

安息香酸およびパラオキシ安息香酸エステル類と Heptakis-(2,6-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrinの 物理的混合物の熱的挙動の検討

花輪剛久, 仲井由宣*, 米持悦生**, 小口敏夫**, 山本恵司**

(平成6年8月8日受理)

Characterization of Thermal Behaviour of the Physical Mixtures of Heptakis-(2,6-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin with Benzoic Acid or *p*-Hydroxybenzoic Acid Esters

Takehisa Hanawa, Yoshinobu Nakai*, Etsuo Yonemochi**,
Toshio Oguchi** and Keiji Yamamoto**

(Received August 8, 1994)

Thermal behaviour of the physical mixture of benzoic acid or *p*-hydroxybenzoic acid esters with heptakis-(2,6-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin(DM β CD) were investigated by differential scanning calorimetry (DSC). Two endothermic peaks were observed on the DSC curves, which were assigned to the inclusion formation and the release of the guest molecules from the inclusion compound by infrared spectroscopy and X-ray diffractometry.

1. 緒 言

示差走査熱量測定(Differential Scanning Calorimetry: DSC)はシクロデキストリン(CD)と医薬品の包接化合物

東京女子医科大学病院薬剤部: 〒162 東京都新宿区
河田町8-1

Pharmaceutical Department, Tokyo Women's Medical
College, 8-1 Kawadacho, Shinjuku Tokyo 162,
Japan.

* (株) ツムラ: 〒102 東京都千代田区六番町2
Tsumura & Co., 2 Rokubancho, Chiyoda-ku, Tokyo
102, Japan.

** 千葉大学薬学部: 〒263 千葉県千葉市稲毛区弥生町
1-33

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University,
1-33 Yayoicho Inage-ku, Chiba 263, Japan

生成を確認する有力な手段となっている。たとえば、アセトアミノフェン、インドメタシン等の薬品と β -シクロデキストリン(β -CD)の包接化合物の調製において、物理的混合物のDSC曲線に認められた薬品の融解由来の吸熱ピークが、包接化合物の生成により消失することがLinらによって報告されている¹⁾。またカルモフルとヘプタキス-2,6-ジ-*O*-メチル- β -シクロデキストリン(DM β CD)の包接化合物のDSC曲線には、その物理的混合物で認められた薬品の融解ならびに分解由来の吸熱ピークが消失することが上釜らによって報告されている²⁾。一方、仲井らは安息香酸(BA)と α -シクロデキストリン(α -CD)の物理的混合物のDSC曲線を解析することにより、包接化の反応機構の解明を行ない、DSC曲線で認められたCDの結晶形の変化が包接化反応を誘起していることを示した³⁾⁴⁾。

著者らは新規なCD包接化合物生成方法としての密封加熱法について検討を行ってきており、DSC測定におい

て観察される種々の熱的变化を検討することは、密封加熱法による CD とゲスト分子との包接化反応のメカニズムを解明する有力な手段であることを報告した⁵⁾。そこで、本研究ではBAおよび*p*-ヒドロキシ安息香酸メチル(MP)、*p*-ヒドロキシ安息香酸エチル(EP)、*p*-ヒドロキシ安息香酸プロピル(PP)とDMβCDの物理的混合物のDSC曲線に認められた熱的挙動に着目しその解析を試みた。

2. 実 験

2.1 試薬

DMβCDは東進ケミカル株式会社製、BA、MP、EP、PPはナカライテスク社製(試薬特級)をそのまま使用した。

2.2 熱測定

示差走査熱量測定(DSC)はDu Pont TA9900熱分析システムを用い、試料約2mgを液体用密封パンに充填後、窒素ガス気流(60ml・min⁻¹)下、昇温速度8℃・min⁻¹で行った。

2.3 粉末X線回折測定

理学電機製2027型により、CuKα線を用い、室温で行った。測定条件はNiフィルター、30kV、5mA、走査速度4°・min⁻¹、測定範囲2θ=5~30°とした。

