

実施課題番号：2007B1836

実施課題名：放射光粉末回折法による医薬品原薬の *ab initio* 構造解析と脱水転移挙動

実験責任者所属機関及び氏名：寺田勝英（製剤機械技術研究会・東邦大学薬学部）

使用ビームライン：BL19B2

実験結果：

#### 「緒言」

現在は医薬品の有効性、安全性、安定性という観点から原薬の物理化学的性質を十分に検討するように薬制上で定められているため、高い頻度で結晶多形や擬似結晶多形が存在する有機医薬品原薬においては、さまざまな結晶化条件、製造工程でのストレス、保存環境による結晶多形生成・転移・脱水和の有無を検討する必要がある。そして、もし多形結晶・多形転移現象が存在する場合には、すべての多形について、物理化学的な性質およびそれを発現するところの結晶構造を決定し、熱力学的な安定性と製剤的な優位性から最も好ましい結晶形を選択することが効率的な医薬品開発につながる。医薬品原薬の結晶構造解析については、現在は100ミクロン程度の単結晶が得られればほぼルーチン操作として構造解析が可能である。一方、上で述べたような結晶の多形転移が生じるような場合には、転移後および準安定形の単結晶を得ることは困難であり、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でしか結晶構造を知ることができない。

我々は、上記の観点から、医薬品原薬の多形転移に興味を持ち、熱測定の詳細な解析から、これまで未知であった結晶多形転移挙動を見だし構造解析を行っている。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和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。

#### 「リシノプリル (lisinopril)」

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1) 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經由して無水物へと転移することが知られている。しかし、リシノプリル二水和物は再結晶により良好な単結晶を得ることが容易でないため、その結晶構造の報告例はなく、また、脱水後の無水物結晶については、非常に吸湿性の高い不安定な結晶相であり、ただちに二水和物結晶へと転移を起こすため、結晶構造の報告はなされていない。このため脱水現象の明確なメカニズムはこれまで解明されていなかった。本研究では

単結晶が得られない二水和物、非常に不安定な無水物の結晶構造を明らかにし脱水挙動のメカニズムを解明するために、キャピラリ封入試料の放射光高分解能粉末回折測定を行った。なお、それぞれの相については、実験室系の XRD-DSC 装置により測定条件を決定しており、相転移の条件と単一の結晶相が生成していることを確認している。

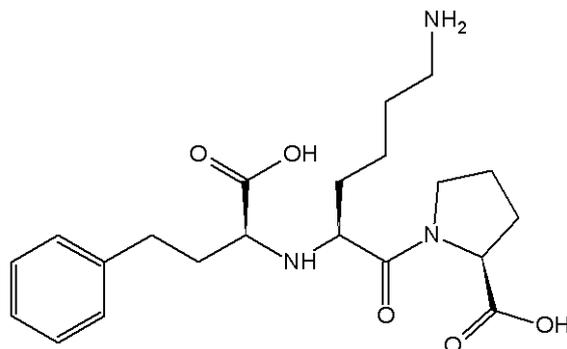


図 1 : リシノプリル  
( $C_{21}H_{31}N_3O_5$ , MW : 405.5)

測定試料は再結晶で得られるリシノプリル二水和物と加熱脱水させた無水物の粉末結晶を 0.3mm のリンデマンガラスに封入した。測定は BL19B2 のデバイ・シェラー IP カメラ、 $23^\circ$ 、波長 1.19770 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。

