

令和元年6月10日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19009

研究課題名(和文)二酸化炭素分子を共有体とする共結晶製造への挑戦

研究課題名(英文)Challenging to production of cocrystal using carbon dioxide as cofomer

研究代表者

下山 裕介(Shimoyama, Yusuke)

東京工業大学・物質理工学院・教授

研究者番号：30403984

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：抗菌剤として使用されるnorfloxacinに対して、高圧状態のCO₂で処理することで、norfloxacinの大幅な結晶構造の変化が確認された。CO₂処理における圧力を増大させることで、新たに形成された結晶構造のパターン比も増大することがわかる。さらに、赤外吸収スペクトルより、CO₂分子がnorfloxacinの固相へ取り込まれていることも示唆された。以上より、高圧状態のCO₂とnorfloxacinが接触した場合、高圧CO₂が有する高い浸透性と、CO₂分子とnorfoxacin分子のアミノ基との強い相互作用により、共結晶の形成が示唆されることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られたように、アミノ基を有する医薬物質と高圧状態のCO₂とを接触させるのみの操作により、CO₂分子を共有体とする共結晶の形成が示唆され、さらには水に対する溶解度を向上させることも可能となった。本研究において構築された共結晶の形成技術は、従来の主流であった有機溶媒を使用した形成技術と比較して、有機溶媒の残余といった問題が回避できるため、新たな共結晶技術として今後の実用化が大いに期待される。

研究成果の概要(英文)：High-pressure carbon dioxide treatment can modify the crystal structure of norfloxacin used as anti-bacterial agent. The ratio of new crystal structure formed by high-pressure carbon dioxide treatment increase with the pressure in the treatment. Analysis of infrared absorption spectrum shows that carbon dioxide molecule is incorporated inside the solid phase of norfloxacin. The modification or cocrystal formation of norfloxacin with carbon dioxide is resulted from the high permeability of high-pressure CO₂ and strong interaction of amino group of norfloxacin with carbon dioxide molecule.

研究分野：有機結晶

キーワード：共結晶 医薬物質 高圧二酸化炭素

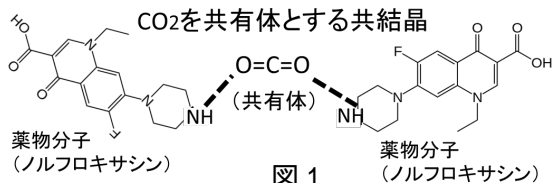
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の新薬開発においては、開発される薬物分子の分子量が増大する傾向にあり、「人体への溶解性の大幅な低下」が臨床応用への大きな障壁となっている。このような新薬の溶解性低下を克服する技術として、芳香族系カルボン酸等を共有体とした薬物分子との“共結晶”の製造技術が挙げられる。共結晶の製造には、薬物分子と、水素結合等の非共有結合を介して結晶構造を形成する共有体の選定が重要となる。さらに、共結晶の製造に関する研究対象は、薬物分子に留まらず、抗体やタンパク質 (Science, 340 (2013) 1113-1117)にも及び、近年の研究開発が目される。例として、抗菌薬剤として利用されるノルフロキサシンはアミノ基を有していることから、水素結合を形成するカルボン酸基を有するフタル酸系 (Cryst. Eng. Comm., 15 (2013) 6090-6100)、アジピン酸、安息香酸 (Acta Cryst., B70 (2014) 750-760)を利用した共結晶の製造技術が報告されている。しかしながら、共結晶に関する既存の製造技術では、薬物や共有体として用いるカルボン化合物等を溶解させるために、(a) メタノールやトリクロロメタン等の人体に有害な有機溶媒が使用されており、共結晶への残留溶媒が懸念される。また、(b) 有機溶媒の最終除去には、加熱操作による蒸発過程が必要となり、熱処理に敏感な薬物分子の分解も問題となる。そのため、人体へ有害となる有機溶媒の使用を大幅に低減した共結晶の製造技術の確立が大いに期待されている。

