

機関番号：37401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590050

研究課題名（和文） シクロデキストリン包接を基盤とする準安定結晶の選択的調製とその機構解明

研究課題名（英文） Selective Preparation of Metastable Polymorphs Utilizing Inclusion Complexation with Cyclodextrins

研究代表者

平山 文俊（HIRAYAMA FUMITOSHI）

崇城大学・薬学部・教授

研究者番号：90094036

研究成果の概要（和文）：シクロデキストリン（CyD）の包接作用を利用して、準安定結晶の調製や晶癖の制御を試み、以下の知見を得た。① クロルプロパミドを 2-ヒドロキシブチル-β-CyD 水溶液から再結晶すると CyD 低濃度では準安定形 Form III、高濃度では最も不安定な Form II が選択的に析出した。② 2-ヒドロキシブチル-β-CyD 含有水溶液からアスピリンを再結晶すると晶癖は板状から針状結晶に変化した。2-ヒドロキシブチル-β-CyD は多形や晶癖制御剤として機能することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The selective crystallization of metastable forms and the control of crystal habits were conducted, utilizing inclusion complexations with cyclodextrins (CyDs). ① Metastable forms of chlorpropamide were deposited from aqueous 2-hydroxybutyl-β-CyD solutions, i.e. the metastable form II of the drug from lower CyD concentrations, whereas the most labile form III from higher CyD concentrations. ② The crystal shape of aspirin was changed from plate to needle crystals, when the crystallizing solvent was changed from water to aqueous 2-hydroxybutyl-β-CyD solutions. The results indicate that 2-hydroxybutyl-β-CyD is useful for preparation of metastable forms and control of crystal habit of solid drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：物理系薬学

キーワード：シクロデキストリン、結晶多形、準安定結晶、晶癖、包接複合体、溶液媒介性多形転移、溶解速度

1. 研究開始当初の背景

有機化合物の約 1/3 は 2 種あるいはそれ以上の結晶多形を有し、特に、化学構造が複雑な医薬品の場合、結晶多形の出現率は高い。

結晶形の違いは、融点、溶解度、溶解速度などの物理化学的性質、化学的安定性、経口投与時のバイオアベイラビリティなどに大きく

影響する。例えば、結晶多形による溶出性の変化は経口吸収性へ著しく影響するため、日本薬局方ではトルブタミド錠、プレドニゾン錠、インドメタシンカプセルの溶出試験が規定されている。また、難水溶性薬物の製剤化においては、経口吸収性を改善するため、溶解性に優れた結晶形が選択される。したがって、結晶多形の存在やその転移挙動を明らかにすることは、固形薬品の製剤設計や品質確保において極めて重要である。また、結晶多形は互いに新規の別物質とみなされるため、新多形の発見は医薬品開発のみならず、知的財産権の拡大・維持においても重要である。結晶多形を調製する手法として、一般に溶媒の種類、結晶化温度、過飽和度を調節するなどの手法があるが、最近では第3物質との相互作用を積極的に利用して、結晶化経路や結晶成長を制御する結晶工学的手法が注目されている。例えば、Daveyらは、グルタミン酸にグルタル酸を添加してグルタミン酸の結晶成長方向を制御可能なことを報告している(*J.Am.Chem.Soc.*, **119**, 1769 (1997))。また、Leiserowitzらは、ベンズアミド溶液に安息香酸を添加すると、ベンズアミドの結晶成長方向や結晶モルホロジーが変化することを明らかにした(*J.Am.Chem.Soc.*, **112**, 5874 (1990))。

我々は、経口糖尿病薬トルブタミドを水溶液から再結晶する際、環状オリゴ糖であるシクロデキストリンを添加するとトルブタミドの結晶化経路が変化することをみいだした。トルブタミド単独溶液では安定形 Form I に結晶化するが、メチル化 β -シクロデキストリンを添加すると準安定形 Form IV へ選択的に結晶化するという極めて興味ある知見を得た(*Chem. Commun.* 517-519 (2006), *Crystal Growth & Design*, **6**, 1181-1185 (2006))。このメチル化 β -シクロデキストリンによる準安定形結晶の選択的結晶化は、オストワルド則に従って初期に生成する不安定な準安定結晶の安定化に起因するものと推定された。

