

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 23 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21790032

研究課題名（和文）MQ-MAS NMR 法による医薬品金属塩の結晶・分子状態の評価

研究課題名（英文）Evaluation of crystal and molecular state of pharmaceutical salt by MQ-MAS NMR method

研究代表者

東 顕二郎（HIGASHI KENJIROU）

千葉大学・大学院薬学研究院・助教

研究者番号：40451760

研究成果の概要（和文）：Multi Quantum Magic Angle Spinning (MQ-MAS) NMR 法によりナプロキセン Na 及びクロモグリク酸 Na の各種擬似多形の詳細な構造及び分子状態の評価、低含量製剤中の擬似多形識別が可能であることを明らかとした。本研究により、MQ-MAS 法が製剤の分野においても医薬品結晶多形の識別や分子状態の評価等に幅広く応用できる有用な手法であることが示された。

研究成果の概要（英文）：Multi Quantum Magic Angle Spinning (MQ-MAS) NMR spectroscopy characterized the pseudopolymorphs of sodium naproxen and cromolyn sodium. The detailed structure and molecular state of the pseudopolymorphs were clarified. The discrimination of the pseudopolymorphs in low dose formulation was achieved. This study revealed that MQ-MAS method could be a powerful technique to evaluate pharmaceutical formulations.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：MQ-MAS NMR / 固体 NMR / 低含量製剤 / 水和物

1. 研究開始当初の背景

医薬品は、その構造中に Na、Al、Mg、Ca などの金属を含むものが非常に多い。しかし、固体医薬品の構造に含まれる金属原子の分子状態をダイレクトに評価する方法は確立されておらず、原子吸収分析法・示色反応等による間接的な定量評価しかなされていない状況であった。

近年、核スピン >1 の半整数スピン核（核スピン $I=3/2, 5/2, \dots$ ）の測定を可能とした MQ-MAS NMR 法が開発されこれまで観測

困難であった ^{23}Na 、 ^{27}Al 、 ^{25}Mg 、 ^{43}Ca などの四極子核の高分解能化が可能となった。そして現在では、固体 NMR 装置の発展に伴い MQ-MAS NMR 法は無機固体材料分野等で金属の分子状態を評価できる強力なツールとして、盛んに利用されている。しかしこれまでに MQ-MAS 法を医薬品・製剤分野に応用した報告は皆無であった。MQ-MAS NMR 法では“金属の分子状態に関するダイレクトな情報が得られる”ことから、物性評価・品質保証が極めて重要視される医薬品・製剤分野における応用価値

は非常に高いと考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、医薬品金属塩の擬似多形を MQ-MAS NMR 法により評価し、MQ-MAS NMR 法の製剤的有用性を明らかとすることである。本研究では MQ-MAS NMR 法を用いて、以下に示す検討を行った。

(1) 多種類の擬似多形を有する医薬品金属塩 (ナプロキセン Na (SN), Fig.1(a)) の評価。

(2) 他の測定法では擬似多形の識別が困難である医薬品金属塩 (クロモグリク酸 Na (CS), Fig.1(b)) の評価

(3) 複数成分が存在する低含量製剤中での医薬品塩擬似多形の識別

(4) MQ-MAS NMR から予想された構造と単結晶 X 線構造解析の結晶構造データとの比較評価

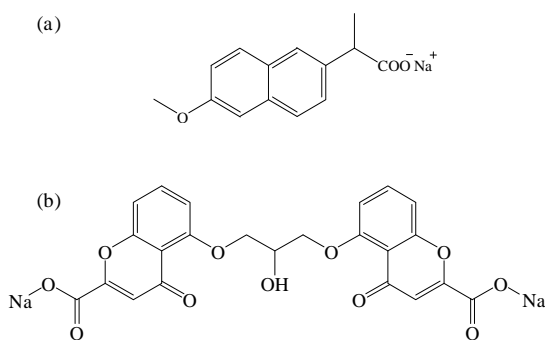


Fig. 1 Chemical structure of (a) sodium naproxen (SN) and (b) cromolyn sodium (CS)