2. 研究の目的

本研究では、既存の共結晶製造技術における問題点を克服する新規な手法として、図1に示す、二酸化炭素(CO₂)分子を薬物分子間の共有体として利用する共結晶の製造技術を構築し、共結晶構造を設計する指針を確立することを目的とした。本研究構想では、高压状態のCO₂が有する固体成分への高い浸透性を利用した共結晶の製造技術に着目する。ここでは、CO₂を共結晶を形成する媒体(場)として利用するだけでなく、薬物分子と共結晶を形成する共有体としても利用することに挑戦する。ここでは、高压状態のCO₂処理において、共結晶形成や、結晶構造に及ぼす操作因子(温度・圧力)の影響を明らかにし、CO₂分子を薬物分子間の共有体として利用する共結晶の設計指針を確立することを目的とした。



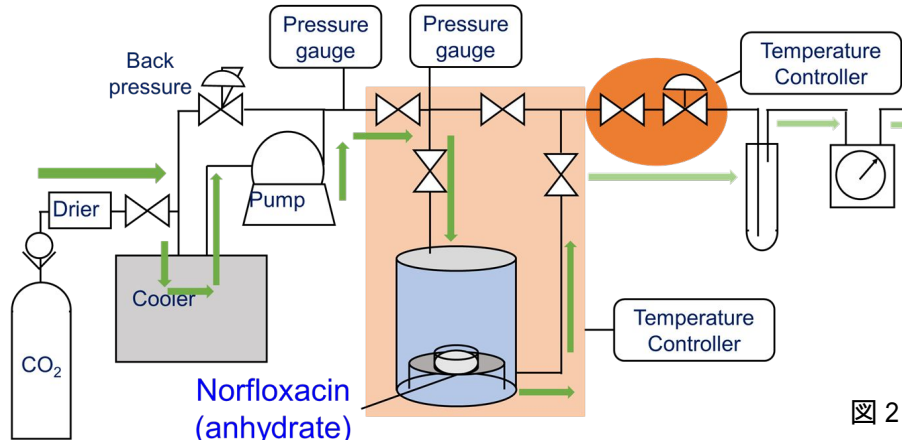
3. 研究の方法

3.1 CO₂による固体成分の改質

二酸化炭素(CO₂)による固体成分の改質効果を確認するために、固体成分のモデル物質として、CO₂との強い相互作用が形成されるアミノ基を有するキトサンを用い、キトサンへの色素吸着特性の変化について検証した。色素成分として、Brilliant Blueを用い、CO₂を流通した水溶液中におけるキトサンへの吸着量を測定した。水溶液中における Brilliant Blue の濃度を紫外 - 可視分光光度計により測定し、キトサンへの吸着量を算出した。ここでは、CO₂の流通により、キトサン分子の改質による吸着挙動の変化を明らかにするため、CO₂が流通しない吸着挙動と比較を行った。

3.2 高压CO₂による norfloxacin との共結晶の形成

医薬物質として、抗菌剤に利用される norfloxacin を用い、高压状態のCO₂と接触させ、共結晶の形成を図った。高压CO₂を用いた norfloxacin の処理実験には、図2に示す装置を用いた。本装置では、ボンベから排出されるCO₂は冷却されることで液体状態とし、液体ポンプにより加圧され系内へ高压CO₂を供給した。系内の圧力は、上流部に設置された背圧弁により、目的の圧力に調製した。容積72 mLの高压容器内には、あらかじめ既知量の norfloxacin を導入した。液体ポンプにより加圧された高压CO₂は、空気恒温槽内にて温度制御された高压容器へ供給された。Norfloxacin が導入された高压容器内が、目的とする圧力へ達するまで加圧し、加圧後には、高压容器の入口、ならびに出口に接続されるバルブを閉じ、所定の処理時間に静置した。



