UDC 615.711.8-011.547.496.3

265. 美間博之: Inclusion Compound の医薬への応用 (第1報)
d-trans-8-Oxocamphor の Thiourea Adduct 形成による安定化*

Hiroyuki Mima: Pharmaceutical Applications of Inclusion Compounds. I.
 Stabilization of *d-trans*-8-Oxocamphor by Formation of
 Thiourea Adduct.

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.**)

d-trans-8-Oxocamphor is used widely as a cardiotonic but its crystal is extremely unstable and is oxidized in the air, almost completely losing its pharmacological effect in about 24 hours. A methanolic solution of this substance and thiourea separates some needle crystals on being cooled and the newly formed substance is composed of 8-oxocamphor and thiourea in 1:3 molar ratio. From X-ray diffraction and infrared absorption spectrum, the crystal is a rhombohedral and the substance was proved to be the so-called inclusion compound by Schlenk and others. Such 8-oxocamphor included in thiourea is extremely stable and residual ratio after 8 months at room temperature was 97.5%, that after 6 months at 40° being 93%. Extraction of this adduct in a Soxhlet extractor with warm ether was found to give 100% of 8-oxocamphor and the residual thiourea formed the original rhombic crystals. When this adduct is dissolved in water, it dissociated into the original two components, the solution showing the chemical properties of 8-oxocamphor, as well as its toxicity and pharmacological effect. There was no difference in its effect as a medicinal from the corresponding 8-oxocamphor.

(Received July 1, 1957)

d-trans-8-oxocamphor (I) は強心剤として用いられているが、その結晶は極めて不安定で、空气中で容易に酸化されてその薬効を失う。尿を原料としてつくられた Vitacamphor は結晶状で安定であるが、これは渡辺¹⁾により (I) が 5-oxocamphor と混晶を形成しているためと報告された。(I) はまた水の存在で水和物をつくり、比較的安定になることも知られているが、脱水すると再び不安定となり、常温で 1 日後には殆んど酸化されてしまう²⁾。従つて結晶状で安定に保存することは極めて困難と考えられ、不安定な医薬品の代表とみなされている。

Angla³⁾ は 1947 年チオ尿素 (II) が尿素⁴⁻⁶⁾ と同様、いろいろな有機化合物と付加物をつくることを発見し、その後 Schlenk⁷⁾ によつてこれらの構造が尿素付加物と良く似ていること、尿素付加物では被包接分子 (guest molecule) の入り得る尿素結晶内の空孔の内径が約 5 Å であるに対し、チオ尿素では約 6 Å であることが明らかにされた。従つて尿素付加物を形成するものは直鎖の脂肪属化合物であるが、チオ尿素

付加物を造るものは分枝化合物、脂環化合物などが多く、四塩化炭素、シクロヘキサン、デカリン、イソオクタン、カンファーなどがその代表である。

以上二つの現象を関連させると (I) と (II) との inclusion compound の形成の可能性が考えられ、しかも

* 薬学会近畿例会に発表 (1957 年 6 月 15 日)。

** Juso-Nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

1) 渡辺: 本誌 **60**, 86(1940).

2) 西光: 未発表。

3) Angla: Compt. rend. **224**, 402, 1166(1947); Ann. Chim. (12) **4**, 639(1949).

4) Bengen: German Patent Application O. Z. 12,438(1940); Angew. Chem. **63**, 207(1951).

5) Schlenk: Ann. **565**, 204(1949).

6) Schlenk, Holman: J. Am. Chem. Soc. **72**, 5001(1950).

7) Schlenk: Ann. **573**, 142(1951).

これによつて (I) の安定化ができるのではないかと推定し、以下の実験を行いほぼ目的を達成することができた。

実験の部

***d-trans*-8-Oxocamphor・Thiourea Adduct (III) の製法と分析結果** チオ尿素 2.5 g をメタノール 10 cc に溶解し、これに (I) の結晶 1 g を混じ、加温溶解して後徐々に冷却すると針状の結晶が析出する。これを濾過し、メタノールで洗浄、乾燥し付加物約 3 g を得、mp 161°. 水、エタノール、メタノールに可溶。C₁₀H₁₄O₂・(CH₄N₂S)₃ 計算値 C 39.57, H 6.64, N 21.30, 実験値 C 39.37, H 6.47, N 20.63. 元素分析の結果は上の如く (I) 1 mol に対し (II) 3 mol とした場合の理論値にほぼ一致する。

次にこの結晶を水に溶解すると (I) と (II) に解離する。これにアルデヒド試薬 2,4-dinitrophenylhydrazine・HCl を加えると hydrazone の黄色の沈澱が生成する。この沈澱を除き、残存する hydrazine を分解してアゾトメトリ⁸⁾で定量した結果、(III) の結晶 10 mg 中の (I) の量は 4.22 mg であった。これは C₁₀H₁₄O₂ (CSN₂H₄)₃ 中の C₁₀H₁₄O₂ の含量パーセンテージ 42.1% によく一致する。

$[\alpha]_D^{20} = +17.5$ (c=1.0% in CH₃OH, l=2 dm).

