

## 医薬品原薬セファレキシン結晶の脱水転移の *in situ* 放射光構造解析 *In Situ* Structure Determination for Dehydration Phase Transition of Cephalexin using Synchrotron X-ray Powder Diffraction Data

植草秀裕<sup>a</sup>, 武田剛典<sup>a</sup>, 青木雅英<sup>a</sup>, 豊田一如<sup>a</sup>, 井戸田尚子<sup>b</sup>, 黒部裕之<sup>b</sup>, 米持悦生<sup>b</sup>, 寺田勝英<sup>b</sup>  
Hidehiro Uekusa<sup>a</sup>, Takenori Takeda<sup>a</sup>, Masahide Aoki<sup>a</sup>, Kazuyuki Toyota<sup>a</sup>, Naoko Itoda<sup>b</sup>, Hiroyuki Kurobe<sup>b</sup>,  
Etsuo Yonemochi<sup>b</sup>, Katsuhide Terada<sup>b</sup>

<sup>a</sup>東京工業大学大学院理工学研究科, <sup>b</sup>東邦大学薬学部

<sup>a</sup>Department of Chemistry and Materials Science, Tokyo Institute of Technology, <sup>b</sup>Department of  
Pharmaceutical Science, Toho University

医薬品原薬セファレキシンは環境湿度に依存し複数の水和結晶相を持つ。各相間の脱水・吸湿転移挙動と医薬品原薬の結晶構造との関係を調べるために、湿度可変の *in situ* 放射光粉末回折測定を行い、得られた粉末回折データから三次元の結晶構造解析を行った。得られた回折パターンは実験室系の湿度可変測定と一致しており、測定手法が妥当であることがわかった。粉末結晶解析の結果、水和数により格子定数が変化し、分子の配向とトンネル水の領域が変化していた。

キーワード：粉末結晶解析、脱水相転移、医薬品原薬

### 背景と研究目的：

医薬品は本来、安定な結晶として製造されることが多いが、多くの製造工程を経て製品となるため、製造工程中でいろいろなストレスを受けて原薬結晶が多形転移を起こすことがある。また、安定性が期待される水和物結晶を製造しても、保存環境によっては、脱水和現象により擬似多形転移が起きる可能性もある。このように原薬に多形転移が生じた場合には、結晶としての物理化学的性質である溶解性、安定性が変化してしまう。

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・転移の有無を検討する必要がある。そして、もし多形生成・多形転移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。

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、実験室系での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、構造解析を行ってきた。たとえば、糖尿病治療薬であるトルブタミドの未知の準安定結晶構造を解明し、高温領域での原薬の溶解性異常を説明することができた[1]。さらに降圧剤であるリシノプリルの脱水転移挙動の構造解析を行い、二水和物から不安定相の一水和物を経て無水物へと多形転移する各相の構造解析から転移メカニズムを解明した。

これらの興味深い結晶相転移では、転移により単結晶状態が保たれず粉末結晶となるため、転移後の構造を調べる手法として単結晶構造解析を用いることができないことが多い。しかし近年、粉末回折データから直接に三次元結晶構造を解析する粉末未知構造解析の手法が発達し、対称性の低い有機物の構造も解析できるようになった。これにより医薬品原薬の転移挙動の解明は著しく進歩し、上で述べた解析例や本研究の解析結果もこの粉末未知構造解析によるものである。同時にこの手法はできるだけ高精度・高分解能の粉末回折データを必要とするため、SP8 BL19B2のデバイ・シェラー型IPカメラによる放射光粉末回折データおよび試料環境制御（温度・湿度）は本研究にとって必須のものである。

