シクロデキストリンとの混合粉碎による 医薬品の分子状態の変化

Change of Molecular States of Drug by Ground with Cyclodextrin

土戸 康平*, 吉橋 泰生, 米持 悦生, 寺田 勝英

Kouhei Tsuchito, Yasuo Yoshihashi, Etsuo Yonemochi, Katsuhide Terada

Received 28 March 2011; Accepted 28 June 2011

By co-grinding with β -cyclodextrin and drugs, it is suggested that drugs were included to β -cyclodextrin cavity. Ground mixture is amorphous, so that it is difficult to analyze the effect of co-grinding. This study was brought out molecular states of ground mixture and effect of co-grinding. It is suggested that change of molecular states by co-grinding was according to structure of drugs.

Keywords: Co-grinding, β -cyclodextrin, Solid-state NMR

1. 序 論

固体物質に摩砕、粉碎などの機械的エネルギーを加え、それらの物質の物理化学的性質を変化させることをメカノケミストリーといい、無機化合物において数多くの研究がなされている¹⁾。最近では、粒子設計や資源からの有価物の効果的分離など、メカノケミストリーは様々な分野への応用が検討されている²⁾。医薬品のような有機結晶についても、メカノケミカル効果による複合体形成・微粉化・非晶質化の例がこれまでに報告されている。特に、固形製剤における難溶性医薬品を微粉化・非晶質化させることによって、溶解速度の増大、さらにはそれに伴うバイオアベイラビリティの改善が期待される³⁾ため、薬剤学領域において数多くの研究がなされている。最近では、粉碎によるチオ尿酸とエテンザミドコクリスタル形成⁴⁾や、 β -シクロデキストリンとプランカルストの混合粉碎によ

るプランカルストの微粉化⁵⁾などが報告されている。

シクロデキストリンはD-グルコピラノースが α 1→4結合した環状オリゴサッカライドで、D-グルコピラノースの数が6個、7個、8個のときにそれぞれ α -、 β -、 γ -シクロデキストリンと呼ばれる。シクロデキストリンは「天然食品添加物」に指定され、食品、化粧品、医薬品、農薬、日用雑貨、洗剤など多岐における分野で利用されている。シクロデキストリンは包接能をもち、薬品分子をゲスト分子として空洞内に取り込んだ状態で結晶化することがある。この作用を応用し、小野薬品工業⁶⁾が α -シクロデキストリンを用いたプロスタグランジン製剤を実用化したことがきっかけとなり、1991年に α -および β -シクロデキストリンが日本薬局方外医薬品成分規格に改質剤として収載されている^{6,7)}。一般的に、空洞内に取り込まれたゲスト分子は単分子として存在している。ゲスト分子にカルボニル基を有する医薬品を用い、シクロデキストリンとの包接化合物結晶を調製すると、医薬品のIRスペクトルのカルボニル基のピークが高波数側へとシフトすることが分かっている。また、シクロデキストリンと医薬品を混合粉碎することによっても、医薬品のIRスペクトルのカルボニル基のピークが高波数側へとシフトし、包接化合物から得られたピーク位置とよく

東邦大学 薬学部

(〒274-0072 千葉県船橋市三山2-2-1) TEL 047-472-1369

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

(2-2-1, Miyama, Funabashi, Chiba 274-0072, Japan)

*現 エボニックデグサ ジャパン ファーマポリマーズ部 技術 サービス

(〒300-0315 茨城県稲敷郡阿見町香澄の里21 筑波南第一工業団地) TEL 029-889-2801

一致する場合があることが分かった⁸⁾。このことから、医薬品とシクロデキストリンの混合粉碎を行った際の医薬品のカルボニル基は、包接化合物と類似した分子状態であることが示唆され、さらに、医薬品がシクロデキストリンに包接されている可能性がこれまでに考えられてきた。その後、Raman スペクトルや NMR スペクトルによる検討も行われてきたが、混合粉碎物の分子状態について、いまだ十分に検討されているとは言えない。