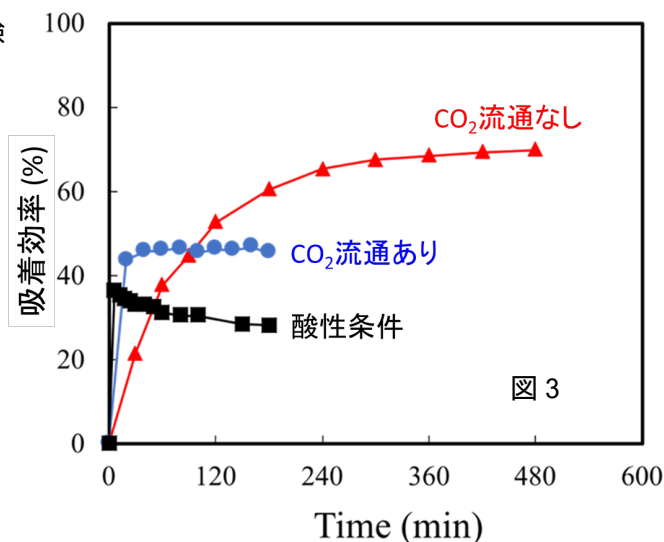
処理時間の経過後に、装置下流部に設置した微量調整バルブを開放し系内を減圧した。系内を減圧する際、処理後の norfloxacin の結晶構造に影響を及ぼすことを考慮し、減圧速度を 0.1 MPa min^{-1} と一定とし操作した。微量調整バルブから高圧 CO_2 が排出される際、高圧 CO_2 に溶解した微量の norfloxacin が析出することを考慮し、微量バルブをリボンヒーターにより加熱した。高圧 CO_2 処理は、温度 $30 - 60$ 、圧力 $5.0 - 25.0 \text{ MPa}$ の条件下において行った。高圧 CO_2 による処理時間は、2 時間とした。

高圧 CO_2 処理後の norfloxacin について、示差走査熱量計 (DSC)、フーリエ変換赤外吸収分光法 (FT-IR)、X 線回折法 (XRD) により分析した。さらに、水に対する溶解度の測定を行った。

4. 研究成果

4.1 CO_2 による固体成分の改質実験

図 3 に、 CO_2 を流通した水溶液中におけるキトサンへの Brilliant Blue の吸着挙動を示す。 CO_2 を流通したキトサンへの吸着挙動は、 CO_2 の流通がない場合と比較して、迅速に吸着平衡へ達することが確認される。これは、キトサン分子に含まれるアミノ基が、水中へ溶解した CO_2 によりイオン化され、水溶液中の Brilliant Blue との強い相互作用を形成し、迅速に吸着平衡へ達したと考えられる。このように、アミノ基を有する固体成分では、 CO_2 の影響により改質されることが示唆された。次節の医薬物質の共結晶の形成においては、薬物分子内のアミノ基と CO_2 との相互作用に着目した。



4.2 高圧 CO_2 による norfloxacin との共結晶の形成

高圧 CO_2 処理による norfloxacin の共結晶の形成においては、 CO_2 の密度が大きく影響することが考えられる。特に超臨界状態の CO_2 の密度は、操作温度・圧力によって連続的に大きく制御することが可能となる。そこで本研究では、norfloxacin の共結晶の形成において、温度・圧力を変化させた高圧 CO_2 処理実験を行った。

図 4 に温度 40 において、 CO_2 処理の圧力を $5.0 - 25.0 \text{ MPa}$ に変化させた高圧 CO_2 処理後の norfloxacin の DSC 測定結果を示す。図 4 において 220 付近にみられる大きなピークは、norfloxacin の融点を示している。大気圧下、および $5.0, 10.0 \text{ MPa}$ といった低圧条件における CO_2 処理では、 179 付近に極めて小さなピークがみられる。一方で、 $15.0 - 25.0 \text{ MPa}$ といった高圧条件における CO_2 処理後の norfloxacin に対する DSC の測定結果では、 185 付近にピークがみられ、新たな結晶構造の形成が示唆される。温度 40 において、 CO_2 処理の圧力を $5.0 - 25.0 \text{ MPa}$ に変化させた高圧 CO_2 処理後の norfloxacin の赤外吸収スペクトルを図 5 に示す。図 4 における DSC 測定結果と同様に、 $15.0 - 25.0 \text{ MPa}$ といった高圧条件における CO_2 処理後の norfloxacin においては、処理前の norfloxacin と比較して、 $890, 1760 \text{ cm}^{-1}$ 付近に新たな吸収ピークがみられる。これは、norfloxacin と CO_2 分子との相互作用による振動モードの変化を示しており、固体成分の norfloxacin に、 CO_2 分子が含まれていることが考えられる。

