薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
112 (10) 750-756 (1992)

(RS)-7-(2-Aminomethylmorpholino)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic Acid の結晶水の挙動

今村香織, 大石直寛, 石田靖彦, 小川建志,* 荒木和彦

吉富製薬株式会社中央研究所

Behaviors of Crystalline Waters of (RS)-7-(2-Aminomethylmorpholino)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic Acid

Kaori IMAMURA, Naohiro OISHI, Yasuhiko ISHIDA,
Kenji OGAWA* and Kazuhiko ARAKI

Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries,
Ltd., Koiwai, Yoshitomi-cho, Chikujo-gun,
Fukuoka, 871, Japan

(Received May 20, 1992)

Physicochemical characteristics of crystalline water of (RS)-7-(2-amino-methylmorpholino)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline-carboxylic acid were studied by thermal analyses and powder X-ray diffractometry. The dihydrate of the compound was stable under ambient or humidified conditions. The dihydrate converted to a monohydrate on drying under mild conditions. The mono- and dihydrates transformed into α -type anhydrate at 110°C. These three kinds of crystals were convertible each other under appropriate conditions. At 165°C, the hydrates and the α -anhydrate converted to β -type anhydrate. The compressed effects on the crystalline waters were also discussed for the dihydrate by kinetic analyses.

Keywords—antibacterial; crystalline water; polymorphism; solid state phase transfer; transformation kinetics; powder X-ray diffraction; thermal analysis; compressed effect

緒 言

医薬品原薬の結晶形態の差異は、しばしば製剤品の安定性やバイオアベイラビリティなどの製剤特性に対して重大な影響を与える。¹⁾ それゆえ、結晶多形や複数组成の溶媒和物を形成する原薬を製剤化する際には、十分な注意が必要である。一般に、結晶形態の転移には精製及び製剤化工程における使用溶剤、粉碎、練合、造粒、圧縮、乾燥などの諸条件、あるいは保存中の温湿度条件などの種々の要因が関与するので、転移の有無や程度を予測することは困難である。したがって、複数の結晶形態を有する薬物については、いわゆるプレフォーミュレーション (preformulation) 研究の段階で、熱及び湿度に対する原薬の安定性のみならず、製剤化において加えられる種々の工程を想定した検討を怠ってはならない。

(RS)-7-(2-Aminomethylmorpholino)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (I) は、グラム陰性菌のみならず、グラム陽性菌に対しても強い活性を示す合成抗菌剤である (Chart 1)。²⁾ 製剤用の原薬としては、通常、I の 2 水和物 (II) が使用されるが、精製、乾燥及び保存時の条件次第では 1 水和物 (III) あるいは 1 水和物と 2 水和物の混合物が得ら

れる。そこで今回、粉末 X 線回折及び熱分析によって、I の水和及び脱水の挙動を詳細に検討した。また、製剤用原薬 (II) の脱水反応に対する圧力の影響について検討するとともに、反応機構の速度論的考察を試みた。

Chart 1. Chemical Structure of (RS)-7-(2-Amino-methylmorpholino)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic Acid (I)

実験の部

試料 I の塩酸塩³⁾を水に溶かし、10% (w/v) 水酸化ナトリウム水溶液を加えて pH 6.8 に調整、析出した結晶をろ取、60°C で 24 h 乾燥して 1 水和物 (III) を得、III を 25°C、相対湿度 75% で 24 h 保存して 2 水和物 (II) を得た。カールフィッシャー法による水分含有量の測定値は、II では 8.1% (理論量: 8.7%), III では 3.8% (理論量: 4.5%) であった。また、局方準拠による融点は、II では 184.5°C (分解), III では 183.3°C (分解) であった。II を 110°C で 23 h 真空乾燥して α 型無水物 (I α) を、165°C で 6.5 h 乾燥して β 型無水物 (I β) を得た。

カールフィッシャー法 約 0.1 g の試料をメタノールに溶解し、カールフィッシャー試薬 (カールフィッシャー試薬 SS, 三菱化成) で水分滴定した。装置は京都電子工業 (株) 製の MKA-3 型を用いた。

水和量の変換 (固相転移) I α , I β , II 及び III をそれぞれ開封した秤量ビンに入れ、所定の温度で加熱するか、あるいは所定の温湿度に調整したデシケーター中に保存し、各々の試料の重量変化を経時的に測定した。なお、調湿に際しては、相対湿度 31% 用には塩化マグネシウム、75% 用には塩化ナトリウムの飽和水溶液を用いた。試薬はすべて特級品を用いた。

脱水及び吸湿挙動の観察 約 0.1 g の II を開封した秤量ビンに入れ、相対湿度 0—100% に調湿したデシケーター中、40 $\pm$ 1°C で 1 ケ月間保存し、重量変化を測定した。