そこで、本研究では混合粉碎物の分子状態を明らかにするために、固体 NMR スペクトルによる分子状態の検討を行った。さらに、医薬品とシクロデキストリンの混合粉碎物について、固体相関スペクトル（2次元スペクトル）の測定を行うことでその分子状態について詳細な検討を行うことを目的とした。具体的には、シクロデキストリンと医薬品の混合粉碎物と包接化合物結晶および包接化合物を粉碎した包接粉碎物を調製し、これらの固体 NMR スペクトルを測定し比較検討を行った。

2. 試料

2.1 試料の種類

ホスト化合物には、7 個の D-グルコピラノースが $\alpha 1 \rightarrow 4$ 結合した環状糖である、 β -シクロデキストリン (β -CD) を用いた。ゲスト化合物には、カルボニル基で 2 量体を形成する難水溶性の医薬品であるイブプロフェン (IBU) とアスピリン (ASP) の 2 種類を選択した。Fig. 1 に各試料の構造を示した。

2.2 試料の調製

2.2.1 包接化合物 (IC) 結晶の調製

各試料の調製法は文献⁹⁾を参照した。

Fig. 1 Structure of samples

(1) β -CD/IBU 包接化合物結晶の調製

水 10 mL に 0.2 g (0.15 mmol) の β -CD を加え、約 80°C まで加熱した。その後、0.04 g (0.15 mmol) の IBU を加え、温度を保持しながら 7 時間良く攪拌した後、これを濾過した。濾液を室温まで徐冷し、析出した白い結晶を再び濾過した。エーテルで洗浄することにより、未反応の IBU を取り除き、包接化合物結晶を得た。定量の結果 β -CD : IBU = 1 : 0.85 となり、約 1 : 1 で包接していることが確認された。

(2) β -CD/ASP 包接化合物結晶の調製

水 50 mL に 2.84 g (2.5 mmol) の β -CD と 2.25 g (12.5 mmol) の ASP を加え、55~60°C まで加温し、良く攪拌した。4 時間後にこれを濾過し、その濾液を徐冷した。2 日後に析出した白い結晶を濾過した。アセントで洗浄することにより、未反応の ASP を取り除き、包接化合物結晶を得た。定量の結果、 β -CD : ASP = 1 : 0.83 となり、約 1 : 1 で包接していることが確認された。

2.2.2 混合粉碎物 (GM) の調製

混合粉碎には振動ロッドミル (Vibrating Sample Mill TI-100 : 株式会社 CMT) を使用した。容積 50 mL のミル内に 1 g の β -CD と等モルの医薬品の混合物を 60 分間粉碎した。また、混合粉碎に使用する β -CD は 130°C、3 時間の減圧乾燥を行い、水分含量が 1% 以下であることを確認してから使用した。

2.2.3 包接粉碎物 (GIC) の調製

粉碎には振動ロッドミル (Vibrating Sample Mill TI-100 : 株式会社 CMT) を使用した。容積 50 mL のミル内に β -CD と医薬品の包接化合物結晶 1 g を加え、60 分間粉碎した。

3. IBU/ β -CD の系による分子状態の検討

本研究の目的である固体 NMR による混合粉碎物の分子状態の検討を行うためには、構造が既知の化合物で固体 NMR 測定を行い、構造を反映したスペクトルが測定できるかを確認する必要がある。そこで、本研究では β -CD との包接化合物結晶の構造が既知である IBU⁹⁾ を用いて分子状態の検討を行なった。 β -CD と IBU の包接化合物結晶の構造を Fig. 2 に示した。包接結晶中の IBU はカルボニル基が β -CD の空洞の狭い側、イソブチル基が広い側に位置する形で包接されており、化学量論は IBU : β -CD = 1 : 1 であった。包接結晶構造中で実際に β -CD 空洞内に包接化されているのは、IBU のベンゼン環部分と C10~C12 (イソブチル基の先端にある二つのメチル基は一つだけ包

