

放射光粉末 X 線結晶解析による医薬品原薬の脱水挙動解明
**Pharmaceutical dehydration process investigated by *ab initio*
structural determination from synchrotron X-ray powder
diffraction data**

寺田勝英^{a,b}

Katsuhide Terada

^a製剤機械技術研究会, ^b東邦大学薬学部

^aJapan Society of Pharmaceutical Machinery and Engineering,

^bFaculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

医薬品原薬は製剤や保存といった過程で脱水・水和・多形といった変化を起こすことがあり、これらは医薬品の性質を変えてしまうため問題となっている。このような転移の系統的な解明には構造情報が不可欠であるが、転移は単結晶状態の崩壊を伴うものがほとんどであり、単結晶法による構造の解明は困難である。本研究では、医薬品の転移過程を高分解能放射光粉末 X 線回折データから解析することで、転移の様子を三次元的な構造として解明し、各相の物性について構造の観点から明らかにした。

キーワード： 医薬品, 粉末 X 線結晶構造解析, 脱水転移, 多形転移, 共結晶

【背景と研究目的】

一般に有機医薬品原薬は製造条件により多数の多形結晶、擬似多形結晶（結晶溶媒を含む結晶）を持つことが知られており、特に水和物結晶は安定な結晶構造として製造され使われることが多い。ところが製造工程中の加圧、温度上昇、湿度変化、あるいは製造後保存環境などの条件により、原薬結晶が脱水和、多形転移を起こす現象も知られている。（擬似）多形結晶は化学的には同じ成分であるが、医薬品として重要な物理化学的性質である安定性、薬効に関係する溶解性などの性質がそれぞれ異なるため、医薬品の安全性、有効性の観点より、薬制上で原薬の物理化学的性質を十分に検討することが定められている。

このため、医薬品原薬はすべての多形結晶について結晶構造を決定し、物理化学的性質を調べることが必要であり、これにより熱力学的に安定で製剂的にもっとも好ましい性質を持つ結晶状態を選択的に利用することが可能となる。

相転移後・準安定相の結晶は単結晶構造解析が可能な大きさや品質を持たないことが多いが、最近放射光を使った回折測定で可能になりつつある粉末結晶構造解析を行うことで結晶構造を知

ることができる。

我々はこれまで、熱測定の詳細な解析から、未知の多形転移による医薬品原薬の新規結晶多形を見だし、粉末結晶構造解析を行ってきた。本研究では特に医薬品原薬の水和物結晶が温度条件により脱水し擬似多形結晶へと転移する現象に注目し、広く用いられている医薬品原薬の脱水和により得られた未知擬似多形結晶を *ab initio* 粉末結晶構造解析し、三次元構造から脱水メカニズムの解明を行った。

【アクリノールの脱水・多形転移現象】

アクリノールは殺菌消毒薬として知られている医薬品であり、エタクリジン、乳酸、水からなる有機塩である (図 1)。水和物の結晶状態が安定であることが知られているが、我々は最近、熱分析の結果から 102°C で脱水して無水 A 相へと転移し、さらに 190°C で多形転移を起こして無水 B 相へと転移することを見つけた。転移現象解明のため、また、転移で得られる相の物性と構造の関係を解明するために、無水 A 相と無水 B 相の結晶構造を粉末 X 線回折データから解析した。無水 B 相は安定な構造であるため、実験室系の回折データから構造が解析されたが、無水 A 相は吸湿性が高く、大気中の水分を取り込み、すぐに水和物へと戻ってしまうため、実験室系での回折測定が困難であった。そこで、無水 A 相は調製後すみやかにガラスキャピラリーへと封入し、水和を防いだ状態で高分解能粉末 X 線回折測定を BL19B2 の大型デバイ-シェラー IP カメラで行った。測定は 0.3mm φ のリンデマンガラスに封入した試料を用いて 23°C、波長 1.19770 Å で行い、キャピラリーはスピナーを使用して高速回転させた。露光時間は 30 分とした。