得られた粉末回折パターンからの構造解析は、DICVOL04 による指数付け、Pawley 法による全パターンフィッティング、シミュレーテッドアニーリング法 (SA) による構造決定という手順で行った。リシノプリル二水和物は空間群  $P2_1$ 、格子定数  $a=14.6460$ 、 $b=5.9076$ 、 $c=14.2973$ (Å)、 $\beta=113.123$ ( $^\circ$ )、 $M(20)=59.3$ 、 $F(20)=218.0$ 、および  $2\theta$  3.00-35.00( $^\circ$ ) のフィッティングで 184 reflections/3201 points、 $R_{wp}$  16.66(%)、 $R_{exp}$  2.30(%)、 $\chi^2$  52.352 と、残差の少ないフィッティングが得られた。一方、無水物は空間群  $P2_1$ 、格子定数  $a=14.5820$ 、 $b=5.9441$ 、 $c=14.2289$ (Å)、 $\beta=116.455$ ( $^\circ$ )、 $M(20)=78.7$ 、 $F(20)=220.0$ 、および  $2\theta$  3.00-40.00( $^\circ$ ) のフィッティングで 260 reflections/3701 points、 $R_{wp}$  19.81(%)、 $R_{exp}$  3.91(%)、 $\chi^2$  25.687 となった。次に Cambridge Structure Database から分子構造モデルをとり SA により実空間法による構造決定を行った。二水和物は、リシノプリル分子と水二分子を考慮した 24 個のパラメータ、無水物は 18 個のパラメータを決定した。二水和物の最良解は profile  $\chi^2$  216.53、Intensity  $\chi^2$  52.40、無水物の最良解は profile  $\chi^2$  89.58、Intensity  $\chi^2$  42.51 (図 2) となった。これらの結晶構造は化学的・結晶学的に妥当な構造をしており、正しい結晶構造であることを確認した。

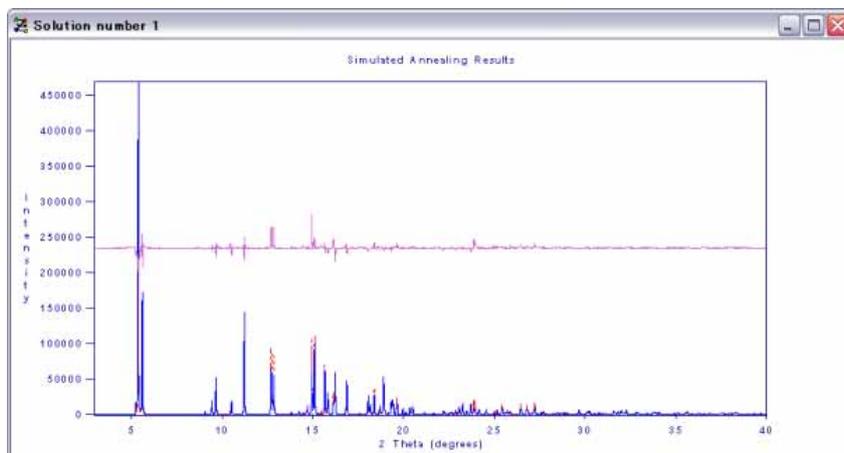


図 2 : SA 計算の最適解のフィッティングパターン  
(リシノプリル無水物)

構造解析の結果、リシノプリル二水和物・無水物ともに b 軸方向に分子が積層する類似構造であることが明らかとなった(図 3)。二水和物には独立な 2 つの水チャンネル(I と II)が存在しており、水素結合のドナー/アクセプター距離からは、チャンネル I のほうが II よりも強い水素結合環境をもっていると考えられる。一方、無水物は水の抜けた空のチャンネルをもつ構造をとっており、二水和物の構造と比較すると、これは二水和物のチャンネル II から水が脱離したものであると考えられる。また、脱水に伴いリシノプリルのフェニルエチル基がねじれる変化を起こしており、これは脱水後にチャンネル I を閉じる分子の動きに起因すると考えられる。以上のことより脱水挙動は次のようなものと考えられる。まず水素結合環境の弱いチャンネル II の水が抜けることにより一水和物が生成し、その後、チャンネル I の脱水と共にフェニルエチル基のねじれと分子の並進が起こりチャンネル I の閉じた無水物の結晶構造へと転移したものであると考えられる。二水和物と一水和物は非常に類似した粉末 X 線回折パターンを有しているが、無水物の回折パターンはこれらと大きく異なっており、フェニルエチル基のねじれが一水和物から無水物へ転移する際に起きていることを示唆したものである。一水和物と無水物が二水和物へと戻りやすいことも、一水和物と無水物が空のチャンネル(II)を有する不安定な結晶構造であることから説明することができる。

