

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：37401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590063

研究課題名(和文) シクロデキストリン包接を利用した溶液媒介性結晶多形転移および結晶成長速度の制御

研究課題名(英文) Controls of Solution-mediated Polymorphic Transition and Crystal Growth Rate Utilizing Cyclodextrin Complexation

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

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、溶液媒介性結晶多形転移ならびに結晶成長速度の制御を試み、以下の知見を得た。アセトヘキサミドを2-ヒドロキシブチル-β-CyD含有水溶液から再結晶すると、新規結晶多形(Form VI)が得られた。新規多形Form VIは安定であり、他の結晶多形(Forms I-V)に比べて高い水溶性を有した。2,6-ジメチル-β-CyDあるいは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は多形転移あるいは晶癖制御剤として有用であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The controls of solution-mediated polymorphic transition and crystal growth rate of drugs were conducted, utilizing inclusion complexations with cyclodextrins (CyDs). 1. A new polymorph of acetohexamide (Form VI) was prepared via the formation of a complex with 2-hydroxybutyl-β-cyclodextrin (HBB-β-CyD) in aqueous solution. The new crystalline Form VI was highly soluble in water and physically and chemically stable, compared with other polymorphs (Forms I-V). 2. The crystal shape of aspirin was changed from plate to needle crystals, when the crystallizing solvent was changed from water to aqueous 2,6-dimethyl-β-CyD and 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.

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 アセトヘキサミド アスピリン 新規結晶多形 晶癖 溶液媒介性多形転移 結晶成長速度 包接複合体

1. 研究開始当初の背景

有機化合物の約 2/3 は 2 種あるいはそれ以上の結晶多形を有し、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。我々は、これまでに、経口糖尿病治療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見出した。即ち、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ことを報告した (*Chem. Commun.* 517-519 (2006), *Crystal Growth & Design*, **6**, 1181-1185 (2006))。また、抗炎症薬インドメタシンをメチル化 β -シクロデキストリン溶液から再結晶すると、非晶質体として析出することを報告した (*Int. J. Pharm.*, **354**, 70-76 (2008))。さらに、経口糖尿病治療薬クロルプロパミドは、メチル化 β -シクロデキストリン濃度に依存して、高濃度では最も不安定な準安定形 Form II として結晶化し、一方、低濃度では次に不安定な準安定形 Form III として結晶化することを明らかにした (*Chem. Lett.*, **37**, 816-817 (2008), *Eur. J. Pharm. Sci.*, **39**, 248-255 (2010))。このメチル化 β -シクロデキストリンによる準安定形の選択的結晶化は、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、特に、メチル化 β -シクロデキストリンの高濃度では最も不安定な準安定形が析出したものと考えられた。このような、準安定形の選択的結晶化は、メチル化 β -シクロデキストリンが溶液媒介性多形転移を抑制することに起因するものと推定された。一方、アセチルサリチル酸 (アスピリン) をシクロデキストリン溶液から再結晶すると晶癖 (結晶の外形) が著しく変化し、結晶は板状晶から針状晶へ変化することを見出した。また、新規シクロデキストリン誘導体である 2-ヒドロキシブチル- β -シクロデキストリンは、これらの多形転移や晶癖変化に対して、メチル化- β -シクロデキストリンよりも大きく影響することを予備的に観察した。

2. 研究の目的

上述したような背景のもと、本研究では主に 2-ヒドロキシブチル- β -シクロデキストリンを用いて、固形薬物の溶液媒介性多形転移ならびに晶癖の制御を企図した。

(1) 溶液媒介性多形転移の制御による経口糖尿病治療薬アセトヘキサミドの新規結晶多形の調製

各種シクロデキストリン (CyDs と略記。例えば、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)) 水溶液からアセトヘキサミドを再結晶し、析出する結晶多形を分析した。

(2) アスピリンの晶癖の制御

HB- β -CyD 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定量的に観察するとともに、その詳細な機構を考察した。