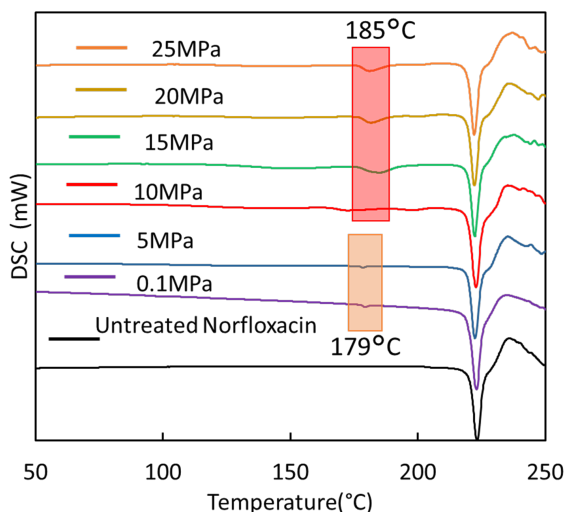


図 4

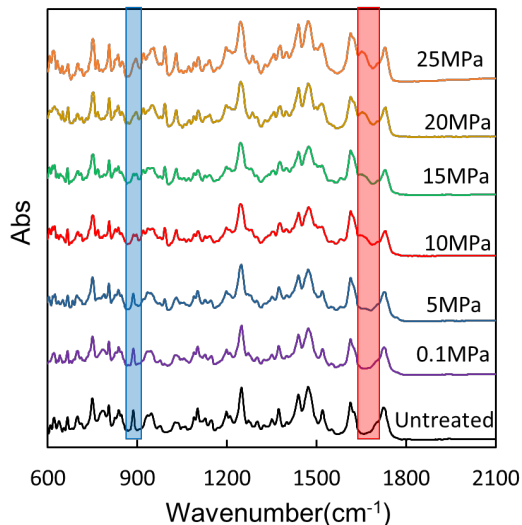


図 5

温度 40 °C において、CO₂ 処理の圧力を 5.0 – 25.0 MPa に変化させた高圧 CO₂ 処理後の norfloxacin の XRD パターンを図 6 に示す。大気圧、ならびに 5.0 MPa の CO₂ 処理操作においては、処理前の norfloxacin の XRD パターンと比較して、わずかな変化がみられるが、処理前後において大きな結晶構造の変化はみられない。10.0 MPa 以上の高圧条件下における CO₂ 処理後の norfloxacin では、処理前と比較して大きく異なる結晶構造のパターンが観察される。また、図 7 に、高圧 CO₂ 処理によって新たに出現した XRD パターンと、処理前のパターンとの比をしめす。CO₂ 処理における圧力が增大するともない、高圧 CO₂ 処理によって新たに出現した XRD パターンの比も増大することがわかる。これは、CO₂ 処理の圧力を増大することで、CO₂ の密度も増大し、固体成分の norfloxacin へ接触ならびに浸透する CO₂ の分子数が増大するためであると考えられる。

