

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790056

研究課題名(和文)メカノケミカル反応を用いた薬物ナノCocrystalの調製及び製剤化

研究課題名(英文)Preparation and formulation of pharmaceutical nano-cocrystals by using mechanochemical reaction

研究代表者

深水 啓朗 (Fukami, Toshiro)

日本大学・薬学部・准教授

研究者番号：20366628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で検討した薬物のコクリスタル(Cocrystal, 共結晶)化は、原薬の化学構造を修飾することなく、その固体物性を改善することができる製剤技術である。本研究ではアセトアミノフェンをモデル原薬として、コクリスタルの形成過程をナノレベルで解明することを試みつつ、メカノケミカル反応を用いた探索スクリーニングにより、新規な共結晶3種類を見出すことができた。また、そのうちベタイン(トリメチルグリシン)とのコクリスタルについては、打錠特性や溶出性といった製剤学的特性の改善について有用な成果が得られた。また、ナノグラムスケールの微細なコクリスタル結晶の調製と顕微ラマン分光による評価を達成した。

研究成果の概要(英文)：Cocrystallization is a pharmaceutical technology which provides an improvement on solid properties of active pharmaceutical ingredients without modification of its chemical structure. In this study, paracetamol (acetaminophen) was used as model drug substance and to clarify the formation mechanism of cocrystal in molecular level. As a result of exploring screening study in solid state using mechanochemical reaction, novel three cocrystals were discovered. In particular, the pharmaceutical cocrystal consisting of paracetamol and trimethylglycine (betaine) at molar ratio of 1:1 indicated improved pharmaceutical properties such as compact moldability and dissolution behavior. In addition, preparing cocrystal in nanogram scale and evaluating by using microscopic Raman spectroscopy were achieved.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：コクリスタル メカノケミカル アセトアミノフェン ベタイン 製剤学的応用

1. 研究開始当初の背景

(1) ナノ技術は近年目覚ましい発展を遂げており、材料分野ではカーボンナノチューブなど構造体の形成に関する検討が盛んであるが、医薬品分野では原薬そのもののサイズをナノレベルで制御する研究が主流である。

(2) Cocrystal (共結晶) は、複数の成分から構成される分子結晶であり、医薬品の場合は Coformer と呼ばれる添加物と原薬からなる複合体結晶を指している。既存の医薬品を Cocrystal 化することにより、溶解性の改善、安定性の向上及び吸湿挙動の調整など、様々な原薬物性の改善が実証されている。

(3) 医薬品 Cocrystal の結晶学的な知見に関しては幾多の報告が認められるが、Cocrystal の調製や粒子設計をナノレベルで制御あるいは評価した報告はまだほとんどない。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、比較的緩和な解熱鎮痛剤であり、小児の流行性感冒に汎用されているアセトアミノフェン (APAP) を主な対象薬物として、使用実績のある医薬品添加剤を中心に探索スクリーニングを行い、新規 Cocrystal を見出す。

(2) Cocrystal の調製法として乾式での混合粉砕法を用いることにより、ヒット率の向上ならびに有機溶媒フリーの環境に優しいスクリーニング方法を確立する。

(3) Cocrystal 化が達成された原薬に関してキャラクタリゼーションを行い、その結晶構造や諸物性について明らかにするとともに、製剤学的な応用性について検討する。

(4) Cocrystal の調製をナノレベルで制御するために、微量容量の溶液から結晶が析出する過程の把握、あるいは得られた微量結晶の分子 (結晶) 状態を評価する方法について検討する。

3. 研究の方法

(1) 新規 Cocrystal の探索スクリーニングは、カルボン酸およびアミノ酸類を Coformer (候補化合物) とし、メカノケミカル法を用いて行う。具体的には Coformer 類と APAP を数種のモル比で混合し、振動型ボールミル (5100 Mixer mill, SPEX 社、**図 1**) を用いて混合粉砕処理した粉体試料を回収し、粉末 X 線回折測定 (PXRD) による結晶学的な評価を行う。比較のために溶媒蒸発法や反応結晶化法についても検討する。