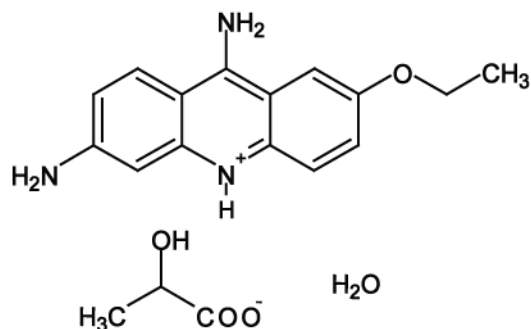


図 1 : アクリノール分子構造 (一水和物)

(C₁₅H₁₆N₃O⁺ / C₃H₅O₃⁻ / H₂O, MW : 361.39)

得られたデータをもとに構造解析を、プログラム DICVOL04 での指数付け、Le Bail 法による全パターンフィッティング、プログラム EAGER での遺伝的アルゴリズムを利用した実空間法による構造決定、プログラム GSAS でのリートベルト構造精密化という手順で行った。最終的なアクリノール無水 A 相のリートベルト解析は $2\theta = 4.01 - 77.13^\circ$ の範囲で行い、空間群 *P*-1, 格子定数 $a = 8.0470(4)\text{\AA}$, $b = 9.3575(5)\text{\AA}$, $c = 11.9164(7)\text{\AA}$, $\alpha = 102.441(3)^\circ$, $\beta = 103.173(5)^\circ$, $\gamma = 98.644(4)^\circ$, $V = 834.20(8)\text{\AA}^3$, $R_p = 4.70\%$, $R_{wp} = 6.20\%$, $R_F^2 = 7.52\%$ という良好なフィッティングの結果になった (図 2)。

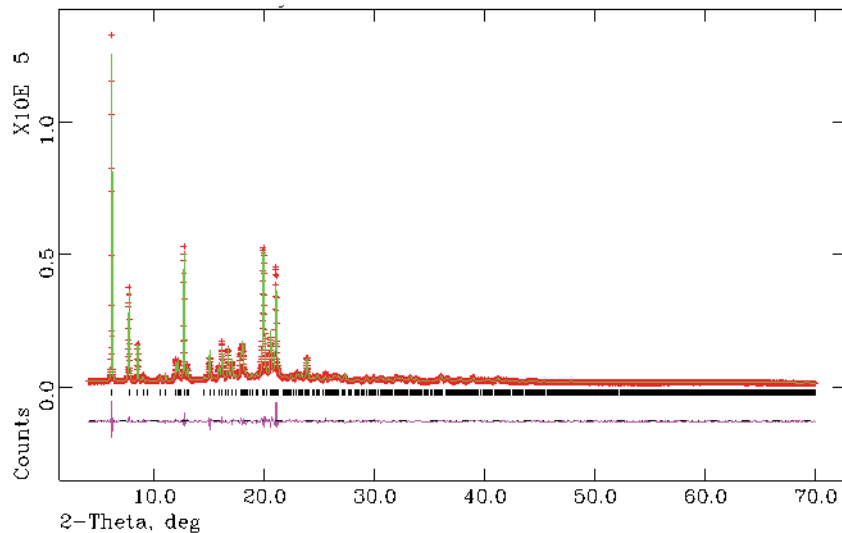


図 2 : アクリノール無水 A 相のリートベルト解析後の回折パターンへのフィッティング
赤 : 実測、緑 : 計算値、紫 : 実測と計算の差、黒 : Bragg 反射の位置

得られた構造から、脱水・多形転移に伴う構造変化を明らかにすることができた (図 3)。水和物から無水 A 相への脱水転移では、水が抜けると同時にエタクリジン分子のスタッキングや乳酸の配向などが変化するものの、全体的な分子の並びに大きな変化はなく、その構造変化は小さいものだった。そのため無水 A 相は水和を起こしてより安定な水和物の構造へと転移することが考えられる。得られた構造を基に COMPASS 力場を用いた格子エネルギー計算を行ったところ、水和物のほうが無水 A 相に比べ、単位格子当たり 33kcal/mol 程度安定であることがわかり、格子エネルギーのうちわけを調べたところ、分子間相互作用が有利な環境にあるため水和物の方が安定であることが明らかとなった。水和物と無水 A 相の間では結晶構造が似ているために、水和・脱水における転移の活性化エネルギーも小さいと考えられ、そのため無水 A 相は大気中の水分によっても、容易に水和物へと戻ると考えられる。一方、無水 A 相から B 相への多形転移では、大きく構造が変化しており、転移前後の構造の関連性は見られなかった。従って無水 B 相は水和物との構造差が大きく、水和を起こすための活性化エネルギーも大きいため、無水 B 相は容易に水和できないことが明らかとなった。