2.4 赤外吸収(IR)スペクトル測定

Nicolet社製5ZDX型フーリエ変換赤外吸収スペクトル測定装置を用いた。測定は室温下で行い、scan回数は10回、Nujol法により行った。

2.5 アルミニウムセルによる加熱実験

薬品とDMβCDを等モル量秤取し、乳鉢中で混合し物理的混合物を得た。その90mgを内容量0.8mlのアルミニウムセルに充填し、島津製作所製GC-7AGガスクロマトグラフのオープン中に設置し、昇温速度8℃・min⁻¹で目的温度まで加熱した。本実験で用いたアルミニウムセルの概観をFig.1に示す。アルミニウムセルの上部にはアルミニウム箔が張っており、O-ringでシールされている。各粉末試料を所定の温度まで加熱直後、上部のアルミニウム箔をピンセットで突き破ることで反応を終了さ

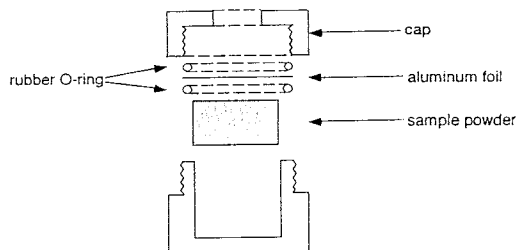


Fig.1 Schematic Drawing of Aluminum Cell.

せ、粉末試料を取り出した。通常のDSC測定に用いる液体用密封パンに封入する試料量が約2mgと微量なことから、昇温過程における結晶性の変化ならびに分子状態の変化を評価するために必要な量の試料を得ることができない。また、目的温度に達した瞬間にパンを開封し、内容物を直接取り出すことは困難であることを合わせて考えると、本方法は、試料量ならびに目的温度に達した瞬間に反応を終了させることができることから、有効な方法であると考えられる。

2.6 包接比の決定

試料をジエチルエーテルで洗浄し、過剰の薬品を除去した。その残渣を0.1N HClに溶解し、UV定量することによりDMβCDに取り込まれた薬品量とした^{3),6)-7)}。

3. 結果および考察

3.1 DMβCDとBAの物理的混合物の熱的挙動の検討

DMβCDとBAの系のDSC曲線をFig.2に示す。DMβCD単独のDSC曲線には何ら熱的变化は認められないのに対し(Fig.2(b)), DMβCDとBAの物理的混合物の1st runのDSC曲線には71℃および210℃に吸熱ピークが認められた。

これらの吸熱ピークはBA単独のDSC曲線(Fig.2(a))上に認められたBAの融解由来の吸熱ピーク(121℃)とは明らかに異なる熱的挙動によるものと考えられた。

一方、2nd runでは1st runで認められた71℃の吸熱ピークは消失し、180~240℃の範囲に巾の広い吸熱ピークが認められた。1st runで210℃に認められた吸熱ピーク

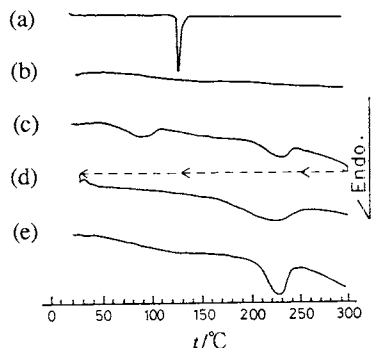


Fig.2 DSC Curves of DMβCD-Benzoic Acid System.

- (a) Benzoic acid
- (b) DMβCD
- (c) Equimolar physical mixture of DMβCD and benzoic acid (1st run)
- (d) Equimolar physical mixture of DMβCD and benzoic acid (2nd run)
- (e) Inclusion compound

安息香酸およびパラオキシ安息香酸エステル類と
Heptakis-(2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrinの物理的混合物の熱的挙動の検討

ク、および2nd runで180~240℃に認められたブロードな吸熱ピークはいずれもDM β CDとBAの包接化合物のDSC曲線(Fig.2(e))で認められた吸熱ピークとはほぼ同じ温度領域で認められ、包接化合物の熱的挙動との相関が示唆された。

DM β CDとBAの物理的混合物のDSC曲線で認められた吸熱ピークがどのような現象に起因しているのかを検討するため、アルミニウムセルにDM β CDとBAの物理的混合物を充填後、所定の温度まで加熱し、加熱後のBAの