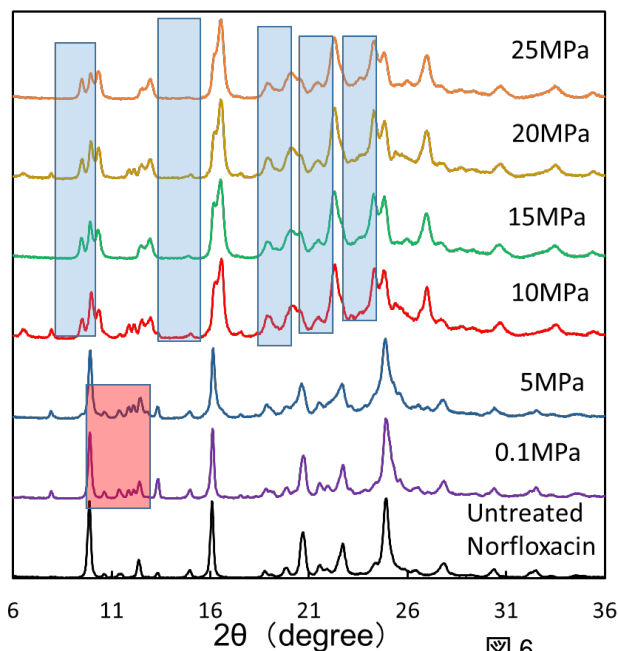


図 6

図 6 に示すように、CO₂ 処理により norfloxacin の結晶構造が大きく変化することが確認された。また、CO₂ 処理における圧力を増大させることで、新たに形成された結晶構造のパターン比も増大することがわかる。さらに、図 5 に示す赤外吸収スペクトルより、CO₂ 分子が norfloxacin の固相へ取り込まれていることも示唆された。以上より、高圧状態の CO₂ と norfloxacin が接触した場合、高圧 CO₂ が有する高い浸透性と、CO₂ 分子と norfloxacin 分子のアミノ基との強い相互作用により、共結晶の形成が示唆される。

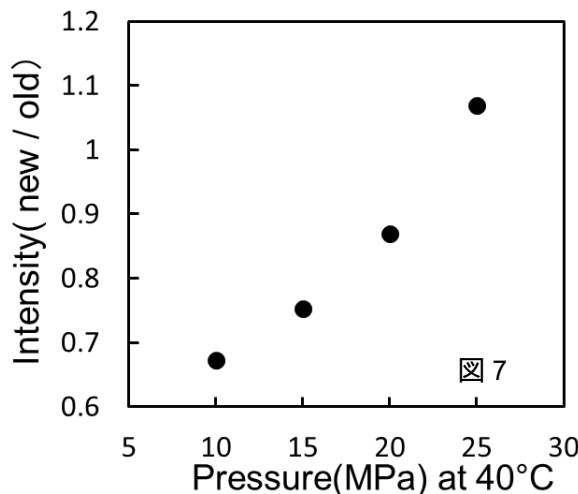


図 7

図 8 に、CO₂ 処理により形成された norfloxacin の共結晶の水に対する溶解度の測定結果を示す。純成分の norfloxacin の水に対する溶解度は、0.28 mg g⁻¹ である。図 8 に示すように、CO₂ 処理により共結晶を形成した norfloxacin の溶解度は、純成分の場合よりも高い値を示しており、CO₂ 処理の圧力操作が増大するに伴い、水に対する共結晶の溶解度も増大することが確認される。温度 40 °C における norfloxacin の CO₂ 処理で形成された共結晶は、圧力操作が 20.0, 25.0 MPa の場合において、水に対する溶解度が 0.6 mg g⁻¹ まで増大し、純成分の norfloxacin の場合と比較して、約 2.1 倍向上することがわかる。

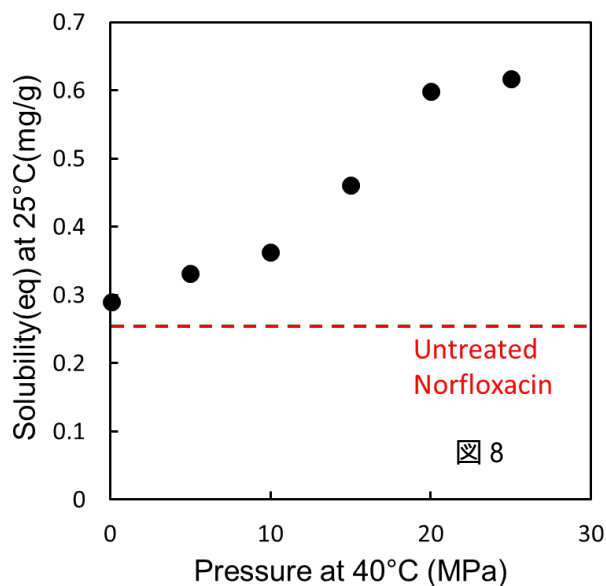
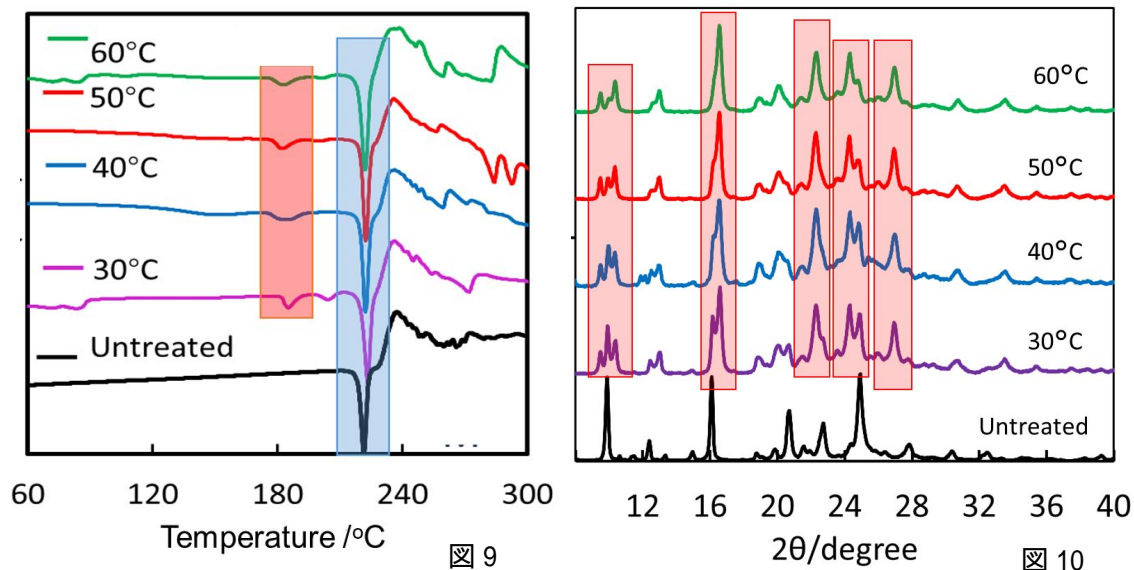