2. 研究の目的

(1) 経口糖尿病治療薬クロルプロパミドの溶液媒介性多形転移に及ぼすシクロデキストリンの影響

各種 CyDs (天然 α -、 β -、 γ -CyDs, ジメチル- β -CyD (DM- β -CyD)、2-ヒドロキシプロピル-CyDs (HP-CyDs), 2-ヒドロキシブチル- β -CyD (HB- β -CyD)) 水溶液からクロルプロパミドを再結晶し、析出する結晶多形を速度論的に追跡した。

(2) アスピリン結晶の晶癖に及ぼすシクロデキストリンの影響

各種 CyDs (天然 α -、 β -、 γ -CyDs, ジメチル- β -CyD, 2-ヒドロキシプロピル- β -CyD (HP- β -CyD), 2-ヒドロキシブチル- β -CyD (HB- β -CyD), 分岐 CyDs 水溶液からアスピリンを再結晶し、析出する結晶の外形を観察した。

3. 研究の方法

(1) クロルプロパミド (CPM) の溶液媒介性多形転移に及ぼすシクロデキストリンの影響

溶液中における CPM と CyDs との相互作用は溶解度法により検討した。CPM の結晶化は、室温においてリン酸緩衝液 (pH 8.0, $I=0.2$) 20 mL に CPM 10 mM, CyDs 5 mM を溶解後、0.5 N HCl により pH を約 4.5 に調整し、その溶液をろ過し、ろ液を冷蔵庫に保存 (4°C) することにより行った。得られた結晶を顕微鏡観察、粉末 X 線回折測定ならびに示差熱分析を行った。

(2) アスピリン結晶の晶癖に及ぼすシクロデキストリンの影響

リン酸緩衝液 (pH 8.0, $I=0.2$) 10 mL にアスピリン (40 mM) および各種 CyD を溶解後、0.5 N HCl 約 1 mL を添加し、pH 2.0 に調整した。その溶液をろ過後、透明なる液を 50 mL ビーカーで冷蔵保存 (4°C) した。析出した結晶をろ取後、光学顕微鏡で外形を観察した。粉末 X 回折は、試料をメノウ乳鉢で粉碎後、100 メッシュで篩過してガラスセルに固定して測定した。回折ピークの面積比の測定は、アスピリン 15 mg に内部標準物質としてケイ素 5 mg を混合した後、粉末 X 線回折測定し、アスピリン由来の $2\theta=15.6^\circ$ のピーク面積をケイ素由来の $2\theta=28.4^\circ$ のピーク面積で割ることにより算出した。

4. 研究成果

(1) 経口糖尿病治療薬クロルプロパミドの溶液媒介性多形転移に及ぼすシクロデキストリンの影響

① CPM 単独溶液を 4 °C に保存すると安定形 Form A が結晶化した。Form A の結晶化は極めて速く、保存 1 時間後において Form A が 100% 析出した。また、天然 α -、 β -、 γ -CyDs, HP- α -、 β -CyDs およびグルコース添加系でも安定形 Form A が析出した。

② 一方、HB- β -CyD を添加して同一条件下に保存すると、HB- β -CyD 低濃度 (0.5-1 mM) では CPM の準安定形 Form III が析出し、高

濃度 (5 mM) では準安定形 Form II が析出した。中間濃度の HB-β-CyD 2 mM では、保存初期に Form II が析出し、その後 Form II 含量の低下に伴い、Form III の含量が増加した。

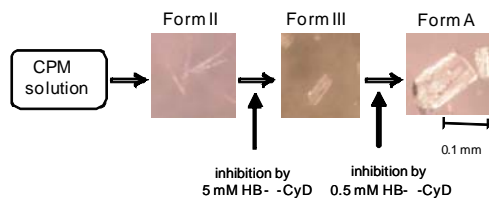
③ 保存温度を上昇 (4 °C→25 °C→37 °C) させると、いずれの HB-β-CyD 濃度条件下 (0.5-5 mM) において Form A が析出した。

④ CMP 飽和水溶液に準安定形 Form II 結晶を添加すると、Form II は約 3 日で Form A へ転移し、この転移速度は HB-β-CyD 高濃度下 (5 mM) で抑制された。Form III の場合、HB-β-CyD 非存在下では 28 日後に約 50 % が Form A へ転移したが、HB-β-CyD (0.5 および 5 mM) を添加すると Form A への転移は観察されなかった。

⑤ CPM 単独溶液および HB-β-CyD (0.5 および 5 mM) 添加溶液から得られた結晶の溶解速度は Form II > Form III > Form A であった。