分子状態の変化をIRスペクトルにより検討した(Fig.3)。

71℃の吸熱ピークより低温の60℃まで加熱した試料のIRスペクトルには1695 cm^{-1} にBAのカルボニル基の伸縮振動ピークが観察され、60℃までの加熱では相互作用の発現していないことを示している(Fig.3(a))。一方80℃まで加熱したところ、1695 cm^{-1} のほかに新たに1720 cm^{-1} に吸収ピークが出現し、加熱により試料中に存在するBAの分子状態に変化が生じたことを示している(Fig.3(b))。この吸収ピークは加熱温度の上昇に伴い強度が増大し、200℃まで加熱した試料では1720 cm^{-1} に単一の吸収ピークが観察された(Fig.3(c))。このように71℃の吸熱ピーク以上の温度での加熱によりBAの分子状態に変化が生ずることがわかった。更に加熱時の結晶状態の変化を粉末X線回折測定により検討した。60℃まで加熱した試料の粉末X線回折パターンは、物理的混合物の粉末X線回折パターンと一致し、IRスペクトルでの場合と同様に加熱温度60℃ではDM β CDとBAは相互作用を起こしていないことを示している。しかし、粉末X線回折測定においても試料の加熱温度の上昇にともない回折パターンに変化が認められ、200℃まで加熱した試料の回折パターンは共沈法により調製した包接化合物結晶の回折パターンと一致した。これらの結果より、BAとDM β CDの等モル混合物のDSC曲線で認められた71℃の吸熱ピークは包接化合物の形成に対応していることがわかった。

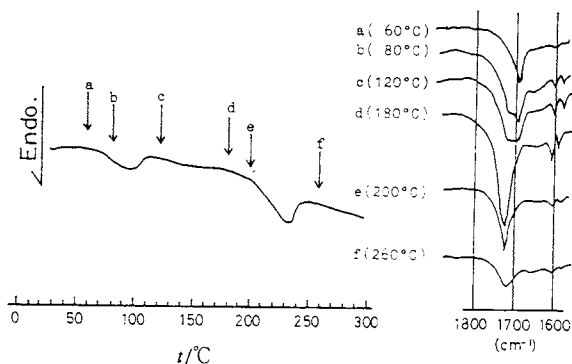


Fig.3 Changes of IR Spectra of DM β CD-Benzoic Acid Physical Mixture by Heating up to Various Temperatures.

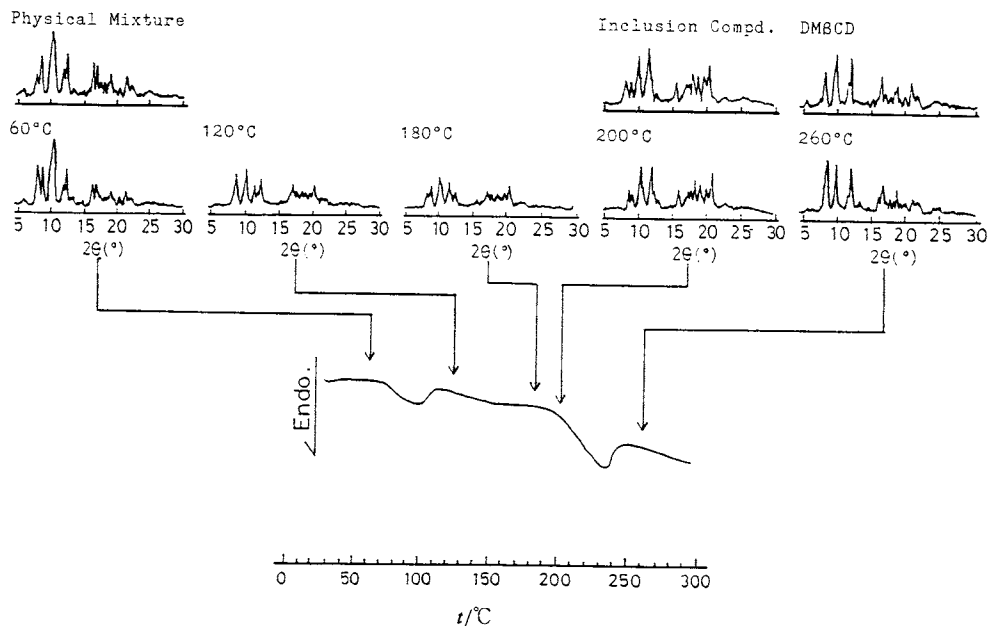


Fig.4 Changes of Powder X-Ray Diffraction Pattern of DM β CD-Benzoic Acid Physical Mixture by Heating up to Various Temperatures.