3. 研究の方法

(1) アセトヘキサミドの新規結晶多形の調製

アセトヘキサミドの結晶化は、室温においてリン酸緩衝液 (pH 8.0) 20 mL にアセトヘキサミド 5.0 mM, CyDs 5.0 mM を溶解後、0.5 N HCl により pH を 4.0 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。アセトヘキサミドと CyDs との相互作用は溶解度法ならびに $^1\text{H-NMR}$ スペクトル法により検討した。

(2) アスピリンの晶癖の制御

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 HB- β -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。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。アスピリンの溶解速度は粉末法で測定した (温度: 37°C、溶出液: JP16 第 1 液 (pH 1.2) 50 mL、パドル回転数: 300 rpm)。アスピリンの定量は HPLC で行った。溶解度法は、Higuchi らの方法に従って行った。

4. 研究成果

(1) 溶液媒介性多形転移の制御による経口糖尿病治療薬アセトヘキサミドの新規結晶多形の調製

アセトヘキサミドには Forms I~V の 5 種類の結晶多形が存在することが知られている。この内、Form II は Form I と IV の混合物である。図 1 は Forms I, III, IV, V ならびに HB- β -CyD 存在下で析出した結晶の粉末 X 線回折図を示す。本実験条件下、CyDs 非存在下では Form III の結晶が析出した。一方、HB- β -CyD 存在下で析出した結晶は、 $2\theta = 6.2^\circ, 9.2^\circ, 18.2^\circ, 21.8^\circ$ に他の結晶多形と異なる回折ピークを与え、新規結晶多形であることが示唆された。示差熱分析においても、HB- β -CyD 存在下で析出した結晶は、他の結晶多形と異なる吸熱ピーク (149 °C) を与え

た。これらの結果は、HB- β -CyD 存在下で析出した結晶はアセトヘキサミドの新規結晶多形であることを示す。以後、この結晶を Form VI と呼ぶ。

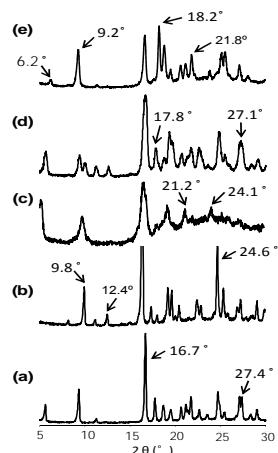


図1．アセトヘキサミド結晶多形の粉末 X 線回折図。

(a) Form I, (b) Form III, (c) Form IV, (d) Form V,
(e) HB- β -CyD 存在下で析出した結晶 (Form VI)。

溶液中の HP- β -CyD 濃度が 0 ~ 4 mM では Form III と新規結晶多形 Form VI の混合物が析出したが、5 mM 以上では Form VI のみが析出した。

新規結晶多形 Form VI は、30 °C, 75% 相対湿度下では 8 ヶ月以上安定であった。一方、高温 (60 °C), 75% 相対湿度下では Form III へ徐々に転移した (100% 転移時間は約 2 ヶ月)。

アセトヘキサミドと CyDs との相互作用を溶解度法や NMR スペクトル法で検討した結果、HB- β -CyD 複合体の安定度定数 (1220 M^{-1}) は天然 β -CyD (1100 M^{-1}) や HP- β -CyD (920 M^{-1}) に比べて大きかった。また、HB- β -CyD はアセトヘキサミドのシクロヘキサン部分を優位に包接することが明らかとなった。

図2は新規結晶多形 Form VI の水への溶解速度を示す。Form VI の溶解速度は他の結

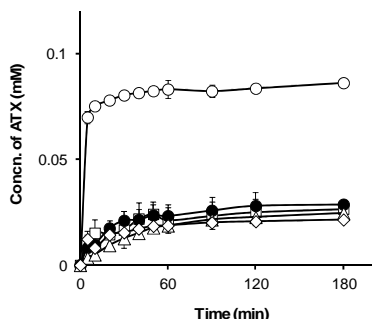


図2．アセトヘキサミド (ATX) 結晶多形の水への溶解挙動 (37 °C)。

○: Form I, ●: Form III, ▲: Form IV, △: Form V,
○: HB- β -CyD 存在下で析出した結晶 (Form VI)。

