

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21105

研究課題名(和文) 分子結晶インプリンティング技術の創生と共結晶の超高速形成

研究課題名(英文) Molecular crystal imprinting for rapid formation of cocrystal

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)：高圧二酸化炭素を、「共有体の溶解」と「共有体の輸送」媒体とし、分子結晶インプリンティング技術では、高圧CO<sub>2</sub>中における粉碎法、ならびに高圧CO<sub>2</sub>中に脂質融液を利用した共結晶形成プロセスを構築した。ここでは、高圧二酸化炭素を共有体の溶解・輸送の媒体として利用するため、減圧操作のみで溶媒として利用した二酸化炭素を取り除くことが可能であるため、形成した共結晶における溶媒残存量の問題を回避できる。このように、分子結晶インプリンティング技術の創生とともに、医薬物質の共結晶形成を超高速化するための知見が蓄積された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られた成果により、高圧二酸化炭素を媒体とする医薬品共結晶の形成において、人体に無害な二酸化炭素を媒体として利用することで、有機溶媒の残留にかんする問題が回避されることが期待でき、体内における医薬物質の溶解度向上が期待できる共結晶の実用化が期待される。高圧二酸化炭素中における粉碎法、ならびに脂質融液を共結晶形成場として利用することで、分子インプリンティングによる共結晶形成の高速化が期待される。このように、新たな医薬品結晶形成に関する知見が蓄積されることで、共結晶を利用した医薬品投与への展開が促進されると考えられる。

研究成果の概要(英文)：High-pressure CO<sub>2</sub> can be used as medium for dissolution and transport of coformer on process development of pharmaceutical cocrystal formation with a beads-milling and fused lipid phase. This cocrystal formation process achieves a solvent separation by only depressurization. Knowledge of pharmaceutical cocrystal formation process in high-pressure CO<sub>2</sub> is accumulated in this work.

研究分野：化学工学

キーワード：共結晶 高圧二酸化炭素

### 1. 研究開始当初の背景

難水溶性の医薬物質は、人体への低い生体利用能により、臨床応用まで至らない場合が多いことが問題である。このような問題を解決する手法として、医薬物質と別の化学物質（共有体）が結晶構造を形成する「共結晶」が挙げられる。共結晶の形成では、主に有機溶媒に医薬物質と共有体を溶解させた後、再結晶化させる技術が主流である一方、プロセス操作が複雑であり、共結晶の形成が長時間に及ぶことが懸念される。さらには、形成された共結晶構造の制御が困難となる問題も挙げられる。また、形成後の共結晶中における有機溶媒の残存も懸念される。このような共結晶の形成手法においては、有機溶媒の使用量の低減、形成過程の簡略化を実現するプロセス構築が必要となる。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、図1に示すように、高压CO<sub>2</sub>を、「共有体の溶解」と「共有体の輸送」媒体とし、医薬物質の分子結晶の構造を保持した状態で、共有体を結晶構造へ取り込ませる「分子結晶インプリンティング」を創生し、共結晶を超高速形成する技術を確認することに挑戦する。分子結晶インプリンティング技術では、医薬物質が形成する分子結晶構造を保持したまま、高压CO<sub>2</sub>に溶解した共有体を結晶構造内へ輸送するため、有機溶媒に溶解させる従来の共結晶形成方法と比較して、共結晶の形成プロセスが簡略化され、超高速

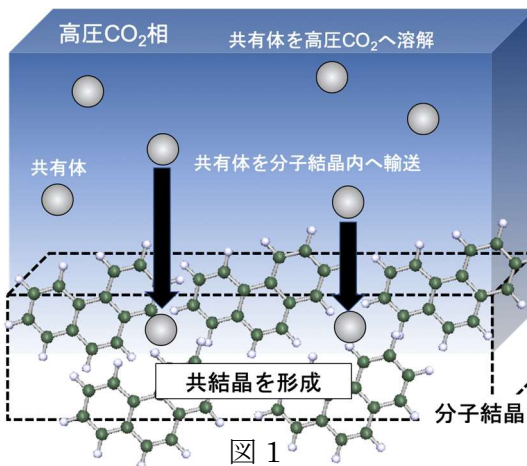


図1

化することが期待できる。さらには、高压CO<sub>2</sub>を共有体の溶解・輸送の媒体として利用するため、減圧操作のみで溶媒として利用したCO<sub>2</sub>を取り除くことが可能であるため、形成した共結晶における溶媒残存量の問題を回避できる。このように、分子結晶インプリンティング技術の創生とともに、医薬物質の共結晶形成を超高速化することを、本研究課題の目的とする。