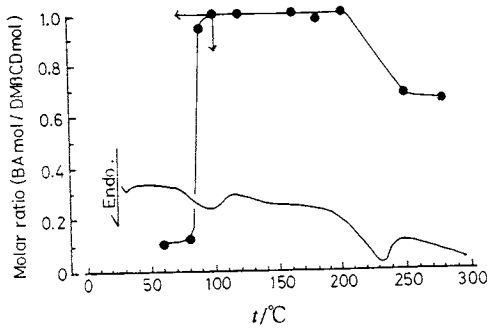


Fig.5 Variation of Combining Molar Ratio with Heating Temperature.

● ; combining molar ratio (benzoic acid mol/DMβCD mol)

次に、加熱によるBAのDMβCDに対する包接比の変化について検討した(Fig.5)。60℃、80℃まで加熱した試料の包接比はそれぞれ0.103、0.113と低い包接比を示したのに対し、71℃の吸熱ピーク後の90℃まで加熱した試料の包接比は0.944と急激に増加し、110℃まで加熱した試料の包接比は1.00と、化学量論比1:1の包接化合物の形成が認められた。著者らは前報においてBAとDMβCDの物理的混合物をガラスアンプル中で密封加熱法し包接化合物を調製しているが、高い加熱温度を用いたり、混合するBAのモル比を増加させることにより、0.6-0.8の包接比を示す包接化合物を得ることを報告している⁹⁾。また、α-CDとMPの物理的混合物を密封加熱した際、ガラスアンプルの容積を小さくすることにより高い包接比を有する包接化合物を得ることができる³⁾ことから、本実験で用いたアルミニウムセル内部の空間はガラスアンプル内部と比較して狭く、加熱により昇華したBA分子が高濃度で存在しているために、高い包接比を示したものと考えられた。

一方210℃に認められた吸熱ピークは共沈法により調製した包接化合物のDSC曲線にも認められており(Fig.2(e))、包接化合物の熱的挙動と関連があるものと推察される。260℃まで加熱した試料の包接比は0.650と、包接比の減少が認められ(Fig.5)、また、粉末X線回折パターンはDMβCD結晶単独の回折パターンと一致していることが認められた(Fig.4)。固体包接化合物からの薬品の放出現象はニトログリセリン-β-CD包接化合物の加熱においても認められており⁸⁾、210℃に認められた吸熱ピークは包接化合物からのBAの放出に由来するものであると考えられる。粉末X線回折パターンがDMβCD結晶と同一な回折パターンを示しているにもかかわらず、包接比が0.650と、BAが包接化合物中に残存しているこ

とから粒子内部には包接化合物結晶が存在しており、包接化合物からのBAの放出は包接化合物の粒子表面付近のみで起きているものと考えられた。

3.2 DMβCDとパラオキシ安息香酸エステル類の物理的混合物の熱的挙動の検討

熱的挙動のゲスト分子依存性について検討するためMP(mp 131.0℃)、EP(mp 116.0℃)、PP(mp 96.0℃)をゲスト分子として選択し、DMβCDとの物理的混合物についてBAと同様にDSC測定を行った。なお、これらのゲスト分子とDMβCDとの溶解度相図の検討より、包接化合物はそれぞれ2:1(MP)、1:1(EPおよびPP)の化学量論比で生成することが認められた。

