d-ビオチンの結晶多形について

長瀬雄三, 松本 潮, 嶋田健次

東京薬科大学¹⁾

Polymorphism of *d*-Biotin

YŪZO NAGASE, USHIHO MATSUMOTO, and KENJI SHIMADA

Tokyo College of Pharmacy¹⁾

(Received November 22, 1968)

The presence of a polymorphism phenomenon in a crystalline *d*-biotin was observed by infrared spectroscopy (IR) and X-ray diffractometry. By these measurements, *d*-biotin recrystallized from water (α type) and 80% ethanol (β type) revealed different IR spectra and diffraction powder patterns. These two kinds of crystals were different as for their crystalline form, and slightly as for their melting point. Elementary analysis showed the absence of water or solvent of crystallization in each type, respectively. It was found that *d*-biotin obtained by dissolution in methanol and evaporation of the solvent was a mixture of α and β type. The thermal conversion to α type isomorph was shown by heating the β type *d*-biotin at 200°, 1 hr.

結晶多形 (polymorphism) の現象は, 従来主として粉末 X 線回折法により確認されていた。Watanabe 等²⁾ はビタミン B₇ 塩酸塩について, Kendall³⁾ は Para Red その他の色素に赤外部吸収スペクトル (以下 IR スペクトルと略す) から結晶多形の存在を見いだした。最近にも IR スペクトルにより, 日本薬局方収載医薬品の 2, 3 について大場等⁴⁾ が, インドール酢酸誘導体では Yamamoto⁵⁾ が, それぞれ多形現象を報告している。

著者等は放射性同位元素によるビオチン関連化合物の標識化の過程で, *d*-biotin における結晶多形の存在を IR スペクトルと粉末 X 線回折法との併用によって確認した。

d-Biotin は Hoffmann-La Roche の規格⁶⁾ では無色針状結晶で mp 231—232° とされ, 文献⁷⁾ には mp 230—232° (decomp.) の無色針状結晶と記載されている。*d*-Biotin の結晶に同質異像の存在することに関しては従来全く報告されていない。

著者等は mp 232° (decomp.) の市販 *d*-biotin (F. Hoffmann-La Roche 社製) を水または含水エタノールか

TABLE I. Characterization of α and β Type *d*-Biotin

α Type		β Type	
Recrystallization	from water	from 80% EtOH	
Crystalline form	needles	prisms	
mp (decomp.) (°C)	232.5 sintered at 229 partly	230 browning at 225	
Analysis (%)			
Calcd. for C ₁₀ H ₁₆ O ₃ N ₂ S	{ C 49.16 H 6.60 N 11.47	Found	{ C 49.14 H 6.80 N 11.30
		Found	{ C 49.32 H 6.71 N 11.49

1) Location: No. 600, Kashiwagi-4-chome, Shinjuku-ku, Tokyo.

2) A. Watanabe, H. Kamio, 武田研, 11, 13 (1952).

3) D.N. Kendall, *Anal. Chem.*, 25, 382 (1953).

4) 大場琢磨, 小山良子, 分析化学, 17, 53 (1968).

5) H. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 16, 17 (1968).

6) Hoffmann-La Roche, Biotin 'Roche' catalog, (New Jersey) (1956).

7) V. du Vigneaud, K. Hofmann, D.B. Melville, J.R. Rachele, *J. Biol. Chem.*, 140, 763 (1941).

ら再結晶すると、固相での IR スペクトルを異にする 2 種の結晶が得られることを見いだした。2 種の結晶の組成はいずれも *d*-biotin 無水和物によく一致するが、結晶形を相違するうえ、mp にもいくらかの差が認められる。以下ではこれらを α 型ならびに β 型と仮称する。

d-Biotin の α 型ならびに β 型の再結晶による生成条件、それぞれの晶癖および mp などを Table I に一括して示した。水および 80% エタノールから再結晶して得た α 型ならびに β 型試料を減圧下加熱したものはもちろん、室温乾燥の試料においても元素分析値からみて、結晶水ないし結晶溶媒の存在は認められない。

Fig. 1. Infrared Spectra of *d*-Biotin in KBr Tablet

a) recrystallized from water
b) recrystallized from 80% EtOH

Fig. 2. Infrared Spectra of *d*-Biotin in Nujol Paste

a) recrystallized from water
b) recrystallized from 80% EtOH

Fig. 3. X-Ray Diffraction Powder Patterns of *d*-Biotin

a) recrystallized from water
b) recrystallized from 80% EtOH

IR スペクトル測定時に錠剤 matrix と試料との相互作用に起因して、まま認められる異性化などに基づくスペクトル差ではないことがわかる。

以上のように、固相での IR スペクトルから *d*-biotin に 2 種の結晶多形の存在が認められたので、別途に粉末 X 線回折法によっても検討した。 α 型および β 型の 2 種の試料について X 線回折計で測定した結果を Fig. 3 に示す。粉末回折図形から明らかなとおり、 α 型試料と β 型試料とでは回折線の強度と回折角すなわち面間隔が全く相違している。前記の IR スペクトルによる知見を裏づけて、 α 型と β 型 *d*-biotin の存在は、結晶構成を異にする結晶多形現象に基づくことが X 線回折的にも証明された。