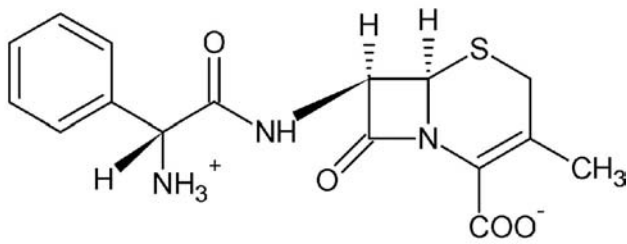


図 1. セファレキシン  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$

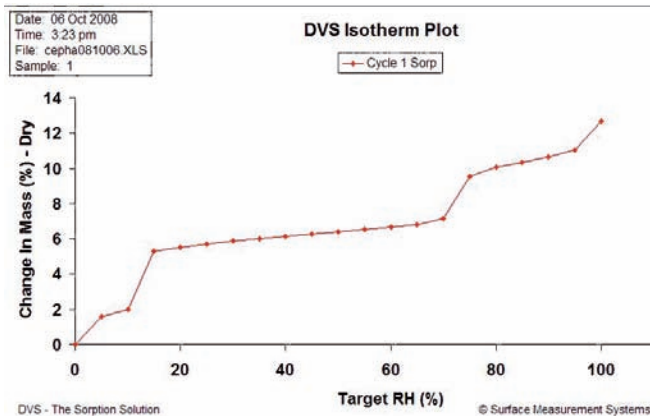


図 2. セファレキシンの水蒸気吸着測定

### 実験：

セファレキシン試料粉末は市販品をそのまま使い、メノウ乳鉢で粉碎した。本研究では測定状態でそのまま湿度環境を制御した測定が重要であり、この目的で設置された特別な粉末試料ホルダーを用いた。試料はカプトン板(54 ミクロン厚)にのせ平滑化は行わなかった。測定条件として揺動の採否があったが、予備測定の結果揺動による格段の効果が見られず試料を静止状態で測定した。湿度環境制御のために、カプトン板の周囲に二重にカプトン筒を設置し、外側の筒に湿度制御された窒素ガス（乾燥窒素と水蒸気のガス混合により湿度を制御する（リガク社 HUM-1））を 10mL/min.以上流した。回折線を IP に露光する時間は 15 分とした。使用した放射光は標準試料測定により波長 1.00 Å と決定された。

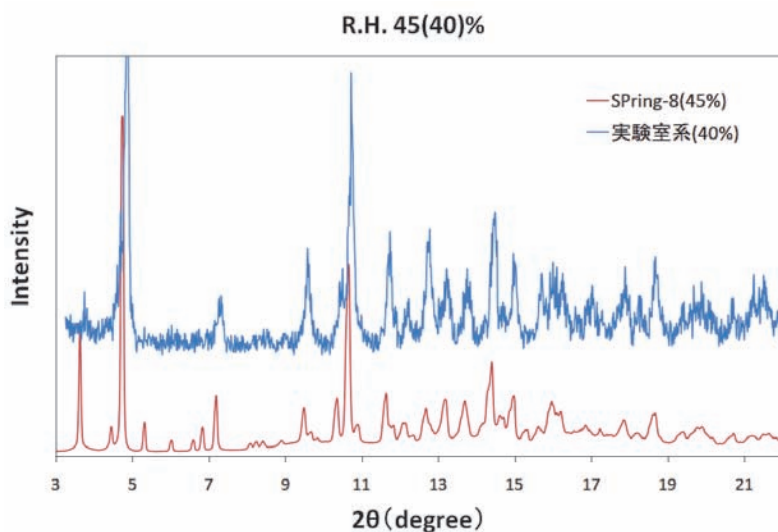


図 3. R.H.45%での回折パターンの比較(上：実験室系、下：SP8)

さて、セファレキシン（図 1）はセフェム系抗生物質として知られており、水蒸気吸着測定から、湿度・温度条件により無水物(R.H. 0%)、0.3~0.4 水和物(R.H. <10%)、1~1.5 水和物(R.H. 20-70%)、1.8~2.1 水和物(R.H. 80-90%)、2.5 水和物(R.H. 100%)の 5 段階の水和結晶相をとることがわかっている（図 2）。実験室系の湿度変化 XRD および既知の結晶構造(1.9 水和物)[2]からチャンネル水の出入りによる湿度依存の構造転移が予測された。このようなチャンネル水が関与する脱水転移の機構解明は医薬品原薬ではしばしば見られる形態であり、安定性を追求する立場から極めて重要である。しかし転移後は、単結晶状態が失われるため、どうしても粉末 X 線構造解析によりその場で水和・脱水挙動を調べることが必要となり、今回、高精度放射光粉末回折による粉末未知構造解析を行った。

実験室系での水蒸気吸着測定（図 2）の結果を基に、R.H. 0, 7, 45, 90, 100%の条件で放射光粉末回折測定を行った。R.H.7, 45, 90%は上記の湿度制御装置を用いた回折測定を行った。装置の湿度制御範囲外である、R.H. 0, 100%については所定の R.H. で予め粉末試料を調製し 0.3mm φ のガラス製キャピラリーに封じたサンプルを用い、キャピラリーを回転させながら露光時間 15 分で回折測定を行った。

例として図 3 に R.H.45%の回折パターンを実験室系と比較して示す。実験室系の湿度

変化 XRD の回折パターンをよく再現した高精度の回折パターンが測定できており、湿度が正しく制御されていることを示している。一方 R.H.90%としたものは上述のキャピラリ封入で測定した R.H.100%のパターンとほぼ一致し、制御装置の限界 R.H.であることを示唆していた。