1st runのそれぞれのDSC曲線に薬品の融点とは別に二つの吸熱ピークが認められ、それら吸熱ピークの補外温度をTable 1に示す。

また、これらの薬品とDMβCDの等モル混合物を2mlのガラスアンプル中で密封加熱した際の包接比を加熱温度に対して合合わせ示した。MPをゲスト分子として用いた場合、1st runのDSC曲線で認められた75℃の吸熱ピークより低い70℃で密封加熱した際の包接比は、0.210であったのに対し、吸熱ピーク温度以上の80℃で密封加熱した場合、0.400と、約2倍高い値を示した。また、EPにおいても1st runのDSC曲線で認められた72℃の吸熱ピーク前後で0.044(70℃)から0.337(80℃)と約8倍の包接比の増加が認められた。MP、EP、PPの3種類のパラオキシ安息香酸エステルをゲスト分子として用いた場合も1st runに現われる2つの吸熱ピークのうち低温側に認められ

Table 1 Endothermic Peak Temperature on DSC curve and the Bound Molar Ratio of Various Drugs to DMβCD after Heating at Various Temperatures for 6 hours.

| Guest Compound | Endothermic Peak Temperature (°C)* | | Molar Ratio** (drug mol/DMβCD mol) | | | |
|----------------|------------------------------------|-------|------------------------------------|-------|-------|-------|
| | | | heating temperature (°C) | | | |
| | 60 | 70 | 80 | 90 | | |
| BA | 71.0 | 210.0 | 0.350 | 0.450 | 0.570 | 0.647 |
| | - | 190.0 | | | | |
| MP | 75.0 | 166.2 | 0.160 | 0.210 | 0.400 | 0.480 |
| | - | 171.1 | | | | |
| EP | 71.0 | 140.0 | 0.042 | 0.044 | 0.337 | 0.347 |
| | - | 148.2 | | | | |
| PP | 61.5 | 130.4 | 0.440 | 0.620 | 0.730 | 0.898 |
| | - | 132.5 | | | | |

* upper column; 1st run, lower column; 2nd run

** sealed and heated in 2ml of glass ampule for 6h

る吸熱ピークに前後して包接比の増加が認められた。

4. 結 語

BAで得られた結果と合わせて薬品とDM β CDの系における包接挙動および熱的挙動を考察すると、次の2点が挙げられる。第一に、DSC測定において1st runに現われる2つの吸熱ピークのうち、低温側に認められる吸熱ピークは包接化合物の形成に対応していること、すなわち、包接化反応はこの吸熱ピークを前後して著しく促進され、包接量の増加をもたらした。第二に、BAとDM β CDの物理的混合物のDSC測定において1st runに現われる2つの吸熱ピークのうち、高温側に認められる吸熱ピークは、UV定量、粉末X線回折測定等により、包接化合物粒子表面からの薬品の放出に由来するものであることがわかった。

文 献

- 1) Shan-Yang Lin, Yuh-Hong Kao and Juei-Chyi Yang, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **14**, 99 (1988).
- 2) M. Kikuchi, F. Hirayama and K. Uekama, *Int. J. Pharmaceut.* **38**, 191 (1987).
- 3) Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada, T. Oguchi, H. Saito and D. Watanabe, *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 1055 (1989).
- 4) Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada and H. Horibe,

J. Inclusion Phenom. **2**, 523 (1984).

- 5) T. Hanawa, E. Yonemochi, T. Oguchi, Y. Nakai and K. Yamamoto, *J. Inclusion Phenom. and Molecular Recog. in Chem.* **15**, 91 (1993).
- 6) Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada and D. Watanabe, *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 4609 (1987).
- 7) H. P. R. Bootsma, H. W. Frijlink, A. Eissenens, J. H. Proost, H. Van Doorne and C. F. Lerk, *Int. J. Pharmaceut.* **51**, 213 (1989).
- 8) K. Tomono, H. Ueda, T. Saitoh and T. Nagai, *Yakuzaigaku* **48**, 9 (1988).
- 9) Y. Nakai, K. Yamamoto, T. Oguchi, E. Yonemochi and T. Hanawa, *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 1345 (1990).

要 旨

安息香酸およびパラオキシ安息香酸エステル類とヘプタキス-(2,6-ジ-O-メチル)- β -シクロデキストリンの物理的混合物の熱的挙動を示差走査熱量測定(DSC)により検討した。DSC曲線には2種類の吸熱ピークが認められた。IRスペクトル測定ならびに粉末X線回折測定からこれらの吸熱ピークはそれぞれ、包接化合物の形成、また包接化合物からのゲスト分子の放出に対応するものであることが確認された。