さらに、医薬品として重要な物性である初期溶出速度の測定を行った結果、無水 B 相 (39.8mg/ml・min) > 無水 A 相 (19.9mg/ml・min) > 水和物 (7.8mg/ml・min) という溶出速度の違いを見つけた。無水 B 相は水和物の約 5 倍の溶出速度をもっており、多形制御によって物性を大きく変化させることにも成功した。

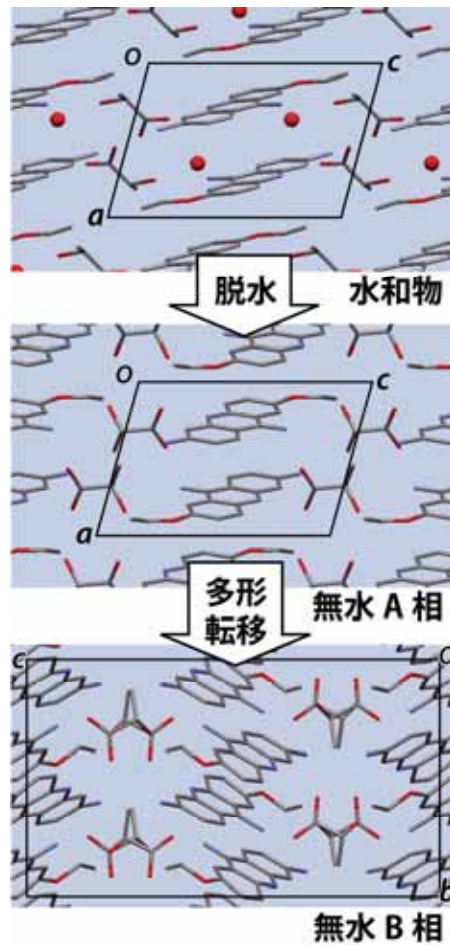


図 3 : アクリノールの脱水・多形転移による構造変化

【リシノプリルの脱水・水和挙動】

ACE 阻害薬（アンギオテンシン変換酵素阻害薬）として広く投薬されているリシノプリル（商品名ロンゲス、ゼストリル）（図 4）は、二水和物の形で使われており、加熱や低湿度下で一水和物を経由して無水物へと転移することが知られている。我々は 2007B1836 の重点産業利用課題でリシノプリルの二水和物相・無水相の構造解析を行い、脱水挙動の概略を明らかにした。その際に脱水過程における準安定な一水和物相の存在は確立できたが、この相は安定に存在する温度領域が狭く、さらに非常に吸湿性が高いため構造解析がされていなかった。一水和物の結晶構造は脱水における構造変化の詳細を解明するためには必要不可欠であり、BL19B2 の大型デバイ-シェラーカメラに備え付けられている窒素吹き付け型温度制御装置を用い、温度を精密に制御することで、装置上で一水和物の調製を行い回折データを測定した。

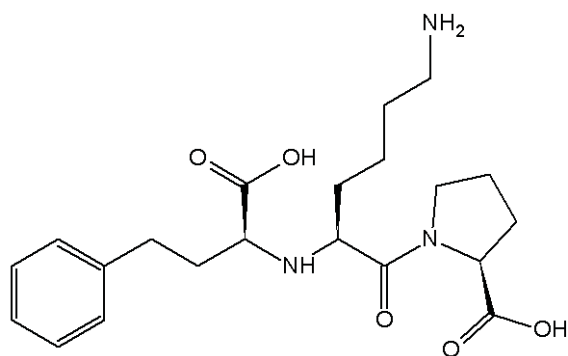


図 4 : リシノプリル

($C_{21}H_{31}N_3O_5$, MW : 405.5)