(2) 得られた Cocrystal について、各種スペクトル測定、熱分析あるいは水に対する溶解性等を評価し、構造のおよび物性的な特徴を

把握する。また、単結晶を調製し、X 線構造解析により結晶構造を明らかとする。また、粉体の流動性や打錠工程に關与する圧縮成形性といった製剤学的特性についても評価を行う。



図 1 振動型ボールミルおよび粉砕セル

(3) Cocrystal の調製をナノレベルで制御するために、微細な結晶の形成過程を視覚化するとともに、その分子状態を顕微ラマン分光法により評価する。

4. 研究成果

(1) 約 70 種類の Coformer について探索スクリーニングを行った結果、新規な 3 種類の Cocrystal が見出された。そのうちマレイン酸 (MLA) およびベタイン (BTN) と APAP が形成する新規 Cocrystal については結晶構造も明らかとなった。

APAP と MLA はモル比 1:1 で Cocrystal を形成した。MLA と同様のジカルボン酸であるシュウ酸 (OXA) も APAP とモル比 1:1 の Cocrystal を形成することが報告されている。両者を比較すると APAP-MLA および APAP-OXA の融点および融解熱は、それぞれ 106.8°C・33.8kJ/mol および 151.8°C・46.8kJ/mol であったことから、APAP-OXA の方が熱力学的に安定な Cocrystal であることが推察された。APAP-MLA の結晶構造は、観察する角度によっては平面構造に見えるが、実際には層状に配列した分子間に存在する水素結合によって階段上の配列を形成していることが明らかとなった (**図 2**)。

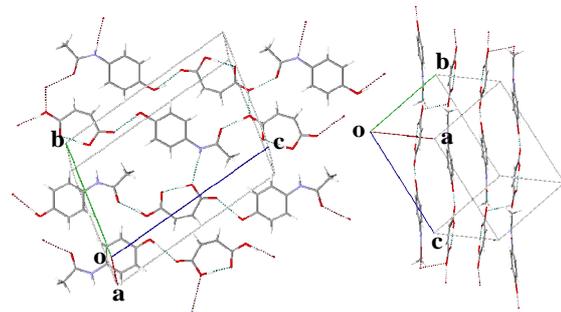


図 2 APAP-MLA 共結晶の結晶構造

APAP、OXA および MLA の物理的混合物について室温での混合粉砕を行った結果、OXA 結晶の水和状態によって異なる結果が得られた。即ち OXA の無水物を用いた場合は APAP と OXA の Cocrystal、OXA の 2 水和物を用いた際は APAP と MLA の Cocrystal が優先的に

形成されることが分かった。この傾向は 40 で恒温制御した粉碎処理によっても同様であった。溶解度相図を作成したところ、水およびエタノールといった極性のプロトン性溶媒では APAP-MLA が、非プロトン性あるいは低極性の溶媒であるアセトニトリルからは APAP-OXA が優先的に生成されることが明らかとなった。以上の結果より、混合粉碎において結合水の影響にも留意する必要があると示唆された。

APAP と BTN もモル比 1:1 で Cocrystal を形成し、空間群として Pna21 の構造をとることが分かった。APAP と BTN の分子間 (O2H \cdots O3=C9, 2.635 Å) ならびに APAP 同士の分子間 (C7=O1 \cdots HN1, 2.880Å) で水素結合を形成していた(図 3)。したがって、APAP と BTN の分子間でプロトンが移動している形跡が認められなかったことから、この複合体は典型的な Cocrystal であると考えられた。また、この結晶構造から計算した理論的な PXRD パターンは、GM の PXRD パターンとほぼ一致したことから、粉碎法によっても APAP および TMG がそれぞれ過不足や分解することなく固体状態で反応し、溶媒法と同じ Cocrystal を形成することが明らかとなった。