Fig. 2 Structure of β -CD/IBU inclusion complex

接されている)であり、その他の部分は外に出ていた。

3. 1 ^{13}C - ^1H FSLG HETCOR 測定を用いた粉碎による IBU 分子状態変化の検討

粉碎による IBU 分子状態の変化についてより詳細な検討を行うため、空間的な位置関係を検討可能な測定法である ^{13}C - ^1H FSLG HETCOR スペクトル測定を行った。HETCOR のコンタクトタイム (磁化移動時間) を $500\ \mu\text{s}$ に設定した。コンタクトタイム $500\ \mu\text{s}$ の HETCOR 測定を行なうと約 $4\ \text{\AA}$ までの ^{13}C - ^1H の空間的な分子配列を捉えることが可能であり、スペクトルから β -CD の ^1H と IBU の ^{13}C の相互作用について検討した。

まず始めに、HETCOR スペクトルが分子構造を正しく反映しているのかを確認するために分子構造が既知である包接化合物結晶について HETCOR 測定を行った。測定結果を Fig. 3 に示した。事前にコンタクトタイム $100\ \mu\text{s}$ にて β -CD 単体 HETCOR 測定を行い (一般的にコンタクトタイム $50\sim 100\ \mu\text{s}$ において HETCOR の相互作用スペクトルは共有結合のような化学結合が反映される)、 β -CD の ^{13}C と ^1H の直接結合に由来する相互作用スペクトルを確認したところ、縦軸の $2\sim 4\ \text{ppm}$ が β -CD の ^1H 由来のシグナルであることが分かった。また、1次元 NMR 測定により、横軸の $10\sim 60\ \text{ppm}$, $120\sim 190\ \text{ppm}$ に IBU の ^{13}C 由来のシグナルが現れることが確認できた。それらの範囲 (Fig. 3 中の破線の範囲) が β -CD の ^1H と IBU の ^{13}C の相互作用スペクトルだと考えられた。

Fig. 3 から、IBU 分子のベンゼン環、C2, C10, C12, 13 と β -CD の ^1H の相互作用スペクトルを確認することができ、これらの原子は近い距離に存在していることが示唆された。S-(+)-イブプロフェンと β -シクロデキストリンの包接化合物結晶の構造データでは、IBU 分子が β -CD 空洞に包接される形をとっている。このうち β -CD 空洞内に存在するのはベンゼ

Fig. 3 HETCOR spectrum of inclusion complex crystal (IBU)

ン環、C2, C3 と C13 である。また、それらの IBU の ^{13}C と β -CD の ^1H は $4\ \text{\AA}$ 未満の距離に存在していた。HETCOR 測定で得られたシグナルは C3 が確認できないものの、それ以外の炭素は結晶構造データと同じものであり、この測定結果が実際の構造状態を反映していることが確認された。

β -CD と IBU の包接化合物結晶を振動ミルによって粉碎した包接粉碎物においても、コンタクトタイム $500\ \mu\text{s}$ にて HETCOR 測定を行った。包接粉碎物に粉末 X 線回折測定を行なったところ、ハローパターンを示したため、包接粉碎物是非晶質化していることが確認できた。HETCOR スペクトル測定結果を Fig. 4 に示した。包接粉碎物の HETCOR スペクトルは、包接化合物のものと同様の相互作用スペクトルが確認できた。このことから、包接粉碎物においても IBU 分子は β -CD 空洞内部に包接されたままであり、包接様式を保ったまま非晶質化していることが分かった。包接化合物を粉碎すると、イブプロフェンは包接様式を保ったまま非晶質化することが示唆された。

Fig. 4 HETCOR spectrum of ground inclusion complex (IBU)

Fig. 5 HETCOR spectrum of 60min ground mixture (IBU)

β -CD と IBU の混合粉砕物について、先の 2 種類と同様に HETCOR 測定を行った。測定結果を Fig. 5 に示した。60 分混合粉砕物においても包接化合物、包接粉砕物と同様の位置に相互作用スペクトルが確認できた。このことから、60 分混合粉砕物中において、IBU 分子のベンゼン環、C2、C10、C12、13 が β -CD の ^1H と近い距離に存在していることが示唆された。また、60 分混合粉砕物の HETCOR スペクトルは、包接化合物と比べて小さな相互作用スペクトルが何点かに分かれて現れていた。包接粉砕物において、このような現象は見受けられなかったため、60 分混合粉砕物の相互作用シグナルの微小化は非晶質化によるものではないということが分かった。この原因は、60 分混合粉砕物では包接粉砕物に比べ分子状態が多様であり、包接様式も 1 種類に限らないためだと考えられる。包接化合物結晶では見られなかった C2 の低磁場側のシグナル (Fig. 5 中の*) や、C12、13 の相互作用シグナルの微小化から、60 分混合粉砕物において IBU 分子の側鎖のみが β -CD 空洞内に包接された分子状態が存在することが示唆された。