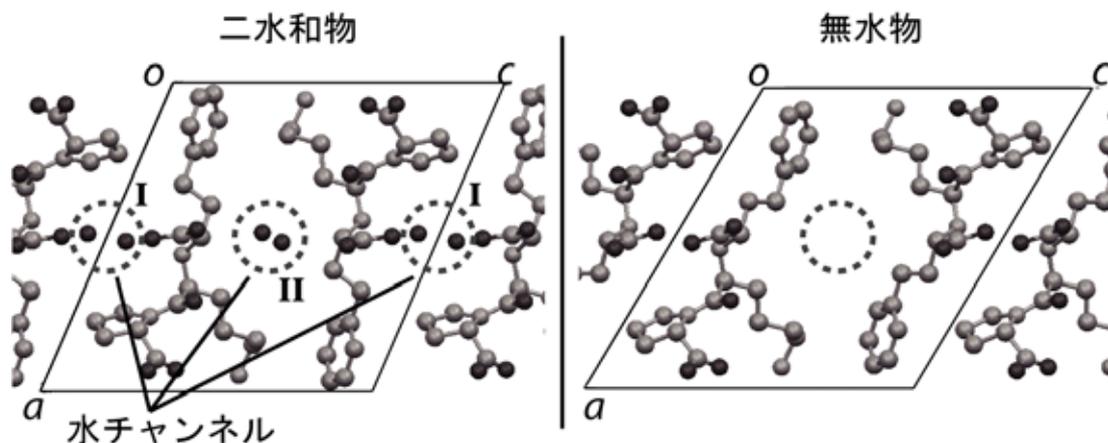


図3：リシノプリルの結晶構造（b軸投影図）

「アクリノール（Acrinol）」

アクリノール（図4）は、広く使われている殺菌消毒薬であり、固体では一水和物の結晶相であることが知られている。この一水和物は120℃で脱水を起こして無水相Aとなり、さらに200℃で結晶転移を起こして無水相Bとなる。脱水に伴い単結晶が崩壊するため、その結晶構造は報告されておらず、その転移の明確なメカニズムは明らかにできていない。本研究では無水相AとBの放射光高分解能粉末線回折測定をSPring-8 BL19B2のデバイ・シェラーIPカメラで行った。

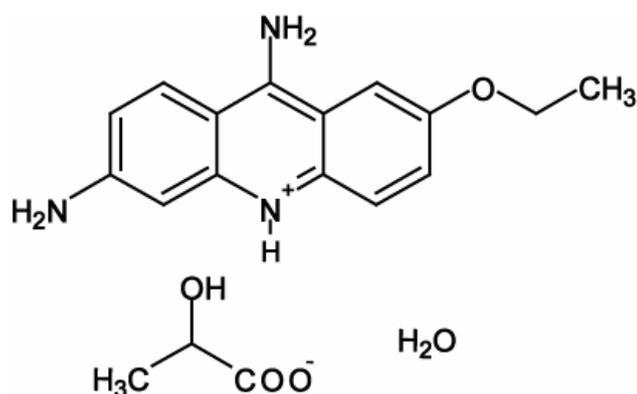


図4：アクリノール（一水和物）  
 (C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup>/C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub><sup>-</sup>/H<sub>2</sub>O, MW: 361.39)

測定は0.3mmのリンデマンガラスに封入した試料を用いてBL19B2のデバイ・シェラーIPカメラ、23℃、波長1.19770Å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30分とした。

現在、無水相 A、B に指数付けを行い、さらに不純相の有無を検討中であるが、図 4 から分かるように 2 つの有機分子からなるため、実空間法による構造決定で決めるべきパラメータ数が多いことが予想される。

以上より、高輝度放射光を用いた高精度・高分解能粉末 X 線回折測定により、従来得られなかった脱水挙動後の構造を観察することが可能になり、薬学・製剤学的に重要な知見が得られた。これらの結果は、製薬企業の製剤物性研究や脱水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。本研究を通して、製薬業界における、製剤物性研究及び技術力の向上に寄与し、新規医薬品の製造工程・多形制御への理論的考察が出来ることになり、この段階での合理的な開発による開発期間短縮という経済効果の拡大が期待できる。