晶多形 (Form I ~ V) に比べて著しく大きかった。また、図3に示すように、Form VI をラットに経口投与後の血漿中薬物濃度は、Form III に比べて上昇した。

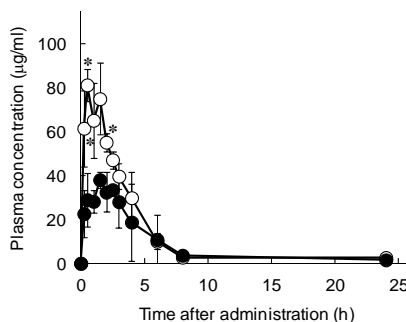


図3．アセトヘキサミド結晶多形をラットに経口投与後の血漿中薬物濃度。

○: Form III,
●: HB- β -CyD 存在下で析出した結晶 (Form VI)。

以上の結果より、HB-CyD との相互作用を利用してアセトヘキサミドの新規結晶多形を調製可能ことが明らかとなった。また、この新規結晶多形は優れた溶解性を有することが明らかとなった。

(2) アスピリンの晶癖の制御

アスピリン単独溶液から板状結晶が析出したが、HB- β -CyD 水溶液からは針状結晶が析出した (図4)。晶癖変化の影響は DM- β -CyD よりも HB- β -CyD 系の方が大きかった。

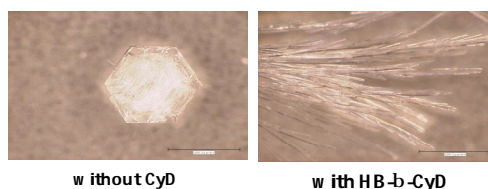


図4．HB- β -CyD 存在下、非存在下において析出したアスピリン結晶の外形。

振動写真の結果より、HB- β -CyD 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。

結晶成長方向を詳細に観察した結果、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。

図5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。

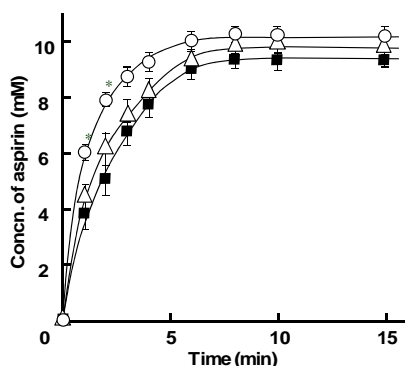


図5 .日局 XV 第 1 液へのアスピリン結晶の溶解挙動 (37 °C) .

- : アスピリン単独溶液から析出した結晶,
- : HB-β-CyD 添加系から析出した結晶,
- : DM-β-CyD 添加系から析出した結晶.

上記の知見は、HB-β-CyD の包接機能を利用して固形薬物の新規結晶多形の調製ならびに結晶の外形（晶癖）を制御可能なことを示すものであり、薬物の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 10 件)