測定は SPring-8 BL19B2 の大型デバイセラーIP カメラを用い、波長はピークの分離を考慮して 1.20033(1)Å とした。粉末試料は 0.3mm φ のガラスキャピラリーに充填しスピナーで高速回転することにより試料の不均一性を除いた。一水和物結晶は非常に不安定であり、あらかじめ転移させたサンプルを測定することが困難であったため、回折計上で窒素吹き付け型温度制御装置を使い、その場でサンプル調製を行うことにした。昇温速度や設定温度の条件などを変え、純粋な一水和物結晶が得られる条件を模索し、最終的に設定温度 84°C で純粋な一水和物結晶を調製することに成功した。測定はこの温度で 5 分露光により粉末回折データを記録した。回折データはプログラム DICVOL04 による指数付けを行い、Pawley 法による精密化の結果、空間群 $P2_1$, $a=14.66711$, $b=5.91158$, $c=14.22376$ Å, $\beta=112.8780^\circ$, $V=1136.27$ Å³ ($\chi^2=3.19$) となり、多形成分の混入は認められなかった。粉末結晶構造解析は結晶構造データベースを基にした分子モデルを用い、プログラム DASH のシミュレーテッドアニーリング (SA) 法で行った。最終的に GSAS によるリートベルト法構造精密化を行い、 $R_{wp}=4.90\%$ という結果を得た。得られた構造は水素結合や原子間距離の観点から妥当な構造をとっており、正しい結晶構造であることが確認された。

一水和物結晶の構造を図 5 に示す。その構造は分子が積層した構造をとっており、二水和物に存在していた 2 種類の水分子のうち、格子中央に位置する水が抜けていることが明らかとなった。二水和物結晶からの構造変化は小さく、水分子が 1 つ抜けただけの構造変化となっており、これまでに得られた二水和物と無水物から推測されていた脱水メカニズムを強く証明する結果を得ることができた。

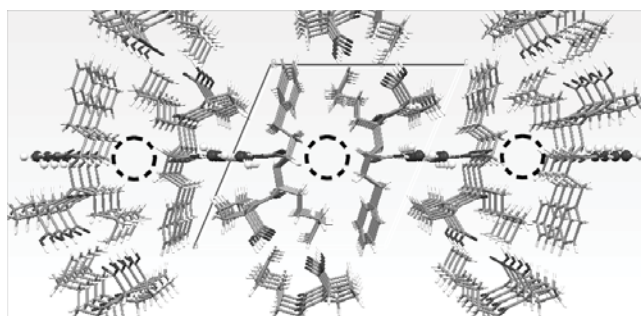


図 5 : リシノプリル一水和物の結晶構造

【バルプロ酸・L-アルギニン共結晶の構造解析】

我々は、吸湿性が非常に高く、取り扱い難かったバルプロ酸ナトリウム（図 6 左）の結晶物性改善を目的として、弱酸性化合物や弱塩基性化合物との共結晶化を試み、L-アルギニン（図 6 右）との間で共結晶体を形成することに成功した。この複合体共結晶の性質として、今までのバルプロ酸ナトリウムの臨界相対湿度が約 40% だったのに対し、バルプロ酸アルギニン塩（共結晶）は臨界相対湿度が約 70% まで上昇したため、原薬の製剤工程での取扱を著しく改善できることが推察される。

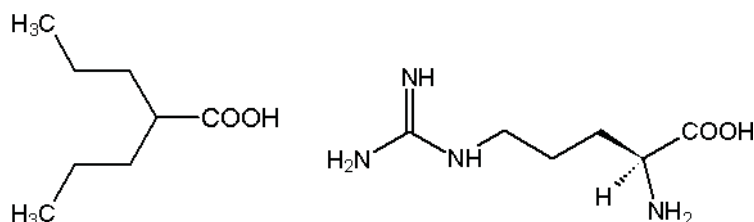


図 6 : バルプロ酸 (左) と L-アルギニン (右)