### 3. 研究の方法

高压CO<sub>2</sub>を溶媒とした分子結晶インプリンティング技術を創生と、医薬物質の共結晶形成を超高速化する目的の達成において以下に示す3-1、3-2の研究項目を遂行した。

#### 3-1. 高压CO<sub>2</sub>中における共結晶結成と操作因子との関連性の把握

超臨界状態の高压CO<sub>2</sub>は、密度が液体状態に近くなり固体物質の溶解が可能となる。さらには、固体表面に対する表面張力が極めて低くなるため、図2(a)→(b)のように、CO<sub>2</sub>が分子結晶内へ侵入し、結晶構造が緩和すると考えられる。ここでは、医薬物質として抗菌剤として使用されるtheophyllineを、共有体としてnicotinamide, saccharine, ureaを選択し、温度・圧力を変化させた高压CO<sub>2</sub>中におけるtheophylline共結晶の形成へ及ぼす影響を把握する。さらに、高压CO<sub>2</sub>における共結晶の形成を加速することを目的として、ビーズ粉砕、ならびに脂質成分を添加した共結晶プロセスにおける操作因子の影響について検証した。

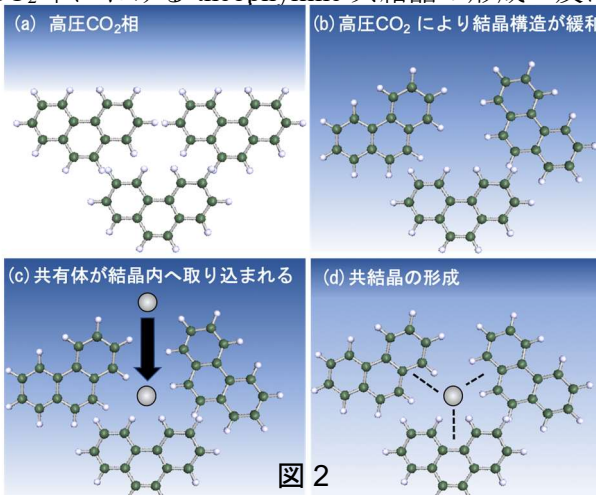
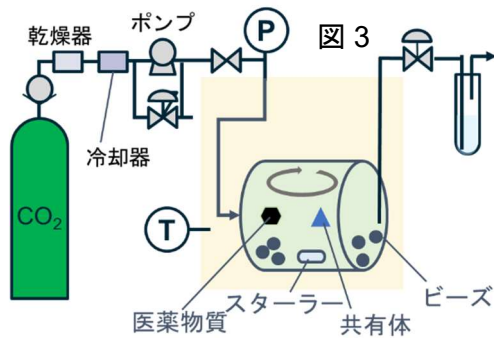


図2

#### (1) 高压CO<sub>2</sub>ビーズ粉砕プロセス

医薬物質としてtheophyllineを、共有体としてnicotinamide, saccharin, ureaを用い、高压CO<sub>2</sub>中に静置することで共結晶を形成させる際、高压CO<sub>2</sub>中における医薬物質の拡散性、分子結晶の表面における結晶構造の緩和を促進する

ために、高压容器内に球形ビーズを導入し、高压 CO<sub>2</sub> 中において医薬物質ならびに共有体の粉末を粉砕させた状態で、共結晶を形成させるプロセスを構築した。粉砕に用いるビーズには、メノウ製の直径 8 mm を用い、高压容器内に設置したスターラーを 1000 rpm で回転させた。温度 40 °C、圧力 20 MPa の条件下において、2 h 処理した。高压 CO<sub>2</sub> において、40, 50, 60 °C, 8, 10, 20 MPa の条件下で共結晶形成を試みた。この際、高压 CO<sub>2</sub> 中での処理後に、系内を 0.1 MPa min<sup>-1</sup> の速度で減圧した。得られた共結晶について、粉末 X 線回折 (PXRD) を用いて評価した。XRD パターンデータを用いて、検量線を用いた X 線回折定量法の一つとし、参照強度比 (Reference Intensity Ratio, RIR) 法を用いることで、質量比 (共結晶純度) とピーク強度との比例関係より、共結晶形成率を評価した。