3. 研究の方法

固体 NMR 測定は、分光器として日本電子製 JNM-ECA600 (14.1 T) を使用した。プローブには 3.2 mm MQMAS プロブまたは 4 mm H-X プロブを用いた。MQ-MAS 測定は、各試料について最適なパルス幅・パルス強度を設定し、回転数 15-20 kHz で行った。

(1) モデル薬物として 4 種の水和物が報告されている SN の無水物 (ASN)、1 水和物 (MSN)、2 水和物 (DSN) 及び 4 水和物 (TSN) を調製し、 ^{23}Na -MQMAS NMR 測定により評価した。

(2) モデル薬物として CS を用い、構造が類似した 2 種類の CS 擬似多形、CS-L (低水分含量) 及び CS-H (高水分含量) を調製し、 ^{23}Na -MQMAS NMR 測定により評価を行った。

(3) 添加剤として β -Mannitol を用いて 10% CS-L 製剤をモデル的に処方し、 ^{23}Na -MQMAS NMR 測定による評価を行った。

(4) SN の 4 種類の擬似多形について MQ-MAS NMR 測定に加えて ^{23}Na 縦緩和時間 ($^{23}\text{Na}-T_1$) 及び ^1H - ^{23}Na CP (cross polarization) 測定を行い各擬似多形の構造評価を行った。そして固

体 NMR より予測された構造と、単結晶 X 線構造解析から得られた結晶構造との比較検討を行った。

4. 研究成果

(1) SN の 4 種類の擬似多形について ^{23}Na -MQMAS NMR 測定を行った。その結果、MSN 及び TSN の Na の状態は 1 つであるのに対し、ASN 及び DSN では 2 つの Na の状態が存在するのが観察された (Fig. 2)。また、 ^{23}Na -MQMAS NMR スペクトル上で観察される Na のピークの化学シフト値 (δ_{CS}) 値及び核四極子定数 (P_0) 値は、各水和物間でそれぞれ異なる値を示した。このことから、MQMAS NMR 法を用いることにより SN の 4 種類の異なる無水物・水和物を評価できることが示された。

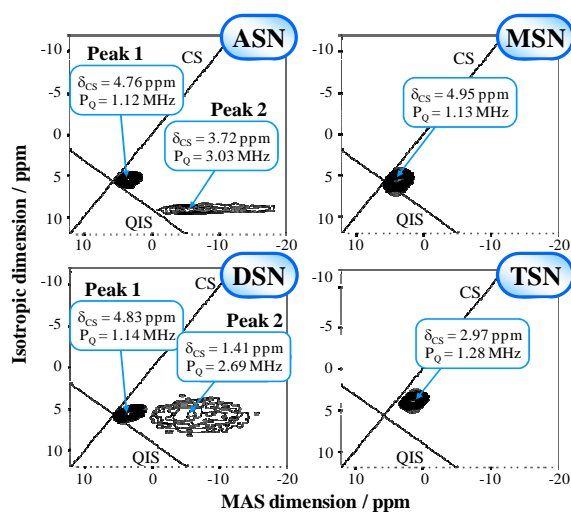


Fig. 2 ^{23}Na -MQMAS NMR spectra of SN pseudopolymorphs

(2) CS の 2 種類の擬似多形 (CS-L 及び CS-H) について粉末 X 線回折 (PXRD) 測定及び ^{13}C -CPMAS NMR 測定による評価を行った (data not shown)。その結果、両擬似多形が示す PXRD パターン及び ^{13}C -CP MAS NMR スペクトルは類似しているのが観察された。このことから、各擬似多形のクロモリン骨格は類似の構造を有することが示唆された。そこで、CS-L 及び CS-H における構造の相違を反映すると考えられた水の配位している Na 原子の評価を行った。初めに、従来の測定法であるシングルパルス法を用いた固体 ^{23}Na -MAS NMR 測定を行った (data not shown)。その結果、CS-L 及び CS-H はいずれも単一のピークを示し、その化学シフトの違いから両者の Na 原子状態の違いが認められた。しかし、いずれの NMR スペクトルもピークがブロードで詳細に状態を評価することは困難であった。これは Na 核に生じている核四極子相互作用が原因であると考えられた。そこで Na 原子の状態をより正確に評価するため、固体