3. 2 IBU/ β -CD の系における粉砕の分子状態への影響

包接化合物結晶、包接粉砕物、混合粉砕物の分子パッキングを Fig. 6 に示した。IBU はベンゼン環のパラ位が置換されており、分子形状が直線であった。そのため、IBU は β -CD 空洞内部に包接されやすく、包接化合物結晶は安定化している。したがって、IBU と β -CD の包接化合物結晶に対して粉砕は、非晶質化を促したものの、包接状態を変化させる程の影響は無かった。一方、混合粉砕物では包接化合物結晶同様の

Fig. 6 Molecule packing of IBU/ β -CD system

包接様式を持つ分子の他、IBU 分子のイソブチル基側やカルボキシル基側のみが包接された分子状態があることが示唆された。IBU と β -CD の混合物に対して粉砕は、IBU 分子の β -CD 空洞内部への包接化を促すことが示唆された。その際、形成される包接様式は単一ではなく、包接化合物同様の包接様式の外、IBU 分子の側鎖のみを包接化した様式が現れることが示唆された。

4. ASP/ β -CD の系による分子状態の検討

IBU/ β -CD の系による検討から、HETCOR 測定により粉砕による分子状態変化を検討することが可能であることが分かった。そこで、ゲスト医薬品を ASP に変更して粉砕による分子状態変化を検討した。

4. 1 ^{13}C - ^1H FSLG HETCOR 測定を用いた粉砕による ASP 分子状態変化の検討

ASP/ β -CD の系においても、IBU/ β -CD の系と同様の条件で HETCOR 測定を行なった。包接化合物結

Fig. 7 HETCOR spectrum of inclusion complex crystal (ASP)

晶、包接粉砕物、混合粉砕物の HETCOR スペクトルをそれぞれ Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9 に示した。ASP の ^{13}C と β -CD の ^1H の相互作用スペクトルが現れる範囲を破線で示した。Fig. 7 に示した包接化合物結晶の HETCOR スペクトルでは、ほぼ全ての ASP 炭素が β -CD の相互作用スペクトルを示し、ASP 分子全体が包接化に関与していることが示唆された。特に C9 の相互作用スペクトルは他の ASP の炭素より強度が強く、 β -CD とかなり近い位置に存在していることが考えられた。したがって、包接化合物結晶中で、アスピリン分子は C9 の方向から β -CD 空洞内に包接化されていることが示唆された。

Fig. 8 に示した包接粉砕物の HETCOR スペクトルは、包接化合物結晶のものとは異っており、全体的に強度が弱くなっていた。HETCOR スペクトルの強度はその相互作用シグナルが表す分子状態の量に比例するため、粉砕により包接化合物結晶の包接様式が変化していることが考えられた。また、包接様式が変化することで様々な包接状態が現れ、存在比率の少ない

Fig. 8 HETCOR spectrum of ground inclusion complex (ASP)

Fig. 9 HETCOR spectrum 60 min ground mixture (ASP)

分子状態の強度は小さすぎて見られなかったことが考えられた。その中でも、ASP 分子の C1, 2, C8, C9 と β -CD の ^1H の相互作用スペクトルが確認できたことから、包接化合物を粉砕することによって、ASP 分子はカルボニル基とアセトキシ基の側鎖方向から β -CD に包接された状態に変化することが示唆された。

Fig. 9 に示した混合粉砕物の HETCOR スペクトルにおいても、包接粉砕物と同様の傾向が見られた。ASP 分子の C1, 2, ベンゼン環の一部である C6~8 と C9 の相互作用スペクトルが確認できた。包接粉砕物の時と同様に、混合物を粉砕することで包接化が起きているものの、分子全体を包接するものではなく、C1 のカルボキシル基方向と C9 のアセトキシ基方向から包接化された ASP 分子が比較的多く存在することが示唆された。