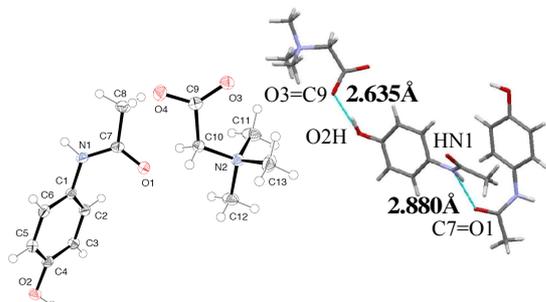


図 3 APAP-BTN 共結晶の結晶構造

APAP とプロリン (PRL) はモル比 2:1 で Cocrystal を形成することが示唆された。メタノール溶液からの再結晶により混合粉碎と同様の PXRD パターンを示す結晶が得られたものの、その形態は微細な針状であったために単結晶 X 線構造解析には至らなかった。

市販の振動型ロッドミルに付属する粉碎セルを基にして粉体周囲の温度を制御する粉碎セルを設計し、粉碎時の環境温度と試料の結晶状態について検討した結果、それぞれ粉碎時の環境温度によって結晶状態に差が認められた。一例として APAP と OXA および APAP と PRL の例を図 4 に示す。APAP と OXA からなる Cocrystal (1:1) は既報であり、30 分の粉碎処理によって PXRD の $2\theta = 27.5^\circ$ 付近に Cocrystal に特徴的なピークが観察された。このとき 0 および 20°C の低温側では回折ピークがブロードとなり、結晶性の低いことが示唆された。一方、APAP と PRL の系に関しては、20°C 以上で 30 分間の粉碎処理を行うことにより、溶媒留去法によって得られた新規な結晶形の回折パターンと一致した

が、0°C では物理的混合物 (PM) が部分的に非晶質化した様子が観察された。

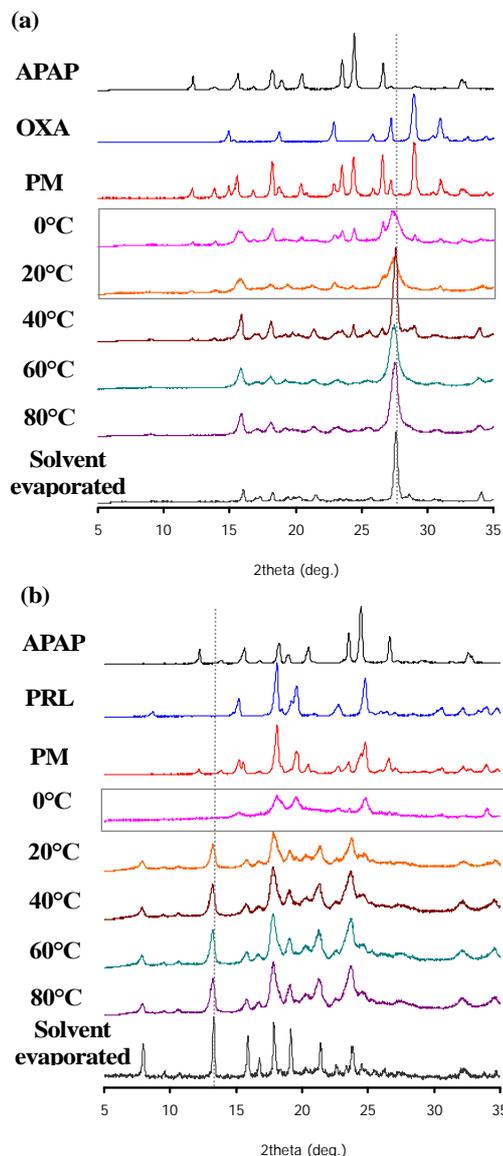


図 4 恒温制御粉碎における PXRD パターンの変化 ; (a) APAP-OXA 系, (b) APAP-PRL 系

APAP と MLA の温度制御粉碎では、低温側と高温側でエナンチオトロピー的な挙動を示す Cocrystal の結晶多形転移が認められた。20 および 80°C で粉碎したとき、20°C・60 分間の粉碎混合物では、溶媒留去法で得られた複合体と同様の回折ピークが $2\theta = 17.4^\circ$ および 24.4° 付近に認められたものの、80°C・60 分間の場合は、それぞれ約 17.1° および 25.0° にシフトしたようなパターンが観察された。そこで、80°C・60 分間の GM を 20°C で 60 分間さらに粉碎したところ、もとのパターンと同様になった。これらの過程を通じて、APAP と MLA の Cocrystal で最も特徴的な 27.0° 付近の回折ピークは粉碎時の環境温度に関わらず一定であったことから、結晶格子内の基本的な分子配列ではなく、いずれかの分子のコンフォメーションあるいは分子間距離が変動することによる多形転移である