^{23}Na -MQMAS NMR 測定を行った。Fig. 3 に CS-L 及び CS-H の ^{23}Na -MQMAS NMR スペクトルを示す。

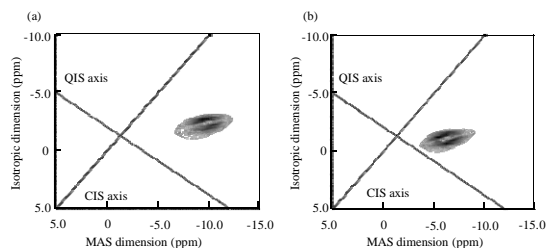


Fig. 3 ^{23}Na -MQMAS NMR spectra of (a) CS-L and (b) CS-H

CS-L 及び CS-H の MQMAS スペクトルで観察されたピークの σ_{CS} 値及び核四極子定数 P_Q は明瞭に異なった。CS-L では $\sigma_{\text{CS}} = -5.07$ ppm, $P_Q = 2.16$ MHz、CS-H では $\sigma_{\text{CS}} = -2.84$ ppm, $P_Q = 1.79$ MHz と算出された。このことから、両擬似多形間で Na 核周辺の磁場環境及び Na 核に生じている核四極子相互作用の大きさが異なることが明らかとなった。また、両者の σ_{CS} を比較すると CS-H のピークの方が低磁場側であり電子密度が小さいことが示唆された。これは、より多くの水分子が Na 原子に配位しているためと考えられた。以上の結果から、 ^{23}Na -NMR 測定により、PXRD 測定や ^{13}C -CP/MAS NMR 測定では評価が困難であった CS 擬似多形を識別できた。さらに、 ^{23}Na -MQMAS NMR スペクトルから、水分子の配位数の違いを反映したそれぞれのピークにおける真の化学シフト値及び核四極子定数が算出され、従来の ^{23}Na -MAS スペクトルと比較して CS に関する詳細な情報が得られた。

(3) ^{23}Na 、 ^{25}Mg 、 ^{27}Al 等の一般的な添加剤には含まれることの少ない原子を測定対象とすることで、製剤中における他成分の影響を受けずに医薬品塩の分子状態をダイレクトに評価できる。そのため、MQMAS NMR 測定は製剤の評価法としての応用が期待できる。低含量 CS-L 10% 製剤について PXRD 測定を行った結果、CS-L 由来のパターンは添加剤である p -Mannitol 由来のパターンに埋もれてしまい、CS-L の分子状態を評価することは困難であった (data not shown)。

^{23}Na -MQMAS NMR 測定により低含量 CS-L 10% 製剤を評価した結果を Fig. 4 に示す。低含量 CS-L 10% 製剤の ^{23}Na -MQMAS スペクトルでは、CS-L 分子中の Na 原子に由来する 1 つのピークが観察された。また、その $\sigma_{\text{CS}} = -4.79$ ppm 及び $P_Q = 2.23$ MHz はそれぞれ CS-L とほぼ同じ値を示し、製剤中における CS の分子状態は CS-L であると正確かつ容易に評価できた。