1. H. Aldawsari, A. Altaf, Z.M. Banjar, D. Iohara, M. Nakabayashi, M. Anraku, K. Uekama, F. Hirayama, Crystallization of A New Polymorph of Acetohexamide from 2-Hydroxybutyl-β-cyclodextrin Solution: Form VI with High Aqueous Solubility. *Int. J. Pharm.*, **453**, 315-321 (2013). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.06.026>
2. A. Altaf, H. Aldawsari, Z.M. Banjar, M. Anraku, D. Iohara, M. Otagiri, K. Uekama, F. Hirayama, Preparation of Soluble Stable C₆₀/Human Serum Albumin Nanoparticles via Cyclodextrin Complexation and Their Reactive Oxygen Production Characteristics. *Life Sci.*, **93**, 277-282 (2013). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2013.06.021>
3. D. Iohara, K. Yoshida, K. Yamaguchi, M. Anraku, K. Motoyama, H. Arima, K. Uekama, F. Hirayama, Cyclodextrin-induced Change in Crystal Habit of Acetylsalicylic Acid in Aqueous Solution. *Crystal Growth & Design*, **12**, 1985-1991 (2012). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1021/cg201691c>
4. D. Iohara, M. Hiratsuka, F. Hirayama, K. Takeshita, K. Motoyama, H. Arima, K. Uekama, Evaluation of Photodynamic Activity of C₆₀/2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin Nanoparticles. *J. Pharm. Sci.*, **101**, 3390-3397 (2012). 査読有
DOI: 10.1002/jps.23045
5. M. Anraku, H. Tomida, A. Michihara, A. Tsuchiya, D. Iohara, Y. Maezaki, K. Uekama, T. Maruyama, M. Otagiri, F. Hirayama, Antioxidant and Renoprotective Activity of Chitosan in Nephrectomized Rats. *Carbohydr. Polymers*, **89**, 302-304 (2012). 査読有
DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.014
6. T. Ishiguro, E. Morishita, D. Iohara, F. Hirayama, K. Wada, K. Motoyama, H. Arima, K. Uekama, Some Pharmaceutical and Inclusion Properties of 2-Hydroxybutyl-β-cyclodextrin Derivative. *Int. J. Pharm.*, **419**, 161-169 (2011). 査読有
DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.07.044
7. Y. Miyamoto, M. Nakahara, K. Motoyama, T. Ishiguro, Y. Oda, T. Yamanoi, I. Okamoto, A. Yagi, H. Nishimura, F. Hirayama, K. Uekama, H. Arima, Improvement of Some Physicochemical Properties of Arundic Acid, (R)-(-)-2-Propyloctanonic Acid, by Complexation with Hydrophilic Cyclodextrins. *Int. J. Pharm.*, **413**, 63-72 (2011). 査読有
DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.04.022
8. N. Ono, Y. Miyamoto, T. Ishiguro, K. Motoyama, F. Hirayama, D. Iohara, H. Seo, S. Tsuruta, H. Arima, K. Uekama, Reduction of Bitterness of Antihistaminic Drugs by Complexation with β-Cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.*, **100**, 1935-1943 (2011). 査読有
DOI: 10.1002/jps.22417
9. D. Iohara, F. Hirayama, K. Higashi, K. Yamamoto, K. Uekama, Formation of Stable Hydrophilic C₆₀ Nanoparticles by 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin. *Mol. Pharm.*, **8**, 1276-1284 (2011). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1021/mp200204v>
10. K. Uehata, T. Anno, K. Hayashida, K. Motoyama, F. Hirayama, N. Ono, J.D. Pipkin, K. Uekama, H. Arima, Effect of Sulfobutyl ether-β-cyclodextrin on Bioavailability of Insulin Glargine and Blood Glucose Level after Subcutaneous Injection to Rats. *Int. J. Pharm.*, **419**, 71-76 (2011). 査読有
DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.07.018

〔学会発表〕(計4件)

1. 中林 磨実、庵原 大輔、安楽 誠、上釜 兼人、平山 文俊 2-ヒドロキシブチル-シクロデキストリンを用いたアセトヘキサミド新規結晶多形の調製 第28回日本薬学会九州支部大会 (2011/12/10-11) 福岡大学薬学部、福岡
2. 中林 磨実、庵原 大輔、平山 文俊、上釜 兼人、安楽 誠 アセトヘキサミドの結晶化に及ぼす 2-ヒドロキシブチル-シクロデキストリンの影響 第28回シクロデキストリンシンポジウム (2011/9/8-9) 秋田ビューホテル、秋田
3. 平山 文俊 シクロデキストリンによる薬物の結晶化および晶癖の制御 第36回製剤セミナー (2011/7/20-21) ヤマハリゾートつま恋、静岡 (招待講演)
4. 平山 文俊 シクロデキストリンによる薬物の結晶多形転移の制御 日本薬剤学会第26年会 (2011/5/29-31) タワーホール船橋、埼玉 (招待講演)

〔図書〕(計1件)

上釜兼人、平山文俊、安楽誠、庵原大輔、各種薬物の製剤特性改善におけるシクロデキストリンの有用性 . in “シクロデキストリンの科学と技術”, シーエムシー出版、2013, 314, pp. 124-133.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ph.sojo-u.ac.jp/~dio/index.htm>

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・助教

研究者番号：40454954