物理化学的性質 a) ポーラログラフ：上記付加物結晶の 0.025~0.0125% 水溶液を柳本写真式ポーラログラフ測定器で測定したところ、(I) の水溶液と同様、アルデヒドの還元波が見られ、その半波電位から (I) の定量を行った⁹⁾。その結果約 44% 含有していることがわかり、上述の分析結果にほぼ一致した。

b) X 線回折：(III), camphor・thiourea adduct およびチオ尿素の X 線粉末回折図形を Seifert 社製 Iso-debyeflex II 型を用いてとつた結果を Fig. 1 に示す。これによれば (III) のパターンと camphor・thiourea adduct のそれとは一致するが、(II) のパターンとは全く異なっており、前2者は同一基本格子をもっていると考えられる。

Fig. 1. X-Ray Powder Diffraction Patterns of Thiourea, Camphor・Thiourea Adduct, and 8-Oxocamphor・Thiourea Adduct

つぎに camphor・thiourea adduct の単位格子を振動写真およびワイセンベルグ写真から求めたところ、菱面体格子に属しており、その大きさは次の通りであった。

$$\begin{cases} a = 9.98 \text{ \AA} \\ \alpha = 103^\circ \end{cases}$$

これを対応する六方格子 (three-fold hexagonal) に表わせば

$$\begin{cases} a = 15.4 \text{ \AA} \\ c = 12.7 \text{ \AA} \end{cases}$$

となり、Lenne¹⁰⁾ が cyclohexane・thiourea adduct について見出した値

$$\begin{cases} a = 10.0 \text{ \AA} \\ \alpha = 104.5^\circ \end{cases} \quad \text{または} \quad \begin{cases} a = 15.8 \text{ \AA} \\ c = 12.5 \text{ \AA} \end{cases}$$

とよく一致する。

従つて (III) および camphor・thiourea adduct は Lenne の得たものと同一基本格子を有する thiourea ad-

8) 山岸, 横尾, 井上: 本誌 75, 1383(1955).

9) 朝日: 武田年報 13, 36(1952).

10) Lenne: Acta Cryst. 7, 1(1954).

duct である。

c) 赤外スペクトル：Perkin-Elmer Model 21 赤外分光光度計を用い、(I) の四塩化炭素溶液および (II), (III) の Nujol mull での赤外スペクトルを Fig. 2 に示す。この 3 つのスペクトルで明らかなように、3 者ともそれぞれ異なっており、単なる混合物ではない。また (I), (II), (III) および cyclohexane·thiourea adduct の吸収極大のおもなものは Table I に示す通りで、(II) と (III) との間に明らかな差があり、しかも (III) と cyclohexane·thiourea adduct との吸収の差は 8-oxocamphor の CO, CHO の吸収以外には殆んど見られない。

Fig. 2. Infrared Absorption Spectra

Table I. Infrared Absorption of Thiourea, 8-Oxocamphor, 8-Oxocamphor·Thiourea Adduct and Cyclohexane·Thiourea Adduct

Thiourea	8-Oxocamphor	8-Oxocamphor adduct	Cyclohexane adduct
3.0 μ			
3.08		3.05	3.05
3.18		3.17	3.16
	5.72	5.73	
	5.80	5.80	
6.21		6.17	6.15
6.83		6.72	6.69
7.10		6.90	6.90
		7.15	7.07
13.73		13.95	13.97

安定度試験 (III) の結晶およびこれを乳鉢で粉砕した微粉末 (120~150 メッシュ) を常温および 40° に保存して後、その含有する (I) の量をアゾメトリーで定量した結果は Table II の通りである。

Table II. Stability of 8-Oxocamphor in the Thiourea Adduct

(1) Crystals and Powder (at 40°)

		Original	1 day	3	9	16	30	60	150	180
Crystals	Amount of (I) in (III) mg./10mg.	4.20	4.15	4.20	4.13	4.14	4.18	4.13	3.92	3.90
	8-oxocamphor %	100	99	100	98.5	98.5	99.5	99.5	93.5	93.0
Powder	Amount of (I) in (III) mg./10mg.	4.13	4.17	4.21	4.16	4.12	4.17	4.13	3.66	3.54
	8-oxocamphor %	100	100.2	101	100.2	99.7	100.2	100	88.5	85.5
Control	8-oxocamphor %	100	0							

ン加温抽出：a)と同様に抽出，62%を回収。

毒 性 (Ⅲ)の水溶液を dd 系マウス，生後4週の雄に静脈注射し(全量を30秒で注射)，(Ⅰ)として換算すると LD_{50} は 130(105~161) mg/kg となり，(Ⅰ)そのものの LD_{50} と有意差が認められなかった。従つてチオ尿素付加物の毒性はもとの 8-oxocamphor とほぼ同等と考えられる。