4. 2 ASP/ β -CD の系における粉砕の分子状態への影響

包接化合物結晶、包接粉砕物、混合粉砕物の分子パッキングを Fig. 10 に示した。ASP はベンゼン環のオルト位が置換されており、直線的な分子構造を取っていない。このことが、IBU の系との粉砕による分子状態変化の差を生んだと考えられた。包接化合物結晶中で ASP 分子は一定の方向から包接されているものの、分子全体が包接化に関与し、 β -CD 空洞内で安定化せず、一定の位置に定まらないことが考えられた。したがって、粉砕は包接化合物を非晶質化させる他、ASP 分子の包接状態を変化させることが示唆された。また、混合物を粉砕した場合にも ASP 分子の β -CD 空洞内への包接化を促した。また、その際の包接様式は包接粉砕物のもとはよく一致していた。粉砕は ASP 分子のアセトキシ基方向とカルボキシル基からの包接

Fig. 10 Molecule packing of IBU/ β -CD system

化を促すことが示唆された。

5. 結 論

シクロデキストリンと医薬品の系における粉碎の影響は、医薬品分子の形状や包接化合物結晶の安定性によって大きく変化することが示唆された。しかし、今回の HETCOR スペクトルにおいて、 β -CD の ^1H 側のスペクトルは、1本のブロードなものであり、正確な帰属が不可能であった。そのため、粉碎物系における相互作用スペクトルは包接化による影響の他、圧密による接触による影響も含んでいることが考えられる。 β -CD の ^1H は配向性があり、特に3位と5位の ^1H は β -CD 空洞内部に存在している。したがって、 β -CD の ^1H 側の帰属が可能となれば、より詳細な包接化の有無の情報を得られることが考えられる。この点において、今後さらなる検討が行なわれることが期待される。また、今回用いたのは振動型ロッドミルのみであった。しかし、ボールミルやジェットミルの様に様々な粉碎機が存在する。これらの異なった粉碎機を用いた粉碎によって与えられる分子状態変化は、本研究と同様であるのかどうかについても、更なる検討が行なわれることが期待される。

References

- 1) Kubo, K.: "Mechanochemistrygairon", Tokyo kagaku douzin (1978)
- 2) Saito, F.: "Koria-Japan Symposium on Powder Technology 2009, The New Environmental technology developed by mechanochemistry", *Funsai*, No. 52, 6-12 (2009)
- 3) Fincher, J. H.: "Particle size of drugs and its relationship to absorption and activity", *J. Pharm. Sci.*, **57**, 1825 (1968)
- 4) Moribe, K., M. Tsuchiya, Y. Tozuka, K. Yamaguchi, T. Oguchi and K. Yamamoto: "Grinding-Induced Equimolar Complex Formation between Thiourea and Ethenzamide", *Chem. Pharm. Bull.*, **52**(5), 524-529 (2004)
- 5) Wongmekiat, A., Y. Tozuka, K. Moribe, T. Oguchi and K. Yamamoto: "Preparation of drug nanoparticles by co-grinding with cyclodextrin: Formation mechanism and factors affecting nanoparticle formation", *Chem. Pharm. Bull.*, **55**(3), 359-363 (2007)
- 6) Uekama, K. and F. Hirayama: "Pharmaceutical Application of Cyclodextrins as Multi-functional Drug Carriers", *Farumashia*, **23**, 1237-1242 (1981)
- 7) Uekama, K.: "Supramolecules. Functional pharmaceutical material cyclodextrin", *Farumashia*, **31**, 1268-1272 (1995)
- 8) Nakai, Y., K. Yamamoto, K. Terada and K. Akimoto: "Comparison of tolbutamide β -cyclodextrin inclusion compounds and solid dispersions: Physicochemical characteristics and dissolution studies", *Chem. Pharm. Bull.*, **32**(2), 685-691 (1984)
- 9) Susana S. Braga, Isabel S. Goncalves, E. Herdtweck and J. C. Jos: "Teixeira-Dias, Solid state inclusion compound of S-ibuprofen in β -cyclodextrin: structure and characterization", *New J. Chem.*, **27**, 597-601 (2003)