⑥ 溶解度法から求めた CPM/CyDs 複合体の 1:1 安定度定数は、ジメチル-β-CyD (380 M⁻¹) > HB-β-CyD (180 M⁻¹) > β-CyD (160 M⁻¹) > HP-β-CyD (120 M⁻¹) であった。また、¹H-NMR スペクトルによる検討から、水溶液中において HB-β-CyD は CPM のフェニル基部分を優位に包接して 1:1 複合体を形成することが示唆された。

以上の結果より、Scheme 1 に示すように、水溶液中において CPM は、Ostwald 則に従って準安定形 Form II へ結晶化し、Form II は溶液媒介性機構に従って Form III、さらに Form A へ多形転移することが明らかとなった。また、HB-β-CyD は CPM の溶液媒介性転移を抑制し、添加濃度に応じて準安定形 Form II および Form III を選択的に析出させることが明らかとなった。



Scheme 1. Possible mechanism for the inhibition of the solution-mediated polymorphic transition of CPM in the presence of HB-β-CyD

(2) アスピリン結晶の晶癖に及ぼすシクロ

デキストリンの影響

① アスピリン単独、天然 CyDs 及び各種 CyDs 誘導体水溶液からは板状結晶が析出した。一方、HB-β-CyD および DM-β-CyD 水溶液からは針状結晶が析出した。

② Fig. 1 に示すように、HB-β- および DM-β-CyDs は添加濃度の増大に伴い、析出するアスピリン結晶をより細くし、その晶癖変化は DM-β-CyD 系よりも HB-β-CyD 系の方が大きかった。

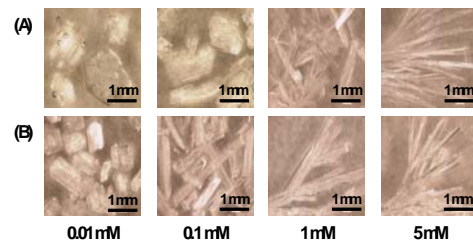


Fig. 1. Photographs of aspirin crystals precipitated in the presence of HB-β-CyD (A) or DM-β-CyD (B) at various concentrations in sodium phosphate / HCl solution (pH 2.0), stored for 1 day at 4 °C

③ HB-β- および DM-β-CyDs 水溶液の表面張力は他の CyD に比べて有意に小さいことから、アスピリンの晶癖変化には CyDs の界面活性作用が関与していることが示唆された。

④ 振動写真の結果より、HB-β- および DM-β-CyDs 添加溶液から析出したアスピリン針状結晶は *b* 軸方向へ伸長していることが確かめられた。

⑤ 自作の観察用セルを用いて結晶成長を観察した結果、HB-β-CyD 水溶液中においてアスピリンは *c* 軸方向への結晶成長が著しく抑制されることが明らかとなった。

⑥ 円二色性 (CD), ¹H-NMR スペクトル測定より HB-β- および DM-β-CyDs はアスピリンのフェニル基部分を優位に包接し、モル比 1 : 1 の複合体を形成することが示唆された。

⑦ 溶解度法から求めたアスピリンと HB-β- および DM-β-CyDs の安定度定数は、他の CyDs に比べて大きく、アスピリン針状結晶形成には CyDs 包接の関与が示唆された。
1) 固体状態においてアスピリンは HB-β-CyD と非晶質性複合体を、一方、DM-β-CyD とは結晶性複合体を形成するこ

とが明らかとなった。

⑧ 単結晶 X 線解析の結果より、アスピリン/DM- β -CyD 複合体の結晶構造は、空間群：P2₁2₁2₁、格子定数： $a = 14.305 \text{ \AA}$, $b = 19.256 \text{ \AA}$, $c = 28.634 \text{ \AA}$ であり、DM- β -CyD はアスピリンのフェニル基を 1 級水酸基側からモル比 1 : 1 で浅く包接することが明らかとなった。

⑨ Fig. 2 に示すように、HB- β -CyD 添加系、DM- β -CyD 添加系およびアスピリン単独系から得たアスピリン結晶の溶解速度は HB- β -CyD 添加系 > DM- β -CyD 添加系 > 単独系の順であり、この溶解性増大の一因として水に対する結晶のぬれ性の増大が考えられた。

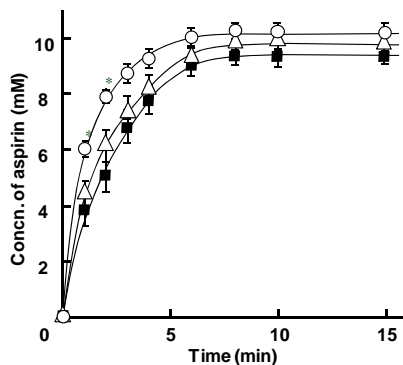


Fig. 2. Dissolution profiles of aspirin crystals (100-200 mesh) in JP XV first fluids (pH 1.2) at 37 °C, measured by dispersed amount method (300 rpm)
■: Alone, ○: HB- β -CyD, △: DM- β -CyD.