$C_8H_{15}NaO_2$ MW : 144.21 / $C_6H_{14}N_4O_2$ MW : 174.20

この共結晶は、通常の溶液からの晶析法では結晶化できなかったため、少量の溶媒を加えた固体混合粉碎によって共結晶を得た点も特徴である。固体混合による結晶化は、溶液からとは異なった組成や構造の結晶を作ることが知られており、特別な結晶化方法として期待されている。しかしながらこの方法では、溶液からの晶析と違って単結晶解析に適した結晶の生成は期待できず、今回得られた結晶も、極微細な粉末結晶であった。そこで *ab initio* 粉末結晶構造解析のために、新規なバルプロ酸アルギニン塩共結晶の高分解能粉末 X 線回折データ測定を SPring-8 BL19B2 の大型デバイセラー IP カメラを用いて行った。測定は 0.3mm φ のリンデマンガラスに封入した試料を用いて 23°C、波長 1.19725(1)Å で行い、キャピラリはスピナーを使用して高速回転させた。露光時間は 60 分とした。

得られた回折データを基に、DICVOL04 による指数付けを行い Le Bail 法による全パターンフィッティングを行った結果、 2θ 3.50-70.00(°)のフィッティングで空間群 C2, 格子定数 $a=15.0166(3)$ Å, $b=9.2489(2)$ Å, $c=15.2310(3)$ Å, $\beta=115.5630(6)^\circ$, $R_p=3.62\%$, $R_{wp}=6.09\%$ という良好なフィッティングを得ることができた (図 7)。現在、実空間法による構造決定を試みているが、決めるべきパラメーターが 21 個と多いため、計算に時間がかかることが予想される。

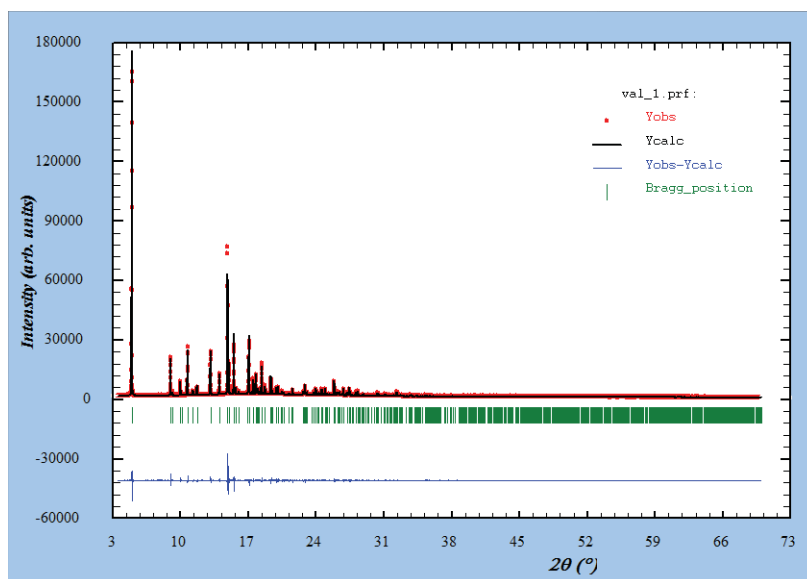


図 7：バルプロ酸・アルギニン共結晶の Le Bail フィッティング

高輝度放射光を用いた高精度・高分解能粉末 X 線回折測定を使えば、単結晶構造解析が不可能な微小単結晶（粉末結晶）であっても、三次元結晶構造を明らかにすることができる。本研究ではこの手法により、これまで調べることができなかった脱水転移後の構造を観察することに成功し、そのメカニズムを解明した。このような医薬品原薬の動的な挙動は薬学・製剤学的に重要な知見であり、製薬企業の製剤物性研究や相転移挙動などの基礎研究に大きく寄与することが期待される。また、本研究は新規医薬品の製造工程・多形制御への理論的考察につながることから、製薬業界の製剤物性研究及び技術力の向上に寄与し、合理的な開発による開発期間短縮という面においても、大きな影響を与えるものである。