と推察された。

これらの試料について DSC および IR 測定を行ったところ、それぞれ 110~112°C 付近の吸熱ピークおよび 3360 cm⁻¹ 付近の吸収ピークにおいて、各粉碎条件に応じた可逆的な変化が PXRD 測定の結果と同様に認められた。したがって、APAP と MLA の系では粉碎時の環境温度によって、Cocrystal の高温安定形と低温安定形が交互に観察されたものと考えられた。以上の結果から、粉碎法による Cocrystal の探索スクリーニングでは、粉碎時の温度条件によって Cocrystal の形成が認められない、あるいは多形が出現する現象が認められたことから、スクリーニング時の条件設定において留意する必要性が示唆された。

(2)APAP と BTN が形成する新規 Cocrystal について製剤学的な応用を検討した。

既報の APAP-OXA 共結晶は、APAP のみの場合と比較して圧縮時の成形性が改善されることが報告されている。そこで APAP-BTN 共結晶についても検討した結果、APAP-OXA とほぼ同等の錠剤硬度 (APAP-BTN および APAP-OXA の硬度: 11.6±1.5 および 13.0±1.4 kg) を示した (図 5)。また、APAP-BTN 共結晶の初期溶解速度は、APAP-OXA と比較して僅かながら向上することが明らかとなった (APAP-BTN および APAP-OXA のみかけの溶解速度定数: 2.94±0.34×10⁻⁴ および 2.62±0.29×10⁻⁴ cm²・min⁻¹)。



図 5 APAP-BTN 共結晶の圧縮成形性

BTN は甘味を有する食品添加剤として使用されていることから、味覚センサ (TS-5000Z, Intelligent Sensor Technology 社) を用いて APAP の苦味マスキング能について評価した。その結果、BTN は甘味および旨味を有することが明らかとなった。APAP は解離基を有さない中性の化合物であるため、本研究で用いた味覚センサでは苦味として十分な感度が得られていない可能性があるものの、APAP-BTN の混液では BTN の濃度に応じて APAP の苦味を緩和することが示唆された。

(3)Cocrystal をナノレベルで制御するために、微細結晶の調製と顕微ラマンスペクトル測定について検討した。

APAP は結晶化するのに数日を要したため、モデル薬物としてカフェイン (CAF) を用いた。CAF のエタノール溶液を疎水化したガラスプレート上にスポットしたところ、直ちに溶媒が揮発して微細な結晶が現れた。条件を最適化した結果、理論値としては約 1 ng の微結晶を析出させることができた。また、そ

の顕微ラマンスペクトルは通常の試薬 (粉体) を測定したスペクトルとほぼ同様であったことから、超高感度な測定が可能となった (図 6)。

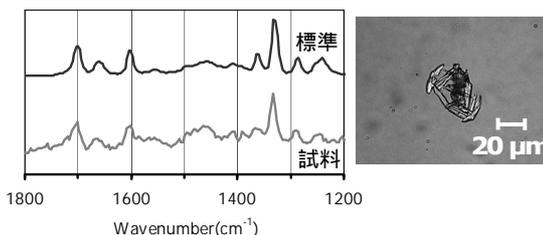


図 6 カフェインのエタノール溶液から析出した微細結晶と顕微ラマンスペクトル

既知の CAF 共結晶についても同様に検討したところ、CAF と 2,5-ジヒドロキシ安息香酸および 4-ヒドロキシ安息香酸の Cocrystal について、試料量が約 10 ng のときに標準品とほぼ同様の顕微ラマンスペクトルを得ることができた。今後、ナノ Cocrystal の評価だけでなく、超微量の探索スクリーニングにも応用が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

深水啓朗, Nair Rodriguez-Hornedo, 共結晶 (Cocrystals) の溶解挙動を理解する, 製剤機械技術研究会誌, 査読無, 20(2), 2011, pp.243-248