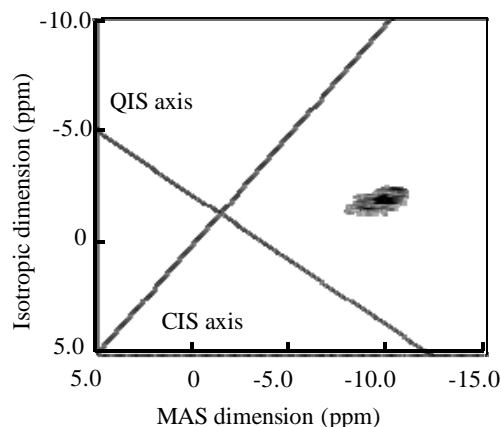


Fig. 4 ^{23}Na -MQMAS NMR spectrum of CS-L 10% formulation

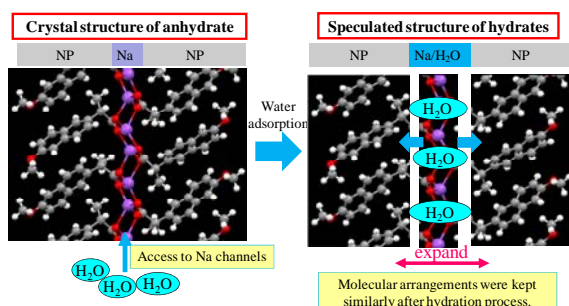
(4) SN の 4 種類の擬似多形について ^{13}C -CP/MAS NMR 測定を行った (data not shown)。その結果、SN のナフトレン環周辺及びメチル基に由来する炭素のケミカルシフト値が異なるのが認められたものの、全体的なスペクトルの形状は類似していた。さらに ^{13}C - T_1 を Torchia 測定により評価した結果より、擬似多形間では運動性の差は小さいと考えられた (data not shown)。以上の結果より、各擬似多形間では ^{13}C の化学的環境は類似していると推察された。

次に水分子が吸着しやすく、擬似多形形成に伴う変化が大きいと考えられた Na の分子状態について評価を行った。 ^{23}Na -MQMAS NMR 測定の結果 (Fig. 2)、4 種類の擬似多形においては、Na 核を取り巻く環境が擬似多形間で大きく異なることが示された。各試料について飽和回復法により ^{23}Na - T_1 を測定した結果、 ^{23}Na - T_1 値は $\text{ASN} > \text{MSN} > \text{DSN} > \text{TSN}$ と水和数の増大に伴い減少するのが観察された (data not shown)。このことから、Na 核への水吸着量の違いが各水和物の構造に影響していると考えられた。次に水分子の Na 核への吸着を評価する目的で、 ^1H - ^{23}Na 接触時間依存性実験を行った (data not shown)。各擬似多形について、Na 核の磁化強度が最大値となる接触時間を比較したところ、 $\text{ASN} > \text{MSN} > \text{DSN} > \text{TSN}$ となった。このことから、 ^1H - ^{23}Na 間の相互作用は Na 核への水の吸着量の増大に伴い大きくなると考えられた。

以上の固体 NMR 測定の結果に基づき SN 擬似多形の構造の予測を行った (Fig. 5)。ASN の構造は、ナプロキセンアニオン、Na、ナプロキセンアニオンの層から形成される。 ^{23}Na 固体 NMR の結果より水和物の形成に伴い水が Na 分子に吸着することが示されており、水が Na チャネルにアクセスすると考えられた。水分子が Na 原子へ吸着した場合、Na と水のチャネルが形成されそのチャネルは水分子の吸着量につれて拡大することが予想された。一方、ナプロキセン部位の構造は変化するも

のその構造変化は小さいと考えられた。

Fig. 5 Speculated structures of SN pseudopolymorphs from solid state NMR results



次に固体 NMR から予想された構造と SN 擬似多形の X 線結晶構造解析より得られた結晶構造を比較した。単結晶構造においては、水は主に Na 原子へ吸着するのが観察され、吸着量の増大に伴い Na と水からなる層の厚さが拡大していくのが観察された。一方、Na と水からなる層が増大した場合においても、各擬似多形の分子配列はナプロキセンアニオン、Na と水、ナプロキセンアニオンなる層が維持されており類似しているのが観察された。以上示したように、固体 NMR 測定から予想された SN 擬似多形の構造は、単結晶 X 線構造解析の結果より得られた結晶構造と一致するのが確認された。