## (2) 高压 CO<sub>2</sub> 中の脂質メディアを利用した共結晶形成プロセス

また、高压 CO<sub>2</sub> 中における医薬物質の共結晶形成のさらなる促進を目的として、高压 CO<sub>2</sub> が溶解した脂質を媒体とした分子結晶インプリンティング技術に関する研究を実施した。医薬物質として、医薬物質として喘息治療薬 Theophylline (TPL), 共有体に Nicotinamide (NA), 脂質に Linoleic acid (LA) を使用した。容積 72 mL の可視化窓付き高压容器内に、TPL, NA, LA を導入したバイアル管を静置し、Table 1 に示す条件、温度 50 °C、攪拌速度 300 rpm で実験を行った。ただし、①の共結晶の形成段階では、CO<sub>2</sub> 圧力を 10.0 MPa、実験時間を 2 時間とした。また、図 4 に示すように容器出口に設置されたバルブを閉め、系外への医薬物質、共有体物質の流出を防止した。一方、②の脂質の抽出段階では、CO<sub>2</sub> 圧力を 17.5 MPa とした。また、①による共結晶の形成後、10.0 MPa から 17.5 MPa へ昇圧し、それと同時に、図 4 に示す容器出口に設置されたバルブを開け、CO<sub>2</sub> を流量を 200 ± 100 mL min<sup>-1</sup> として流通させ続けることで、②による脂質の抽出を行った。得られた固形物に対し、粉末 X 線回折 (PXRD) を用い、共結晶形成を評価した。本研究で使用した脂質 LA は、室温 (22 °C) で液体状態で存在する非晶質物質であることから、PXRD を用いた RIR 法に基づく半定量的に算出された結晶化度により、固形物に含まれる脂質の有無を評価した。また光学顕微鏡を用い、得られた固形物を観察した。

Table 1. 脂質を用いた共結晶形成の条件

	① Cocrystallization		② Extraction	
	Done or not	Amount of LA [g]	Done or not	Time [h]
#1	✓	-	-	-
#2	✓	0.2	-	-
#3	✓	0.2	✓	1
#4	✓	0.2	✓	3

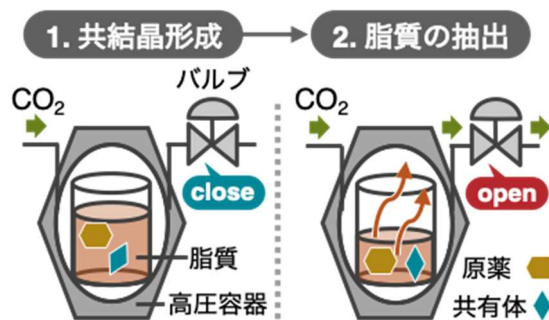


図 4

## 4. 研究成果

図 5 に、高压 CO<sub>2</sub> 中での粉砕による処理後の TPL-URE の XRD パターンを示す。純成分の TPL, URE と異なるパターンがみられ、共結晶の形成が確認される。図 6(a) に、本研究で用いた圧力条件と、共結晶形成率を示す参考強度比との関係を表す。Fig. 3 における縦軸の比率は、耐圧容器内にビーズがある場合と、ビーズがない場合の参考強度比率の比を示している。図 6(a) より、圧力が高い条件においてビーズ粉

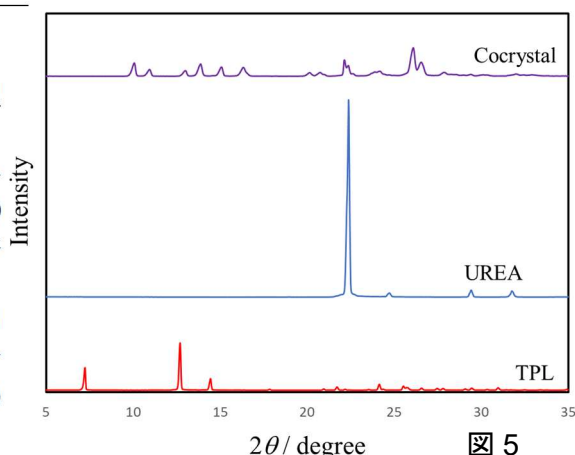
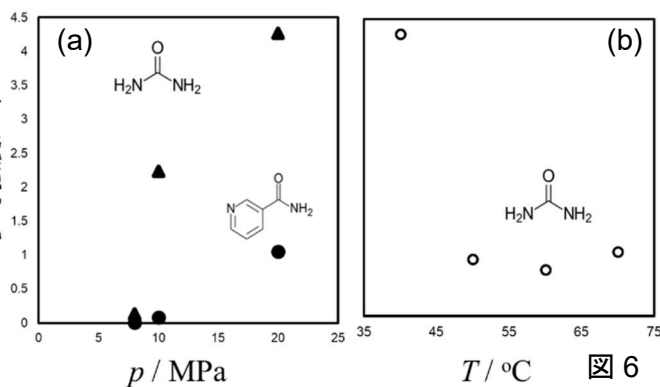