上述した α 型、 β 型の結晶 2 種のほかに、市販 *d*-biotin にメタノールを加えてから常圧で留去するとき、残留物として mp 230° (decomp.) の微細な稜柱状晶ないし結晶性粉末が得られる。この試料の KBr 錠剤法および Nujol 法による IR スペクトルは、Fig. 4 のように α 型 *d*-biotin とは明らかに異なる。 β 型とはやや類似したスペクトルを示すが、1220, 1119 および 826 cm^{-1} 付近の吸収位置と形状に差異が認められる。このことから第 3 の型の存在も予想されたが、Fig. 5 のように本試料の X 線回折図形は明瞭な α 型の回折線と β 型のそれとをともに示し、 α 型と β 型結晶との混合物であることがわかった。 α 型および β 型の転換には、再結晶による

α ならびに β 型の 2 種について、KBr 錠剤法と Nujol 法で IR スペクトルを測定すると、Fig. 1 および Fig. 2 のように両型ではそれを全く異にしている。KBr 錠剤法では、 $\nu_{\text{N-H}}$ 3345, $\delta_{\text{C-H}}$ 1343, 1200, $\delta_{\text{N-H}}$ 1101, 1015, 845 および 755 cm^{-1} の各吸収バンドは α 型のみに現われて β 型には存在しない。同様に Nujol 法による測定においても 2 種の *d*-biotin に IR スペクトル差が認められ、たとえば α 型に特徴的な 845 cm^{-1} の吸収バンドが β 型にはなく、そのかわり 828 cm^{-1} の吸収バンドが α 型にはなくて、 β 型に特徴的に現われる。このことから Fig. 1 における α 型と β 型 *d*-biotin の相違が、KBr 錠剤法による

Fig. 4. Infrared Spectra of *d*-Biotin evaporated with MeOH

a) KBr tablet b) Nujol paste

方法と熱転移による方法とがある。α型をメタノール処理すればβ型が1部生成し、含水エタノールから再結晶すればすべてβ型に転換する。逆にβ型またはβ型とα型との混合物を水から再結晶すれば完全にα型に変化する。すなわち、α型とβ型 *d*-biotin とは再結晶溶媒の選択により容易に相互転換しうる。

α型はβ型結晶の熱転移によっても生成する。β型結晶を微粉末とし 200° で 1 hr 加熱するか、メタノール溶液から濃縮乾固して得られるα型とβ型の混合物を微結晶のまま 180° で 2 hr 加熱すれば、固態においていずれもα型 isomorph に転換する。α型からβ型への

Fig. 5. X-Ray Diffraction Powder Pattern of *d*-Biotin evaporated with MeOH

結晶状態における熱転移は認められなかった。これらの現象は IR スペクトルのまたは X 線回折的に確認され、α型結晶のほうが熱的に安定なことを示す。

なお、市販 *d*-biotin の再結晶条件は不明であるが、ほとんどすべてα型として存在することが、IR スペクトルから識別された。

一般にカルボン酸類にはカルボキシル基相互の分子間水素結合の形成とそれに基づく結晶多形の現象が認められることがある。*d*-Biotin においては、上記のほかさらに分子内水素結合を生成する傾向も加わる。すな

わち、生物活性のある天然型の *d*-biotin には、I 式の絶対配位⁸⁾ が与えられている。この立体構造と極性基から予想されるように、固態における *d*-biotin は、側鎖のカルボキシル基と 2' 位のウレイドカルボニル基との間に分子内水素結合を形成することが、X 線単結晶解析⁹⁾ によって証明されている。これらのことも *d*-biotin に認められた結晶多形の成因として考慮されえよう。

実験の部¹⁰⁾

試料の調製 α型 *d*-Biotin——市販の F. Hoffmann-La Roche 社 (Switzerland) 製 *d*-biotin (mp 232° の無色針状晶) を約 100 倍量の熱湯から再結晶。70—80° で 5 hr 減圧下に乾燥。

β型 *d*-Biotin——市販の F. Hoffmann-La Roche 社製 *d*-biotin を約 80 倍量の 80% EtOH から再結晶。70—80° で 5 hr 減圧下に乾燥。

装置 赤外分光光度計——日本分光 DS-301 型赤外分光光度計。NaCl プリズム。

X 線回折計——東芝 ADG 102 型、自記 X 線回折装置。X-ray target: Cu Kα 線, detector: GM 計数管, 1200V, scanning speed: 1/2° (θ)/min, scanning range: 5—50°, slit: first 1°, second 0.15 mm, third 1°, chart speed: 10 mm/min, time constant: 2 sec, scale factor 5 および 10, chart full scale: 500 および 1000 counts/sec。

謝辞 元素分析を施行された本学女子部元素分析室の諸氏に感謝いたします。

8) J. Trotter, J.A. Hamilton, *Biochemistry*, **5**, 713 (1966).

9) W. Traub, *Nature*, **178**, 649 (1956); *idem*, *Science*, **129**, 210 (1959).

10) 融点はすべて未補正。