生理効果 (Ⅲ)の水溶液，(Ⅰ)と(Ⅱ)の混合液および(Ⅰ)の水溶液をつくり，家兎を用いてその効力を試験した。その結果(Ⅲ)の水溶液は(Ⅰ)と(Ⅱ)の混合液および(Ⅰ)のみの水溶液と効力において差がないことが判明した。

考 察 (Ⅲ)の分析結果から見ると(Ⅰ)1 mol が(Ⅱ)3 mol と付加物を造っていることがわかる。このものが普通の意味の分子化合物ではなく，いわゆる inclusion compound であることは X 線回折，赤外線吸収スペクトルの結果からも明らかである。すなわちチオ尿素の結晶は斜方晶系，空間群 D_{2h}^{16} に属しているが，チオ尿素付加物例えば cyclohexane の入つたものは三方晶系 D_{3d}^6 に属し¹¹⁾，その結晶格子の図を示せば Fig. 3 のようになる¹¹⁾。

従つてチオ尿素の分子によつて形成される筒の中に guest molecule が充填された構造になつている。上述の X 線粉末回折図形では guest molecule が變つても inclusion compound であれば同じ図形を示すので，チオ尿素の結晶格子は常にどの化合物でも同じであることがわかる。同様に赤外吸収スペクトルでも(Ⅰ)のように吸収の強いアルデヒド基の $C=O$ の吸収は inclusion compound でも残っているが，その他の吸収は殆んど現われず，三方晶系に属するチオ尿素の特性吸収のみが出て来て，guest molecule が變つても大差はない。従つて(Ⅲ)においては(Ⅰ)が(Ⅱ)の三方晶系の格子の中に入つているといい得る。(Ⅲ)における(Ⅰ)がチオ尿素分子の形成する空洞の中に占める大きさは(Ⅰ)1分子に対し(Ⅱ)3分子の割合で，(Ⅱ)1分子あたりの C 軸方向の長さが $2.08 \text{ \AA}$ ($12.5 \text{ \AA}$ の $1/6$) であるから $2.08 \text{ \AA} \times 3 = 6.24 \text{ \AA}$ となる。空洞の内径は約 $6 \text{ \AA}$ であるから底の直径約 $6 \text{ \AA}$ ，高さ $6.24 \text{ \AA}$ の筒の中に(Ⅰ)の球状分子が1ヶ入っていることになる。

この場合(Ⅰ)と(Ⅱ)との間にどのような力が働いているかは明らかでないが，エーテルで加温抽出することによつて 100%回収されることから考えて極めて弱い力であることは推定される。しかし同じチオ尿素付加物でもパラフィン類のように極性基をもたない分子の場合は単に溶媒で洗浄するだけで抽出される点でやや異なっており，(Ⅲ)が単に van der Waals 力のみでなく，更に強い力が働いていることも考えられる。しかし赤外線吸収スペクトルに見られる(Ⅲ)の $C=O$ は 5.73μ と 5.80μ で，これは(Ⅰ)自身の赤外吸収の極大と一致し，inclusion によつては動いていない。

なおチオ尿素付加物では Fig. 3 に示すように $>C=S$ の双極子が3ヶ channel の中心から放射状に出て，ここが一つのポテンシャル場における節のような形になつているので，この節と節の間に(Ⅰ)の分子が入つていると説明しうる。

(Ⅲ)が極めて安定で，かなり強い条件でも酸化を受けないことは，はなはだ興味ある現象で，このようにチオ尿素付加物による不安定な化合物の安定結晶化は未だその例を見ない。その安定化の機構は先に Schlenk⁶⁾ が尿素付加物によつて不飽和脂肪酸の酸化分解を防止することに成功した場合とよく似ており，チオ尿素の形成する壁が酸素の防壁となつているとも考えられるが，包含された分子が酸素と反応を起す空間がないため，酸化が起らないのではないかと推定する。従つて一度付加物から抽出された(Ⅰ)は極めて不安定となり，その結晶は短時間で分解する。(Ⅲ)の生理効果は実験の項に記した通りで，水溶液中で(Ⅰ)と(Ⅱ)に解離し(Ⅰ)本来の作用を失わない。

一般に酸化されやすいものを完全に安定化することは極めて困難とされているが，(Ⅰ)のように不安定な物質を inclusion compound によつて完全に安定化することができたことは，今後このような方法で更に不安定な医薬品の安定化への道を開くものと信ずる次第である。

終りに御指導御鞭撻を賜つた朝比奈泰彦先生，桑田研究所長，渡辺部長，神沢主任研究員に謹謝するとともに，実験に協力された横尾，石川，朝日，西川，奥戸，井上，仲町の諸氏，元素分析室の方々ならびに吉富製薬試験課の諸氏に感謝する。

武田薬品工業株式会社研究所

11) "International Tables for X-Ray Crystallography" 151, 274(1952).