熱分析 示差走査熱量計 (DSC) による測定は、セイコー電子工業 (株) 製の DSC 20 型を用いた。試料 3 $\pm$ 1 mg を開放型アルミパンに入れ、流速 40 ml/min の窒素気流中、2, 5, 10 及び 20°C/min の昇温速度で行った。熱天秤 (TG) による測定は、セイコー電子工業 (株) 製の TG/DTA 20 型を用いた。試料 10 $\pm$ 1 mg を深底の開放型アルミパンに入れ、流速 100 ml/min の窒素気流中で 10°C/min の昇温速度で行った。

粉末 X 線回折 約 0.5 g の試料をホルダーに設置し、Cu-K α 線、グラファイトモノクロメーター、測定電圧 50 kV、測定電流 30 mA、走査速度 2°/min、回折角 2 θ =5—35° の条件下で測定した。粉末 X 線回折装置は島津製作所製の XD-610 型を用いた。

加圧試料の調製 約 0.1 g の II を、菊水製作所 (株) 製の RT-S15K-T35 型打錠機及び直径 7.0 mm の杵を用いて、0.8, 1.5 及び 3.0 t/cm² で圧縮成形した。

また、約 70 mg の II を、理研精機 (株) 製の P-18-041 型打錠機及び直径 10 mm の杵を用いて、46 kg/cm² で圧縮成形した。

II の脱水速度に対する圧力の影響 II を 1.5 t/cm² で加圧した後、メノウ製乳鉢中で粉碎し、その 3 $\pm$ 1 mg を開放型のアルミパンに入れ、種々の昇温速度で DSC を測定して脱水ピークの先端部に対応する温度 (先端部温度) を求めた。無処理の II についても上述と同一の条件及び操作で先端部温度を求めた。得られた測定値を Kissinger 式 (1)⁴⁾ に代入して、傾きから活性化エネルギーを算出した。

$$\frac{d[\ln(\phi/T_m^2)]}{d(1/T_m)} = -\frac{E}{R} \quad (1)$$

(ここで、 ϕ は昇温速度 (K/min) を、 T_m は脱水ピークの先端部温度 (K) を、 R は気体定数を、 E は活性化エネルギー (cal/mol) を示す.)

また、II を 46 kg/cm^2 で加圧した試料 $10 \pm 1 \text{ mg}$ を開放型のアルミパンに入れ、窒素気流中、種々の一定温度で加熱して TG を測定し、重量変化を求めて残存する水分量を算出した。無処理の II についても上述と同一の条件及び操作で残存水分量を算出した。得られた測定値を Hancock-Sharp 式 (2)¹⁾ に代入して直線の傾き (m) を求め反応機構を検討するとともに、脱水反応の速度定数を算出し、Arrhenius プロットによって活性化エネルギーを求めた。

$$\ln[-\ln(1-\alpha)] = \ln B + m \cdot \ln t \quad (2)$$

(ここで、 α はそれぞれの加熱温度における脱水率を、 t は加熱時間 (min) を、 m は直線の傾きを、 B は定数を示す.)

結 果 と 考 察

1. 水和物及び無水物のキャラクタリゼーション (Characterization)

II は、室温保存下、あるいは 40°C で相対湿度 10—90% の保存条件下で 2 水和物として安定に存在した (Fig. 1). しかし、保存条件をさらに変えると水和量は容易に変動した。すなわち、乾燥条件下で 40°C に加温すると III, 加熱条件下 (110°C) では $\text{I}\alpha$, 加湿条件下では II として存在し、3 者は相互に変換した。また、これら 3 者はいずれも、 165°C に加熱すると $\text{I}\beta$ に転移し (Chart 2), いったん生成した $\text{I}\beta$ は、加温あるいは加湿条件下で保存しても、もはや II, III あるいは $\text{I}\alpha$ には戻らなかった。これらの事実は、 $\text{I}\beta$ はそれ以外の 3 者とは結晶学的性質を異にするものであることを示唆している。

II 及び III について、昇温速度 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ で測定した DSC 及び TG サーマグラムを Fig. 2 に示す。TG サーマグラムとの対比により、DSC で検出された試料 II 及び III の 83°C 及び 99°C の吸熱像を結晶水の放出に由来する脱水ピークと推測した。なお、カールフィッシャー法により得られた水分量と TG からの測定値はほぼ一致した。また、 $180\text{—}200^\circ\text{C}$ の重量変化を伴わない吸熱像は分解ピークと考えられ、その形状は互いに異なっていた。次に、昇温速度を変化させて II の DSC を測定し、その結果を Fig. 3 に示した。2 本の分解ピーク ($180\text{—}200^\circ\text{C}$) の強

Chart 2. Mutual Transition of I Polymorphs and Hydrates

Fig. 1. Hydration Profile of (RS)-7-(2-Aminomethylmorpholino)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic Acid (I) under the Various Relative Humidity at 40°C

Fig. 2. DSC-TG Curves of Hydrate of I Recorded at Heating Rate of 10°C/min

(a) monohydrate (III), (b) dihydrate (II).