図 5

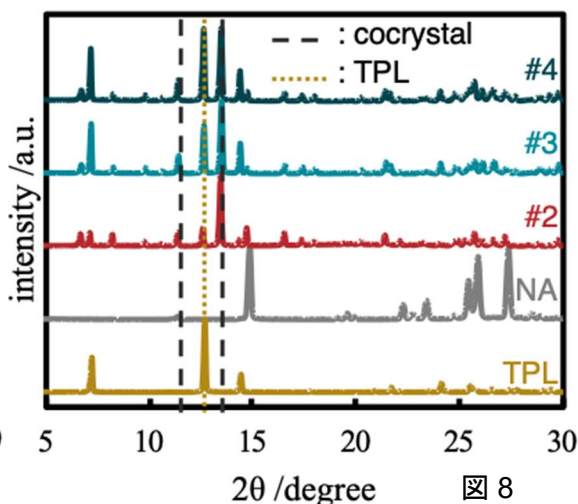
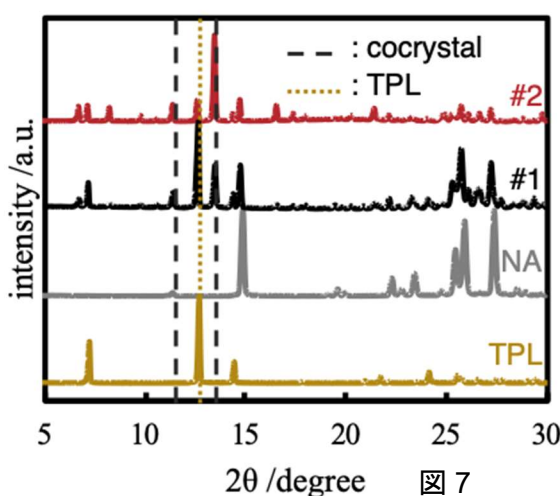


砕によるメカノケミカル効果が大きくなることが示唆される。高压状態では TPL および共有体の溶解度は上昇するため、高压 CO<sub>2</sub> 中に溶解することで、共有体固相の界面における結晶構造が緩和される。加えて、メカノケミカル効果により、共有体固相界面が衝突エネルギーによって結晶構造が緩和され、高压 CO<sub>2</sub> が、結晶構造内部へ侵入することで、共結晶



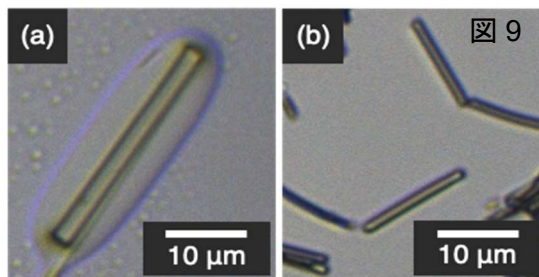
形成が促進されると考えられる。図 6(b)に耐压容器内の温度と共結晶形成率を示す参考強度比との関係を表す。高温下においてメカノケミカル効果が低いことが示された。温度が高いと溶解度が上がる一方で、メカノケミカル効果は一定の効果しか発現することができない。このため相対的にメカノケミカル効果が減少したと考えられる。

Table 1 の#1, #2 の条件で得られた生成物の PXRD 結果を図 7 に示す。破線で示すように、全ての条件で新たなピークが出現した。これらのピークは、報告されている TPL-NA 共結晶とほぼ同じ回折角度に位置しており、TPL-NA 共結晶の形成を示している。①の共結晶形成段階において、高压 CO<sub>2</sub> 下で脂質を添加した場合 (#2)は、高压 CO<sub>2</sub> のみ (#1)の場合と比較して、共結晶に起因するピーク強度が非常に大きい。これより、①の段階において、高压 CO<sub>2</sub> 下における脂質添加により、TPL-NA 共結晶の形成が促進されたと考えられる。また、Table 1 の#2, #3, #4 の条件で得られた生成物の PXRD 結果を図 8 に示す。②の脂質の抽出段階において、抽出時間が長くなるにつれ、破線で示す共結晶のピーク強度が小さくなる一方で、点線で示す TPL のピーク強度が大きくなった。共結晶は、異種分子による結晶であり、単成分結晶と比較して、分子間の結合力が弱いと考えられる。②の高压 CO<sub>2</sub> による脂質抽出過程において、共結晶を形成する分子の選択的な CO<sub>2</sub> 相への抽出が示唆される。