MQ-MAS NMR 測定を含む固体 NMR 測定は良質な単結晶が得られない場合に薬物の構造を予想できる有用な方法になりうると考えられた。

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 2 件)

- ① S. Tanabe, K. Higashi, M. Umino, W. Limwikrant, K. Yamamoto, K. Moribe. Yellow coloration phenomena of incorporated indomethacin into folded sheet mesoporous materials. *Int. J. Pharm.* 2012. 429, 38-45. (査読有)
- ② J. Zhang, K. Higashi, M. Umino, W. Limwikrant, K. Yamamoto, K. Moribe. Molecular-level characterization of probucol nanocrystal in water by in situ solid-state NMR spectroscopy. *Int. J. Pharm.* 2012. 423, 571-576. (査読有)

[学会発表] (計 13 件)

- ① 東 顕二郎、FSM 細孔内のインドメタシン着色メカニズムの検討、第 132 回日本薬学会、2012. 3. 30、北海道大学、北海道
- ② 東 顕二郎、医薬品ナノ微粒子の構造・分子状態の評価、大学連携研究設備ネットワーク 研究成果報告会、2012. 1. 27、東京大学本郷キャンパス、東京
- ③ 東 顕二郎、NMR 法を用いた懸濁液中に存在する Probuco^l ナノ微粒子の分子状態の評価、第 28 回 製剤と粒子設計シンポジウム、2011. 10. 27、ホテルニューオータニ大阪、大阪
- ④ 海野 真、クロモグリク酸 Na 擬似多形及び製剤の ²³Na MQMAS NMR による評価、第 55 回 日本薬学会関東支部大会、2011. 10. 8、東邦大学薬学部、千葉
- ⑤ 海野 真、³Na MQMAS NMR 測定を用いたクロモグリク酸 Na 擬似多形の識別、日本薬剤学会第 26 年会、2011. 5. 29 タワーホール船堀、東京
- ⑥ 東 顕二郎、²³Na 固体 NMR 測定によるナプロキセン Na 擬似多形の分子状態の評価：結晶構造データに基づいた NMR スペクトル解析、日本薬剤学会第 26 年会、2011. 5. 29、タワーホール船堀、東京
- ⑦ 東 顕二郎、ナプロキセン Na 水和物中の水の分子状態に関する検討、日本薬学会第 131 年会、2011. 3. 29、静岡県コンベンションアーツセンター、静岡
- ⑧ 東 顕二郎、固体 NMR の製剤学的応用、第 13 回 固体 NMR 交流会、2010. 3. 17、千葉大学、千葉
- ⑨ 東 顕二郎、²³Na-固体 NMR 測定によるナプロキセン Na 水和物の評価、第 26 回 製剤と粒子設計シンポジウム、2009. 11. 27、グランドプリンスホテル広島、広島
- ⑩ Kenjiro Higashi, Evaluation of Sodium Naproxen Hydrates by ²³Na-MQ-MAS NMR Spectroscopy, American Association of Pharmaceutical Sciences 2009, 2009. 11. 17 Los Angeles, USA

- ⑪ Ayako Yamamoto, Characterization of Sodium Naproxen pseudopolymorphs by MQMAS NMR, Asian federation for Pharmaceutical Sciences, 2009, 2009.10.17 Fukuoka Japan
- ⑫ 山本 紋子、²³Na-MQMAS NMR 法による抗炎症薬ナプロキセン Na 水和物の物性評価、第 46 回固体 NMR・材料フォーラム、2009.10.13、産業総合研究所（お台場）、東京
- ⑬ 山本 紋子、²³Na-MQMAS NMR 測定によるナプロキセンナトリウム水和物の物性評価、日本薬剤学会第 24 年会 2009.5.22、静岡県コンベンションアーツセンター、静岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東 顕二郎 (HIGASHI KENJIROU)
千葉大学・大学院薬学研究院・助教
研究者番号：40451760