Fig. 4. DSC Curves of Dihydrate (II), α -Anhydrate ($I\alpha$) and β -Anhydrate ($I\beta$) Recorded at Heating Rate of 10°C/min

(a) II, (b) $I\alpha$, (c) $I\beta$.

度を比較したところ、昇温速度が遅いほど高温側ピーク (P_H : 約 197°C) の強度が、逆に、速いほど低温側ピーク (P_L : 約 189°C) の強度が増加していた。このように昇温速度により P_L と P_H の強度が変化するのは、昇温速度が速くなると、転移の速度が昇温速度に追いつかず、転移が終了する前に分解温度に達してしまうためと考えた。さらに、昇温速度 20°C/min (Fig. 3d) の場合には、速い昇温速度のために P_L と P_H の分離が不十分となり、あたかも 1 本のピークのように観測されたものと考えた。II, $I\alpha$ 及び $I\beta$ の DSC サーモグラムを Fig. 4 に示した。

Fig. 3. DSC Curves of II Recorded at Various Heating Rates

(a) 2°C/min, (b) 5°C/min, (c) 10°C/min, (d) 20°C/min.

Fig. 5. X-Ray Diffraction Patterns of $I\alpha$, $I\beta$, II and III

(a) II, (b) III, (c) $I\alpha$, (d) $I\beta$, (e) $I\alpha$ stored under 75% RH at 40°C, (f) $I\beta$ stored under 75% RH at 40°C.

Fig. 6. Kissinger's Plots for the Thermal Dehydration of II

●, intact ($r = -0.999$); ▲, compressed with 1.5 t/cm² ($r = -0.996$).

II と I α では分解ピークの形状がほぼ一致したのに対し、I β では P_H のみが検出された。また、II で検出された 157°C 付近の重量変化を伴わない吸熱ピークは、I α でも検出されたが、I β では消失していた。これらの事実に基づき、157°C のピークは I α から I β へ（すなわち P_L に対応する結晶形から P_H に対応する結晶形へ）の転移に由来するものと推測した。

Fig. 5 に各試料の粉末 X 線回折結果を示した。いずれの試料も結晶性であることが確認できた。また、I α 、I β 、II 及び III の粉末 X 線回折図は互いに異なっていた。なお、I α を 40°C で相対湿度 75% の調湿条件下で吸湿させた試料と II の回折図は完全に一致した。I β を同様の条件下で吸湿させると、水和量 1.5 分子の水和物が得られ、その粉末 X 線回折図は他のいずれの試料とも一致しなかった。

2. II の脱水速度に対する圧力の影響

Kissinger 式の適用 II の無処理試料及び加圧試料についての DSC を測定し、その結果をもとに (1) 式により両者の脱水反応の活性化エネルギーを算出したところ (Fig. 6), それぞれ 19.5 及び 22.9 kcal/mol であった。

Hancock-Sharp 式の適用 II の無処理試料及び加圧した試料についての TG を測定して水分残存率 (1- α) を求め (Fig. 7), その結果をもとに (2) 式により傾き (m) を算出したところ, それぞれ 1.12 ± 0.08 ($n=5$) 及び 0.88 ± 0.05 ($n=4$) であった。 m は種々の固体反応の速度式に固有の値であり, m 値と反応の種類及び速度式との関係は, すでに Hancock らにより報告されている。^{5a)} そこで, 算出した m 値を Hancock らによる一覧表⁵⁾と対比して, 無処理試料及び加圧試料の脱水反応を, それぞれ界面反応・柱状対称式及び不規則核形成・1 核 1 粒子式に該当すると推測した。なお, 両試料についての α 及び t の実測値を, それぞれ柱状対称速度式 (3) 及び 1 核 1 粒子速度式 (4) に代入したところ, 両者とも良好な相関性を示した (Fig. 8)。

$$1-(1-\alpha)^{1/2}=kt \quad (3)$$

$$-\ln(1-\alpha)=kt \quad (4)$$

以上の知見は, II の無処理試料が柱状結晶であり, 加熱により結晶表面から規則的な脱水反応が進行するが, 圧縮によって変形した加圧試料では, 外気との界面から不規則な脱水が起こることを示唆している。そこで, (3) 式及び (4) 式により無処理試料及び加圧試料の脱水反応の速度定数

Fig. 7. Residual Fraction of II during the Transition to I α on Heating

(a) intact (●, 50°C; ○, 52.5°C; ▲, 55°C; △, 57.5°C; ■, 60°C), (b) compressed with 46 kg/cm² (●, 50°C; ○, 52.5°C; ▲, 56°C; △, 60°C).

