらに空間群を $C2$ として実空間法により結晶構造決定を試みたところ、Fig 3 に示すように解の候補を得ることができた。VIT 分子は、フラボンのフェノール環部分がグルコース六員環の上部に配置されている折りたたまれた立体配座であった。結晶内では三次元的な水素結合のネットワークが形成されており、VIT 1 分子あたりの水素結合形成数は 10 である。結晶内には溶媒分子が存在し得る空隙は存在せず、メタノール-水の混液から生成した VIT 結晶には溶媒分子が含まれていないことも明らかとなった。現在、Rietvelt 法による構造精密化を進めている。

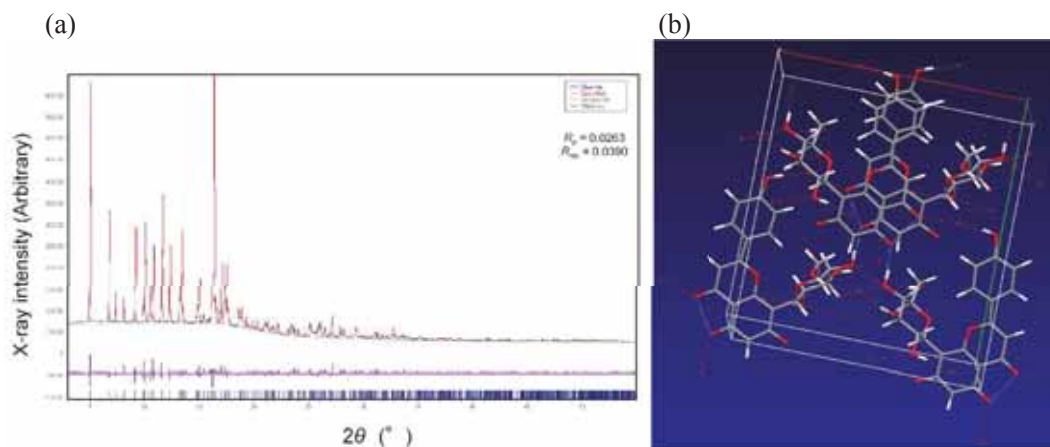


Fig.3 X線粉末回折プロファイル (a) VIT (b) VIT 結晶内分子配列

6. 今後の課題

医薬品の製剤開発においては、結晶形の同定と共に結晶多形の相転移についても詳細に解明する必要がある。CAM においては、医薬品として一般に利用されている再安定型 II 型結晶は、準安定型である I 型結晶を 150℃以上に加熱して相転移反応を起こさせることにより製造されるが、その相転移反応が添加剤を加えることで、より温和な条件かつ低コストで進行させることができると最近報告されている。その結晶多形相転移反応は分から秒のオーダーで進行するが、その反応の速度論的解析を BL5S2 における粉末 X 線回折測定により行い、相転移反応機構を解明する予定である。

7. 参考文献

- 1) Polymorphic transformation of antibiotic clarithromycin under acidic condition. Noguchi, S., Takiyama, K., Fujiki, S., Iwao, Y., Miura, K. & Itai, S. (2014). *Journal of Pharmaceutical Sciences* **103**, 580–586.
- 2) Quantitation of chafurosides A and B in tea leaves and isolation of prechafurosides A and B from Oolong tea leaves. Ishida, H., Wakimoto, T., Kitao, Y., Tanaka, S., Miyase, T. & Nukaya, H. (2009). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 6779–6786.