### 結果および考察：

粉末未知構造解析は、プログラム DICVOL06 で指数付けを行い、既知構造(1.9 水和物)の分子モデルを用いて実空間法のプログラム DASH により構造決定を行った。現在、R.H. 0%, 45% (1 水和物相当) について構造決定に成功している。図 4 に既知の 1.9 水和物(左)と今回新たに決定された R.H.0%の結晶構造(右)を比較して示す。いずれも空間群 C2, Z=12、三分子が独立であり、分子の配列は類似していた。1.9 水和物の構造からは、結晶中に水だけからなるチャンネル構造があることがわかる。一方、完全に水和水が脱離した R.H. 0%の構造では水和水のチャンネルが閉じたことに伴い、格子が大きく収縮し(a 軸は 31.6 Å から 27.3 Å へ収縮)、分子の方位が変わっていることがわかった。つまり、脱水過程は結晶構造をほぼ保ったまま水和水の脱離により起こり、水和水が減少したことによる体積減少を埋め再安定な結晶構造となるように分子のパッキングが調整されるメカニズムと理解できる。一方 R.H.45%では水和水はチャンネルに存在し 1.9 水和構造と同様であったが、水和水の減少に伴い、格子の収縮と分子配向が変化している様子がわかった。

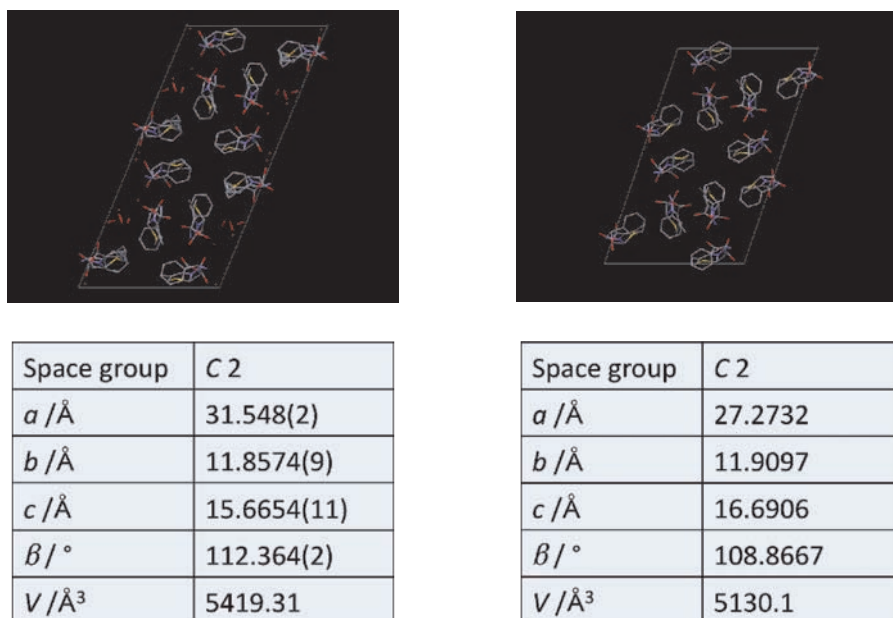


図 4. 1.9 水和物結晶(左)と無水和物結晶(右)との構造比較

### 今後の課題：

今後、他の R.H.の回折データについても解析を進め、さらに水和水の位置を含めて Rietveld 法による構造精密化を行う予定である。特に注目しているのはチャンネル構造に存在する水分子の位置を粉末解析から決定できるかどうかである。既知の 1.9 水和物結晶は単結晶解析であるが、チャンネル水は乱れていることがわかっている。粉末解析法での水分子のモデル化が重要である。

構造解析の観点からは独立分子数が多くパラメータ数が約 30 と大きめの解析であり、SA 法により正解が得られているかどうかの吟味が必要であろう。結晶構造として無理のないものであるかにも注意する。測定としては、R.H. 90%相が得られていないこと、R.H. 7%相の回折パターンがブロードであることが課題となっている。その場で環境制御を行うだけでなく、転移による結晶性の劣化が起こりにくい条件も探索の必要があるだろう。

### 参考文献：

- [1] Gen Hasegawa, Takao Komasa, Rui Bando, Yasuo Yoshihashi, Etsuo Yonemochi, Kotaro Fujii, Hidehiro Uekusa, Katsuhide Terada, International Journal of Pharmaceutics 369 (2009) 12-18.
- [2] Alan R. Kennedy, Maurice O. Okoth, David B. Sheen, John N. Sherwood, Simon J. Teat and Ranko M. Vrcelj, Acta Cryst. (2003). C59, o650-o652.