深水啓朗, Cocrystal のメカノケミカル合成, PHARM TECH JAPAN, 査読有, 27(11), 2011, pp.2297-2302

深水啓朗, Cocrystal (共結晶) に関する話題: 概念と実際, ファルマシア, 査読有, 47(11), 2011, pp.1044-1048

[学会発表] (計 12 件)

深水啓朗, 医薬品 Cocrystal の微量探索スクリーニング, 愛知学院大学薬学部医療生命薬学研究所第 2 回サイエンスフォーラム, 2014.03.17, 愛知, 愛知学位大学薬学部 (楠元)

深水啓朗, 医薬品 Cocrystal の探索スクリーニングにおける微量化への挑戦, 第 30 回製剤設計研究会, 2013.10.05, 東京, 東京薬科大学薬学部 (八王子)

深水啓朗, 医薬品 Cocrystal の基礎解説, 日本薬剤学会第 4 回経口吸収フォーカスグループ合宿討論会, 2013.08.20, 京都, 京都くに荘

Toshiro Fukami, Toyofumi Suzuki, Kazuo Tomono, A Comparison of the Physical Stability in Cocrystals Consisting of Paracetamol and Dicarboxylic Acids, 5th Asian Arden Conference, 2013.08.05, 愛知, 愛知学院大学薬学部 (名古屋)

深水啓朗, 医薬品 Cocrystal のスクリーニングに関する基礎検討, 東日本製剤懇談会, 2013.08.01, 東京, アカデミーヒルズ (六本木)

深水啓朗, 医薬品 Cocrystal のスクリーニングに関する基礎検討, インターフェックスジャパン 基礎講座, 2013.07.12, 東京, 東京ビッグサイト (有明)

深水啓朗, 鈴木晃, 前野祐介, 鈴木豊史, 伴野和夫, 発表標題 ナノスポット法による Cocrystal スクリーニングおよび表面増強ラマン散乱, 日本製剤学会第 28 年会, 2013.05.02, 愛知, ウィンク愛知 (名古屋)

Toshiro Fukami, Toyofumi Suzuki, Kazuo Tomono, A Comparison of the Physical Stability in Cocrystals Consisting of Paracetamol and Dicarboxylic Acids, 2012 AAPS Annual Meeting & Exposition, 2012.10.17, 米国, McCormick Place (シカゴ)

深水啓朗, 医薬品 Cocrystal のスクリーニングに関する基礎検討, 創剤フォーラム第 18 回シンポジウム - 有機分子集合体のサイエンス -, 2012.09.28, 東京, 江戸川区民ホール (船堀)

Toshiro Fukami, Tatsuaki Tagami, Toyofumi Suzuki, Tetsuya Ozeki, Kazuo Tomono, Effect of Ambient Temperature on Formation of Paracetamol Cocrystals During Temperature-controlled Cogrounding Process, 8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 2012.03.22, トルコ, イスタンブール

Toshiro Fukami, Tatsuaki Tagami, Toyofumi Suzuki, Tetsuya Ozeki, Kazuo Tomono, Novel Cocrystals Consisting of Paracetamol and Carboxylic and Amino Acids Obtained by Using Cogrounding Method, 2011 AAPS Annual Meeting & Exposition, 2011.10.26, 米国, ワシントン DC

深水啓朗, 小宮佑太, 青木麻里子, 亀谷晋央, 辰巳泰我, 鈴木豊史, 尾関哲也, 伴野和夫, 混合粉碎法による Cocrystal 形成に及ぼす温度条件の影響, 日本製剤学会第 26 年会, 2011.05.30, 東京, 江戸川区民ホール (船堀)

〔図書〕(計 1 件)

深水啓朗 他, シーエムシー出版, 医薬品開発における結晶多形の制御と評価, 2011, pp.113 - 128

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pha.nihon-u.ac.jp/page.jsp?id=1710>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

深水 啓朗 (FUKAMI, Toshiro)

日本大学薬学部・准教授

研究者番号: 20366628

(2) 研究協力者

尾関 哲也 (OZEKI, Tetsuya)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号: 60277259