上記の知見は、CyDs の包接機能を利用して面選択的に結晶成長を抑制することにより晶癖を制御可能なことを示唆するものであり、薬物の特定の晶癖の調製や固体物性を改善する際の有用な基礎資料になるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

① T. Ishiguro, F. Hirayama, D. Iohara, H. Arima and K. Uekama, Crystallization and Polymorphic Transition of Chlorpropamide in Aqueous 2-Hydroxybutyl- β -cyclodextrin Solution, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 39, 248-255 (2010). 査読有

② 上釜兼人、平山文俊、庵原大輔、シクロデキストリンを用いた製剤からの薬物の溶出性、吸収性の改善、*ファルマシア*, 45, 1223-1227 (2009). 総説、査読なし

③ T. Ishiguro, F. Hirayama, D. Iohara, K. Uekama, Prominent Inhibitory Effect of 2-Hydroxybutyl- β -cyclodextrins on Solution Mediated Polymorphic Transition of Chlorpropamide, *Chem. Lett.*, 37, 816-817 (2008). 査読有

④ D. Iohara, F. Hirayama, T. Ishiguro, H. Arima and K. Uekama, Preparation of Amorphous Indomethacin from Aqueous 2,6-Di-*O*-methyl- β -cyclodextrin Solution, *Int. J. Pharm.*, 354, 70-76 (2008). 査読有

[学会発表] (計 8 件)

① 森下絵理、庵原大輔、石黒貴子、和田幸樹、平山文俊、本山敬一、有馬英俊、上釜兼人、新規シクロデキストリン誘導体2-ヒドロキシブチル- β -シクロデキストリンの製剤素材としての有用性評価、第27回日本薬学会九州支部大会、2010年12月11日、長崎。

② 平山文俊、庵原大輔、上釜兼人、シクロデキストリン誘導体存在下におけるアスピリンの結晶成長、日本薬剤学会第24年会、2009年5月23日、静岡。

③ 石黒貴子、平山文俊、庵原大輔、上釜兼人、2-ヒドロキシブチル- β -シクロデキストリンを利用したクロルプロピドの準安定形結晶の選択的調製、第26回シクロデキストリンシンポジウム、2009年9月10日、栃木。

④ 平山文俊、庵原大輔、上釜兼人、シクロデキストリンを利用した固形薬物の結晶多形転移および晶癖の制御、第2回シクロデキストリンワークショップ、2009年11月1日、熊本。

⑤ 庵原大輔、平山文俊、上釜兼人、ジメチル- β -シクロデキストリンを利用した水溶液からの非晶質性インドメタシンの調製とその溶解挙動、日本薬剤学会第23年会、2008年5月20日、札幌。

⑥ K. Yoshida, F. Hirayama, D. Iohara, H. Arima, K. Uekama, Change in Crystal Habit of Aspirin by the Addition of Cyclodextrins in Aqueous Solution, 14th International Cyclodextrin Symposium, 2008年5月8日、Kyoto,.

⑦ T. Ishiguro, F. Hirayama, D. Iohara, H. Arima, K. Uekama, Effects of 2-Hydroxybutyl- β -cyclodextrin on Solution-mediated Transformation of Chlorpropamide, 14th International Cyclodextrin Symposium, 2008年5月10日、Kyoto.

⑧ 吉田賢史、平山文俊、庵原大輔、有馬英俊、シクロデキストリン誘導体によるアスピリン結晶の晶癖変化とその機構に関する検討、第25回日本薬学会九州支部大会、2008年12月6日、延岡.

〔図書〕 (計1件)

① K. Uekama, F. Hirayama, "Improvement of Drug Properties by Cyclodextrins" in "The Practice of Medicinal Chemistry (3rd version)" Academic Press Limited, London, 2008, pp. 813-840.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pharm.ph.sojou.ac.jp/~dio/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平山 文俊 (HIRAYAMA FUMITOSHI)

崇城大学・薬学部・教授

研究者番号：90094036

(2) 研究分担者

庵原 大輔 (IOHARA DAISUKE)

崇城大学・薬学部・助手

研究者番号：40454954