Fig. 8. The Application of Hancock-Sharp Equation for the Isothermal Transition of II to Ia

(a) intact (●, 50°C ($r=0.999$); ○, 52.5°C ($r=1.000$); ▲, 55°C ($r=1.000$); △, 57.5°C ($r=1.000$); ■, 60°C ($r=1.000$)), (b) compressed with 46 kg/cm² (●, 50°C ($r=0.999$); ○, 52.5°C ($r=0.999$); ▲, 56°C ($r=0.999$); △, 60°C ($r=1.000$)).

Fig. 9. Arrhenius Plots for the Isothermal of II to Ia

●, intact ($r=-0.995$); ▲, compressed with 46 kg/cm² ($r=-0.999$).

Fig. 10. DSC Curves of II Recorded at Heating Rate of 10°C/min

(a) intact, (b) compressed with 46 kg/cm², (c) ground after compression at 46 kg/cm².

(k) を求め、Arrhenius プロットして両者の活性化エネルギーを求めたところ (Fig. 9), それぞれ 23.2 及び 23.4 kcal/mol であった。

Kissinger 式と Hancock-Sharp 式の比較 Kissinger 式及び Hancock-Sharp 式を用いて算出した活性化エネルギーは、いずれも加圧試料の方が無処理試料よりも高く、加圧により脱水速度が遅くなることを示している。また、無処理及び加圧試料に対して、2 種の式を用いて算出した活性化エネルギーを比較すると、Kissinger 式の方が低値を与えた。結晶から水分子が脱離する際には気化エネルギーも必要である。しかし、Kissinger 式においては水の脱離エネルギーのみに焦点が当てられ、気化熱は考慮されていない。このように、Kissinger 式は脱水反応のすべての過程を包含しているわけではないので、この式を適用する際には、活性化エネルギーを低目に見積ってしまう可能性があることを考慮すべきである。

3. II の結晶形態に対する加圧の影響

II の無処理試料, 加圧試料 (46 kg/cm^2) 及び加圧後に粉碎した試料の DSC を測定し, 結果を Fig. 10 に示した. 加圧試料では, 83°C 付近の脱水ピークが高温側に, また, 157°C 付近の転移ピークは低温側にシフトするとともに, 転移ピークの高温側に新たな吸熱ピークが出現した. 次に, この加圧試料を粉碎したところ, 無処理試料のサーモグラムに類似したパターンとなった. 一般に, DSC サーモグラムは, 測定試料の形状, 粒子径, 凝集性の程度などによって微妙に影響される. したがって, DSC サーモグラムのみから加圧による転移の有無を判断することは困難であると考え, TG 及び粉末 X 線回折図を測定した. まず, TG からは, 加圧によっても水和量に変化は生じないことを示唆する結果を得た. 次に, 圧力の強度を種々変更して調製した加圧試料について粉末 X 線回折を行ったが, 3 t/cm^2 までの加圧条件下では回折図に変化は認められなかった.

4. まとめ

I には 5 種類の結晶形が存在したが, 2 水和物である II がもっとも安定に存在することが分かった. また, II の製剤化に際して, 粉碎, 練合, 打錠などの加圧工程により, 脱水速度は遅くなる傾向を示し, 水和量の変化及び結晶の相転移は生じないことを確認することができた. これらの知見は, II が医薬品原薬として安定な結晶形であることを示すものである.

引用文献

- 1) A. J. Aquiar, J. Krc Jr., A. W. Kinkel, J. C. Samyn, *J. Pharm. Sci.*, **56**, 847 (1967); S. Miyazaki, T. Arita, R. Hori, K. Ito, *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 638 (1974); 宮崎正三, 中野眞汎, 有田隆一, 堀 了平, 伊藤圭二, 薬剤学, **34**, 187 (1974); S. Miyazaki, M. Nakano, T. Arita, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1832 (1976); *idem, ibid.*, **24**, 2094 (1976); S. Miyazaki, H. Endo, T. Nadai, T. Arita, M. Nakano, *ibid.*, **25**, 1186 (1977).
- 2) T. Yokota, K. Kanda, F. Hirayama, Abstracts of Papers, 30th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Atlanta, October 1990, No. 390.
- 3) 荒木和彦, 黒田 毅, 上森 悟, 森口明彦, 池田敬史, 特公平 4-13355 (1992) [*Chem. Abstr.*, **111**, 153819j (1989)].
- 4) H. E. Kissinger, *Anal. Chem.*, **29**, 1702 (1957).
- 5) a) J. D. Hancock, J. H. Sharp, *J. Am. Ceram. Soc.*, **55**, 74 (1972); b) 梅田常雄, 大西憲明, 横山照由, 黒田耕司, 黒田 勤, 辰見英津子, 松田芳久, 薬誌, **104**, 786 (1984).