また、小さい結晶化度の値は、液体状態で存在する LA が生成物中に含まれることを示すと考え、これらの生成物について結晶化度を算出し、生成物に含まれる脂質の有無を評価した。

その結果、②抽出操作を含む生成物(#3, #4)は 100 %に近い結晶化度を示し、抽出操作によって LA が抽出されたことが示唆された。最後に図 9 に、(a) Table 1 の#2 の条件で得られた生成物、(b) Table 1 の#4 の条件で得られた生成物の、光学顕微鏡による観察結果を示す。(a)に示すように、①の共結晶の形成段階のみを行なった場合、結晶を取り囲むように液体 (LA)が存在し、



脂質中に共結晶が埋め込まれていることが確認された。一方で、(b)に示すように、①の共結晶形成、②の脂質抽出の双方を行った場合、結晶のみが観察された。(a), (b)の比較からも、②脂質の抽出段階において、脂質が選択的に抽出されたことが考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yingquan Hao, Crystal Gong, Kinari Kobayashi, Seika Akiyama, Yusuke Shimoyama	4. 巻 22
2. 論文標題 Theophylline polymorph control by high-pressure pure CO <sub>2</sub> via its monohydrate	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Crystal Growth and Design	6. 最初と最後の頁 159-166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.cgd.1c00718	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 下山裕介
2. 発表標題 超臨界二酸化炭素相と界面を利用した材料プロセス
3. 学会等名 化学工学会第51回秋季大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林生成，織田耕彦，下山裕介
2. 発表標題 高圧CO <sub>2</sub> を媒体としたメカノケミカル効果による共結晶形成の促進
3. 学会等名 第23回化学工学会学生発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hao Yingquan, 片岡大志, 村上広樹, Hung Ying Chieh, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 Pharmaceutical cocrystal screening by machine learning with molecular surface charge distribution
3. 学会等名 International Chemical Engineering Symposia（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuna Tatsumi, Yasuhiko Orita, Hung Ying Chieh, Yusuke Shimoyama
2. 発表標題 Estimation of melting point depression driven by CO2 from molecular informatic approach
3. 学会等名 18th European Meeting on Supercritical Fluids (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 巽由奈, Hao Yingquan, 下山裕介
2. 発表標題 脂質メディアによるテオフィリン共結晶の形成促進
3. 学会等名 化学工学会秋田大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuna Tatsumi, Hao Yingquan, Yusuke Shimoyama
2. 発表標題 High-pressure CO2 for lipid-mediated cocrystallization of theophylline and nicotinamide
3. 学会等名 25th congress of the International Union of Crystallography (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuna Tatusmi, Hao Yingquan, Yasuhiko Orita, Yusuke Shimoyama
2. 発表標題 Itraconazole cocrystallization in fatty acid under high-pressure CO2
3. 学会等名 9th International Symposium on Molecular Thermodynamics and Molecular Simulation (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 巽由奈, Hao Yingquan, 下山裕介
2. 発表標題 分子情報の入力による学習とデータ処理を活用した高圧CO2融液システムの設計
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷越陽, 秋山星佳, Hao Yingquan, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 CO2分子を封入したDrug-Drug共結晶の形成
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋山星佳, Hao Yingquan, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 分子情報と熱力学モデルに基づく共結晶探索設計システムの構築
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hao Yingquan, Hung Ying Chieh, Yusuke Shimoyama
2. 発表標題 Screening of pharmaceutical cocrystal formation with machine learning by molecular information
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuna Tatsumi, Yusuke Shimoyama
2. 発表標題 Lipid-mediated cocrystallization for formation of theophylline-nicotinamide cocrystal
3. 学会等名 8th Asian Particle Technology Symposium APT2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林生成, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 超臨界CO <sub>2</sub> ピーズ粉碎法による共結晶の形成
3. 学会等名 分離技術会年会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷越陽, 秋山星佳, Hao Yingquan, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 CO <sub>2</sub> 分子の封入によるDrug-Drug共結晶の溶解特性の促進
3. 学会等名 分離技術会年会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林生成, Hao Yingquan, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 超臨界二酸化炭素中におけるメカノケミカル効果を利用したテオフィリン結晶多形の形成
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 谷越陽, 秋山星佳, Hao Yingquan, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 CO2分子結晶の粉末との混合による医薬剤溶解性の促進
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 巽由奈, 織田耕彦, 下山裕介
2. 発表標題 高圧CO2中における脂質メディアを活用した共結晶の形成機構
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関