図 8

圧力 20.0 MPa における norfloxacin の CO₂ 処理の温度条件の影響についても検証した。Norfloxacin の結晶構造の変化において、大きく影響する CO₂ の密度は、処理操作の温度が増大した場合、低下することが考えられる。図 9 に、CO₂ 処理後の norfloxacin に対する DSC 測定結果を示す。CO₂ 処理操作の温度が増大するに伴い、185 °C 付近に新たに出現するピーク面積が増大することが分かる。また、CO₂ 処理後の norfloxacin に対する XRD パターンを図 10 に示す。CO₂ 処理操作を行った 30 - 60 °C の全ての温度条件において、処理前の norfloxacin と異なる結晶構造が形成されたことが示唆された。さらには、高温条件の温度 60 °C における CO₂ 処理操作においては、新たに形成された結晶構造のパターンの割合も増大することがわかる。高温条件下では、CO₂ の密度は低下するが、norfloxacin の結晶構造が緩和されるため、低温条件と比較して、高い割合において結晶構造の変化がみられたと考えられる。



本研究で得られたように、アミノ基を有する医薬物質と高圧状態のCO₂とを接触させるのみの操作により、CO₂分子を共有体とする共結晶の形成が示唆され、さらには水に対する溶解度を向上させることも可能となった。本研究において構築された共結晶の形成技術は、従来の主流であった有機溶媒を使用した形成技術と比較して、有機溶媒の残余といった問題が回避できるため、新たな共結晶技術として今後の実用化が大いに期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- [1] Le Quang Huy, Yo Sekiguchi, Dimas Ardiyanta, Yusuke Shimoyama, CO₂-activated adsorption: a new approach to dye removal by chitosan hydrogel, *ACS omega*, 3 (2018) 14103 – 14110. (査読有)

〔学会発表〕(計 3 件)

- [2] Hao Yingquan, 下山裕介, Cocrystal formation of norfloxacin with CO₂ in supercritical fluid, 化学工学会第50回秋季大会, DA109, 2019年9月18–20日(鹿児島大学郡元キャンパス).
- [3] Hao Yingquan, 下山裕介, Cocrystal formation between norfloxacin and CO₂ under high pressures, 第8回CSJ化学フェスタ, PB-116, 2018年10月23–25日(タワーホール船堀).
- [4] Yusuke Shimoyama, Hao Yingquan, Crystal structure and aqueous solubility of norfloxacin treated by high-pressure CO₂, *AsCA 2018 / CRYSTAL 32*, 421, 2018年12月5–8日(University of Auckland, New Zealand).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。